

**IDENTIFIKASI BAKTERI YANG DIISOLASI DARI *Lemna
aequinoctialis* BERDASARKAN GEN 16S rRNA DAN
SUMBANGANNYA PADA PEMBELAJARAN BIOLOGI SMA**

SKRIPSI

Oleh

Khoirun Nisa

NIM: 06091381924051

Program Studi Pendidikan Biologi



FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2023

**IDENTIFIKASI BAKTERI YANG DIISOLASI DARI *Lemna
aequinoctialis* BERDASARKAN GEN 16S rRNA DAN
SUMBANGANNYA PADA PEMBELAJARAN BIOLOGI SMA**

SKRIPSI

Oleh

Khoirun Nisa

NIM: 06091381924051

Program Studi Pendidikan Biologi

Mengesahkan,

Mengetahui,

Koodinator Program Studi

Pembimbing,



Dr. Masagus M. Tibrani, M.Si.

Drs. Khoiron Nazip, M.Si.

NIP 197904132003121001

NIP 196404231991021001



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khoirun Nisa

NIM : 0609131924051

Program Studi : Pendidikan Biologi

Menyatakan dengan sungguh-sungguh bahwa skripsi yang berjudul Identifikasi Bakteri yang Diisolasi dari *Lemna aequinoctialis* Berdasarkan Gen 16s rRNA dan Sumbangannya Pada Pembelajaran Biologi SMA ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara yang tidak sesuai dengan etika keilmuan yang berlaku sesuai dengan Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Republik Indonesia Nomor 17 tahun 2010 tentang Pencegahan dan Penanggulangan Plagiat di Perguruan Tinggi, apabila di kemudian hari, ada pelanggaran yang ditemukan dalam skripsi ini dan/atau ada pengaduan dari pihak lain terhadap keaslian karya ini, saya bersedia menanggung sanksi yang dijatuhkan kepada saya.

Demikianlah pernyataan ini dibuat dengan sungguh-sungguh tanpa pemaksaan dari pihak manapun.

Palembang, Juli 2023

Yang Membuat Pernyataan,

A 1000 Rupiah Indonesian postage stamp is shown. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'SEPUAN RIBU RUPIAH', '1000', 'METERAI', and 'TEMPER'. A handwritten signature in black ink is written over the stamp. The serial number '4AAMX521483805' is visible at the bottom of the stamp.

Khoirun Nisa

NIM. 06091381924051

PRAKATA

Skripsi dengan judul “Identifikasi Bakteri yang Diisolasi dari *Lemma* Berdasarkan Gen 16S rRNA dan Sumbangannya Pada Pembelajaran Biologi SMA” disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Pendidikan (S.Pd) pada Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sriwijaya. Dalam mewujudkan skripsi ini, penulis telah mendapatkan bantuan dari berbagai pihak.

Oleh sebab itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik dan tepat waktu. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Drs. Khoiron Nazip, M.Si. sebagai pembimbing dan Elvira Destiansari, M.Pd sebagai reviewer atas segala bimbingan yang telah diberikan dalam penulisan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Hartono, M.A., sebagai Dekan FKIP Unsri, Dr. Ketang Wiyono, M.Pd., sebagai Ketua Jurusan Pendidikan MIPA, Bapak Dr. Mgs. M. Tibrani, S.Pd., M.Si., sebagai Koordinator Program Studi Pendidikan Biologi, Nike Anggraini, S.Pd., M.Sc., sebagai dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan dan nasihat serta segenap dosen dan seluruh staff akademik yang selalu memberikan kemudahan dalam pengurusan administrasi selama penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya juga ditujukan kepada Prof. Dr. Arinthip Thamchaipenet sebagai dosen pembimbing dan Prof. Dr. Teerasak Ekobon sebagai dosen pembimbing akademik saya yang telah membuat penelitian ini terlaksana di *Faculty of Sciences*, Kasetsart University, Thailand.

Terima kasih kepada seluruh keluarga terutama kepada kedua orangtua tercinta Bapak Sarutomo dan Ibu Wardiah Maryanti dengan segenap keringat selalu mendo’akan dan memberi support sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini. Semoga karya ini menjadi kado terindah untuk bapak dan ibu. Terima kasih juga untuk kakak perempuan saya Aliyah Salma dan adik laki-laki Sholahudin Wicaksono yang telah selalu mendukung dan mendoakan keberhasilan penulis.

Terima kasih sebesar-besarnya kepada Lutfita Alfaini teman terdekat yang mendengarkan semua keluhan, memberikan dukungan, mendoakan, membantu ketika

ragu hingga sampai ke titik ini. *I would like to thank Akkharadet Piyasaengthong, Ph.D., who told me and encouraged me that I could do this research. Also to Phi May and my seniors in the Genetic Laboratory, Phi Rabbit, Phi Khan, Phi Amr, Phi Ray and Phi Bennya, I thank you for your kindness in guiding me to conduct this research and accepting my lab skills as a part of learning. To Pisinee and Grey, your involvement was very important in the process of writing.* Terimakasih kepada teman-teman yang banyak direpotkan selama masa perkuliahan yaitu Tiara Dwi Anjani, Naqiyyah Nurrosyadah, Dinda Nurfadhilah, Hukma Sobiyyah, dan Windy Tri Andini atas segala nasihat dan keputusannya yang selalu mendukung. Kepada teman-teman biologi 2019 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih telah kebersamaan selama masa perkuliahan. Teruntuk alumni Pendidikan Biologi, Dea Putri Nazara atas segala arahan, masukan serta semangat yang telah diberikan kepada penulis dalam proses maupun penulisan skripsi ini. Serta semua pihak lainnya yang tidak dapat dituliskan satu per-satu, penulis ucapkan terima kasih.

Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk pembelajaran bidang studi pendidikan biologi dan pengembangan ilmu pengetahuan, teknologi, dan seni.

Palembang, Mei 2023

Penulis



Khoirun Nisa

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan	4
1.5 Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Identifikasi Bakteri.....	5
2.2 Isolasi Bakteri.....	6
2.2.1 Pengertian Isolasi Bakteri	6
2.2.2 Jenis Isolasi Mikroba	7
2.3 <i>Lemna aequinoctialis</i>	9
2.3.1 <i>Lemna</i> sp.	9
2.3.2 Penggolongan <i>Lemna</i> sp.	10
2.3.3 Morfologi dan Anatomi <i>Lemna aequinoctialis</i>	11
2.4 Gen 16S rRNA sebagai Pembuat Filogenetik.....	12

2.5	Pohon Filogeni	13
2.6	Sumbangan Bahan Ajar Biologi.....	15
BAB III METODE PENELITIAN.....		16
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.2	Metode Penelitian.....	16
3.3	Sampel dan Bahan Penelitian.....	17
3.3.1	Sampel	17
3.3.2	Alat.....	17
3.3.3	Bahan	17
3.4	Prosedur Penelitian.....	18
3.4.1	Sekuensing hasil PCR gen 16S rRNA	18
3.4.2	Amplifikasi dan Pengurutan Intergenik <i>atpF-atpH</i> DNA	24
3.5	Analisis Data	26
3.5.1	Analisis data hasil sekuensing gen 16S rRNA dari bakteri	27
3.6	Sumbangan Pada Pembelajaran Biologi	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		30
4.1	Hasil Penelitian	30
4.1.1	Karakteristik dari <i>Lemna sp.</i> daerah intergenik <i>atpF-atpH</i>	30
4.1.2	Isolasi Bakteri dan Pewarnaan Gram.....	31
4.1.3	Ekstraksi DNA untuk Isolat Bakteri	32
4.1.4	Ampifikasi Gen Penyandi 16S rRNA dengan Teknik PCR	33
4.1.5	Keanekaragaman Bakteri yang Diisolasi dari <i>L. aequinoctialis</i>	34
4.1.6	Analisis Kelayakan Materi <i>Booklet</i>	35
4.2	Pembahasan.....	36

4.2.1	Karakteristik dari <i>Lemna sp.</i> yang diisolasi daerah intergenik	36
	<i>atpF-atpH</i>	36
4.2.2	Isolasi Bakteri dari <i>Lemna aequinoctialis</i>	37
4.2.3	Ekstraksi DNA untuk Isolasi Bakteri	39
4.2.4	Amplifikasi gen 16S rRNA dengan PCR	40
4.2.5	Keanekaragaman bakteri yang diolasi dari <i>L. aequinoctialis</i>	42
4.3	Analisis data	45
4.4	Sumbangan Pada Pembelajaran Biologi SMA.....	47
BAB V PENUTUP.....		27
5.1	Kesimpulan	27
5.2	Saran.....	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Metode Teknik Sebar	7
Gambar 2.2 Metode Teknik Tabur	8
Gambar 2.3 Metode Teknik Gores	9
Gambar 2.4 Gambar Jenis <i>Duckweed</i> , <i>Lemna aequinoctialis</i>	11
Gambar 2.5 Struktur Pohon Filogenetik.	14
Gambar 3.1 Tahap Mendapatkan Sekuensing Hasil PCR dari Gen 16S rRNA....	18
Gambar 3.2 Prosedur Ekstraksi DNA.....	20
Gambar 3.3 Tahap Mendapatkan Amplifikasi dan Intergenik.....	24
<i>atpF-atpH</i> DNA	24
Gambar 3.4 Tahap Membuat Pohon Filogenetik Berdasarkan Hasil Sekuensing Gen 16S rRNA dari Bakteri Sampel	27
Gambar 4.1 Hasil Gel Elektroforesis dari Ekstraksi DNA Bakteri	32
Gambar 4.2 Produk PCR Gen 16S rRNA dari Delapan Isolasi Bakteri	33
Gambar 4.3 Ciri Morfologi Tampak Sisi Atas dan Ukuran Daun <i>Lemna</i> <i>aequinoctialis</i>	37
Gambar 4.4 Bentuk Morfologi Sel Bakteri Hasil Pewarnaan Gram Di bawah Mikroskop (100x)	38
Gambar 4.5 Pohon Filogenetik dari Delapan Jenis Isolat Bakteri	46

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 RNA ribosomonal pada prokariot	12
Tabel 3.1 Tingkat Kriteria Penilaian	28
Tabel 3.2 Kriteria Kevalidan dari CVR dan CVI.....	29
Tabel 4.1 Bentuk morfologi dan hasil pewarnaan gram bakteri yang diisolasi dari <i>L. Aequinoctialis</i>	31
Table 4.2 Konsentrasi dan kemurnian DNA dari test nanodrop.	33
Tabel 4.3 Tingkat Kemiripan Sampel yang Diisolasi dari <i>L. aequinoctialis</i> dengan Jenis <i>Strains</i> Menggunakan <i>EzBioCloud</i>	34
Tabel 4.4 Skor Kelayakan Booklet	35
Tabel 4.5 Hasil Perhitungan Validasi Booklet.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Sekuens sampel gen 16S rRNA.....	35
Lampiran 2. Silabus Pembelajaran.....	43
Lampiran 3. Rencana Pelaksanaan Pembelajaran (RPP).....	45
Lampiran 4. Booklet.....	60
Lampiran 5. SK Pembimbing.....	64
Lampiran 6. Lembar Penilaian Validasi Booklet.....	66
Lampiran 7. Rekapitulasi Hasil Validasi Booklet.....	70
Lampiran 7 Dokumentasi Kegiatan	72
Lampiran 8. Surat Izin Penelitian.....	73
Lampiran 9. Statement Letter.....	74
Lampiran 10. Surat Tugas Validator.....	75
Lampiran 11. Kartu Pembimbing Skripsi	76
Lampiran 12. Surat Keterangan Bebas Laboratorium.....	78
Lampiran 13. Surat Keterangan Bebas Pustaka Ruang Baca FKIP.....	79
Lampiran 14. Surat Keterangan Bebas Pustaka Perpustakaan Unsri.....	80
Lampiran 15. Bukti Plagiat	81

ABSTRAK

Lemna sp. merupakan tumbuhan air berukuran kecil yang saat ini banyak mendapatkan perhatian karena potensinya sebagai bahan pakan ternak, pupuk hayatik, dan pangan yang berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberagaman bakteri yang diisolasi dari tumbuhan *Lemna aequinoctialis*. Berdasarkan hasil identifikasi berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA dari amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) delapan jenis bakteri isolat, menunjukkan tingkat kemiripan yang tinggi (>98%) dibandingkan dengan tipe strain pada *EzBioCloud*. Bakteri isolat dikategorikan ke dalam tiga filum: Proteobacteria (4 isolat), Actinobacteria (3 isolat) dan Bacteroidetes (1 isolate). Hasil analisis pohon filogenetik menyatakan bahwa filum Bacteroidetes berada pada cabang *Outgroup* atau jenis filum yang paling jauh tingkat kekerabatannya. Data hasil penelitian disumbangkan pada pembelajaran Biologi SMA kelas X pada Kompetensi Dasar 3.5 Mengidentifikasi struktur, cara hidup, reproduksi, dan peran bakteri dalam kehidupan yang disajikan dalam bentuk *Booklet* dengan hasil perhitungan *Content Validity Ratio* (CVR) sebesar 11 dan *Content Validity Index* (CVI) sebesar 1 berada pada kategori valid.

Kata Kunci: *Gen 16S rRNA, Keanekaragaman Bakteri, Lemna aequinoctialis, Pohon Filogenetik*

ABSTRACT

Lemna sp. is a small aquatic plant that is currently receiving a lot of attention because of its potential as an ingredient in animal feed, biological fertilizer, and sustainable food. This research aims to construct the diversity of associated bacteria isolated from *Lemna aequinoctialis*. Based on identification by using 16S rRNA gene sequences with PCR (Polymerase Chain Reaction) amplification from eight bacteria isolates, they showed high similarity (>98%) comparing to type strain in EzBioCloud. They are categorized into three phylum: *Proteobacteria* (4 isolates), *Actinobacteria* (3 isolates), and *Bacteroidetes* (1 isolate). Phylogenetic tree analysis stated that the *Bacteroidetes* phylum is in the Outgroup branch, or the type of phylum that is most distantly related. The result can be contributed to Biology learning with basic competence 3.5 Identify the structure, habits, reproduction, and role of bacteria in life presented as a booklet with the results of calculating by *Content Validity Ratio* (CVR) is 11 and by *Content Validity Index* (CVI) is 1 in the valid category.

Keywords : *16S rRNA Gene, Diversity of Bacteria, Lemna aequinoctialis, Phylogenetic Tree.*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Duckweed adalah jenis tumbuhan air monokotil dari *subfamily* Lemnoideae yang terdiri dari lima genus yaitu: *Landoltia*, *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia*, dan *Wolffiella* (Heidel, dkk., 2017). Semua jenis duckweed ini tersebar hampir di seluruh dunia diantaranya banyak terdapat di negara beriklim tropis seperti Indonesia, Malaysia, dan Thailand (Bog, dkk., 2019). Salah satu jenisnya yaitu *Lemna* sp. kini mendapatkan banyak perhatian atas potensinya yang dimanfaatkan sebagai bahan pangan, pangan yang berkelanjutan (*feed sustainability*), dan pakan ternak (Lam, dkk., 2014).

Genus *Lemna* merupakan tumbuhan air berukuran kecil dari jenis angiospermae yang memiliki laju pertumbuhan dengan cepat, juga struktur *Lemna* sp. ini tersusun oleh (Prihantoro, dkk., 2015) daun, batang, dan akar yang selaras dengan definisi tumbuhan itu sendiri. Berdasarkan strukturnya yang lengkap dan kemampuannya tersebut menjadikan *Lemna* sp. sebagai model pada tumbuhan air dan banyak digunakan untuk menganalisis filosofi dan molekulernya (Lam, dkk., 2014). Potensinya sebagai model tumbuhan air dan sebagai tumbuhan cepat panen, *Lemna* sp. telah mendapatkan banyak perhatian dari penelitiannya tentang keanekaragaman hayati hasil asosiasi bakteri (Zhao, dkk., 2012).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Alibrandi (2020) asosiasi bakteri hasil identifikasi dari beberapa jenis makroalga dapat dimanfaatkan sebagai pemacu pertumbuhan, *biofertilizer*, *biochemical* dan beberapa jenis bakteri lainnya juga digunakan untuk pengolahan air limbah (Sheu, dkk., 2019). Banyaknya penggunaan bakteri di industri dan kehidupan membuatnya perlu ditemukan sumber lain dengan jumlah biomassa yang tinggi sehingga pemanfaatan bakteri tersebut dapat dilakukan dengan cepat sehingga dapat menghasilkan kegunaan yang efisien.

Lemna sp. sebagai model tumbuhan air telah diteliti melalui bidang fisiologi dan molekuler bioteknologi untuk membuktikan potensinya sebagai tumbuhan

pengolahan air limbah (Chen, dkk., 2012). Keberadaan jenis *Lemna* sp. yang mudah ditemukan dan jumlahnya yang berlimpah membuat besar potensi jenis tumbuhan tersebut digunakan sebagai bahan pangan dan pakan ternak (An, dkk., 2018). Melihat besarnya potensi *Lemna* sp. yang dimiliki membuat peneliti tertarik untuk melihat jenis bakteri apa saja yang terkandung di dalamnya sehingga membuat tumbuhan ini kini dapat menjadi sangat unggul. Pada penelitian ini jenis *duckweed* yang digunakan adalah *Lemna aequinoctialis* dengan menggunakan wilayah intergenik DNA. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian pada tingkat gen untuk meninjau keberagaman bakteri dari hasil isolasi *Lemna aequinoctialis* dengan menggunakan sekuensing gen 16S rRNA.

Identifikasi berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA merupakan identifikasi tingkat gen yang sebelumnya sudah banyak digunakan untuk menganalisis sekuensing. Urutan nukleotidanya yang tersusun oleh banyak informasi genetik membuatnya dapat mengidentifikasi bakteri yang memiliki profil fenotipik unik sehingga dapat menemukan spesies dari genus bakteri baru dan dapat menyusun hubungan kekerabatan antar spesies (Noer, 2021). Penggunaan metode konvensional menurut Akihary dan Kolondam (2020) dinilai kurang efektif untuk melihat bakteri isolat karena adanya jenis bakteri yang tidak mampu dikultur pada media tertentu sehingga identifikasi yang dilakukan berdasarkan karakteristik fisiologis dan biokimia saja dinilai tidak akurat untuk menentukan jenis spesies. Oleh karena itu, diperlukan identifikasi dengan tingkat akurasi yang tinggi pada tingkat gen dengan menggunakan sekuensing gen 16S rRNA untuk menentukan jenis spesies bakteri bakteri.

Metode identifikasi bakteri berdasarkan urutan sekuensing gen 16S rRNA merupakan jenis identifikasi tingkat spesies yang memiliki ukuran nukleotida yang tidak terlalu panjang dan tidak terlalu pendek sehingga dapat memperoleh tingkat kemiripan antar spesies yang tinggi. (Appenroth, dkk., 2021) Keberadaan gen 16S rRNA hadir di semua organisme dalam jumlah besar dan cukup panjang (1500 bp) untuk memuat informasi analisis filogenetik yang tepat sehingga dengan ukuran panjang nukleotida tersebut penerjemahan sekuensing dapat memberi hasil yang akurat (Janda & Abbott, 2007). Adapun jenis gen rRNA lainnya seperti 5S rRNA

tidak dapat diidentifikasi karena memiliki urutan nukleotida yang pendek sekitar 1200 bp, dan gen 23S (2900 bp) juga tidak dapat digunakan karena urutan nukleotidanya yang terlalu panjang (Shurjo, 2023).

Jenis bakteri dari hasil identifikasi penelitian dapat digunakan sebagai bahan ajar pada pembelajaran biologi SMA kelas X dalam bentuk *booklet*. Menurut Putri & Saino (2020) dari hasil penelitiannya mengungkapkan bahwa sumber belajar peserta didik berupa buku teks dan lembar kerja peserta didik (LKPD) yang digunakan dalam proses pembelajaran pada K.D 3.5 Mengidentifikasi struktur, cara hidup, reproduksi, dan peran bakteri dalam kehidupan dinilai kurang menarik karena konten sumber hanya berisi ringkasan materi serta ukuran buku teks yang tebal, sehingga membuat minat baca peserta didik menjadi rendah. Oleh karena itu, perlu adanya upaya untuk menarik perhatian peserta didik dengan penggunaan *booklet*. *Booklet* dapat dijadikan sumber belajar karena bentuknya sederhana, interaktif, dan menyediakan data akurat yang dapat membantu peserta didik memahami konsep materi lebih luas pada proses pembelajaran (Imtihana, dkk., 2014). Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai informasi tentang jenis-jenis bakteri dan hubungan kekerabatannya yang dapat disumbangkan dalam bentuk *booklet* pada topik Bakteri Biologi SMA kelas X dengan Kompetensi Dasar 3.5 Mengidentifikasi struktur, cara hidup, reproduksi dan peran bakteri dalam kehidupan. Berdasarkan paparan di atas membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Identifikasi Bakteri yang diisolasi dari *Lemna* sp. Berdasarkan Sekuensing Gen 16S rRNA dan Sumbangannya pada Pembelajaran Biologi SMA.”

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang tersebut, maka rumusan masalah pada penelitian ini diantaranya adalah:

1. Apa saja keanekaragaman bakteri yang terdapat pada hasil isolasi dari *Lemna aequinoctialis* berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan bakteri hasil isolasi dari *Lemna aequinoctialis* berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. *Lemna aequinoctialis* yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Genetika, FMIPA, Kasetsart University, Thailand.
2. Primer yang digunakan dalam identifikasi molekuler yaitu universal 27F (5' -AGAGTTTGATCCTGGCTCAG- 3') dan primer 1392R (5' -ACGGGCGGTGTGTGTRC- 3').
3. Metode dalam amplifikasi gen 16S rRNA bakteri adalah metode *Polymerase Chain Reaction*
4. Pembuatan pohon filogenetik didesain menggunakan software MEGA11.
5. Konstruksi filogenetik menggunakan metode *neighbor-joining-Tree* dan analisis *bootstrap*.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian berikut diantaranya yaitu:

1. Untuk mengidentifikasi keanekaragaman bakteri yang diisolasi dari *Lemna* sp. berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA
2. Untuk menyusun pohon filogenetik berdasarkan hubungan kekerabatan bakteri yang diisolasi dari *Lemna* sp. berdasarkan gen 16S rRNA.

1.5 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini diantaranya yaitu:

1. Sebagai bahan informasi bagi peneliti tentang keanekaragaman bakteri yang di isolasi dari *Lemna aequinoctialis* menggunakan teknik molekuler berbasis 16S rRNA yaitu dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)-sekuensing.
2. Hasil penelitian ini dapat disumbangkan sebagai bahan ajar pada uji Kompetensi 3.5 Menyajikan data tentang ciri-ciri dan peranan bakteri dalam kehidupan berdasarkan hasil pengamatan dalam bentuk laporan tertulis pada pembelajaran biologi kelas X.

DAFTAR PUSTAKA

- Acosta, K., Appenroth, K. J., Borisjuk, L., Edelman, M., Heinig, U., Jansen, M. A. K., Oyama, T., Pasaribu, B., Schubert, I., Sorrels, S., Sowjanya Sree, K., Xu, S., Michael, T. P., & Lam, E. (2021). Return of the Lemnaceae: Duckweed as a Model Plant System in The Genomics and Postgenomics Era. *Plant Cell*, *33*(10), 3207–3234. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab189>
- Akihary, C. V., & Kolondam, B. J. (2020). Pemanfaatan Gen 16s rRNA sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri untuk Penelitian-Penelitian di Indonesia. *Pharmacon*, *9*(1), 16. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.27405>
- Al-Dakhil, M., Alghamdi, S., Migdadi, H., Afzal, M., & Ali, A. A. (2021). Morphological characterization and DNA barcoding of duckweed species in Saudi Arabia. *Plants*, *10*(11), 1–11. <https://doi.org/10.3390/plants10112438>
- Algarni, A. A. (2022). Combining of molecular 16S rRNA gene and metabolic fingerprinting through biolog system for the identification of streptomycetes in Saudi Arabia. *Journal of King Saud University - Science*, *34*(3), 101889. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101889>
- Alibrandi, P., Schnell, S., Perotto, S., & Cardinale, M. (2020). Diversity and Structure of the Endophytic Bacterial Communities Associated With Three Terrestrial Orchid Species as Revealed by 16S rRNA Gene Metabarcoding. *Frontiers in Microbiology*, *11*(December), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.604964>
- An, D., Li, C., Zhou, Y., Wu, Y., & Wang, W. (2018). Genomes and Transcriptomes of Duckweeds. *Frontiers in Chemistry*, *6*(JUN), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00230>
- Appenroth, K. J., Ziegler, P., & Sree, K. S. (2021). Accumulation of starch in duckweeds (Lemnaceae), potential energy plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *27*(11), 2621–2633. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01100-4>
- Aslamiah, S., & Haryadi, H. (2013). Identifikasi Kandungan Kimia Daun Pohon Beringin (*Ficus Benyamina* L.) sebagai Obat Tradisional. *Anterior Jurnal*, *13*(1). <https://doi.org/10.33084/anterior.v13i1.287>
- Bog, M., Appenroth, K. J., & Sree, K. S. (2019). Duckweed (Lemnaceae): Its Molecular Taxonomy. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *3*(December), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00117>
- Brandt, K., & Barrangou, R. (2016). Phylogenetic Analysis of the Bifidobacterium Genus Using Glycolysis Enzyme Sequences. *Frontiers in Microbiology*, *7*(MAY), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00657>
- Budiastuti, D., & Bandur, A. (2013). *Validitas dan Realibilitas Penelitian*. Mitra Wacana Media.

- Chen, W. M., Tang, Y. Q., Mori, K., & Wu, X. L. (2012). Distribution of Culturable Endophytic Bacteria in Aquatic Plants and Their Potential for Bioremediation in Polluted Waters. *Aquatic Biology*, 15(2), 99–110. <https://doi.org/10.3354/ab00422>
- Cheptsov, V. S., Tsykina, S. I., Minaev, N. V., Yusupov, V. I., & Chichkov, B. N. (2019). New microorganism isolation techniques with emphasis on laser printing. *International Journal of Bioprinting*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.18063/ijb.v5i1.165>
- Dawodu, O. G., & Akanbi, R. B. (2021). Isolation and identification of microorganisms associated with automated teller machines on Federal Polytechnic Ede campus. *PLoS ONE*, 16(8 August), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254658>
- Farmawati, D., Wirajana, I., & Chandra Yowani, S. (2015). Perbandingan Kualitas DNA Dengan Menggunakan Metode Boom Original dan Boom Modifikasi Pada Isolat Mycobacterium Tuberculosis 151. *Jurnal Kimia*, 9(1), 41–46.
- Firdaus, N., & Hamdani, H. (2016). Pengaruh Pemberian Lemna sp. Sebagai Pakan dalam Budidaya Ikan Nilem Organik SEBAGAI. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, VIII(1), 9–13.
- Geta, K., & Kibret, M. (2022). Antibiotic Resistance Profiles of Bacteria Isolated from Hotspot Environments in Bahir Dar City, Northwestern Ethiopia. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*, 15(June), 1403–1414. <https://doi.org/10.2147/JMDH.S364324>
- Gianganaco, C., Mohseni, M., Kovar, L., & Wallace, J. G. (2021). Comparing DNA extraction and 16s rRNA gene amplification methods for plant-associated bacterial communities. *Phytobiomes Journal*, 5(2), 190–201. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-07-20-0055-R>
- Gomila, M., Pinhassi, J., Falsen, E., Moore, E. R. B., & Lalucat, J. (2010). *Kinneretia asaccharophila* gen. nov., sp. nov., isolated from a freshwater lake, a member of the Rubrivivax branch of the family Comamonadaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(4), 809–814. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.011478-0>
- Hadioetomo, R. S. (1990). *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Harahap, A. S. (2017). Uji Kualitas Dan Kuantitas DNA Beberapa Populasi Pohon Kapur Sumatera. *Journal of Animal Science and Agronomy Panca Budi*, 2(02), 1–6.
- Heidel, B., Fertig, W., Mellmann-Brown, S., Houston, K. E., & Dwire, K. A. (2017a). Fens and their rare plants in the Beartooth Mountains, Shoshone National Forest, Wyoming. *USDA Forest Service - General Technical Report RMRS-GTR*, 2017(369), 110. <https://doi.org/10.2737/RMRS-GTR-369>

- Heidel, B., Fertig, W., Mellmann-Brown, S., Houston, K. E., & Dwire, K. A. (2017b). Fens and Their Rare Plants in The Beartooth Mountains, Shoshone National Forest, Wyoming. *USDA Forest Service - General Technical Report RMRS-GTR, 2017(369)*, 110. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20643.35364>
- Hoang, M. T. V., Irinyi, L., Chen, S. C. A., Sorrell, T. C., Meyer, W., Arabatzis, M., Arthur, I., Cano-Lira, J. F., Cardinali, G., Castañón, L. R., Chen, W., Chindamporn, A., Colombo, A. L., Desnos-Ollivier, M., De Beer, W., De Hoog, S., Fungal, W., Dromer, F., Garcia-Hermoso, D., ... Zancopé-Oliveira, R. M. (2019). Dual DNA barcoding for the molecular identification of the agents of invasive fungal infections. *Frontiers in Microbiology, 10*(JULY), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01647>
- Imtihana, M., Putut Martin, F., Priyono, B., & Raya Sekaran Gunungpati Semarang Indonesia, J. (2014). Unnes Journal of Biology Education Pembangunan Buklet Berbasis Penelitian Sebagai Sumber Materi Pencemaran Lingkungan di SMA. *Unnes Journal of Biology Education, 3*(2), 186–192. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ujbe>
- Inoue, D., Hiroshima, N., Ishizawa, H., & Ike, M. (2022). Whole Structures, Core Taxa, and Functional Properties of Duckweed Microbiomes. *Bioresource Technology Reports, 18*(April), 101060. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101060>
- Iwashita, T., Tanaka, Y., Tamaki, H., Yoneda, Y., Makino, A., Tateno, Y., Li, Y., Toyama, T., Kamagata, Y., & Mori, K. (2020). Comparative Analysis of Microbial Communities in Fronds and Roots of Three Duckweed species: *Spirodela polyrhiza*, *Lemna minor*, and *Lemna aequinoctialis*. *Microbes and Environments, 35*(3), 1–6. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME20081>
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology, 45*(9), 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Jeong, J. J., Lee, D. W., Park, B., Sang, M. K., Choi, I. G., & Kim, K. D. (2017). *Chryseobacterium cucumeris* sp. nov., an endophyte isolated from cucumber (*Cucumis sativus* L.) root, and emended description of *Chryseobacterium arthrosphaerae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 67*(3), 610–616. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001670>
- Judith, D. (1987). Turion Formation in Strains of *Lemna minor* (6591) and *Lemna turionifera* (6573,A). *Judith L. Dudley, 27*(2), 207–215. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(87\)90069-6](https://doi.org/10.1016/0304-3770(87)90069-6)
- Kittiwongwattana, C. (2015). Biodiversity of Endophytic Bacteria Isolated from Duckweed (*Landoltia punctata*) and Their IAA Production. *Thammasat International Journal of Science and Technology, 20*(1), 1–11.
- L. Barth Reller, Melvin P. Weinstein, C. A. P. (2007). Detection and Identification

- of Microorganisms by Gene Amplification and Sequencing. *Clinical Infectious Diseases*, 44(8), 1108–1114.
- Lam, E., Appenroth, K. J., Michael, T., Mori, K., & Fakhoorian, T. (2014). Duckweed in bloom: The 2nd International Conference on Duckweed Research and Applications heralds the return of a plant model for plant biology. *Plant Molecular Biology*, 84(6), 737–742. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0162-9>
- Lange, P. J. De, & Lange, T. De. (2014). The vegetation and Flora of ‘ Matukureia Swamp ’, Puhinui, South Auckland – with notes on *Ranunculus macropus* The vegetation and flora of ‘ Matukureia Swamp ’, Puhinui, South Auckland – with notes on *Ranunculus macropus*. *ResearchGate*, 72(2), 64. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plr021>.Seijo
- Latif-Eugenín, F., Beaz-Hidalgo, R., & Figueras, M. J. (2016). Evaluation of different conditions and culture media for the recovery of *Aeromonas* spp. from water and shellfish samples. *Journal of Applied Microbiology*, 121(3), 883–891. <https://doi.org/10.1111/jam.13210>
- Lawshe, C. H. (1975). *A Quantitative Approach to Content Validity* (1st ed.). Journal of Personnel Psychology.
- Lee, K. J., Kamala-Kannan, S., Sub, H. S., Seong, C. K., & Lee, G. W. (2008). Biological control of *Phytophthora* blight in red pepper (*Capsicum annuum* L.) using *Bacillus subtilis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(7), 1139–1145. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9585-2>
- Maheshwari, D. K. (2013). Bacteria in Agrobiolgy - Plang Growth Responses. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Makino, A., Nakai, R., Yoneda, Y., Toyama, T., Tanaka, Y., Meng, X.-Y., Mori, K., Ike, M., Morikawa, M., Kamagata, Y., & Tamaki, H. (2022). Isolation of Aquatic Plant Growth-Promoting Bacteria for the Floating Plant Duckweed (*Lemna minor*). *Microorganisms*, 10(8), 1564. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081564>
- Miller, G. E. (1990). The Assessment of Clinical Skills/Sompetence/Performance. *National Center Biotechology Information*, 65(6), 65.
- Moreira, P. A., & Oliveira, D. A. (2011). Leaf Age Affects The Quality of DNA Extracted from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae), a Tropical Tree Species from the Cerrado Region of Brazil. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 10(1), 353–358. <https://doi.org/10.4238/vol10-1gmr1030>
- Muharni, Yohandini, H., & Meita, A. (2015). *Isolation and Identification of Thermo-Lipolytic Bacteria Using Molecular Biology Approach Based on 16S rRNA Gen*. 95–104.
- Muzzazinah. (2017). Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Biologi. *Metode Filogenetik Pada Indigofera 2011*, 25–40.

- Noer, S. (2021). Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal*, 1(1), 1. <https://doi.org/10.30998/edubiologia.v1i1.8596>
- Pangestika, Y., Budiharjo, A., Pancasakti, H., & Kusumaningrum. (2015). Analisis Filogenetik Curcuma Zedoaria (Temu Putih) Berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Akademika Biologi*, 4(4), 8–13.
- Poindexter, J. S. (1964). Biological Properties and Classification of the Caulobacter Group. *Bacteriological Reviews*, 28(3), 231–295. <https://doi.org/10.1128/membr.28.3.231-295.1964>
- Pralisaputri K R, Heribertus, S., & Chatarina, M. (2016). Pengembangan Media Booklet Berbasis SETS Pada Materi Pokok Mitigasi Dan Adaptasi Bencana Alam Untuk Kelas X SMA. *Jurnal GeoEco*, 2(2), 147–154. <https://jurnal.uns.ac.id/geoeco/article/view/8930>
- Prihantoro, I., Risnawati, A., Dewi, P., Hara, M., & Setiana, M. A. (2015). Potensi dan Karakteristik Produksi Lemna minor pada berbagai Media Tanam. *Pastura: Journal of Tropical Forage Science*, 4(2), 2–5.
- Putri, N. M., & Saino. (2020). Pengembangan Booklet Sebagai Media Pembelajaran Pada Mata Pelajaran Pengelolaan Bisnis Ritel Materi Perlindungan Konsumen Kelas Xi Bdp Di Smkn Mojoagung. *Jurnal Pendidikan Tata Niaga (JPTN)*, 8(3), 925–931.
- Rahayu, F., Saryono, & Nugroho, T. T. (2015). Isolasi DNA dan Amplifikasi PCR Daerah ITS rDNA Fungi endofit Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*) LBKURCC69. *Jom Fmipa*, 2(1), 100–106.
- Rinanda, T. (2011). Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jks*, 3, 172–177.
- Sambo, F., Finotello, F., Lavezzo, E., Baruzzo, G., Masi, G., Peta, E., Falda, M., Toppo, S., Barzon, L., & Di Camillo, B. (2018). Optimizing PCR primers targeting the bacterial 16S ribosomal RNA gene. *BMC Bioinformatics*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2360-6>
- Setiaputri, A. A., Barokah, G. R., Arbajayanti, R. D., Fabella, N., Pertiwi, R. M., Nurilmala, M., Nugraha, R., & Abdullah, A. (2020). Perbandingan metode isolasi DNA pada produk perikanan segar dan olahan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 447–458.
- Shelli, C. & L. L. (2022). Pohon Filogenetik. In *Library Text Biolgy*. <https://bio.libretexts.org/>
- Sheu, S. Y., Hsieh, T. Y., & Chen, W. M. (2019). *Aquincola Rivuli* sp. Nov., Isolated from a Freshwater Stream. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(8), 2226–2232. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003429>

- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The Bacterial Cell Envelope1 T. J. Silhavy, D. Kahne and S. Walker, . *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2, 1–16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2857177/pdf/cshperspect-PRK-a000414.pdf>
- Sinaga, A., Putri, L. A. P., & Bangun, M. K. (2017). Analisis Pola Pita Andaliman. *Jurnal Agroekoteknologi*, 5(1), 55–64.
- Sosa, O. A., Repeta, D. J., Ferrón, S., Bryant, J. A., Mende, D. R., Karl, D. M., & DeLong, E. F. (2017). Isolation and characterization of bacteria that degrade phosphonates in marine dissolved organic matter. *Frontiers in Microbiology*, 8(SEP), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01786>
- Sugiyono. (2019). *Metode Penelitian Kualitatif, Kualitatif, dan R&D* (8th ed.). Alfaber.
- Sulaiman, A., & Irawan, B. (2020). Pemanfaatan Duckweed (*Lemna minor*) dalam Ransum Untuk Meningkatkan Warna Yolk Telur dan Menurunkan Kadar Kolesterol Telur Itik Alabio. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 5(2), 56–62.
- Suprya, N. (2021). Isolation of Bacteria. In *Biology Reader*. <https://biologyreader.com/isolation-of-bacteria.html>.
- Widmer, F., Seidler, R. J., Gillevet, P. M., Watrud, L. S., & Di Giovanni, G. D. (1998). A Highly Selective PCR Protocol for Detecting 16S rRNA Genes of The Genus *Pseudomonas* (*Sensu stricto*) in Environmental Samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(7), 2545–2553.
- Yanagihara, K., Niki, H., & Baba, T. (2011). Direct PCR Amplification of the 16S rRNA Gene from Single Microbial Cells Isolated from an Antarctic Iceberg Using Laser Microdissection Microscopy. *Polar Science*, 5(3), 375–382.
- Yu, M., Cao, Y., & Ji, Y. (2017). The Principle and Application of New PCR Technologies. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 100(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/100/1/012065>
- Zhang, Y., Ren, H., & Zhang, G. (2014). *Microbacterium hydrothermale* sp. nov., an actinobacterium isolated from hydrothermal sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 3508–3512. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.061697-0>
- Zhao, H., Appenroth, K., Landesman, L., Salmeán, A. A., & Lam, E. (2012). Duckweed rising at Chengdu: Summary of the 1st International Conference on Duckweed Application and Research. *Plant Molecular Biology*, 78(6), 627–632. <https://doi.org/10.1007/s11103-012-9889-y>
- Zhu, Y., Yao, T., Wang, Y., Zhao, Z., Yang, X., Liu, X., & Zhao, G. (2022). First Clinical Isolation Report of *Shewanella xiamenensis* from Chinese Giant Salamander. *Veterinary Research Forum*, 13(1), 141–144. <https://doi.org/10.30466/vrf.2021.138797.3086>