

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii.....
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1.....
A. Latar Belakang	1.....
B. Rumusan Masalah	3
C. Pertanyaan Penelitian	3.....
D. Batasan Masalah	3
E. Tujuan Penelitian	3.....
F. Manfaat Penelitian	4.....
G. Struktur Organisasi Skripsi	4.....
BAB II BAKTERI ENDOFIT, <i>Ageratum conyzoides</i>, <i>Vetiveria zizanioides</i> Cultivation, RESISTENSI AMPISILIN DAN METODE PADA ANALISIS KEKERABATAN	6.....
A. Bakteri Endofit: Potensi dan Resistensi	6
B. Tanaman <i>Ageratum conyzoides</i>	9
C. Tanaman <i>Vetiveriae zizanoides</i> Cultivation	11
D. Ampisilin: Mekanisme Kerja dan Resistensi Terhadap Ampisilin	13
1. Mekanisme Kerja Ampisilin	13
2. Resistensi Terhadap Ampisilin	16
E. Analisis Kekerabatan berdasarkan Gen <i>16S ribosomal RNA</i>	18
F. Metode Analisis Data	22
1. Penapisan resistensi antibiotik	22
2. Isolasi DNA	24
3. Mengukur kemurnian dan konsentrasi DNA	26
4. Elektroforesis DNA	27
5. Amplifikasi DNA secara in vitro menggunakan PCR	29

6. Sikuensing.....	33
7. Bioinformatika	35
BAB III METODE PENELITIAN	38
A. Desain Penelitian	38
B. Populasi dan Sampel	38
C. Waktu dan Lokasi Penelitian	39
D. Alat dan Bahan Penelitian	39
E. Prosedur Penelitian	39
1. Tahap Persiapan	39
2. Tahap Penelitian	39
a. Subkultur Bakteri Endofit	39
b. Penapisan resistensi antibiotik	40
c. Isolasi DNA	40
d. Pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA	41
e. Amplifikasi gen <i>16S rRNA</i>	41
f. Elektroforesis	42
g. Sikuensing DNA	43
h. Analisis data Statistika.....	43
i. Analisis data Bioinformatika	43
F. Alur Penelitian	44
BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN	45
A. Penapisan resistensi antibiotik	45.....
B. Isolasi DNA	50
C. Hasil amplifikasi <i>16S ribosomal RNA</i>	51
D. Analisis data Bioinformatika	53
BAB V SIMPULAN, IMPLIKASI, DAN REKOMENDASI	56
A. Simpulan	56
B. Implikasi	56
C. Rekomendasi.....	56
DAFTAR PUSTAKA.....	58.....
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
3.1 Interpretasi zona hambat pada antibiotik ampisilin	38
4.1 Diameter zona hambat isolat bakteri endofit terhadap antibiotik ampisilin	46
4.2 Hasil pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA	50
4.3 Hasil pensejajaran nukleotida gen <i>16S rRNA</i> isolat M dan H menggunakan program BLASTN	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
2.1 Ilustrasi invasi bakteri endofit dari jaringan akar dan menyebar ke jaringan/organ lain	7
2.2 <i>A. conyzoides</i>	9
2.3 <i>V. zizanioides</i> Cultv.	12
2.4 Struktur umum penisilin. 1: Cincin β -laktam; 2: Cincin thiazolidine; R: Rantai samping	13
2.5 Struktur kimia ampisilin	14
2.6 Struktur peptidoglikan. Sintesis peptidoglikan melibatkan <i>cross-linking</i> Polimer-polimer disakarida oleh PBP. NAMA: <i>N-acetylmuramic acid</i> ; NAGA: <i>N-acetylglucosamine</i> ; GGG: jembatan glisin.....	15
2.7 Mekanisme penghambatan PBP oleh β -laktam. Gambar A: PBP mengenali dan mengkatalis ikatan peptide antara dua subunit alanine dari rantai samping peptida pada peptidoglikan. Gambar B: cincin β -laktam menyerupai ikatan peptida, menonaktifkan PBP	16
2.8 Enam perangkap potensial yang mencegah mekanisme aksi β -laktam. (1) penetrasi, (2) porin, (3) pompa <i>efflux</i> , (4) β -laktamase, (5) PBP, dan (6) peptidoglikan	17
2.9 Pohon filogenetik universal berdasarkan komparasi sikuen gen <i>16S rRNA</i>	19
2.10 Subunit kecil <i>rRNA</i> (<i>16S</i> pada bakteri dan archaea; <i>18S</i> pada eukaryota) dan subunit besar <i>rRNA</i> (<i>23S</i> pada bakteri dan archaea; <i>25S / 28S rRNA</i> ditambah <i>5.8S rRNA</i> pada eukaryota)	20
2.11 Diagram proses yang terlibat dalam PCR	30
2.12 Grafik tahapan-tahapan pada proses PCR; X: waktu dan Y: suhu	31
2.13 Penentuan sikuen DNA	34
3.1 Bagan alur penelitian	44
4.1 Zona hambat terhadap ampisilin pada isolat bakteri endofit M, O, H, A, K, I13, I14, B14, dan B15	45
4.2 Penapisan resistensi antibiotik ampisilin pada isolat H (gambar A)	

dan isolat M (gambar B)	49
4.3 Hasil elektroforesis DNA isolat bakteri endofit M dan H	51
4.4 Hasil amplifikasi gen <i>16S rRNA</i> isolat bakteri endofit M dan H	52
4.5 Pohon filogentik menunjukkan kekerabatan isolat M dan H menggunakan <i>bootstrap</i> 500x dengan <i>Methanohalobium</i> <i>evestigatum</i> digunakan sebagai outgroup	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Daftar Alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian	66
2. Protokol Pembuatan Larutan dan Medium yang Digunakan dalam Penelitian	70
3. Pengukuran Jumlah Sel Bakteri.....	72
4. Hasil Analisis Uji Statistik Penapisan Resistensi Antibiotik	73
5. Urutan Basa DNA.....	205