

**KEANEKARAGAMAN SPESIES DAN HOMOLOGI
GEN *nifH* PADA BAKTERI PEMFIKSASI NITROGEN
YANG BERASAL DARI PERAKARAN PADI (*Oryza sativa*)
DI DAERAH PESISIR**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-1 pada
Program Studi Biologi



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
disusun oleh:
SUNAN KALIJAGA
Rizki Aditya Riyanti
YOGYAKARTA
13640012

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA**

2020

Keanekaragaman Spesies dan Homologi Gen *nifH* pada Bakteri Pemfiksasi Nitrogen yang Berasal dari Perakaran Padi (*Oryza sativa*) di Daerah Pesisir

Rizki Aditya Riyanti
13640012

ABSTRAK

Padi adalah makanan pokok mayoritas masyarakat Indonesia, secara tidak langsung berakibat pada peningkatan penggunaan pupuk, termasuk pupuk sintetis Nitrogen (N). Meskipun nitrogen sangat melimpah di atmosfer, namun nitrogen tidak dapat digunakan langsung oleh tanaman. Tanaman dapat memanfaatkan nitrogen di udara dengan bantuan bakteri tanah melalui proses fiksasi alami nitrogen, sehingga kebutuhan nitrogen dapat tercukupi. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui genus bakteri yang memiliki gen *nifH* dan homologi gen *nifH* pada bakteri pemfiksasi nitrogen yang berasal dari rhizosfer tanaman padi di daerah pesisir. Tahap pertama adalah dicari bakteri tanah dari berbagai sumber dengan kriteria bakteri rhizosfer tanaman padi di wilayah bersalinitas tinggi, kemudian dikumpulkan data sekuens gen *nifH* dari situs www.ncbi.nlm.nih.gov lalu disimpan dalam format FASTA. Sekuens-sekuens tersebut dialignment dan dilakukan pendekatan antar spesies berdasarkan *phylogenetic tree* dengan software Mega-X. Setelah itu dilakukan *in silico* menggunakan primer yang merujuk penelitian Bürgmann *et al*, (2003) dengan primer forward *nifH-g1-forB* dan primer reverse *nifH-g1-rev*. Berdasarkan *phylogenetic tree*, terlihat bahwa *Acinetobacter* sp. dan *Paenibacillus durus* memiliki homologi yang tinggi dengan *A. chroococcum*. *Acinetobacter* sp. dan *Paenibacillus durus* kemudian di *in silico* PCR di alamat web <http://insilico.ehu.es/PCR/>. Namun dari proses tersebut tidak ada band yang teramplifikasi. Genus bakteri yang diketahui memiliki sekuens gen *nifH* bakteri anggota genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Brevibacterium*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Pantoea*, *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Acinetobacter*, dan *Aeromonas*. Sekuens gen *nifH* yang dimiliki oleh spesies-spesies dari rhizosfer perakaran padi di pesisir pantai menunjukkan berbagai tingkat homologi gen.

Keyword : bakteri rhizosfer, *nifH*, fiksasi nitrogen, salinitas, bioinformatika

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rizki Aditya Riyanti

NIM : 13640012

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian penulis sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuk sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 20 Agustus 2020

Yang menyatakan,

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA



Rizki Aditya Riyanti

NIM. 13640012



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Rizki Aditya Riyanti

NIM : 13640012

Judul Skripsi : *Keanekaragaman Spesies dan Homologi Gen Nifh Pada Bakteri Pemfiksasi Nitrogen Yang Berasal dari Perakaran Padi (Oryza Sativa) di Daerah Pesisir*

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 18 September 2020

Pembimbing

Jumailatus Solihah, S.Si., M. Biotech.

NIP. 19760624 200501 2 007



PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-2525/Un.02/DST/PP.00.9/11/2020

Tugas Akhir dengan judul : Keanekaragaman Spesies dan Homologi Gen *nifH* pada Bakteri Pemfiksasi Nitrogen yang Berasal dari Perakaran Padi (*Oryza sativa*) di Daerah Pesisir

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : RIZKI ADITYA RIYANTI
Nomor Induk Mahasiswa : 13640012
Telah diujikan pada : Jumat, 25 September 2020
Nilai ujian Tugas Akhir : A/B

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.

SIGNED

Valid ID: 5fabbdad95fa



Penguji I

Emy Qurotul Ainy, S.Si., M.Si

SIGNED

Valid ID: 5fab7c3dca36



Penguji II

Siti Aisah, S.Si., M.Si.

SIGNED

Valid ID: 5fab6632d14c



Yogyakarta, 25 September 2020
UTN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 5fab9e3cf7ee9

MOTTO

Merendahkan engkau seperti bintang gemintang, berkilau dipandang orang. Tampak di atas air berriak, padahal ia tinggi memuncak. Jangan engkau seperti asap, yang mengangkat diri membubung meluap. Menuju angkasa raya padahal dirinya rendah hina.

(Musa ibn 'Ali Az Zarzary)

Untuk jadi solusi, kadang tak cukup hanya karena ahli.
Kita perlu merendahkan hati.

(Salim A. Fillah)



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

PERSEMBAHAN

Susunan huruf yang terkumpul dalam kata dan kalimat, bersamanya cinta dan kasih dipersembahkan untuk Mama terbaik. Beliau yang tak lelah dalam sujudnya mendoakan, yang dalam rakaat tak kering air matanya memohon agar anaknya ini 'sukses' hidupnya. Peluk hangat.

Tulisan ini teruntuk Baba tercinta yang selalu menyediakan pangkuannya untuk benrmanja, selalu mendukung dengan usapan lembut dan menenangkan. I Love Baba, My First Love.



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah Swt. atas segala nikmat, ujian, dan ridho dengan *rahman rahim*-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sebagai salah satu syarat untuk menempuh jenjang Strata 1 (S-1) pada Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Tugas akhir ini berjudul “Keanekaragaman Species dan Homologi Gen *nifH* Pada Bakteri Pemfiksasi Nitrogen yang Berasal dari Perakaran Padi (*Oryza sativa*) di Daerah Pesisir”. Dalam pelaksanaan kegiatan penelitian secara langsung serta penyusunan tugas akhir ini penulis menyadari banyaknya pihak yang turut serta membimbing dan membantu, untuk itu dalam hal ini penulis ingin berterimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga yang telah menyediakan fasilitas demi kelancaran penulis dalam menjalani penelitian serta penyusunan tugas akhir ini.
2. Ibu Najda Rifqiyati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi yang telah memberikan izin bagi penulis untuk melaksanakan penelitian.
3. Ibu Jumailatus Solihah, M.Biotech. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan arahan, bimbingan, masukan-masukan dengan sabar dan juga senantiasa meluangkan waktu kepada penulis sehingga pada akhirnya mampu menyelesaikan tugas akhir ini.
4. Kedua orang tua dan mbak tersayang yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat untuk terus melangkah maju

5. Mbak Anif Yuni Muallifah, S.Pd.I. selaku PLP yang telah memberikan arahan serta bimbingan dalam melakukan penelitian.
6. Seluruh Dosen yang mengampu mata kuliah di Program Studi Biologi.
7. Sahabat tersayang Titi Sari, S. Pd yang bersedia mendengar keluh kesah panjang lebar tak berguna, Mbak Anisa Nazera Fauzia, M. Biotech yang selalu bersedia menjadi tempat konsultasi dan pemberi pendapat, Mas Adha Prabowo I., S.STP yang senantiasa mendukung dari jauh, serta Mas Khoirul Anam, S. Si yang bersedia direpotkan dengan pertanyaan tidak penting.
8. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2013, khususnya ‘Kanca Klinik’ (Rizky Ulfarini Safitri, Tri Utami Murniwati, dan Wahyu Diyana T.) yang telah bersedia menjadi ‘Tukang Oprak-oprak’ untuk penulis sampai akhir masa studi.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih memiliki banyak kekurangan. Masukan berupa kritik membangun dan saran dari pembaca sangat diharapkan sebagai bahan pertimbangan untuk perbaikan kualitas tugas akhir ini. Akhir kata, semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat serta pengetahuan terutama bagi penulis dan pembaca. Aamiin.

Yogyakarta, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
ABSTRAK	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI	iv
PENGESAHAN TUGAS AKHIR	v
HALAMAN MOTTO	vi
PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Tanaman Padi	8
B. Bakteri Rhizosfer	13
C. Fiksasi N ₂	14
D. <i>Database</i> dan Analisis Bioinformatika.....	17
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Alat dan Bahan	20
B. Prosedur Kerja	20

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Keanekaragaman Bakteri Pengikat Nitrogen di Rhizosfer Padi	22
B. Analisis Homologi Gen <i>nifH</i>	30
C. Analisis In Silico PCR Gen <i>nifH</i> Pada Bakteri Rizosfer Padi	34
BAB V PENUTUP	36
A. Kesimpulan	36
B. Saran	36
Daftar Pustaka	37
Lampiran	43



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Nama-nama spesies yang memiliki gen nifH di perakaran padi (<i>Oryza sativa</i>) di daerah bersalinitas tinggi.....	22
--	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Padi	9
Gambar 2. Malai Padi	10
Gambar 3. Siklus Nitrogen.....	15
Gambar 4. Fe Protein-MoFe Protein Komplek Nitrogenase <i>Azotobacter vinelandii</i>	30
Gambar 5. Filogenetik tree.....	33



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuens gen <i>nifH</i> Rhizobakteria Pemfiksasi Nitrogen di Daerah Pesisir	43
--	----



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Padi adalah makanan pokok sebagian besar masyarakat Indonesia. Kebutuhan masyarakat terhadap padi selalu meningkat berbanding lurus dengan pertambahan jumlah penduduk Indonesia sehingga produktivitas dan kualitas padi harus selalu dijaga dan ditingkatkan untuk dapat memenuhi kebutuhan masyarakat akan makanan pokok. Pengembangan tanaman padi sangat penting dilakukan untuk meningkatkan kualitas padi. Saat ini tanaman padi telah banyak dikembangkan, mulai dari padi tahan hama penyakit, padi tahan cekaman garam, dan padi tahan kekeringan.

Kebutuhan padi akan unsur hara harus dicukupi dengan baik untuk menjaga kualitas padi. Salah satu unsur hara yang penting bagi tanaman adalah nitrogen. Nitrogen merupakan komponen terbesar penyusun atmosfer. Konversi Nitrogen di atmosfer secara biologis paling besar diubah oleh tanaman dan hewan, yang berkontribusi sekitar 100-290 Tg N per tahun ke biosfer (Cleveland *et al.*, 1999). Duan *et al.* (2012) menyatakan bahwa kebutuhan tanaman akan nitrogen lebih tinggi dibandingkan dengan unsur hara lainnya. Kekurangan suplai nitrogen dapat mengakibatkan pertumbuhan tanaman tidak optimum karena nitrogen merupakan faktor pembatas bagi produktivitas tanaman.

Kebutuhan unsur Nitrogen yang dianggap sangat penting ini menyebabkan pemakaian pupuk sintetis Nitrogen (N) makin meningkat setiap tahun. Fakta tersebut mengindikasikan terjadinya penurunan efisiensi pemupukan dengan menggunakan pupuk sintetis. Berbagai teknik pemupukan dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan hara berupa unsur N, namun efisiensi penggunaan pupuk N dianggap masih belum optimal (Saraswati & Sumarno, 2008). Sebagai alternatif pemupukan, banyak pula dikembangkan pupuk-pupuk yang ramah lingkungan seperti pupuk hayati (*biofertilizer*).

Meskipun nitrogen sangat melimpah di atmosfer, namun nitrogen tidak dapat digunakan secara langsung oleh tanaman. Fiksasi alami nitrogen dari atmosfer dapat dilakukan bakteri tanah agar ketersediaan unsur nitrogen tanaman tetap tercukupi meskipun tumbuh di wilayah marginal dengan kandungan unsur hara yang sangat rendah seperti pesisir pantai. Salah satu bakteri yang dapat melakukannya adalah rhizobakteria (Handayanto & Hairiah, 2007). Rhizobakteria merupakan bakteri yang hidup di daerah perakaran (rhizosfer) tanaman yang memiliki kemampuan mengikat nitrogen bebas di udara dan mereduksinya menjadi senyawa amonia. Kemampuan bakteri tersebut untuk melakukan penambatan nitrogen disebabkan oleh aktivitas nitrogenase yang di produksi oleh kelompok bakteri tersebut (Dwijoseputro, 1998).

Biological nitrogenase fixation (BNF) dapat dilakukan oleh bermacam-macam kelompok organisme tapi terbatas pada kelompok bakteri dan archaea yang diketahui sebagai diazotrof. Subunit nitrogenase dan subunit nitrogenase

reduktase dikode oleh gen *nifH* yang memiliki banyak macam variasi sekuens yang tersedia dan dapat digunakan sebagai marker untuk menganalisis komunitas bakteri yang dapat memfiksasi N₂ di berbagai macam lingkungan (Zehr *et al.*, 2003, Raymond *et al.*, 2004).

Gen *nifH* menyandi subunit yang menyusun enzim nitrogenase. Gen ini juga dapat digunakan sebagai penanda untuk mengetahui distribusi dan keanekaragaman bakteri diazotrof tanpa kultivasi. Hasil penelitian yang telah dilakukan Ueda *et al.*, (1995) membuktikan keanekaragaman tipe sekuens gen *nifH* di tanah sama dengan banyaknya keanekaragaman bakteri diazotrof yang belum teridentifikasi. Bakteri fiksasi nitrogen biasanya ada di permukaan atau di dalam akar. Gen *nifH* ini kemungkinan ada di area yang sering terendam air (Ueda *et al.*, 1995).

Gen *nifH* sering digunakan sebagai penanda molekuler suatu mikrobia yang dapat memfiksasi nitrogen karena memiliki data sekuens non-ribosomal terbesar dari berbagai mikrobia. Selain itu gen ini telah berhasil diamplifikasi dengan berbagai jenis primer dengan sampel yang berasal dari lingkungan maupun mikroorganisme secara langsung. Gen *nifH* memperlihatkan keunikan filogenetik sehingga dapat dibuat hubungan kekerabatan dari mikrobia diazotrof (Hsu & Buckley, 2009). Gen *nifH* juga dapat digunakan sebagai dasar studi ekologi dan evolusi bakteri fiksasi nitrogen (Gaby & Buckley, 2014). Informasi mengenai bakteri yang berasosiasi (simbiotik dan non-simbiotik) dengan perakaran tanaman padi yang memiliki gen fungsional seperti gen *nifH* belum banyak diketahui. Salah satu metode yang dapat

digunakan untuk mengetahui ekspresi gen tertentu oleh mikrobia diperlukan cara isolasi mikrobiologis (kultur mikrobiologis). Menurut Sekiguchi (2006), hanya 1% mikrobia dari alam yang dapat dikulturkan, sedangkan 99% lainnya masih tidak bisa dikulturkan pada media buatan. Kesulitan dan keterbatasan terkait dengan teknik kultivasi ini dapat diatasi melalui pendekatan secara metagenomik dan metatranskriptomik.

Beberapa penelitian tentang rhizobakteria tanah pesisir pantai telah dilakukan di Jawa Barat. Dampak peningkatan permukaan air laut yang besar terhadap sektor pertanian di daerah pesisir memerlukan upaya untuk mengantisipasi lahan salin melalui strategi mitigasi dan adaptasi lahan tersebut. Upaya untuk menyasati adanya dampak salinitas pada lahan sawah daerah pesisir dari aspek mikrobiologis belum banyak dilakukan. Salah satu peran mikrobiologis yang dapat dimanfaatkan untuk menyasati permasalahan tanah salin daerah pesisir dengan memanfaatkan keberadaan bakteri yang mampu menyediakan unsur hara utama bagi tanaman, seperti unsur nitrogen (Susilowati & Mamik, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Susilowati (2015) menyatakan bahwa sebagian besar bakteri penambat N_2 pada rhizosfer mungkin juga disebabkan oleh faktor asosiasi inang. Bakteri yang diduga sebagai penambat N_2 diseleksi berdasarkan kemampuan tumbuhnya di media selektif semi padat tanpa nitrogen atau *Nitrogen free Bromthymol Blue* (NfB). Dua belas jenis bakteri memiliki kemampuan memfiksasi N_2 dari tanah pesisir Subang dan 20 jenis bakteri dari tanah pesisir Indramayu. Genus-genus seperti *Bacillus*,

Brevibacterium, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Providencia*, dan *Sinomonas*. Ding *et al.*, (2005), menyatakan bahwa bakteri *Bacillus marisflavi* yang diisolasi dari akar tanaman padi di daerah Beijing diketahui memiliki sekuens gen *nifH* berdasarkan hasil amplifikasi menggunakan PCR. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa spesies *Bacillus subtilis* memiliki kompleks nitrogenase sehingga dapat melakukan penambatan nitrogen dari udara. Salah satu penelitian yang membuktikan hal tersebut adalah penelitian yang dilakukan oleh Kobayashi *et al.*, (1995) yang menyatakan bahwa *Rhodopseudomonas capsulatus* dapat melakukan penambatan nitrogen yang lebih besar ketika diinokulasi bersama dengan *B. subtilis*. Hal tersebut menunjukkan bahwa *B. subtilis* memiliki sekuens penyandi nitrogenase sehingga mampu untuk meningkatkan jumlah nitrogen terfiksasi dari lingkungan. Beberapa bakteri telah berhasil teridentifikasi memiliki sekuens gen *nifH* seperti bakteri dari genus *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Comamonas*, *Lysobacter*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas* dan *Sphingomonas* yang merupakan *Proteobacteria*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Paenibacillus*, dan *Brevibacterium* sp.

Proses fiksasi nitrogen bebas dipengaruhi oleh gen-gen yang dimiliki bakteri tanah, terutama rhizobakteria dalam jalur biosintesisnya. Gen-gen tersebut perlu diketahui guna untuk memperoleh informasi gen apa saja yang berperan dalam proses fiksasi nitrogen bebas. Studi terhadap gen-gen tersebut dilakukan secara komputasi pada *database* yang memuat berbagai informasi

gen target guna untuk mengetahui karakteristik serta fungsi gen-gen tersebut sehingga dapat dilakukan analisis homologi gen bakteri penyandi enzim penfiksasi nitrogen. Analisis homologi gen *nifH* secara tidak langsung dapat memberikan gambaran bakteri yang memiliki kemampuan fiksasi Nitrogen, khususnya pada area rhizosfer tanaman padi di daerah pesisir. Dengan demikian penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan penelitian berikutnya untuk mengisolasi bakteri pemfiksasi nitrogen di alam. Selain itu hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai dasar untuk melakukan penelitian secara mikrobiologi maupun genetika tentang bakteri pemfiksasi nitrogen, khususnya di Indonesia.

B. Rumusan Masalah

1. Genus bakteri apa saja yang diketahui memiliki sekuens gen *nifH* yang berasal dari area rizosfer tanaman padi di daerah pesisir?
2. Bagaimana homologi gen *nifH* pada bakteri pemfiksasi nitrogen yang berasal dari rizosfer tanaman padi di daerah pesisir?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui genus bakteri yang memiliki sekuens gen *nifH* yang berasal dari area rhizosfer tanaman padi di daerah pesisir.
2. Untuk mengetahui homologi gen *nifH* pada bakteri pemfiksasi nitrogen yang berasal dari rhizosfer tanaman padi di daerah pesisir.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui keberadaan dan potensi mikroorganisme yang mampu memfiksasi nitrogen khususnya pada perakaran padi di daerah pesisir. Informasi mengenai potensi tersebut dapat dimanfaatkan secara lebih aplikatif, misalnya pemanfaatan mikroba rizosfer padi yang dikembangkan lebih lanjut sebagai pupuk hayati untuk meningkatkan produktivitas pertanian secara umum di area pesisir atau pada lahan dengan salinitas tinggi.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Genus bakteri yang diketahui memiliki sekuens gen *nifH* yang berasal dari area rizosfer tanaman padi di daerah pesisir diantaranya adalah bakteri anggota genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Brevibacterium*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*, *Pantoea*, *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Acinetobacter*, dan *Aeromonas*.
2. Gen *nifH* yang dimiliki oleh spesies-spesies dari rizosfer perakaran padi di pesisir pantai diketahui menunjukkan berbagai tingkat homologi gen.

B. Saran

Penelitian ini perlu adanya penelitian molekuler sebagai penelitian tindak lanjut tentang keberadaan gen *nifH* pada bakteri penambat nitrogen yang berada di lingkungan salinitas tinggi. Selain itu perlu adanya penanda spesifik gen *nifH* yang general sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan gen *nifH* di semua organisme.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahemad, M. & Kibret, M., (2014). Mechanism and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science*. 26:1-20
- Baldani J.I, L. Caruso Vera, L.D. Baldani, Silvia R. Goi, and J. Dobereiner. (1997) Recent advance in BNF with non-legume plants. *Soil Biology and Biochemistry* 29(5/6):911-922.
- Boddey, R.M., Oliviera, de O.C., Urquiaga, S., Reis, V.M., Olivares, F.L., Baldani, V.L.D., & Dobereiner, J. (1995). Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: contributions and prospects for improvement. *Plant Soil* 174:195-209.
- Bakker P. A. H. M., Schippers B., Salentijn E., & Hoekstra M., (1991). Fate of transposon Tn5 labeled *Pseudomonas fluorescens* Wcs374 in the field. Di dalam: Beemster A. B. R., Bollen G. J., Gerlagh M., Ruissen M. A., Schippers B., & Tempel A., editor. *Biotic Interaction and Soil Borne Diseases*. Volume 23. *Development in Agricultural and Managed Forest Ecology*. Amsterdam (NL): Elsevier Publishers. hlm 1-428.
- Bürgmann, H., F. Widmer, W. V. Sigler, & J. Zeyer. (2003). mRNA extraction and reverse transcription-PCR protocol for detection of *nifH* gene expression by *Azotobacter vinelandii* in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1928–1935.
- Caton, I. R. (2007). Abundance of *nifH* genes in urban, agricultural, and pristine prairie streams exposed to different levels of nitrogen loading. *Thesis*. Wichita State University.

- Chai, Y. H. (2007). Characterization of nitrogen fixation (*nif*) genes from *Paenibacillus polymyxa*. *Thesis*. University Sains Malaysia.
- Choo, Q. C., Samian, M. R., & Najimudin, N. (2003). Phylogeny and characterization of three *nifH*-homologous genes from *Paenibacillus azotofixans*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69:3658-3662.
- Cleveland C.C., Townsend A.R., Schimel D.S., Fisher H., Howarth R.W., & Hedin L.O., *et al* .(1999). Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N_2) fixation in natural ecosystems. *Glob Biogeochem Cycles* 13:623–645
- Ding, Y., Wang J., Liu Y., & Chen S. (2005). Isolation and identification of nitrogenfixing bacilli from plant rhizospheres in Beijing region. *J Appl Microbiol*. 99:1271–81.
- Doi T, Abe J, Shiotsu F, Morita S. 2011. Study on rhizosphere bacterial community in lowland rice grown with organic fertilizers by using PCRdenaturing gradient gel electrophoresis. *Plant Root*. 5:5-16.
- Duan, Y.H., Zhang Y.L., Ye L.Y., Fan X.R., Xu G.H., & Shen Q.R. (2007). Responses of rice cultivars with different nitrogen use efficiency to partial nitrate nutrition. *Ann Bot*. 99:1153-1160.
- Dwidjoseputro. (1998). *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootsrap. *Evolution*. 39:783-791.
- Gaby, J.C. & Buckley, D.H. A comprehensive aligned *nifH* gene database: a multipurpose tool for studies of nitrogen-fixing bacteria. Database. 2014. Vol. 2014.
- Grayston, S. J, Wang, S. Campbell, C. D & Edwards, A.C.,(1998). Selective Influence Of Plant Species On Microbial Diversity In The Rhizosphere. *Soil Biol. Biochem*. 30(3):369-378

- Hakim, M. A., Juraimi, A. S., Begum, M., Hanafi, M. M., Ismail, M. R. & Selamat, A. (2010) Effect of salt stress on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) *African Journal of Biotechnology*. 9(13):1911-1918.
- Handayanto & Hairiah, K. (2007). *Biologi Tanah*. Yogyakarta: Pustaka Adipura.
- Hasegawa, S., Meguro A., Shimizu M., Nishimura T., & Kunoh H. (2006). Endophytic actinomycetes and their interaction with host plants. *Actinomycetologica*. 20:72-81.
- Hoflich G., Wiehe W., & Kuhn G. (1994). Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere microorganisms. *Experientia*. 50:897-905.
- Hsu S.F. & Buckley D. H., (2009). Evidence for the functional significance of diazotroph community structure in soil. *ISME J* 3:124–136
- Hasanah, I. (2007). *Bercocok Tanam Padi*. Jakarta : Azka Mulia Media
- James R. A., Blake C., Byrt C. S., & Munn R., (2011). Major genes for Na⁺ exclusion, *Nax1* and *Nax2* (wheat *HKT1;42q* dan *HKT1;5*), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves undersaline and waterlogged conditions. *J Exp Bot*. 62: 2939-2947.
- Jelita S.P. (2012). Dinamika Populasi dan Karakter Morfologi Aktinomiset Endofit Asal 5 Varietas Tanaman Padi. *skripsi*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Kobayashi, M., Katayama, T., & Okuda, A. (1995). Nitrogen-fixing microorganism in paddy soils in mixed culture of photosynthetic bacteria (*R. Capsulatus*) with other heterotrophic bacteria, associaton with *B. Subtilis*. *Soil Science Plant Nutrition*. 11:78-83.

- Komiya, R., Akiko I., Shojiro T., Shuji Y. & Ko S., (2008). *Hd3a* and *RFT1* are essential for flowering in rice. *Development*. 135:767-774.
- Kyuma, Kazutake. (2004). *Paddy soil science*. Kyoto Univ. Press and Trans Pacific Press. Kyoto.
- Ladha, J.K. & P.M. Reddy. (1995). Extension of nitrogen fixation to rice: necessity and possibilities. *GeoJournal*. 35:363-372.
- Lee, S., Reth, A., Meletzus, D., Sevilla, M., & Kennedy, C. (2000). Characterization of major cluster of *nif*, *fix*, and associated genes in sugarcane endophyte, *Acetobacter diazotrophicus*. *Journal Bacteriology*, 182(24):7088-7091.
- Liu, J., Peng, M., & Li, Y. (2012). Phylogenetic Diversity of Nitrogen-Fixing bacteria and The *nifH* Gene from Mangrove Rhizosphere Soil. *Can J. Microbiol.* 58 : 531-539.
- Lupwayi, N. Z., Rice, W. A. & Clayton, G. W. (1998) Soil Microbial Diversity And Community Structure Under Wheat As Influenced By Tillage And Crop Rotation. *Soil Biol. Biochem.* 30(13):1733-1741.
- Mahyarudin. (2014). Studi Metagenomik Aktinomiset Berdasarkan Gen 16s rRNA dan Deteksi Gen *nifH* Pada Tanah dan Akar Empat Varietas Tanaman Padi dengan Teknik DGGE. *Tesis*. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor
- McChang M. R., Padheye A. A., & Ajello L. (1999). Storage of stock culture of filamentous fungi and yeast in sterile destilated water. *Appl Microbiol.* 35:218-222.
- Moldenhauer, K., Wilson, C. E., Paul C. Jr., & Hardke, J., (no date). Rice Growth and Development. *Arkansas Rice Production book*. Hal (9-20)

- Patten C. L. & Glick B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can J Microbiol.* 42:207-220.
- Poly, F., Ranjard, L., Nazaret, S., Gourbiere, F., & Monrozier, L.J., (2001). Comparison of *nifH* gene pools in soils and soil microenvironments with contrasting properties. *Appl Environ Microbiol.* 67: 2255–2262.
- Rahnama, A., James R. A., Poustini K., & Munn R. (2010). Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil. *Func Plant Biol.* 37: 255-263.
- Raymond, J., Siefert J. L., Staples C. R., & Blankenship R. E., (2004). The natural history of nitrogen fixation. *Mol Biol Evol.* 21:541–554.
- Saraswati, R., & Sumarno. (2008). Pemanfaatan Mikroba Penyubur Tanah sebagai Komponen Teknologi Pertanian. *Iptek Tanaman Pangan.* 3(1):41-59.
- Sekiguchi, Y. (2006). Yet-to-be cultural microorganism relevant to methane fermentation processes. *Microbes Environ.* 21:1-15.
- Sorensen, J. (1997). The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. Di dalam: van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH, editor. *Modern Soil Microbiology.* New York (US): Marcel Dekker. hal:21-45.
- Susilowati, D. N. (2015). Analisis Komunitas Dan Fungsi Bakteri Rhizosfer Tanaman Padi Pada Gradien Salinitas Tanah Pesisir. *Disertasi.* Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Susilowati, D. N. & M. Setyowati. (2015). Analisis Aktivitas Nitrogenase dan Gen *nifH* Isolat Bakteri Rhizosfer Tanaman Padi dari Lahan Sawah Pesisir Jawa Barat. *Al-Kaunyah; Journal of Biology.* 9(2):125-138.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stetcher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum

- likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 28:2731-2739.
- Tan, R. X. & Zou, W. X., (2001) Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat Prod Rep.* 18:448-459.
- Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., Pal, K., De. R., Saxena, A. K., Nautiyal, C. S., Mittal, S, Tripathi, A. K, Johri, B. N. (2005) Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Curr Sci.* 89:136-150.
- Ueda, T., Yuko, S., Nobutaka, Y., & Tatsuhiko, M. (1995) Remarkable N₂-Fixing Bacterial Diversity Detected In Rice Roots by Molecular Evolutionary Analysis Of *nifH* Gene Sequences. *Journal of Bacteriology.* 177(5):1414–1417
- Vergara, B. S. & T. T. Chang. (1985) *The Flowering Response of the Rice Plant to the Photoperiod.* IRRI : Manila.
- Zhang J. L, Flowers T. J, & Wang S. M. (2010) Mechanisms of sodium uptake by roots of higher plant. *Plant Soil.* 326:45-60.
- Zhang J. L & Shi H. Z. (2013). Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance. *Photosynth Res.* 115: 1-22.
- Zehr J. P., Jenkins B. D., Short S. M., & Steward G. F., (2003) Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environ Microbiol.* 5:539–554