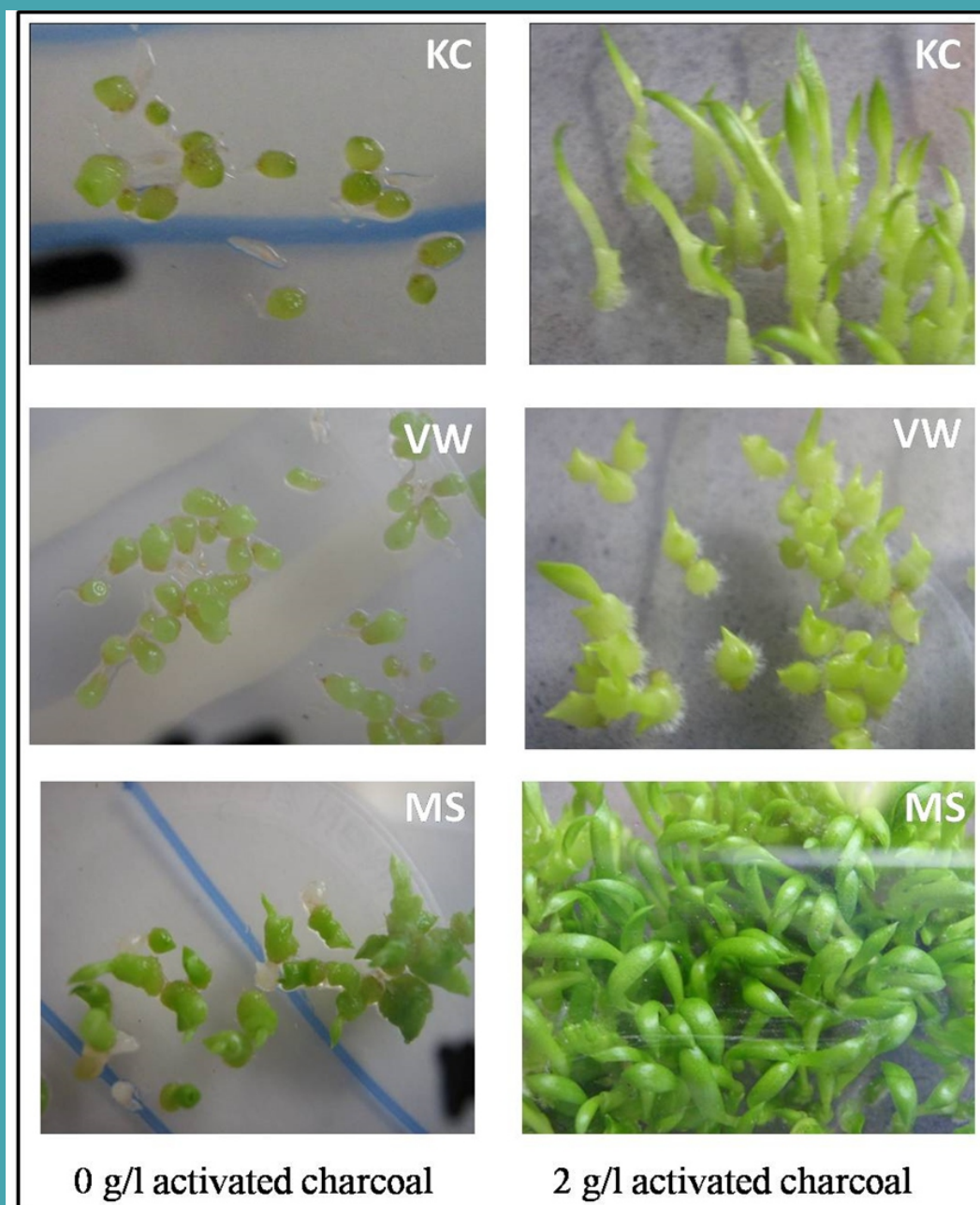


Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



BERITA BIOLOGI

Vol. 15 No. 1 April 2016

Terakreditasi Berdasarkan Keputusan Kepala Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
No. 636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015

Tim Redaksi (*Editorial Team*)

Andria Agusta (Pemimpin Redaksi, *Editor in Chief*)
Kusumadewi Sri Yulita (Redaksi Pelaksana, *Managing Editor*)
Gono Semiadi
Atit Kanti
Ary P. Keim
Siti Sundari
Evi Triana
Kartika Dewi

Desain dan Layout (*Design and Layout*)

Muhamad Ruslan, Fahmi

Kesekretariatan (*Secretary*)

Nira Ariasari, Enok, Budiarjo

Alamat (*Address*)

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)
Jalan Raya Jakarta-Bogor KM 46,
Cibinong 16911, Bogor-Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (021) 8765059
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id
jurnalberitabiologi@gmail.com



ISSN 0126-1754
636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015
Volume 15 Nomor 1, April 2016

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

Berita Biologi	Vol.15	No. 1	Hlm. 1-106	Bogor, April 2016	ISSN 0126-1754
----------------	--------	-------	------------	-------------------	----------------

Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Ucapan terima kasih kepada
Mitra Bebestari nomor ini
15(1) – April 2016

Dr. Siti Sundari
Dr. Dono Wahyuno
Dr. Ary Keim Prihardyanto
Dr. Ir. Fauzan Ali M. Sc.
Dr. Edi Mirmanto
Dr. Heddy Julistiono
Prof. Dr. I Made Suidiana, M.Sc.
Prof. Dr. Lazarus Agus Sukanto
Dr. Nurainas
Dr. Rudhy Gustiano
Ir. Titi Juhaeti, M.Sc.

POTENSI *Rhodococcus pyridinovorans* GLB5 SEBAGAI BIOKATALIS DALAM KONVERSI SENYAWA METHIL SIANIDA DAN PHENIL SIANIDA [Potential of *Rhodococcus pyridinovorans* GLB5 as Biocatalist in Methyl and Phenyl Cyanide Conversion]

Nunik Sulistinah[✉], Rini Riffiani dan Bambang Sunarko
Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Center, Jl Raya Jakarta-Bogor Km 46 Cibinong
email: nuniksulistinah@gmail.com

ABSTRACT

Nitrile and amide bioconversion have received increasing attention due to their ability to provide a range of commercially important chemicals. The experiment was conducted to investigate the potential of bacterial isolate GLB5 to convert methyl cyanide and phenyl cyanide. The samples were collected from various industrial waste. Selection of isolates to utilize these substrates as a sole source of energy, carbon and nitrogen was conducted on 96 well microtiter plates, based on the growth ability using INT (Iodo nitrotriazolium chloride) reagent. Based on the growth pattern, it showed that the bacterial isolate GLB5 grew well and it was capable of utilizing methyl and phenyl cyanide compound as the sole source of carbon and nitrogen. The isolate GLB5 was isolated from industrial waste of Batik factory in Cirebon, and identified as *Rhodococcus pyridinovorans*. Bioconversion of methyl cyanide using whole cells of *R. pyridinovorans* GLB5 showed that ethanamide (C₂H₅NO) and ethanoic acid (C₂H₄O₂) were detected. Formation of ethanamide and ethanoic acid as the product of bioconversion, indicated that the nitrile hydratase and amidase enzymes involved in the bioconversion process. Phenyl carboxamide (C₇H₇NO) as the product of phenyl cyanide bioconversion was also detected, although in low concentration. In this study, *R. pyridinovorans* GLB5 was capable of completely converting 300 mM methyl cyanide to \pm 140 mM ethanoic acid in relatively short times (<60 minutes).

Key words: bioconversion, methyl cyanide, phenyl cyanide, *Rhodococcus pyridinovorans* GLB5, enzymes-converting nitrile.

ABSTRAK

Saat ini biokonversi mikrobial senyawa nitril dan amida semakin menjadi perhatian industri oleh karena kemampuan mikroba pengkonversinya secara komersial memberikan manfaat untuk sintesis senyawa-senyawa kimia penting. Penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi/kemampuan bakteri GLB5 dalam mengkonversi senyawa methyl dan phenil sianida. Sampel dikoleksi dari beberapa limbah industri tambang, lemigas. Seleksi mikroba yang mampu menggunakan substrat uji sebagai satu-satunya sumber karbon dan nitrogen dilakukan pada mikrotiter plate (96 well). Pengujian dilakukan berdasarkan kemampuan tumbuhnya menggunakan reagen INT (Iodonitrotriazolium chloride). Isolat yang menunjukkan pertumbuhan baik selanjutnya dikonfirmasi ulang dengan menumbuhkannya kembali pada medium minimal yang mengandung substrat uji. Berdasarkan kemampuan tumbuhnya, menunjukkan bahwa isolat bakteri GLB5 mampu tumbuh dengan baik dan menggunakan methyl dan phenil sianida sebagai satu-satunya sumber karbon dan nitrogen. Isolat bakteri GLB5 yang diisolasi dari limbah industri batik Cirebon, teridentifikasi sebagai *Rhodococcus pyridinovorans*. Biokonversi methyl sianida menggunakan sel utuh (*whole cells*) dari *R. pyridinovorans* GLB5 menunjukkan, bahwa senyawa ethanamida (C₂H₅NO) dan asam ethanoat (C₂H₄O₂) sebagai produk teridentifikasi. Terdeteksinya senyawa-senyawa tersebut mengindikasikan, bahwa enzim nitril hidratase dan amidase terlibat dalam proses biokonversi tersebut. Sedangkan phenil karboxamida juga terdeteksi sebagai produk biokonversi phenil sianida, meskipun dalam konsentrasi yang relatif sangat rendah. Dengan demikian, dapat ditunjukkan bahwa *R. pyridinovorans* GLB5 mampu mengkonversi secara total 300 mM methyl sianida dan menghasilkan ethanamida sebesar \pm 140 mM dan asam ethanoat \pm 140 mM dalam waktu yang relatif singkat (<60 menit).

Kata kunci: biokonversi, methyl sianida, phenil sianida, *Rhodococcus pyridinovorans* GLB5, enzim pengkonversi senyawa nitril.

PENDAHULUAN

Senyawa nitril (RCN) merupakan senyawa penting untuk sintesa amine, amida, asam-asam karboksilat, ester, aldehida, ketone dan senyawa-senyawa heterosiklik. Strukturnya sangat stabil dan hidrolisis secara kimiawi memerlukan kondisi yang ekstrim, seperti misalnya pemanasan dengan asam atau basa dengan konsentrasi tinggi. Disamping itu, produk sampingan yang dihasilkan seperti misalnya HCN juga berpotensi sebagai pencemar lingkungan. Dilaporkan, produksi atau konsumsi asetonitril/methyl sianida dan akrilonitril per tahun mencapai 40.000 dan 4.000 ton per tahun (Hakansoon, 2005). Seperti diketahui, methyl sianida banyak digunakan untuk preparasi berbagai senyawa dalam industri-

industri kimia, obat, kosmetika, parfum, fotografi, sedangkan phenil sianida yang merupakan salah satu kelompok nitril aromatik banyak digunakan sebagai bahan aktif pestisida, dan juga untuk produksi melamin (Ramakrishna *et al.*, 1999). Penggunaan senyawa nitril secara ekstensif di industri-industri kimia, obat, menyebabkan nitril berpotensi sebagai pencemar lingkungan (Banerjee *et al.*, 2002).

Meskipun demikian, beberapa mikroba (bakteri, jamur) banyak dilaporkan sebagai katalis hidrolisis senyawa nitril (Kaul *et al.*, 2004; Dadd *et al.*, 2001). Oleh karena itu, degradasi secara mikrobial merupakan cara efisien untuk meminimalisir/mendeteksi senyawa toksik nitril dari lingkungan (Santoshkumar *et al.*, 2010). Enzim pengkonversi

nitril (nitrilase, nitril hidratase, dan amidase) yang diisolasi dari mikoba potensial pengkonversi senyawa nitril juga berpotensi dimanfaatkan sebagai biokatalis untuk agen bioremediasi maupun untuk produksi senyawa-senyawa penting. Penelitian untuk mengeliminasi senyawa nitril telah banyak dilakukan, namun demikian masih dirasa perlu mendapat perhatian, khususnya di Indonesia oleh karena studi di area ini masih sangat terbatas sementara peluang untuk memperoleh isolat mikroba unggul sebagai pendegradasi senyawa-senyawa nitril baik alifatik maupun aromatik cukup besar.

Dalam sepuluh tahun terakhir ini ketertarikan industri untuk menggunakan dan memanfaatkan enzim yang diisolasi dari mikroba potensial sebagai biokatalis untuk memproduksi senyawa farmaka/kimia yang bernilai ekonomi tinggi semakin berkembang dengan cepat. Beragam mikroorganisme berpotensi sebagai pendegradasi nitril maupun amida dan enzim yang disintesisnya telah banyak dimanfaatkan dan diaplikasikan dalam industri untuk memproduksi senyawa-senyawa amida, asam organik yang penting, seperti misalnya akrilamida, nikotinamida, asam akrilat, asam mandelat, asam metakrilat, dan (S)-asam piperasin karboksilat (Velankar *et al.*, 2010), dan bahkan salah satu diantaranya telah diproduksi secara komersial untuk produksi akrilamida oleh Mitsubishi-Rayon Chemical Co (Nagasawa *et al.*, 1993). Biokatalis menjadi sangat penting oleh karena enzim pendegradasi mampu mengkonversi beragam senyawa nitril ke dalam berbagai senyawa amida dan karboksilat dibawah kondisi yang relatif simpel dan aman (Kaul *et al.*, 2004; Banerjee *et al.*, 2006; Velankar *et al.*, 2010). Sejauh ini, dilaporkan lebih dari 3.000 enzim telah diidentifikasi spesifik fungsinya (Kaushik *et al.*, 2014). Oleh karena itu, riset untuk memanfaatkan dan mengungkap potensi mikroba dan enzim yang disintesisnya sangat diperlukan untuk pengembangan dan aplikasi lebih lanjut. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari kemampuan/potensi isolat bakteri GLB5 dalam mengkonversi/transformasi senyawa nitril, khususnya metil dan phenil sianida.

BAHAN DAN CARA KERJA

Mikroorganisme.

Delapan isolat bakteri yang diujidalam penelitian ini berasal dari koleksi kerja kelompok

penelitian nitril (Kelti Biokimia Mikroba, Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI) yang diisolasi dari berbagai limbah industri di wilayah Jawa Barat. Mikroba pendegradasi nitril/sianida seringkali ditemukan pada area limbah-limbah industri tersebut

Media Isolasi/kultivasi mikroba pendegradasi nitril/sianida.

Media yang digunakan untuk mengisolasi mikroba pendegradasi nitril adalah minimal media dengan komposisi sebagai berikut : Na₂HPO₄ 0,357g, KH₂PO₄ 0,1g, MgSO₄.7H₂O 0,1g, CaCl₂.2H₂O 0,01g, FeSO₄.7H₂O 0,001g, Yeast Extract 0,01g, Mikroelemen 1,0 ml, Aquadest ditambahkan sampai volume 1000 ml (Meyer & Schlegel, 1983; Pfennig, 1974). Adapun komposisi mikroelemen: Zn SO₄.7H₂O, MnCl₂.4H₂O, H₃BO₃, CoCl₂.6H₂O, CuCl₂.2H₂O, NiCl₂.6H₂O, Na₂MO₄.2H₂O, Na₂SeO₃, Aquadest 1000 ml. Sebagai sumber karbon dan nitrogen digunakan senyawa nitril/sianida (Meyer dan Schlegel, 1983; Pfennig, 1974)

Isolasi mikroba pendegradasi metil sianida dan phenil sianida.

Satu ml sampel limbah diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer volume 100 ml yang berisi 50 ml minimal media yang masing-masing mengandung metil sianida 1% (v/v) dan phenil sianida 0,1% (v/v). Selanjutnya kultur diinkubasi di atas mesin pengocok (*shaker*) pada suhu ruang (± 28 °C) selama tujuh hari. Setelah tujuh hari, 1- 2 ml kultur diinokulasikan ulang ke dalam Erlenmeyer yang berisi 50 ml *fresh* media minimal yang mengandung senyawa metil sianida atau phenil sianida dengan peningkatan konsentrasi (200 mM untuk metil sianida dan 25 mM untuk phenil sianida), kemudian diinkubasi kembali pada suhu ruang (28 °C) selama tujuh hari. Setelah itu, ± 50 μ l kultur di *spread* dalam media nutrient agar dan isolat yang tumbuh diisolasi dan dimurnikan untuk pengujian selanjutnya.

Seleksi mikroba pendegradasi metil dan phenil sianida dengan metode penapisan cepat

Isolat-isolat bakteri hasil isolasi ditumbuhkan/ diinokulasikan ke dalam makrotiter *plate* steril (24 *well*) yang berisi 1000 μ l minimal media yang mengandung 100 mM senyawa metil sianida atau

25 mM phenil sianida, dan diinkubasi di atas mesin pengocok pada suhu ruang selama 72 jam. Selanjutnya, 100 µl kultur dipindahkan ke dalam mikrotiter plate baru (96 *well*) dan ditambahkan 14 µl INT. Perubahan warna diamati, perubahan warna menjadi pink pekat menunjukkan pertumbuhan mikroba.

Pengujian konfirmasi pertumbuhan isolat hasil seleksi pada methyl sianida dan phenil sianida.

Konfirmasi kemampuan tumbuh isolat-isolat hasil seleksi dalam memanfaatkan senyawa methyl sianida maupun phenil sianida untuk substrat pertumbuhan dilakukan dengan menumbuhkan ulang /menginokulasi isolat terpilih tersebut ke dalam labu erlenmeyer (100 ml) dengan volume media sebesar 50 ml (pH 7,2). Konsentrasi methyl sianida dan phenil sianida yang diberikan sebesar 200 mM untuk methyl sianida dan 25 mM untuk phenil sianida. Kultur kemudian di inkubasi di atas mesin pengocok dengan kecepatan ±120 rpm pada suhu ruang (28 °C) selama tujuh hari. Pertumbuhan bakteri ditentukan dengan mengukur kerapatan optis kultur (OD) pada panjang gelombang 436 nm pada hari ke 0, 4, dan 7 hari. Kultur yang mampu tumbuh dengan baik pada media pertumbuhan tersebut, disimpan untuk pengujian selanjutnya.

Identifikasi molekuler isolat bakteri terpilih.

Identifikasi dilakukan secara molekuler berdasarkan 16S rDNA. Analisis molekuler yang dilakukan berupa ekstraksi DNA, PCR amplifikasi dan sekuensing. Ekstraksi DNA menggunakan *intra gene matrix kit* (Biorad), dilanjutkan dengan amplifikasi. Hasil optimasi PCR diperoleh dengan komposisi per reaksi 25 µl dengan menggunakan primer 9F (5' GAGTTTGATCCTGGCTCG) dan 1510R (5'GGCTACCTTGTTACGACTT).

Biokonversi methyl sianida dan phenil sianida menggunakan whole cell (sel utuh) isolat bakteri terpilih meliputi :

Preparasi inokulum isolat terpilih. Pembuatan inokulum dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri terpilih ke dalam Erlenmeyer (100 ml) yang berisi 50 ml media yang mengandung 100 mM methyl sianida. Kultur diinkubasi di atas mesin pengocok (*shaker*) pada suhu kamar (28 °C-30 °C)

selama 72 jam (fase ekponensial).

Produksi biomassa. Untuk produksi biomassa sel isolat terpilih, sebanyak 4% (v/v) inokulum tersebut di atas diinokulasikan ke dalam erlenmeyer volume 1000 ml yang berisi 500 ml media pertumbuhan yang mengandung 100 mM methyl sianida dan diinkubasi pada suhu kamar. Sel dipanen pada waktu pertumbuhan menunjukkan produksi sel optimum (±72 jam). Pemanenan sel dilakukan dengan mensentrifuse kultur dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Pelet/ sel yang diperoleh dicuci dengan 50 mM buffer fosfat (KH₂PO₄) pH 7,2 sebanyak dua kali, supernatan dibuang dan sel dikumpulkan. Sel (*whole cells*) yang diperoleh digunakan untuk pengujian proses biotransformasi/biokonversi methyl dan phenil sianida.

Penentuan aktivitas enzim pendegradasi nitril. Aktivitas enzim pendegradasi nitril ditentukan dengan mengukur penurunan konsentrasi substrat (methyl sianida dan phenil sianida) dan peningkatan konsentrasi produk biokonversi (ethanamida, asam ethanoat, phenil karboxamida serta ammonium). Sel utuh (*whole cell*) sebanyak 10% (bb/v) dilarutkan dalam 25 ml buffer fosfat pH 7,2 kemudian ditambahkan methyl sianida (500 mM) ke dalam substrat, campuran reaksi tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Pengambilan sampel sebanyak 2 ml dilakukan secara periodik pada menit ke 0, 15, 30, 45, dan 60 menit. Aktivitas enzim dihentikan dengan penambahan 0,20 ml HCL 4N/ml. Sampel-sampel tersebut kemudian disentrifuse selama 10 menit dan supernatan yang diperoleh digunakan untuk penentuan konsentrasi substrat (methyl sianida) ditentukan dengan GC dan (phenil sianida) ditentukan dengan HPLC, sedangkan kadar NH₄⁺ ditentukan dengan reagen Nessler.

Pendeteksian substrat (methyl sianida dan phenil sianida) dan produk transformasinya. Analisis substrat (methyl sianida) dan produk transformasinya (ethanamida dan asam ethanoat) ditentukan dengan Gas Chromatografi dengan kondisi : kolom parapac Q, suhu kolom 225 °C, injektor dan detektor masing-masing dengan temperatur 240°C. Volume sampel (supernatan) yang diinjeksikan adalah 1 µl. Sedangkan untuk substrat phenil sianida (50 mM) dan

produk transformasinya ditentukan dengan HPLC Shimadzu LC 20 AB, dengan kondisi: Kolom Ascen-tis C18 (15cm x 4.6mm x 5µm) from Supelco, suhu kolom 25 °C, detector UV (254 nm), fase gerak Asetonitril (A) dan H₃PO₄ 0,2% (B),laju alir fase gerak 1 ml/menit .

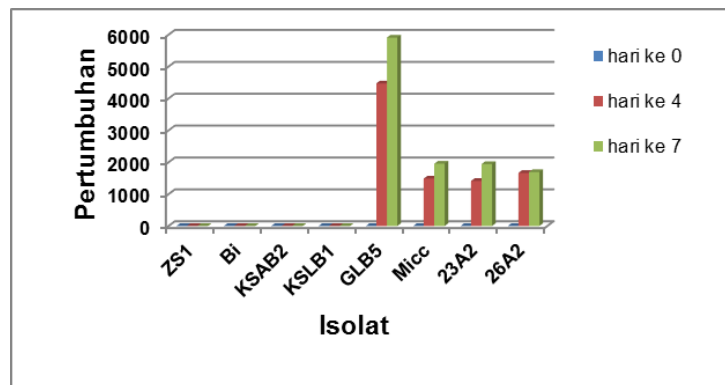
HASIL

Pertumbuhan isolat bakteri hasil seleksi pada sen-yawa methyl sianida dan phenil sianida

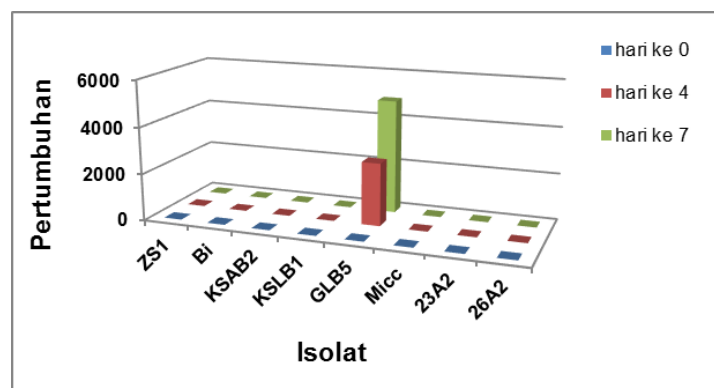
Hasil pengujian kemampuan tumbuh terhadap delapan isolat bakteri hasil seleksi yang diisolasi dari berbagai limbah industri menunjukkan bahwa dari keseluruhan isolat bakteri yang diuji (delapan isolat), empat isolat bakteri diantaranya yaitu isolat bakteri GLB5, Micc, 23A2 dan 26 A2 menunjukkan kemam-puan tumbuh yang lebih baik pada methyl sianida dibanding isolat-isolat lainnya (Gambar 1), se-dangkan kemampuan tumbuh delapan isolat bakteri

pada phenil sianida, hanya isolat GLB5 me-nunjukkan pertumbuhan yang paling baik (Gambar 2). Isolat bakteri dengan kode GLB5 lebih unggul dibandingkan 3 isolat bakteri lainnya (Micc, 23 A2, dan 26 A2). (Gambar 1) Dengan demikian, isolat GLB5 mempunyai keunggulan dalam menggunakan methyl sianida dan phenil sianida sebagai substrat untuk pertumbuhannya. Hal ini, merupakan indikasi awal bahwa isolat tersebut mampu menghidrolisis senyawa tersebut.

Kemampuan tumbuh isolat GLB5 tersebut, dikonfirmasi kembali pada methyl sianida secara kualitatif dengan peningkatan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu sebesar 500 mM, sedangkan GLB5 tidak mampu tumbuh pada phenil sianida pada konsentrasi yang > 25 mM. Hasil konfirmasi nampak bahwa isolat bakteri uji GLB5 tetap tumbuh dengan baik pada methyl sianida (Tabel 2).



Gambar 1. Pertumbuhan 8 isolat bakteri pada 200 mM methyl sianida (*Growth of eight bacterial isolates on 200 mM methyl cyanide*)



Gambar 2. Pertumbuhan 8 isolat bakteri pada 25 mM phenil sianida (*Growth of eight bacterial isolates on 25 mM phenyl cyanide*)

Tabel 2. Pertumbuhan isolat bakteri GLB5 pada 500 mM methyl sianida dan 25 mM phenil sianida (*Growth of bacterial isolate GLB5 on 500 mM methyl cyanide and 25 mM phenyl cyanide*)

Waktu (<i>day</i>)	Pertumbuhan GLB5 pada : (<i>Growth of GLB5 on</i> :)		
	Kontrol (<i>Control</i>)	Methyl sianida (<i>Methyl cyanide</i>) (500 mM)	Phenil sianida (<i>Phenyl cyanide</i>) (25 mM)
0	+	+	+
3	+	++	+
7	+	+++	+++

Keterangan : ++++ = sangat baik; +++ = baik; ++ = sedang; + = kurang; - = tidak tumbuh
(Notes) : ++++ = well; +++ = good; ++ = fair; + = less; - = no grow)

Dalam penelitian ini juga diuji kemampuan tumbuh isolat bakteri GLB5 pada berbagai senyawa nitril/sianida dan amida (Tabel 3). Hasil pengujian pertumbuhan yang ditampilkan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa isolat GLB5 juga mampu tumbuh pada berbagai senyawa nitril dan amida kecuali mandelonitril, pertumbuhan terbaik ditunjukkan pada senyawa methyl sianida dan phenil sianida serta senyawa amida.

Ketidakmampuan isolat bakteri GLB5 untuk tumbuh pada mandelonitril kemungkinan disebabkan oleh karena struktur molekul mandelonitril sangat kompleks sehingga mikroba sulit untuk mendegradasinya.

Identifikasi isolat bakteri terpilih (GLB5)

Analisis penjajaran urutan nukleotida parsial gen pengkode 16S rDNA melalui program pelacakan database *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada National Institute for Health USA (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Isolat bakteri dengan kode GLB5 mempunyai tingkat kesamaan tertinggi dengan *Rhodococcus pyridinovorans* dengan persentasi kesamaan 99%. (Janda & Abbott, 2007)

Diskripsidan karakteristik fisiologis isolat terpilih (*Rhodococcus pyridinovorans* GLB5)

Rhodococcus pyridinovorans termasuk dalam subordo *Corynebacteriaceae* dan famili *Nocardiaceae*. Genus *Rhodococcus* merupakan bakteri gram positif, aerob, berbentuk batang, non motil dan non sporulasi (<http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Rhodococcuspyridinovorans>). Dilaporkan bahwa *Rhodococcus* pertama dikultur dari limbah industri di Korea. Nama spesies dari isolat bakteri ini

(*pyridinovorans*) dikaitkan dengan kemampuannya dalam mendegradasi piridin (Yoon *et al.*, 2000).

Genus *Rhodococcus* mempunyai kedekatan dengan *Corynebacterium*, dan genus ini seringkali dijumpai pada limbah-limbah industri dengan kandungan senyawa-senyawa xenobiotik. Selaras dengan hal tersebut, *R. pyridinovorans* GLB5 yang digunakan dalam penelitian ini juga diisolasi dari limbah industri batik Cirebon, Jawa Barat. Koloni dari isolat GLB5 berwarna orangepada kultur tua (72 jam). Dilaporkan, bahwa beberapa strain dari

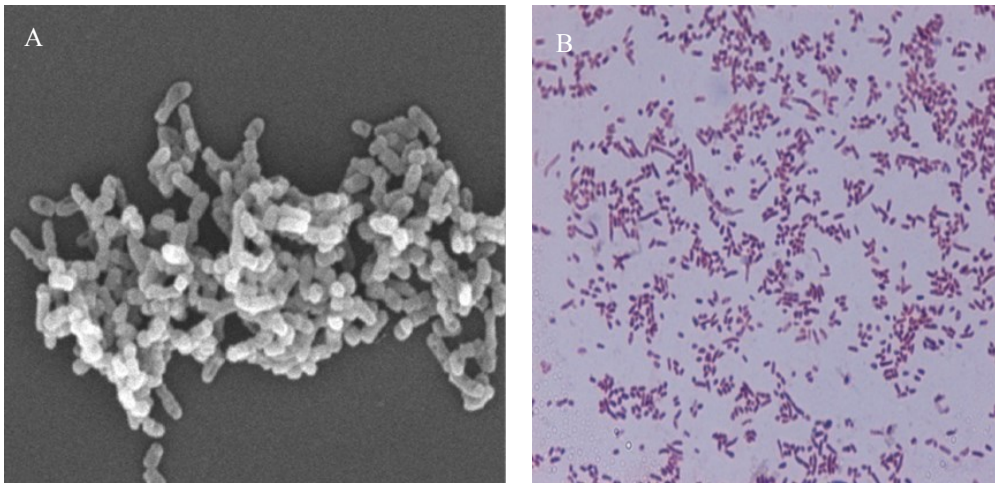
R. pyridinovorans yang ditemukan (*R. pyridinovorans* strain AK 37 dan *R. pyridinovorans* PA) juga mempunyai kemampuan mendegradasi senyawa-senyawa toksik aromatik, seperti misalnya *R. pyridinovorans* strain AK 37 yang diisolasi dari tanah tercemar minyak mampu mendegradasi BTEX (Benzene, Toluene, Ethylbenzene dan O-Xylene) (Kriszt *et al.*, 2011), dan *R. pyridinovorans* strain PA mampu mendegradasi benzothiazole (Haroune *et al.*, 2002). Genus *Rhodococcus* dilaporkan sebagai mikroba pendegradasi senyawa nitril dan amida baik alifatik maupun aromatik.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa isolat bakteri GLB5 dilaporkan mampu tumbuh dengan baik pada media minimal yang mengandung asetonitril dengan konsentrasi yang cukup tinggi yaitu 1M, pada suhu ruang ± 28 °C (Sulistinah & Sunarko, 2010), dengan waktu penggandaan (td) dan laju pertumbuhan (μ) spesifik masing-masing sebesar 26,0 jam dan 0,03. Namun dalam penelitian ini *R. pyridinovorans* GLB5 masih mampu tumbuh pada senyawa methyl sianida hingga konsentrasi 1500 mM meskipun dengan waktu lag yang agak panjang.

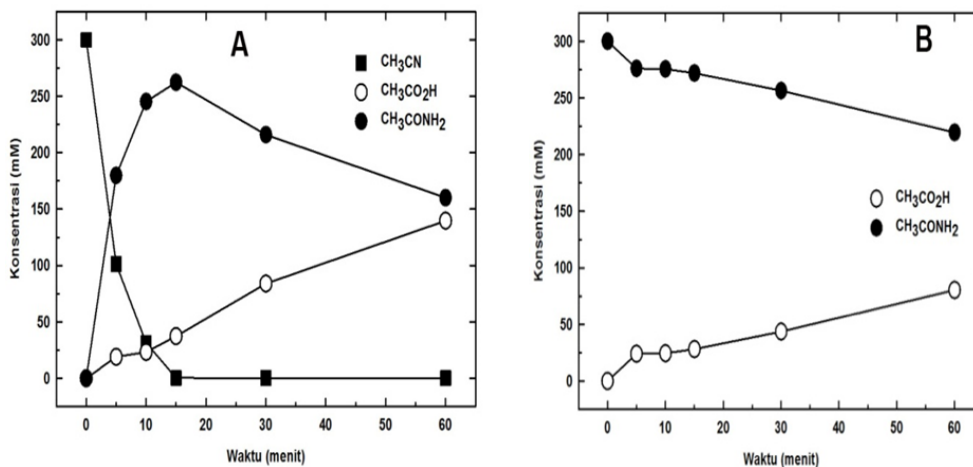
Tabel 3. Pertumbuhan isolat bakteri uji GLB5 pada berbagai senyawa nitril/sianida dan amida turunannya secara kualitatif (*Growth of bacterial isolate GLB5 on various nitrile and amide qualitatively*).

Substrat (<i>Substrate</i>)	Rumus Molekul (<i>Molecular formula</i>)	Pertumbuhan (<i>Growth</i>)	Aktivitas (<i>Activity</i>)
Methyl sianida	C ₂ H ₃ N	++++	+++
Ethanamida	C ₂ H ₅ NO	+++	+
Phenil sianida	C ₇ H ₅ N	+++	+++
Phenil karboxamida	C ₇ H ₇ NO	+++	+
Heksandinitril	C ₆ H ₈ N ₂	++	++
Heksandiamida	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₂	+++	++
Asetosianohidrin	C ₃ H ₅ NO	+	-
Mandelonitril	C ₈ H ₇ NO	-	-
Nikotinamida	C ₆ H ₆ N ₂ O	+++	+
Propionamida	C ₃ H ₇ N ₂ O	+++	+
1,5 dimetil-2 pirokarbonitril	C ₇ H ₃ N ₂	+	-

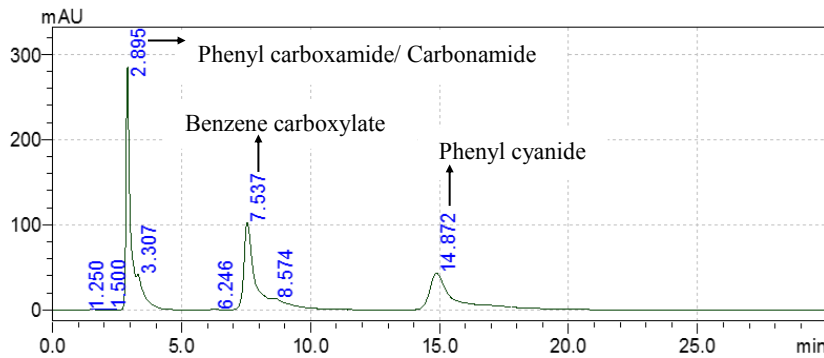
Keterangan : ++++ = sangat baik; +++ = baik; ++ = sedang; + = kurang; - = tidak tumbuh
(Notes) : ++++ = well; +++ = good; ++ = fair; + = less; - = no grow



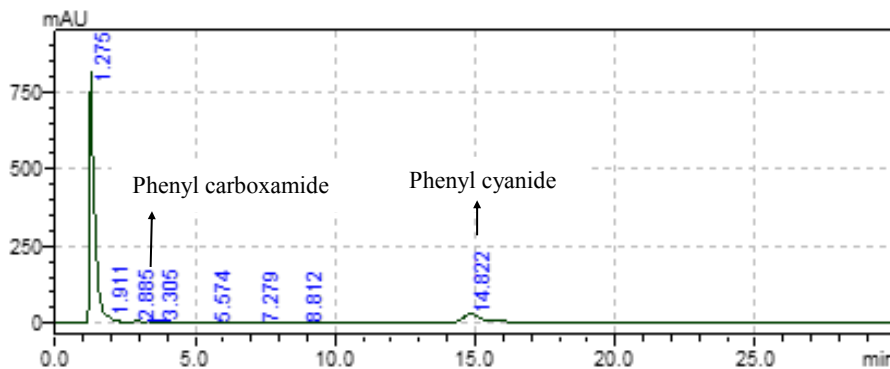
Gambar 3. A. SEM isolat bakteri GLB5 (*Rhodococcus pyridinovorans* GLB5) [Scanning electron micrograph of *Rhodococcus pyridinovorans* GLB5] B. Mikroskopis isolat bakteri GLB5 (perbesaran 1000x) [Microscopic of *R. pyridinovorans* GLB5]



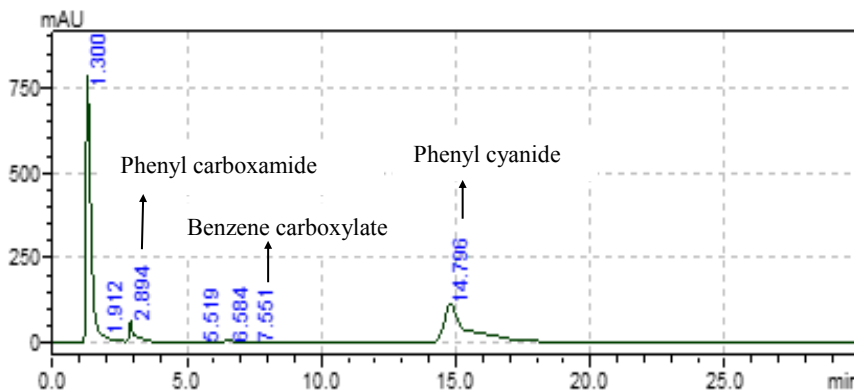
Gambar 4. Biokonversi methyl sianida (A) dan ethanamida (B) oleh sel utuh *Rhodococcus pyridinovorans* GLB5 (*Bioconversion of methyl cyanide (A) and ethanamide using whole cells of R. pyridinovorans GLB5*)



Gambar 5. Kromatogram standar campuran (phenil sianida, karbonamida, dan benzene karboksilat).
(Standard chromatogram of phenyl cyanide, phenyl carboxamide, and benzene carboxylate)



Gambar 6. Kromatogram *R. pyridinovorans* GLB5 dalam biokonversi phenil sianida pada menit ke 0
(Chromatogram of *R. pyridinovorans* GLB5 in bioconversion of phenyl cyanide at 0 minute)

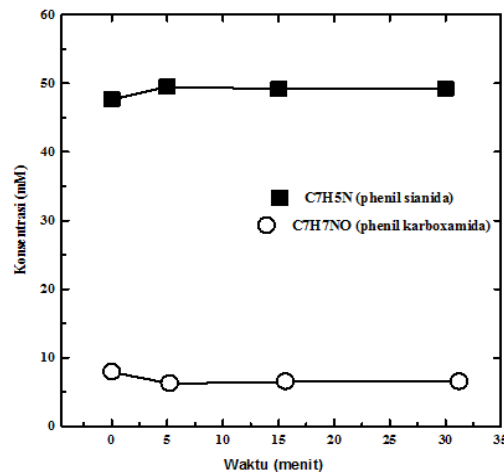


Gambar 7. Kromatogram *R. pyridinovorans* GLB5 dalam biotransformasi phenil sianida pada menit ke 30
(Chromatogram of *R. pyridinovorans* GLB5 in bioconversion process of phenyl cyanide at 30 minutes)

Biokonversi metil sianid dan phenil sianida
Biokonversi metil sianida

Hasil pengujian biokonversi/biotransformasi senyawa metil sianida secara mikrobial menggunakan sel utuh (*whole cells*) *R. pyridinovorans* GLB5 menunjukkan bahwa proses biotransformasi/biokonversi metil sianida menghasilkan

produk antara yaitu etanamida dengan melibatkan nitril hidratase dan selanjutnya etanamida yang terbentuk tersebut diubah menjadi asam etanoat oleh enzim amidase. Proses biotransformasi 300 mM senyawa metil sianida menunjukkan bahwa metil sianida terkonversi secara total dalam waktu kurang



Gambar 8. Biokonversi 50 mM phenyl cyanide menggunakan sel utuh *R. pyridinovorans* GLB5 (*Bioconversion of 50 mM phenyl cyanide using whole cells of R. pyridinovorans GLB5*)

dari 60 menit (Gambar 4A) dan asam ethanoat yang terbentuk relatif cukup tinggi (≥ 140 mM). Sedangkan hasil yang ditampilkan pada Gambar 4B menunjukkan, enzim amidase yang berperan dalam mengkonversi ethamida menjadi asam ethanoat yang konsentrasinya lebih rendah (± 75 mM)

Biokonversi phenil sianida

Biokonversiphenil sianida menggunakan sel utuh (*whole cells*) *R. pyridinovorans* GLB5 ditampilkan pada Gambar 6-7. Pada gambar tersebut, terlihat bahwa proses biokonversi senyawa phenil sianida oleh *R. pyridinovorans* GLB5 berlangsung sangat lambat. Hal ini ditunjukkan, selama 30 menit reaksi, phenil karboxamida yang terbentuk dari proses biokonversi tersebut masih dalam konsentrasi yang sangat rendah (≤ 10 mM) dan bahkan benzene karboksilat sebagai produk biokonversi juga belum terbentuk (Gambar 7 dan 8).

Dari hasil tersebut tampak bahwa, enzim yang berperan dalam biokonversi phenil sianida menjadi phenil karboxamida dan benzene karboksilat aktivitasnya lebih rendah dibandingkan pada methyl sianida meskipun aktivitas tidak terukur secara kuantitatif.

PEMBAHASAN

Isolasimikroba potensial dari lingkungan tercemar, seperti misalnya senyawa nitril/sianida yang berpotensi sebagai polutan lingkungan merupa-

kan poin penting dalam pengembangan bioremediasi (Pandey *et al.*, 2009). Beberapa eksperimen yang telah dilakukan dalam skala laboratorium yang meliputi tahapan isolasi, seleksi/penapisan, hingga diperolehnya mikroba yang tepat/unggul merupakan suatu tantangan yang sulit, sementara peluang untuk memperoleh mikroba potensial sebagai pendegradasi senyawa-senyawa toksik di alam adalah sangat besar.

Isolasi beberapa mikroba dari berbagai limbah industri telah dilakukan dalam penelitian ini, hasilnya menunjukkan bahwa isolat bakteri GLB5 yang teridentifikasi sebagai *R. pyridinovorans* GLB5, merupakan isolat yang mampu tumbuh dengan sangat baik dan menggunakan methyl sianida dan phenil sianida sebagai satu-satunya sumber energi, karbon, dan nitrogen untuk substrat pertumbuhannya. Dalam pengujian juga ditunjukkan, bahwa isolat GLB5 mampu tumbuh pada keseluruhan senyawa nitril dan amida uji kecuali mandelonitril. Ketidakmampuan tumbuh *R. pyridinovorans* GLB5 pada senyawa mandelonitril bisa dipahami oleh karena mandelonitril merupakan senyawa nitril aromatik dengan toksisitas sangat tinggi dibanding senyawa nitril uji yang lain sehingga mikroba terhambat pertumbuhannya atau bahkan sulit untuk tumbuh (Chen *et al.*, 2009; Angelini *et al.*, 2015). Namun demikian, dilaporkan *Alkaligenes faecalis* ATCC 8750, mampu mengkonversi senyawa rasemat mandelonitril menjadi (R)-(-)-asam mandelat (Yamamoto *et al.*, 1991). Sebagian besar genus *Rhodococcus* juga banyak dilaporkan mampu

mendegradasi senyawa-senyawa toksik seperti hidrokarbon, piridin, nitril baik alifatik maupun aromatik (Yoon *et al*, 2000; Haroune *et al.*, 2002).

Isolat bakteri GLB5 dilaporkan mampu tumbuh dengan baik pada minimal media yang mengandung asetonitril hingga konsentrasi 1000 mM dan menggunakan senyawa tersebut sebagai sumber karbon dan nitrogen, dengan waktu penggandaan (*doubling time*) : 26 jam dan μ : 0.03 (Sulistinah & Sunarko, 2010). Dalam penelitian ini juga dilaporkan bahwa ternyata isolat mampu tumbuh pada metil sianida pada konsentrasi hingga 1500 mM, meskipun dengan waktu log yang agak panjang (data tidak ditampilkan).

Pada pengujian biokonversi metil sianida dan phenil sianida ditunjukkan, bahwa kemampuan isolat bakteri GLB5 dalam mengkonversi senyawa metil sianida jauh lebih baik dibandingkan phenil sianida. Hal ini kemungkinan ada kaitannya dengan tingkat toksisitas substrat yang dikonversinya. Senyawa phenil sianida merupakan senyawa aromatik yang cukup sulit untuk didegradasi dan tingkat toksisitasnya juga lebih tinggi dibandingkan metil sianida, sehingga untuk mengkonversinya mungkin memerlukan waktu yang cukup lama. Disamping itu, senyawa phenil sianida banyak digunakan sebagai bahan aktif herbisida, seperti misalnya Dichlobenil, Bromoxinil (Harper, 1977). Biokonversi senyawa metil sianida oleh *R. pyridinovorans* GLB5 menunjukkan bahwa metil sianida terkonversi secara total dalam waktu kurang dari 60 menit dan menghasilkan ethanamida sebesar ± 140 mM dan asam ethanoat yang terbentuk juga relatif cukup tinggi yaitu ≥ 140 mM (Gambar 4A). Terbentuknya ethanamida dan asam ethanoat dalam konversi tersebut mengindikasikan bahwa konversi metil sianida oleh *R. pyridinovorans* GLB5 melibatkan enzim nitril hidratase dan amidase. Enzim nitril hidratase mengkatalisis hidrolisis metil sianida menjadi ethanamida, sedangkan amidase mengkatalisis hidrolisis ethanamida menjadi asam ethanoat dan ammonium (Nagasawa *et al.*, 1988). Hasil yang berbeda ditunjukkan pada biokonversi 300 mM ethanamida menggunakan *R. pyridinovorans* GLB5 menghasilkan asam ethanoat yang konsentrasinya lebih rendah (± 75 mM) [Gambar 4B]. Dalam penelitian ini biokonversi phenil sianida oleh *R. pyri-*

dinovorans GLB5 menghasilkan phenil karboxamida, mengindikasikan konversi tersebut melibatkan nitril-hidratase dan bukan enzim nitrilase. Hal ini jarang ditemukan karena umumnya yang berperan dalam konversi/perombakan senyawa nitril aromatik adalah enzim nitrilase, misalnya dalam degradasi phenil sianida oleh menjadi asam benzoat (benzene karboksilat) oleh *R. rhodochrous* (Harper, 1977)

Jenis induser juga dilaporkan berpengaruh terhadap enzim yang terlibat dalam proses biokonversi (Yusuf *et al.*, 2013). Nitril hidratase dan nitrilase merupakan enzim induktif. Enzim dapat dideteksi hanya bila ada induser yang tepat/cocok. Substrat, produk atau senyawa-senyawa analog dengan substrat dapat berfungsi sebagai induser, kecuali senyawa-senyawa nitril dengan toksisitas yang sangat tinggi, seperti misalnya mandelonitril. Dengan demikian, pemilihan induser mempunyai peran dalam biokonversi dan dapat mempercepat aktivitas enzim (Chen *et al.*, 2009).

Atas dasar tersebut, senyawa metil sianida merupakan substrat yang tepat untuk pertumbuhan *R. pyridinovorans* GLB5 dan mampu mengkonversi metil sianida, Informasi dan kajian lebih dalam terhadap potensi *R. pyridinovorans* GLB5 dalam biokonversi senyawa nitril, amida baik alifatik maupun aromatik sangat diperlukan, terutama yang berkaitan dengan karakteristik enzim pengkonversi nitril, pH dan suhu, pembakuan proses biokonversi sehingga untuk pengembangan biokatalis dalam produksi asam-asam karboksilat dalam skala yang lebih besar dapat dipertimbangkan.

KESIMPULAN

Dalam penelitian ini dapat ditunjukkan bahwa *Rhodococcus pyridinovorans* GLB5 mampu tumbuh dengan baik dan menggunakan senyawa metil sianida dan phenil sianida sebagai satu-satunya sumber karbon, energi, dan nitrogen untuk pertumbuhannya. Produk konversi metil sianida (300 mM) oleh sel utuh (*whole cells*) *R. pyridinovorans* GLB5 menghasilkan ± 140 mM ethanamida, ± 140 mM asam ethanoat dan ammonium 39.04 mM. 100 % metil sianida mampu dikonversi oleh *R. pyridinovorans* GLB5 dalam waktu kurang dari 60 menit reaksi, sedangkan produk biokonversi phenil sianida adalah phenil karboxamida, meskipun dalam kon-

sentral yang sangat rendah. Dalam konversi phenil sianida belum terbentuk benzene karboksilat. Bio-konversi dari kedua senyawa tersebut melibatkan enzim nitril hidratase dan amidase. Atas dasar hasil tersebut, ada kecenderungan *R. pyridinovorans* GLB5 mempunyai peluang untuk dapat dimanfaatkan sebagai biokatalis untuk memproduksi asam etanoat atau asam-asam karboksilat yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Suri Handayani, S.Si dan Hendra Munandar, M.Si, atas keterlibatan dan bantuannya dalam pengumpulan data penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Achirul Nditasari, M.Sc. atas saran dan koreksinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Angelini LML, ARM da Silva, L de FC Rocco, and CD de F Milagre. 2015. A high-throughput screening assay for distinguishing nitrile hydratases from nitrilases. *Brazilian Journal of Microbiology* **46** (1), 113-116.
- Banerjee A, R Sharma, and UC Banerjee. 2002. The nitrile-degrading enzymes: current status and future prospects. *Applied Microbiology Biotechnology* **60**, 33-44.
- Chen J, RC Zheng, YG Zheng, and YC Shen. 2009. Microbial Transformation of Nitriles to High-Value Acids or Amides. *Advances Biochemical Engineering and Biotechnology* **113**, 33-77.
- Dadd MR, TDW Claridge, R Walton, AJ Pettman, and CJ Knowles. 2001. Regioselective biotransformation of the dinitrile compounds 2-, 3- and 4-(cyanomethyl) benzonitrile by the soil bacterium *Rhodococcus rhodochrous* LL 100-21. *Enzyme Microbial Technology* **29**, 20-27.
- Harper DB. 1977. Microbial Metabolism of Aromatic Nitriles: Enzymology of C-N Cleavage by *Nocardia* sp. (*Rhodochrous* group) N.C.I.B. 11216. *Biochemical Journal* **165**, 309-319.
- Haroune N, B Combourieu, P Besse, M Sancelme, T Reemtsma, A Kloepfer, A Diab, JS Knapp, S Baumberg, and AM Delort. 2002. Benzothiazole degradation by *Rhodococcus pyridinovorans* strain PA: evidence of a catechol 1,2-dioxygenase activity. *Applied Environmental Microbiology* **68**, 6114-6120.
- Janda MJ and S L Abbot. 2007. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology* **45** (9), 2761-2764.
- Kaushik N, S Biswas and J Singh. 2014. Biocatalysis and Biotransformation Processes- An Insight. *The Science Technology Journal* **01(08)**, 15-17.
- Kriszt B, A Tancsics, M Cserhati, A Toth, I Nagy, B Horvath, T. Tamura, J Kukolya, and S Szoboszlai. 2011. De Novo Genome Project for the Aromatic Degradator *Rhodococcus pyridinovorans* Strain AK37. *Journal of Bacteriology*, 1247-1248.
- Meyer O and HG Schlegel. 1983. Biology of Aerobic Carbon Monoxide Oxidizing Bacteria. *Annual Review Microbiology* **37**, 277-310.
- Pfennig N. 1974. *Rhodopseudomonas globiformis* sp.n., A new species of the *Rhodospirillaceae*. *Archives Microbiology* **100**, 197-206.
- Pandey J, A Chauhan, and RK Jain. 2009. Integrative approaches for assessing the ecological sustainability of insitu bioremediation. *FEMS Microbiology Reviews*. **33**, 324-375.
- Ramakrishna, N, H Dave, and M Ravindranathan. 1999. Microbial Metabolism of Nitrile and Its Biotechnological Potential. *Journal of Scientific & Industrial Research*, **58**, 925-947.
- Santoshkumar M, AS Nayak, O Anjaneya, and TB Karegoudar. 2010. A plate method for screening of bacteria capable of degrading aliphatic nitriles. *Journal Microbiology and Biotechnology* **37**, 111-115.
- Sulistinah N dan B Sunarko. 2010. Penapisan Mikroba Penghasil Enzim untuk Biotransformasi Senyawa Nitril. *Berkala Penelitian Hayati (Journal of Biological Researches)*. Edisi Khusus No. **4F**, 13-18.
- Velankar H, KG Clarke, R du Prezz, DA Cowan and SG Burton. 2010. Developments in nitrile and amide biotransformation processes. *Trends in Biotechnology* **28** (11), 561-569.
- Warhurst AM & CA Fewson. 1994. Biotransformation catalyzed by the genus *Rhodococcus*. *Critical Review Biotechnology* **14**, 29-37.
- Yamamoto K, K Oishi, I Fujimatsu, and KI Komatsu. 1991. Production of R(-)-Mandelic Acid from Mandelonitrile by *Alcaligenes faecalis* ATCC 8750. *Applied and Environmental Microbiology*, 3028-3032.
- Yoon JH, SS Kang, YG Cho, ST Lee, YH Kho, CJ Kim and YH Park. 2000. *Rhodococcus pyridinovorans* sp. nov., a pyridine-degrading bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **50**, 2173-2180.
- Yusuf F, A Chaubey, A Raina, U Jamwal and R Parshad. 2013. Enhancing nitrilase production from *Fusarium proliferatum* using Response Surface Methodology **2**, 1-7. Springer Plus, India.

Pedoman Penulisan Naskah Berita Biologi

Berita Biologi adalah jurnal yang menerbitkan artikel kemajuan penelitian di bidang biologi dan ilmu-ilmu terkait di Indonesia. Berita Biologi memuat karya tulis ilmiah asli berupa makalah hasil penelitian, komunikasi pendek dan tinjauan kembali yang belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Masalah yang diliput, diharuskan menampilkan aspek atau informasi baru.

Tipe naskah

1. **Makalah lengkap hasil penelitian (*original paper*)**
Naskah merupakan hasil penelitian sendiri yang mengangkat topik yang *up-to-date*. Tidak lebih dari 15 halaman termasuk tabel dan gambar. Pencantuman lampiran seperlunya, namun redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.
2. **Komunikasi pendek (*short communication*)**
Komunikasi pendek merupakan makalah hasil penelitian yang ingin dipublikasikan secara cepat karena hasil temuan yang menarik, spesifik dan baru, agar dapat segera diketahui oleh umum. Artikel yang ditulis tidak lebih dari 10 halaman. Hasil dan pembahasan boleh digabung.
3. **Tinjauan kembali (*review*)**
Tinjauan kembali merupakan rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik penelitian tertentu. Hal yang ditinjau meliputi segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan yang memberikan gambaran '*state of the art*', meliputi temuan awal, kemajuan hingga issue terkini, termasuk perdebatan dan kesenjangan yang ada dalam topik yang dibahas. Tinjauan ulang ini harus merangkum minimal 30 artikel.

Struktur naskah

1. **Bahasa**
Bahasa yang digunakan adalah bahasa Indonesia atau Inggris yang baik dan benar.
2. **Judul**
Judul harus singkat, jelas dan mencerminkan isi naskah diikuti oleh nama dan alamat surat menyurat penulis. Nama penulis untuk korespondensi diberi tanda amplop cetak atas (*superscript*).
3. **Abstrak**
Abstrak dibuat dalam dua bahasa, bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak memuat secara singkat tentang latar belakang, tujuan, metode, hasil yang signifikan, kesimpulan dan implikasi hasil penelitian. Abstrak berisi maksimum 200 kata, spasi tunggal. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci yang terdiri atas maksimum enam kata, dimana kata pertama adalah yang terpenting. Abstrak dalam bahasa Inggris merupakan terjemahan dari bahasa Indonesia. Editor berhak untuk mengedit abstrak demi alasan kejelasan isi abstrak.
4. **Pendahuluan**
Pendahuluan berisi latar belakang, permasalahan dan tujuan penelitian. Sebutkan juga studi terdahulu yang pernah dilakukan.
5. **Bahan dan cara kerja**
Pada bagian ini boleh dibuat sub-judul yang sesuai dengan tahapan penelitian. Metoda harus dipaparkan dengan jelas sesuai dengan standar topik penelitian dan dapat diulang oleh peneliti lain. Apabila metoda yang digunakan adalah metoda yang sudah baku cukup ditulis sitasi dan apabila ada modifikasi harus dituliskan dengan jelas bagian mana dan apa yang dimodifikasi.
6. **Hasil**
Sebutkan hasil-hasil utama yang diperoleh berdasarkan metoda yang digunakan. Apabila ingin mengacu pada tabel/grafik/diagram atau gambar uraikan hasil yang terpenting dan jangan menggunakan kalimat 'Lihat Tabel 1'. Apabila menggunakan nilai rata-rata harus menyebutkan standar deviasi.
7. **Pembahasan**
Jangan mengulang isi hasil. Pembahasan mengungkap alasan didapatkannya hasil dan apa arti atau makna dari hasil yang didapat tersebut. Bila memungkinkan, bandingkan hasil penelitian ini dengan membuat perbandingan dengan studi terdahulu (bila ada).
8. **Kesimpulan**
Menyimpulkan hasil penelitian, sesuai dengan tujuan penelitian, dan penelitian berikut yang bisa dilakukan.
9. **Ucapan terima kasih**
10. **Daftar pustaka**
Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses peer review. Apabila harus menyitir dari "Laporan" atau "komunikasi personal" dituliskan 'unpublished' dan tidak perlu ditampilkan di daftar pustaka. Daftar pustaka harus berisi informasi yang *up to date* yang sebagian besar berasal dari *original papers*. Penulisan terbitan berkala ilmiah (nama jurnal) tidak disingkat.

Format naskah

1. Naskah diketik dengan menggunakan program Word Processor, huruf New Times Roman ukuran 12, spasi ganda kecuali Abstrak. Batas kiri-kanan atas-bawah masing-masing 2,5 cm. Maksimum isi naskah 15 halaman termasuk ilustrasi dan tabel.
2. Penulisan bilangan pecahan dengan koma mengikuti bahasa yang ditulis menggunakan dua angka desimal di belakang koma. Apabila menggunakan bahasa Indonesia, angka desimal menggunakan koma (,) dan titik (.) bila menggunakan bahasa Inggris. Contoh: Panjang buku adalah 2,5cm. Length of the book is 2.5 cm. Penulisan angka 1-9 ditulis dalam kata kecuali bila bilangan satuan ukur, sedangkan angka 10 dan seterusnya ditulis dengan angka. Contoh lima orang siswa, panjang buku 5 cm.
3. Penulisan satuan mengikuti aturan *international system of units*.
4. Nama takson dan kategori taksonomi merujuk kepada aturan standar termasuk yang diakui. Untuk tumbuhan *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), untuk hewan *International Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), untuk jamur *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plant* (ICF/AFP), *International Code of Nomenclature of Bacteria* (ICNB), dan untuk organisme yang lain merujuk pada kesepakatan Internasional. Penulisan nama takson lengkap dengan nama author hanya dilakukan pada bagian deskripsi takson, misalnya pada naskah taksonomi. Sedangkan penulisan nama takson untuk bidang lainnya tidak perlu menggunakan nama author.
5. Tata nama di bidang genetika dan kimia merujuk kepada aturan baku terbaru yang berlaku.
6. Ilustrasi dapat berupa foto (hitam putih atau berwarna) atau gambar tangan (*line drawing*).
7. **Tabel**
Tabel diberi judul yang singkat dan jelas dalam bahasa Indonesia dan Inggris, sehingga Tabel dapat berdiri sendiri. Tabel diberi nomor urut sesuai dengan keterangan dalam teks. Keterangan Tabel diletakkan di bawah Tabel. Tabel tidak dibuat tertutup dengan garis vertikal, hanya menggunakan garis horisontal yang memisahkan judul dan batas bawah.
8. **Gambar**
Gambar bisa berupa foto, grafik, diagram dan peta. Judul ditulis secara singkat dan jelas. Keterangan yang menyertai gambar harus dapat berdiri sendiri, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Gambar dikirim dalam bentuk .jpeg dengan resolusi minimal 300 dpi dan terpisah dari badan tulisan atau dalam file yang berbeda.
9. **Daftar Pustaka**
Sitasi dalam naskah adalah nama penulis dan tahun. Bila penulis lebih dari satu menggunakan kata 'dan' atau *et al.* Contoh: (Kramer, 1983), (Hamzah dan Yusuf, 1995), (Premachandra *et al.*, 1992). Bila naskah ditulis dalam bahasa Inggris yang menggunakan sitasi 2 orang penulis maka digunakan kata 'and'. Contoh: (Hamzah and Yusuf, 1995).
- a. **Jurnal**
Nama jurnal ditulis lengkap.
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1559-1576.

- b. Buku
Kramer P.J. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Edisi ke-(bila ada). Academic, New York.
- c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya.
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
- d. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkamp, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
- e. Thesis dan skripsi.
Keim AP. 2011. Monograph of the genus *Orania* Zipp. (Arecaceae; Oraniinae). University of Reading, Reading. [PhD. Thesis].
- f. Artikel online.
Artikel yang diunduh secara online mengikuti format yang berlaku misalnya untuk jurnal, buku atau thesis, serta dituliskan alamat situs sumber dan waktu mengunduh. Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses *peer review* atau artikel dari laman web yang tidak bisa dipertanggung jawabkan kebenarannya seperti wikipedia.
Forest Watch Indonesia[FWI]. 2009. Potret keadaan hutan Indonesia periode 2000-2009. <http://www.fwi.or.id>. (Diunduh 7 Desember 2012).

Formulir persetujuan hak alih terbit dan keaslian naskah

Setiap penulis yang mengajukan naskahnya ke redaksi Berita Biologi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan yang berisi hak alih terbit naskah termasuk hak untuk memperbanyak artikel dalam berbagai bentuk kepada penerbit Berita Biologi. Sedangkan penulis tetap berhak untuk menyebarkan edisi cetak dan elektronik untuk kepentingan penelitian dan pendidikan. Formulir itu juga berisi pernyataan keaslian naskah, yang menyebutkan bahwa naskah adalah hasil penelitian asli, belum pernah dan sedang diterbitkan di tempat lain.

Penelitian yang melibatkan hewan

Untuk setiap penelitian yang melibatkan hewan sebagai obyek penelitian, maka setiap naskah yang diajukan wajib disertai dengan 'ethical clearance approval' terkait *animal welfare* yang dikeluarkan oleh badan atau pihak berwenang.

Lembar ilustrasi sampul

Gambar ilustrasi yang terdapat di sampul jurnal Berita Biologi berasal dari salah satu naskah. Oleh karena itu setiap naskah yang ada ilustrasi harap mengirimkan ilustrasi dengan kualitas gambar yang baik disertai keterangan singkat ilustrasi dan nama pembuat ilustrasi.

Proofs

Naskah *proofs* akan dikirim ke author dan diwajibkan membaca dan memeriksa kembali isi naskah dengan teliti. Naskah *proofs* harus dikirim kembali ke redaksi dalam waktu tiga hari kerja.

Naskah cetak

Setiap penulis yang naskahnya diterbitkan akan diberikan 1 eksemplar majalah Berita Biologi dan reprint. Majalah tersebut akan dikirimkan kepada *corresponding author*.

Pengiriman naskah

Naskah dikirim dalam bentuk .doc atau .docx.

Alamat kontak: Redaksi Jurnal Berita Biologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911
Telp: +61-21-8765067
Fax: +62-21-87907612, 8765063, 8765066
Email: jurnalberitabiologi@yahoo.co.id
berita.biologi@mail.lipi.go.id

BERITA BIOLOGI

Vol. 15(1)

Isi (Content)

April 2016

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

TEKNOLOGI PENURUNAN KADAR Fe AIR SAWAH PASANG SURUT MELALUI PENGGUNAAN BIOFILTER PURUN TIKUS (<i>Eleocharis dulcis</i>) [Fe Levels Decline Technology of Water Tidal Rice Field Through Purun Tikus (<i>Eleocharis Dulcis</i>) Biofilter Usage] <i>Ani Susilawati dan Linda Indrayati</i>	1-6
MAKNA NILAI PENTING BUDAYA KEANEKARAGAMAN HAYATI TUMBUHAN BAGI MASYARAKAT DI TAMAN NASIONAL KERINCI SEBLAT DI KABUPATEN KERINCI, PROPINSI JAMBI [The Importance of Cultural Significance Index of Plants Diversity For The Communities Within The Kerinci Seblat National Park, Kerinci Regency, Province of Jambi] <i>Asvic Helida, Ervival A.M.Zuhud, Hardjanto, Y. Purwanto, Agus Hikmat</i>	7-15
PENGARUH SALINITAS DAN INOKULAN BAKTERI TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN TERUNG (<i>Solanum melongena</i> L.) [The Effect of Salinity and Bacteria Inoculant on The Growth of Eggplant (<i>Solanum melongena</i> L.)] <i>Suliasih dan Sri Widawati</i>	17-25
KARAKTER RESPIRASI DAN MINERALISASI KARBON ORGANIK PADA SAMPEL TANAH DIKOLEKSI DARI PULAU BANGKA [Respiration and Organic Carbon Mineralization Character in Soil Samples Collected from Bangka Island] <i>Maman Rahmansyah dan Suliasih</i>	27-37
POTENSI <i>Rhodococcus pyridinovorans</i> GLB5 SEBAGAI BIOKATALIS DALAM KONVERSI SENYAWA METHIL SIANIDA DAN PHENIL SIANIDA (Potential of <i>Rhodococcus pyridinovorans</i> GLB5 as Biocatalistin Methyl and Phenyl Cyanide Conversion) <i>Nunik Sulistinah, Rini Riffiani dan Bambang Sunarko</i>	39-48
THE EFFECT OF CULTURE MEDIA AND ACTIVATED CHARCOAL ON ASYMBIOTIC SEED GERMINATION AND SEEDLING DEVELOPMENT OF A THREATENED ORCHID <i>Dendrobium taurulinum</i> J.J. Smith IN VITRO [Pengaruh Media Kultur dan Arang Aktif pada Perkecambahan Biji dan Perkembangan Seedling Anggrek Langka <i>Dendrobium taurulinum</i> J. J. Smith in vitro] <i>Siti Nurfaadilah</i>	49-57
STUDI PERTUMBUHAN ANAKAN POHON PADA PETAK PERMANEN DI HUTAN DATARAN RENDAH TAMAN NASIONAL GUNUNG GEDE PANGRANGO [Study of seedling growth at permanent plots in lowland forest of Gunung Gede Pangrango National Park] <i>Siti Sundari</i>	59-67
EKSPLORASI DAN KARAKTERISASI ENTOMOPATOGEN ASAL BERBAGAI INANG DAN LOKASI [Exploration and Characterization of Entomopathogenic from Various Host and Location] <i>Tri Puji Priyatno, I Made Samudra, Ifa Manzila, Dwi Ningsih Susilowati dan Yadi Suryadi</i>	69-79
RESPON BEBERAPA KULTIVAR PADI SAWAH PADA PENGAIRAN SISTEM GENANGAN DALAM PARIT [Response of Some Rice Cultivars under Soil Saturated Culture] <i>Syamsuddin dan D. Indradewa</i>	81-88
LETHAL DISSOLVED OXYGEN AND BLOOD PROPERTIES OF GREY MULLET <i>Mugil cephalus</i> IN SEAWATER AND FRESHWATER [Oksigen Terlarut Letal dan Gambaran Darah Ikan Belanak <i>Mugil cephalus</i> di Air Laut dan Tawar] <i>Vitas Atmadi Prakoso, Ki Tae Kim, Byung Hwa Min, Rudhy Gustiano and Young Jin Chang</i>	89-94
EFEKTIVITAS KOMBINASI VAKSIN BAKTERI POLIVALEN DENGAN VAKSIN ANTI GROUPEE SLEEPY DISEASE IRIDOVIRUS (GSDIV) PADA IKAN KERAPU MACAN (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>) [The Effectiveness of Polyvalent Bacterial Vaccine combined with Anti Grouper Sleepy Disease Iridovirus (GSDIV)Vaccine in Tiger Grouper (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>)] <i>Zafran</i>	95-100
<u>KOMUNIKASI PENDEK</u>	
ETNOBOTANI DAMAR PADA ORANG RIMBA DI TAMAN NASIONAL BUKIT DUABELAS [Ethnobotany Dammar by Orang Rimba in National Park Bukit Duabelas] <i>Rana Rio Andhika, Muhadiono dan Iwan Hilwan</i>	101-106