

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 | 4 |
| C. Pertanyaan Penelitian | 4 |
| D. Batasan Masalah..... | 5 |
| E. Tujuan Penelitian | 5 |
| F. Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB II KARAKTERISTIK BAKTERI <i>Aeromonas hydrophila</i> DAN STUDI ANALISIS FILOGENETIKA MENGGUNAKAN SIKUEN GEN | |
| Gyr B..... | 6 |
| A. Deskripsi Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 6 |
| B. <i>Aeromonas spp.</i> dan Air..... | 7 |
| C. Patogenitas <i>Aeromonas hydrophila</i> | 8 |
| D. Karakterisasi dan Identifikasi Morfologi dan Biokimia Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> | 9 |
| E. Identifikasi Molekular | 18 |
| F. Gen Lipase..... | 19 |
| G. Gen <i>Housekeeping (gyr B)</i> | 20 |
| H. Sequencing | 21 |
| I. Filogenetika Molekular..... | 22 |
| J. Tahapan Dalam Analisis Filogenetika Molekular..... | 24 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 27 |
| A. Jenis Penelitian | 27 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------|
| B. Populasi dan Sampel | 27 |
| C. Waktu dan Tempat Penelitian | 27 |
| D. Alat dan Bahan | 27 |
| E. Prosedur Penelitian | 27 |
| 1. Persiapan Penelitian dan Pra Penelitian | 27 |
| 2. Subkultur <i>A. hydrophila</i> Pada Medium RS | 28 |
| 3. Pemurnian Koloni Bakteri Biokimia | 28 |
| 4. Uji Morfologi dan Biokimia Bakteri | 28 |
| 5. Pembuatan Cryo Bakteri | 31 |
| 6. Identifikasi <i>Aeromonas hydrophila</i> Secara Molekular | 32 |
| F. Pra Sikuensing | 33 |
| 1. Identifikasi Gen <i>gyrB</i> dengan Metode PCR | 33 |
| 2. Mengukur Kemurnian dan Konsentrasi DNA Hasil Amplikon | 34 |
| G. Elektroforesis Hasil PCR Gen Lipase dan Gen <i>gyr B</i> | 35 |
| H. Sikuensing | 35 |
| I. Analisis Data Bioinformatika | 36 |
| J. Alur Penelitian | 37 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 38 |
| A. Karakterisasi dan Sub Kultur Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 39 |
| B. Karakterisasi Morfologi dan Biokimia <i>A. hydrophila</i> (SNI 7303) | 42 |
| C. Karakterisasi Morfologi dan Biokimia Tambahan..... | 51 |
| D. Karakterisasi Molekular Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 63 |
| E. Pra Sekuensing | 67 |
| F. Analisa Hasil Sikuensing | 69 |
| G. Analisa Filogenetik Gen <i>gyr B</i> | 80 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... | 91 |
| A. Kesimpulan | 91 |
| B. Saran..... | 91 |
| DAFTAR PUSTAKA | 92 |
| LAMPIRAN-LAMPIRAN..... | 101 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 3.1 Komposisi Reaksi Amplifikasi Gen Lipase pada <i>A. hydrophila</i> | 32 |
| 3.2 Primer yang Digunakan Dalam PCR Sekuen Gen <i>gyr B</i> | 33 |
| 3.3 Komposisi Reaksi Amplifikasi Gen <i>gyr</i> Penelitian | 34 |
| 4.1 Hasil Sub Kultur Bakteri pada Medium RS | 41 |
| 4.2 Hasil Uji Morfologi dan Biokimia (SNI 7303) Isolat Bakteri | 43 |
| 4.3 Hasil Uji Morfologi dan Biokimia Tambahan Isolat Bakteri..... | 51 |
| 4.4 Tabel Rekap Hasil Identifikasi Biokimia Isolat Bakteri | 62 |
| 4.5 Hasil Spektrofotometer DNA Isolat <i>A. hydrophila</i> | 64 |
| 4.6 Hasil Spektrofotometer Amplifikasi Gen <i>gyr B</i> Isolat <i>A. hydrophila</i> | 68 |
| 4.7 Hasil Sikuensing Pada <i>Aeromonas</i> Isolat Air Kolam | 71 |
| 4.8 Hasil Blast Sikuen Isolat <i>Aeromonas</i> Isolat ATCC 7966 | 73 |
| 4.9 Hasil Blast Parsial Sikuen Isolat <i>Aeromonas</i> ATCC 7966 | 74 |
| 4.10 Hasil Blast Parsial Sikuen Isolat <i>Aeromonas</i> Air Kolam | 76 |
| 4.11 Hasil Uji Biokimia dan Molekular Isolat <i>Aeromonas</i> Air Kolam | 79 |
| 4.12 Karakteristik <i>Aeromonas</i> Isolat Air Beberapa Kota Secara Biokimia Maupun Molekuler | 88 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 2.1 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> | 7 |
| 2.2 Infeksi Bakteri <i>Aeromonas spp.</i> pada kulit Ikan | 8 |
| 2.3 Beberapa Hasil Uji pada Bakteri <i>Aeromonas</i> | 10 |
| 2.4 Hasil Isolasi Bakteri <i>Aeromonas</i> pada Medium RS | 11 |
| 2.5 Penampakan Koloni Bakteri Pada Medium | 11 |
| 2.6 Penentuan Bakteri Gram Negatif Pada <i>Aeromonas Spp</i> | 12 |
| 2.7 Produksi β -Hemolysis Oleh <i>A. Hydrophila</i> Pada Tryptone Soy Agar..... | 13 |
| 2.8 Uji Motilitas Dan Produksi H ₂ S Pada Bakteri <i>Aeromonas Spp</i> | 14 |
| 2.9 Uji Oksidasi Pada <i>Aeromonas Spp</i> | 15 |
| 2.10 Reaksi Positif Isolat Bakteri <i>Aeromonas Spp.</i> Pada Uji Oksidatif-Fermentatif | 15 |
| 2.11 Reaksi Fermentasi Lakosa Pada Medium Mac Conkey | 16 |
| 2.12 Hasil Uji Sitrat pada isolat <i>Aeromonas spp</i> | 17 |
| 2.13 Hasil uji indol terhadap isolat bakteri <i>Aeromonas</i> | 17 |
| 2.14 Hasil pengujian V-P pada isolat bakteri <i>Aeromonas</i> | 18 |
| 2.15 Rekonstruksi Pohon filogenetika | 24 |
| 3.1 Program PCR Gen Lipase | 33 |
| 3.2 Program PCR Geng <i>gyr B</i> | 34 |
| 3.3 Rumus Perhitungan Konsentrasi DNA | 35 |
| 3.4 Bagan Alur Penelitian | 37 |
| 4.1 Koloni Isolat <i>Aeromonas</i> Pada Mediu RS | 39 |
| 4.2 Penampakan Morfologi <i>Aeromonas sp</i> diatas Medium RS | 40 |
| 4.3 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri <i>Aeromonas</i> | 44 |
| 4.4 Indikator lengket yang ditunjukkan oleh bakteri <i>Aeromonas</i> (gram negatif) dalam KOH <i>string test</i> | 44 |
| 4.5 Uji Motilitas Dan Produksi H ₂ S Isolat Bakteri | 46 |
| 4.6 Produksi H ₂ S Pada Isolat Bakteri <i>Aeromonas spp</i> | 46 |

Fitri Rohmasari, 2015

ANALISIS FILOGENETIK BAKTERI *Aeromonas hydrophila* ISOLAT AIR KOLAM DARI BEBERAPA KOTA BERDASARKAN SIKUEN GEN *gyr B*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

| | | |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.7 | Hasil Uji Oksidatif Isolat Bakteri Dalam Penelitian | 48 |
| 4.8 | Reaksi Positif Isolat Bakteri Pada Uji Oksidatif-Fermentatif | 49 |
| 4.9 | Hasil uji OF | 49 |
| 4.10 | Kemampuan Hemolisis Isolat Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 52 |
| 4.11 | Kemampuan Hemolisis Isolat Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 53 |
| 4.12 | Kemampuan Hemolisis Isolat Bakteri <i>A. hydrophila</i> dari Isolat Air | 53 |
| 4.13 | Hasil Uji Vouges-Praukover <i>A. hydrophila</i> | 55 |
| 4.14 | Hasil Uji VP Isolat Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 55 |
| 4.15 | Hasil uji fermentasi Lactosa isolat <i>Aeromonas</i> Air Kolam pada medium Mac konkey | 57 |
| 4.16 | Hasil Uji Positif Fermentasi Laktosa | 57 |
| 4.17 | Hasil Uji negatif Fermentasi Laktosa | 57 |
| 4.18 | Hasil Uji Indole | 59 |
| 4.19 | Hasil Uji Indol | 59 |
| 4.20 | Hasil Uji Simons Sitrat | 60 |
| 4.21 | Elektroforesis Gen Lipase Isolat <i>Aeromonas</i> | 64 |
| 4.22 | Elektroforesis Hasil Amplifikasi Gen <i>gyr B</i> | 67 |
| 4.23 | Elektrogram (<i>Peak</i>) Sikuen Isolat <i>Aeromonas</i> ATCC | 70 |
| 4.24 | Elektrogram (<i>Peak</i>) Sikuen Isolat <i>Aeromonas</i> AKC | 70 |
| 4.25 | <i>Alignment</i> sikuens gen <i>gyr B</i> | 77 |
| 4.26 | Urutan <i>Alignment</i> sikuen gen <i>gyr B</i> Isolat <i>Aeromonas</i> | 77 |
| 4.27 | Rekonstruksi Pohon Filogentika | 85 |

DAFTAR LAMPIRAN

Fitri Rohmasari, 2015

ANALISIS FILOGENETIK BAKTERI *Aeromonas hydrophila* ISOLAT AIR KOLAM DARI BEBERAPA KOTA
BERDASARKAN SIKUEN GEN *gyr B*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

| Lampiran | Halaman |
|--------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 1. Daftar Alat Penelitian..... | 101 |
| 2. Daftar Bahan Penelitian | 103 |
| 3. Protokol Pembuatan Medium..... | 105 |
| 4. Hasil Sikuensing Gen <i>gyr B</i> Bakteri <i>Aeromonas</i> Isolat Air | 110 |
| 5. Pohon Filogenetik 16s rRNA | 118 |