

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN..... | ii |
| PERNYATAAN..... | iii |
| KATA PENGANTAR..... | iv |
| DAFTAR ISI..... | vi |
| DAFTAR GAMBAR..... | ix |
| DAFTAR TABEL..... | x |
| DAFTAR PERSAMAAN..... | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xii |
| ABSTRAK..... | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 5 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 5 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 5 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Tinjauan Bakteri Entomopatogen | 6 |
| 2.2 Tinjauan Toksin Insektisida..... | 7 |
| 2.3 Tinjauan Biosurfaktan..... | 9 |
| 2.4 Tinjauan Gen <i>cry</i> | 11 |
| 2.5 Tinjauan Protein <i>Cry</i> | 12 |
| 2.6 Tinjauan Isolasi DNA..... | 14 |
| 2.7 Tinjauan PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)..... | 15 |
| 2.8 Tinjauan Isolasi Protein Toksin..... | 19 |
| | |
| BAB III KERANGKA KONSEP | |
| 3.1 Kerangka Konsep Penelitian. | 21 |
| 3.2 Hipotesis Kerja..... | 24 |

| | |
|---|----|
| BAB IV METODE PENELITIAN | |
| 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 25 |
| 4.2 Alat dan Bahan Penelitian..... | 25 |
| 4.2.1 Alat penelitian. | 25 |
| 4.2.2 Bahan penelitian..... | 25 |
| 4.3 Rancangan Penelitian. | 26 |
| 4.4 Cara Kerja..... | 27 |
| 4.4.1 Persiapan alat..... | 27 |
| 4.4.2 Pembuatan media | 27 |
| 4.4.3 Peremajaan isolat..... | 28 |
| 4.4.4 Pembuatan kultur mikroba..... | 28 |
| 4.4.5 Isolasi DNA..... | 28 |
| 4.4.6 Pengecekan DNA dengan elektroforesis..... | 29 |
| 4.4.7 Penghitungan kemurnian dan konsentrasi DNA..... | 30 |
| 4.4.8 Amplifikasi gen 16S rRNA..... | 31 |
| 4.4.9 Analisis hubungan kekerabatan..... | 32 |
| 4.4.10 Amplifikasi gen <i>cry</i> | 32 |
| 4.4.11 Isolasi protein <i>Cry</i> | 33 |
| 4.4.12 Perkiraan berat molekul dengan analisis SDS PAGE. | 34 |
| 4.4.13 Uji aktivitas biosurfaktan..... | 36 |
| 4.4.14 Uji aktivitas kitinase..... | 38 |
| 4.5 Analisis Data..... | 39 |
| 4.6 Kerangka Operasional Penelitian..... | 40 |
| | |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN. | |
| 5.1 Hasil Identifikasi Nama Jenis Isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... | 42 |
| 5.1.1 Hasil analisis isolasi DNA isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2... | 42 |
| 5.1.2 Hasil analisis amplifikasi gen 16S rRNA isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 dengan metode PCR..... | 44 |
| 5.1.3 Hasil analisis sekuensing gen 16S rRNA..... | 46 |
| 5.1.4 Analisis pohon filogeni..... | 47 |
| 5.2 Hasil Analisis Deteksi Gen <i>cry</i> pada Isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... | 51 |
| 5.3 Hasil Identifikasi Berat Molekul Protein Toksin pada Isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... | 54 |
| 5.4 Hasil Uji Aktivitas Biosurfaktan pada Isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... | 57 |
| 5.4.1 Hasil uji aktivitas hemolitik..... | 58 |
| 5.4.2 Hasil uji <i>Oil spreading</i> | 60 |
| 5.4.3 Hasil pengukuran indeks emulsifikasi..... | 62 |
| 5.4.4 Hasil pengukuran tegangan permukaan..... | 64 |
| 5.5 Mekanisme Biosurfaktan sebagai Insektisidal..... | 65 |
| 5.6 Hasil Uji Aktivitas Kitinase pada Isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2... | 66 |

| | |
|-----------------------------|----|
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN | |
| 6.1 Kesimpulan..... | 73 |
| 6.2 Saran..... | 73 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 75 |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|-------------|---|
| Gambar 2.1 | Mekanisme toksisitas dari δ -endotoksin terhadap serangga... 8 |
| Gambar 2.2 | Tahap-tahap amplifikasi DNA melalui metode PCR..... 18 |
| Gambar 2.3 | Proses pembentukan DNA baru secara eksponensial..... 19 |
| Gambar 3.1 | Kerangka Konsep..... 21 |
| Gambar 4.1 | Kerangka Operasional..... 40 |
| Gambar 5.1 | Hasil elektroforesis DNA genom isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 pada agarose gel 1%..... 42 |
| Gambar 5.2 | Hasil elektroforesis gen 16S rRNA isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 yang berhasil teramplifikasi..... 45 |
| Gambar 5.3 | Hasil urutan nukleotida gen 16S rRNA isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... 48 |
| Gambar 5.4 | Analisis pohon filogeni kekerabatan isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... 49 |
| Gambar 5.5 | Hasil elektroforesis amplifikasi gen <i>cry</i> isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 pada gel agarose 1%..... 52 |
| Gambar 5.6 | Sekuens DNA isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 yang berhasil teramplifikasi..... 53 |
| Gambar 5.7 | Hasil visualisasi SDS-PAGE sampel protein pada isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... 55 |
| Gambar 5.8 | Isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 pada media <i>Blood Agar</i> menunjukkan aktivitas hemolitik positif dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni..... 59 |
| Gambar 5.9 | Hasil uji <i>oil spreading</i> pada kultur sampel, Tween 20 dan akuades..... 61 |
| Gambar 5.10 | Hasil pengukuran indeks emulsifikasi supernatan isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 pada substrat solar..... 63 |
| Gambar 5.11 | Hasil uji aktivitas kitinase isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 pada media koloidal kitin..... 66 |

DAFTAR TABEL

| | | Halaman |
|-----------|--|----------------|
| Tabel 2.1 | Klasifikasi kristal protein (<i>Cry</i>) <i>B. thuringiensis</i> dan spesifikasi terhadap serangga | 13 |
| Tabel 5.1 | Hasil evaluasi nilai kemurnian dan konsentrasi DNA isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... | 43 |
| Tabel 5.2 | Hasil analisis BLAST gen 16S rRNA isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2..... | 49 |
| Tabel 5.3 | Beberapa kelompok <i>Bacillus</i> penghasil toksin entomopatogen..... | 56 |
| Tabel 5.4 | Nilai tegangan permukaan supernatan kultur isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 dengan waktu inkubasi 2 hari..... | 64 |

DAFTAR PERSAMAAN

| | Halaman |
|---|----------------|
| Persamaan 4.1 Rumus penghitungan kemurnian DNA..... | 31 |
| Persamaan 4.2 Rumus penghitungan konsentrasi DNA..... | 31 |
| Persamaan 4.3 Persamaan <i>relative mobility</i> (Rf) <i>marker</i> | 36 |
| Persamaan 4.4 Penghitungan berat molekul (BM) sampel protein..... | 36 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | | Halaman |
|-----------------|--|----------------|
| 1 | Hasil sekuensing gen 16S rRNA (<i>forward</i>)..... | L-1 |
| 2 | Hasil sekuensing gen 16S rRNA (<i>reverse</i>)..... | L-2 |
| 3 | Hasil sekuensing gen toksin (<i>forward</i>)..... | L-3 |
| 4 | Hasil sekuensing gen toksin (<i>reverse</i>)..... | L-4 |
| 5 | Koloni isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 media <i>Nutrient Agar</i> | L-5 |
| 6 | Koloni isolat <i>Bacillus</i> sp. BK 7.2 pada media 2xSG..... | L-6 |
| 7 | Tahapan analisis urutan nukleotida menggunakan program <i>BioEdit Sequence Allignment Editor</i> versi 7.2.5..... | L-7 |
| 8 | Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian..... | L-8 |