

**ANALISIS KOMPOSISI MIKROBIOMA DAN METABOLIT
SEKUNDER PADA RIMPANG DAN DAUN KAPULAGA
JAWA (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)**

SKRIPSI



Faiza Nur Fauzia

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**ANALISIS KOMPOSISI MIKROBIOMA DAN METABOLIT
SEKUNDER PADA RIMPANG DAN DAUN KAPULAGA**

JAWA (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)

SKRIPSI



Faiza Nur Fauzia

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022**

**ANALISIS KOMPOSISI MIKROBIOMA DAN METABOLIT
SEKUNDER PADA RIMPANG DAN DAUN KAPULAGA
JAWA (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelara Sarjana Sains di Bidang Biologi
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Faiza Nur Fauzia
NIM 081811433014

Disetujui oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,


Prof. Dr. Y. Sri Wulan M., M.Si
NIP. 196403031988102001


Anjar Tri Wibowo, M.Sc., Ph.D.
NIP. 198607252019083101

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Analisis Komposisi Mikrobioma dan Metabolit Sekunder
pada Rimpang dan Daun Kapulaga Jawa
(*Amomum compactum* Soland. ex Maton)

Penyusun : Faiza Nur Fauzia
NIM : 081811433014

Tanggal Ujian : 14 Juni 2022

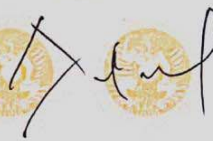
Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Prof. Dr. Y. Sri Wulan M., M.Si
NIP. 196403031988102001

Pembimbing II,



Anjar Tri Wibowo, M.Sc., Ph.D.
NIP. 198607252019083101

Mengetahui,

Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga



Prof. Dr. Hj. Sri Puji Astuti, M.Si
NIP. 196602211992032001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Faiza Nur Fauzia

NIM : 081811433014

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Universitas : Universitas Airlangga

Jenjang : S1

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**ANALISIS KOMPOSISI MIKROBIOMA DAN METABOLIT SEKUNDER
PADA RIMPANG DAN DAUN KAPULAGA JAWA
(*Amomum compactum* Soland. ex Maton)**

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 14 Juni 2022



Faiza Nur Fauzia

NIM. 081811433014

Faiza Nur Fauzia, 2022, **Analisis Komposisi Mikrobioma dan Metabolit Sekunder pada Rimpang dan Daun Kapulaga Jawa (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)**, Skripsi ini dibawah bimbingan Prof. Dr. Yosephine Sri Wulan Manuhara, M.Si. dan Anjar Tri Wibowo, M.Sc., Ph.D., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Kapulaga jawa merupakan tanaman obat yang diketahui memiliki banyak khasiat medis. Khasiat tersebut dipengaruhi oleh adanya berbagai metabolit sekunder di dalam organnya. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa komposisi metabolit sekunder dalam organ tanaman dapat dipengaruhi oleh komposisi mikrobioma. Selain itu, faktor lingkungan juga dapat mempengaruhi komposisi metabolit sekunder dan mikrobioma. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara komposisi mikrobioma dengan konsentrasi relatif metabolit sekunder pada rimpang dan daun tanaman obat kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. ex Maton). Sampel rimpang dan daun diambil dari dua habitat yang berbeda yaitu di Kawasan hutan Desa Kuripansari, Pacet, Mojokerto, Jawa Timur, dan tempat pembibitan obat Taman Husada Graha Famili, Surabaya, Jawa Timur. Dalam penelitian ini komposisi dan kelimpahan bakteri dianalisis menggunakan *Amplicon Sequencing* Gen 16s rRNA, sedangkan komposisi metabolit dianalisis menggunakan *Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS-MS). Berikutnya data mikrobioma dan metabolomik yang didapat dikorelasikan untuk mengidentifikasi jenis-jenis mikroba tertentu yang dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada rimpang dan daun kapulaga jawa yang tumbuh liar di Hutan dan dibudidayakan di Taman Toga. Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa rimpang dan daun kapulaga jawa yang hidup liar dan dibudidayakan didominasi oleh filum bakteri Cyanobacteria dan genus *Acidobacteria subgroup 1 (Gp1)*. Analisis metabolit menunjukkan bahwa metabolit sekunder bermuatan positif dengan konsentrasi tertinggi pada rimpang kapulaga jawa yang tumbuh liar dan di Taman Toga adalah *cafestol*, sedangkan pada daun konsentrasi metabolit sekunder bermuatan positif tertinggi adalah *reserpine*. Metabolit bermuatan negatif di rimpang kapulaga jawa yang tumbuh liar dan dibudidayakan dengan konsentrasi tertinggi pada sampel adalah *loganic acid*, sedangkan pada daun konsentrasi metabolit sekunder bermuatan negatif tertinggi adalah *pectolarigenin*. Berdasarkan hasil analisis korelasi diketahui bahwa terdapat bakteri memiliki korelasi positif yang signifikan dengan berbagai metabolit, yaitu bakteri yang berasal dari filum Acidobacteria Gp6, Cyanobacteria, Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Sphingomonas, dan dari genus *Gp1* serta genus *Methylobacterium*.

Kata kunci: mikrobioma, metabolit sekunder, rimpang kapulaga jawa, daun kapulaga jawa, kapulaga jawa

Faiza Nur Fauzia, 2022, **Analysis of Microbiome and Secondary Metabolites Composition in the Leaf and Rhizome of Java Cardamom (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)**, this thesis was supervised by Prof. Dr. Yosephine Sri Wulan Manuhara, M.Si. and Anjar Tri Wibowo, M.Sc., Ph.D., Departement of Biologi, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

Java cardamom is a medicinal plant that is known to have many medical benefits. These benefits are influenced by the presence of various secondary metabolites in the organ. Several previous studies have shown that the composition of secondary metabolites in plant organs can be influenced by the composition of the microbiome. In addition, environmental factors can also affect the composition of secondary metabolites and microbiome. This study aims to determine the correlation between the composition of the microbiome and the relative concentrations of secondary metabolites in the rhizomes and leaves of the medicinal plant java cardamom (*Amomum compactum* Soland. ex Maton). Samples of rhizomes and leaves were collected from two different environments, in the forest area of Kuripansari Village, Pacet, Mojokerto, East Java, and the plant nursery at Taman Husada Graha Famili, Surabaya, East Java. In this study, the composition and abundance of the bacteria were analyzed using Amplicon Sequencing Gene 16s rRNA, while the composition of metabolites was analyzed using Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry (LC-MS-MS). Next, the obtained microbiome and metabolomics data were correlated to identify specific microbes that might influence the production of secondary metabolites in the rhizomes and leaves of the java cardamom which grow wild in the forest and cultivated in Taman Toga. The results from this study showed that the rhizomes and leaves of java cardamom that grew wild and cultivated are dominated by the bacterial phylum Cyanobacteria and the genus *Acidobacteria subgroup 1 (Gp1)*. Metabolite analysis showed that the positively charged secondary metabolite with the highest concentration in the java cardamom rhizome that grew wild and cultivated was cafestol, while the highest concentration of positively charged secondary metabolite in leaves was reserpine. Secondary metabolites with a negative charge in java cardamom rhizomes that grow wild and cultivated with the highest concentration in samples is loganic acid, while in leaves the highest concentration of negatively charged secondary metabolites is pectolinarigenin. Based on the results of correlation analysis, it is known that there are bacteria that have a significant positive correlation with various metabolites, namely bacteria from the phylum Acidobacteria Gp6, Cyanobacteria, Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Sphingomonas, and from the genus *Gp1* and the genus *Methylobacterium*.

Keywords: microbiome, secondary metabolites, java cardamom rhizome, java cardamom leaf, java cardamom

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah yang Maha Esa atas limpahan rahmat, ridha, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Analisis Komposisi Mikrobioma dan Metabolit Sekunder pada Rimpang dan Daun Kapulaga Jawa (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains pada program Strata-1 (S1) di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu, memberi masukan dan arahan, serta memberi dukungan dalam penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari adanya keterbatasan di dalam penulisan skripsi. Besar harapan penulis akan kritik dan saran yang bersifat membangun. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dalam bidang ilmu pengetahuan dan penerapan di lapangan, serta bagi para pembaca.

Surabaya, 14 Juni 2022

Penyusun,

Faiza Nur Fauzia

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas rahmat, hidayah, serta karunia-Nya, penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “**Analisis Komposisi Mikrobioma dan Metabolit Sekunder pada Rimpang dan Daun Kapulaga Jawa (*Amomum compactum* Soland. ex Maton)**”. Penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Yosephine Sri Wulan Manuhara, M.Si. selaku dosen pembimbing I yang senantiasa meluangkan waktu dan tenaganya dalam memberikan arahan dan bimbingan.
2. Anjar Tri Wibowo, M.Sc., Ph.D. selaku peneliti dan pembimbing II yang telah memberikan kesempatan, arahan, bimbingan, serta kritik dan saran kepada penulis untuk dapat menyelesaikan kegiatan penelitian dan penulisan naskah skripsi.
3. Dr. Hamidah, M.Kes. selaku penguji III yang senantiasa memberikan kritik dan saran yang membangun mulai dari saat ujian proposal hingga ujian skripsi.
4. Tri Nurhariyati, M.Kes. selaku penguji IV yang senantiasa memberikan kritik dan saran yang membangun.
5. Heri Santoso, S.Si selaku ahli botani yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis saat melakukan penelitian di Kawasan hutan Mojokerto.
6. Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. selaku kepala Departemen Biologi, ketua program studi S-1 Biologi Universitas Airlangga, serta dosen pengampu mata kuliah Skripsi yang telah memberikan arahan serta motivasi dalam penyelesaian penulisan naskah skripsi.
7. Ibu (Farida) dan Ayah (Moch. Fauzi) tercinta yang tiada henti mendoakan, memberi kasih sayang, dukungan moral dan materil serta motivasi dalam segala hal yang penulis lalui.
8. Faiza Nur Fauzia selaku diri sendiri yang telah memenangkan perang melawan rasa malas, menjaga semangat dan mentalnya untuk menyelesaikan skripsi ini.

9. Kakak (M. Iqbal Al-Faizi) dan Adik (M. Firdaus Zakariya & M. Faqih Habibi) yang senantiasa saling mendoakan, menyayangi, dan memberikan semangat.
10. Keluarga besar dari Ayah dan Ibu yang senantiasa mendoakan, memberi kasih sayang, dukungan, dan semangat.
11. Fachriyatul Kholidah selaku sepupu yang sudah seperti adik sendiri.
12. Balqis Qonita Putri dan Putri Akustia yang senantiasa memberikan semangat dan motivasi. Terima kasih telah menemani penulis sejak awal perkuliahan dalam suka maupun duka.
13. Annisa Nur Fatimah, teman pertama di bangku perkuliahan. Terima kasih telah memberikan kenangan yang luar biasa dalam masa perkuliahan.
14. Tim proyek mikrobioma, Elsalisa, Pramudya, Yohanes, dan Fahmi. Terima kasih telah menjadi tim yang luar biasa dalam bekerja sama dan memberikan memori yang menyenangkan selama penelitian.
15. Rif'atul Azizah dan Risca Kusuma Dewi yang senantiasa menemani, membantu, dan mendukung penulis mulai dari SMP hingga saat ini. Terima kasih atas dukungan dan kenangan yang luar biasa.
16. Firda Setia Rachman dan Asma Rubiah Rosyadahan yang senantiasa menemani, membantu, dan mendukung penulis mulai dari SMA hingga saat ini. Terima kasih atas dukungan dan kenangan yang luar biasa.
17. Microba 2018 selaku teman-teman seangkatan yang sudah memberikan kesan dan kenangan yang luar biasa selama masa perkuliahan.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Asumsi Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	5
1.5.1 Hipotesis Statistik.....	5
1.5.2 Hipotesis Kerja.....	6
1.6 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Kapulaga Jawa (<i>Amomum compactum</i> Soland. ex Maton).....	7
2.1.1. Taksonomi kapulaga jawa.....	7
2.1.2. Deskripsi dan morfologi kapulaga jawa.....	7
2.1.3. Manfaat dan kandungan senyawa kapulaga jawa	9
2.2 Mikrobioma pada Tumbuhan.....	10
2.3 Analisis Komposisi Mikrobioma Tumbuhan Menggunakan <i>Amplicon Sequencing</i> 16S rRNA.....	11

2.4 Metabolit Sekunder.....	13
2.5 Analisis Metabolit Sekunder Menggunakan <i>Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry</i> (LC-MS-MS).....	17
BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	19
3.2.1 Bahan penelitian.....	19
3.2.2 Alat penelitian	19
3.3 Tahap Penelitian	20
3.3.1 Pengambilan sampel.....	20
3.3.2 Penggerusan sampel	20
3.3.3 Ekstraksi DNA.....	21
3.3.4 Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan spektrofotometer NanoDrop.....	23
3.3.5 PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	23
3.3.6 Elektroforesis.....	24
3.3.7 <i>Amplicon sequencing</i> 16S rRNA	24
3.3.8 Analisis metabolomik menggunakan <i>Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry</i> (LC-MS-MS).....	24
3.4 Variabel Penelitian	25
3.5 Rancangan Penelitian	25
3.6 Analisis Data (Analisis Bionfomatika)	26
3.7 Alur Penelitian.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Hasil Penelitian.....	28
4.1.1 Hasil ekstraksi DNA dan amplifikasi gen 16s rRNA dari rimpang dan kapulaga jawa	28
4.1.2 Hasil analisis keragaman bakteri yang berasosiasi dengan rimpang dan daun kapulaga jawa	30

4.1.3 Hasil analisis tingkat kesamaan spesies bakteri antar populasi kapulaga jawa	30
4.1.4 Hasil analisis <i>alpha diversity</i>	31
4.1.5 Hasil pengelompokan sampel menggunakan analisis <i>Partial Least Squares Discrimination Analysis</i> (PLS-DS)	32
4.1.6 Hasil analisis kelimpahan relatif bakteri yang berasosiasi dengan rimpang dan daun kapulaga jawa.....	33
4.1.7 Hasil analisis sepuluh senyawa metabolit negatif dan positif pada rimpang dan daun kapulaga jawa	35
4.1.8 Hasil analisis korelasi antara bakteri dengan metabolit sekunder positif dan negatif pada rimpang dan daun kapulaga jawa.....	37
5.1 Pembahasan	41
4.2.1 Analisis keragaman bakteri yang berasosiasi dengan rimpang dan daun kapulaga jawa.....	41
4.2.2 Analisis tingkat kesamaan spesies bakteri antar populasi kapulaga jawa	42
4.2.3 Analisis <i>alpha diversity</i>	42
4.2.4 Pengelompokan sampel menggunakan analisis <i>Partial Least Squares Discrimination Analysis</i> (PLS-DS)	43
4.2.5 Analisis kelimpahan relatif bakteri yang berasosiasi dengan rimpang dan daun kapulaga jawa	45
4.2.6 Analisis sepuluh senyawa metabolit negatif dan positif pada rimpang dan daun kapulaga jawa	47
4.2.7 Analisis korelasi antara bakteri dengan metabolit sekunder positif dan negatif pada rimpang dan daun kapulaga jawa.....	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	52

DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1.4	Hasil analisis <i>alpha diversity</i>	32
4.1.7	Sepuluh metabolit sekunder bermuatan positif dengan kemelimpahan relatif tertinggi pada rimpang dan daun kapulaga jawa	35

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Tanaman kapulaga jawa. A. Buah Kapulaga; B. Daun Kapulaga; C. Rimpang dan Batang Semu Kapulaga; D. Bunga Kapulaga	9
2.3	Skema gen 16S rRNA	13
2.5	Diagram skema LC-MS-MS	19
3.3.3	Skema proses ekstraksi DNA menggunakan kit <i>ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep</i> .	22
4.1.1	Hasil elektroforesis produk PCR gen 16s rRNA kapulaga jawa	29
4.1.2	Jumlah spesies bakteri yang berasosiasi pada rimpang dan daun kapulaga jawa.	30
4.1.3	Tingkat kesamaan taksa antara populasi <i>Amomum compactum</i> . Tingkat kesamaan taksa pada rimpang yang berasal dari populasi berbeda (kiri). Tingkat kesamaan taksa pada daun yang berasal dari populasi berbeda (kanan).	31
4.1.5	Pengelompokan sampel pada kapulaga jawa	33
4.1.6	Komposisi dan kemelimpahan bakteri pada rimpang dan daun kapulaga jawa berdasarkan filum (A. Rimpang dan B. Daun) dan berdasarkan genus (C. Rimpang dan D. Daun).	34
4.1.7	Sepuluh senyawa metabolit negatif dan positif pada rimpang dan daun kapulaga jawa	37
4.1.8.1	Korelasi positif dan negatif antara bakteri pada tingkat filum dan genus dengan metabolit bermuatan positif	39
4.1.8.2	Korelasi positif dan negatif antara bakteri dengan metabolit negatif	40