

Analisis Bioinformatika Berbasis WEB untuk Eksplorasi Enzim Kitosanase Berdasarkan Kemiripan Sekuens

Vanny Narita^{1,3,*}, Arif Lelono Arum¹, Siti Isnaeni M¹, Nuri Y. Fawzya²

¹Program Studi Biologi (Bioteknologi), Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Al Azhar Indonesia, Jl. Sisingamangaraja, Jakarta 12110

²Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan,
Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jl. KS Tubun Raya Petamburan 6, Jakarta Pusat, 10260

³Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi,
Jl. MH Thamrin No. 8, Gedung II BPPT, Lantai 15, Jakarta Pusat, 13340

*Penulis untuk korespondensi: vanny_narita@uai.ac.id

Abstrak - Eksplorasi enzim secara tradisional dengan kultivasi mikroba sekarang ini tidak lagi efisien, karena menghabiskan waktu dan biaya. Bioinformatik berbasis web hadir untuk melakukan serangkaian analisis sekuen, baik itu DNA maupun protein, yang dapat digunakan sebagai penelitian pendahuluan, sehingga eksplorasi enzim menjadi lebih tepat sasaran. Penelitian ini telah melakukan analisis potongan sekuen 16S ribosomal RNA yang didapat dari 6 bakteri yang berasosiasi dengan udang. Analisis yang dilakukan adalah untuk mencari tahu tersedianya sekuen tersebut telah ada di *Gene Bank* atau merupakan strain baru khas Indonesia yang belum terpublikasi. Dengan menggunakan *database 16S Microbial* dan *Reference Genomic Sequence*, serta fasilitas BLAST nucleotide dan CLUSTALW2 didapatkan 5 nama bakteri yaitu *Micromonospora* sp. L5, *Aeromonas veronii* B565, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Burkholderia* sp. JV3, dan *Acinetobacter baumannii* AB307-0294. Kelima mikroba ini memiliki tidak mempunyai gen kitosanase tetapi penyandi kitinase. Ketidakhadiran gen kitosanase dalam genome mikroba menjadikan mikroba unik untuk diketahui sekuens gen kitosanasanya, yang juga berpeluang untuk dipublikasikan.

Abstract – Enzymes exploration which is traditionally conducted by microbial cultivation, is no longer efficient, for spending the time and cost. Web based bioinformatics presents to do a series of sequence analysis, for query both DNA and protein, which can be used as preliminary

test in order to direct the research effectively. We have conducted an analysis of 16S ribosomal RNA sequences from 6 bacteria in association with shrimp. The goal is finding out the recording in *Gene Banks*, which if they have not recorded means they are Indonesian strain. Using the 16S Microbial and Reference Genomic Sequence *databases*, as well as BLAST nucleotide and CLUSTALW2, we obtained 5 names of bacteria, i.e., *Micromonospora* sp. L5, *Aeromonas veronii* B565, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Burkholderia* sp. JV3, and *Acinetobacter baumannii* AB307-0294. These microbes do not have the chitosanase gene but have chitinase gene. The absence of chitosanase gene is unique its sequence that also gives opportunity for publication.

Keywords - Bioinformatics, Enzyme, Kitosanase, Sequence

I. PENDAHULUAN

Eksplorasi enzim merupakan hal yang penting untuk menunjang perkembangan teknologi bio yang lebih ramah lingkungan. Pencarian mikroba secara tradisional dengan kultivasi sekarang ini menjadi lebih tidak efisien karena menghabiskan biaya dan tenaga. Bioinformatik hadir sebagai alternatif pencarian sekuen enzim baru menggunakan analisis filogeni (kekerabatan) untuk mencari spesies terdekat berdasarkan data genome yang di *Gene Bank*. Situs yang menyediakan fitur ini adalah *National Center for Biotechnology Information* yang secara online [1].

Metode bioinformatik berbasis web digunakan untuk mencari anotasi (penamaan), pemetaan genome, dan analisis sekuen lanjut lainnya yang dijalankan secara *online* melalui program yang tersedia secara gratis di web. Keunggulan metode tersebut adalah hemat dan dapat menjadi penelitian pendahuluan sebelum percobaan secara nyata dilakukan [2-5].

Penelitian bioinformatik berbasis web ini bertujuan untuk melakukan eksplorasi enzim kitosanase dengan program berbasis web, dengan menggunakan potongan sekuen 16S ribosomal RNA (16S rRNA). Analisis yang dilakukan adalah untuk mencari tahu apakah sekuen tersebut telah ada di *Gene Bank* atau merupakan strain baru khas Indonesia yang belum terpublikasi. Diharapkan hasil penelitian ini dapat membantu memberikan anotasi (penamaan) untuk strain baru yang memudahkan analisis sekuen DNA dan protein secara lebih lanjut.

Kitosanase adalah sekelompok enzim yang mencerna kitosan tetapi bukan kitin. Menurut *Enzyme Commission* definisi kitosanase sendiri adalah enzim yang mampu melakukan endohidrolisis ikatan beta-1,4 antarresidu D-glukosamin menjadi kitosan terasetilasi sebagian [6]. Enzim ini sangat penting untuk menjaga keseimbangan antara karbon dan nitrogen yang terjebak sebagai kitin terlarut dalam biomassa [7]. Di bidang kesehatan, kitosanase dari jamur patogen telah terbukti menjadi faktor virulensi putatif, dan dapat memainkan peran penting dalam menginfeksi inang [8].

II. TINJAUAN PUSTAKA

Bioinformatik adalah gabungan disiplin ilmu biologi, ilmu komputer, informatika, matematika, dan disiplin lain yang terkait yang menjadi disiplin tersendiri. Tujuan utamanya adalah mampu memberikan pandangan baru dalam mencapai prespektif global yang menunjang perkembangan bioteknologi di masa depan [4,9]. Analisis dalam bioinformatika difokuskan pada tiga jenis dataset: urutan genom, struktur makromolekul dan percobaan genomik fungsional. Tetapi analisis bioinformatika juga diterapkan pada berbagai data lain, seperti pohon taksonomi, data tentang hubungan jalur metabolik, teks artikel ilmiah dan statistik. Berbagai macam teknik yang digunakan termasuk pencocokan sekuen, struktur protein 3D, konstruksi pohon filogenetik, prediksi dan

klasifikasi struktur protein, prediksi struktur RNA, prediksi fungsi protein, dan ekspresi kluster data [10, 4].

Contoh analisis kitosanase berbasis filogeni yang telah dikembangkan adalah menggunakan gen 16S rRNA dari data metagenomik yang menunjukkan bahwa salinitas merupakan penggerak utama untuk distribusi bakteri *chitinolytic* dan total komunitas bakteri dalam sistem perairan [11]. Selain itu, gen *chiA* dari *Aeromonas caviae* yang mengkode kitosanase ekstraselular dengan panjang 865 asam amino telah diketahui menunjukkan tingkat tinggi kesamaan mirip dengan kitosanase *A. Serratia marcescens* secara bioinformatik [12].

III. METODE PENELITIAN

Sampel merupakan sekuen 16S ribosomal RNA yang diamplifikasi dengan primer maju dan mundur, sehingga menghasilkan dua potongan sekuen masing-masing 500 bp. Pada umumnya panjang sekuen 16S rRNA yang lengkap adalah 1.500 bp, sehingga dalam penelitian ini potongan tengah sekuen tidak digunakan. Sekuen berasal dari bakteri penghasil kitosanase yang berasosiasi dengan udang.

```
>T5a1_F
CGCGTGAGCTTCGGGGTCTCGAGCGGCGACGGGTGAGTAACACGTGA
GCAACCTGCCCCAGGCTTTGGGATAACCCCGGAAACCGGGGCTAAT
ACCGAATATGACCTTGCACCGCATGGTGTGGTGGAAAGTTTTTCG
GCTTTGGGATGGGCTCGCGGCTATCAGCTTGTGGTGGGGTGATGGC
CTACCAAGGGCGACGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCAC
ACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG
GAATATTGCACAATGGGCGAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAG
GGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAGCAGGGACGAAGCG
TAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGCGCAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAAGACGTAGGGCGCGAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGC
GTAAAGAGCTCGTAGCGGGCTTGTCCGCTCGACCGTGAACACCTGGG
GCTCAACCCAGGCTGCGGTCGATACGGGCGAGGCTAGAGTTTCGGTA
GGGGAGACTGGAATTCCTGTGTGATGGGTTGAAATGCGCAGATATCAG
GAGGAACACCGGTGGCGAAGCGGGTCTCTGGGCCGATACTGACGCT
GAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGT
CCACGCTGTAAACGTTGGGCGCTAGGTGTGGGGGG
>T5a1_R
CCTCTCCGGTTCCTGTGCCGAGCTAACGCATTAAGCGCCCGCCCT
GGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGGCGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACCGGAAGAA
CCTTACCTGGGTTTGACATGGCCGAAAACCTGTGAGAGATGGCAGGT
CCTTCGGGGCGGTCACAGGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGT
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTTCGA
TGTTGCCAGCGGTTATGGCGGGGACTCATCGAAGACTGCCGGGGTCA
AAGTCCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCGAAGTCATCATGCCCTTATG
TCCAGGGCTTCACGCATGCTACAATGGCCGGTACAATGGGCTGCGAT
ACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCAAAAGCCGGTCTCAGTTCCGGATCG
GGGTCTGCAACTCGACCCCGTGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAG
ATCAGCGCTC
>KPU 21.24_F
GGCAGMSGGAAATGCTTGCTCTTTTGGCCGGGAGCGCGGACGGGTG
AGTAATGCCTGGGAAATGGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAA
CGACTGCTAATACCGCATACGCCCTACGGGGAAAGCAGGGGACCTT
CGGGCCTTGGCGGATGGATATGCCAGGTGGGATTAGCTTGTGGT
GAGGTAATGGCTACCAAGGGCGACGATCCCTAGCTGCTGAGAGGA
```

TGATCAGCCACTGGAAGTGGAGACCGGTCCAGACTCCTACGGGAG
 GCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCCTGATGCAGCCA
 TGCCCGGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCG
 AGGAGAAAGGTTGATGACACCTTACAGTACGCTGTGAGCTTACTCG
 CAGAAGAAGCACCAGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACRGT
 AGGTTGCRAGCGTAAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGC
 > KPU21_24_R
 GCACGCAGGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAAC
 CTGGGAATTGCATTTAAAAGTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGG
 GTAGAATTCAGAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAAT
 ACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGTC
 GAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCC
 GTAAACGATGTGCGATTGGAGGCTGTGTCTTGAGACGTGGCTTCCG
 GAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
 AAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCAACGCGGTGGAGCATGT
 GGTTTAATTGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGCCTTGATCATGTC
 TGGAATCCTGTAGAGATACGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAG
 GTGCTGCATGGCTGTGCTGAGCTGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAG
 TCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTGCCAGCAGCTAATG
 TGGAACTCAAGGAGACTGCGGTTAGATAAACCAGGAGGAAGGTTGGG
 ATGACGTCAGTTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTC
 TACAATGGCGCGTACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGTGAGCGAAT
 CCCAAAAAGCGCGTGTAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCC
 GTGAAGTCGGAATCGCTAGATCGCAAATCAGAATGGTGCCC
 > KLU11_16_F
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNGCTTGCTACTTTTGGCCGGCAGGCGGGGAGC
 GGTGAGTAAATGCCTGGGAAATTGCCAGTTCGAGGGGGGATAACAGTTG
 GAAACGACTGCTAATACCCGATACGCGCTACGGGGGAAAGCAGGGGA
 CCTTCGGGCGCTTGCAGGATTGGATATGCCAGGTGGGATTAGCTTGT
 TGGTGGAGTAAATGGCTACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAG
 AGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACG
 GGAGCGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCCTGATGCA
 CGCATGCGCGCTGTGTGAAGAAGCGCTTCGGGTTGTAAGCACTTTC
 AGCGAGGAGAAAGGTTGATACCTAATACGATCAGCTGTGACGTTA
 CTCGCAGAAAGACCGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGGTTAAT
 ACGGAGGTTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACG
 CAGCGGTTGGATAAGTTAGATGTGAAAG
 >KLU11.16_R
 CCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAAGTGTCCAGCTAGAGT
 CTGTGATAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATCGCTAGA
 GATCTGGAGGAATACCGTGGCCGAGGCGGCCCTTGGACAAAGACT
 GACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCT
 GGTAGTCCAGCCGTAACCGATGTCGATTGGAGGCTGTGTCTTGA
 GACGTGGCTTCCGAGCTAACCGCTTAAATCGACCGCTGGGGAGTA
 CGCCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAAATGACGGGGGCCCGCAAG
 CGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACCGCAAGAACCTTACCT
 GGCTTGACATGCTGGAATCCTGTAGAGATACGGGAGTGCCTTCGG
 GAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTCAGCTCGTGTCTGTGA
 GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAGCGCAACCCCTGTCTTCTTGTG
 CCAGCAGTAAATGGTGGAACTCAAGGGAGACTGCCGTTGATAAAC
 GGAGGAAGTGGGATGAGCTCAAGTTCATCATGGCCCTTACGGCCAG
 GGCTACACACGCTGCTACAATGGCGCTCAGAGGGCTGCAAGCTAGC
 GATAGTACGCGAAATCCCAAAGCGCTGTAGTCCGGATCGGATGTC
 TGCAACTCGACTCCGTGAAGTCCGAATCGCTAGTAAATCGCAATCAAT
 CGG
 >JB4_F
 CNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNAANACTGGNATAACTTCGGGAAACCGG
 AGCTAATNCCGGATAACATGTTGAACCGCATGGTTCAACNGTGAAG
 ACGGCTTGTCTGCTACTTA
 TAGATGGATCCCGCCCGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTAC
 CAAGGCAACGATGCGTANCCGACTGAGAGGNTGATCGGCCACACTG
 GAACTGAGACNCGTCCAGACTCCTACGGGAGGAGCANNNNNNNNNT
 CTTCGGCAATGNGCGAAAGCCTGACGGNCAACCGCCGCTGAGTNAN
 GAANGTCTCANNPCGTAATAACTCTGTTATTAGGGAAGAACNNNTGT
 GTAAGTNNCTNTGCAGCTCTTACNGNCCATAACAGAAAGNACCGG
 NTAACTACNTGNCAGCNGCANNNNNNNTNNNNANGNGNAAGNPTN
 NCCGGNATTANTGGNGTAANGNGCGCANNNNNNNGTTTTTAN
 >JB4_R
 CCGCNTATNCTANGNCNGCNTTTCANANNAGGNGGNGNNGNANN
 CTGTTTTCCAGTTCNGGGGNNAAATCCGAACGAGAACAACCTTTATG
 GGATTTGCTGACCTCGCGGTTTCGCTACCCCTTGTATTGTCCATTG
 TAGCACGTGTGAGCCCAATATAAGGGCATGATGATTTGAGCTC
 ATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGAGTCAACTTAGAGTGC
 CACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGTTGCGCTGTTGCGGGA
 CTTAACCAACATCTCACGACAGGACTGACGACAACCATGACCCAC

CTGTCACTCTGTCCCCGAAGGGGAAAACCTATCTCTAGAGGGNTC
 AGAGGATGTCAAGATTGGTAAGGTTCTTCGGGTTGCTTCGAATTA
 ACCACATGCTCAACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAG
 TTTTCAACCTTGGGGTCTGACTCCCCAGGNGNAGTGCTTAATGCG
 TTAGA
 >KPU2213_F
 CGNCTNGTNCNNNGCAGGNNCNTTCANNANCGGNAANNNNNNNAAGN
 GNGGTTTCNCCGGNNGGGGGGNGCGTGGGGGATAACTTAGGGAAC
 TTACGCTAATACCGCATAACGACTACGGGTGAAAGCAGGGGACCTTC
 GGGCTTGCAGGATTGAAT
 GAGCCGATGTGCGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCCAACAGG
 CGAGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAC
 GAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGACGAGTGGGGAATATTGT
 NTNNNTGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATACCGCGTGGGTGAAGAAG
 NCTTCGGNTTGTAAAGCCCTTTTGTGNNAAAGAAATCCAGCCGGCT
 AAAACCTGGTGGATGACGGTACCGTACCGGTAAGCAAGCAGCCGTAAC
 TTCGTGCCACCAGCCGCGTAATACGAAGGGTGAAGCGTNACTCGG
 AATNACTGGGNGTAAANGCNTGCCGTAGGNGGTNAATTNANGCCC
 >KPU2213_R
 CCGGANNTTTCCTCAGNACAGGCTGTTTCANNNNNGGGGGGNNNG
 NNAACNTNCTGNTTNCNAGTTGGGGGNGNNAATCCGGACTGAGATA
 GGGTTTCTGGGATTGGCTTACCGTCCCGGCTTGCAGCCCTCTGTCC
 CTACCATTTGTAGTACGTTGTAGCCCTGGCCGTAAGGGCCATGATGA
 CTGACGCTATCCCCACCTTCTCCGGTTGTTCACGGCCGCTCTCT
 TAGAGTTCACCACATACGTTGCTGGCAACTAAGGACAAGGTTGCGC
 TCGTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAG
 CCATGCAGCAGCTGTGTTGAGTTCGCCAAGGACCCATCCATCTCT
 GGAAGTTCGACATGTCAAGGCCAGGTAAGGTTCTTCGGGTTGCA
 TCGAATTAACCACATACTCCACCGCTGTGCGGGGCCCCGTCAAAT
 CCTTTGAGTTTCACTTTCGACCGTACTCCCCAGGCGCGAANTTA
 ACGCGTTAGCTTCGATAC
 >KPU218_F
 CGGCATGAGCAGCGTGGCGGAGCATCACTTCAACTATGTGCTTCGTT
 CCTGCCTATTAGAGAGGCACAGTTTCCGGGAGCGCTAATCCCGTA
 TACGTCCTACTGTAGAAACCGGGGACCTTTGGTCTTGGCCATAC
 GATGAGCCTTTGTCGGAGTACCTGGTGGTAGGGTAAAGCCCTACCG
 AGGCCACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGG
 TCTGACACACGGCCATACTCCTACGGGAGGACCGTGGGGAATAT
 TGGATAATGTTTTGTACCCTGATCCAGCCATGCCCGTGTGTGAAGA
 CGGCTATTGATTAATAACTCACTTAAAGCAAGGAGGCTACCTAG
 ATTAATNTCCCGCCTTCTCCGAGGCTGTCATGCAAGCAAGAACTGGC
 CACTCTGTGCCAGCAGCCGCGATAATACAGAGGTTGCGAGCGTTAA
 TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGCAAG
 >KPU218_R
 CCGGAANTTCCGGGCGCCTNCTGATCCCGGNTTACTAGCGATTCCG
 ACTTCATGTAGTTCGAGTTCAGACTACAATCCGGACTNCGATCGGCT
 TTTTGGATTAGCNCACATCGCNGTGTNGCAGCCCTTTGTACCAGC
 CATTGTAGCAGTGTGTAGCCCTGGCCGTAAGGGCCATGATGACTT
 ATTAATNTCCCGCCTTCTCCGAGGCTGTCATGCAAGCAAGAACTGGC
 AGTNCACCCGAANNCTGNNAATAAAGGAAAGGNTTGCNGTCG
 TNGCCGNANTTAACCAACNTCTNACGACACGAGNTGANNACGCCN
 TGNNCACTGTGTATCATAGTNCAGGAGGACNAANTCATCTCTGG
 GANGTCTTGTGNTGNTGCAAAAGCAGGTAAGGTTCTTCNNGTTG
 TTCGAANTNAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAA
 TTCNTTTTGGATTTNAATCTTGCAGCCGACTCCCCAGGGGGANTAC
 TTATGGCGTAACCTGCCCCACTAAAGCCTCAAAGNCCCNACGC

Analisis dilakukan dengan melakukan BLAST [13] untuk nukleotida menggunakan *database Reference Genomic Sequence* dan *16S Microbial* dengan tidak mengikutsertakan sampel model dan lingkungan dalam *database* tersebut. Sekuen *Gene Bank* yang paling mirip; dicirikan dengan nilai *Max Score* dan *Total Score* sama, *Query Coverage* mendekati 100%, *E-value* mendekati 0, dan *Max Ident* mendekati 100%; pada setiap *database* kemudian diunduh dan dikonstruksi filogeninya dengan CLUSTALW2 [14]. Sekuen yang paling dekat

dengan sampel merupakan sekuen yang kemiripannya paling tinggi.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan dua *database* yang digunakan, diperoleh beberapa bakteri, namun semuanya tidak terdata sebagai bakteri penghasil kitosanase. Bakteri tersebut juga tidak menunjukkan kemiripan yang identik dengan sampel. Oleh karena itu, sampel berpeluang menjadi strain baru asli Indonesia yang belum terpublikasi.

Dalam membaca hasil tersebut, *Query Coverage* adalah parameter yang penting karena menilai dalam persen sekuen dalam *database* menutupi *query*, yang memastikan apakah sampel tertutup

semuanya oleh sekuen. Persentase yang dapat diterima minimal 95%, kecuali untuk sekuen yang bacaannya lebih rendah diberlakukan minimal 75%. Apabila nilai *E-Value* semakin mendekati nol, hasilnya akan lebih terpercaya dan bila nilainya 1, maka tidak boleh digunakan.

Beberapa hasil pembacaan pada Tabel 1 memberikan hasil genus yang sama, bahkan beberapa berada pada tingkat spesies yang sama. Namun beberapa ada yang berbeda. Perbedaan ini dapat dipecahkan dengan CLUSTALW2 untuk pensejajaran sekuen-sekuen yang dihasilkan, untuk kemudian dibuat filogeninya. Filogeni ini diperlukan karena merupakan salah satu cara yang penting untuk pembacaan sekuen mana yang paling dekat dengan sampel.

Tabel 1. Hasil BLAST Sekuen 16S RNA di NCBI

Sampel	16S Microbial Database	Reference Sequence Genomic Database
T5a1	<i>Micromonospora chalcea</i> strain 1464-217L	<i>Micromonospora</i> sp. L5
KPU 21.24	<i>Aeromonas media</i> strain RM <i>Aeromonas hydrophila</i> strain CCM 7232; ATCC 7966 <i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. ranae strain : CIP	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. salmonicida A449
		<i>Aeromonas veronii</i> B565 <i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. hydrophila ATCC 7966
KLU 11.16	<i>Aeromonas molluscorum</i> strain 848 <i>Aeromonas media</i> strain RM <i>Aeromonas hydrophila</i> strain CCM 7232; ATCC	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. salmonicida A449
		<i>Aeromonas veronii</i> B565 <i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. hydrophila ATCC 7966
JB4	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. urealyticus strain MAW 8436	<i>Staphylococcus epidermidis</i> RP62A <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228
KPU 2213	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> strain IAM 12423 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> strain ATCC 19861 <i>Pseudomonas geniculata</i> strain ATCC 19374	<i>Burkholderia</i> sp. JV3
		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> R551-3 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> K279a
KPU 218	<i>Acinetobacter radioresistens</i> DSM 6976	<i>Acinetobacter baumannii</i> AB307-0294 <i>Acinetobacter baumannii</i> AB0057

Tabel 2. Hasil Identifikasi Mikroba dengan Tree View

Sampel	Mikroba Teridentifikasi
T5a1	<i>Micromonospora</i> sp. L5
KPU 21.24 & KLU 11.16	<i>Aeromonas veronii</i> B565
JB4	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228
KPU 2213	<i>Burkholderia</i> sp. JV3
KPU 218	<i>Acinetobacter baumannii</i> AB307-0294

Micromonospora sp. L5—Bakteri ini diisolasi dari akar *Casuarina equisetifolia*, tanaman actinorhizal yang dinodulasi oleh *Frankia* yang diketahui berperan untuk mengubah nitrogen atmosfer menjadi ammonia [15]. Spesies *Micromonospora* sp. dapat hidup secara saprofit (hidup di jaringan mati) dan berpotensi simbiosis. Habitat dapat ditemukan di tanah, sedimen, lingkungan air tawar, air laut, tambak, dan bahkan dalam rumen ternak [16]. *Taxonomy*: Bacteria; Actinobacteria; Actinobacteria (class); Actinobacteridae; Actinomycetales; Micromonosporineae; *Micromonosporaceae*; *Micromonospora*.

Aeromonas veronii B565—*Aeromonas* spp. adalah bakteri gram-negatif yang berbentuk batang yang ditemukan di seluruh lingkungan perairan di seluruh dunia, bahkan termasuk dalam air kemasan, air teroklorinasi, dan air tercemar. *A. veronii* strain B565 diisolasi dari kolam budidaya di Tianjin, Cina [16]. *Taxonomy*: Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Aeromonadales; *Aeromonadaceae*; *Aeromonas*; *Aeromonas veronii*; *Aeromonas veronii* B565.

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228—*Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri kokus Gram-positif nonmotil yang tumbuh dalam kondisi aerobik dan anaerobik dan membentuk koloni seperti anggur. Jumlahnya yang besar dan distribusi yang luas menjadikan bakteri ini salah satu mikroba yang paling sering terisolasi di laboratorium klinis. *S. epidermidis* (strain ATCC 12228) tidak dapat membentuk biofilm [16]. *Taxonomy*: Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; *Staphylococcaceae*; *Staphylococcus*; *Staphylococcus epidermidis*.

Burkholderia sp. JV3—*Burkholderia* dikenal sebagai mikroba yang paling serbaguna yang mensintesis lebih dari 200 senyawa organik, memperbaiki N₂, dan membawa beberapa resistensi antibiotik. *Burkholderia* sp. diisolasi pada tahun 1958 dari sebuah tanah hutan di Trinidad [16]. *Taxonomy*: Bacteria; Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; *Burkholderiaceae*; *Burkholderia*.

Acinetobacter baumannii AB307-0294—*Acinetobacter baumannii* umum ditemukan di lingkungan rumah sakit dan pasien yang sedang di rawat. Bakteri ini bersifat patogen pada manusia dan biasanya menginfeksi pada daerah luka, sistem pernafasan, dan urin [16]. *Taxonomy*: Bacteria;

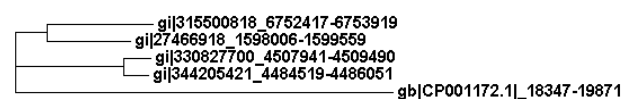
Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; *Moraxellaceae*; *Acinetobacter*; *Acinetobacter calcoaceticus/baumannii* complex.

Kelima mikroba tersebut dalam *Gene Bank* [17] tidak memiliki gen penyandi kitosanase, tetapi mempunyai gen kitinase. Ketidakhadiran gen kitosanase pada setiap genome mikroba yang teridentifikasi dapat menandakan bahwa lima mikroba tersebut adalah bakteri baru yang belum tersekuen gen kitosanasanya

Tabel 3. Gen Kitinase pada Mikroba Teridentifikasi

Bakteri	Gen Terkait
<i>Micromonospora</i> sp. L5	Kitinase (ML5_2712); gi 315500818: 2840251-2842803
<i>Aeromonas veronii</i> B565	Kitinase (<i>putative</i>); gb CP002607.1:2263709-2265172 Kitinase 92; gb CP002607.1:929673-932267 Kitinase A; gb CP002607.1:934136-936748
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Kitinase B; gb AE015929.1: 749934-750251
<i>Burkholderia</i> sp. JV3	Kitinase A; gb CP002986.1: 620845-622944 Kitinase; gb CP002986.1: 3107298-3108488
<i>Acinetobacter baumannii</i> AB307-0294	Polysaccharide deacetylase family protein (Predicted xylanase/chitin deacetylase); gb CP001172.1: 146545-147510 Polysaccharide deacetylase family protein (Predicted xylanase/chitin deacetylase); gb CP001172.1: 586979-587734

Micromonospora sp. L5 dan *Burkholderia* sp. JV3 mempunyai jenis kitinase yang sama. Jenis kitinase yang *putative* dimiliki oleh *Aeromonas veronii* B565 yang juga mempunyai kitinase A dan 92. Kitinase A ini juga dimiliki oleh *Burkholderia* sp. Berbeda lain dengan *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 yang mempunyai kitinase B. Pada *Acinetobacter baumannii* AB307-0294, tidak ditemukan baik gen kitosanase maupun kitinase. Namun demikian, terdapat gen penyandi protein yang diprediksi sebagai kitin deasetilase.



Gambar 1. Tree View Mikroba yang Teridentifikasi

Dengan menggunakan *database* lain untuk protein, UNIPROT [18] dari lima mikroba di atas hanya spesies *Burkholderia* sp. JV3 yang genusnya, *Burkholderia*, terdaftar sebagai penghasil protein kitosanase. Di antaranya adalah: *Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas marginata*) (*Phytomonas marginata*) dan *Burkholderia gladioli* (strain BSR3) yang mempunyai kitosanase A, serta *Burkholderia rhizoxinica* (strain DSM 19002/CIP 109453/HKI 454) dengan kitosanase (EC 3.2.1.132).

Tree view dari lima kandidat mikroba yang teridentifikasi, dengan menggunakan *query* 16S rRNA, menggambarkan bahwa sampel KPU 218 yang teridentifikasi sebagai *Acinetobacter baumannii* AB307-0294, memiliki kekerabatan yang paling jauh dengan empat mikroba lain. Sampel T5a1 yang teridentifikasi sebagai *Micromonospora* sp. L5 lebih dekat dengan sampel JB4 yang teridentifikasi sebagai *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. KLU 11.16 dan KPU 21.24 yang teridentifikasi sebagai *Aeromonas veronii* B565 lebih dekat dengan sampel KPU 2213 yang teridentifikasi sebagai *Burkholderia* sp. JV3.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil identifikasi filogeni (kekerabatan) 6 sampel 16S rRNA diketahui bahwa keenam sampel tidak identik dengan *database* di *Gene Bank*, namun mempunyai kemiripan dengan 5 bakteri, yaitu *Micromonospora* sp. L5, *Aeromonas veronii* B565, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Burkholderia* sp. JV3, dan *Acinetobacter baumannii* AB307-0294. Kelima mikroba tersebut dalam *Gene Bank* memiliki gen penyandi kitinase, yang erat hubungannya dengan kitosanase. Ketidakhadiran gen kitosanase pada setiap genome mikroba yang teridentifikasi dapat menandakan bahwa lima mikroba tersebut adalah bakteri baru yang belum tersekuen gen kitosanasanya. Hal ini dapat memberikan peluang untuk eksplorasi dan publikasi sekuen ke *Gene Bank* dan menambah kepustakaan gen dunia.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] National Center for Biotechnology Information (2011). Terdapat *online* di <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (1 Februari 2011).
- [2] Pharmaexecnews.com (2009). Bioinformatics: Analysis Of Market And Developments. Terdapat di <http://pharmaexecnews.com/tag/importance-of-bioinformatics/> (13 Februari 2011).
- [3] Teknat (Teknik Och Naturvetenskap) (2008). *Bioinformatics*. Uppsala Universitet. Terdapat di <http://www.teknat.uu.se/forskning/program.php?vetenskapsid=1&hforskomr=6&id=81&lang=en> (5 Februari 2011).
- [4] Jhala, M.K., *et al.* (2011). Role of Bioinformatics in Biotechnology. Information Technology Centre, GAU, Anand. Terdapat di http://openmed.nic.in/1383/01/Role_of_Bioinformatics_in_Biotechnology.pdf (5 Februari 2011).
- [5] Luscombe, M.L., *et al.* (2001). What is bioinformatics? An introduction and overview. *Yearbook of Medical Informatics*, pp. 83-100. Terdapat di <http://papers.gersteinlab.org/e-print/whatis-imia/text.pdf> (8 Februari 2011).
- [6] Enzyme Commission. 2011. Chitosanase EC 3.2.1.132. Terdapat *online* di <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme> (8 Februari 2011).
- [7] Li, H. & Greene, L.H. (2010). Sequence and Structural Analysis of the Chitinase Insertion Domain Reveals Two Conserved Motifs Involved in Chitin-Binding. *PLoS One*. **5** (1): e8654.
- [8] Yang, J., *et al.* (2010). Crystal structure and mutagenesis analysis of chitinase CrChi1 from the nematophagous fungus *Clonostachys rosea* in complex with the inhibitor caffeine. *Microbiology*. **156**: 3566-3574.
- [9] Gerstein, M. (2011). *Bioinformatics: Introduction*. Yale University. Terdapat di <http://bioinfo.mbb.yale.edu/mbb452a/intro/> (6 Februari 2011).
- [10] Nilges, M. & Linge, J.P., (2011). Bioinformatics: a definition. Unité de Bio-Informatique Structurale, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, F-75015 Paris, France. Terdapat di http://www.pasteur.fr/recherche/unites/Binfs/definition/bioinformatics_definition.html (10 Februari 2011).
- [11] Beier, S., *et al.* (2011). Global Phylogeography of Chitinase Genes in Aquatic Metagenomes. *Applied and Environmental Microbiology*. **77** (3): 1101-1106.
- [12] Sitrit, Y., *et al.* (1995). Cloning and Primary Structure of the *chiA* Gene from *Aeromonas caviae*. *Journal of Bacteriology*. **177** (14): 4187-4189.
- [13] BLAST (2011). Terdapat *online* di <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (18 Februari 2011).
- [14] CLUSTALW2 (2011). Terdapat *online* di <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/> (20 Februari 2011).
- [15] US Department of Energy [DOE] (2011) *Micromonospora* sp. L5. Proyek *DOE Join Genome Institute*. Kerjasama US Department of Energy, Office of Science, dan University of California. Terdapat di http://genome.jgi-psf.org/mic_l/mic_l.home.html (1 Oktober 2011).

- [16] HAMAP. Swiss Institute of Bioinformatics (2011). Terdapat di <http://192.33.215.45/sprot/hamap/MICSL.html> (1 Oktober 2011).
- [17] Gene Bank (2011). Terdapat *online* di <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (25 Februari 2011).
- [18] UNIPROT (2011). Terdapat *online* di <http://www.uniprot.org> (25 Februari 2011).