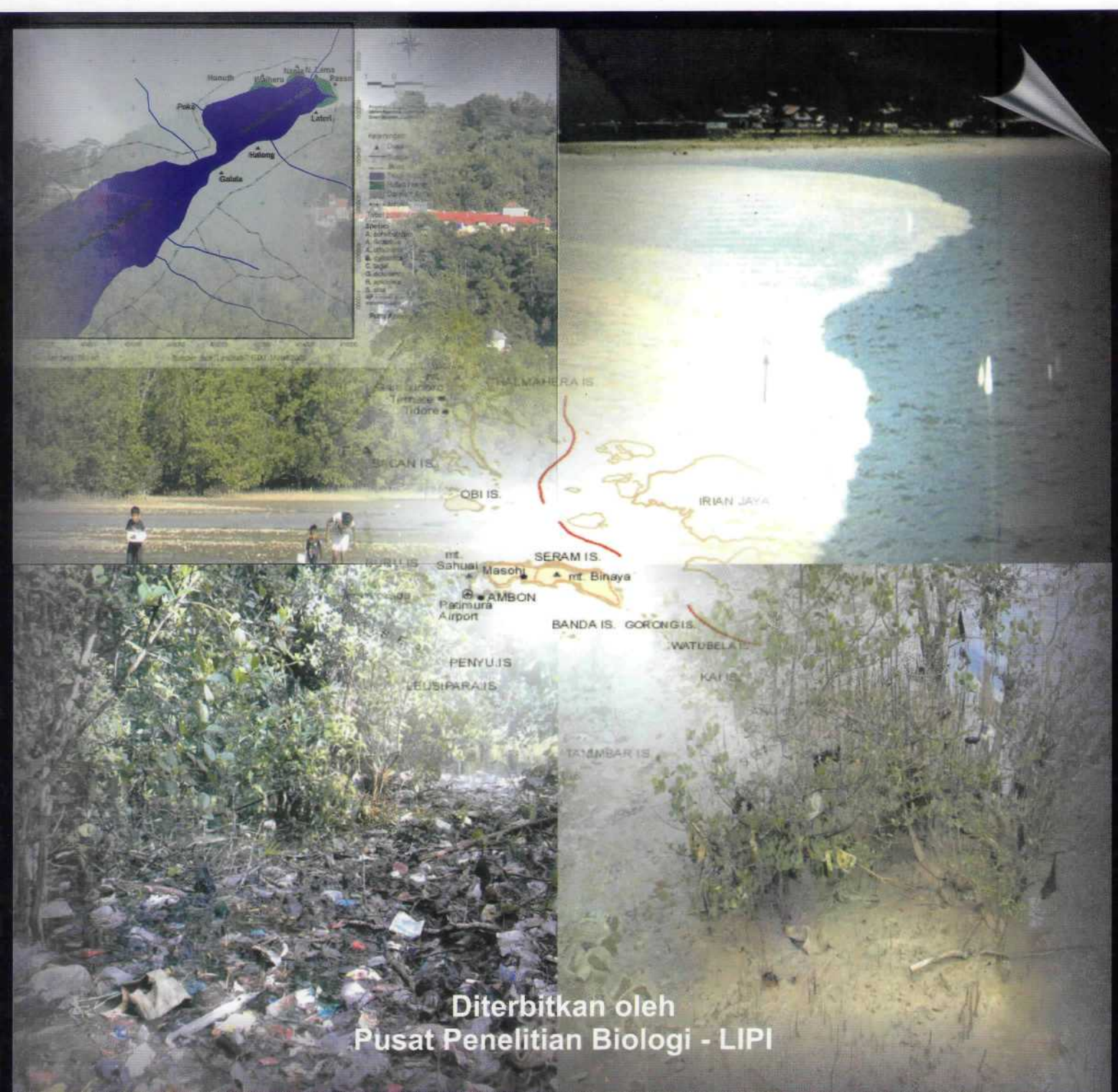


Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekaryat-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Marlina Ardiyani, Tukirin Partomihardjo

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi—LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jln Raya Jakarta-Bogor Km 46,
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059
e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id
ksama_p2biologi@yahoo.com
herbogor@indo.net.id

Keterangan gambar cover depan: *Pembangunan perumahan di Passo dan tumpukan sampah yang mempercepat proses sedimentasi di areal hutan mangrove daerah Passo, Teluk Ambon, Maluku, sesuai makalah di halaman 481*

Suyadi - Bogor Agricultural University-SEAMEO Biotrop.



LIPI

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

ISSN 0126-1754

Volume 9, Nomor 5, Agustus 2009

Terakreditasi A

SKKepala LIPI

Nomor 180/AU1/P2MBI/08/2009

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - Aspek/ pendekatan biologi harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.
 Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. Hasil dipisahkan dari Pembahasan.
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta Cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - a. Jurnal
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 PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:
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: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohler Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Chapman and Hall. London.
10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogar@indo.net.id
11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr. Joko Sulistyio (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid AH Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Moge (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Sunarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Andi Utama (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan AH (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr. Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
9(5)-Agustus 2009

Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Bambang Sunarko - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Heddy Yulistiono - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Prof. (Ris.) Dr. Johanis P. Moge - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Magdalena Litaay - *FMIPA Universitas Hasanudin*
Dr. Rasti Saraswati - *BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*
Dr. Tukirin Partomohardjo - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Yuyu Suryasari Poerba - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

Dr. Achmad Dinoto - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Drs. Edi Mirmanto, MSc. - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Herwint Simbolon - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Ibnu Maryanto - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Kuswata Kartawinata - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI (Purnabhakti) / UNESCO*
Dr. Niken T Murti Pratiwi - *Faperikan @ Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor*
Dr. Ocky Kama Radjasa - *Faperikan @ Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro*
Wellyzar Sjamsulrizal, PhD - *FMIPA Universitas Indonesia*

DAFTAR ISI

TINJAUAN ULANG (REVIEW PAPERS)

KONSEP JEM S PALEM: SEBUAH PENGANTAR

[Palm Species Concept: A Foreword]

Himmah Rustiami.....459MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)KINERJA *Saccharomyces cerevisiae* REKOMBINAN [GLOI] DALAM PROSES SIMULTAN
HIDROLISIS PATI DAN FERMENTASI UNTUK PRODUKSI BIOETANOL[The Performance of *Saccharomyces cerevisiae* Recombinant [GLOI] in the Producing Bioethanol
from Starch by Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) Conditions]*Afqf Baktir, Nur Cholifah dan Sri Sumarsih*.....465PENINGKATAN PRODUKSI GAS HIDROGEN (H₂) DAN ETANOL PADA *Bacillus pumilus*
DENG AN MUTASI MENGGUNAKAN *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) DAN SELEKSI
DENGAN METODAPROTON SUICIDE[Enhancement of Hydrogen Gas (H₂) and Ethanol Production in *Bacillus pumilus* by Mutation
Using Ethyl Methane Sulfonate (EMS) and Selected by Proton Suicide Method]*Trismilah dan Mahyudin AR*.....473

KONDISI HUTAN MANGROVE DI TELUK AMBON: PROSPER DAN TANTANGAN

[The Condition of Mangrove Forest in Ambon Bay: Prospect and Challenges]

Suyadi.....481STUDI VEGETASI HUTAN RAWA AIR TAWAR DI CAGAR ALAM RIMBO PANTI,
SUMATERA BARAT

[Vegetation Study on Freshwater Swamp forest of Rim bo Panti Nature Reserve, West Sumatera]

Razali Yusuf dan Purwaningsih.....491IDENTIFIKASI MOLEKULAR ISOLAT KAPANG PENGHASIL p-GLUCAN BERDASARKAN
DAERAH INTERNAL TRANSCRIBED SPACER (ITS)[Molecular Identification of Fungal Isolate Produces (β-Glucan Based on Internal
Transcribed Spacer (ITS)]*Yoice Srikandace, Ines Irene CaterinaA dan Wibowo Mangunwardoyo*.....509ABSORBSI GLUKOSA DAN SUKROSA SEBAGAI SUMBER KARBON UTAMA
OLEH KOMUNITAS MPG PADA KONDISI ANAEROBIK-AEROBIK[Absorbition of Glucose and Sucrose as Main Sources of Carbon by MPG Community in
Anaerobic-Aerobic Condition]*Dyah Supriyati*.....517UJI DAYA HAMBAT DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.) TERHADAP*Trichophyton mentagrophytees* DAN *Candida albicans*[Inhibition Potential of *Melastoma malabathricum* L. Leaves Against *Trichophyton mentagrophytees*
and *Candida albicans*]*Djaenudin Gholib*.....523PERTUMBUHAN DAN AKUMULASI MERKURI BERBAGAI JENIS TUMBUHAN YANG DITA
DI MEDIA LIMBAH PENAMBANGAN EMAS DENGAN PERLAKUAN BERBAGAI TINGKAT
KONSENTRASI MERKURI DAN KELAT AMONIUM TIOSULFAT[Growth and Mercury Accumulation on Various Plant Species Grown on Gold Mine Waste Media
Treated with Different Levels Of Mercury Concentration and Ammonium Thiosulfate
as Chelating Agent]*TitiJuhaeti, N Hidayati, F Syarif dan S Hidayat*.....529PENINGKATAN PRODUKSI BENIH BAUNG (*Mystus nemurus*) MELALUI PERBAIKAN
KADAR LEMAK PAKAN INDUK[Producing Good Quality Seed of Green Catfish (*Mystus nemurus*) by Improvement of Lipid Level
of Broodstock Feed]*Ningrum Suhenda, Reza Samsudin dan Jojo Subagja*.....539

ANALISA VEGETASI HUTAN RIPARIAN DATARAN RENDAH DI TEPI SUNGAI NGGENG, TAMAN NASIONAL KAYAN MENTARANG, KALIMANTAN TIMUR [Vegetation Analysis of Lowland Riparian Forest at Nggeng River Side in Kayan Mentarang National Park, East Kalimantan] Purwaningsih.....	547
SISTEM SOSIAL JANTAN MONYET HITAM SULAWESI (<i>Macaco nigra</i>) DI CAGAR ALAM TANGKOKO-BATUANGUS, SULAWESI UTARA [Male Social System of Sulawesi Crested Black Macaques (<i>Macaca nigra</i>) at Tangkoko-Batuangus, North Sulawesi] Saroyo.....	561
STUDI FITOKIMIA <i>Baeckeafrutescens</i> L: PENGARUH FAKTOR LINGKUNGAN TERHADAP KOMPOSISI KIMIA MINYAK ATSIRI [Phytochemical Study of <i>Baeckeafrutescens</i> L.: Environmental Influence on Chemical Composition of its Essential Oils] Tri Murningsih.....	569
VARIASIINTRASPEKIES <i>Monascuspurpureus</i> DALAM BERBAGAI SAMPEL ANGKAK DARI JAWA TIMUR [Intraspecific Variation within <i>Monascus purpureus</i> in some Angkak (Chinese Red Rice) Samples from East Java] Nandang Suharna.....	577
KONDISI OPTIMUM FUSIPROTOPLAS ANTARA JAMUR TIRAM PUTIH (<i>PLEUROTUS FLORIDAE</i>) DAN JAMUR TIRAM COKLAT (<i>PLEUROTUS CYSTIDIOSUS</i>) [Optimizing Conditions for Protoplast Fusion between White Oyster Mushroom (<i>Pleurotus floridae</i>) and Brown Oyster Mushroom (<i>Pleurotus cystidiosus</i>)] Ira N. Djajanegara dan Korri El-khobar.....	585
INTERSPECIFIC ASSOCIATION PATTERNS AND EDAPHIC FACTORS' INFLUENCES: A CASE STUDY OF <i>Orania regalis</i> Zippelius IN WAIGEO ISLAND, WEST PAPUA [Pola Asosiasi Antarspesies dan Pengaruh Faktor Edafik: Studi Kasus <i>Orania regalis</i> Zippelius di Pulau Waigeo, Papua Barat] Didik Widyatmoko.....	595
EVALUASI KARAKTER PEKA PANJANG HARI (PHOTOPERIOD) PADA TIGA GOLONGAN (subspecies) PADI (<i>Oryza sativa</i>) SERTA PENGARUHNYA TERHADAP KARAKTER AGRONOMIS [Evaluation of Photoperiod Sensitive Character in Three Groups (subspecies) of Rice (<i>Oryza sativa</i>) and The Influence of Agronomic Characters] Tintin Suhartini.....	609
STATUS HARA DI HUTAN GEWANG (<i>Corypha Man Lamk.</i>), DESA USAPI SONBA'I, KUPANG, NUSA TENGGARA TIMUR [Status in The Forest Gewang Nutrients (<i>Corypha utan Lamk.</i>), Usapi Sonba'i, Kupang, East Nusa Tenggara] Laode Alhamd, T Partomihardjo dan BP Naiola.....	619
TEGAKAN BAMBU DI KEBUN RAKYAT KOTAMADYA SALATIGA [Bamboo Stands in The Community Garden at Salatiga District] Elizabeth A. Widjaja, Sunaryo, Hamzah.....	629
EKOLOGI DAN PERSEBARAN GEWANG (<i>Corypha utan Lamk.</i>) DI SAVANA TIMOR, NUSA TENGGARA TIMUR [Ecology and Distribution of Gewang (<i>Corypha utan Lamk.</i>) in Timor Savannah, East Lesser Sunda Islands] Tukirin Partomihardjo dan BP Naiola.....	637

IDENTIFIKASI MOLEKULAR ISOLAT KAPANG PENGHASIL β -GLUCAN BERDASARKAN DAERAH INTERNAL TRANSCRIBED SPACER (ITS)¹ [Molecular Identification of Fungal Isolate Produces β -Glucan Based on Internal Transcribed Spacer (ITS)]

Yoice Srikandace^{2^*}, Ines Irene Caterina A² dan Wibowo Mangunwardoyo³

²Pusat Penelitian Bioteknologi ■ LIPI

Jalan Raya Bogor Km 46 Cibinong, Bogor 16911

³Program Pascasarjana Biologi Gedung E Lt 2 ■ FMIPA UI, Depok

*e-mail: yo79srievfran@yahoo.com

ABSTRACT

Research was conducted to identify the fungal isolate G.23 which produces β -glucan from the Biopharmacy Laboratorium's collection. Indonesian Institute of Sciences (LIPI) based on the sequence of the Internal Transcribed Spacer (ITS) regions. DNA was isolated from mycelia and the ITS region was amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) with ITS1 and ITS4 primers. The PCR product was purified using the QIAquick PCR Purification kit (Qiagen). BigDye terminator cycle sequencing Ready Reaction Kit (Perkin Elmer Applied Biosystem) was used and the product was purified with the AutoSEQ G50 Kit (Qiagen). The sequence obtained analysed using Basic Local Alignment Search Tool nucleotide (BLAST) n homology search. The BLASTn result showed that the fungal isolate G.23 belongs to the genus *Aspergillus*. Taxa closely related to this isolate were *Aspergillus elegans*, *A. ochraceus* and *A. sclerotiorum* with 96% sequence homology. ClustalX was used for sequence alignment. Phylogenetic analysis was constructed using the Neighbour Joining (NJ) method with Kimura two parameters. The phylogenetic tree obtained showed that fungal isolate G.23 separated from *A. elegans*, *A. ochraceus* and *A. sclerotiorum* which indicated that fungal G.23 belonged to a different species. Morphological observation on culture and microscopic appearance of the fungal isolate G.23 supported that this isolate differs from *A. elegans*, *A. ochraceus* and *A. sclerotiorum*.

Kata kunci: *Aspergillus*, Internal Transcribed Spacer, pohon filogenetik.

PENDAHULUAN

DNA merupakan molekul primer panjang berupa asam nukleat dan polisakarida yang mengandung informasi biologi penting. Rangkaian DNA yang digunakan untuk identifikasi kelompok eukaryotik (kapang) antara lain terletak pada daerah Internal Transcribed Spacer (ITS). Daerah tersebut memiliki variasi lebih tinggi dibandingkan 18S, 5.8S dan 28S (Kumeda dan Asao, 2001), namun terkonservasi sehingga memungkinkan untuk membuat basis data sekuen biologi yang dapat digunakan untuk identifikasi suatu spesies (Kumar dan Shukla, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, isolat kapang G.23 ternyata mampu menghasilkan β -glukan. Profil β -glukan tersebut telah diketahui dengan analisis spektrofotometer inframerah Fourier Transform, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, kromatografi cair kinerja tinggi dan resonansi magnet inti. Isolat kapang G.23 telah dikarakterisasi secara konvensional dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dan

mikroskopis isolat kapang G.23 berdasarkan buku identifikasi "Introduction to fungi" dan "Introduction to food-borne fungi" (Webster, 1978; Samson et al., 1981). Karakterisasi morfologi isolat kapang G.23 (Foto 1) menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan kapang dari genus *Aspergillus*.

Karakterisasi morfologi isolat kapang G.23 tidak dapat mengidentifikasi sampai tingkat spesies. Oleh karena itu, dalam studi ini identifikasi isolat kapang G.23 juga dilakukan secara molekular berdasarkan daerah ITS menggunakan primer ITS (ITS 1 dan ITS4) yang dapat digunakan untuk identifikasi kapang sampai pada tingkat spesies. Sekuen-sekuen daerah 18S, ITS, 5.8S dan 28S yang dianalisis dengan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) dapat memberikan informasi jenis spesies atau genus suatu mikroorganisme (Henry et al., 2000; Hinrikson et al., 2005). Program ClustalX versi 1.83 dapat membentuk alignment dan Phylogenetic Tree ■ Neighbour Joining Tree dengan metode Kimura dua parameter (Kumeda dan Asao, 2001).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Indo Bio Pertiwi, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong.

Isolasi DNA dari miselium

Miselium yang telah diliofilisasi dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus berukuran 1,5 ml ditambah dengan 1,5 ml N^o cair, 500 ml lisis bufer (100 mM Tris-HCl, 20 mM EDTA, 2 % CTAB, 1,4 M NaCl, dan 0,2 % b-merkaptoetanol dan sebelum digunakan dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 65°C), divortex dengan interval waktu 20 menit, dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 65°C. Miselium didinginkan pada suhu ruang, ditambah dengan 500 ml kloroform pa, divortex dan disentrifus dengan kecepatan 13.400 rpm selama 10 menit pada suhu ruang. Supernatan diambil, ditambah dengan 0,1 Volume sampel CTAB 10 %, divortex dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 65°C. Supernatan ditambah dengan 500 ml kloroform pa, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 4°C, dan disentrifus dengan kecepatan 13.400 rpm selama 10 menit. Supernatan ditambah dengan 0,5 Volume sampel amonium asetat 5M, divortex dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu -20°C, dan disentrifus dengan kecepatan 13.400 rpm selama 10 menit. DNA dipresipitasi dengan isopropanol selama 60 menit, disentrifugasi dengan kecepatan 13.400 rpm selama 10 menit. DNA ditambah dengan etanol 70%, dikeringanginkan, ditambah dengan 501TE bufer IX, selanjutnya diinkubasi dalam penangas air yang bersuhu 65°C selama 1 jam untuk melarutkan DNA, dan disimpan di dalam freezer (Hsu *et al*, 2003).

Analisis kualitas, identifikasi dan amplifikasi DNA

DNA yang telah diperoleh dianalisis dengan agarose 1% dan kemurnian serta konsentrasi DNA diuji dengan spektrofotometer pada 1260 nm dan 1 280 nm. dNTP (konsentrasi 200 mM dalam 10 mM Tris-HCl), 50 mM KCl, *Taq polymerase* 2,5 U, bufer reaksi, dan 1,5 µl MgCl₂, 1 (il primer ITS1 (10 pmol) dan 1 µl primer ITS4 (10 pmol) dan 2 µl *template DNA* serta 14,75 µl dH₂O steril dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus dengan total volume 25 (il. Tabung-tabung mikrosentrifus berisi kontrol positif (DNA *Penicilium* sp), kontrol negatif (tanpa *template DNA*) dan *template DNA* isolat kapang G.23 dimasukkan ke dalam mesin

PCR (Perkin pelmer 9600) dengan siklus amplifikasi 40 siklus dengan kondisi setiap siklus adalah denaturasi awal suhu 95°C selama 5 menit, denaturasi berikutnya 95°C selama 2 menit, suhu penempelan (*annealing*) suhu 64°C selama 45 detik, elongasi pada suhu 72°C selama 10 detik, dan *final extention* pada suhu 72°C. Setelah DNA diamplifikasi, maka DNA disimpan di dalam *refrigerator* yang bersuhu -20°C dan dianalisis ukuran produk PCR yang diperoleh dengan elektroforesis (Amersham, 2006).



Foto 1. Penampakan makroskopis isolat kapang G.23 pada medium PDA berumur 7 hari.

Purifikasi produk PCR

Produk PCR ditambah dengan 500 µl PB bufer yang telah mengandung etanol 96 % di dalam tabung mikrosentrifus. Kolom spin diletakkan di dalam tabung koleksi yang berukuran 2 ml. Produk PCR dipindahkan ke dalam kolom spin dan disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Pelarut dibuang dari tabung 2µl. Kolom spin diletakkan ke dalam tabung sentrifus berukuran 1,5 µl. Kemudian. 500µl bufer EB dituang di atas membran QIAquick dan kolom disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit, sehingga diperoleh produk PCR yang murni (Qiagen protocol).

Cycle-sequencing

Sebanyak 2 µl produk PCR yang telah dipurifikasi ditambahkan dengan 4 (il big dye, 0,5 µl primer, 3,5 µl ddH₂O dengan total volume 10 µl dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus. Reaksi produk PCR disentrifus dengan kecepatan 13.000rpm selama 1 menit, lalu dimasukkan ke dalam mesin PCR untuk *cycle* sekuen. Kondisi PCR adalah denaturasi suhu 98°C selama 2 menit, penempelan (*annealing*) suhu 55°C selama 5 detik. elongasi pada suhu 60°C

selama 4 menit, sehingga diperoleh *product cycle sequencing* (ABI Prism 3130 protocol).

Purifikasi produk Cycle Sequencing dan sekuensing

Sebanyak 100 µl EDTA 10 mM (pH 8.0) diresuspensi dengan resin di dalam kolom dandivortex. Kolom dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus berukuran 1,5 ml, disentrifus dengan kecepatan 4.600 rpm selama 1 menit. Kolom dipindahkan ke dalam tabung berukuran 1,5 ml, produk PCR dituang ke dalam tabung tersebut, dan disentrifus dengan kecepatan 4.600 rpm selama 1 menit. Kemudian produk PCR diinkubasi selama 2 menit pada suhu 96°C, produk PCR diinkubasi di es selama 2 menit, dan dimasukkan ke dalam mesin DNA sequencer. Komputer diaktifkan untuk menjalankan program *Run Data Collection* dan *Protocol Manager*. Sekuen yang diperoleh dianalisis dengan BLAST (ABI Prism 3130 protocol).

Analisis sekuen dengan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).

Urutan basa nukleotida DNA sebagai hasil sefcuensing secara *manual dicetak* uiang ke *program* BLASTn pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov . Urutan basa nukleotida diformat ID sehingga diperoleh hasil BLAST. Hasil BLAST berupa informasi *similarity* sekuen sample (isolat kapang) dengan sekuen mikroorganisme yang ada di data BLAST.

Analisis Filogeni isolate kapang G.23

Data sekuen daerah ITS isolat kapang G.23 dan sekuen spesies yang diperoleh dari BLASTn dianalisis dengan ClustalX versi 1.83. *Alignment* dan *Phylogenetic Tree*-metode NJ dengan Kimura dengan **dua** parameter dihasilkan dengan program ClustalX (Brookman *et al*, 2000).

HASIL

DNA diisolasi dari 0,1 g miselium isolat kapang G.23 telah yang terliofilisasi dengan metode Hsu *et al*. (2003). Buffer lisis yang mampu memecahkan dinding sel isolat kapang G.23 adalah 100 mM Tris-HCl pH 8,20 mM EDTA, 100 mM NaCl, 1 % sarcosyl, 0.1 % NaSO₃, 3%SDS,2%PPV.

Foto 2 menunjukkan bahwa hasil analisis 8 (I1 DNA dianalisis pada gel agarose 1 % dengan elektroforesis, menggunakan *DNA ladder* 1 kb dan

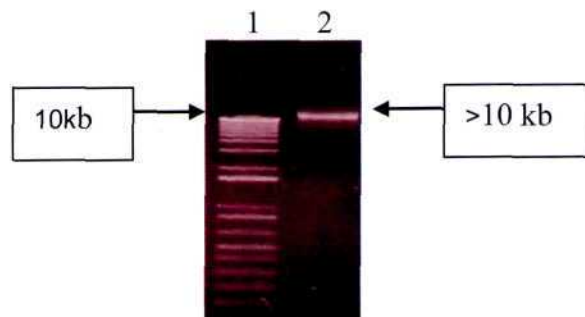


Foto 2. Analisis genom DNA isolat kapang G.23 pada gel agarose 1 %. Baris 1: DNA ladder 1 kb, Baris 2: genom DNA kapang G.23.

divisualisasikan dengan sinar UV. Berat molekul DNA genom isolat kapang G.23 berkisar di atas 10 kb. Selanjutnya, kemurnian DNA berkisar 1,8115. Hasil ini menunjukkan DNA yang diisolasi cukup murni tanpa adanya degradasi DNA dan konsentrasi DNA adalah 41,575 mg/ml. Amplifikasi DNA menggunakan PCR *beads* (Amersham), primer ITS 1 dan ITS4, *template* DNA serta ddH₂O, kontrol positif berupa DNA *Penicillium* sp koleksi Laboratorium Biofarmaka dan negatif kontrol berupa ddH₂O.

Foto 3 menunjukkan produk PCR yang berupa fragmen ITS berdasarkan hasil analisis dengan elektroforesis pada gel agarose 1% berkisar 600 bp dan tidak tampak adanya *non-specific priming* yang ditunjukkan dengan hanya terdapat 1 pita DNA. Magnani (2005) dan Accenci *et al.*, (1999) menyatakan bahwa fragmen ITS untuk kapang berkisar 565-613 bp.

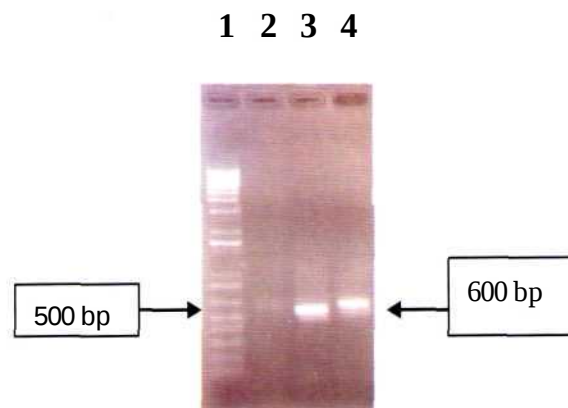


Foto 3. Produk PCR DNA isolat kapang G.23. Baris 1: DNA ladder 100bp, Baris 2: kontrol negatif, Baris 3: kontrol positif, Baris 4: DNA isolat G.23

Sekuen fragmen ITS

Hasil sekuensing isolat kapang G.23 dengan sekuen primer ITS1 berupa elektroferogram untuk identifikasi spesies mikroorganisme dilanjutkan dengan analisis BLASTn. Hasil BLASTn menunjukkan bahwa sekuen isolat kapang G.23 termasuk genus *Aspergillus*. Nilai bootstrap isolat kapang G.23 tertinggi 96% (Gambar 1) terhadap *Aspergillus elegans* dan *A. sclerotiorum*, dan *A. ochraceus*. Nilai bootstrap kapang G.23 sekitar 96% (Gambar 1) dan terdapat 9 perbedaan nukleotida.

Analisis filogeni isolat kapang G23

Phylogenetic Tree-Neighbour Joining (NJ) kapang G.23 dibentuk dengan program ClustalX menggunakan metode Kimura dengan dua parameter.

Skema filogeni (Gambar'2) dengan *bootstrap* sebanyak 1000 kali sampling menunjukkan *similarity Aspergillus* spp. dan *Penicilium chrysogenum* UWFP 772 sebagai *outgroup*. Identifikasi molekuler mendukung data karakterisasi isolat kapang G.23 secara makroskopis dan mikroskopis spesies yang terdekat berdasarkan hasil sekuen *Aspergillus elegans*, *A. ochraceus* dan *A. sclerotiorum*.

Phylogenetic tree menunjukkan bahwa kapang G.23 lebih berkerabat dekat dengan *A.ochraceus* dan *A.sclerotiorum* dengan nilai bootstrap 74%. Akan tetapi, isolat kapang G.23 berkerabat jauh dengan *A.elegans* yang ditunjukkan dengan nilai bootstrap 92%. Analisis *phylogenetic tree* dan karakterisasi morfologi juga menunjukkan bahwa isolat kapang G.23 memiliki genus

>gb[AF459736.1|AF459736] *Aspergillus elegans* NRRL 4850 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Length=1197

Score = 632 bits (319), Expect = 3e-178
Identities = 385/398 (96%), Gaps = 6/398 (1%)
Strand=Plus/Plus

```

Query    38
Sbjct    146

Query    98
Sbjct    206  TGAG-TCGATTGTATCGCAATCAGTTAAACCTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGG 262

Query    158  CATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAATTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC 217
Sbjct    263  CATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAATTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC 322

Query    218  ATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCACCCCTGGTATTCGGGGGGTATGCCTGTCCGAGC 277
Sbjct    323  ATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCACCCCTGGTATTCGGGGGGTATGCCTGTCCGAGC 382

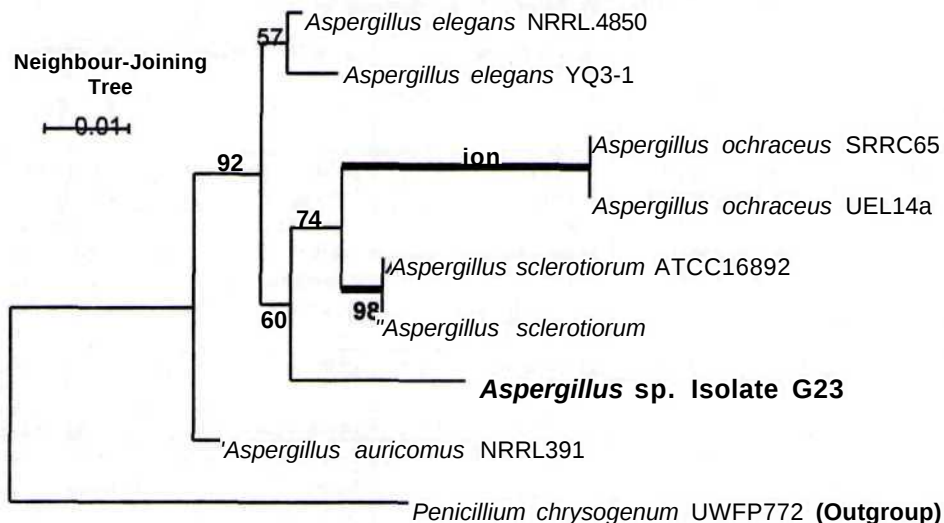
Query    278  GTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGTGGGTCCTCGT GGGGACGGG 337
Sbjct    383  GTCATTTCTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTGGGTCCTCGTCCCCC-GGGGACGGG 440

Query    338  CCCGAAAGGCAGCGGCGCTCCGCGTCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCCG 397
Sbjct    441  CCCGAAAGGCAGCGGCGCACCGCTCCGGTCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTCA-CCCG 499

Query    398  CTCTCGTAGGCCCGCGCGCTGGCCGACGCTGAAAA 435
Sbjct    500  CTCTTGTAGGCCCGCGCGCTGGCCGACGCTGAAAA 537

```

Gambar 1. Alignment data sequence kapang G.23 terhadap *A. elegans* analisis BLAST.



Gambar 2. Phylogenetic Tree kapang G.23

Aspergillus, akan tetapi bukan spesies *A. elegans*, *A. sclerotiorum*, dan *A. ochraceus*. Hal ini dapat berarti bahwa isolat kapang G.23 kemungkinan merupakan spesies baru dari genus *Aspergillus*. Perbedaan-perbedaan yang dimiliki oleh isolat kapang G.23 terhadap *Aspergillus* lain ditunjukkan pada Tabel. 1.

PEMBAHASAN

Pelisisan **dinding sel dengan bufer** lisis dan liofilisasi untuk mengurangi kadar air miselium kapang G23 serta penambahan N_2 cair untuk memecahkan dinding sel kapang. DNA mikroorganisme belum tentu dapat diisolasi dan diekstraksi dengan bufer dan metode yang sama, baik metode konvensional maupun dengan menggunakan kit. Akan tetapi, DNA yang diisolasi diharapkan memiliki kemurnian 1.8-2.0 tanpa adanya fragmentasi atau degradasi DNA.

Genom DNA isolat kapang yang telah diisolasi memiliki data BLASTn yang menunjukkan bahwa daerah yang disekuensi adalah sebagian 18S rRNA, ITS-1, 5.8S rRNA, ITS-2, dan sebagian 28S rRNA. Daerah 18S rRNA dan daerah 28S rRNA tidak tersekuensi seluruhnya karena primer yang digunakan tidak meliputi daerah 18S rRNA dan 28S rRNA seluruhnya. Akan tetapi, primer tersebut mampu menunjukkan identitas jenis isolat kapang G.23 yaitu *Aspergillus*. Primer ITS1 yang berada pada akhir 5' 18S dan ITS4

berada pada awal 3' 28S mampu mengamplifikasi daerah sebagian 18S, ITS-1, 5.8S, ITS-2 dan sebagian 28S (Reynol, 1992). Arah sekuen ITS kapang G.23 masih dilakukan dari satu arah 5' - 3', sehingga belum didapat sekuen lengkap dari 600 bp daerah ITS isolat kapang G.23. Jika sekuen dilakukan dari 5'-3' dan 3'-5' maka kemungkinan dapat menunjukkan nilai identitas yang lebih tinggi dari 96%, karena akan diperoleh sekuen yang lebih panjang dan dapat diketahui kemungkinan adanya sekuen yang salah pada saat proses sekuensing.

Ada 9 perbedaan basa nukleotida dan nilai bootstrap 96 % isolat kapang G.23 juga menunjukkan bahwa isolat kapang adalah genus *Aspergillus*, akan tetapi bukan spesies *A. elegans*, *A. sclerotiorum*, *A. auricomus* dan *A. ochraceus*. Hal ini disebabkan oleh rendahnya nilai homologi daerah ITS isolat kapang G.23 (96%) terhadap spesies terdekat yaitu *A. sclerotiorum* dan *A. ochraceus*, karena suatu spesies memiliki nilai homologi sekitar 99% (Tuckwell *et al.*, 2005).

Karakter morfologi isolat kapang G.23 dengan *Aspergillus* lain ditunjukkan pada Tabel. 1. Perbedaan antara isolat kapang G.23 dengan *A. elegans* terdapat pada warna konidia, warna *conidial head*, bentuk susunan *biserriate*, ukuran vesikel dan warna konidiofor. Berdasarkan pengamatan mikroskopis, isolat kapang G.23 memiliki konidia berwarna kuning

label. 1. Karakterisasi *Aspergillus* sp. secara konvensional pada medium Czapek's dox berumur 7 hari, inkubasi pada suhu ruang [Sumber: Webster (1978); Samson *et al.* (1981)]

Data-data	Isolat kapang G.23	<i>A. ochraceus</i>	<i>A. sclerotiorum</i>	<i>A. elegans</i>
φ koloni (7 hari)	25 – 35 mm	22 – 42 mm	33 – 37 mm	38 – 43 mm
warna koloni	putih, tengah koloni kuning-kecoklatan	putih, tengah koloni kuning	putih, tengah koloni kuning	putih, tengah kuning
conidial head	biseriate seluruh vesikel, radiate, kuning-kecoklatan, halus, φ 2,7 – 3,0 μm	biseriate seluruh vesikel, radiate, kuning, halus, φ 2,5 – 3,5 μm	biseriate seluruh vesikel, radiate, kuning, halus, φ 2,5 – 3,5 μm	biseriate setengah vesikel, radiate, hijau, halus, φ 3,0 – 4,0 μm
zonasi	(+)	(+)	(+)	(+)
vesikel	globose, φ 35-45 μm	globose, φ 22-55 μm	globose, φ 17-35 μm	globose, φ 8-12 μm
fialid	(7-11) X (2-3,5) μm	(7-12) X (2-3) μm	(6-8) X (2-3) μm	(5-8) X (2-3) μm
metula	(15-20) X (5-6) μm	(6-12) X (2-6) μm	(7-12) X (3-5) μm	(5-7) X (2-3) μm
konidia	kuning	kuning	kuning	hijau
konidiofor	(0,4-1,3) X (8-10) μm, kuning, kasar	(0,3-1,7) X (7-10) μm, kuning cerah, kasar	(0,4-1,2) X (7-10) μm, kuning-kecoklatan, kasar	(1-1,5) X (3-6) μm, coklat-kehijauan, halus

dengan permukaan halus, *conidial head* berwarna kuning, susunan *biserriate* meliputi seluruh vesikel yang berbentuk globose, diameter vesikel 2,7 - 3,0 mm. Sedangkan karakter morfologi *A. elegans* berdasarkan Webster (1978) adalah konidia berwarna hijau dengan permukaan halus, *conidial head* berwarna hijau, susunan *biseriate* hanya meliputi setengah vesikel yang berbentuk globose, diameter vesikel 8-12 mm.

Selanjutnya, kapang G23 berkerabat lebih dekat dengan *A. ochraceus* dan *A. sclerotiorum* juga didukung oleh karakter morfologi. Samson *et al.* (1981) dan Klich (2002) menyatakan *A. ochraceus* dan *A. sclerotiorum* memiliki konidia kuning dengan permukaan halus, *conidial head* berwarna kuning, susunan *biserriate* meliputi seluruh vesikel yang berbentuk globose, diameter vesikel *A. ochraceus* (22-55 mm) dan *A. sclerotiorum* (17-35 mm). Karakter morfologi yang dimiliki oleh isolat kapang G23 hampir sama dengan *A. ochraceus* dan *A. sclerotiorum*. Perbedaan karakter yang tidak terlalu mencolok diantara isolat kapang G.23, *A. ochraceus* dan *A. sclerotiorum* adalah ukuran diameter vesikel, ukuran fialid, metula, warna koloni dan diameter koloni. Akan tetapi, perbedaan antara ketiga *Aspergillus* yang terlihat nyata adalah warna *conidial head*. Isolat kapang G.23 memiliki *conidial head* berwarna kuning-kecoklatan sedangkan *A. ochraceus* dan *A. sclerotiorum* memiliki

conidial head berwarna kuning.

KESIMPULAN

Identifikasi molekular isolat kapang G.23 pada ITS menunjukkan bahwa isolat kapang G.23 merupakan anggota dari genus *Aspergillus* dan berkerabat lebih dekat dengan *A. sclerotiorum* dan *A. ochraceus* dibandingkan dengan *A. elegans*. Data molekuler tersebut didukung oleh data morfologi mikroskopik isolat kapang G.23 yang lebih mirip dengan *A. sclerotiorum* dan *A. ochraceus*.

SARAN

Sekuen daerah ITS isolat kapang G.23 perlu dilengkapi. Penelitian lebih lanjut sebaiknya dilakukan sekuensing dengan menggunakan primer ITS4 untuk mendapatkan sekuen lengkap daerah ITS isolat kapang G23.

DAFTAR PUSTAKA

- Accenci FJ, L Cano, ML Figuera, Abarca and FJ Cabanes. 1999. New PCR methods to difrentitate spesies in the *Aspergillus niger* aggregate. *Microbiology* **180**, 191-196.
- Amersham. 2006. Ready to go RT-PCR. *Pharmacia Biotechnology* 27, 5-9.
- Brookman JL, G Mennim, APJ Trinci, MK Theodorou and OS Tuchwell. 2000. Identification and characterised of anaerobic gut fungi using molecular methodology based on ribosomal ITS-1 and 18S rRNA. *Journal of Microbiology* **146**, 394-403.

- Henry T, C Peter, C Iwe and SH Hinricks. 2000.** Identification of *Aspergillus* spesies using Internal Transcribed Spacer region 1 and 2. *Journal of Clinical Microbiology* **38**, 1510-1515.
- Hinrikson HP, SF Hurst, TJ Lott, DW Warnock and CJ Marrion. 2005.** Assesment of ribosomal large subunit D1-D2, Internal Transcribed Spacer 1, and Internal Transcribed Spacer 2 region as targets for molecular identification of medically important *Aspergillus* spesies. *Journal of Clinical Microbiology* **43**, 2092-2103.
- Hsu M, Chen K, Lo H, Chen Y, Liao M, Lin Y and Shu Y. 2003.** Spesies identification of medically important fungi by use of RT LightCycler PCR. *Journal of Clinical Microbiology* **1**, 1-6.
- Klich MA. 2002.** *Identification of Common Aspergillus spesies*. Centraalbureau voor schimmelcultures (Publisher), The Netherlands.
- Kumar M and PK Shukla. 2004.** Use of PCR targeting of Internal Transcribed Spacer regions a single-stranded conformation polymorphism analysis of sequences variation in different regions of rRNA genes in fungi for rapid diagnosis myotic keratitis. *Microbiology* **10**, 662-668.
- Kumeda Y and T Asao. 2001.** Heteroduplex panel analysis, a novel method for genetic identification of *Aspergillus* section Flavi strains. *Applied Environment Microbiology* **67**, 4084-4090.
- Magnani M, T Fernades, M Homechin EYS Ono. 2005.** Molecular identification of *Aspergillus* spp. isolated from coffee beans. *Science Agricultural* **62**, 45-49.
- Samson RA, ES Hoekstra and CANV Oorschot. 1981.** *Introduction to Food-borne Fungi*. Academy of Arts & Science Inc., Netherlands.
- Tuckwell DS, MS Nicholson, CS McSweeney, MK Theodorou and JL Brookman. 2005.** The rapid assessment of fungi genera using ITS-1 and ITS-2 RNA secondary structure to product group specific fingerprinting. *Microbiology* **151**, 1557-1567.
- Webster J. 1978.** *Introduction to Fungi*. Great Britain Inc., London.