

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| LEMBAR JUDUL | i |
| LEMBAR PERNYATAAN | ii |
| LEMBAR PENGESAHAN | iii |
| LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI | iv |
| KATA PENGANTAR | vi |
| UCAPAN TERIMAKASIH | vii |
| ABSTRAK | x |
| ABSTRACT | xi |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR TABEL | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |

BAB I PENDAHULUAN

| | |
|-----------------------------|---|
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 5 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 6 |
| 1.4 Hipotesis Penelitian | |
| 1.4.1 Hipotesis kerja..... | 6 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 7 |

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

| | |
|--|----|
| 2.1 Tinjauan Tempat Pembuangan Akhir (TPA)..... | 8 |
| 2.2 Tinjauan Umum tentang Polietilena..... | 9 |
| 2.3 Tinjauan tentang Bakteri Pendegradasi Polietilena..... | 11 |
| 2.4 Tinjauan tentang Keragaman Genetik..... | 12 |
| 2.4.1 Gen 16S rRNA..... | 12 |
| 2.4.2 Analisis filogenetik..... | 15 |
| 2.5 Tinjauan tentang Teknik Genetika Molekuler | |
| 2.5.1 Isolasi DNA..... | 16 |
| 2.5.2 <i>Polymerase Chains Reaction (PCR)</i> | 18 |
| 2.5.3 Elektroforesis | 24 |

| | |
|---------------------------|----|
| 2.5.4 DNA sequencing..... | 25 |
| 2.5.5 DNA barcoding..... | 27 |

BAB III METODE PENELITIAN

| | |
|--|----|
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 28 |
| 3.2 Alat dan Bahan | |
| 3.2.1 Alat..... | 28 |
| 3.2.2 Bahan..... | 29 |
| 3.3 Rancangan Penelitian..... | 29 |
| 3.4 Prosedur kerja | |
| 3.4.1 Preparasi sampel..... | 30 |
| 3.4.2 Isolasi DNA kromosom..... | 30 |
| 3.4.3 Penghitungan kemurnian dan konsentrasi DNA hasil amplifikasi PCR..... | 31 |
| 3.4.4 Amplifikasi gen 16S rRNA dengan PCR..... | 32 |
| 3.4.5 Konfirmasi hasil PCR dengan elektroforesis..... | 34 |
| 3.4.6 Purifikasi hasil PCR dan <i>cycle sequencing</i> | 35 |
| 3.5 Skema Prosedur Kerja..... | 36 |
| 3.6 Analisis Data..... | 37 |

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

| | |
|---|----|
| 4.1 Hasil Penelitian..... | 39 |
| 4.1.1 Visualisasi hasil isolasi DNA total..... | 39 |
| 4.1.2 Perhitungan kemurnian dan konsentrasi DNA..... | 40 |
| 4.1.3 Visualisasi hasil amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan <i>Polymerase Chain Reaction</i> | 41 |
| 4.1.4 Produk pensejajaran <i>sequence</i> | 42 |
| 4.1.5 Hasil analisis <i>sequence</i> 16S rRNA menggunakan <i>Basic Local Alignment Search Tools (BLAST)</i> | 45 |

| | |
|---|----|
| 4.2 Pembahasan..... | 50 |
| 4.2.1 Karakteristik genetik spesimen bakteri <i>Staphylococcus</i> sp. (PD1) dari tempat pembuangan akhir..... | 52 |
| 4.2.2 Karakteristik genetik spesimen bakteri <i>Alcaligenes faecalis</i> (PD6) dari tempat pembuangan akhir..... | 57 |
| 4.2.3 Penyusunan pohon filogenetik melalui pensejajaran sekuen 16S rRNA bakteri pendegradasi PE..... | 63 |
| BAB V SIMPULAN DAN SARAN | |
| 5.1 Simpulan..... | 67 |
| 5.2 Saran..... | 68 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 69 |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR GAMBAR

| No | Judul | Hal |
|----------|--|-----|
| 2.4.1(1) | Segmen ribosomal RNA..... | 14 |
| 2.4.1(2) | Skema gen 16S rRNA..... | 14 |
| 2.5.2(1) | Tahap-tahap amplifikasi DNA melalui metode <i>Polymerase Chains Reactions</i> (PCR)..... | 22 |
| 2.5.2(2) | Proses pembentukan DNA baru secara eksponensial..... | 23 |
| 3.4.3(1) | Rumus perhitungan kemurnian DNA..... | 32 |
| 3.4.3(2) | Perhitungan konsentrasi DNA untai ganda..... | 32 |
| 4.1.1 | Hasil visualisasi isolasi DNA total..... | 40 |
| 4.1.3 | Visualisasi hasil amplifikasi produk PCR dengan primer P0 dan P6 pada gel agarose 1%..... | 42 |
| 4.1.4(1) | Konsensus urutan <i>sequence</i> fragmen DNA spesimen PD1 menggunakan primer P0/P6 (primer 16S rRNA) menghasilkan ukuran 1373 pb..... | 43 |
| 4.1.4(2) | Konsensus urutan <i>sequence</i> fragmen DNA spesimen PD6 menggunakan primer P0/P6 (primer 16S rRNA) menghasilkan ukuran 1308 pb..... | 44 |
| 4.1.5(1) | Tingkat kesamaan sekuen 16S rRNA (1373 pb) dari spesimen PD1 dengan data <i>voucher Agroccoccus lahaulenensis</i> dari <i>GenBank</i> NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov)..... | 46 |
| 4.1.5(2) | Tingkat kesamaan sekuen 16S rRNA (1308 pb) dari spesimen PD6 dengan data <i>voucher Lysinibacillus macroides</i> dari <i>GenBank</i> NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov)..... | 46 |
| 4.1.5(3) | Perbandingan urutan basa nukelutida antara spesimen PD1 dengan <i>voucher Agroccoccus lahaulenensis</i> (NR_043587.1) dari <i>GenBank</i> yang memiliki tingkat identik sebesar 99%..... | 48 |
| 4.1.5(4) | Perbandingan urutan basa nukelutida antara spesimen PD6 dengan <i>voucher Lysinibacillus macroides</i> (NR_114920.1) dari <i>GenBank</i> yang memiliki tingkat identik sebesar 99,872%..... | 49 |

| | | |
|----------|---|----|
| 4.2.1 | Perbedaan urutan basa pada spesimen <i>Staphylococcus</i> sp (PD1) dengan urutan basa <i>voucher</i> <i>Agrococcus lahaulenensis</i> (NR_043587.1)..... | 54 |
| 4.2.2 | Perbedaan urutan basa spesimen <i>Alcaligenes faecalis</i> (PD6) dengan <i>voucher</i> <i>Lysinibacillus macroides</i> (NR_114920.1)..... | 59 |
| 4.2.3(1) | Pohon filogenetik antara spesimen PD1 dengan enam <i>voucher</i> yang memiliki kesamaan urutan sekuens gen 16S rRNA tertinggi..... | 64 |
| 4.2.3(2) | Pohon filogenetik antara spesimen PD6 dengan enam <i>voucher</i> yang memiliki kesamaan urutan sekuens gen 16S rRNA tertinggi..... | 65 |

DAFTAR TABEL

| No | Judul | Hal |
|----------|--|-----|
| 3.4.4(1) | Komposisi campuran PCR KAPA2G Roboust..... | 33 |
| 3.4.4(2) | Urutan basa primer..... | 34 |
| 3.4.4(3) | Program amplifikasi PCR gen 16S rRNA | 34 |
| 4.1.2 | Hasil penghitungan kemurnian dan konsentrasi DNA total spesimen bakteri pendegradasi PE..... | 41 |
| 4.1.5 | Hasil analisis BLAST spesimen PD1 dan PD6..... | 47 |
| 4.2.1(1) | Perbandingan karakteristik antara spesimen <i>Staphylococcus</i> sp (PD1) dan <i>Agrococcus lahaulenensis</i> (NR_043587.1)..... | 54 |
| 4.2.1(2) | Perbandingan hasil uji biokimia/fisiologis antara spesimen <i>Staphylococcus</i> sp. (PD1) dengan <i>Agrococcus lahaulenensis</i> (NR_043587.1)..... | 55 |
| 4.2.2(1) | Perbandingan karakteristik spesimen <i>Alcaligenes faecalis</i> (PD6) dan <i>Lysinibacillus macroides</i> (NR_114920.1)..... | 60 |
| 4.2.2(2) | Perbandingan hasil uji biokimia/fisiologis antara spesimen <i>Alcaligenes faecalis</i> (PD6) dengan <i>Lysinibacillus macroides</i> (NR_114920.1)..... | 61 |

DAFTAR LAMPIRAN

| No | Judul Lampiran |
|----|---|
| A | Hasil pewarnaan Gram pada spesimen PD6 (Perbesaran 1000x) |
| B | Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian |
| C | Proses analisis sekuen gen 16S rRNA menggunakan geneious, mega, dan BLAST |

