

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN JUDUL .....  | i       |
| HALAMAN PENGESAHAN .....   | ii      |
| HALAMAN PERNYATAAN.....  | iii     |
| HALAMAN PERSEMBAHAN .....  | iv      |
| KATA PENGANTAR .....   | v       |
| DAFTAR ISI .....   | vii     |
| DAFTAR TABEL .....   | ix      |
| DAFTAR GAMBAR .....  | x       |
| DAFTAR LAMPIRAN .....  | xii     |
| INTISARI .....   | xiii    |
| ABSTRACT .....   | xiv     |
| <br>   |         |
| I. PENDAHULUAN .....   | 1       |
| A. Latar Belakang .....  | 1       |
| B. Keaslian Penelitian .....   | 5       |
| C. Tujuan Penelitian .....   | 5       |
| D. Manfaat penelitian .....  | 5       |
| II. TINJAUAN PUSTAKA .....   | 7       |
| A. Tinjauan Pustaka .....  | 7       |
| 1. Bakteri Diazotrof Endofit .....                                   | 7       |
| 2. Asosiasi antara Bakteri Diazotrof Endofit dengan<br>Tanaman ..... | 11      |

|  |    |
|--|----|
| 3. Analisis Keragaman Komunitas Bakteri secara Molekular .....           | 17 |
| 4. <i>Amplified rDNA Restriction Analysis</i> (ARDRA) .....              | 22 |
| B. Hipotesis .....   | 25 |
| III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN .....                                   | 26 |
| A. Bahan Penelitian .....  | 26 |
| B. Metode Penelitian .....   | 28 |
| 1. Isolasi Bakteri Endofit .....   | 28 |
| 2. Seleksi Isolat Bakteri Diazotrof Endofit .....                        | 30 |
| 3. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri Diazotrof Endofit .....        | 31 |
| 4. Amplifikasi DNA dengan PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) ..... | 32 |
| 5. Pemurnian Produk PCR .....  | 38 |
| 6. <i>Amplified rDNA Restriction Analysis</i> (ARDRA) .....              | 39 |
| 7. Diagram Alur Penelitian .....   | 42 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....   | 44 |
| A. Isolasi Bakteri Endofit dari Akar, Batang, dan Daun .....             | 44 |
| B. Seleksi Isolat-isolat Bakteri Diazotrof Endofit .....                 | 46 |
| C. Karakterisasi Morfologi Isolat-isolat Bakteri Diazotrof Endofit ..... | 52 |
| D. Amplifikasi DNA dengan PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) ..... | 54 |
| E. Analisis ARDRA ( <i>Amplified rDNA Restriction Analysis</i> ) .....   | 62 |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN .....  | 89 |
| DAFTAR PUSTAKA .....   | 91 |
| LAMPIRAN .....   | 98 |

## DAFTAR TABEL

| Tabel  | Halaman |
|--|---------|
| 1. Komposisi Campuran Reaksi PCR .....   | 33      |
| 2. Perlakuan Sterilisasi Permukaan untuk Isolasi Bakteri Endofit ....  | 45      |
| 3. Hasil Isolasi bakteri Endofit dari Akar, Batang, dan daun Tanaman Tebu dan Seleksi pada Media Bebas N ..... | 47      |
| 4. Hasil Uji ARA menggunakan GC .....  | 50      |
| 5. Karakteristik Morfologi 11 Isolat Bakteri Diazotrof Endofit .....   | 52      |
| 6. Ukuran Fragmen dari Isolat Bakteri Diazotrof Endofit dengan Pemotongan 3 Enzim Restriksi .....              | 78      |
| 7. Pengelompokan Gen 16S rRNA berdasarkan atas Pola Pemotongan DNA oleh Enzim Restriksi .....                  | 79      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar  | Halaman |
|---|---------|
| 1. Uji Pertumbuhan Bakteri Endofit dalam Medium Semisolid LGI ....  | 48      |
| 2. Uji Pertumbuhan Bakteri Endofit dalam Medium Semisolid NFM ...   | 48      |
| 3. Kemampuan Penambatan N <sub>2</sub> Isolat-isolat Bakteri Diazotrof Endofit .....  | 51      |
| 4. Morfologi Luar Bakteri Diazotrof Endofit yang ditumbuhkan pada Medium NA .....   | 54      |
| 5. Hasil Elektroforesis dari Amplifikasi Gen 16S rRNA Menggunakan Sel sebagai Cetakan .....   | 55      |
| 6. Hasil Elektroforesis dari Amplifikasi Gen 16S rRNA .....   | 59      |
| 7. Hasil Elektroforesis DNA Genom Bakteri Diazotrof Endofit .....   | 60      |
| 8. Hasil Pemurnian Sekuen 16S rDNA .....  | 61      |
| 9. (a) Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA Hasil Pemotongan dengan Enzim Restriksi <i>HaeIII</i> .....   | 63      |
| (c) Representasi Diagramatik Pola ARDRA Amplikon 16S rDNA Isolat Bakteri Diazotrof Endofit pada Tebu yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>HaeIII</i> dielektroforesis pada Gel Poliakrilamid ..... | 64      |
| (b) Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA Hasil Pemotongan dengan Enzim Restriksi <i>HaeIII</i> .....  | 65      |
| (d) Representasi Diagramatik Pola ARDRA Amplikon 16S rDNA Isolat Bakteri Diazotrof Endofit pada Tebu yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>HaeIII</i> dielektroforesis pada Gel Poliakrilamid ..... | 66      |
| 10.(a) Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA Hasil Pemotongan dengan Enzim Restriksi <i>Hinfl</i> .....  | 67      |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| (c)    | Representasi Diagramatik Pola ARDRA Amplikon 16S rDNA Isolat Bakteri Diazotrof Endofit pada Tebu yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>Hinfl</i> dielektroforesis pada Gel Poliakrilamid ..... | 68 |
| (b)    | Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA Hasil Pemotongan dengan Enzim Restriksi <i>Hinfl</i> .....  | 69 |
| (d)    | Representasi Diagramatik Pola ARDRA Amplikon 16S rDNA Isolat Bakteri Diazotrof Endofit pada Tebu yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>Hinfl</i> dielektroforesis pada Gel Poliakrilamid ..... | 70 |
| 11.(a) | Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA Hasil Pemotongan dengan Enzim Restriksi <i>RsaI</i> .....   | 71 |
| (c)    | Representasi Diagramatik Pola ARDRA Amplikon 16S rDNA Isolat Bakteri Diazotrof Endofit pada Tebu yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>RsaI</i> dielektroforesis pada Gel Poliakrilamid .....  | 72 |
| (b)    | Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA Hasil Pemotongan dengan Enzim Restriksi <i>RsaI</i> .....   | 73 |
| (d)    | Representasi Diagramatik Pola ARDRA Amplikon 16S rDNA Isolat Bakteri Diazotrof Endofit pada Tebu yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>RsaI</i> dielektroforesis pada Gel Poliakrilamid .....  | 74 |
| 12.    | Dendogram yang menunjukkan Keserupaan antar Isolat bakteri Diazotrof Endofit dan Strain Acuan berdasarkan Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>HaeIII</i>          | 82 |
| 13.    | Dendogram yang menunjukkan Keserupaan antar Isolat bakteri Diazotrof Endofit dan Strain Acuan berdasarkan Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>Hinfl</i>           | 82 |
| 14.    | Dendogram yang menunjukkan Keserupaan antar Isolat bakteri Diazotrof Endofit dan Strain Acuan berdasarkan Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA yang dipotong dengan Enzim Restriksi <i>RsaI</i>            | 83 |
| 15.    | Dendogram yang menunjukkan Keserupaan antar Isolat bakteri Diazotrof Endofit dan Strain Acuan berdasarkan Gabungan Pola ARDRA Sekuen 16S rDNA yang dipotong dengan 3 Enzim Restriksi .....       | 83 |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran  | Halaman |
|---|---------|
| 1. Komposisi Media .....  | 98      |
| 2. Reagensia .....  | 100     |
| 3. Preparasi Isolat Bakteri untuk Seleksi Diazotrof .....   | 102     |
| 4. Pengujian Sifar Gram dan Biokimia Bakteri .....  | 103     |
| 5. Perlakuan untuk Optimasi Sterilisasi Permukaan .....   | 106     |
| 6. Kromatogram Hasil Uji ARA menggunakan GC .....   | 107     |
| 7. Bentuk Sel dan Koloni Isolat Bakteri Diazotrof Endofit .....   | 110     |
| 8. Hasil Optimasi Perlakuan Suhu Penempelan Primer pada<br>Proses PCR Sekuen 16S rDNA Isolat Bakteri Diazotrof Endofit  | 112     |
| 9. Hasil Analisis Data Matriks Kesamaan Dice ( <i>Dice Coefficient</i> )<br>dengan menggunakan Program NTSYSpc versi 2.10s (Applied<br>Biostatics Inc.) ..... | 113     |