

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

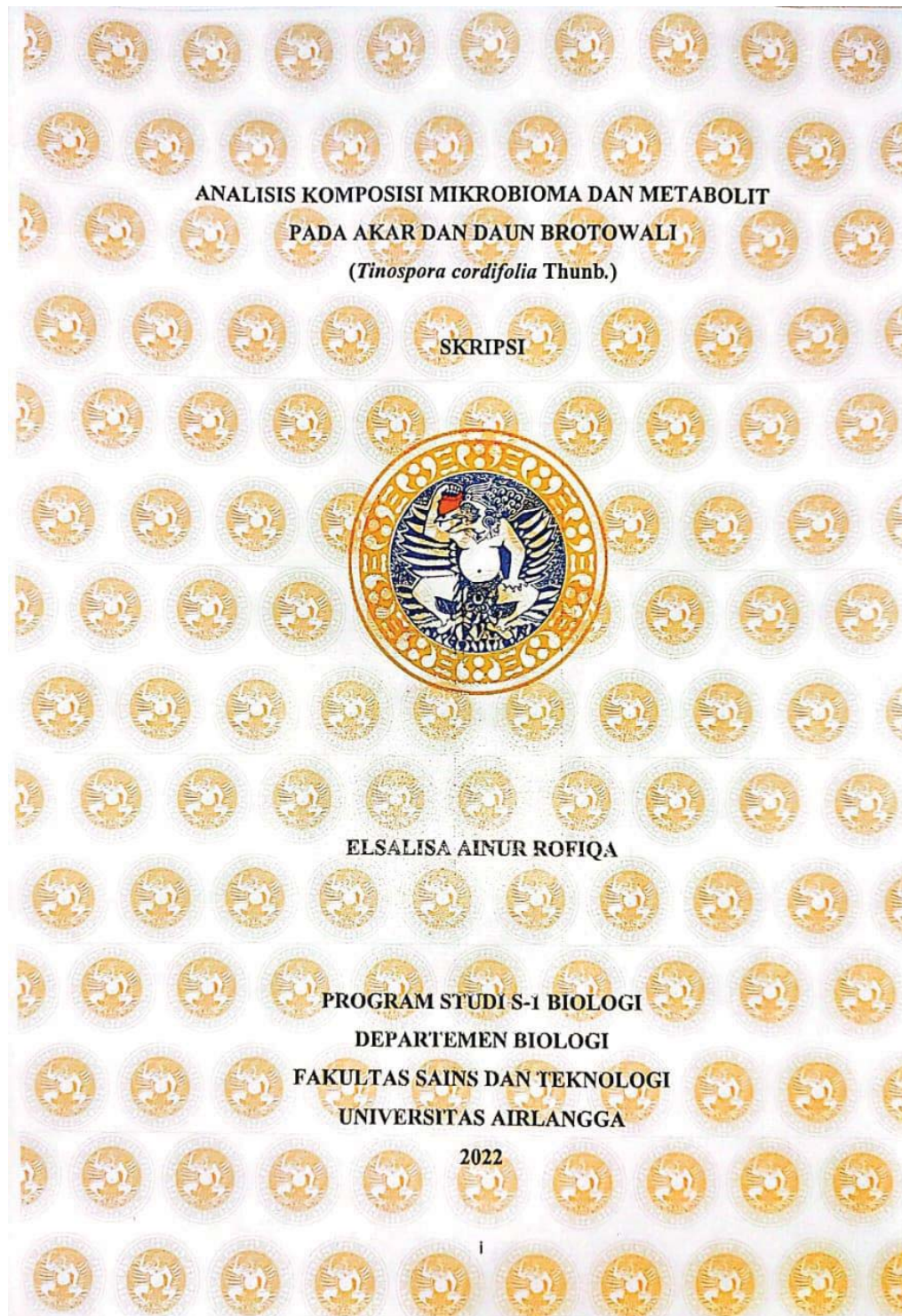
**ANALISIS KOMPOSISI MIKROBIOMA DAN METABOLIT
PADA AKAR DAN DAUN BROTOWALI
(*Tinospora cordifolia* Thunb.)**

SKRIPSI



ELSALISA AINUR ROFIQA

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



**ANALISIS KOMPOSISI MIKROBIOMA DAN METABOLIT PADA
AKAR DAN DAUN BROTOWALI (*Tinospora cordifolia* Thunb.)**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Bidang Biologi
Pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

ELSALISA AINUR ROFIQA

081811433004

Disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II


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


Dr. Anjar Tri Wibowo S.Si., M.Sc.
NIP. 198607252019083101

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Analisis Komposisi Mikrobioma dan Metabolit pada
Akar dan Daun Brotowali (*Tinospora cordifolia Thunb.*)
Nama : Elsalisa Ainur Rofiqah
NIM : 081811433004
Tanggal Ujian : 20 Juli 2022

Disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II


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


Dr. Anjar Tri Wibowo S.Si., M.Sc.
NIP. 198607252019083101

Mengetahui
Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga


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

LEMBAR 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 menggunakan hak milik Universitas Airlangga.**

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : Elsalisa Ainur Rofiqah
NIM : 081811433004
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Universitas : Universitas Airlangga
Jenjang : S1

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

**ANALISIS KOMPOSISI MIKROBIOMA DAN METABOLIT SEKUNDER
PADA AKAR DAN DAUN BROTOWALI (*Tinospora cordifolia* Thunb.)**

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, 8 Agustus 2022


Elsalisa Ainur Rotiqa

Elsalisa Ainur Rofiq, 2022. **Analisis Mikrobioma dan Metabolit pada Akar dan Daun Brotowali (*Tinospora Cordifolia* Thunb.)**. Skripsi ini dibawah bimbingan Prof. Dr. Y. Sri Wulan Manuhara, M.Si. dan Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc., Ph.D. Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara komposisi mikrobioma dan metabolit sekunder, serta untuk mengidentifikasi bakteri yang dapat mempengaruhi tingkat produksi metabolit sekunder pada daun dan akar brotowali (*Tinospora cordifolia*). Sampel diambil dari dua habitat yang berbeda yaitu hutan liar di daerah Mojokerto, Jawa Timur dan budidaya tanaman toga di Taman Husada, Surabaya. Analisis komposisi dan kelimpahan mikrobioma dilakukan *amplicon sequencing* menggunakan teknologi *Next-Generation Sequencing* (NGS). Sedangkan analisis komposisi metabolit menggunakan *Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS-MS) dengan bantuan lembaga Novogen, Singapura. Hasil yang diperoleh berupa kelimpahan dan komposisi bakteri dan metabolit, kemudian keduanya dikorelasikan untuk mengidentifikasi mikroba yang dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada akar dan daun brotowali. Kelimpahan bakteri pada akar dan daun brotowali didominasi oleh filum Proteobacteria dan Cyanobacteria, serta genus *Cyanobacteria*. Hasil analisis metabolomik memperlihatkan adanya senyawa metabolit sekunder bermuatan positif pada akar dan daun brotowali didominasi oleh *ingenol-3-angelate*. Senyawa metabolit sekunder bermuatan negatif pada daun brotowali didominasi oleh *1,3,7-trimethyluric acid*, dan pada akar oleh *phellodendrine chloride*. Terdapat korelasi positif yang signifikan antara kelimpahan bakteri dan metabolit sekunder yang terjadi pada filum bakteri seperti Proteobacteria dan Actinobacteria. Sedangkan pada tingkat genus terjadi pada genus *Amycolatopsis*, *Bradyrhizobium*, *Sphingomonas*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Cyanobacteria*.

Kata kunci : *Tinospora cordifolia*, akar, daun, kelimpahan mikrobioma, metabolit sekunder.

Elsalisa Ainur Rofiq, 2022. **Analysis Microbiome and Metabolite on Roots and Leaves of Brotowali (*Tinospora Cordifolia* Thunb.)**. This thesis is under the guidance of Prof. Dr. Y. Sri Wulan Manuhara, M.Sc. and Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc., Ph.D. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the correlation between the microbiome composition and secondary metabolites, as well as to identify bacteria that can affect the level of secondary metabolite production in the leaves and roots of brotowali (*Tinospora cordifolia*). Samples were taken from two different habitats, namely wild forest in the Mojokerto area, East Java and the cultivation of toga plants in Husada Park, Surabaya. Analysis of the composition and abundance of the microbiome was performed by amplicon sequencing using *Next-Generation Sequencing* (NGS) technology. Meanwhile, the analysis of metabolite composition used *Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS-MS) with the assistance of the Novogen Institute, Singapore. The results obtained were in the form of abundance and composition of bacteria and metabolites, then both were correlated to identify microbes that could affect the production of secondary metabolites in brotowali roots and leaves. The abundance of bacteria on the roots and leaves of brotowali was dominated by the phylum Proteobacteria and Cyanobacteria, and the genus *Cyanobacteria*. The results of metabolomics analysis showed that the presence of positively charged secondary metabolites in brotowali roots and leaves was dominated by *ingenol-3-angelate*. Negatively charged secondary metabolites in brotowali leaves were dominated by *1,3,7-trimethyluric acid*, and *phellodendrine chloride* in the roots. There is a significant positive correlation between the abundance of bacteria and secondary metabolites that occur in bacterial phyla such as Proteobacteria and Actinobacteria. While at the genus level it occurs in the genera *Amycolatopsis*, *Bradyrhizobium*, *Sphingomonas*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Cyanobacteria*.

Keywords: *Tinospora cordifolia*, roots, leaves, abundance of microbiome, secondary metabolites.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penyusun panjatkan ke hadirat Allah Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan karunia-Nya, naskah skripsi yang berjudul “**Analisis komposisi mikrobioma dan metabolit pada akar dan daun Brotowali (*Tinospora cordifolia Thunb.*)**” dapat terselesaikan tepat waktu. Penyusunan naskah skripsi ini merupakan salah satu prasyarat kelulusan sarjana sains pada program studi S1 Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

Penyusun menyadari bahwa dalam penulisan naskah skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk kebaikan di masa yang akan datang. Semoga di masa yang akan datang, naskah skripsi ini dapat berguna untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan semua pihak yang membaca.

Surabaya, 20 Juli 2022

Penyusun,

Elsalisa Ainur Rofiqah

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Allah SWT. atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Analisis Mikrobioma dan Metabolit pada Akar dan Daun Brotowali (*Tinospora cordifolia* Thunb.)**” yang merupakan syarat akhir untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya. Selama menyelesaikan naskah skripsi ini penulis menemukan banyak sekali hambatan. Namun atas bantuan, motivasi dan bimbingan dari banyak pihak, penulis mampu mengatasi hambatan yang terjadi. Oleh sebab itu penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Y. Sri Wulan Manuhara, M.Si selaku pembimbing I yang telah berusaha meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, motivasi, arahan, kritik, dan saran selama penelitian dan penyusunan naskah skripsi.
2. Dr. Anjar Tri Wibowo, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, motivasi, arahan, kritik, dan saran selama penelitian dan penyusunan naskah skripsi.
3. Dr. Hamidah, M.Kes. selaku penguji III yang telah memberikan kritik dan saran untuk penulisan naskah skripsi yang baik.
4. Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes. selaku penguji IV yang telah memberikan kritik dan saran untuk penulisan naskah skripsi yang baik.
5. Heri Santoso, S.Si selaku ahli botani yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis saat melakukan penelitian di Mojokerto.
6. Ayah (alm), Ibu, Kakak, Neni, dan keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan doa serta motivasi terbaik selama kegiatan perkuliahan, penelitian, dan penyusunan naskah skripsi ini.
7. Elsalisa Ainur Rofiqah selaku diri sendiri yang telah berhasil melawan rasa malas, rasa tidak percaya diri, dan tetap menjaga semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman dari grup “Sukses Bersama” yaitu Faiza, Balqis, Yohanes, Pramudya, Fahmi, dan Putri yang telah bekerjasama dalam penelitian dan telah meluangkan waktu untuk membantu penulis mulai dari awal penyusunan proposal hingga penyusunan naskah skripsi ini.
9. Teman-teman Biologi angkatan 2018 (Microba) yang telah kebersamaan selama perkuliahan di Universitas Airlangga.
10. Teman-teman terdekat penulis yaitu Maria, Putu Ayu, dan Rachel yang telah memberikan semangat dan motivasi dalam penulisan naskah skripsi.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH PROPOSAL SKRIPSI	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN	iv
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB. I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Asumsi Penelitian	4
1.5 Hipotesis Penelitian	4
1.5.1 Hipotesis kerja.....	4
1.5.2 Hipotesis statistik	5
1.6 Manfaat Penelitian	5
BAB. II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Brotowali (<i>Tinospora cordifolia</i> Thunb.)	6
2.1.1 Klasifikasi brotowali (<i>Tinospora cordifolia</i> Thunb.)	6
2.1.2 Deskripsi dan morfologi brotowali (<i>Tinospora cordifolia</i> L.)	6
2.1.3 Manfaat dan kandungan senyawa brotowali (<i>Tinospora cordifolia</i> Thunb.)	8
2.2 Mikrobioma Tumbuhan	9

2.3 Analisis Komposisi Mikrobioma Tumbuhan Menggunakan <i>Amplicon Sequencing</i> 16S rRNA.....	10
2.4 Metabolit Sekunder pada Tumbuhan.....	12
2.5 Analisis Metabolit Sekunder Menggunakan LC-MS-MS	14
BAB III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.2.1 Alat penelitian	17
3.2.2 Bahan penelitian.....	18
3.3 Rancangan Penelitian.....	18
3.4 Variabel Penelitian.....	18
3.5 Prosedur Penelitian	19
3.5.1 Sampling lapangan tanaman brotowali (<i>Tinospora</i> <i>cordifolia</i> Thunb.)	19
3.5.2 Preparasi ekstrak dna pada akar dan daun	20
3.5.3 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	22
3.5.5 Elektroforesis	24
3.5.5 Sekuensing DNA.....	25
3.5.6 Analisis metabolomik menggunakan <i>Liquid</i> <i>Chromatography with Tandem Mass Spectrometry</i> (LC-MS-MS).....	25
3.6 Pengolahan Data (Analisis Bioinformatika)	26
3.7 Kerangka Operasional Penelitian	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Hasil Penelitian.....	28
4.1.1 Hasil ekstraksi DNA, pengukuran konsentrasi DNA, dan PCR gen 16S rRNA	28
4.1.2 Hasil analisis keragaman bakteri yang berasosiasi dengan akar dan daun Brotowali	30
4.1.3 Hasil analisis tingkat kesamaan spesies bakteri antar populasi brotowali	31

4.1.4	Hasil analisis <i>alpha diversity</i>	32
4.1.5	Hasil pengelompokan sampel menggunakan analisis <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	33
4.1.6	Hasil analisis kelimpahan relatif bakteri yang berasosiasi dengan akar dan daun brotowali.....	34
4.1.7	Hasil analisis sepuluh senyawa metabolit positif dan negatif pada akar dan daun brotowali.....	36
4.1.8	Hasil analisis korelasi antara bakteri dengan metabolit sekunder positif dan negatif pada akar dan daun brotowali	40
4.2	Pembahasan.....	45
4.2.1	Ekstraksi DNA	45
4.2.2	Analisis keragaman bakteri yang berasosiasi dengan akar dan daun brotowali	47
4.2.3	Analisis tingkat kesamaan spesies bakteri antar populasi brotowali.....	49
4.2.4	Analisis <i>Alpha diversity</i>	50
4.2.5	Pengelompokkan sampel menggunakan analisis <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	51
4.2.6	Analisis kelimpahan relatif bakteri yang berasosiasi dengan akar dan daun brotowali	52
4.2.7	Analisis sepuluh senyawa metabolit sekunder bermuatan positif dan negatif dengan tingkat kelimpahan tertinggi pada akar dan daun brotowali.....	55
4.2.8	Analisis keragaman bakteri yang berasosiasi dengan akar dan daun brotowali	58
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		61
5.1	Kesimpulan	61
5.2	Saran	62
DAFTAR PUSTAKA		63
LAMPIRAN.....		71

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1.1	Hasil analisis <i>alpha diversity</i>	33
4.1.2	Sepuluh metabolit sekunder bermuatan positif dengan kemelimpahan tertinggi pada daun <i>Tinospora cordifolia</i>	37
4.1.3	Sepuluh metabolit sekunder bermuatan negatif dengan kemelimpahan tertinggi pada daun <i>Tinospora cordifolia</i>	38

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Morfologi <i>Tinospora cordifolia</i> A. Batang, B. Daun, C. Buah, D. inflorescence, E. Bunga, F. Aerial roots	7
2.2	Contoh diagram skematis dari LCMS setup	14
3.1	Skema tahapan ekstraksi DNA menggunakan <i>ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit</i>	22
3.2	Siklus PCR (1) Denaturasi pada suhu 90°C – 95°C; (2) Annealing pada suhu 37°C – 65°C; (3) Elongasi pada suhu 72°C; (4) siklus pertama selesai	23
3.3	Metode Elektroforesis	25
4.1.1	Hasil elektroforesis produk PCR gen 16s rRNA dari DNA yang di ekstrak dari akar dan daun <i>Tinospora cordifolia</i>	29
4.1.2	Jumlah spesies bakteri yang berasosiasi pada akar dan daun <i>Tinospora cordifolia</i>	30
4.1.3	Tingkat kesamaan taksa antar populasi pada daun <i>Tinospora cordifolia</i>	31
4.1.4	Tingkat kesamaan taksa antar populasi pada akar <i>Tinospora cordifolia</i>	32
4.1.5	Pengelompokan sampel brotowali berdasarkan analisis PCA	34
4.1.6	Komposisi dan kemelimpahan bakteri pada akar dan daun <i>Tinospora cordifolia</i> pada tingkat filum	35
4.1.7	Komposisi dan kemelimpahan bakteri pada akar dan daun <i>Tinospora cordifolia</i> pada tingkat genus	36
4.1.8	Kemelimpahan sepuluh metabolit sekunder tertinggi pada <i>Tinospora cordifolia</i> berdasarkan muatan positif (A. Daun	39

dan B. Akar) dan muatan negatif (C. Daun dan D. Akar)

- | | | |
|---------------|---|----|
| 4.1.9 | Korelasi positif (A) dan negatif (B) antara kemelimpahan filum dan genus bakteri dengan kemelimpahan metabolit sekunder bermuatan positif pada daun <i>Tinospora cordifolia</i> | 42 |
| 4.1.10 | Korelasi positif (A) dan negatif (B) antara kemelimpahan filum dan genus bakteri dengan kemelimpahan metabolit sekunder bermuatan negatif pada daun <i>Tinospora cordifolia</i> | 44 |