PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI III UNIVERSITAS GADJAH MADA

"Bioteknologi untuk Indonesia yang Lebih Baik"

CropLife INDONESIA
Representing the Plant Science Industry

Auditorium Sekolah Pascasarjana UGM, 31 Oktober 2015

Program Studi S2/S3 Bioteknologi
Sekolah Pascasarjana UGM

PROSIDING

Seminar Nasional Bioteknologi III
Universitas Gadjah Mada

BIOTEKNOLOGI UNTUK INDONESIA YANG LEBIH BAIK

Sekolah Pasca Sarjana UGM, 31 Oktober 2015

KEYNOTE SPEAKERS
Prof. Hiroyuki Ohta
(Ibaraki University College of Agriculture, Japan)
Prof. Hisakazu Yamane
(Teikyo University, Japan)
Prof. Hideaki Nojiri
(The University of Tokyo, Japan)

REVIEWERS
Prof. drh. Widya Asmara, SU, Ph.D
Ir. Donny Widianto, Ph.D
Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc
Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si

Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Utara, Pogung, Yogyakarta, 55281,
Telp : 0274-564239, 544975, 555881
E-mail : sps@ugm.ac.id
http://pasca.ugm.ac.id

PROSIDING
SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI III
UNIVERSITAS GADJAH MADA

Tema
Bioteknologi Untuk Indonesia Yang Lebih Baik

Sekolah Pasca Sarjana UGM, 31 Oktober 2015

Keynote Speaker	:	- Prof. Hiroyuki Ohta (Ibaraki University College of Agriculture, Japan) - Prof. Hisakazu Yamane (Department of Biosciences, Teikyo University, Japan) - Prof. Hideaki Nojiri (Biotechnology Research Center, The University of Tokyo, Japan)
Reviewer	:	- Prof. drh. Widya Asmara, SU, Ph.D - Ir. Donny Widianto, Ph.D - Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc - Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si
Editor	:	Dinar Mindrati Fardhani, SP. M.Biotech
Cover Design dan Lay Out	:	Lintang Pustaka Utama
Cetakan I	:	Juni 2016
Publisher	:	Sekolah Pascasarjana UGM
Alamat	:	Jl. Teknika Utara, Pogung, Sleman, Yogyakarta 55281
Email	:	sps@ugm.ac.id; biotech@ugm.ac.id
Website	:	http://pasca.ugm.ac.id; //biotech.ugm.ac.id

ISBN: 978-602-8683-09-8

All right reserved
No part of this publication may be reproducted without written permission of the publisher

KATA PENGANTAR

Prosiding seminar ini disusun sebagai media komunikasi hasil penelitian yang telah disajikan dalam Seminar Nasional Bioteknologi Universitas Gadjah Mada 2015.

Kami mengucapkan terima kasih kepada para penyaji hasil penelitian yang telah menyatakan kesediaan agar artikel hasil penelitiannya dipublikasikan dalam prosiding seminar ini.

Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. drh. Widya Asmara, SU, Ph.D., Ir. Donny Widianto, Ph.D., Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc., dan Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si atas kesediaan untuk menjadi penelaah bagi artikel hasil penelitian yang dipublikasikan dalam prosiding seminar ini.

Kami memohon maaf apabila terdapat banyak kekeliruan yang mungkin terdapat dalam prosiding seminar ini.

Akhir kata, semoga informasi yang termuat dalam prosiding seminar ini dapat bermanfaat bagi pengembangan bioteknologi di Indonesia.

Koordinator Panitia,

M. Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D

YOGYAKARTA
31 OKTOBER 2015

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR iii
DAFTAR ISI iv
KEPANITIAAN vii
SUSUNAN ACARA viii

Isolasi, Purifikasi dan Kultur Protoplas Mesofil Daun Talas (*Colocasia esculenta L.*) 1
Andri Fadillah Martin, Aida Wulansari, Betalini Widhi Hapsari, dan Tri Muji Ermayanti*

Potensi Pengembangan Primer Dengue dengan Metode LAMP secara Bioinformatika 18
Deodatus Kardo Girsang, Asmarani Kusumawati

Hsa-miR-21-5p Expression as Predictive Marker for Minimal Invasive Treatment of Breast Cancer in Post Therapy Patients 31
Dewi Sahfitri Tanjung, Sofia Mubarika Haryana, Teguh Aryandono, Indwiani Astuti, Sumadi Lukman Anwar, Tirta Wardana, Dinna Rakhmina

Prospek Pengembangan Primer Deteksi Virus Dengue Metode *Nucleid Acid Sequence Based Amplification* dan *Lateral Flow Dipstick* Secara Bioinformatika 47
Dhian Prastowo, Asmarani Kusumawati, Siti Rahmah Umniyati

Identifikasi *Salmonella* sp pada Sampel Susu Sapi Segar dengan Multiplax-PCR Menggunakan Penanda Gen invA dan spvC 56
Dircia Canisia dan Charis Amarantini

Penyisihan Limbah Fosfat dari Deterjen Air Buangan Cucian dengan Fitoremediasi pada Wetland Artifisial 69
Ernastin Maria, Agus Prasetya, Wahyu Wilopo

Uji Daya Bersih Ekstrak Air Daun Mengkudu (*Morinda citrofolia* L) Sebagai Pembersih Alami Dengan Metode *Clean In Place* (CIP) 81
Evi Triana, Sri Hartin Rahaju dan Novik Nurhidayat

Kajian Potensi Ekstrak Air Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Sebagai Pembersih Alami dengan Metode *Clean In Place* (CIP) 98
Evi Triana, Titin Yulinery, Novik Nurhidayat

Rancangan Probe untuk Deteksi Virus Jembrana Berdasarkan Region Probe JC2 Gen gag-ca Jembrana Disease Virus 117
Asmarani Kusumawati, Fatimah, Renny A.M. Kaitu, Sri Hartati

Uji Kandungan Metabolit Sekunder Aktinomisetes Asal Rizosfer Mangrove Manokwari Papua 123
Maria Massora, Hermawaty Abubakar, Murtihapsari, Mey Rumbiak, Tati, dan Elvin Ismawaty

Preferensi Wereng Coklat Terhadap Beberapa Varietas Padi 136
Moh. Cholil Mahfud

Analisis Genetik Padi dengan Beragam Kandungan Amilosa Berdasarkan Marka DNA Mikrosatelit 146
Muhammad Aziz Muslim, Suprayogi

Aktivitas Antibakteri dan Kandungan Flavonoid Ekstrak Daun *Piper* spp. Terhadap *Streptococcus mutans* Smc Penyebab Karies Gigi Manusia 163
Nindy Permatasari, Rarastoeti Pratiwi, Langkah Sembiring

Aplikasi Bioinformatika pada Penentuan Pola Ekspresi Gen Penentu Kelamin pada Unggas Secara *in Silico* 177
Ninik Istiyawati, Asmarani Kusumawati

Kandungan Antosianin pada Buah-Buahan Tropis Indonesia 182
Novi Febrianti, Risanti Dhaniaputri, Irfan Yunianto

Pengujian Antagonis Bacillus subtilis dan Pseudomonas diminuta Asal Spora Endomikoriza Terhadap Cendawan Patogen Daun Merbau, Sterkulia dan Ketapang Secara *in-Vitro* 189
Nunang Lamaek May

Komparasi in Silico Sekuens PCDNA-Ca dengan Sekuens Capsid Lentivirus Sebagai Kandidat Vaksin DNA 198
Asmarani Kusumawati, Renny A.M. Kaitu, Fatimah, Sri Hartati

Respon Fisiologis dan Anatomis Padi (*Oryza sativa* L.) 'Cempo Merah' terhadap Pemberian Abu Vulkanik pada Ketersediaan Air Berbeda 207
Diah Rachmawati, Siti Rohmahwati, Maryani, dan Eko Hanudin

Seleksi Strain Penghasil Biopigmen dari Isolat Mikroalga Daerah Istimewa Yogyakarta untuk Produksi Senyawa Aktif dalam Proteksi UV-A 222
Sri Rahayu, Fahrunnida, Eko Agus Suyono

Respon Morfogenesis Zaitun (*Olea europaea*) pada Optimasi Media OM (*Olive Medium*) dan WPM (*Wood Plant Medium*) 232
Tintrim Rahayu

Peluang Ekonomi Penggunaan Ciplukan (Physalis angulata L) Sebagai Abate Alami 242
Wahyu Setya Ratri, dan M. Th. Darini

Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Flavonod Umbi Gembili Kasar dan Halus (*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burk. "spinosa" dan "fasciculata") 253
Woro Anindito Sri Tunjung, Rifqi Zahroh Janatunaim, Nur hanifah

Profil Protein pada Kultur Pucuk *Datura metel* L.
yang mengalami Cekaman Cu secara *in vitro*..... 264
Yulita Nurchayati dan Ari Indrianto

Induksi embrio somatik pada anggrek hibrida *Phalaenopsis*
"Sogo Vivien"dengan penyisipan gen *AtRKD4*
melalui *Agrobacterium tumefaciens* 272
Endang Semiarti, Aziz Purwantoro, Sukarti Moeljopawiro,
Pauline D. Kasi, Exsyupransia Mursyanti,
dan Jose F. Gutierrez-Marcos

Pertumbuhan Ayam Broiler Yang Diberi *Amorphopallus Sp.*
Yang Difermentasi dengan *Rhyzopus oligosporus*.....289
Theresia Nur Indah Koni, Tri Anggarini Y. Foenay

Isolation and Selection of Sponge Associated Fungi for Against
Cervical Cancer Cell Line (HeLa) 302
G. A. Pertiwi, R. Aditya Aryandi, Abrory. A. C. Pramana,
Achmad Shafly, Hendy Eka Putra, Nastiti Wijayanti

Deteksi Molekuler Salmonella sp pada Minuman Es Teh yang
Dijual di Kota Yogyakarta 314
Daniel Ridwan Arif Saputra dan Charis Amarantini

Preservasi Tiga Kultivar Talas (Colocasia esculenta (L.) Schott
secara In Vitro dengan Perlakuan Asam Absisat
pada Suhu Rendah dan Suhu Ruang 326
Siti Noorrohmah, Aida Wulansari, Andri Fadillah Martin,
dan Tri Muji Ermayanti

KEPANITIAAN

Pengarah : Prof. dr. Iwan Dwiprahasto, M.Med. Sc., Ph.D

Penanggungjawab : Prof. Ir. Suryo Purwono, MA. Sc., Ph.D

Ketua Panitia : Dr. Muhammad Saifur Rohman, SP., M.Si., M.Eng

Sekretaris : Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc
Dinar Mindrati Fardhani, SP., M.Biotech
Ari Surya Sukarno, S.Pt
Tukijo

Bendahara : Joko Budisantoso, S.Psi

Seksi Ilmiah : Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si
Dr. Tri Rini Nuringtyas, M.Sc
Ardiansyah. S.Si., M.Si
Puput Putri Nurbasari, SP

Seksi Acara : Ajeng Dara Pramita, SP
Dini Astika Sari, S.Si
Noor Fadhilla Praminati, S.Si

Seksi Publikasi dan Dokumentasi:
Nasrulloh Harino A.G, S.Si
Margo Sulistio, S.Si
Isnaniar Hikmah Noorvitri, S.Si

Seksi Konsumsi : Arsiyah
Tri Purwanti
Anisa Nazera Fauzia, S.Si

Seksi Perlengkapan : Kaselan
Tony Ruwaedi, SIP
Sujono
Istarto

Susunan Acara

SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI III
Auditorium Sekolah Pascasarjana UGM
Yogyakarta, Indonesia
Sabtu, 31 Oktober 2015

Waktu	Acara
08.00 – 08.30	Registrasi
08.30 – 09.00	Pembukaan oleh MC
	Menyanyikan Lagu Indonesia Raya dan Hymne Gadjah Mada
	Laporan Ketua Pelaksana **(M. Saifur Rohman, M.Si., M. Eng., Ph.D)**
	Sambutan dan Pembukaan Semnas Bioteknologi III 2015 **(*Caretaker* Direktur Sekolah Pascasarjana - Prof. Dr. Iwan Dwiprahasto, M. Med. Sc., Ph.D)**
	Performance Art
09.00 – 10.30	Sesi Pembicara Tamu I **(Moderator: Prof. Ir. Irfan Dwidya Prijambada, M. Eng., Ph.D)** **1. Prof . Hiroyuki Ohta, Ph.D (*Ibaraki University, Japan*)** *"Biology of fungus-endobacterium interactions : From genomics to engineering"* **2. Prof. Hisakazu Yamane, Ph.D *(Teikyo University, Japan*)** *"Biosynthesis of phytoalexins and its regulatory mechanism in rice"*

10.30-10.45	• Penyerahan kenang-kenangan kepada pembicara tamu • Sesi foto bersama
10.45-11.00	*Coffee break*
11.00 – 13.00	Sesi Paralel I **Klaster Agro** **Klaster Kesehatan** **Klaster Lingkungan & Industri**
13.00 – 14.00	Ishoma
14.00 – 15.15	Sesi Paralel II **Klaster Agro** **Klaster Kesehatan** **Klaster Lingkungan & Industri**
15.15 – 15.45	Sesi Poster
15.45 – 16.30	Sesi Pembicara Tamu II **(Moderator: Ir. Jaka Widada, M.P., Ph.D)** **Prof. Hideaki Nojiri, Ph.D (*The University of Tokyo, Japan*)** *"Plasmid, a key agent for evolution of environmental bacteria"*
16.30 – 16.35	Penyerahan kenang-kenangan kepada pembicara
16.35 – 16.40	Pengumuman Pemakalah Poster dan Pemakalah Oral terbaik Seminar Nasional Bioteknologi III Universitas Gadjah Mada 2015
16.40 – 17.00	• Penutupan • Pengambilan Sertifikat • *Coffee break*

UJI KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER AKTINOMISETES ASAL RIZOSFER MANGROVE MANOKWARI PAPUA

Maria Massora [1)], Hermawaty Abubakar [1)], Murtihapsari [2)], Mey Rumbiak[1)], Tati[1)], dan Elvin Ismawaty[1)]
Email: ria_massora@yahoo.co.id

ABSTRAK

Papua memiliki lahan Mangrove terluas di Indonesia. Eksplorasi sumberdaya hayati Papua, memungkinkan untuk mendapatkan isolat-isolat Aktinomisetes yang menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang dihasilkan Aktinomisetes berpotensi digunakan untuk industri farmasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi Aktinomisetes asal rizosfer mangrove Papua Barat serta menguji kandungan metabolit sekundernya. Isolasi Aktinomisetes dari sampel tanah rizosfer dilakukan dengan metode *pour* dan *spread plate* untuk mendapatkan koloni tunggal. Ekstraksi metabolit sekunder dilakukan dengan metode fermentasi. Isolat difermentasi selama 11 hari, kemudian diekstraksi dengan pelarut etil asetat. Uji kandungan metabolit sekunder yang meliputi uji alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan steroid, dilakukan dengan metode uji warna dengan beberapa pereaksi. Pada penelitian ini ada 16 isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi dan dipurifikasi. Berdasarkan karakterisitik morfologi dan fisiologi, isolat-isolat tersebut merupakan strain *Streptomyces spp*, *Actinomyces spp* dan *Nocardia spp*. Hasil uji menunjukan beberapa aktinomisetes asal mangrove Papua Barat positif mengandung metabolit sekunder alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin. Sedang untuk uji steroid, dari semua isolat semua menunjukkan hasil negatif.

Kata kunci : Aktinomisetes, Metabolit Sekunder, Mangrove, Rizosfer, Papua.

[1)]Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA - Universitas Papua (UNIPA)
Jalan Raya Amban – Manokwari Papua Barat, 98313
[2)]Laboratorium Kimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA - Universitas Papua (UNIPA)
Jalan Raya Amban – Manokwari Papua Barat, 98313

PENDAHULUAN

Hutan mangrove merupakan salah satu sumberdaya alam sangat potensial karena hutan mangrove memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan nilai ekologis yang penting, sehingga keberadaannya perlu dilestarikan. Lahan mangrove terluas terdapat di Papua dengan luasan sekitar 1.350.600ha (38%), Kalimantan 978.200 ha (28%) dan Sumatera 673.300 ha (19%) (Wetland International, 1999 dalam Sihite, 2005). Mangrove memiliki kemampuan khusus untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ekstrim, seperti kondisi tanah yang tergenang, kadar garam yang tinggi dan kondisi tanah yang kurang stabil. Untuk bertahan hidup dengan kondisi lingkungan tersebut, mangrove mengembangkan beberapa mekanisme pertahanan pada bagian akar dengan melepaskan komponen organik dan anorganik yang mengakibatkan melimpahnya jumlah dan aktivitas mikrobia di bagian rizosfer akar, yang dikenal dengah istilah efek rizosfer (Bolton *et al.*, 1993; Rao, 1994).

Rizosfer didefinisikan sebagai bagian tanah yang berbatasan dengan akar atau dipengaruhi oleh aktivitas akar (Bolton *et al.*, 1993). Pada umumnya populasi mikrobia pada rizosfer jauh lebih tinggi dibandingkan populasi pada bagian tanah lainnya. Keanekaragaman mikrobia di bagian rizosfer mangrove, khususnya di wilayah pulau pesisir sangat mendukung pertumbuhan mangrove (Yuliana *et al*, 2012).

Aktinomisetes merupakan kelompok mikrobia yang paling banyak menghasilkan metabolit sekunder seperti antibiotika (Atlas, 1998). Selain itu hasil penelitian Sosovele *et al.* (2012) dan Ismawaty *et al.* (2013) menunjukkan bahwa isolat aktinomisetes dari yang diisolasi dari spons laut dan sedimen mangrove dapat mematikan parasit *P.falcifarum* galur 3D7 secara *in vitro (*Sosovele *et al.* ,2012).

Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang dihasilkan mikrobia, tumbuhan, atau hewan yang tidak secara langsung terlibat dalam pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi. Metabolit sekunder merupakan produk spesifik dari setiap spesies. Metabolit sekunder biasanya dapat divisualisasi dari warna, bau, dan rasa yang dihasilkan dari senyawa kimia. Metabolit sekunder ini dapat dimanfaatkan untuk pembuatan obat, insektisida, pewangi dan lain-lain (Sunaryanto, 2011). Penelitian bertujuan untuk mengisolasi Aktinomisetes asal rizosfer mangrove Papua Barat serta mengetahui kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan.

METODOLOGI

2.1 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel rizosfer mangrove yang diambil dari Bintuni, Maripi dan Biak Numfor Papua, Medium *Bennett's Agar,* Medium Starch

Casein Agar (SCA), Medium Yeast Ekstrak Malt Agar (YEMA). Kedua media, masing-masing ditambah 1.0 µg ml^{-1} sikloheksimida dan 50.0 µg ml^{-1} nistatin untuk meminimalkan kontaminasi fungi, Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggojok, termometer, mikroskop cahaya, cawan petri, inkubator, autoklaf, dan alat-alat gelas.

2.2 Isolasi dan Purifikasi Aktinomisetes

Sampel tanah rizosfer diambil secara aseptis dengan menggunakan metode acak. Satu gram sampel tanah dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis steril, kemudian digojok selama lima menit. Suspensi ini merupakan pengenceran 10^{-1}. Suspensi tersebut lalu ditempatkan dalam *waterbath* pada suhu 50-60° C selama 15 menit. Isolasi aktinomisetes dilakukan dengan menginokulasikan masing-masing 0.1 ml suspensi dari tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} ke dalam media *SCA dan* media *YEMA* . Isolasi aktinomisetes dilakukan dengan metode *pour* dan *spread plate* untuk mendapatkan koloni tunggal. Medium yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu kamar selama 3 sampai 4 minggu.

Koloni yang tumbuh pada media *SCA* dan *YEMA* diamati. Setiap koloni aktinomisetes yang memiliki kenampakan berbeda diisolasi pada media *Bennett's Agar*. Purifikasi dilakukan untuk mendapatkan isolat murni aktinomisetes.

2.3 Fermentasi, Ektraksi dan Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Fermentasi (Produksi Senyawa Metabolit)

Metode fermentasi dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Rante *et al*. (2010) yang telah dimodifikasi. Isolat dibuat prekultur dengan cara ditumbuhkan pada labu erlenmeyer 500 mL yang mengandung 100 mL medium cair YEM dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 3 hari. Prekultur (starter) kemudian dipindahkan ke dalam erlenmeyer 500 mL yang mengandun 100mL medium yang sama. Fermentasi dilakukan pada suhu 28° C selama 11 hari pada kondisi tergojok pada laju penggojokan 150 rpm.

Ekstraksi

Metode ekstraksi dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Rante *et al*. (2010). Setelah fermentasi selama 11 hari, media pertumbuhan mikrobia disaring untuk memisahkan biomassa dan cairan fermentasi. Cairan fermentasi diekstraksi 2 kali dengan pelarut etilasetat (1:1 v/v) dalam corong pisah selama 20 menit. Ekstrak yang diperoleh diuapkan lalu disimpan pada desikator untuk digunakan pada uji selanjutnya.

Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Indentifikasi kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak dilakukan terhadap senyawa-senyawa (Harbone, 1987):

Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah dengan 5 mL HCl 2 N dipanaskan 15 menit. Setelah itu, didinginkan dan di saring lalu diambil filtratnya. Filtrat dibagi ke dalam 3 tabung rekasi tabung 1 sebagai blangko, tabung 2 ditambah dengan reagen Mayer dan tabung 3 ditambah dengan reagen Dragendroff. Jika terdapat endapan maka positif mengadung alkaloid.

Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan H_2O 5 mL panaskan 30 menit lalu di dinginkan kemudian disaring setelah dikocok dan didiamkan 15 menit jika busanya tidak hilang selama didiamkan 15 menit maka positif mengandung saponin.

Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan air 5 mL panaskan 30 menit, lalu didinginkan dan disaring kemudian ditambahkan $FeCl_3$ 1%. Perubahan warna hijau, hijau kebiruan atau biru kehitaman atau ada endapan maka positif mengandung tanin.

Uji Flavonoid

Ekstrak diambil 1 mL ditambahkan etanol 10 mL dipanaskan kemudian disaring lalu diambil filtratnya dan dibagi dalam 2 tabung reaksi. Tabung 1 sebagai blangko, tabung 2 ditambah 10 tetes HCl pekat dan serbuk Magnesium. Jika terjadi perubahan warna merah sampai ungu, hijau, kuning atau biru maka uji dikatakan positif flavonoid.

Uji Triterpenoid / Steroid

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan metanol lalu dipanaskan 10 menit disaring kemudian ditambahkan pelarut Lieberman Bouchard. Perubahan warna merah atau unggu adalah triterpenoid dan warna hijau adalah steroid.

2.4 Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Isolat Aktinomisetes

Actinomisetes yang berpotensi diseleksi berdasarkan karakter morfologi dan fisiologi. Karakterisasi morfologi terdiri dari pengamatan mikroskopik dan makroskopik. Karakter mikroskopik dilakukan dengan metode *Slide Cultur* . Struktur micelium, warna dan susunan konidia serta artrospora pada micelium diamati dengan menggunakan minyak imersi (1000X). Karakterisasi dilakukan berdasarkan buku Determinasi Bergey's Manual of Determinatif Bacteriologi (Holt,2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ada 16 isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi dan dipurifikasi pada medium SCA dan YEMA(Tabel 1).

Tabel 1 Isolat Aktinomisetes yang berhasil diisolasi dan purifikasi

No.	Kode Isolat	Media	Jenis Mangrove	Lokasi
1	TM1	SCA	*Rhizopora sp*	Maripi
2	TM2	SCA	*Bruguera sp*	Maripi
3	TM3	YEMA	*Rhizopora sp*	Maripi
4	MB1	SCA	*Rhizopora sp*	Biak Numfor
5	MB2	YEMA	*Sonneratia*	Biak Numfor
6	MB3	SCA	*Bruguera sp*	Biak Numfor
7	EB1	SCA	*Xylocarpus sp*	Bintuni
8	EB2	YEMA	*Bruguera sp*	Bintuni
9	EB3	SCA	*Xylocarpus sp*	Bintuni
10	EB4	SCA	*Ceriops sp*	Bintuni

11	EB5	SCA	*Sonneratia sp*	Bintuni
12	EB6	YEMA	*Sonneratia sp*	Bintuni
13	EB7	YEMA	*Xylocarpus sp*	Bintuni
14	EB8	SCA	*Bruguera sp*	Bintuni
15	EB9	YEMA	*Bruguera sp*	Bintuni
16	EB10	SCA	*Ceriops sp*	Bintuni

Medium *starch-casein* sangat cocok digunakan untuk isolasi aktinomisetes (Pisano *et al.*1989). Untuk proses pertumbuhannya Aktinomisetes mampu menghidrolisis pati menjadi glukosa dengan mudah dan cepat. Di sisi lain mikrobia kontaminan tumbuh lambat dalam medium pati tanpa penambahan glukosa. Medium *starch-casein* agar memiliki keunggulan medium agar yang putih, sehingga memudahkan untuk mengamati hifa horisontal dan adanya zat pewarna yang dihasilkan oleh aktinomisetes. Selektifitas medium terhadap aktinomisetes dapat ditingkatkan dengan penambahan antibiotik dan pra-perlakuan untuk menekan bakteri dan fungi kontaminan.

Praperlakuan pemanasan dilalukan untuk menekan pertumbuhan bakteri kontaminan yang biasanya akan tumbuh pada awal inkubasi. Hal yang sama dilakukan oleh Sembiring *et al*. (2000), pemanasan suspensi sampel pada suhu 65°C selama kurang lebih dari 15 menit dengan kombinasi penambahan 1.0 µg ml^{-1} sikloheksimida dan 50.0 µg ml^{-1} nistatin untuk menekan pertumbuhan mikrobia kontaminan .

Fermentasi, Ektraksi dan Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder diperoleh dari filtrat menggunakan metode fermentasi. Setiap mikrobia memiliki profil fermentasi yang khas. Perubahan pH medium, konsumsi gula, nitrogen, biomass dapat menggambarkan kondisi fermentasi mikrobia tersebut. Berdasarkan hasil penelitian Rante, *et al*, periode fermentasi optimal untuk mensekresikan senyawa metabolit sekunder pada isolat adalah 11 hari.

Pada fase adaptasi (fase lag), tidak terjadi pertumbuhan sel. Walaupun medium awal fermentasi sudah mengandung glukosa, namun pertumbuhan sel mikroba masih memerlukan tahap adaptasi. Adanya perbedaan komposisi medium vegetatif dengan medium fermentatif menyebabkan sistem metabolisme mikroba menjadi berubah, sehingga dibutuhkan waktu untuk menyesuaikan kondisi medium yang baru (Wang et al. 1979), oleh karena itu dalam penelitian ini sebelum fermentasi dilakukan prekultur. Fase eksponensial (fase logaritmik) ditandai dengan pertumbuhan massa sel yang cepat yang diiringi dengan penurunan kadar gula dalam medium. Pada fase ini laju pertumbuhan atau reproduksi selular mencapai titik maksimum (Stanbury dan Whitaker 1984). Menipisnya konsentrasi substrat dalam medium fermentasi mengakibatkan pertumbuhan sel mulai menurun. Pada fase ini terjadi penumpukan

produk-produk metabolisme yang dapat menghambat laju pertumbuhan, selanjutnya mikrobia masuk fase pada tahap stasioner. Pada fase stasioner pertumbuhan selular berhenti dan menyebabkan terjadinya modifikasi struktur biokimiawi sel serta terjadi produksi metabolit sekunder (Mangunwidjaja dan Suryani 1994). Fase ini merupakan tahapan penting dalam produksi metabolit sekunder. Mekanisme reaksi enzim dalam metabolisme yang pada awalnya lebih banyak mendukung pertumbuhan sel akan berubah menjadi metabolisme pertahanan diri (Wang et al, 1979).

Setelah fermentasi, kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi metabolit sekunder dengan menggunakan etil asetat. Menurut Harborne (1996), untuk memperoleh ekstrak yang mengandung senyawa non-polar dapat digunakan pelarut yang sifatnya non-polar seperti etil asetat. Kelebihan pelarut ini adalah bersifat spesifik untuk senyawa non-polar. Etil asetat dapat melarutkan air hingga 3% dan memiliki kelarutan 8% di dalam air pada suhu ruang.

Bioaktivitas isolat aktinomisetes sangat dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang yang dihasilkan setiap isolat. Hal ini akan menentukan aktivitas farmakologis isolat tersebut. Hasil uji kandungan metabolit sekunder dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hajil Uji Kandungan Metabolit Sekunder

No	Kode Isolat	Uji				
		Alkaloid	Saponin	Steroid	Flavonoid	Tanin
1	TM1	(+++)	(+++)	(-)	(+++)	(+++)
2	TM2	(+++)	(+++)	(-)	(+++)	(++)
3	TM3	(+)	(+++)	(-)	(-)	(++)
4	MB1	(+++)	(+++)	(-)	(+++)	(+)
5	MB2	(+)	(+++)	(-)	(-)	(+)
6	MB3	(+)	(++)	(-)	(-)	(+)
7	EB1	(+)	(+++)	(-)	(+++)	(+)
8	EB2	(++)	(+++)	(-)	(+++)	(-)
9	EB3	(+++)	(+++)	(-)	(+++)	(++)
10	EB4	(+++)	(+++)	(-)	(++)	(+)
11	EB5	(+)	(+++)	(-)	(+++)	(+++)
12	EB6	(+++)	(++)	(-)	(+)	(-)
13	EB7	(++)	(+)	(-)	(++)	(+)
14	EB8	(++)	(++)	(-)	(+++)	(++)

15	EB9	(+++)	(+++)	(-)	(+)	(+++)
16	EB10	(+)	(+++)	(-)	(-)	(++)

Ket: - : Negatif , + : Positif lemah, ++ : Positif Sedang, +++ : Positif Kuat

Uji positif alkaloid pada ekstrak ditandai dengan adanya spot berwarna biru yang tampak pada cahaya UV 366 nm. Pada UV 366 nm noda berflouresensi dan lempeng berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut.

Flavonoid ditemukan positif yang ditandai dengan perubahan larutan menjadi merah bata ketika dilakukan uji dengan penambahan logam Mg dan HCl pekat. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu dengan menghidrolisis O- glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavanol, flavon, flavonol dan xanton (Robinson, 1995).

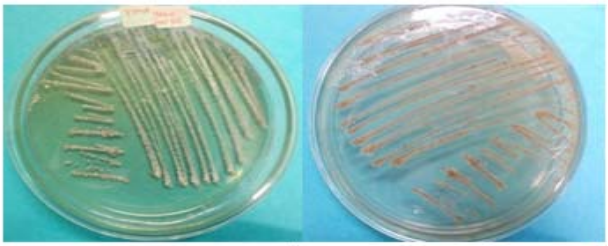
Untuk uji steroid semua isolat tidak menghasilkan steroid karena tidak terjadi perubahan warna saat ditambahkan pereaksi Liebarmen-Burchard. Menurut Robinson (1995) uji positif steroid bila terjadi perubahan warna hijau kebiruan saat ekstrak ditambahkan pereaksi Liebarmen-Burchard.

Uji tanin memberikan hasil positif pada ekstrak metanol. Tanin terdiri dari katekin, leukoantosianin dan asam hidroksi yang masing-masing dapat menimbulkan warna bila bereaksi dengan ion logam. Warna ini terbentuk karena terbentuknya kompleks antara logam Fe dari FeCI3 1% dengan gugus hidroksi dari tanin. Terikatnya Fe pada tanin menghasilkan warna hijau kebiruan karena gugus hidroksil berkonjugasi dengan ikatan rangkap, sedangkan terikatnya katekin dengan Fe tidak memberikan warna yang sama, sebab gugus hidroksil tidak berkonjugasi dengan ikatan rangkap.

Uji saponin memberikan hasil positif pada ekstrak metanol yang ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil hingga 15 menit. Menurut Rusdi (1990) timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya

Berdasarkan morfologi koloni isolat aktinomisetes tersebut dapat dibedakan antara *Streptomyces* spp. dan non-*Streptomyces* . Koloni aktinomisetes tumbuh perlahan, melekat erat pada permukaan media, dan memproduksi spora seperti serbuk. Menurut Holt (1994), salah satu ciri khas genus *Streptomyces*, koloninya diselimuti oleh miselium udara yang bebas dan hifa yang dikelilingi oleh selubung (*sheath)* hidrofobik yang mengarah dari permukaan koloni ke udara. Hifa ini pada awalnya putih, lama-kelamaan berubah menjadi berwarna tertentu ketika mulai pembentukan spora. Hal ini dapat kita lihat pada isolat TM1 pada awalnya putih lama kelamaan menjadi abu-abu (Gambar 1). Selanjutnya koloni tampak memiliki serbuk di

permukaannya, hal ini membedakannya dari kebanyakan koloni bakteri , karena perbedaan kandungan pigmen dalam selnya, sesuai dengan masing-masing jenis actinomisetes.

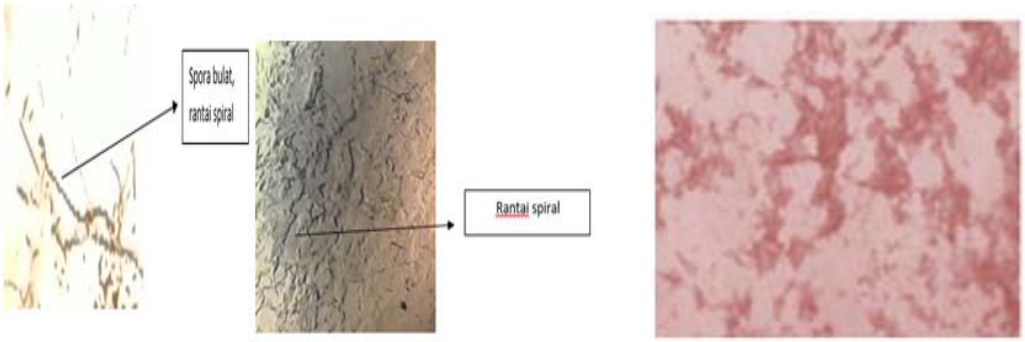


Gambar 1. Isolat TM1, Hifa ini pada awalnya putih, lama-kelamaan berubah menjadi berwarna tertentu ketika mulai pembentukan spora

Holt (1994) juga menyatakan bahwa genus *Streptomyces* menghasilkan pigmen dengan kisaran warna yang beragam, bergantung pada warna miselium vegetatif dan miselium udara. Genus non-*Streptomyces* hanya membentuk miselium vegetatif, dan akan tampak lembab di atas media agar (tidak membentuk spora aerial). Berdasarkan warna miselium tersebut, aktinomisetes dapat dikelompokkan dengan menggunakan standar dari tabel warna (*Colour Name Chart*) dari National Bureau of Standards (NBS).

Penggolongan isolat actinomicetes ke dalam *Streptomyces* spp. dan non-*Streptomyces* juga didasarkan pada pengamatan rantai spora secara mikroskopis. Morfologi rantai spora diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran kuat. Karakteristik morfologi rantai spora *Streptomyces* spp. mampu membentuk rantai spora aerial dengan morfologi yang beragam (seperti rantai, kait, hingga spiral) (Gambar 2A), sedangkan karakteristik morfologi rantai spora non-*Streptomyces,* tidak membentuk rantai spora aerial dan tidak berbentuk rantai, kait, atau spiral (Gambar 2B). Hal ini menguatkan data yang diperoleh berdasarkan pengamatan morfologi koloni di atas media padat.

Berdasarkan karakter tersebut, maka isolat TM1, TM3, MB1, MB3, EB1, EB2,, EB5, EB6, EB7, EB8, dan EB 10, termasuk kelompok *Streptomyces* spp., isolat TM2 dan MB2 termasuk kelompok *Actinomyces spp.* (non-*Streptomyces*) , sedangkan EB3, EB4 dan EB9 termasuk kelompok *Nocardia spp.* (non-*Streptomyces*).



(A) (B)

Gambar 2. Morfologi rantai spora (A) *Streptomyces* spp. dan (B) non-*Streptomyces*, berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopik (perbesaran 400×)

KESIMPULAN

. Pada penelitian ini ada 16 isolat aktinomisetes yang berhasil diisolasi dan dipurifikasi. Berdasarkan karakterisitik morfologi dan fisiologi, isolat-isolat tersebut merupakan strain *Streptomyces spp*, *Actinomyces spp* dan *Nocardia spp* . Hasil uji menunjukan beberapa aktinomisetes asal mangrove Papua Barat positif mengandung metabolit sekunder alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin. Sedang untuk uji steroid, dari semua isolat semua menunjukkan hasil negatif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh DP2M DIKTI tahun 2014 (Hibah Bersaing, tahun Anggaran 2014).

DAFTAR PUSTAKA

Atlas, R. M. 1995. *Handbook of Media or Environmental Microbiology.* CRC Press. New York. pp: 63, 211.

Bennett JW and Bentley R. 1989. What's in a name? Microbial secondary metabolism. Adv Appl Microbiol 34: 1-28

Bolton Jr., H., J.K. Fredrickson and L.F. Elliott. 1993. Microbial Ecology of the Rhizosfere. In *Soil Microbial Ecology, Applications in Agriculture and Environmental Management*. F.B. Metting, Jr. (Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York. pp: 27-55.

Burrens, N. S., and Clement, J. J., 1993. Biomedical Potensial Marine Natural Product, Edited by Atawwa et al,(I), Phamaceutical and Bioactive Natural Product Plenum Press, New York

and London: 13-14

Goodfellow, M. and T. Cross. 1984. Classification. In *The Biology of The Aktinomisetes.* M. Goodfellow, M. Mordarski & S.T. Williams (Eds.).. Academic Press. London. pp: 94-105.

Harborne. 1987. Metode Fitokimia Edisi kedua. Patmawinata K. Soediro I. Penerjemah. Terjemahan dari: Phytochemical methods. Bandung: ITB

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Stanley, & S.T. Williams. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,* 9th edition. William & Wilkins. New York. pp: 667-669.

Ismawaty, E.; Aisyah, S. dan Massora, M. 2013. Skrining Aktinomycetes Yang Berasosiasi Dengan Spons Asal Perairan Manokwari Papua Barat Sebagai Antimalaria (*Plasmodium Falciparum*). Laporan Penelitian PKM.

Mangunidjaja. D dan Suryani A. 1994. Teknologi Bioproses. Jakarta: Penebar Swadaya

Rante, H., Wahyono, Murti, Y.B., dan Alam,G., Purifikasi dan Karakterisasi senyawa Antibakteri dari Aktinomisetes Asosiasi Spons terhadap Bakteri Patogen Resisten. 2010. Majalah Farmasi Indonesia, 21(3),158-165.

Rao, N.S. Subba. 2001. *Soil Microbiology.* Science Publishers. USA. pp: 38-39, 82-93.

Robinson, T. 1995. Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Diterjemahkan oleh Prof.Dr.Kosasih Padmawinata. Bandung :ITB

Rusdi. 1990. Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat. Padang : Pusat Penelitian Universitas Andalas.

Sembiring, L., A.C. Ward and M. Goodfellow. 2000. Selective Isolation and Characterisation of Membersof the *Streptomyces violaceusniger* Clade Associated with the Roots of *Paraserianthes falcataria*. *Antonie van Leeuwenhoek*. **78**: 353-366.

Sihite, J.. 2005. *Masyarakat dan Cagar Alam Teluk Bintuni, Antara Fakta dan Harapan*. The Nature Conservancy (TNC), Southeast Asia Center for Marine Protected Areas (SEA CMPA) dan Lembaga Penelitian Universitas Trisakti, pp:164.

Sosovele, M., Bergmann, B., Lyimo ,T,J., Hosea, K,M., and Mueller B. *Antimalarial Activity Of Marine Aktinomisetes Isolated From Dar Es Salaam Mangrove Sediments*. International Journal Of Research In Biological Sciences Universal Research Publications. Issn 2249–9687.

Sunaryanto,R., 2011. Isolasi, Purifikasi, Identifikasi, Dan Optimasi Medium Fermentasi Antibiotik Yang Dihasilkan Oleh Aktinomisetes Laut . Disertasi.
Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor Bogor.

Wang DIC, Cooney CL, Demain AL, Dunhill P, Humprey AE, and Lily MM. 1979. Fermentation and Enzym Technology. London: Willey Interscience. Pisano MA, Sommer MJ, Brancaccio L. 1989. Isolation of bioactive actinomycetes from marine sediments using rifampicin. Appl Microbiol Biotechnol. 31:609-612

Yuliana, S.,Massora, M., Innah,H.S. dan Mandibodibo,L. 2012. *Keragaman Satwa Dan Mikrobia Pada Hutan Mangrove Di Papua*. Laporan Penelitian Litbang Kehutanan Manokwari.