



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**PROFIL METABOLIT SEKUNDER DAN IDENTIFIKASI GEN
16S rRNA BAKTERI SIMBION NUDIBRANCH KEPULAUAN
RAJA AMPAT PENGHASIL ANTIMIKROBA UNTUK
MENDUKUNG KESEHATAN NASIONAL**

MUHAMMAD NAUFAL AFLAH 320200301016

**Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM MILITER
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

BOGOR 2024

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Muhammad Naufal Aflah
NIM : 320200301016
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
Judul Skripsi : Profil Metabolit Sekunder dan Identifikasi Gen 16S rRNA Bakteri Simbion Nudibranch Kepulauan Raja Ampat Penghasil Antimikroba Untuk Mendukung Kesehatan Nasional

Dosen Pembimbing 1,



Dr. Nastiti Intan Permata Sari, S.Si., M.Ked.Trop.
Penata III/c NIP. 199306202024032001
Tanggal: 15-07-2024

Dosen Pembimbing 2,



Dr. rer.nat Ira Handayani, S.Si., M.Si.
Penata III/d NIP. 197909212010121001
Tanggal: 19 Juli 2024

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi,



Nurhadiyanta, S.Si., M.Si.
Kolonel Ckm. NRP. 32987
Tanggal: 23 Juli 2024

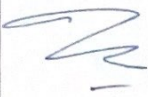
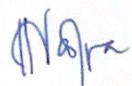
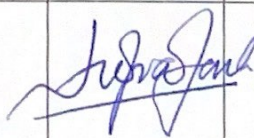
Dekan Fakultas MIPA Militer,



Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si.
Pembina Utama Muda IV/c
Tanggal:

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Muhammad Naufal Aflah
NIM : 320200301016
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
Judul Skripsi : Profil Metabolit Sekunder dan Identifikasi Gen
16S rRNA Bakteri Simbion Nudibranch
Kepulauan Raja Ampat Penghasil Antimikroba
Untuk Mendukung Kesehatan Nasional

No	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
1	Dosen Pembimbing 1: Dr. Nastiti Intan Permata Sari, S.Si., M.Ked.Trop. Penata III/c NIP. 199306202024032001		15/07/24
2	Dosen Pembimbing 2: Dr.rer.nat Ira Handayani, S.Si., M.Si. Penata III/d NIP. 197909212010121001		19/07/24
3	Dosen Penguji 1: Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si. Penda Tk. I III/b NIP. 199404272022032003		15/07/24
4	Dosen Penguji 2: Nurhadiyanta, S.Si., M.Si. Kolonel Ckm. NRP. 32987		23/07/24

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, 23 Juli 2024



Muhammad Naufal Aflah

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Pertahanan Republik Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muhammad Naufal Aflah

NIM : 320200301016

Program Studi : Sarjana Biologi

Fakultas : FMIPA Militer

Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pertahanan Republik Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Profil Metabolit Sekunder dan Identifikasi Gen 16S rRNA Bakteri Simbion Nudibranch Kepulauan Raja Ampat Penghasil Antimikroba Untuk Mendukung Kesehatan Nasional

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Bogor
Pada tanggal : 23 Juli 2024

Yang menyatakan



Muhammad Naufal Aflah
NIM. 320200301016

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi berjudul “Profil Metabolit Sekunder dan Identifikasi Gen 16S rRNA Bakteri Symbion Nudibranch Kepulauan Raja Ampat Penghasil Antimikroba Untuk Mendukung Kesehatan Nasional”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah membantu proses penyusunan skripsi baik secara langsung maupun tidak langsung, antara lain:

1. Dr. Ir. Ence Darma Jaya Supena, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
2. Kolonel Ckm. Nurhadiyanta, S.Si., M.Si. selaku Kepala Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia dan dosen penguji kedua yang telah memberi saran dan kritikan yang membangun bagi penulis.
3. Dr. Nastiti Intan Permata Sari, S.Si., M.Ked.Trop. selaku dosen pembimbing pertama yang telah membimbing, mengarahkan, serta memberi saran dan kritikan yang membangun bagi penulis.
4. Dr.rer.nat Ira Handayani, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing kedua yang telah membimbing, mengarahkan, serta memberi saran dan kritikan yang membangun bagi penulis.
5. Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji pertama yang telah memberi saran dan kritikan yang membangun bagi penulis.

6. Dr. Nadya Farah, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing dan memberikan masukan, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
7. Seluruh dosen pengajar dan staf administrasi Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer, Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang telah memberikan ilmu, bantuan, dan dorongan semangat semasa perkuliahan.
8. Orang tua dan keluarga besar penulis yang telah memberikan memberi dukungan moril dan semangat bagi penulis.
9. Seluruh kadet mahasiswa Program Studi Biologi *Cohort I* yang berjuang bersama-sama menyelesaikan studi.
10. Segenap tim Kelompok Riset Senyawa Antimikroba Kesehatan Laboratorium Preparasi Protein Rekombinan dan Mikroba Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah membantu dan memberi semangat selama penelitian dan penulisan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan baik dari segi materi maupun tatanan bahasanya. Kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan penulis untuk perbaikan kedepannya. Penulis berharap skripsi ini dapat memberi manfaat bagi kepentingan keilmuan maupun aplikasi di bidang kesehatan.

Bogor, ...

Muhammad Naufal Aflah

ABSTRAK

Profil Metabolit Sekunder dan Identifikasi Gen 16S rRNA Bakteri Simbion Nudibranch Kepulauan Raja Ampat Penghasil Antimikroba Untuk Mendukung Kesehatan Nasional

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan penyebab morbiditas dan mortalitas tertinggi di dunia. Penggunaan antibiotik mengalami peningkatan sejalan dengan semakin banyaknya infeksi yang disebabkan oleh mikroba patogen. Mikroba penyebab infeksi memiliki kemampuan beradaptasi terhadap toksisitas antimikroba yang mengakibatkan resistan. Eksplorasi kandidat senyawa antimikroba alami yang baru dengan efek samping yang minimal perlu dilakukan untuk menangani permasalahan strain yang resistan terhadap antimikroba sebelumnya. Penelitian ini bertujuan mengetahui karakteristik, aktivitas antimikroba, dan jenis bakteri. Identifikasi fenotip dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopis morfologi koloni dan pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram. Skrining awal menggunakan metode *agar plug diffusion*. Skrining kedua menggunakan pendekatan *One Strain Many Compound* (OSMAC). Identifikasi molekuler isolat bakteri simbion dilakukan berdasarkan gen 16S rRNA. Berdasarkan hasil pengamatan, seluruh isolat bakteri simbion yang diperoleh termasuk Gram positif dan didominasi morfologi sel yang berbentuk batang. Dua isolat menunjukkan potensi aktivitas antimikroba tertinggi yaitu isolat kode RAND 3.3 (3A) dan RAND 3.3 (12D). *Crude extract* etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) dan RAND 3.3 (12D) berspektrum luas karena memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji Gram positif, Gram negatif, dan jamur patogen yang digunakan. Identifikasi molekuler berdasarkan gen 16S rRNA diketahui isolat kode RAND 3.3 (3A) adalah *Bacillus paranthracis* strain Mn5(T) dan isolat kode RAND 3.3 (12D) merupakan *Dermacoccus abyssi* strain MT1.1(T). Karakteristik metabolit sekunder yang dihasilkan dari kedua isolat terpilih berpotensi sebagai senyawa antibakteri dan antimikroba antara lain senyawa dari golongan alkaloid, alkana, alkena, asam lemak, asam lemak tidak jenuh, benzena, ester, fenol, dan terpenoid.

Kata Kunci: Antimikroba, Bakteri simbion, Kepulauan Raja Ampat, Nudibranch

ABSTRACT

Secondary Metabolite Profiling and 16S rRNA Gene Identification of Antimicrobial Producing Raja Ampat Islands Nudibranch Symbiont Bacteria to Support National Health

Infectious diseases are one of the highest morbidity and mortality causing health problems in the world. The use of antibiotics has increased in line with the increasing number of infections caused by pathogenic microbes. Microbes that cause infections have the ability to adapt to antimicrobial toxicity resulting in resistance. Exploration of new natural antimicrobial compound candidates with minimal side effects needs to be done to deal with the problem of strains that are resistant to previous antimicrobials. This study aims to determine the characteristics, antimicrobial activity, and types of bacteria. Phenotypic identification was carried out based on macroscopic observations of colony morphology and microscopic observations were carried out by Gram staining. The initial screening used the agar plug diffusion method. The second screening used the One Strain Many Compound (OSMAC) approach. Molecular identification of symbiont bacterial isolates was carried out based on the 16S rRNA gene. Based on observations, all isolates of symbiont bacteria obtained were Gram-positive and dominated by rod-shaped cell morphology. Two isolates showed the highest potential antimicrobial activity, namely isolates code RAND 3.3 (3A) and RAND 3.3 (12D). Crude extract ethyl acetate isolates code RAND 3.3 (3A) and RAND 3.3 (12D) are broad-spectrum because they have antimicrobial activity against Gram-positive, Gram-negative test bacteria, and pathogenic fungi used. Molecular identification based on the 16S rRNA gene showed that the isolate code RAND 3.3 (3A) was *Bacillus paranthracis* strain Mn5(T) and the isolate code RAND 3.3 (12D) was *Dermacoccus abyssi* strain MT1.1(T). The characteristics of secondary metabolites produced from the two selected isolates have potential as antibacterial and antimicrobial compounds including compounds from the alkaloid, alkane, alkene, fatty acid, unsaturated fatty acid, benzene, ester, phenol, and terpenoid groups.

Keywords: Antimicrobial, Nudibranch, Raja Ampat Islands, Symbiont Bacteria

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Landasan Teori.....	7
2.2 Hasil Penelitian Terdahulu	35
2.3 Kerangka berpikir.....	40
2.4 Hipotesis	40
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	41
3.1 Metode dan Desain Penelitian	41
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	41
3.3 Alat dan Bahan	44
3.4 Variabel Penelitian	45
3.5 Populasi dan Sampel	45

3.6 Prosedur Penelitian.....	46
3.7 Metode Analisis	60
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	61
4.1 Hasil Penelitian	61
4.2 Pembahasan	103
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	138
5.1 Kesimpulan.....	138
5.2 Saran	138
DAFTAR PUSTAKA.....	139
LAMPIRAN	168



DAFTAR GAMBAR

Gambar 4. 1 Sampel Nudibranch (<i>Phyllidia varicosa</i>) asal Kepulauan Raja Ampat.....	61
Gambar 4. 2 Karakterisasi morfologi isolat murni bakteri simbion <i>P. varicosa</i> asal Kepulauan Raja Ampat secara makroskopis	62
Gambar 4. 3 Karakterisasi morfologi sel isolat murni bakteri simbion <i>P. varicosa</i> asal Kepulauan Raja Ampat secara mikroskopis melalui pewarnaan Gram.....	65
Gambar 4. 4 Hasil pengukuran diameter zona hambat isolat bakteri simbion <i>P. varicosa</i> asal Kepulauan Raja Ampat terhadap mikroba uji	66
Gambar 4. 5 Elektroforegram hasil amplifikasi PCR DNA pengkode 16S rRNA isolat potensial bakteri simbion <i>P. varicosa</i> asal Kepulauan Raja Ampat.....	71
Gambar 4. 6 Urutan basa nukleotida hasil sekuensing isolat kode RAND 3.3 (3A).....	72
Gambar 4. 7 Urutan basa nukleotida hasil sekuensing isolat kode RAND 3.3 (12D)	73
Gambar 4. 8 Pohon filogenetik isolat kode RAND 3.3 (3A) dan RAND 3.3 (12D), dengan metode <i>Neighbor-Joining</i> pada 1000 kali replikasi <i>bootstrap</i>	75
Gambar 4. 9 Kromatogram GC-MS <i>crude extract</i> isolat kode RAND 3.3 (3A)	96
Gambar 4. 10 Kromatogram GC-MS <i>crude extract</i> isolat kode RAND 3.3 (12D)	99

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kategori zona hambat dalam uji aktivitas antimikroba	20
Tabel 2. 2 Penelitian terdahulu	35
Tabel 3. 1 Rencana jadwal penelitian	42
Tabel 4. 1 Karakteristik morfologi koloni isolat murni bakteri simbion <i>P. varicosa</i> asal Kepulauan Raja Ampat	63
Tabel 4. 2 Karakteristik morfologi sel isolat murni bakteri simbion <i>P. varicosa</i> asal Kepulauan Raja Ampat	64
Tabel 4. 3 Identitas dua isolat potensial bakteri simbion <i>P. varicosa</i> asal Kepulauan Raja Ampat berdasarkan gen 16S rRNA	74
Tabel 4. 4 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Aeromonas hydrophila</i>	76
Tabel 4. 5 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Aeromonas hydrophila</i>	77
Tabel 4. 6 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	78
Tabel 4. 7 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	79
Tabel 4. 8 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	80
Tabel 4. 9 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	81
Tabel 4. 10 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	82
Tabel 4. 11 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	83
Tabel 4. 12 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Mycobacterium smegmatis</i>	84
Tabel 4. 13 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Mycobacterium smegmatis</i>	85

Tabel 4. 14 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827.....	86
Tabel 4. 15 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	87
Tabel 4. 16 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	88
Tabel 4. 17 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	89
Tabel 4. 18 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	90
Tabel 4. 19 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	91
Tabel 4. 20 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Staphylococcus epidermidis</i> FNCC-0048.....	92
Tabel 4. 21 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Staphylococcus epidermidis</i> FNCC-0048	93
Tabel 4. 22 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (3A) terhadap <i>Streptococcus agalactiae</i>	94
Tabel 4. 23 Zona hambat <i>crude extract</i> etil asetat isolat kode RAND 3.3 (12D) terhadap <i>Streptococcus agalactiae</i>	95
Tabel 4. 24 Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder dari <i>crude extract</i> isolat kode RAND 3.3 (3A)	97
Tabel 4. 25 Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder dari <i>crude extract</i> isolat kode RAND 3.3 (12D).....	100

DAFTAR SINGKATAN

The logo of Universitas Pertaahanan Republik Indonesia is a circular emblem. It features a blue outer ring with the text "UNIVERSITAS PERTAHANAN" at the top and "REPUBLIK INDONESIA" at the bottom. Inside the ring is a red and white shield with a golden eagle (Garuda) in the center. A white banner with the motto "PRATIYA - WIRATAMA - NAGARA BHAKTI" is draped across the bottom of the shield.

ASW	: <i>Artificial Seawater</i>
CV-I	: <i>Crystal violet - Iodine</i>
GCMS	: <i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry</i>
ISP-2A	: <i>International Streptomyces Project No.2 Agar</i>
ISP-2B	: <i>International Streptomyces Project No.2 Agar</i>
KHM	: <i>Konsentrasi Hambat Minimum</i>
MEGA	: <i>Molecular Evaluation Genetics Analysis</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
MHB	: <i>Mueller Hinton Broth</i>
MSA	: <i>Mannitol Soya Agar</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
OSMAC	: <i>One Strain Many Compound</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
SPSS	: <i>Statistical Program for Social Science</i>
SSW	: <i>Sterilized Seawater</i>
TSB	: <i>Tryptone Soy Broth</i>
YMA	: <i>Yeast Malt Agar</i>
ZMA	: <i>Zobbel Marine Agar (ZMA)</i>