

DETEKSI GEN NON-RIBOSOMAL PEPTIDE SYNTHASE (*nrps*) PADA MARINE AKTINOBAKTERIA YANG BERSOSIASI DENGAN SPONS DAN AKTIVITAS METABOLITNYA PADA *VIBRIO*

INTISARI

Vibriosis yang disebabkan oleh bakteri patogen genus *Vibrio* telah menyerang sektor perikanan, menyebabkan kerugian ekonomi yang besar dan juga mengancam kesehatan manusia. Dengan pilihan pengobatan yang terbatas, maka diperlukan alternatif senyawa antibakteri baru yang dapat mengatasi vibriosis secara efektif, selektif dan efisien. Senyawa golongan peptida nonribosomal yang dihasilkan oleh Aktinobakteria laut diketahui mempunyai berbagai macam bioaktivitas sehingga menarik untuk digunakan sebagai target pencarian senyawa alternatif antivibrio. Isolasi Aktinobakteria dari spons dilakukan menggunakan media selektif AIA sedangkan pemurnian dilakukan menggunakan media NA. Isolat murni selanjutnya diisolasi DNA genomnya dan digunakan dalam deteksi Aktinobakteria menggunakan primer spesifik Aktinobakteria F243/R1378. Selanjutnya, dilakukan uji kebutuhan terhadap air laut, amplifikasi gen *nrps* menggunakan primer A3F/A7R dan uji mikrotiter plate bioassay untuk mengetahui aktivitas antivibrio dari metabolit sekunder isolat Aktinobakteria. Lima isolat terpilih selanjutnya digunakan dalam sekuensing gen 16S rRNA dan gen *nrps*. Dari lima sampel spons yang digunakan, diperoleh dua puluh isolat Aktinobakteria. Sepuluh dari dua puluh isolat tersebut mampu hidup pada media NB tawar. Sembilan belas dari dua puluh isolat Aktinobakteria tersebut diketahui memiliki gen *nrps*. Selanjutnya, fermentasi dilakukan terhadap semua isolat Aktinobakteria tersebut dengan menggunakan sembilan media fermentasi berbeda. Sembilan isolat diketahui menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas antivibrio pada uji mikrotiter plate bioassay. Hasil BLASTn gen 16S rRNA terhadap lima isolat terpilih menunjukkan bahwa kelima isolat tersebut merupakan *Brevibacterium sediminis* (CG-1-613-19b dan CG-8-613-12a), *Brevibacterium album* (DO-10-613-8b), *Brevibacterium* sp. (DO-15-613-8) dan *Nesterenkonia aethiopica* (DO-15-613-4). Hasil BLASTp gen *nrps* dari kelima isolat menunjukkan bahwa gen tersebut mempunyai kemiripan dengan gen yang mengkode biosintesis lichenisin pada *B. paralicheniformis* (CG-1-613-19b, CG-8-613-12a dan DO-15-613-4) serta surfaktin pada *B. licheniformis* (DO-10-613-8b dan DO-15-613-8).

Kata kunci : Aktinobakteria, antivibrio, *nrps*, vibriosis.

DETECTION OF NONRIBOSOMAL PEPTIDE SYNTHASE GENE (*nrps*) FROM ACTINOBACTERIA ASSOCIATED SPONGES AND ACTIVITY OF THEIR METABOLIC AGAINST VIBRIO

ABSTRACT

Vibriosis caused by pathogenic *Vibrio* has attacked aquaculture industry, caused severe economic losses and impact on human health. Due to limited treatment available, new compounds are needed to overcome vibriosis effectively, selectively and efficiently. Nonribosomal peptides produced by marine actinobacteria are known to have various bioactivity and interesting to be used as an subject for the searching of new antivibrio compounds. Sponge associated marine Actinobacteria isolation were performed using selective medium AIA while subsequent purification were performed using NA medium in seawater. Pure isolates were subjected for DNA genome isolation dan DNA genome were used for Actinobacteria detection using spesific primer for Actinobacteria F243/R1378. Actinobacteria isolated then were subjected for seawater test requirement, *nrps* gene amplification using primer A3F/A7R and microtiter plate bioassay to confirm antivibrio activity from Actinobacteria's secondary metabolites. Five selected isolates then subjected for 16S rRNA and *nrps* gene sequencening. Twenty isolates of marine actinobacteria associated sponge were obtained from five sponge samples. Ten out of twenty isolates were able to grow in non-seawater medium. Nineteen out of twenty Actinobacteria isolates confirmed to have *nrps* gene. Fermentation was carried out in 9 different fermentation media. Nine out of twenty isolates were have antivibrio activity against *V. alginolyticus*. BLASTn result of five selected isolates shows that the isolates have similarities with *Brevibacterium sediminis* (CG-1-613-19b and CG-8-613-12a), *Brevibacterium album* (DO-10-613-8b), *Brevibacterium* sp. (DO-15-613-8) and *Nesterenkonia aethiopica* (DO-15-613-4). BLASTp result shows that *nrps* gene from five selected isolates were similiar with *nrps* gene from *B. paralicheniformis* which encode the biosynthetic of lichenysin (CG-1-613-19b, CG-8-613-12a dan DO-15-613-4) and *nrps* gene from *B. licheniformis* which encode *surfactin* (DO-10-613-8b dan DO-15-613-8).

Keywords : Actinobacteria, antivibrio, *nrps*, vibriosis