

DAFTAR ISI

	hal
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Aktinomisetes.....	6
B. Aktinomisetes Laut.....	9
C. <i>Natural Product</i> sebagai Sumber Senyawa Bioaktif.....	11
D. <i>Natural Product</i> dari Aktinomisetes Laut.....	16
E. Metabolit Sekunder dari Golongan Poliketida dan Non Ribosomal Peptida	19
F. Gen PKS (<i>Poliketide Synthase</i>) dan NRPS (<i>Non-Ribosomal Peptide Synthetase</i>)	20
G. Uji Sitotoksitas dengan <i>MTT Assay</i>	22
J. Hipotesis	25
BAB III. METODE PENELITIAN	26
A. Waktu dan Tempat Penelitian	27
B. Bahan Penelitian	27

C. Alat Penelitian	29
D. Metode Penelitian	30
1. Identifikasi Isolat Aktinomisetes GMY01	30
a. Analisis Morfologi Isolat Aktinomisetes GMY01.....	30
b. Analisis Morfologi Sel dengan <i>Scanning Electron Microscope</i>	30
i. Analisis Pertumbuhan Isolat Aktinomisetes GMY0 pada Variasi Konsentrasi NaCl	31
ii. Uji Antagonistik In Vitro terhadap Mikroorganisme Eukaryot	31
iii. Amplifikasi dan Sekuensing 16S rRNA.....	33
iv. Amplifikasi Gen PKS dan NRPS	34
2. Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Aktinomisetes GMY01.....	35
3. Identifikasi Metabolit dari Aktinomisetes GMY01	36
a. Uji sitotoksisitas metabolit dengan <i>MTT Assay</i>	36
b. Profiling Metabolit Aktif secara Densitometri	39
c. Skrining Fitokimia terhadap Metabolit Aktif	39
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
A. Karakterisasi Isolat Aktinomisetes GMY01	40
1. Uji Morfologi Isolat Aktinomisetes GMY01	40
2. Analisis Pertumbuhan Isolat Aktinomisetes GMY01 pada Variasi Konsentrasi NaCl	43
3. Uji Antagonistik secara <i>In vitro</i> terhadap Mikroorganisme Eukaryot	44
4. Sekuensing 16S rRNA Isolat Aktinomisetes GMY01 ...	45
5. Deteksi dan Sekuensing Gen PKS dan NRPS	47
B. Fermentasi dan Ekstraksi Metabolit dari Aktinomisetes GMY01	49
C. Uji Sitotoksisitas terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan MCF7 dengan <i>MTT Assay</i>	51
D. Profiling Metabolit Aktif secara Densitometri	53

E. Skrining Kimia terhadap Metabolit Aktif	54
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	56
A. Kesimpulan	56
B. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1 Metabolit yang dihasilkan oleh aktinomisetes laut selama tahun 2003 – 2005.....	19
Tabel 2 Kadar metabolit sekunder yang digunakan pada uji sitotoksitas .	34
Tabel 3 Pertumbuhan isolat GMY01 pada medium <i>starch nitrat</i> dengan berbagai konsentrasi NaCl.....	43
Tabel 4 Nilai similiaritas 16S DNA (%) dan jumlah nukleotida yang berbeda antara isolat GMY01 dengan strain acuan	47
Tabel 5 Nilai IC ₅₀ pada perlakuan ekstrak-ekstrak metabolit sekunder aktinomisetes GMY01 terhadap sel kanker (T47D dan MCF7) dan sel normal (NIH 3T3).....	52
Tabel 6 Skrining kimia terhadap ekstrak etil asetat menggunakan pereaksi khas sesuai Harborne (1983) dan Cannel (1998).....	54

DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. Struktur senyawa yang diisolasi dari aktinomisetes laut: <i>salinosporamide A</i> (1), <i>omurolide (not marine)</i> , (2), <i>salinosporamide B</i> (3), <i>sporolides A</i> dan <i>B</i> (4, 5), <i>marinomycins A</i> and B (6, 7)	18
Gambar 2. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan	23
Gambar 3 Morfologi miselium aerial pada medium <i>starch nitrat agar</i> pada umur 7 hari (perbesaran 400x)	41
Gambar 4 Morfologi isolat GMY01 pada media <i>starch nitrat</i> . A. Miselium aerial berwarna putih, B. Warna balik putih kekuningan, C. Morfologi koloni menunjukkan bentuk koloni bulat, warna putih dan membentuk pigmen kuning	42
Gambar 5 <i>Scanning electron microgram</i> rantai spora isolat GMY01 yang ditumbuhkan pada media <i>starch nitrat</i> umur 14 hari, diinkubasi pada suhu kamar	42
Gambar 6. Uji antagonis isolat GMY01 secara <i>in vitro</i> terhadap 4 fungi <i>A.Candida albicans</i> , B. <i>Trichoderma resei.</i> , C. <i>Fusarium Oxysporum</i> dan D. <i>Aspergillus flavus</i> pada media PDA yang diamati setelah 48 jam.....	44
Gambar 7 <i>Phylogeny tree</i> dibuat berdasarkan algoritme <i>Neighbour-joining</i> (Saitou & Nei, 1987) yang menunjukkan hubungan kekerabatan antara isolat GMY01 dengan strain acuan.....	46
Gambar 8 Elektroforesis gel agarose dari produk PCR gen PKS dan NRPS isolat GMY01. Amplifikasi menggunakan primer K1F/M6R spesifik untuk sekuen ketosintase dan metil malonil-CoA transferase PKS-I dan A3F/A7R untuk sequence adenilasi NRPS	48
Gambar 9 Profil densitometri ekstrak etil asetat (FE) dengan fase gerak CMW (90:10:1) pada a. $\lambda=254$ nm, b. $\lambda=366$ nm	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	KLT-Densitometri Ekstrak Metabolit Sekunder Actinomycetes.....	63
Lampiran 2	Hasil Skrining Golongan Senyawa dengan Berbagai Pereaksi Penampak Bercak.....	64