IDENTIFIKASI *Actinomycetes* YANG DIISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN CACING NIPAH (*Namalycastis rhodochorde*) DAN SERASAH NIPAH (*Nypa* sp.) BERDASARKAN SEKUEN GEN 16S rRNA

AUFAR ISMI WIRANATA
H1041211068

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
TAHUN
2025

IDENTIFIKASI *Actinomycetes* YANG DIISOLASI DARI SALURAN PENCERNAAN CACING NIPAH (*Namalycastis rhodochorde*) DAN SERASAH NIPAH (*Nypa* sp.) BERDASARKAN SEKUEN GEN 16S rRNA

AUFAR ISMI WIRANATA
H1041211068

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains pada Program Studi Biologi

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
TAHUN
2025

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir	: Identifikasi *Actinomycetes* yang Diisolasi dari Saluran Pencernaan Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan Serasah Nipah (*Nypa* sp.) Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA
Nama Mahasiswa	: Aufar Ismi Wiranata
NIM	: H1041211068
Jurusan/Program Studi	: Biologi/Biologi
Tanggal Lulus	: 28 Juli 2025
SK Pembimbing	: No. 2752/UN 22.8/TD.06/2024 /Tanggal 13 September 2024
SK Penguji	: No. 2247/UN 22.8/TD.06/2025 /Tanggal 16 Juli 2025

Dosen Pembimbing

Pembimbing I

Ari Hepi Yanti, S.Si., M.Sc.
NIP 198404152008012008

Pembimbing II

Rikhsan Kurniatuhadi, S.Si, M.Si.
NIP 198903042023211018

Dosen Penguji

Ketua Penguji

Firman Saputra, S.Si., M.Sc.
NIP 198302112008121003

Anggota Penguji

Prof. Dr. Dra. Siti Khotimah, M.Si.
NIP 196702021997022001

Pimpinan Sidang
(merangkap anggota penguji)

Ari Hepi Yanti, S.Si., M.Sc.
NIP 198404152008012008

Sekretaris Sidang
(merangkap anggota penguji)

Rikhsan Kurniatuhadi, S.Si, M.Si.
NIP 198903042023211018

Mengesahkan
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Tanjungpura

Prof. Dr. Gusrizal, S.Si., M.Si.
NIP 197108022000031001

PERNYATAAN INTEGRITAS AKADEMIK

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Aufar Ismi Wiranata
NIM	: H1041211068
Program Studi/ Jurusan	: Biologi/ Biologi
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

dengan ini menyatakan bahwa dokumen ilmiah Tugas Akhir yang disajikan ini tidak mengandung unsur pelanggaran integritas akademik sesuai Peraturan Menteri Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia Nomor 39 Tahun 2021. Apabila di kemudian hari dokumen ilmiah Tugas Akhir ini mengandung unsur pelanggaran integritas akademik sesuai ketentuan perundangan tersebut maka saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Demikian pernyataan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Pontianak, 14 Juli 2025



Aufar Ismi Wiranata
H1041211068

Identifikasi *Actinomycetes* yang Diisolasi dari Saluran Pencernaan Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan Serasah Nipah (*Nypa* sp.) Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA

Abstrak

Actinomycetes merupakan mikroorganisme yang banyak ditemukan di perairan estuaria. Mikroorganisme ini diketahui memiliki kemampuan dalam menghasilkan metabolit sekunder sebagai antitumor dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies bakteri dari kelompok *Actinomycetes* yang diisolasi dari saluran pencernaan cacing nipah dan serasah nipah berdasarkan sekuen gen 16S rRNA secara kualitatif. *Actinomycetes* direkultur menggunakan media *Starch Casein Agar* (SCA) dengan pengulangan dua kali (duplo) dan diinkubasi pada suhu 30^0C selama lima hari. Tahapan Identifikasi *Actinomycetes* berdasarkan sekuen 16S rRNA meliputi isolasi DNA, kontrol kualitas sampel DNA, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), elektroforesis, sekuensing, modeling dan analisis sekuen DNA, dan penyusunan pohon filogenetik. Hasil identifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S rRNA menunjukkan terdapat enam spesies bakteri dari kelompok *Actinomycetes* hasil isolasi dari saluran pencernaan cacing nipah dan serasah nipah yang meliputi A1 (NrASA1) *Streptomyces* sp. AmelKG-12, A3 (NrAFA2) *Brevibacterium* sp. strain S24, A4 (NrAFA3) *Streptomyces* sp. AmelKG-12, A5 (NrAFA4) *Brevibacterium* sp. strain S24, A6 (TCN4) *Actinobacterium* kmd 222, dan A10 (TCN8) *Streptomyces* sp. VEL17 dengan ukuran pita DNA berkisar antara 1321-1388 bp. Hasil penyusunan pohon filogenetik menunjukkan keenam spesies memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan beberapa spesies *Streptomyces murinus* dan *Streptomyces* sp. dengan strain yang berbeda. Namun, pada spesies *Actinobacterium* kmd 22 (A6) memiliki hubungan kekerabatan yang sangat jauh dengan spesies yang lain. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat untuk pemilihan spesies bakteri yang sesuai untuk formulasi pakan cacing nipah berbasis probiotik dan produk antipatogen.

Kata kunci: *Actinomycetes*, metabolit sekunder, 16S rRNA, pohon filogenetik

Identification of *Actinomycetes* Isolated from the Gastrointestinal Tract of Nipah Worms (*Namalycastis rhodochorde*) and Nipah Litter (*Nypa* sp.) Based on 16S rRNA Gene Sequence

Abstract

Actinomycetes are microorganisms commonly found in estuarine waters. These microorganisms are known for their ability to produce secondary metabolites with antitumor and antibacterial properties. This study aims to identify the bacterial species within the *Actinomycetes* group isolated from the digestive tract of nipah worms and nipah litter through qualitative analysis of the 16S rRNA gene sequence. *Actinomycetes* were recultured using Starch Casein Agar (SCA) medium with two replicates and incubated at 30°C for five days. The steps for identifying *Actinomycetes* based on 16S rRNA sequences include DNA isolation, quality control of DNA samples, Polymerase Chain Reaction (PCR), electrophoresis, sequencing, DNA sequence modeling and analysis, and phylogenetic tree construction. Molecular identification results using the 16S rRNA gene revealed six bacterial species from the *Actinomycetes* group isolated from the digestive tract of nipah worms and nipah litter, including A1 (NrASA1) *Streptomyces* sp. AmelKG-12, A3 (NrAFA2) *Brevibacterium* sp. strain S24, A4 (NrAFA3) *Streptomyces* sp. AmelKG-12, A5 (NrAFA4) *Brevibacterium* sp. strain S24, A6 (TCN4) *Actinobacterium* kmd 222, and A10 (TCN8) *Streptomyces* sp. VEL17 with DNA band sizes ranging from 1321 to 1388 bp. The results of the phylogenetic tree construction indicated that the six species were closely related to several strains of *Streptomyces murinus* and other *Streptomyces* sp. strains. However, the *Actinobacterium* kmd 222 (A6) species was found to be distantly related to the other species. The findings of this study are expected to contribute to the selection of suitable bacterial species for the formulation of probiotic-based nipah worm feed and antipathogenic products.

Keywords: *Actinomycetes*, secondary metabolites, 16S rRNA, phylogenetic tree

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Identifikasi *Actinomycetes* yang Diisolasi dari Saluran Pencernaan Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan Serasah Nipah (*Nypa* sp.) Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA". Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan gelar Sarjana (S1) Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Windarto, S.E. dan Rinayanti, S.T., kedua adik saya Jasmine Amalia Oktawina, S.Tr.Ak. dan M. Fakhar, tante saya Dona Ria Istiawati, S.Sos, paman saya Pangsimak Adi Rohayat, S.T., dan keluarga dekat saya yang selalu mendukung melalui doa, dukungan moril, dan bantuan finansial selama masa studi hingga ke tahap penyelesaian tugas akhir berupa skripsi ini. Penulis ingin mengucapkan terima kasih banyak kepada Ari Hepi Yanti, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing pertama dan Rikhsan Kurniatuhadi, S.Si., M.Si selaku pembimbing kedua, Firman Saputra S.Si., M.Sc, selaku penguji pertama dan Prof. Dr. Dra. Siti Khotimah, M.Si. selaku penguji kedua yang telah memberikan arahan, bimbingan, saran, dan masukkan selama penelitian berlangsung dan penyusunan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada berbagai pihak yang telah memberikan dukungan, bantuan dan terlibat dalam penyusunan skripsi ini:

1. Prof. Dr. Gusrizal, S.Si., M.Si selaku Dekan FMIPA Universitas Tanjungpura.
2. Dr. Kustiati, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura.
3. Prof. Dr. Dra. Siti Khotimah, M.Si. selaku pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan dan arahan selama masa studi penulis.
4. Seluruh dosen dan staf Jurusan Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura Pontianak.
5. Dr. Junardi, S.Si., M.Si. selaku Kepala Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi FMIPA UNTAN dan Mukarlina, S.Si., M.Si. selaku Kepala Laboratorium Biologi Jurusan Biologi FMIPA UNTAN yang telah memberikan dukungan berupa kemudahan dalam menggunakan fasilitas laboratorium untuk penunjang kegiatan penelitian.
6. Emma Khairiah, S.Si., Sri Rahayu, S.Si., Margie Surahman, S.Si., Alexander Subrata, S.Si. selaku Laboran Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak yang telah memberi bimbingan dan bantuan selama penelitian.
7. Dr. Siti Ifadatin, S.Si., M.Si. selaku Kepala Laboratorium Biologi UPT Laboratorium Terpadu Universitas Tanjungpura dan Devinda Ekarizky Diputri, S.Si. selaku Laboran Laboratorium Biologi UPT Laboratorium Terpadu Universitas Tanjungpura yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan masukan selama penelitian.
8. Alex Pratama Situmorang, Bartolomeus Datim Siki, Vioni Talitha Nabila, Putri Ansan Rianda, Dian Indrawati, Bani Batua, Fadiah Roihanah, Mega Juliana, dan keluarga besar mahasiswa biologi angkatan 2021 (BIOSCALIS) yang

selalu memberikan semangat, dukungan, dan arahan selama masa studi hingga penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan didalam penulisan maupun penyusunan skripsi ini. Penulis menerima kritikan dan saran yang bersifat membangun agar skripsi ini menjadi lebih baik lagi kedepannya. Penulis berharap agar skripsi ini bisa menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya dan dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan serta para pembaca.

Pontianak, 14 Juli 2025

Aufar Ismi Wiranata

DAFTAR ISI

Halaman

PRAKATA ..... **vi**
DAFTAR ISI ..... **viii**
DAFTAR TABEL ..... **ix**
DAFTAR GAMBAR ..... **ix**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **ix**
BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 2
1.3 Tujuan 3
1.4 Manfaat 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **4**
2.1 *Actinomycetes* 4
2.2 Mikroorganisme Estuaria 5
2.3 Identifikasi *Actinomycetes* Secara Molekuler 6
2.3.1 Isolasi DNA 6
2.3.2 Kontrol Kualitas DNA 7
2.3.3 *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 8
2.3.4 Elektroforesis 9
2.3.5 Sekuensing DNA 9
BAB III METODE PENELITIAN **11**
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 11
3.2 Alat dan Bahan 11
3.3 Prosedur Kerja 12
3.3.1 Sterilisasi Alat 12
3.3.2 Preparasi Media dan Rekultur *Actinomycetes* 12
3.3.3 Isolasi DNA 12
3.3.4 Kontrol Kualitas Sampel DNA 13
3.3.5 Amplifikasi Sampel DNA *Actinomycetes* 14
3.3.6 Elektroforesis 14
3.3.7 Preparasi dan Sekuensing DNA *Actinomycetes* 14
3.3.8 Modeling dan Analisis Sekuen DNA *Actinomycetes* 15
3.3.9 Penyusunan Pohon Filogenetik 15
3.4 Analisis Data 15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN **17**
4.1 Hasil 17
4.2 Pembahasan 19
BAB V SIMPULAN DAN SARAN **22**
5.1 Simpulan 22
5.2 Saran 22
DAFTAR PUSTAKA **23**
LAMPIRAN **31**

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Hasil Analisis BLAST Bakteri *Actinomycetes* yang Diisolasi dari Saluran Pencernaan Cacing Nipah (*N. rhodochorde*) dan Serasah Nipah (*Nypa* sp.) 18

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 4.1 Hasil Visualisasi Pita DNA *Actinomycetes* dan DNA marker 1 Kb (100 – 10.000 bp). Keterangan: A1, A3, A4, A5, A6 dan A10 merupakan pita DNA *Actinomycetes* hasil isolasi dari saluran pencernaan cacing nipah (*N. rhodochorde*) dan serasah nipah (*Nypa* sp.)..... 17
Gambar 4.2 Pohon filogenetik enam isolat *Actinomycetes* berdasarkan sekuen gen 16S rRNA, metode *Neighbor-Joining* dengan 1000 replikasi *bootstrap*, dan *kimura 2-parameter*..... 18

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Dokumentasi Kegiatan Penelitian 31
Lampiran 2. Rekultur *Actinomycetes* Hasil Isolasi dari Saluran Pencernaan Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan Serasah Nipah (*Nypa* sp.) 32
Lampiran 3. Analisis Data 33
Lampiran 4. Sekuen DNA Sampel Bakteri *Actinomycetes* Hasil Isolasi dari Saluran Pencernaan Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan Serasah Nipah (*Nypa* sp.).....35

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perairan estuaria Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat merupakan habitat bagi salah satu cacing laut dari kelas *Polychaeta* yaitu Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*). Cacing nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dapat ditemukan di sekitar perakaran nipah dengan karakteristik membenamkan diri di dalam sedimen berupa lumpur dan sebagai *deposit feeder* (Glasby *et al*., 2007; Junardi, 2008; Junardi & Riyandi, 2020). Cacing nipah merupakan salah satu komoditas ekonomi di Kalimantan Barat yang memiliki kadar protein yaitu sebesar >58% sehingga dapat dimanfaatkan bagi usaha budidaya ikan dan udang (Setyawati *et al*., 2020). Cacing nipah yang hidup di sekitar muara sungai saat ini mengalami penurunan populasi akibat eksploitasi berlebihan dan alihfungsi habitat untuk perkebunan, perumahan hingga industri dan perubahan iklim.

Usaha yang dapat dilakukan untuk mempertahankan populasi cacing nipah di alam dan memenuhi kebutuhan cacing nipah di pasaran adalah dengan budidaya secara berkelanjutan, namun usaha budidaya cacing nipah pada skala laboratorium masih terkendala akibat tingkat mortalitas yang tinggi pada tahap perkembangan awal (Junardi & Riyandi, 2020). Berdasarkan hasil penelitian Setyawati *et al*. (2020), tingkat mortalitas cacing nipah fase larva sebesar <20% dan fase pertumbuhan juvenile 20,77%. Hal ini dapat disebabkan oleh serangan protozoa dan bakteri patogen. Hasil penelitian Yanti *et al*. (2022), menunjukkan adanya bakteri patogen dengan kode isolat NrBF6, NrBF9, dan NrBC3 yang memiliki kemampuan dalam melisiskan darah cacing nipah. Penelitian Kurniatuhadi *et al*. (2024), menemukan aktivitas antibakteri pada *Actinomycetes* yang diisolasi dari serasah nipah dengan menunjukkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Aeromonas* sp. NrBF9.

Actinomycetes merupakan mikroorganisme yang banyak ditemukan di perairan estuaria (Naligama *et al*., 2022; Gong *et al*., 2016). *Actinomycetes* memiliki kemampuan dalam menghasilkan metabolit sekunder sebagai antibakteri dan antitumor (Gong *et al*., 2016). Penelitian Yanti *et al*. (2020), menemukan

kelompok bakteri *Actinomycetes* pada habitat, saluran pencernaan dan feses cacing nipah. Identifikasi *Actinomycetes* tersebut berdasarkan ciri morfologi, uji biokimia, dan pewarnaan gram, sehingga hanya dapat mengidentifikasi *Actinomycetes* sampai tingkat genera (Kurniatuhadi *et al*., 2024). Salah satu metode untuk identifikasi sampai tingkat spesies pada kelompok bakteri *Actinomycetes* melalui uji biomolekuler.

Salah satu usaha untuk pengembangan potensi *Actinomycetes* yang ditemukan pada saluran pencernaan cacing nipah dan serasah nipah sebagai bahan antibakteri dalam usaha budidaya adalah cara untuk *Quality Control* produk probiotik dan antipatogen melalui identifikasi hingga tingkat spesies. Identifikasi kelompok bakteri *Actinomycetes* hingga tingkat spesies memiliki manfaat untuk formulasi produk pakan berbasis probiotik dan imunomodulator bagi cacing nipah. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai identifikasi *Actinomycetes* yang diisolasi dari saluran pencernaan cacing nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan serasah nipah (*Nypa* sp.) berdasarkan sekuen gen 16S rRNA.

1.2 Rumusan Masalah

Actinomycetes merupakan mikroorganisme yang memiliki persebaran yang luas di permukaan bumi. *Actinomycetes* dapat dijumpai di sekitar hutan mangrove salah satunya di pelepah nipah (*Nypa* sp.). Habitat utama cacing nipah yaitu pada pelepah nipah yang telah mengalami pembusukan. Cacing nipah dikenal sebagai *deposit feeder* dengan memakan dan mengambil nutrisi dari bahan organik yang terdapat di dalam pelepah nipah sehingga memungkinkan *Actinomycetes* ikut masuk ke dalam tubuh cacing nipah melalui proses makan.

Kemampuan *Actinomycetes* dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti antibakteri, antikanker, dan antifungi dimanfaatkan untuk budidaya cacing nipah. Namun untuk dapat mengembangkan potensi *Actinomycetes* tersebut sebagai mutu isolat dalam formulasi produk perlu identifikasi jenis hingga tingkat spesies secara molekuler. Oleh karena itu, rumusan masalah yang terdapat pada penelitian ini adalah apa saja spesies bakteri dari kelompok *Actinomycetes* yang diisolasi dari saluran pencernaan cacing nipah

(*Namalycastis rhodochorde*) dan serasah nipah (*Nypa* sp.) berdasarkan sekuen gen 16S rRNA.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui spesies bakteri dari kelompok *Actinomycetes* yang diisolasi dari saluran pencernaan cacing nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan serasah nipah (*Nypa* sp.) berdasarkan sekuen gen 16S rRNA secara kualitatif.

1.4 Manfaat

Hasil dari penelitian ini dapat menjadi informasi awal mengenai spesies bakteri dari kelompok *Actinomycetes* yang terdapat pada saluran pencernaan cacing nipah (*Namalycastis rhodochorde*) dan serasah nipah (*Nypa* sp.) untuk pengembangan pakan cacing nipah berbasis probiotik dan produk antipatogen. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan manfaat untuk pemilihan spesies bakteri yang sesuai untuk formulasi pakan cacing nipah berbasis probiotik dan produk antipatogen.