

**PENGEMBANGAN METODE KUANTIFIKASI
BAKTERI ENDOFIT (*Microbacterium arborescens*)
BERDASARKAN PROBE SPESIFIK 16s rRNA**

**Riana Nindita Putri
16/401969/PBI/1418**

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode kuantifikasi bakteri endofit potensial, *Microbacterium arborescens* menggunakan instrumen real-time PCR serta mempelajari pengaruh yang ditimbulkan pada pertumbuhan tanaman sorgum manis. Bakteri endofit merupakan bakteri yang mengkolonisasi jaringan tanaman inang tanpa menimbulkan kerugian serta mampu hidup pada bagian akar, batang, dan daun. Penelitian ini diawali dengan isolasi genom tanah, tanaman sorgum induk, tanaman sorgum dengan atau tanpa infeksi *Microbacterium arborescens*, selanjutnya masing-masing genom diamplifikasi gen 16s rRNA menggunakan menggunakan *Bioline PCR hotstart mix*. Primer yang digunakan yaitu primer universal Primer 27 f (59-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-39) dan 1492 r (59- TAC GGH TAC CTT GTT ACG ACT T-39). Selanjutnya dilakukan kuantifikasi berbasis probe, *Microbacterium arborescens* pada seluruh genom dengan metode *absolute quantification* menggunakan Bio-Rad CFX96 *real-time* PCR. Analisis *real-time* PCR menggunakan primer *forward* 5'-GCTGGA AACGGCGTCTAATA-3', primer *reversed* 5'-ACCTCACCAACAAGCTGA TAG-3' dan untuk probe 5'-TTTCCAGCTACTGACCATGCGGTC- 3' dilengkapi label FAM dan *blackhole quencher*. Analisis parameter pertumbuhan sorgum manis lokal akibat infeksi *Microbacterium arborescens* menggunakan uji statistik *oneway* ANOVA. Hasil kuantifikasi menggunakan real-time PCR merepresentasikan bahwa *Microbacterium arborescens* memiliki kemampuan hidup tinggi pada sorgum manis ditandai dengan kemelimpahannya di seluruh jaringan tanaman, terutama pada bagian akar sebesar $4,52 \times 10^8$ sel. Selain itu *Microbacterium arborescens* terdeteksi pada seluruh genom tanah, tanaman induk, dan tanaman perlakuan. Panjang akar dan jumlah akar lateral antara sorgum manis dengan dan tanpa infeksi *Microbacterium arborescens* menunjukkan beda nyata. Panjang akar kontrol sebesar 9,24 cm sedangkan tanaman perlakuan sebesar 6,38 cm, sedangkan tanaman kontrol memiliki jumlah akar perlakuan 6 buah dan tanaman perlakuan sebanyak 10 buah akar lateral.

KATA KUNCI: *absolute quantification*, bakteri pemacu tumbuh, *Microbacterium arborescens*, *real-time* PCR, sorgum manis

DEVELOPMENT OF ENDOFIT BACTERIA *Microbacterium arborescens* QUANTIFICATION METHOD BASED ON 16s rRNA SPESIFIK PROBE

Riana Nindita Putri
16/401969/PBI/1418

ABSTRACT

This study aimed to develop quantification method of potential endophytic bacteria, *Microbacterium arborescens*, using real-time PCR instrument and also studying its effect on sweet sorghum plant growth. Endophytic bacteria are bacteria that live in the internal tissues of plants without causing disruption to the plant and is able to live on the roots, stems, and leaves. This research begins with genome isolation of soil, first generation of sorghum plant, infected sorghum. Universal primer 27 f (59-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-39) and 1492 r (59- TAC GGH TT CTT GTT ACG ACT T-39) used for 16s rRNA amplification go under *Bioline PCR hotstart mix*. Furthermore, probe based quantification of *Microbacterium arborescens* performed on entire genomes with absolute quantification method using Bio-Rad CFX96 real-time PCR. Real-time PCR analysis using 5'-GCT GGA AAC GGT GTC TAA TA-3 ' forward primer, 5'-ACC TCA CCA ACA AGC TGA TAG-3 reversed primer and for 5'-TTT CCA GCT ACT GAC CAT GCG GTC-3' probes fitted with FAM label and blackhole quencher. Growth parameters of local sweet sorghum due to *Microbacterium arborescens* infection analyzed using oneway ANOVA statistical test. Result of quantification using real-time PCR represents that *Microbacterium arborescens* has a high survival ability in sweet sorghum, characterized by its abundance throughout plant tissue, especially at root by 4.52×10^8 cell. In addition *Microbacterium arborescens* are detected in all of, soil genomes, first generation plant, and treated plant. Root length and root quantity between sweet sorghum with and without *Microbacterium arborescens* infection showed a significant differences. Root length of control is about 9.24 cm while treatment plant is 6.38 cm. Control plant has 6 roots and treatment plant has 10 lateral roots.

KEYWORDS: absolute quantification, growth-promoting bacteria,
Microbacterium arborescens, probe, real-time PCR, sweet
sorghum