

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGESAHAN OLEH DEKAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN TIM PROMOTOR | iii |
| HALAMAN PERSETUJUAN TIM PENILAI DISERTASI | iv |
| PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN | v |
| PRAKATA | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xv |
| DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN | xvi |
| INTISARI | xviii |
| ABSTRACT | xx |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Permasalahan dan Perumusan masalah | 4 |
| C. Tujuan Penelitian | 5 |
| D. Manfaat Penelitian | 6 |
| E. Keaslian Penelitian | 7 |
| F. Ruang Lingkup Penelitian | 8 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 18 |
| A. Ekosistem Hutan Bakau Torosiaje | 18 |
| B. Interaksi Mikroba dengan Sistem Perakaran Pohon Bakau | 21 |
| C. Aktinomisetes | 24 |
| 1. Habitat dan distribusi aktinomisetes | 24 |
| 2. Morfologi dan reproduksi aktinomisetes | 27 |
| D. Aktinomisetes sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif | 29 |
| E. Biosintesis Antibiotik oleh Aktinomisetes | 31 |
| F. Mekanisme Kinerja Antibiotik | 34 |
| 1. Antibiotik golongan Poliketida | 37 |
| 2. Antibiotik golongan Aminoglikosida | 38 |
| 3. Antibiotik golongan Beta-Laktam | 40 |
| G. Keanekaragaman Aktinomisetes Penghasil Antibiotik | 41 |
| H. Landasan Teori dan Hipotesis | 44 |
| 1. Landasan Teori | 44 |
| 2. Hipotesis | 48 |

| | |
|--|----|
| III. METODE PENELITIAN | 49 |
| A. Lokasi Kajian dan Waktu Penelitian | 49 |
| B. Bahan dan Alat | 52 |
| 1. Bahan penelitian | 52 |
| 2. Alat penelitian | 55 |
| C. Cara Kerja | 55 |
| 1. Sampling sampel tanah dan parameter lingkungan | 57 |
| a. Pengambilan sampel tanah | 57 |
| b. Pengukuran data parameter lingkungan | 57 |
| 2. Distribusi, kelimpahan, dan keanekaragaman aktinomisetes penghasil antibiotik pada tanah rizosfer di hutan bakau Torosiaje tipe <i>overwash</i> dan <i>fringe</i> | 58 |
| a. Penentuan kelimpahan aktinomisetes | 59 |
| b. Isolasi aktinomisetes dari rizosfer pohon bakau..... | 59 |
| c. Skrining awal isolat aktinomisetes penghasil antibiotik... | 60 |
| d. Pengelompokan isolat aktinomisetes penghasil antibiotik | 60 |
| e. Analisis diversitas aktinomisetes penghasil antibiotik..... | 65 |
| 3. Kemampuan sintesis antibiotik dan analisis aktivitas antibiotik | 66 |
| a. Percobaan kultivasi isolat aktinomisetes terpilih | 67 |
| b. Percobaan sintesis antibiotik dan ekstraksi antibiotik | 67 |
| c. Pengujian aktivitas antibiotik ekstraselular dan CFE | 69 |
| d. Penentuan <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) antibiotik | 69 |
| 4. Karakterisasi antibiotik | 71 |
| a. Pemisahan komponen penyusun antibiotik | 71 |
| b. Skrining senyawa aktif melalui bio-autografi KLT | 73 |
| c. Deteksi gen pengkode produksi antibiotik | 75 |
| 5. Identifikasi isolat aktinomisetes penghasil antibiotik berdasarkan taksonomi polifasik | 76 |
| a. Karakterisasi fenetik isolat aktinomisetes penghasil antibiotik terpilih | 76 |
| b. Karakter filogenetik | 79 |
| D. Analisis Data | 79 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 81 |
| A. Distribusi, Kelimpahan, dan Diversitas Aktinomisetes Penghasil Antibiotik pada Rizosfer Berbagai Jenis Pohon Bakau | 81 |
| 1. Distribusi dan kelimpahan aktinomisetes pada rizosfer berbagai jenis pohon bakau | 81 |
| 2. Diversitas aktinomisetes penghasil antibiotik | 84 |
| a. Jenis aktinomisetes penghasil antibiotik dari rizosfer berbagai jenis bakau | 84 |

| | |
|---|-----|
| b. Skrining isolat aktinomisetes penghasil antibiotik | 84 |
| c. Diversitas aktinomietes penghasil antibiotik berdasar karakter warna koloni dan pigmen terdifusi (<i>colour grouping</i>)..... | 86 |
| d. Diversitas aktinomisetes penghasil antibiotik berdasar profil elemen BOX | 87 |
| e. Diversitas aktinomisetes penghasil antibiotik berdasar profil ARDRA | 90 |
| f. Diversitas aktinomisetes penghasil antibiotik berdasar karakter sekuen gen 16S rRNA | 92 |
| 3. Komposisi komunitas aktinomisetes penghasil antibiotik dan distribusinya di hutan bakau Torosiaje | 96 |
| a. Komposisi komunitas aktinomisetes penghasil antibiotik | 96 |
| b. Distribusi aktinomisetes penghasil antibiotik | 97 |
| B. Kemampuan Sintesis Antibiotik dan Pengujian Aktivitas Antibiotik | 101 |
| 1. Pertumbuhan aktinomisetes penghasil antibiotik | 101 |
| 2. Sintesis antibiotik | 102 |
| 3. Aktifitas antibiotik terhadap mikroba pathogen | 104 |
| a. Aktivitas antibakteri | 104 |
| b. Aktivitas antifungi | 105 |
| 4. MIC antibiotik | 107 |
| C. Karakter Antibiotik | 108 |
| 1. Profil kromatogram antibiotik | 108 |
| a. Profil antibiotik berdasar pemisahan menggunakan KLT | 108 |
| b. Profil antibiotik berdasar pemisahan menggunakan LCMS | 110 |
| c. Profil antibiotik berdasar pemisahan menggunakan GCMS | 112 |
| 2. Deteksi dan karakterisasi senyawa aktif | 117 |
| a. Profil senyawa aktif pada kromatogram KLT | 117 |
| b. Profil bioautograf | 117 |
| c. Profil kromatogram LCMS | 119 |
| d. Kandungan alkaloid | 119 |
| e. Jenis gugus fungsional pada senyawa aktif | 120 |
| 3. Gen pengkode sintesis antibiotik | 121 |
| a. Gen PKS I..... | 121 |
| b. Gen PKS II | 122 |
| c. Gen NRPS | 123 |
| D. Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Aktinomisetes Penghasil Antibiotik | 124 |
| 1. Karakter fenetik | 124 |



| | |
|---|-----|
| a. Karakter morfologi | 125 |
| b. Karakter fisiologi dan biokima | 127 |
| 2. Karakter molekular | 129 |
| V. PEMBAHASAN UMUM | 133 |
| VI. SIMPULAN DAN SARAN | 147 |
| A. Simpulan | 147 |
| B. Saran | 148 |
| RINGKASAN | 149 |
| <i>SUMMARY</i> | 156 |
| DAFTAR PUSTAKA | 161 |
| LAMPIRAN | 175 |



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

DAFTAR TABEL

AKTINOMISETES PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI HUTAN BAKAU TOROSIAJE GORONTALO

YULIANA RETNOWATI, PROF. DR. A. ENDANG SUTARININGSIH SOETARTO, M.SC; PROF. DR. SUKARTI MOE

Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

Halaman

| | | |
|----|---|-----|
| 1. | Beberapa penelitian tentang aktinomisetes yang telah dilakukan di berbagai tipe ekosistem hutan bakau | 11 |
| 2. | Senyawa bioaktif yang dihasilkan aktinomisetes dari beberapa wilayah hutan bakau | 31 |
| 3. | Distribusi dan kelimpahan aktinomisetes di tipe hutan dan jenis bakau berbeda | 82 |
| 4. | Pengelompokkan isolat aktinomisetes penghasil antibiotik berdasar karakter morfologi warna miselium aerial dan pigmen terdifusi | 87 |
| 5. | Kemampuan tumbuh isolat aktinomisetes penghasil antibiotik pada berbagai medium | 128 |
| 6. | Karakter biokimia dan fisiologis isolat aktinomisetes penghasil antibiotik | 129 |




DAFTAR GAMBAR

AKTINOMISETES PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI HUTAN BAKAU TOROSIAJE GORONTALO

YULIANA RETNOWATI, PROF. DR. A. ENDANG SUTARININGSIH SOETARTO, M.SC; PROF. DR. SUKARTI MOE

Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

| | |
|---|-----|
| 1. Sketsa tipe hutan dan pola zonasi di hutan bakau Torosiaje Gorontalo | 20 |
| 2. Kluster gen yang mengkode biosintesis metabolit sekunder | 33 |
| 3. Mekanisme kinerja antibiotik dan mekanisme resistensi bakteri Gram-negatif | 36 |
| 4. Struktur kimia antibiotik streptomisin | 39 |
| 5. Struktur kimia Kanamisin | 40 |
| 6. Struktur kimia antibiotik cefixime | 41 |
| 7. Lokasi penelitian lapangan di hutan bakau Torosiaje, Gorontalo | 50 |
| 8. Kondisi hutan bakau Torosiaje, Gorontalo | 51 |
| 9. Bagan alir tahap penelitian aktinomisetes penghasil antibiotik pada tanah rizosfer pohon bakau di Hutan Bakau Torosiaje Gorontalo .. | 56 |
| 10. Sketsa rancangan pengambilan sampel tanah rizosfer pohon bakau dari dua tipe hutan bakau di Hutan Bakau Torosiaje | 58 |
| 11. Skema uji MIC antibiotik dengan <i>broth micro-dilution procedure</i> . | 70 |
| 12. Pertumbuhan aktinomisetes pada medium SCA yang disuplementasi dengan antifungi setelah 28 hari inkubasi | 84 |
| 13. <i>Block agar method</i> pada skrining awal isolat aktinomisetes penghasil antibiotik | 85 |
| 14. Cacah isolat aktinomisetes penghasil antibiotik pada rizosfer bakau pada tipe hutan bakau yang berbeda | 86 |
| 15. Dendrogram elemen BOX 26 isolat aktinomisetes penghasil antibiotik dari hutan bakau <i>upper overwash</i> | 88 |
| 16. Dendrogram dari data elemen BOX isolat aktinomisetes penghasil antibiotik di hutan bakau tipe <i>fringe</i> | 89 |
| 17. Dendrogram UPGMA yang diperoleh dari pola ARDRA pada isolat aktinomisetes penghasil antibiotik | 91 |
| 18. Pohon filogenetik neighbour-joining yang diperoleh dari sekuen gen 16S rRNA isolat aktinomisetes penghasil antibiotik yang diisolasi dari rizosfer bakau di hutan bakau <i>upper overwash</i> | 93 |
| 19. Pohon filogenetik neighbour-joining yang diperoleh dari sekuen gen 16S rRNA isolat aktinomisetes penghasil antibiotik yang diisolasi dari rizosfer bakau di hutan bakau <i>middle fringe</i> | 95 |
| 20. Pohon filogenetik neighbour-joining yang diperoleh dari sekuen gen 16S rRNA isolat aktinomisetes penghasil antibiotik yang diisolasi dari rizosfer bakau di hutan bakau <i>upper fringe</i> | 96 |
| 21. Komposisi komunitas aktinomisetes penghasil antibiotik di hutan bakau Torosiaje | 97 |
| 22. Distribusi aktinomisetes penghasil antibiotik di hutan bakau Torosiaje <i>upper overwash</i> , <i>middle fringe</i> , dan <i>upper fringe</i> | 98 |
| 23. Distribusi jenis aktinomisetes penghasil antibiotik pada rizosfer bakau di Hutan Bakau Torosiaje, Gorontalo | 101 |

| | | |
|---|---|--|
|  UNIVERSITAS GADJAH MADA | 24. Kurva pertumbuhan isolat aktinomisetes penghasil antibiotik pada AKTINOMISETES PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI HUTAN BAKAU TOROSIAJE GORONTALO YULIANA RETNOWATI, PROF. DR. A. ENDANG SUTARININGSIH, SOETARTO, M.SC, PROF. DR. SUKARTI MOE 25. Berat kering metabolit sekunder dihasilkan isolat aktinomisetes Universitas Gadjah Mada, 2019 Diunduh dari http://eprints.library.ugm.ac.id 26. penghasil antibiotik pada medium cair ISP2 27. Aktivitas antibiotik terhadap bakteri patogen 28. Aktivitas antibiotik terhadap fungi patogen 29. MIC antibiotik terhadap mikroba uji 30. Kromatogram KLT antibiotik ekstraselular dan CFE yang dihasilkan 6 isolat aktinomisetes pada fase gerak chloroform:methanol 31. Kromatogram KLT deteksi antibiotik kelompok β -laktam 32. Kromatogram KLT untuk deteksi antibiotik golongan aminoglikosida menggunakan fase gerak methanol:25% ammonia:khloroform (3:2:1v/v/v) dengan penampak bercak 2% nyhidrin dalam ethanol 33. Kromatogram LC antibiotik 34. Kromatogram GCMS antibiotik yang dihasilkan isolat BUFA-2.... 35. Kromatogram GC-MS senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh isolat BMFB-9 36. Kromatogram KLT antibiotik (ekstraselular dan CFE) yang dihasilkan oleh isolat BUFA-2 dan BMFB-9. 37. Hasil pemantauan bioautografi KLT pada mikroba patogen 38. Kromatogram LC senyawa aktif dan hasil fragmentasi tiga komponen senyawa terdeteksi pada waktu retensi 9.39, 9,93 dan 12.84 menit 39. Deteksi alkaloid pada senyawa aktif yang dihasilkan isolat BUFA-2 40. Spektrum FT-IR KBr senyawa aktif. 41. Visualisasi gen PKS dan NRPS pada 2% agarose gel elektroforesis 42. Morfologi koloni isolat aktinomisetes penghasil antibiotik 43. Pewarnaan Gram sel aktinomisetes penghasil antibiotik 44. Mikrograf SEM spora isolat aktinomisetes penghasil antibiotik perbesaran 7500x 45. Pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan evolusioner enam isolat aktinomisetes penghasil antibiotik (BMFR-4, BMFB-9, BUFA-2, BUOR-21, BUOB-1, dan BUFX-4) terhadap jenis terdekat (<i>type strain</i>) berdasar sekuen gen 16S rRNA | 103 105 106 107 109 110 111 113 114 115 118 118 119 120 121 124 126 126 127 131 |
|---|---|--|



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

DAFTAR LAMPIRAN

AKTINOMISETES PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI HUTAN BAKAU TOROSIAJE GORONTALO

YULIANA RETNOWATI, PROF. DR. A. ENDANG SUTARININGSIH SOETARTO, M. SC; PROF. DR. SUKARTI MOE

Universitas Gadjah Mada, 2019 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

Halaman

| | |
|---|-----|
| 1. Skrining awal isolat aktinomisetes penghasil antibiotik dari hutan bakau Torosiaje | 176 |
| 2. Fingerprint elemen BOX isolat aktinomisetes penghasil antibiotik yang diamplifikasi menggunakan primer BOXA1R | 178 |
| 3. Tabel similaritas hasil analisis kluster berdasar karakter profil elemen BOX pada isolat aktinomisetes yang diisolasi dari hutan bakau tipe <i>overwash</i> | 179 |
| 4. Tabel similaritas hasil analisis kluster berdasar karakter profil elemen BOX pada isolat aktinomisetes yang diisolasi dari zona <i>middle</i> hutan bakau tipe <i>fringe</i> | 180 |
| 5. Tabel similaritas hasil analisis kluster berdasar karakter profil elemen BOX pada isolat aktinomisetes yang diisolasi dari zona <i>upper</i> hutan bakau tipe <i>fringe</i> | 181 |
| 6. Fingerprint DNA hasil ARDRA menggunakan enzim restriksi HaeIII dan MSP1 | 182 |
| 7. Tabel similaritas sekuens gen 16S rRNA isolat aktinomisetes penghasil antibiotik dari rizosfer pohon bakau di hutan bakau <i>upper overwash</i> terhadap strain acuan | 183 |
| 8. Tabel similaritas sekuens gen 16S rRNA isolat aktinomisetes penghasil antibiotik dari rizosfer pohon bakau di hutan bakau <i>middle fringe</i> terhadap strain acuan | 184 |
| 9. Tabel similaritas sekuens gen 16S rRNA isolat aktinomisetes penghasil antibiotik dari rizosfer pohon bakau di hutan bakau <i>upper fringe</i> terhadap strain acuan | 185 |
| 10. Massa spektra dan hasil fragmentasi komponen senyawa bioaktif yang dihasilkan isolat BUFA-2 yang terdeteksi pada LCMS | 186 |
| 11. Massa spektra dan hasil fragmentasi komponen senyawa bioaktif yang dihasilkan isolat BMFB-9 yang terdeteksi pada LCMS | 191 |
| 12. Perbandingan masa spektra antibiotik volatil yang dihasilkan isolat aktinomisetes | 192 |



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN
AKTINOMISETES PENGHASIL ANTIBIOTIK DARI HUTAN BAKAU TOROSIAJE GORONTALO
YULIANA RETNOWATI, PROF. DR. A. ENDANG SUTARININGSIH SOETARTO, M.SC; PROF. DR. SUKARTI MOE
Universitas Gadjah Mada 2019 | Ketersediaan: <http://repository.ugm.ac.id/>

| | |
|-------------------------------|--|
| AgNO ₃ | <i>Silver nitrate</i> |
| ARDRA | <i>Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis</i> |
| ATCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| BLAST | <i>Basic local alignment search tool</i> |
| CFU | <i>Colony forming unit</i> |
| CLUSTAL | <i>Clustering alignment</i> |
| DNA | <i>Deoxyribonucleic acid</i> |
| DMSO | <i>Dimetil sulphoxide</i> |
| dNTPs | <i>Deoxyribonucleotide triphosphate</i> |
| EDTA | <i>Ethylene diamine tetra acetic acid</i> |
| FNCC | <i>Florida nature & culture center</i> |
| FTIR | <i>Fourier-Tansform Infrared Spectroscopy</i> |
| GCMS | <i>Gas chromatography mass spectra</i> |
| GPS | <i>Global positioning system</i> |
| HCl | <i>Chloride acid</i> |
| H ₂ O | <i>Dihidrogen oxide</i> |
| H ₂ O ₂ | <i>Hidrogen peroxide</i> |
| HNO ₃ | <i>Nitric acid</i> |
| HCl | <i>Chloride acid</i> |
| HClO ₄ | <i>Perchloric acid</i> |
| HPLC | <i>High performance liquid chromatography</i> |
| InaCC | <i>Indonesia culture collection</i> |
| ISP | <i>International Streptomyces program</i> |
| Js | <i>Jaccard's coefficient</i> |
| K ₂ O | <i>Kalium oxide</i> |
| KLT | Kromatografi lapis tipis |
| KLTP | Kromatografi lais tipis preparative |
| LCMS | <i>Liquid chromatography mass spectra</i> |
| MEGA6 | <i>Molecular evolutionary genetic analysis version 6.0</i> |



| | |
|-------------------|---|
| MgCl ₂ | <i>Magnesium chloride</i> |
| MIC | <i>Minimum inhibitory concentration</i> |
| MVSP | <i>Multi variate statistical package</i> |
| N-NO ₃ | <i>Nitrogen nitrate</i> |
| NaCl | <i>Natrium chloride</i> |
| NCBI | <i>National Center for Biotechnology Information</i> |
| NRPs | <i>Non ribosomal polipetides</i> |
| OD | <i>Optical density</i> |
| PCR | <i>polymerase chain reaction</i> |
| PKS | <i>Poliketide shyntase</i> |
| Rep-PCR | <i>Repetitive polymerase chain reaction</i> |
| RNA | <i>Ribonucleic acid</i> |
| SCA | <i>Starch casein agar</i> |
| SDS | <i>Sodium dodecyl sulphate</i> |
| SDS-PAGE | <i>Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis</i> |
| SEM | <i>Scanning electron microscope</i> |
| TBE | <i>Tris-boric-acid-EDTA</i> |
| TE | <i>Tris-EDTA</i> |
| TEMED | <i>Tetramethylethylenediamine</i> |
| UPGMA | <i>Unweighted pair group method with aritmathic averages</i> |
| UV | <i>ultraviolet</i> |
| µg | <i>microgram</i> |
| µl | <i>microliter</i> |