



**IDENTIFIKASI, PATOGENISITAS BAKTERI DAN
PEMANFAATAN GEN 16S-rRNA UNTUK DETEKSI PENYAKIT
ICE-ICE PADA BUDIDAYA RUMPUT LAUT
(*Kappaphycus alvarezii*)**

MUH. ARIS



**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2011**

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi Identifikasi, Patogenisitas Bakteri dan Pemanfaatan Gen 16S-rRNA untuk Deteksi Penyakit *Ice-Ice* pada Hidaya Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* adalah karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Bogor, Agustus 2011

Muh. Aris
NRP C161060051

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



ABSTRACT

Muhammad Aris, Identification, pathogenicity of bacteria and the use of gene 16S rRNA for ice-ice detection on seaweed aquaculture (*Kappaphycus alvarezii*). Supervised by SUKENDA, ENANG HARRIS, M. FATUCHARI SUKADI and MUNTI YUHANA.

Ice-ice disease on seaweed aquaculture *Kappaphycus alvarezii* has a significant effect decreasing production of seaweed. Decreasing rate of biomass and caragenan content have positive correlation with ice-ice infected thallus weight based on habitation test between healthy and infected thallus. Destruction of seaweed tissues occurred in accordance with incubation time of ice-ice disease. Several bacteria had been successfully isolated from infected seaweed thallus and identified using API 20 and API NE 20 identification test. Isolate of *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 had the best pathogenicity compared to other species such as *Pseudomonas cepacia*, *Bavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta* and *Plesiomonas gelloides*. *V. alginolyticus* was significantly display ice-ice symptoms on day 1 after challenge test with dose of 10^6 CFU/mL. Molecular characterization on *V. alginolyticus* showed that PNGK 1 isolate similar with *V. alginolyticus* strain CIFRI TSB1. DNA sequencing data of *V. alginolyticus* PNGK 1 was used as the base of specific primer design for rapid detection of bacteria on seaweed thallus. Results of specific primer design through Primer 3 Program for *V. alginolyticus* PNGK 1 were primer aSEFM-F ((5- CAGCCACACTGGAACTGAGA -3) and aSEFM-R (5- TAGCCGGTGCTTCTTCTGT -3). Amplication of *V. alginolyticus* PNGK 1 DNA resulted in one amplicon 201 bp. Development of rapid detection method on the present of pathogenic bacteria (*V. alginolyticus* PNGK 1) on seaweed thallus was conducted with several steps optimization test on PCR temperature resulted that at annealing 60°C the DNA of *V. alginolyticus* PNGK 1 could be detected. Using specificity test and sensitivity with that specific primer it was found a band of 201 bp. This detection method for pathogenic bacteria could be applied for early detection of asymptomatic ice-ice seaweed.

Keywords: *Kappaphycus alvarezii*, *Vibrio alginolyticus* PNGK 1, ice-ice disease, specificity, sensitivity

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Pengaruh interaksi perlakuan dan waktu dilakukan analisis dengan ANOVA dan uji lanjut Duncan. Bagian kedua, menganalisis mekanisme transmisi penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii* berdasarkan waktu kejadian dan perubahan secara makroskopis (warna *thallus*), perubahan jaringan *thallus*, perubahan berat basah *thallus* dan perubahan persentase kandungan karaginan. Pengujian transmisi penyakit *ice-ice* dilakukan melalui kohabitasi dengan rumput laut sehat dan rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice*. Perlakuan dari kelima jenis bakteri yang diisolasi dari *thallus* rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* memiliki interaksi yang menimbulkan penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut sehat. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri yang memiliki tingkat patogenisitas dan memberikan respon terhadap laju penurunan tertinggi pada *thallus* rumput laut uji adalah *Vibrio alginolyticus*. Hasil penelitian mengenai transmisi menunjukkan bahwa kecepatan transmisi penyakit *ice-ice* berbanding lurus dengan tingginya jumlah *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice*, begitu pula dengan penurunan berat basah *thallus* serta persentase penurunan kandungan karaginan mengalami penurunan.

Penelitian ketiga mengidentifikasi bakteri patogen berdasarkan hasil analisis sekuen gen 16S-rRNA, disain primer PCR spesifik dari sekuen gen 16S-rRNA dari bakteri yang memiliki tingkat patogenisitas tertinggi. Gen 16S rRNA bakteri yang memberikan tingkat patogenisitas tertinggi diamplifikasi dengan primer PCR universal domain bakteri forward primer 63f (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA CAC-3') dan reverse primer 1387r (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3'). Hasil sekuen DNA dibandingkan dengan data base *European Bioinformatics Institute* (EBI) BLASTN 2.0. Perancangan dan analisis kelayakan pasangan primer yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan program **Primer 3**. Hasil analisis sekuen gen melalui situs *National Centre for Biotechnology Information/NCBI* BLAST-N 2.0 menunjukkan adanya kemiripan dengan bakteri *Vibrio alginolyticus* strain CIFRI V-TSB1 (nomor akses [gb|JF784015.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gb|JF784015.1)) dengan tingkat kemiripan 99% dengan 1301 nukleotida. Berhasil dirancang dua primer spesifik PCR yakni aSEFM-F (5'-CAGCCACACTGGAAGTGGG-3) dan aSEFM-R (5'-TTAGCCGGTGCTTCTTCTGT-3). Kedua primer ini bereaksi optimum pada suhu 60°C dengan yang menghasilkan amplicon berukuran 201 bp.

Penelitian keempat menentukan optimasi, spesivitas dan sensitivitas primer spesifik dan mengembangkan metode deteksi secara molekuler untuk mendeteksi bakteri penyebab penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut. Uji optimasi, spesivitas dan sensitifitas serta deteksi pada *thallus* rumput laut menggunakan primer spesifik PCR (aSEFM-F dan aSEFM-R). PCR dilakukan dengan sebagai berikut : *Pra* denaturasi 94 °C selama lima menit, denaturasi 94 °C selama 30 detik, penempelan primer 60°C selama 30 detik, sintesis 72 °C selama 2 menit, *post* sintesis suhu 72 °C selama 7 menit dan reaksi PCR dihentikan pada suhu 4 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan PCR dengan primer spesifik aSEFM-F dan aSEFM-R mampu mengidentifikasi isolat *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 dari kultur murni dan mendeteksi penyakit *ice-ice* langsung dari jaringan rumput laut dalam waktu 3 jam dengan kepekaan DNA 0,21 ng/µl sedangkan kepekaan deteksi sel bakteri 2,3 x 10³ ml⁻¹ dan kespesifikan yang tinggi dengan evaluasi perbandingan bakteri *Vibrio alginolyticus* SKT-b, *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memungut dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



meningosepticum, *Pseudomonas diminuta* dan *Plesiomonas shigelloides* . Sebagai kesimpulan, bakteri yang menyebabkan penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yakni *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 dan dapat dideteksi dengan metode PCR primer spesifik aSEFM-F dan aSEFM-R yang bereaksi secara optimum pada suhu 60°C dan menghasilkan amplikon berukuran 201 bp.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



©Hak Cipta milik IPB, tahun 2011
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh Karya tulis dalam bentuk apapun tanpa izin IPB

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



**IDENTIFIKASI, PATOGENISITAS BAKTERI DAN
PEMANFAATAN GEN 16S-rRNA UNTUK DETEKSI PENYAKIT
ICE-ICE PADA BUDIDAYA RUMPUT LAUT
(*Kappaphycus alvarezii*)**

MUH. ARIS

**Disertasi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor pada
Program Studi Ilmu Perairan**

**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2011**

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Unggah pada Ujian Tertutup : DR. Alimuddin, S.Pi., M.Sc

DR. Dinamella Wahjuningrum, S.Si., M.Si

Unggah pada Ujian Terbuka : DR. Edward Danakusumah

DR. Ir. Widanarni, M.Si



Judul Disertasi : Identifikasi, Patogenisitas Bakteri dan Pemanfaatan Gen 16S-rRNA untuk Deteksi Penyakit *Ice-Ice* pada Budidaya Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*)
Nama : Muh. Aris
NIM : C161060051

Disetujui
Komisi Pembimbing

Dr. Ir. Sukenda, M.Sc.
Ketua

Prof. Dr.Ir. Enang Harris, M.S.
Anggota

Prof. Dr. Ir. M. Fatuchri Sukadi, M.S.
Anggota

Dr. Munti Yuhana, S.Pi., M.Si.
Anggota

Diketahui

Ketua Program Studi Ilmu Perairan

Dekan Sekolah Pascasarjana

Prof. Dr.Ir. Enang Harris, M.S.

Dr. Ir. Dahrul Syah, M.Sc. Agr.

Tanggal Ujian: 18 Juli 2011

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga penyusunan laporan Disertasi dengan judul “Identifikasi, Patogenisitas Bakteri dan Pemanfaatan Gen 16S-rRNA untuk Deteksi Penyakit *Ice-Ice* pada Budidaya Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*)” dapat diselesaikan. Laporan Disertasi ini disusun sebagai salah satu syarat yang harus dipenuhi mahasiswa untuk menyelesaikan studi Doktor di Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Dengan tersusunnya laporan ini, penulis menghaturkan banyak terima kasih kepada Bapak Dr. Ir. Sukenda, M.Sc sebagai ketua komisi pembimbing, bapak Prof. Dr. Ir. Enang Harris, MS, Prof. Dr. Ir. Fatuchri Sukadi, MS, Ibu Dr. Munti Yuhana, S.Pi., M.Si masing-masing sebagai anggota komisi pembimbing yang telah memberikan bimbingan, petunjuk dan arahan mulai dari penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian sampai pada penyusunan laporan ini. Ungkapan terima kasih kepada keluarga tercinta (Ayahanda dan Ibunda, Mertua, Kakak, Adik), istri tercinta (Rusmawati Labenua, S.Pi., M.Si) dan anak-anakku tersayang (Muhammad Roman Alfarisawarismi dan Muhammad Bintang Aria Alkindi) atas segala dukungan dan canya. Terima kasih juga disampaikan kepada bapak Ranta, Bapak Henky Manoppo, Bapak Bambang Gunadi, Bapak Alianto, Bapak Welleam Muskita, Bapak Gong Zaenal, Ibu Agnette Tjendanawangi, Ibu Betsy Pattiasina, Ibu Indira, Ibu Hayani, Ibu Gusrina, Ibu Ince Ayu, Ibu Esty dan Bapak Fahmy Djafar beserta rekan-rekan dari Forum mahasiswa Pascasarjana IPB Maluku Utara yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian. Disadari bahwa mungkin masih banyak kekurangan yang terdapat dalam tulisan ini. Oleh karena itu kritik dan saran perbaikan demi penyempurnaan laporan ini sangat diharapkan penulis.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekalian.

Bogor, Agustus 2011

Muh. Aris

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bone Sulawesi Selatan sebagai anak kedua dari tiga bersaudara. Pendidikan sarjana ditempuh di Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan, Universitas Muslim Indonesia, lulus tahun 2000. Pada tahun yang sama, penulis diterima dan melanjutkan ke Program Magister di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar dan lulus tahun 2002. Tahun 2006 penulis mendapat kesempatan untuk melanjutkan ke program Doktor pada Sekolah Pascasarjana IPB, program Studi Ilmu Perairan/Ilmu Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Beasiswa Pendidikan Pascasarjana diperoleh dari Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia.

Penulis bekerja sebagai staf pengajar pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Khairun Ternate sejak tahun 2003. Bidang penelitian yang menjadi tanggung jawab penulis adalah Parasit dan Penyakit Ikan.

Karya ilmiah berjudul "Isolasi, Identifikasi dan Uji patogenisitas Bakteri dari Rumpaut laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terserang Penyakit *ice-ice* di perairan Pulau Panggang provinsi DKI Jakarta" , disajikan pada Konferensi Akuakultur Indonesia di Jogjakarta pada bulan Oktober 2009. Artikel tersebut telah diterbitkan pada jurnal *Aquacultura Indonesiana*. Artikel berjudul "Transmisi Penyakit *ice-ice* pada Rumpaut Laut *Kappaphycus alvarezii*" telah diterbitkan pada jurnal *Sorihi*, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Khairun Ternate. Karya-karya tersebut merupakan bagian dari program S3 penulis.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xx
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Kerangka Pemikiran	3
Tujuan dan Kegunaan	5
Kebaruan Penelitian	5
TINJAUAN PUSTAKA	6
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI DARI RUMPUT LAUT (<i>Kappaphycus alvarezii</i>) YANG TERINFEKSI PENYAKIT ICE-ICE	19
Abstrak	19
Abstract	20
Pendahuluan	20
Bahan dan Metode	22
Hasil dan Pembahasan	28
Kesimpulan	32
PATOGENISITAS BAKTERI DAN TRANSMISI PENYAKIT ICE-ICE PADA RUMPUT LAUT (<i>Kappaphycus alvarezii</i>)	33
Abstrak	33
Abstract	34
Pendahuluan	34
Bahan dan Metode	36
Hasil dan Pembahasan	41
Kesimpulan	59

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI PATOGEN DAN PERANCANGAN PRIMER SPESIFIK PCR	60
Abstrak	60
Abstract	61
Pendahuluan	61
Bahan dan Metode	64
Hasil dan Pembahasan	68
Kesimpulan	74
PENGEMBANGAN TEKNIK PCR DENGAN PRIMER SPESIFIK UNTUK DETEKSI CEPAT BAKTERI PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT ICE-ICE PADA RUMPUT LAUT	75
Abstrak	75
Abstract	76
Pendahuluan	76
Bahan dan Metode	79
Hasil dan Pembahasan	81
Kesimpulan	83
VII PEMBAHASAN UMUM	84
VIII KESIMPULAN UMUM DAN SARAN	88
Kesimpulan	88
Saran.....	89
IX DAFTAR PUSTAKA	90
X AMPHIRAN.....	100

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR TABEL

	Halaman
Nilai Rata-rata Parameter Kualitas Perairan Budidaya Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> dengan Metode Longline di Pulau Panggang pada Musim Kemarau dan Musim Hujan.....	24
Kelompok dan Ciri- ciri Bakteri yang ditemukan pada Rumput Laut <i>K. alvarezii</i> yang Terserang Penyakit <i>Ice-Ice</i>	28
Hasil Analisis Karakterisasi Bakteri yang di Isolasi dari <i>Thallus</i> Rumput Laut yang Terserang Penyakit <i>Ice-Ice</i>	29
Perbedaan Fungsi dan Anatomi antara <i>Thallus</i> yang Terserang <i>Ice-Ice</i> dan <i>Thallus</i> Sehat	37

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Alur pikir penelitian	4
Peta lokasi penelitian di Pulau Panggang Kepulauan Seribu, Provinsi DKI Jakarta	22
Konstruksi wadah budidaya <i>Kappaphycus alvarezii</i> dengan metode Longline	27
Goresan bakteri yang berhasil ditumbuhkan pada media Agar SWC dan media Agar TCBS (<i>Thiosulphate Citrate Bile Salt</i>).....	28
Perubahan panjang thallus (mm) yang terinfeksi dan mengalami perubahan warna putih berdasarkan waktu penularan bakteri <i>Vibrio</i> dengan kepadatan 10^6 sel/ml.....	41
Perubahan warna thallus pasca uji transmisi bakteri <i>Pseudomonas cepacia</i> , <i>Flavobacterium meningosepticum</i> , <i>Pseudomonas diminuta</i> , <i>Plesiomonas shigelloides</i> dengan kepadatan bakteri 10^6 sel/ml	41
Kontrol penelitian pada uji transmisi bakteri <i>Vibrio</i>	42
Panjang Thallus yang terinfeksi pasca transmisi bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> dengan kepadatan 10^6 sel/ml dengan interval waktu pengamatan 3 jam	43
Kondisi thallus rumput laut setelah pengamatan uji kohabitasi	45
Tahapan kejadian penyakit ice-ice dengan uji kohabitasi selama 5 (lima) hari pengamatan pada perlakuan berat thallus yang diinfeksi 30 g	46
Ukuran panjang <i>thallus</i> yang memutih pada perlakuan berat basah rumput laut terserang penyakit <i>ice-ice</i> (Perlakuan A = 30g, Perlakuan B= 35g, Perlakuan C = 40g, dan Perlakuan D = 45g), selama pengamatan	47

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

12	Berat basah rumput laut (g) selama masa uji kohabitasi dengan perlakuan berat basah rumput laut terinfeksi 30g, 35g, 40g, dan 45g selama 5 hari pengamatan	48
13	Tahapan kejadian penyakit <i>ice-ice</i> pada uji kohabitasi selama pengamatan pada perlakuan B (berat basah thallus terinfeksi penyakit <i>ice-ice</i> 35g.....	49
	Tahapan kejadian penyakit <i>ice-ice</i> pada uji kohabitasi selama pengamatan pada perlakuan C	50
	Tahapan kejadian penyakit <i>ice-ice</i> pada uji kohabitasi selama pengamatan pada perlakuan D	51
	Gejala penyakit <i>Ice-ice</i> dari sampel rumput laut <i>Kappaphycus alvarezii</i>	53
	Penampang histologi jaringan thallus rumput laut <i>K.alvarezii</i>	54
	Penampang histologi jaringan <i>thallus</i> rumput laut <i>K.alvarezii</i> terinfeksi Penyakit <i>ice-ice</i> berdasarkan hari pengamatan	55
	Kandungan karaginan (g) sesudah uji kohabitasi rumput laut terinfeksi bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> dengan <i>thallus</i> rumput laut sehat selama lima hari uji kohabitasi	57
	<i>Thallus</i> yang mengalami penurunan kandungan karaginan akibat perubahan warna (kehilangan pigmen)(A) dan terinfeksi penyakit <i>ice-ice</i>	58
21	Hasil elektroforesis gel hasil amplifikasi gen 16S rRNA.....	69
22	Dendogram bakteri strain bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> strain CIFRI V-TSB1 dan kerabatnya	71
23	Posisi primer aSEFM-F dan aSEFM-R pada sekuen DNA bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> strain CIFRI V-TSB1	73
	Hasil optimasi suhu annealing reaksi PCR dengan primer spesifik <i>Vibrio alginolyticus</i> (PNGK 1) pada suhu 60 ⁰ C	74
	Hasil elektroforesis genom hasil PCR sejumlah isolat dengan menggunakan primer aSEFM-F dan aSEFM-R. M.....	81
	Hasil Elektroforesis uji kepekaan PCR dengan primer aSEFM-F dan aSEFM-R.....	82



27	Hasil Elektroforesis uji kepekaan PCR dengan primer aSEFM-F dan aSEFM-R	82
28	Hasil Elektroforesis produk PCR dari ekstrak thallus rumput laut yang terinfeksi penyakit ice-ice dengan primer aSEFM-F dan aSEFM-R	83

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Nilai Parameter Kualitas Lingkungan Perairan Budidaya Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> yang Terinfeksi Penyakit <i>Ice-Ice</i> di pulau Panggang Kepulauan Seribu, DKI Jakarta selama periode tanam pada musim kemarau (April - Mei 2008) dan musim hujan (Desember 2008 – Januari 2009).....	100
Prosedur Histologi Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i>	101
Panjang Thallus Terinfeksi Penyakit <i>Ice-Ice</i> pada Uji Transmisi Bakteri <i>Vibrio</i> dengan Kepadatan Sel 10^6 /ml	102
Berat Basah Thallus (g) Terinfeksi Penyakit <i>Ice-Ice</i> pada Uji Transmisi Bakteri dengan Kepadatan Sel 10^6 /ml.....	103
Panjang Thallus Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> yang Terinfeksi Penyakit <i>Ice-Ice</i> Setiap Perlakuan Selama Pengamatan.....	105
Berat Basah Thallus Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> yang Terinfeksi Penyakit <i>Ice-Ice</i> Setiap Perlakuan Uji Kohabitasi Selama Pengamatan....	109
Hasil analisis varians perubahan berat thallus rumput laut yang terinfeksi Penyakit <i>ice-ice</i>	113
Hasil Analisis Uji lanjut Duncan dari Interaksi Taraf Perlakuan terhadap Transmisi Penyakit <i>Ice-Ice</i>	113
Hasil Analisis Varians Perubahan Thallus Rumput Laut <i>K. alvarezii</i> pada Uji Transmisi Penyakit <i>Ice-Ice</i> terhadap Rumput Laut Sehat.....	114
Hasil Analisis Uji Duncan terhadap Hari Transmisi Penyakit <i>Ice-Ice</i>	114
Persentase Kandungan Karaginan Rumput Laut <i>Kappaphycus alvarezii</i> pada akhir perlakuan thallus yang terinfeksi penyakit <i>ice-ice</i>	114
Hasil Analisis sidik Ragam (ANOVA) terhadap Interaksi Perlakuan pada Perubahan Kandungan Karaginan.....	115
Hasil Analisis Uji Duncan Interaksi antara Taraf Perlakuan.....	115

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

14	Prosedur Isolasi genom DNA.....	116
15	Ekstraksi DNA Bakteri (Kromosom) / Isolasi DNA Metode Phenol Cloroform.....	116
	Hasil BLAST Nucleotida Bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> (PNGK 1)	117
	Desain Primer beberapa Strain Bakteri	120
	Skema Desain Primer aSEFM-F dan aSEFM-R.....	125
	Susunan Nukleotida Bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i> strain CIFRI V-TSB1..	126



PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pengendalian penyakit *ice-ice* pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* di Indonesia belum tertangani dengan baik yang berakibat penurunan produksi rumput laut berkisar 70-100%. Penyakit *ice-ice* juga menyerang sentra budidaya di beberapa negara produsen rumput laut seperti di Filipina, Malaysia dan Tanzania (Vairappan *et al.* 2008).

Hasil identifikasi beberapa jenis bakteri pada *thallus* rumput laut didapatkan bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada pengelolaan budidaya rumput laut *K. alvarezii* yakni bakteri *Vibrio* sp. (Largo *et al.* 2003), sedangkan hasil penelitian Yulianto (2002) mendapatkan lima jenis bakteri dapat menimbulkan penyakit *ice-ice* yakni *Pseudomonas nigricaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio granii*, *Bacillus cylindricus* dan *Vibrio agarliquefaciens*.

Serangan penyakit *ice-ice* terhadap rumput laut mengalami peningkatan seiring dengan infeksi bakteri patogen terhadap *thallus* di kawasan budidaya rumput laut *K. alvarezii*. Kondisi tersebut disebabkan oleh meningkatnya aktivitas bakteri patogen dalam mensekresikan faktor-faktor virulensinya. Perkembangan aktivitas bakteri patogen pada *thallus* rumput laut mengakibatkan timbulnya bercak putih pada *thallus* dan berangsur-angsur menjadi keropos dan akhirnya *thallus* patah. Gejala penyakit *ice-ice* umumnya ditandai dengan pemutihan pada bagian pangkal *thallus*, tengah dan ujung *thallus* muda, yang diawali dengan perubahan warna *thallus* menjadi putih bening atau transparan. Pada umumnya penyebaran penyakit *ice-ice* terjadi secara vertikal oleh bibit *thallus* dan secara horizontal melalui perantaraan air (KP 2004).

Penyebaran serangan penyakit *ice-ice* di kawasan lokasi budidaya rumput laut *K. alvarezii* mempunyai dampak yang sangat besar terhadap industri karaginan. Di berbagai negara seperti Filipina dan Malaysia serangan penyakit *ice-ice* menimbulkan penurunan kandungan karaginan akibat depolimerasi terhadap *kappa* karaginan (Sendoza *et al.* 2002).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Pengelolaan budidaya rumput laut yang sehat dan bebas penyakit *ice-ice* merupakan komponen penting dalam peningkatan produksi rumput laut, sehingga diperlukan teknik deteksi penyakit *ice-ice* yang cepat dan akurat. Selama ini identifikasi dan deteksi bakteri patogen dilakukan berdasarkan pengamatan gejala klinis, riwayat kejadian penyakit di lokasi budidaya, karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri. Metode tersebut memiliki peran yang cukup penting sebagai studi awal, namun kurang dapat menentukan hubungan filogenetis bakteri dan spesiesnya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Suwanto 1994). Identifikasi genetik bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada rumput laut yang dibudidayakan dengan menggunakan teknik molekuler DNA memiliki keunggulan dalam membedakan keragaman genetik dalam satu spesies yang sama (*intraspecies*).

Seiring dengan perkembangan teknologi dalam bidang kesehatan ikan, berbagai teknik identifikasi dan deteksi telah dikembangkan, namun kajian tentang penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut belum banyak mendapat perhatian sehingga kuantitas dan kualitas produksi rumput laut menjadi fluktuatif. Metode deteksi yang banyak dikembangkan saat ini adalah metode deteksi secara molekuler melalui analisis DNA genom yang berbasis teknik PCR.

Metode PCR telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi dan mendeteksi patogen pada pengelolaan budidaya udang. Metode PCR juga telah dikembangkan untuk membedakan dan mendeteksi bakteri patogen ikan dan udang berdasarkan amplifikasi gen-gen tertentu yang lebih spesifik seperti sekuen gen 16S-rRNA, gen toksin, dan gen hemolysin serta gen lux (Conejero and Hedreyeda 2003, 2004).

Pemanfaatan gen 16S-rRNA telah digunakan sebagai parameter sistematik molekuler yang universal, representatif, dan praktis untuk mengkonstruksi kerabat filogenetik pada tingkat spesies (Case *et al.* 2007). Meskipun demikian, pemanfaatan gen 16S-rRNA untuk metode deteksi molekuler dianggap memiliki akurasi yang rendah karena sebagian besar hasil runutan DNA 16S-rRNA menunjukkan adanya kesamaan yang tinggi di dalam satu spesies. Dengan demikian, diperlukan validasi dan pengembangan pengujian untuk mendeteksi bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada rumput laut yang dibudidayakan.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas deteksi molekuler berbasis PCR yakni pemilihan primer yang tepat (Rychlic 1995). Primer PCR merupakan oligonukleotida yang berperan untuk mengawali proses amplifikasi molekul DNA. Keberadaan primer PCR tersebut menyebabkan gen target akan amplifikasi sepanjang reaksi PCR berlangsung. Analisis PCR dengan primer spesifik merupakan langkah terbaik untuk kepentingan deteksi bakteri patogen karena dapat menghasilkan penentuan secara cepat keberadaan gen target, cukup sensitif dan mudah digunakan dalam kegiatan rutin.

Untuk merancang primer spesifik tersebut diperlukan data sekuen gen yang menyandikan protein sejenis dengan fragmen yang akan diamplifikasi melalui PCR. Riset imun kajian spesifik ke arah analisis gen bakteri patogen dari *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut di atas, maka dilakukan penelitian tentang isolasi, identifikasi bakteri patogen yang menyebabkan penyakit *ice-ice*, tingkat patogenisitas bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* dan pemanfaatan sekuen gen 16S-rRNA untuk mendesain primer spesifik PCR dalam deteksi cepat dan akurat.

kerangka Pemikiran

Meningkatnya intensitas aktivitas virulensi bakteri patogen memicu serangan penyakit *ice-ice* pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Fenomena peningkatan penyakit *ice-ice* ditandai dengan perubahan *thallus*, baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Serangan wabah penyakit *ice-ice* pada rumput laut diawali dengan perubahan warna *thallus* yang memudar/pucat (klorosis), permukaan *thallus* kasar, berlendir dan berangsur-angsur menjadi putih, keropos sehingga pada akhirnya *thallus* rumput laut menjadi patah.

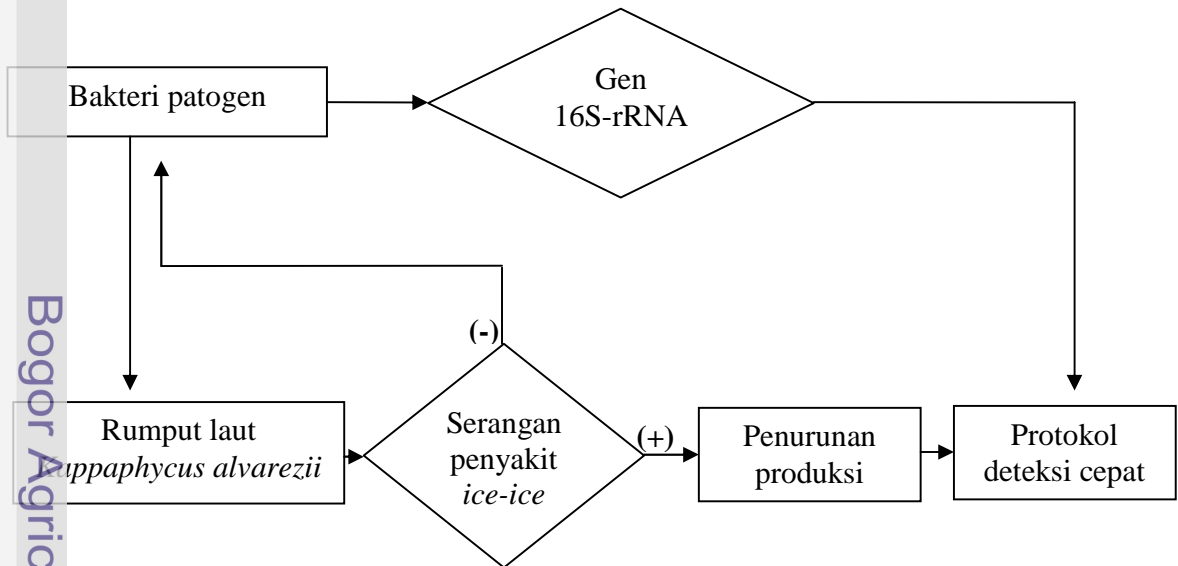
Peningkatan intensitas serangan penyakit *ice-ice* oleh infeksi bakteri patogen pada *thallus* rumput laut diindikasikan dengan munculnya bintik putih pada ujung, tengah serta pangkal *thallus*. Penyebaran penyakit *ice-ice* semakin meningkat seiring dengan waktu, yang ditandai dengan bertambahnya panjang *thallus* yang menunjukkan gejala penyakit *ice-ice*. Perubahan warna *thallus* menjadi putih semakin

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

meningkat seiring dengan kerusakan jaringan (nekrosis) akibat kematian sel. Kondisi tersebut mengakibatkan kegagalan produksi dari pembudidaya rumput laut.

Berbagai upaya dilakukan dalam mengendalikan penyakit *ice-ice* di kawasan lokasi budidaya rumput laut namun belum menunjukkan hasil yang signifikan. Upaya tersebut meliputi perubahan pola musim tanam, metode penanaman, serta penggunaan berbagai jenis/spesies *thallus*, umur *thallus* dan bagian *thallus* rumput laut yang dijadikan bibit untuk penanaman selanjutnya. Diduga bahwa bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* telah memasuki jaringan *thallus* rumput laut sehingga dibutuhkan suatu teknologi yang dapat mendeteksi keberadaan bakteri patogen secara spesifik dan sensitif. Metode deteksi secara molekuler dianggap memiliki spesifikasi dan sensitivitas yang tinggi sehingga sangat sesuai untuk diterapkan dalam mendeteksi bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice*. Teknik PCR merupakan salah satu metode molekuler yang dominan digunakan dalam mendeteksi keberadaan bakteri patogen dengan memanfaatkan gen 16S-rRNA sebagai target. Pengembangan pemanfaatan metode deteksi dengan teknik PCR sangat diharapkan dalam upaya mengatasi penyebaran penyakit *ice-ice*. Selanjutnya secara detail alur pikir penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Alur pikir pendekatan masalah

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri dari rumput laut budidaya yang terinfeksi penyakit *ice ice*.
2. Mengkaji patogenisitas bakteri dari hasil isolasi bakteri dari rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice*.
3. Mengkaji transmisi penyakit *ice-ice* pada rumput laut melalui uji kohabitasi.
4. Mengidentifikasi bakteri patogen berdasarkan hasil analisis sekuen gen 16S-rRNA.
5. Mendesain primer PCR spesifik dari sekuen gen 16S-rRNA bakteri yang memiliki tingkat patogenisitas tertinggi.
6. Mengoptimasi primer spesifik gen 16S-rRNA untuk deteksi cepat bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada rumput laut budidaya .

Penelitian ini dapat menjelaskan 1) Strain bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* 2) Tingkat patogenisitas bakteri patogen terhadap rumput laut *K. alvarezii*, 3) Transmisi penyakit *ice-ice* pada rumput laut *K. alvarezii* serta 4) Pemanfaatan gen 16S-rRNA bakteri patogen untuk deteksi cepat dan akurat bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice*. Manfaat penelitian yakni untuk merumuskan pemecahan masalah penyakit *ice ice* yang terjadi pada pengelolaan budidaya rumput laut jenis *Kappaphycus alvarezii* ; Menghasilkan suatu protokol metode deteksi penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut *K. alvarezii* yang dibudidayakan dengan cepat dan akurat.

Kebaruan Penelitian

Kebaruan (*novelty*) dalam penelitian ini adalah 1) Bakteri *Vibrio alginolyticus* sebagai penyebab penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii*, 2) Protokol metode deteksi penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut dengan cara cepat dan akurat.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



TINJAUAN PUSTAKA

Diskripsi *Kappaphycus alvarezii*

Rumput laut terdiri dari beberapa jenis yang dapat dibedakan berdasarkan bentuk morfologi dan warnanya. Menurut Doty (1986), *Euchema cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*Rhodophyceae*) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii*. Perubahan tersebut secara taksonomi didasarkan tipe kandungan karaginan yang dihasilkan yaitu kappa-karaginan .

Jenis ini secara taksonomi disebut *Kappaphycus alvarezii* (Doty 1985). Nama daerah `cottonii` umumnya dikenal dan biasa dipakai dalam dunia internasional. Klasifikasi *Euchema cottonii* menurut Doty (1985) adalah : Kingdom Plantae, Kelas Rhodophyta, Ordo Rhodophyceae, Famili Soliraceae, Genus *Euchema*, Speies *Euchema cottonii* atau *Kappaphycus alvarezii* (Doty).

Ciri fisik *Kappaphycus alvarezii* ditandai oleh *thallus* silindris dengan permukaan licin dan cartilogenous. Warna *thallus* tidak selalu tetap, kadang-kadang berwarna hijau, kuning, abu-abu atau merah. Perubahan warna sering terjadi karena pengaruh faktor lingkungan. Kejadian ini merupakan suatu proses adaptasi kromatik yaitu penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan (Largo *et al.* 1995). Penampakan *thalli* bervariasi mulai bentuk sederhana sampai kompleks. Duri-duri pada *thallus* runcing memanjang, agak jarang-jarang dan tidak bersusun melingkari *thallus*. Percabangan ke berbagai arah dengan batang-batang utama keluar saling berdekatan ke daerah basal (pangkal). Tumbuh melekat pada substrat dengan alat perekat berupa cakram. Cabang-cabang pertama dan kedua tumbuh dengan membentuk rumpun yang rimbun dengan ciri khusus mengarah ke arah datangnya matahari (Atmaja 1986).

Beberapa *Kappaphycus alvarezii* mempunyai peranan penting dalam dunia perdagangan internasional sebagai penghasil ekstrak karaginan. Kadar karaginan dalam setiap spesies *Kappaphycus alvarezii* berkisar 54 - 73% tergantung jenis dan lokasi tempat tumbuhnya. Jenis ini pada awalnya didapatkan dari perairan Sabah (Malaysia) dan Kepulauan Sulu (Filipina). Selanjutnya dikembangkan ke berbagai

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



negara sebagai tanaman budidaya. Lokasi budidaya rumput laut jenis ini di Indonesia antara lain Lombok, Sumba, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Maluku, Kepulauan Seribu dan Perairan Pelabuhan Ratu (Atmaja 1986). Umumnya *Kappaphycus alvarezii* tumbuh dengan baik di daerah pantai terumbu (*reef*).

Penyakit *Ice Ice* di Indonesia

Penyakit merupakan suatu gangguan fungsi, dimana terjadi perubahan anatomi atau struktur dari normal menjadi abnormal, seperti perubahan dalam laju pertumbuhan atau penampakan seperti warna dan bentuk yang akhirnya berpengaruh terhadap tingkat produktivitas hasil. Penyakit yang menyerang rumput laut dikenal sebagai *ice-ice*. Penyakit ini juga menyerang rumput laut jenis *K. alvarezii*. Penyakit *ice-ice* pertama kali dilaporkan pada tahun 1974, ketika penyakit ini menyerang hampir semua budidaya rumput laut di negara Filipina (Largo *et al.* 1995).

Penyakit *ice-ice* sangat meresahkan para petani rumput laut di beberapa daerah di Indonesia, misalnya di daerah Desa Jungut Batu, Pulau Lembongan, Pulau Nusa Penida-Bali. Jika rumput laut sudah terserang *ice-ice*, para petani rumput laut segera memanennya lebih cepat dari biasanya karena dikhawatirkan akan mengakibatkan kerugian yang lebih besar. Puluhan petani rumput laut di Teluk Lewoleba, Kelurahan Lewoleba Utara sampai Pantai Wangatoa, Kelurahan Lewoleba Timur, Kecamatan Nubatukan, Kabupaten Lembata, Kupang, mengeluhkan penyakit *ice-ice* yang menyerang rumput laut. Ketika rumput laut dipanen yang ditemukan hanya tali tempat menggantungkan rumput laut, karena semua rumput laut sudah patah dan hancur. Seiring perkembangan budidaya rumput laut di Indonesia penyebaran penyakit *ice-ice* hampir terjadi di seluruh sentra produksi rumput laut. Di Kepulauan Seribu penurunan hasil produksi secara drastis menurun hingga 80%, di Lombok dan Sulawesi Selatan penurunan hasil produksi rumput laut yang disebabkan oleh penyakit *ice-ice* sekitar 50%, di Palu, Kalimantan dan Maluku menurun hingga 30%, (Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya-DKP 2002).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gejala Penyakit *Ice-Ice*

Perwujudan nama “*ice-ice*“ berasal dari bahasa Inggris, diucapkan dalam bahasa Melayu lokal yang menggambarkan bagian *thallus* yang berubah menjadi putih transparan (Lundsor 2002). Pada awalnya *thallus* mengalami perubahan warna dari warna terang menjadi pucat dan permukaan *thallus* kasar karena kehilangan lendir. Selanjutnya timbul bintik /bercak putih pada permukaan *thallus* dan ujung *thallus* memutih, pada akhirnya seluruh *thallus* memutih, keropos dan patah.

Proses pemutihan diawali dari bercak putih yang timbul pada permukaan *thallus* rumput laut dengan ukuran bercak yang bervariasi, tergantung pada waktu munculnya. Ukuran bercak semakin melebar dengan bersatunya banyak bercak. *Thallus* terus menerus mengalami pemutihan dan keropos sehingga mudah patah.

Proses Terjadinya Penyakit

Rumput laut merupakan organisme poikilotermik yaitu proses fisiologisnya sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan hidupnya. Setiap perubahan lingkungan yang ekstrim menyebabkan stress pada organisme perairan. Keadaan ini akan berpengaruh pada turunnya status kesehatan rumput laut. Rumput laut hidup dalam ekosistem akuatik yang terdiri dari komponen biotik dan abiotik yang saling berinteraksi satu sama lain. Komponen abiotik terdiri dari faktor fisik, kimia, sedangkan biotik berperan dalam menimbulkan penyakit atau gangguan kesehatan pada rumput laut (Casadevall and Pirofski 2001).

Timbulnya penyakit infeksi pada rumput laut diakibatkan terjadinya ketidakseimbangan hubungan antara inang, patogen dan lingkungan habitat media rumput laut. Penyakit non infeksi disebabkan oleh kondisi kesehatan rumput laut menurun atau kondisi lingkungan yang kurang mendukung, sehingga rumput laut mengalami stress, dan menyebabkan penurunan kemampuan rumput laut untuk mempertahankan diri dari penularan infeksi penyakit (Lobban and Horison 1994).

Patogenisitas Bakteri

Defenisi patogenisitas dan virulensi kadang menimbulkan pemahaman yang berbeda meskipun keduanya memiliki arti yang berbeda secara substansial.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Patogenisitas merupakan kualitas kemampuan untuk menghasilkan penyakit terhadap kelompok-kelompok atau spesies mikroorganisme sedangkan virulensi digunakan dalam pengertian derajat patogenisitas dalam kelompok atau kemampuan mikroorganisme untuk menyerang dan melukai jaringan inang (Thomas and Joseph, 2004). Patogenisitas adalah proses berjangkitnya penyakit yang dimulai dari terjadinya infeksi sampai timbulnya penyakit (Lacey 1997). Salyer dan Whitt (1994) menyatakan bahwa patogenisitas suatu bakteri ditentukan oleh kemampuan pelekatan pada sel inang serta kemampuannya melakukan kolonisasi dan mengekspresikan faktor- faktor virulensi, sedangkan pengertian virulensi itu sendiri adalah derajat kemampuan suatu mikroba untuk menyebabkan infeksi. Jadi, sifat mikroba yang meningkatkan patogenisitas mikroorganisme disebut faktor virulensi. Jika mikroorganisme menyerang inang atau memasuki jaringan tubuh dan berkembang biak, maka terjadilah infeksi.

Respon inang terhadap infeksi yang ditandai dengan terganggunya fungsi tubuh disebut penyakit. Jadi, patogen ialah mikroorganisme atau makroorganisme yang mampu menimbulkan penyakit. Faktor-faktor yang mempengaruhi suatu bakteri sehingga mampu menyebabkan penyakit diantaranya adalah kemampuan bakteri untuk menempel dan masuk ke dalam tubuh inang, kemampuan untuk mengambil nutrisi dan bertahan hidup dalam inang, kemampuan untuk berkembang biak serta kemampuan untuk bertahan dari sistem pertahanan tubuh inang (Pelczar dan Chan 1988).

Bakteri dan Penyakit Bakterial

Bakteri merupakan organisme uniseluler, berukuran $0,5 - 1,5 \mu\text{m} \times 11,0-13,0 \mu\text{m}$ tergolong protista prokariot yang dicirikan dengan tidak adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Secara umum bakteri berbentuk bulat, batang dan spiral dengan sifat Gram negatif dan Gram positif. Dalam lingkungan akuatik, pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi, pH, suhu, kesadahan dan salinitas. Beberapa bakteri yang mudah tumbuh dan berkembang dalam perairan atau tanah adalah patogen oportunistik, seperti *Vibrio* spp dan *Staphylococcus aureus*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



(Greenwood *et al.* 1995). Bakteri umumnya amat kuat, masih tetap hidup pada suhu tinggi, rendah, kering, dan kadang tidak dapat mati oleh desinfektan. Dalam kondisi yang tidak normal, bakteri akan membentuk spora yang tahan lama dan aktif lagi bila lingkungan mendukung.

Bakteri patogen pada organisme budidaya laut tergolong mesofilik dengan suhu optimum 10–30 °C, umumnya bersifat gram negatif dan berbentuk batang. Namun, beberapa patogen batang atau bulat bersifat gram positif dan beberapa diantaranya berbentuk batang tahan asam. Bakteri yang mampu menyebabkan penyakit (patogen) pada organisme perairan yang dibudidayakan hampir selalu dapat pada tubuh eksternal. Bakteri adalah jasad renik yang terdapat, baik di udara, air, dan tanah maupun dalam tubuh makhluk hidup (Austin dan Austin 1993).

Beberapa bakteri yang biasa menyerang organisme laut adalah *Vibrio* sp., *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Photobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Vibrio* sp., *Micrococcus* sp., *Flexibacter* sp., dan *Alcaligenes* sp. (Austin dan Austin 1993).

Pada umumnya bakteri mempunyai satu kromosom. Kromosom bakteri berupa DNA berbentuk sirkular atau DNA berbentuk lingkaran. Disamping memiliki satu kromosom, berbagai jenis bakteri juga memiliki DNA sirkular lainnya yang ukurannya jauh lebih kecil dari DNA kromosomnya. DNA sirkuler selain kromosom yang terdapat pada bakteri disebut plasmid. Jadi plasmid merupakan DNA bakteri yang terpisah dengan kromosom bakteri. Plasmid dapat bereplikasi sendiri. Plasmid juga mengandung berbagai gen. Jenis, jumlah jenis dan jumlah tiap jenis (*copy*) plasmid bervariasi antar sel, bahkan antar sel dalam satu spesies bakteri.

Karaginan

Karaginan merupakan getah rumput laut yang diekstraksi dengan air atau larutan alkali dari spesies tertentu dari kelas *Rhodopyceae* (alga merah). Spesies *Gracilaria lemaneiformis* merupakan penghasil *kappa* karaginan, sedangkan spesies *Gracilaria tikvahiae* merupakan penghasil *lambda* karaginan. *Gracilaria tikvahiae* merupakan penghasil *lambda* karaginan. *Gracilaria tikvahiae* merupakan penghasil *lambda* karaginan. *Gracilaria tikvahiae* merupakan penghasil *lambda* karaginan. *Gracilaria tikvahiae* merupakan penghasil *lambda* karaginan. Karaginan merupakan polisakarida yang berasal dari ekstraksi alga. Karaginan terdiri dari *iota* karaginan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



dan kappa karaginan yang kandungannya tergantung musim, spesies, dan habitat. Di dalam karaginan terdapat garam sodium, potasium dan kalsium. Karaginan, potasium yang terdiri dari α -karaginan dan β -karaginan sifatnya dapat larut di air panas, sedangkan karaginan sodium dapat larut dalam air dingin (Mendoza *et al.* 2002).

Istilah karaginan mencakup sekelompok polisakarida linear sulfat dari D-galaktosa dan 3,6-anhidro-D-galaktosa yang diekstraksi dari jenis-jenis alga merah (Eckman 1983). Karaginan merupakan senyawa hidrokoloid yang terdiri dari ester kalsium, natrium, magnesium dan kalsium sulfat, dengan galaktosa dan 3,6-anhidro-D-galaktosa sebagai monomer penyusunnya, disebut *anhydrogalaktocopolimer*. Karaginan dapat diperoleh dari hasil pengendapan alkohol, pengeringan dengan alat (*drum drying*) dan pembekuan. Jenis alkohol yang dapat digunakan untuk pemurnian yaitu metanol, ethanol dan isopropanol.

Menurut Doty (1985), rumput laut yang dihasilkan di Indonesia sampai saat ini masih tergolong kualitas rendah, bila dilihat dari indeks nilainya. Rumput laut standar memiliki CAY (*Clean Anhydrous Carrageenan Yield*) yaitu kandungan karaginan dalam rumput laut bersih dan kering. Kadar karaginan menurut standar sebesar 40% sedangkan rumput laut kualitas rendah hanya memiliki kadar karaginan sebesar 30%.

Menurut Mubarak (1978), bahwa kandungan karaginan, algin dan agar yang dikandung rumput laut sangat ditentukan oleh jenisnya, iklim serta lokasi areal budidaya dan kandungan senyawa di dalam rumput laut sangat dipengaruhi oleh musim, habitat dan umur tanaman. Kandungan karaginan pada rumput laut jenis *Kappaphycus alvarezii* terdapat dalam *thallus* dinding sel. Dinding sel alga merah tersusun atas dua lapisan yaitu lapisan dalam dan lapisan luar. Lapisan dalam yang lebih keras banyak mengandung selulosa, sedangkan lapisan luar terdiri dari substansi pektik yang mengandung agar dan karaginan (Levring *et al.* 1969).

Struktur Jaringan Rumput Laut

Semua tubuh tumbuhan rumput laut disebut talus (*thallus*), yaitu istilah yang digunakan untuk menyatakan tubuh tumbuhan yang tidak berdiferensiasi menjadi

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



akar, batang, dan daun. Walaupun tidak memiliki organ tersebut namun rumput laut bersel banyak dan sangat kompleks.

Struktur dasar sel dari rumput laut terdiri dari: *Dinding sel*, dinding sel rumput laut terutama dari selulosa, tapi dinding sel sebagian besar rumput laut berisi pula komponen bergelatin yang juga berupa polisakarida (Lourenco *et al.* 2006). *Kloroplas*, terdapatnya satu atau banyak kloroplas merupakan ciri yang jelas dari sel-sel alga. Kloroplas sangat bervariasi bentuknya dan tidak selalu hijau; warna klorofilnya terhalang oleh adanya pigmen-pigmen lain. Kloroplas berbagai alga berisi satu atau lebih tubuh berprotein yang terspesialisasi, yang disebut pirenoid. Fungsi pirenoid belum diketahui dengan jelas, terutama karena dalam tubuh alga ini polisakarida dan cadangan makanan lain disintesis di luar kloroplas. *Inti*, terdapat pada semua sel alga berbentuk bulat telur dan bulat. Inti sel merupakan sentra segala proses yang berlangsung dalam sel tersebut. Butir-butir inti ini penting sekali fungsinya dalam pembentukan protein dalam sel dan akan hilang sementara, yaitu saat terjadinya pembelahan sel secara *mitosis*, akan tetapi setelah terbentuknya anak-anak sel pada pembelahan akhir maka butir-butir inti ini timbul kembali dalam masing-masing inti dari anak-anak sel tersebut.

Rumput laut merupakan salah satu tumbuhan tingkat rendah yang secara morfologi tidak bisa dibedakan antara akar, batang dan daun. Berdasarkan struktur jaringan yang disusun oleh organela dan sel dapat dibedakan antara struktur penyusun dengan organisme lain. Struktur yang membedakan sel rumput dengan sel yang lain adalah keberadaan dinding sel yang merupakan lapisan terluar dari sel yang berbatasan dengan dinding sel.

Identifikasi Bakteri dengan Teknik Molekuler

Identifikasi bakteri dapat dilakukan menggunakan analisis fenotipik dengan mempelajari sifat fisiologis atau biokimianya (Hadioetomo 1993) maupun analisis fenotipik secara molekuler. Seringkali hasil uji biokimia atau fisiologi tersebut berbeda karena perbedaan ekspresi gen. Untuk karakterisasi galur-galur dalam satu

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



spesies perlu dilihat sifat yang paling mendasar dan relatif stabil yaitu analitik genotipik (Singleton 1995).

Gen 16S-rRNA sebagai gen target untuk menganalisa keragaman genom diantara *V.parahaemolyticus* dan *V. alginolyticus* yang diisolasi dari tambak udang (deesh *et al.* 2002). Sedangkan Schlulze *et al.* (2006) menggunakan gen 16S-rRNA untuk identifikasi keragaman bakteri di lingkungan hatchery. Dasar penggunaan gen 16S-rRNA dengan berbagai alasan mendasar yaitu ; (1) bersifat universal : *protein synthesis machinery* (2) sekuen basa-basanya bersifat konservatif; (3) jumlahnya melimpah dalam sel; (4) memenuhi ukuran untuk perhitungan secara statistika (tidak terlalu panjang dan terlalu pendek); (5) ketersediaan informasi (data bank/database di GenBank) (Madigan *et al.* 1997). Proses amplifikasi gen 16S-rRNA dapat dilakukan melalui teknik PCR.

Gen 16S-rRNA

Kunci untuk mengerti keragaman mikroba adalah sistem klasifikasi yang dapat diandalkan. Secara tradisional, bakteri diklasifikasikan terutama berdasarkan sifat-sifat fenotipik. Akan tetapi hasinya tidak selalu dapat diandalkan secara filogeni. Metode molekuler terutama klasifikasi dan identifikasi berbasis filogenetik, menggunakan parameter yang tidak bergantung pada kondisi pertumbuhan dan media yang digunakan. Pendekatan yang umum dipakai saat ini adalah analisis sekuen gen 16S-rRNA (Case *et al.* 2007). Ribosomal RNA (r-RNA) merupakan salah satu makromolekul paling menarik karena molekul ini merupakan kerangka dari ribosom yang sangat berperan dalam mekanisme translasi. Semua rRNA identik secara fungsional yakni terlibat dalam produksi protein. Meski demikian, sekuen di bagian-bagian tertentu terus berevolusi dan mengalami perubahan pada level struktur primer sambil tetap mempertahankan struktur sekunder dan tersier yang homologus (Schluenzen *et al.* 2000).

Molekul rRNA sangat khas karena disusun oleh daerah-daerah konservasi yang lebih tinggi dan lebih rendah secara evolusioner. Beberapa segmen RNA berevolusi sangat lambat sehingga filogeni dari taksa yang berdekatan dapat

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



dikonstruksi kembali. Bagian lain cukup bervariasi sehingga dapat dipakai untuk menggolongkan spesies ke dalam genus. Banyaknya posisi pada molekul 16S-rRNA dan 23S-rRNA yang berevolusi secara bebas menyediakan data untuk menduga hubungan filogenetik sekelompok mikroba. Alasan praktis pemakaian rRNA adalah tersediaan bagi umum untuk dapat mengakses database. Sifat rRNA yang sangat terkonservasi memungkinkan untuk mensintesis primer universal untuk proses PCR yang mampu melekat pada sekuen terkonservasi dari gen rRNA ketiga domain filogenetik: Archaea, Bacteria dan Eukarya. Daerah yang sangat terkonservasi tersebut seringkali dipakai menjadi situs pelekatan primer dalam rangka mengamplifikasi gen 16S-rRNA secara *in vitro* dari *template* yang diisolasi langsung dari lingkungan (Francourt *et al.* 2000).

Didasarkan pada prinsip amplifikasi gen 16S-rRNA dengan teknik PCR menggunakan DNA templat yang diisolasi dari lingkungan dapat dibuat pustaka klon gen tersebut. Sekuen gen 16S-rRNA selanjutnya dapat digunakan untuk menduga sifat-sifat organisme yang belum dapat dikulturkan; mengidentifikasi model untuk kultivasi (dari kerabat dekat); sintesis pelacak oligonukleotida untuk tujuan identifikasi, pemisahan morfologi, fisik, deteksi pertumbuhan spesifik dalam kultur campuran, memantau distribusinya di alam dan mengevaluasi laju pertumbuhan relative *in situ*; dan survey keragaman hayati dengan cepat dan komprehensif. Karena kemudahan dan kecepatannya, saat ini teknik PCR digunakan secara luas sebagai metode pilihan untuk mengamplifikasi fragmen DNA spesifik. Terdapat beberapa primer universal yang umum digunakan untuk mengamplifikasi gen 16S-rRNA bakteri, diantaranya 23f dan 24f serta 1392r dan 1492r (penomoran primer mengikuti konsensus sekuen 16S-rRNA *E. Coli*). Marchesi *et al.* (1998) mendesain dan mengevaluasi primer 63f dan 1387r untuk amplifikasi gen 16S-rRNA dari domain bakteri. Pasangan primer ini mampu mengamplifikasi gen 16S-rRNA dengan ukuran sekitar 1300 pasang basa. Kedua primer ini berhasil mengamplifikasi gen 16S-rRNA dari spesies yang secara teoritis menunjukkan derajat *mismatch* pada ujung 5' lebih tinggi apabila dibandingkan dengan pasangan 27F-1392R. Keberhasilan tersebut juga menunjukkan konsistensi untuk mengamplifikasi gen 16S-rRNA dari templat DNA

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



yang diisolasi dari organisme yang tergolong dalam *Coryneform*, *Micrococcus* (Gram positif, High G+C).

PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan teknik untuk keperluan amplifikasi DNA secara *in vitro* yang seringkali mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Amplifikasi DNA secara *in vitro* dengan PCR terdiri atas beberapa siklus yang setiap siklusnya terdiri dari 3 tahap yaitu tahap denaturasi, pelekatan (*annealing*) dan pemanjangan (*elongasi*). Tahap denaturasi adalah pembentukan DNA utas tunggal dari DNA utas ganda (putusnya hidrogen dari kedua utas tunggal DNA yang komplementer) yang umumnya terjadi pada suhu $\geq 95^{\circ}\text{C}$. Tahap *annealing* yaitu pelekatan primer yang terjadi pada suhu $35\text{-}65^{\circ}\text{C}$, bergantung panjang pendeknya oligonukleotida primer yang digunakan. Sedangkan tahap pemanjangan primer terjadi sebagai hasil aktivitas polimerisasi oleh enzim *Taq* polimerase, yang pada umumnya dilakukan pada suhu 70°C (Griffin dan Griffin 1993; Madigan *et al.* 1997).

Teknik ini banyak dilakukan untuk keperluan deteksi atau identifikasi cepat bakteri patogen (Madigan *et al.* 1997). Teknik PCR-RFLP gen 16S-rRNA dikembangkan untuk mengetahui keragaman bakteri dengan cara mengamplifikasi gen 16S-rRNA menggunakan primer universal domain bakteri (Marchesi *et al.* 1998). Adanya keragaman genetik ini dapat dilihat dengan membandingkan profil DNA hasil amplifikasi (dalam hal ini gen 16S-rRNA) setelah didigesti dengan enzim restriksi tertentu (Suwanto 1995). Perbedaan profil DNA (jumlah dan ukuran pita DNA yang terbentuk pada gel elektroforesis) menunjukkan adanya keragaman genetik.

Teknik PCR adalah suatu teknik biologi molekuler untuk memperbanyak kuantitas DNA tertentu (lebih dari 100 juta kopi) dengan waktu relatif singkat (beberapa jam), oleh karena itu teknik ini bisa disebut amplifikasi DNA. Dengan PCR, molekul DNA dapat diperbanyak sampai jutaan kopi dalam tabung reaksi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Beberapa primer yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen 16S-rRNA (Marchesi *et al.* 1998), diantaranya adalah 27f dan 149r. Namun kedua primer tersebut belum dapat mengamplifikasi sampel bakteri yang berasal dari beragam sumber seperti sedimen laut dalam, bakteri rongga mulut, dan bakteri yang diisolasi dari ephiliton (bakteri yang berasosiasi dengan batu pada habitat air mengalir). Selain itu ada pula primer 63f dan 1387r yang telah diuji coba berhasil mengamplifikasi gen 16S-rRNA dari berbagai sumber diantaranya sedimen laut dalam.

Karakterisasi bakteri patogen pada tingkat subspecies menjadi suatu studi yang sangat penting untuk mempelajari segala sesuatu yang berhubungan dengan epidemiologi penyakit. Metode karakterisasi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan analisis fenotip yaitu dengan mempelajari sifat fisiologis atau biokimianya maupun analisis genotipik/secara molekuler. Seringkali hasil uji biokimia atau fisiologis tersebut sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan ataupun kondisi sel itu sendiri karena perbedaan ekspresi gen. Untuk karakterisasi galur-galur dalam suatu spesies perlu dilihat sifat yang paling mendasar dan relatif stabil yaitu dengan analisis genotipik (Suwanto 1995).

Para ahli taksonomi mikroba dewasa ini telah mengakui bahwa analisis DNA merupakan cara terbaik untuk karakterisasi spesies dan menentukan hubungan antara organisme yang berbeda-beda. Secara ideal, perbandingan antara galur dalam spesies dapat dilakukan dengan menganalisis sekuen DNA seluruh genom organisme tersebut dan kemudian membandingkannya dengan sekuen DNA dari genom organisme lain. Namun saat ini, cara ini kurang praktis untuk analisa secara rutin (Suwanto 1995).

Secara umum metode molekuler untuk keperluan pencirian dan identifikasi bakteri dapat digolongkan menjadi metode yang berdasar pada analisis asam nukleat atau analisis protein. Analisis profil asam nukleat mencakup analisis profil plasmid (*plasmid profiling*).

Sekuensing

Dewasa ini hampir semua usaha sekuensing DNA dilakukan dengan menggunakan *metode terminasi rantai* yang dikembangkan oleh Frederick Sanger. Teknik tersebut melibatkan terminasi atau penghentian reaksi sintesis DNA *in vitro*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



yang spesifik untuk sekuens tertentu menggunakan substrat nukleotida yang telah dimodifikasi.

Sekuens DNA menyandikan informasi yang diperlukan bagi makhluk hidup untuk melangsungkan hidup dan berkembang biak. Dengan demikian, penentuan sekuens DNA berguna di dalam ilmu pengetahuan 'murni' mengenai mengapa dan bagaimana makhluk hidup dapat hidup, selain berguna dalam penerapan praktis. Karena DNA merupakan ciri kunci makhluk hidup, pengetahuan akan sekuens DNA sangat berguna dalam penelitian biologi manapun. Sebagai contoh, dalam ilmu pengobatan sekuensing DNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi, mendiagnosis, dan mengembangkan pengobatan penyakit genetik. Demikian pula halnya, penelitian tentang agen penyebab penyakit (patogen) dapat membuka jalan bagi pengobatan penyakit menular. Bioteknologi, yang dapat pula memanfaatkan sekuensing DNA, merupakan bidang yang berkembang pesat dan berpotensi menghasilkan banyak barang dan jasa berguna.

Karena RNA dibentuk dengan transkripsi dari DNA, informasi yang terkandung RNA juga terdapat di dalam DNA cetakannya sehingga sekuensing DNA cetakan tersebut sudah cukup untuk membaca informasi pada RNA. Namun demikian, sekuensing RNA dibutuhkan khususnya pada eukaryot, karena molekul RNA eukaryot tidak selalu sebanding dengan DNA cetakannya karena pemotongan intron setelah proses transkripsi.

Pada metode terminasi rantai (metode Frederich Sanger), perpanjangan atau ekstensi rantai DNA dimulai pada situs spesifik pada DNA cetakan dengan menggunakan oligonukleotida pendek yang disebut *primer* yang komplementer terhadap DNA pada daerah situs tersebut. *Primer* tersebut diperpanjang menggunakan DNA polimerase, enzim yang mereplikasi DNA. Bersama dengan *primer* dan DNA polimerase, diikutsertakan pula empat jenis basa deoksinukleotida (yaitu pembentuk DNA), juga nukleotida pemutus atau penghenti rantai (*terminator* rantai) dalam konsentrasi rendah (biasanya di-deoksinukleotida). Penggabungan nukleotida pemutus rantai tersebut secara terbatas kepada rantai DNA oleh DNA polimerase menghasilkan fragmen-fragmen DNA yang berhenti bertumbuh

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



hanya pada posisi pada DNA tempat nukleotida tertentu tersebut tergabungkan. Fragmen-fragmen DNA tersebut lalu dipisahkan menurut ukurannya dengan elektroforesis gel poliakrilamida, atau sekarang semakin lazim dengan elektroforesis menggunakan tabung gelas berjari-jari kecil (pipa kapiler) yang diisi dengan polimer kaptal (Alberts *et al.* 2002). Seiring dengan perkembangannya, kini terdapat beberapa macam metode sekuensing terminasi rantai yang berbeda satu sama lain terutama dalam hal pendeteksian fragmen DNA hasil reaksi sekuensing.

Isolasi DNA Langsung dari *Thallus* Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Isolasi DNA dari *thallus* rumput laut sangat bermanfaat selain untuk mendeteksi organisme yang belum dapat dikulturkan di laboratorium, juga untuk mendeteksi gen rekombinan pada kondisi alamiah, mempelajari keragaman genetika dan perubahannya pada ekosistem mikroba. Karena umumnya sel mikroba terikat kuat pada jaringan *thallus* khususnya yang telah terinfeksi penyakit *ice-ice*, maka diperlukan cara yang sesuai untuk isolasi DNA yang menghasilkan DNA molekul tinggi. Ekstraksi DNA dari *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* hampir selalu terkontaminasi dengan senyawa lain yang dapat mempengaruhi kualitas, deteksi dan pengukuran DNA yang diperoleh. Kontaminasi senyawa lain dari *thallus* rumput laut dapat menghambat kerja *Taq* Polimerase pada PCR, dan mengurangi efisiensi dan spesifitas pelekatan primer. Oleh karena itu proses pemurnian DNA merupakan tahap yang sangat penting dalam pekerjaan DNA dari lingkungan (Zhou *et al.* 1996). Penyerapan sinar ultra violet oleh nukleotida secara maksimal dicapai pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan oleh protein dicapai pada panjang gelombang 280 nm. Apabila *optical density* pada 260 nm (OD_{260}) sama dengan 1, maka konsentrasinya setara dengan 50 $\mu\text{g/ml}$ DNA untai ganda. Tingkat pemurnian DNA berkisar antara 1,5 – 2,1. Bila nilai rasio kurang dari 1,5 maka masih ditemukan adanya kontaminasi fenol atau protein dalam larutan DNA. Sedangkan bila rasio lebih dari 2,1 maka terdapat RNA dalam larutan DNA.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



JUDUL 1. ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI DARI RUMPUT LAUT (*Kappaphycus alvarezii*) YANG TERSERANG PENYAKIT ICE-ICE

Abstrak

Masalah utama dalam upaya peningkatan produksi budidaya rumput laut dari is *Kappaphycus alvarezii* adalah intensitas serangan penyakit *ice-ice*. Penyebab ma penyakit *ice-ice* pada *Kappaphycus alvarezii* adalah bakteri patogen. Penelitian bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri pada rumput laut *kappaphycus alvarezii* yang terserang *ice-ice* berdasarkan gejala klinis, kondisi ngan rumput laut dan perubahan berat thallus yang terinfeksi. Bakteri yang telah isolasi ditumbuhkan pada media agar *Sea Water Complete* (SWC) dan *Thiosulphate rate Bile Salt Sucrose* (TCBS). Identifikasi dilakukan dengan teknik analisis API dan API NE 20. Hasil penelitian diperoleh bakteri pada *thallus* rumput laut yang serang penyakit *ice-ice* adalah *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas cepacia*, *Vivobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta* dan *Plesiomonas sigelloides*.

Kata kunci : isolasi, identifikasi, bakteri, penyakit *ice-ice*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



TOPIC 1 ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA FROM ICE- ICE INFECTED SEAWEED *Kappaphycus alvarezii*

Abstract

The major problem encountered in increasing production of seaweed *K. alvarezii* is intensity of ice-ice disease caused by bacterial pathogen. The objectives of this research were to isolate, identify, and determine the pathogenicity of bacteria on infected seaweed *K. alvarezii* based on clinical symptoms, tissue condition and the decrease of thallus wet weight. Bacteria was cultured on sea water complete agar (SWCA) and *Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS). Identification was done through API E 20 and API NE 20 analysis technique. Pathogenicity of bacteria was observed based rate on thallus length in which the color changed to be white, and changes in tissue of seaweed observed histologically. Weight decreasing rate of seaweed infected with ice-ice was analyzed using simple linear regression. Research result obtained from ice-ice infected thallus was *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta* dan *Plesiomonas shigelloides*. Bacteria that was pathogenic and had the highest decreasing rate was *Vibrio alginolyticus*.

Keywords : isolation, identification, bacteria, ice-ice disease.

PENDAHULUAN

Permasalahan utama dalam upaya peningkatan produksi budidaya rumput laut dari jenis *Kappaphycus alvarezii* adalah perubahan kualitas lingkungan perairan dan intensitas serangan hama dan penyakit rumput laut sangat tinggi. Penurunan produksi budidaya rumput laut berkisar dari 70% - 100% akibat serangan dari bakteri patogen rumput laut yang terjadi di beberapa negara produsen rumput laut seperti di Kepulauan Calaguas Filipina, Indonesia, Malaysia dan Tanzania (Vairappan *et al.* 2008).

Salah satu penyakit rumput laut di Indonesia dan beberapa negara produsen rumput laut dunia yang belum tertangani dengan baik adalah penyakit *ice-ice* yang disebabkan oleh faktor infeksi bakteri patogen yang disertai perubahan kualitas lingkungan perairan (Largo *et al.* 1995; 1999). Penyakit *ice-ice* merupakan penyakit



penting pada budidaya rumput laut karena sangat merugikan dan dapat menurunkan produksi rumput laut hingga 100 % (Vairappan 2006).

Perubahan kondisi perairan pada lokasi budidaya selain dapat berpengaruh langsung terhadap rumput laut juga meningkatkan aktivitas virulensi dari bakteri patogen. Penurunan parameter kualitas air seperti arus, suhu, kecerahan, salinitas, nitrat dan ortho-fosfat dapat memicu timbulnya gejala penyakit *ice-ice* di lokasi budidaya rumput laut (Julietta *et al.* 2004). Largo *et al.* (2003), mengidentifikasi bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada *Kappaphycus alvarezii* yaitu bakteri *Vibrio* sp., sedangkan Yulianto (2002) mendapatkan lima jenis bakteri yang menimbulkan penyakit *ice-ice* yakni *Pseudomonas nigricaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cercus*, *Vibrio granii* dan *Vibrio agarliquefaciens*.

Penyakit *ice-ice* memiliki gejala klinis seperti timbulnya bercak putih pada sebagian thallus kemudian thallus tersebut menjadi pucat dan mengkropos hingga patah. Secara faktual menunjukkan bahwa kajian yang mengarah tentang penyakit *ice-ice* sangat minim, hanya sebagian yang mengarah pada faktor lingkungan (DKP, 2004). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Largo *et al.* (1995) bakteri berperan dalam pengembangan penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Namun demikian penelitian tentang mekanisme transmisi bakteri secara spesifik terhadap thallus rumput laut *K. alvarezii* sehingga penyakit *ice-ice* dan interaksi antara berbagai jenis bakteri yang terdapat pada *thallus* rumput laut *K. alvarezii* dengan waktu transmisi secara spesifik belum dilakukan. Oleh karena itu penelitian sangat penting untuk dilakukan sehingga dapat memperkaya khasanah pengembangan pencarian solusi tentang pengendalian penyakit *ice-ice*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terserang *ice-ice*. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi mengenai jenis bakteri patogen yang menimbulkan penyakit *ice-ice*, sehingga bermanfaat untuk mengendalikan infeksi bakteri patogen yang dapat mengganggu usaha produksi rumput laut.

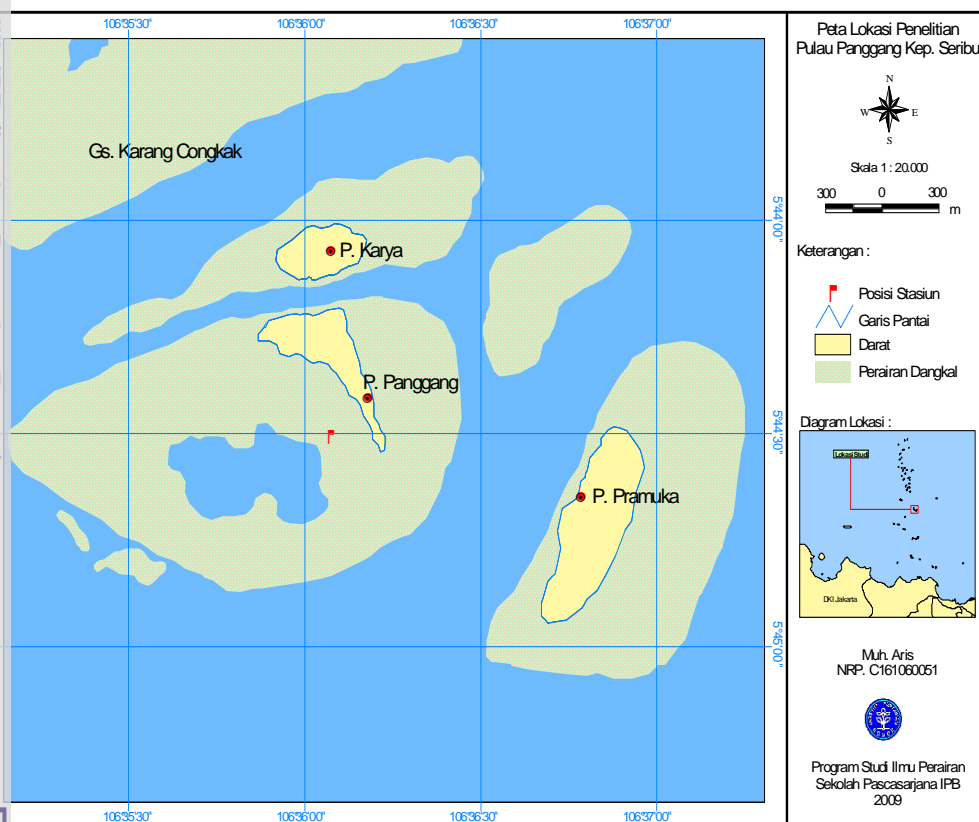
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

BAHAN DAN METODE

Lokasi Penelitian

Bakteri diisolasi dari *thallus* rumput laut terinfeksi penyakit *ice-ice* yang dibudidayakan di Perairan Pulau Panggang, Kepulauan Seribu, Provinsi DKI Jakarta. Posisi geografis dari lokasi budidaya rumput laut yaitu; S 05° 44' 30,7" dan E 106° 04" (Gambar 2). Analisis bakteri dilakukan di Laboratorium Penyakit ikan, Balai Riset Budidaya Air Tawar (BRBAT) Sempur Bogor.



Gambar 2 Peta lokasi penelitian di pulau Panggang Kepulauan Seribu, Provinsi DKI Jakarta

Teknologi budidaya rumput laut dengan menggunakan sistem tali rawai (*long line*). Lokasi budidaya berjarak 200 meter dari pantai, kedalaman perairan sekitar 5 - 10 meter dengan substrat dasar perairan berupa pasir kasar bercampur dengan pecahan karang.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Pengambilan Sampel

Sampel untuk isolasi dan identifikasi bakteri berasal dari *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terserang penyakit *ice-ice*. Sebanyak 5 sampel *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice* diambil dari beberapa rumpun secara acak. Muka *thallus* dibersihkan dengan alkohol 70%. Selanjutnya, *thallus* dimasukkan dalam kantong plastik steril. Seluruh sampel dimasukkan ke dalam *cool box* yang telah ditambahkan batu es untuk selanjutnya dianalisis di Laboratorium.

Teknik Isolasi Bakteri

Thallus yang terserang penyakit *ice-ice* diambil sampel sebanyak 1 g kemudian digerus. Dari cairan hasil gerusan tersebut diambil 0,1 ml dan disebar pada cawan petri yang berisi media agar *Sea Water Complete* (SWC) Agar dan TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose*) Agar.

Teknik Identifikasi Bakteri

Hasil isolasi bakteri kemudian digores ulang beberapa kali untuk memperoleh isolat murni. Setelah isolat murni bakteri diperoleh, lalu dievaluasi tipe koloninya dan dilanjutkan dengan identifikasi bakteri berdasarkan karakterisasi fisiologi dan biokimia dengan analisis API 20 E dan API NE 20.

Kualitas Lingkungan Perairan

Parameter Lingkungan Budidaya Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* di Perairan Pulau Panggang, Kepulauan Seribu, Provinsi DKI Jakarta

Parameter kualitas lingkungan yang diamati meliputi parameter fisika perairan secara *in situ*, parameter kimia perairan diamati di Laboratorium Lingkungan Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Sedangkan parameter biologi diamati secara visual.

Kelangsungan hidup rumput laut di perairan sangat terkait erat dengan kondisi kualitas lingkungan perairan (fisika, kimia dan biologi). Gambaran tentang kondisi fisik habitat perairan rumput laut penting diketahui oleh karena sangat menentukan siklus perkembangan rumput laut. Hasil pengamatan parameter kualitas

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

perairan di lokasi budidaya rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* di Pulau Panggang pada musim kemarau dan musim hujan selama penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Nilai Rata-rata Parameter Kualitas Perairan Budidaya Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dengan Metode *Longline* di Pulau Panggang pada Musim Kemarau dan Musim Hujan

Parameter Lingkungan	Musim Kemarau (Minggu)			Musim Hujan (Minggu)		Kondisi Ideal
	I	II	III	I	II	
Kecepatan Arus (cm/dtk)	7,2	5,4	6,7	5,95	5,3	20 – 30 cm/detik, Atmadja <i>et al.</i> (1996)
Suhu (°C)	30,64	30,81	29,88	28,48	28,31	27 – 29 °C, Sulitijo (1996)
Kecerahan (m)	5,11	4,71	4,85	3,3	4	>1,5 m, Luning (1990)
Salinitas (ppt)	8,2	8,1	8,5	6,9	7,1	7,3 – 8,2, Lundsor (2002)
Oksigen Terlarut (mg/L)	30,7	30,8	31,3	28,1	27,8	30 – 35 ppt Dawes (1981)
Nitrat (mg/L)	6,7	6,8	6,4	6,4	5,6	4,8 – 6,2 mg/L Lobban <i>et al.</i> (1993)
Orto-P (mg/L)	0,56	0,22	0,37	0,21	0,07	1,0 – 3,2 mg/L Lourenco <i>et al.</i> (2006)
	0,33	0,27	0,33	0,16	0,17	0,021 – 0,1 mg/L Hayashi <i>et al.</i> (2010)

Parameter Lingkungan Perairan

Kecepatan arus di lokasi pengamatan pada musim kemarau berkisar 4,2-7,5 cm/detik dengan rata-rata 6,4 cm/detik, sedangkan pada musim hujan berkisar 4,1 – 5,8 cm/detik dengan rata-rata 5,6 cm/detik. Menurut Atmadja *et al.* (1996) kecepatan arus yang baik untuk budidaya *K. alvarezii* adalah 20 – 30 cm/detik. Kisaran suhu di lokasi pengamatan pada musim kemarau berkisar 29,3 – 32,4 °C dengan rata-rata 30,4 °C sedangkan pada musim hujan berkisar 27,8 – 29,7 °C dengan rata-rata 28,4 °C. Kisaran suhu antara 27 – 29 °C memberikan laju pertumbuhan 5% (Sulitijo 1996). Kecerahan yang terbentuk di lokasi budidaya pada musim kemarau berkisar

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



4,3 m – 5,6 m dengan rata-rata 4,89 m, sedangkan pada musim hujan berkisar 3 m – 4,5 m dengan rata-rata 3,65 m. Kondisi air yang jernih dengan tingkat transparansi berkisar antara >1,5 m cukup baik bagi pertumbuhan rumput laut (Luning 1990).

pH pada lokasi pengamatan/budidaya rumput laut pada musim kemarau berkisar 8,0 – 8,7 dengan nilai rata-rata 8,2, sedangkan pada musim hujan berkisar 7,5 – 7,6 dengan nilai rata-rata 7. Lundsor (2002) kisaran pH yang baik bagi pertumbuhan rumput laut jenis *Euchema* / *Kappaphycus* yaitu 7 – 9 dengan kisaran optimum adalah 7,3 – 8,2. Kadar salinitas pada lokasi penelitian pada musim kemarau berkisar 30,2 – 32,3 ppt dengan rata-rata 30,9 ppt, sedangkan pada musim hujan berkisar 27,6 – 29 ppt dengan rata-rata 27,9 ppt. Menurut Dawes (1981) kisaran salinitas yang baik bagi pertumbuhan *Eucheuma* adalah 30 – 35 ppt. Konsentrasi oksigen terlarut di lokasi budidaya rumput laut yang terinfeksi penyakit *white* pada musim kemarau berkisar 6 mg/L – 7,1 mg/L dengan nilai kandungan oksigen terlarut di perairan rata-rata 6,6 mg/L, sedangkan pada musim hujan berkisar 6,5 mg/L – 6,8 mg/L dengan nilai kandungan oksigen terlarut rata-rata 6 mg/L. Nilai kisaran konsentrasi oksigen terlarut pada kedua musim yang berbeda masih dalam kisaran yang layak bagi pertumbuhan optimal rumput laut yakni 4,8 – 6,2 mg/L (Lobban *et al.* 1993).

Konsentrasi nitrat, nitrit dan amonia di lokasi budidaya pada musim kemarau secara berturut-turut berkisar antara 0,22 - 0,56 mg/L dengan nilai rata-rata 0,38 mg/L, nitrit berkisar antara 0,03 - 0,37 mg/L dengan rata-rata 0,14 mg/L, dan amonia berkisar antara 0,17 – 0,23 mg/L dengan rata-rata 0,20 mg/L, sedangkan pada musim hujan berkisar antara 0,07 – 0,21 mg/L dengan rata-rata 0,14 mg/L, nitrit berkisar antara 0,04 – 0,09 mg/L dengan nilai rata-rata 0,06 mg/L dan amonia berkisar antara 0,11 – 0,14 mg/L dengan rata-rata 0,13 mg/L. Kisaran kandungan nitrat, nitrit dan amonia di lokasi budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* masih tergolong rendah untuk kelayakan habitat pertumbuhan rumput laut bila dibandingkan dengan konsentrasi ideal yakni 1,0 – 3,2 mg/L (Lourenco *et al.* 2006). Konsentrasi total fosfat dan ortho pospat pada musim kemarau berkisar antara 0,34 – 0,52 mg/L dengan kandungan nilai rata-rata 0,434 mg/L, konsentrasi ortho pospat berkisar

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

antara 0,27 – 0,33 mg/L dengan kandungan rata-rata diperairan budidaya rumput laut 0,18 mg/L, sedangkan pada musim hujan berkisar antara 0,18 – 0,19 mg/L dengan rata-rata 0,31 mg/L, konsentrasi ortho posfat berkisar antara 0,16 – 0,17 mg/L dengan kandungan nilai rata-rata 0,17 mg/L. Konsentrasi kandungan pospat dan ortho-pospat di lokasi budidaya rumput laut sangat tinggi diatas batas ideal lokasi budidaya rumput laut yakni 0,02 – 0,1 mg/l (Hayashi *et al.* 2010).

Metode Budidaya Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Metode budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang diterapkan di perairan pulau Panggang adalah metode tali panjang (*longline*). Metode ini merupakan suatu metode pemeliharaan rumput laut yang dilakukan pada permukaan air dengan menggunakan tali sebagai wadah. Pemasangan tali dilakukan dengan mengikuti gerakan naik turunnya air. Metode ini biasanya diterapkan pada perairan yang memiliki kedalaman yang lebih dibanding metode rakit. Metode ini memiliki kelebihan karena relatif mudah dalam konstruksinya, dan pemangsaan oleh biota dasar perairan dapat diminimalisasi karena rumput laut terletak di permukaan dan pencahayaan yang diserap jauh lebih besar untuk proses fotosintesis.

Konstruksi Wadah

Wadah budidaya rumput laut yang digunakan terdiri dari tali utama dan tali ris antara dan tali jangkar/pemberat (Gambar 3). Metode *long line* adalah metode budidaya dengan menggunakan tali panjang yang dibentangkan. Metode budidaya ini banyak diminati oleh masyarakat karena alat dan bahan yang digunakan lebih tahan lama, dan mudah untuk diperoleh. Teknik budidaya rumput laut dengan metode menggunakan tali sepanjang 50-100 meter yang pada kedua ujungnya diberi jangkar dan pelampung besar, setiap 25 meter diberi pelampung utama yang terbuat dari drum plastik atau styrofoam. Pada setiap jarak 5 meter diberi pelampung berupa bongkahan styrofoam/karet sandal atau botol plastik 500 ml.

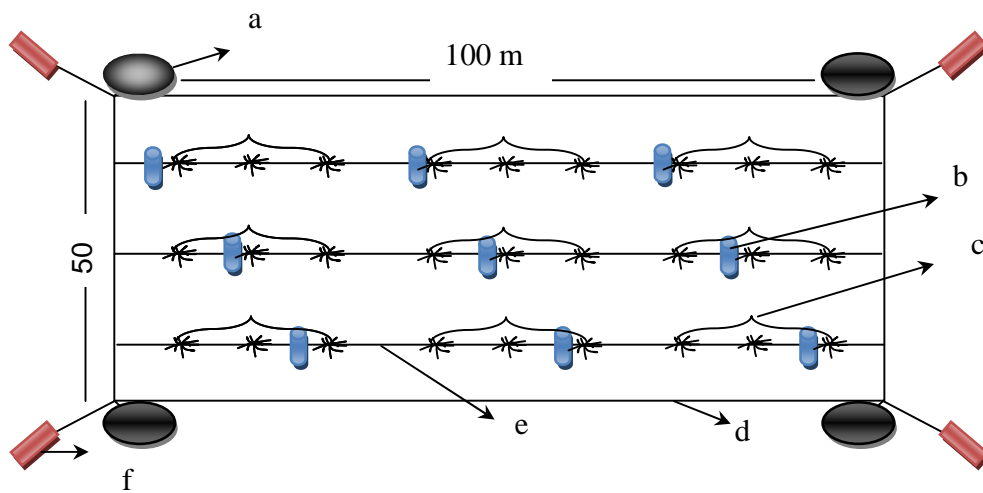
Pada saat pemasangan tali utama harus diperhatikan arah arus pada posisi jangkar atau sedikit menyudut untuk menghindari terjadinya belitan tali satu dengan lainnya. Bibit *thallus* rumput laut sebanyak 50 - 100 gram diikatkan pada sepanjang

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

tali dengan jarak antar titik lebih kurang 25 cm. Jarak antara tali satu dalam satu blok 0,5 meter dan jarak antar blok 1 meter dengan mempertimbangkan kondisi arus dan gelombang setempat. Dalam satu blok terdapat 4 tali yang berfungsi untuk jalur sampan pengontrolan (jika dibutuhkan). Dengan demikian untuk satu hektar tanaman dapat dipasang 128 tali, di mana setiap tali dapat di tanam 500 titik atau diperoleh 64.000 titik per ha. Apabila berat bibit awal yang di tanam antara 50-100 gram, maka jumlah bibit yang dibutuhkan sebesar antara 3.200 kg - 6.400 kg per ha atau **100 kg bibit per hektar budidaya.**

Panen dilakukan setelah **rumpuk laut** mencapai umur lebih kurang 45 hari dengan hasil panen **rumpuk laut** basah sebesar antara 25.600 kg - 51.200 kg (asumsi rumpun bibit menjadi 8 kali lipat saat panen), kemudian di kurangi dengan persediaan benih untuk musim tanam berikutnya sebanyak antara 3.200 kg - 6.400 kg. Maka hasil panen basah yang siap untuk dikeringkan sebesar antara 22.400 kg - 44.800 kg atau diperoleh hasil panen **rumpuk laut** kering 2.800-5.600 kg (konversi rumpuk basah menjadi kering 8 : 1).



Gambar 3 Konstruksi wadah budidaya *Kappaphycus alvarezii* dengan metode longline

Penjelasan : (a) Pelampung utama, (b) Pelampung kecil, (c) Tanaman uji, (d) Tali utama, (e) Tali ris, (f) Pemberat.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara diskriptif dengan bantuan tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri dari *Thallus* Rumput Laut Terserang Penyakit *Ice-Ice*

Bakteri diisolasi dari *thallus* rumput laut yang menunjukkan gejala penyakit *ice-ice* yang dibudidayakan di Perairan Pulau Panggang, Kepulauan Seribu Provinsi DKI Jakarta. Bakteri ditumbuhkan pada media agar SWC (*Sea Water Complete*) dan TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose*) yang merupakan media tumbuh bakteri dari perairan laut, koloni yang tumbuh pada kedua media tersebut disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4 Goresan bakteri yang berhasil ditumbuhkan pada media Agar; 1 = TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose*) Agar, 2 = SWC (*Sea Water Complete*) Agar.

Koloni bakteri tunggal didapatkan setelah dilakukan penggoresan secara berulang-ulang, ciri-ciri koloni dari setiap spesies disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 Kelompok dan ciri- ciri bakteri yang ditemukan pada rumput laut *K. alvarezii* yang terserang penyakit *ice-ice*

Spesies	Ciri- ciri
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	Berbentuk bulat, licin, cembung dan berwarna kekuningan
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Berbentuk bulat, agak mengkilat, berwarna agak kekuningan
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Berbentuk bulat, transparan
<i>Pseudomonas diminuta</i>	Berbentuk bulat, warna putih pucat
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Berbentuk bulat, transparan dan agak cembung.

Koloni bakteri yang tumbuh pada media SWC tersebut dibedakan berdasarkan hasil identikasi dengan analisis karakterisasi fisiologi dan biokimia API E 20 dan API 20 diperoleh bakteri *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta*, *Plesiomonas shigelloides* (Tabel 3).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Tabel 3 Hasil Analisis Karakterisasi Bakteri yang di Isolasi dari *Thallus* Rumpuk Laut yang Terserang Penyakit *Ice-Ice*

Karakter	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Pseudomonas diminuta</i>	Karakter	<i>Vibrio Alginolyticus</i>
ONPG	-	-	+	-	NO ₃	+
ADH	+	+	+	+	TRP	+
DC	+	+	+	+	GLU	+
DC	+	+	-	-	ADH	-
CIT	-	+	-	-	URE	-
H ₂ S	+	-	-	-	ESC	-
RE	+	-	-	-	GEL	+
DA	+	+	+	+	PNG	-
ND	+	+	+	+	GLU	+
VP	-	+	-	+	ARA	-
HEL	+	+	+	+	MNE	-
LU	+	+	+	+	MAN	+
AN	+	+	+	+	NAG	-
NO	-	-	-	-	MAL	-
OR	-	-	+	-	GNT	-
HA	-	-	-	-	CAP	-
AC	+	+	+	+	ADI	-
MEL	-	-	+	-	MLT	+
MY	-	-	+	-	CIT	-
ARA	-	-	+	-	PAC	-
OX	+	+	+	+	OX	+
MOB	+	-	+	+	Motility	+
McC	+	+	+	+		
OF-O	+	+	+	+		
OF-F	+	+	+	+		
Shape	Rod	Rod	Rod	Rod		

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Keterangan :

TESTS	BAHAN AKTIF	REAKSI-REAKSI/ENZIM
ONPG	2- NitroPhenyl-βD-Galactopyranosidase	β-galctosidase(Ortho NitroPhenyl-βD-Galactopyranosidase)
ADH	L-arginine	Arginine Dihydrolase
LDC	L-lisyne	Lysine DeCarboxylase
ODC	L-ornithine	Ornithine DeCaboxylase
CIT	trisodium citrate	Citrate Utilization
H2S	sodium thiosulfate	H2S production
URE	urea	UREase
TDA	L-tryptophane	Tryptophane DeAminase
IND	L-tryptophane	INDole production
VP	sodium pyruvate	acetoin production (Voges proskauer)
GEL	Gelatine (bovine origin)	GELatinase
GLU	D-Glucosa	fermentation/oxidation (Glucose)
MAN	D-Mannitol	fermentation/oxidation (MANnitol)
INO	inositol	fermentation/oxidation (INOsitol)
SOR	D-sorbitol	fermentation/oxidation (SORbitol)
RHA	L-rhamnose	fermentation/oxidation (RHAmnose)
SAC	D-sucrose	fermentation/oxidation (SACcharose)
MEL	D-melibiose	fermentation/oxidation (MELibiose)
AMY	amygdalin	fermentation/oxidation (AMYgdalin)
ARA	L-arabinose	fermentation/oxidation (ARAbinose)
OX		Cytochrome-Oxidase
MOB		Motility
McC	MacConkey medium	growth
OF	Glucose	Glucose fermentation-oxidation
GLU	potassium nitrate	

Pseudomonas cepacia

Bakteri ini berbentuk batang dan gram positif, mampu menghidrolisis arginin, mendekarboksilase lysine, tidak dapat mendekarboksilase ornithine, serta mampu memproduksi senyawa H₂S, memproduksi urea, deaminase triptophane, memiliki enzim gelatin, mengoksidasi glukosa, mengoksidasi manitol, mengoksidasi sucrose, mengoksidasi cytochrome, motil, dapat tumbuh pada media MacConkey, serta dapat memfermentasi dan mengoksidasi glukosa. *Pseudomonas cepacia* merupakan bakteri



yang berada pada lingkungan perairan dan tanah (Peix *et al.* 2009 ; Pandamme and Dawindt 2011).

Flavobacterium meningosepticum

Bakteri ini berbentuk batang dan gram positif, mampu menghidrolisis arginin, dekarboksilase lysine, tidak mampu memanfaatkan citrate sebagai sumber karbon, deaminase triptophane, memiliki enzim gelatin, mengoksidasi glukosa, mengoksidasi manitol, mengoksidasi sorbitol, pada uji O/F tidak memproduksi enzimurase, tidak membentuk nitrit, dan tidak mengasamkan sukrosa. Koloni bakteri berbentuk bulat, lonjong, cembung dan pigmen kekuningan. Dari hasil isolasi dan identifikasi, bakteri ini terdapat pada *thallus* dan media budidaya yang terserang *ice-ice* yang mempunyai koloni berpigmen kuning. Bakteri ini didapatkan dari *thallus K. alvarezii* pada daerah perairan budidaya di Pulau Panggang. Menurut Jooste and Celia (1999), bakteri ini penghuni perairan laut. Menurut Largo *et al.* (1995), pada jenis rumput laut *K. alvarezii* dan *E. denticulatum* bakteri ini yang menyebabkan *ice-ice*, *Flavobacterium meningosepticum* juga tidak menyebabkan penyakit *suminori* pada jenis rumput laut.

Plesiomonas shigelloides

Bakteri ini berbentuk batang dan gram positif, memiliki enzim β -galactosa, mampu menghidrolisis arginin, dekarboksilase lysine, deaminase triptophane, memproduksi indole, memiliki enzim gelatin, mengoksidasi glukosa, mengoksidasi manitol, mengoksidasi sorbitol, mengoksidasi sucrose, mengoksidasi melibiosa, mengoksidasi amigladin, mengoksidasi arabinosa, motil, dapat tumbuh pada media MacConkey, serta dapat memfermentasi dan mengoksidasi glukosa. *Plesiomonas shigelloides* merupakan bakteri yang terdapat di lingkungan perairan laut (Rey *et al.* 2004).

Pseudomonas diminuta

Bakteri ini berbentuk batang dan gram positif, mampu menghidrolisis arginin, dekarboksilase lysine, dekarboksilase ornithine, serta tidak mampu memproduksi hydrogen H₂S, tidak mampu memproduksi urea, deaminase triptophane, mampu

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



memproduksi acetoin, memiliki enzim gelatin, mengoksidasi glukosa, mengoksidasi manitol, mengoksidasi sucrose, mengoksidasi cytochrome, motil, dapat tumbuh pada media MacConkey, serta dapat memfermentasi dan mengoksidasi glukosa. *Pseudomonas diminuta* merupakan bakteri yang dapat meningkatkan produksi koenzim Q10, CoQ10 yang berfungsi sebagai sistem transport elektron pada prokariota dan eukariota (Bule and Rekha 2009).

Vibrio alginolyticus

Motil dan mampu memanfaatkan nitrat, glukosa, triptophane, mannitol, memiliki enzim gelatin, mengoksidasi cytochrome, dan bersifat motil. *Vibrio alginolyticus* merupakan salah satu bakteri dari genus *Vibrio* yang berada pada lingkungan pantai dan estuary yang bersifat zoonosis melalui produk perikanan (Austin 2010). *Vibrio alginolyticus* dapat menyebabkan penyakit akut pada kondisi tekanan suhu budidaya ikan kerapu *Epinephelus coioides* (Cui *et al.* 2010). *Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri laut heterotropik yang memiliki ketersediaan Fe kompleks yang dapat memproduksi *catecholate siderophores* (Poorvin *et al.* 2011).

KESIMPULAN

Spesies bakteri yang berhasil diisolasi dari *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terserang penyakit *ice-ice* pada pengelolaan budidaya rumput laut di perairan Pulau Panggang adalah *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta* dan *Plesiomonas shigelloides*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



JUDUL 2. PATOGENISITAS BAKTERI PADA RUMPUT LAUT (*Kappaphycus alvarezii*)

Abstrak

Penurunan produksi rumput laut terjadi di beberapa pusat kawasan pengembangan budidaya akibat serangan penyakit *ice-ice*. Gejala penyakit *ice-ice* yang ditunjukkan secara makroskopik hampir sama pada setiap kemunculannya namun memiliki perbedaan dari segi kecepatan infeksi dan penurunan kadar karaginan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji tingkat patogenisitas bakteri pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terserang *ice-ice* berdasarkan gejala klinis, kondisi jaringan rumput laut dan menganalisis transmisi penyakit *ice-ice* pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* berdasarkan waktu kejadian dan perubahan secara makroskopis jaringan, perubahan berat basah thallus dan persentase kandungan karaginan. Patogenisitas bakteri diamati berdasarkan dari panjang thallus rumput laut yang mengalami perubahan warna putih. Pengaruh interaksi perlakuan dan waktu analisis dengan ANOVA dan uji lanjut Duncan. Pengujian transmisi penyakit *ice-ice* dilakukan melalui kohabitasi dengan rumput laut sehat dengan yang terserang penyakit *ice ice*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan jenis bakteri memiliki interaksi dalam menimbulkan penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut. Bakteri yang memiliki tingkat patogenisitas dan memberikan respon terhadap laju penurunan tertinggi yakni *Vibrio alginolyticus*. Kecepatan transmisi penyakit *ice-ice* dibanding lurus dengan tingginya jumlah *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice*, ditipula dengan penurunan berat basah *thallus* serta persentase penurunan kandungan karaginan.

Kata kunci : patogenisitas, *Vibrio alginolyticus*, transmisi, penyakit *ice-ice*, *Kappaphycus alvarezii*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



TOPIC 2 BACTERIA PATOGENICITY ON SEAWEED *Kappaphycus alvarezii*

Abstract

Decline production of seaweed occurred in several aquaculture development center due to ice-ice infection. On each occurrence of disease, microscopic signs of ice-ice disease were almost similar but infection rate and impact on carrageenan content were different. This research aimed to determine the pathogenicity of bacteria infected seaweed *K. alvarezii* based on clinical symptoms, tissue condition and the decrease of *thallus* wet weight and analyze the mechanism of ice ice transmission on seaweed *K. alvarezii* based on occurrence time and microscopic changes, changes in *thallus* wet weight and percentage of carrageenan content. Pathogenicity of bacteria was observed based rate on *thallus* length in which the color changed to be white, and changes in tissue of seaweed observed histologically. Weight decreasing rate of seaweed infected with ice ice was analyzed using simple linear regression. Ice ice transmission was evaluated through cohabitation with infected seaweed. Research result showed bacteria that was pathogenic and had the highest decreasing rate was *Vibrio alginolyticus*. Transmission rate of ice ice was linear to infected *thallus* volume, the decrease of *thallus* wet weight, and percentage of the decrease of carrageenan content.

Keywords: *pathogenicity, Vibrio alginolyticus, transmission, ice ice disease, Kappaphycus alvarezii.*

PENDAHULUAN

Penyakit *ice-ice* pada rumput laut merupakan suatu fenomena dari kondisi rumput laut yang mengalami gangguan fisiologis dan morfologis. Penurunan produksi rumput laut akibat serangan penyakit *ice-ice* melanda beberapa sentra produksi rumput laut di berbagai negara seperti Philipina, Malaysia, Chili dan Mexico (Largo *et al.* 1995). Kejadian yang sama terjadi di Indonesia seperti di Bali, Lombok, dan Madura (Ditjen Perikanan Budidaya-DKP 2004).

Serangan penyakit *ice-ice* di lokasi budidaya rumput laut mulai menarik perhatian pada saat mulai mewabah di beberapa pusat pengembangan kawasan budidaya rumput laut. Berbagai strategi diterapkan guna memberikan solusi dalam penanggulangan penyakit *ice-ice*, namun belum menunjukkan suatu hasil yang signifikan dalam mengatasi serangan penyakit *ice-ice*. Faktor lingkungan yang

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



memburuk dianggap sebagai pemicu infeksi penyakit *ice-ice*. Namun kemunculan penyakit ini dapat menyerang hampir disetiap musim baik musim hujan, peralihan musim maupun musim kemarau. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Largo *et al.* (1995) bakteri berperan dalam pengembangan penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Namun demikian penelitian tentang mekanisme transmisi bakteri secara spesifik terhadap *thallus* rumput laut *K. alvarezii* sehingga penyakit *ice-ice* dan interaksi antara berbagai jenis bakteri yang terdapat pada *thallus* rumput laut *K. alvarezii* dengan waktu transmisi secara spesifik belum dilakukan. Gejala makroskopik yang ditunjukkan pada setiap kemunculan penyakit *ice-ice* hampir sama, namun memiliki perbedaan dari segi kecepatan infeksi dan penurunan persentase substansi organik (karaginan).

Gejala klinis yang ditunjukkan oleh rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* diawali dengan perubahan warna *thallus* (memucat), timbulnya bercak putih pada *thallus* dan akhirnya *thallus* menjadi keropos hingga patah. Largo *et al.* (1999), menemukan adanya dua bakteri patogen yang terdapat pada *Kappaphycus alvarezii* yakni *Vibrio* sp P11 dan *Cytophaga* P25. Penelitian sangat penting untuk dilakukan sehingga dapat memperkaya khasanah pengembangan pencarian solusi tentang pengendalian penyakit *ice-ice*. Mekanisme kejadian penyakit *ice-ice* pada rumput laut belum banyak mendapat perhatian sehingga informasi dalam menanggulangi penyakit *ice-ice* masih bersifat parsial khususnya infeksi bakteri patogen. Olehnya itu penelitian ini dilakukan untuk mengkaji mekanisme proses kejadian penyakit *ice-ice* secara horizontal dengan transmisi penyakit *ice-ice* dari rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* dengan rumput laut sehat melalui pemeliharaan bersama dalam suatu habitat (kohabitasi).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji tingkat patogenisitas bakteri yang diisolasi dari *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice* dan mangkaji mekanisme transmisi penyakit *ice-ice* pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* berdasarkan waktu kejadian dan perubahan *thallus*, struktur jaringan serta persentase kandungan karaginan dari rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice*. Sedangkan manfaat penelitian ini diharapkan menjadi acuan dasar dalam memahami kejadian penyakit

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

ice-ice dalam sistem budidaya rumput laut *K. alvarezii* sehingga dapat diaplikasikan di lapangan dalam pencegahan dan pengendalian penyakit *ice-ice*.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan Tempat Penelitian

Penelitian uji patogenisitas bakteri dan uji transmisi penyakit *ice-ice* terhadap rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dilakukan pada bulan Mei 2008 di Rumah kaca, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB Bogor. Analisis mikrobiologi dilakukan di Laboratorium Biokimia, Departemen Pengolahan Hasil Perikanan (PHP), Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB Bogor. Analisis histologi dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB Bogor.

Kultur dan Pengenceran Bakteri

Bakteri yang digunakan untuk uji patogenisitas diperoleh dari hasil isolasi rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* di perairan pulau Panggang. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml, 1 ose bakteri terlebih dahulu dikultur dalam media SWC broth selama 18 - 24 jam dengan shaker inkubator pada suhu 29°C . Selanjutnya diambil 1 ml dari hasil kultur bakteri tersebut dan dimasukkan dalam tabung ependorf untuk disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm. Kegiatan pencucian sel bakteri ini diulang sebanyak tiga kali dengan larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*). Kemudian sel bakteri hasil panen diencerkan berdasarkan volume wadah uji penularan hingga mencapai 10^6 CFU/ml.

Aklimatisasi Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Sebelum dilakukan uji patogenisitas dan uji transmisi penyakit *ice-ice*, rumput laut terlebih dahulu diaklimatisasi selama 3 hari. Aklimatisasi ini dilakukan untuk mengadaptasikan rumput laut terhadap kondisi lingkungan yang baru. Selama aklimatisasi, media diberi pupuk organik cair (POC NASA) sebanyak 5 ml per akuarium volume 80 liter. Wadah pengujian dilengkapi dengan aerasi.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Uji Patogenisitas Bakteri

Setelah mendapatkan konsentrasi bakteri 10^6 sel/ml, masing-masing jenis bakteri hasil isolasi dari *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* diinfeksi pada rumput laut yang sehat yang telah diadaptasikan.

Pengujian ini dilakukan terhadap rumput laut sehat dengan ukuran berat basah 35g. Konsentrasi bakteri yang digunakan yakni 10^6 CFU/ml yang diinfeksi pada media pemeliharaan pengujian. Waktu pengamatan dilakukan terhadap rumput laut uji selama transmisi sampai penginfeksi berhasil. Uji transmisi bakteri dengan sistem perendaman dilakukan terhadap *thallus* yang sehat. Bakteri yang ditransmisikan diperoleh dari hasil isolasi *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice*. *Thallus* rumput laut uji (panjang *thallus* yang diamati mm) memperlihatkan suatu perubahan perubahan warna (pemutihan).

Pengamatan Parameter Biologis

Parameter biologis yang diamati meliputi perubahan morfologi *thallus* (kondisi warna dan berat *thallus* serta panjang *thallus* memutih). Parameter biologis diamati setiap 3 jam setelah uji patogenisitas dengan sistem perendaman (*immersion*).

Parameter Keberhasilan Penginfeksi

Penentuan keberhasilan penginfeksi didasarkan pada perubahan morfologi *thallus* rumput dengan ciri-ciri pada Tabel 4.

Tabel 4 Perbedaan fungsi dan anatomi antara *thallus* yang terserang *ice-ice* dan *thallus* sehat

	<i>Thallus</i> sehat	<i>Thallus</i> terserang <i>ice-ice</i>
Fungsi	Karaginan dan selulosa utuh dan berfungsi dengan baik untuk melindungi dinding sel rumput laut	Kandungan karaginan dan selulosa berkurang bahkan hilang karena terdegradasi oleh bakteri patogen sehingga dinding sel rumput laut rusak.
Anatomi	<i>Thallus</i> berwarna coklat kemerahan, ukuran seragam, bentuk utuh (tidak patah).	<i>Thallus</i> berwarna putih pucat, patah.

Sumber; Lundsor, 2002



Rancangan Percobaan

Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan 2 taraf perlakuan dan masing-masing 3 ulangan. Pengamatan dilakukan setiap interval 3 jam terhadap setiap perlakuan untuk melihat perubahan morfologi *thallus* rumput laut yang berhubungan dengan gejala terjadinya penyakit *ice-ice* akibat interaksi infeksi bakteri dengan waktu.

Analisa Data

Perubahan panjang *thallus* terinfeksi bakteri patogen dianalisis secara kriptif dengan bantuan tampilan gambar. Interaksi pengaruh perlakuan penelitian (potosis) ditentukan dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Signifikansi interaksi di taraf perlakuan ditentukan dengan uji lanjut Duncan.

Transmisi Penyakit *ice-ice* Sampel Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Sampel rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan berat basah yakni, rumput laut sehat yang digunakan 35g, sedangkan berat basah rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* yang digunakan dalam pengamatan ini yakni 30 g (perlakuan A), 35 g (perlakuan B), 40 g (perlakuan C) dan 45 g (perlakuan D).

Rumput laut *K. alvarezii* yang terserang penyakit *ice-ice* diperoleh dari lokasi budidaya rumput laut di perairan pulau Panggang, Kepulauan Seribu Provinsi DKI Jakarta, sedangkan rumput laut sehat diperoleh dari lokasi budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Transmisi Penyakit *Ice-ice* pada Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Pengujian transmisi penyakit *ice-ice* dilakukan untuk melihat kejadian penyakit yang sama terhadap rumput laut yang sehat melalui kohabitasi dengan penggunaan rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice*. Pengujian ini dilakukan secara *in vivo* dengan wadah akuarium ukuran 45 cm x 30 cm x 30 cm, volume media air laut yang digunakan 80 liter.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Uji transmisi dilakukan untuk melihat tingkat penularan penyakit *ice-ice* dari rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* terhadap rumput laut yang sehat. Penentuan status kesehatan berdasarkan tanda-tanda klinis secara makroskopis, yang ditandai dengan timbulnya bercak warna putih pada *thallus* permukaan rumput laut.

Warna rumput laut sehat memperlihatkan kondisi segar dengan warna hijau kuning kemerahan, permukaan *thallus* rumput laut terasa halus tanpa lendir. Uji kohabitasi ini menggunakan berat rumput laut terserang penyakit *ice-ice* yang berbeda, waktu pengamatan dilakukan setiap jam selama 5 (lima) hari. Data disajikan dalam bentuk grafik dengan waktu pengamatan per hari pada jam pertama.

Analisis Kandungan Karaginan

Analisis kandungan karaginan dilakukan terhadap *thallus* rumput laut sebelum dan sesudah uji kohabitasi. *Thallus* yang dianalisis diperoleh dari rumpun yang sama dengan yang digunakan pada uji kohabitasi. Penentuan konsentrasi karaginan rumput laut dinyatakan dalam persentase bobot karaginan kering rumput laut mengikuti metode Ainswort dan Blanshard (1980) dan Furia (1981). Prosedur penelitiannya sebagai berikut :

Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dicuci dan dibersihkan dari pasir, kotoran dan bahan material lainnya. Rumput laut dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam, setelah kering diblender hingga halus kemudian diayak untuk memisahkan bagian yang kasar dan yang halus. Tepung yang dihasilkan diambil 1 g untuk direbus (diekstraksi) dengan air panas (85 – 95 °C) dalam suasana agak basa dengan pH 8 – 9 setelah 4 jam. Ekstraksi alga kemudian disaring melalui penyaring selulosa dalam kertas saring berlipat. Hasil yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan cara pemanasan menjadi 50 ml. Isopropanol ditambahkan (\pm 15 ml) dan diinkubasikan semalam. Hasil ekstrak kemudian disaring dengan kain putih tipis lalu ditambahkan isopropanol 96% (\pm 15 ml) kemudian dimasukkan ke dalam wadah kecil yang telah ditimbang sebelumnya. Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 2 jam, lalu ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik. Berat

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



hasil penimbangan dikurangi dengan berat wadah pada waktu kosong, maka diperoleh berat karaginan bersih (g).

Histologi *Thallus* Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Pengamatan struktur jaringan *thallus* rumput laut sebelum dan sesudah pengamatan uji kohabitasi/transmisi. Gambaran hasil histologi jaringan rumput laut yang sehat dan yang terinfeksi penyakit *ice-ice* dianalisis secara diskriptif dengan bantuan foto jaringan *thallus* rumput laut.

Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan yakni RAL (Rancangan Acak Lengkap) (berat rumput laut terinfeksi *ice ice*, 30g, 35g, 40g dan 45g) dan waktu transmisi selama 5 hari. Nilai masing-masing parameter kualitas air khususnya suhu, salinitas, dan oksigen terlarut dipertahankan dalam kisaran normal/ideal. (suhu 27 – 29°C, salinitas 30 – 35 ppt, dan oksigen terlarut 4,8 – 6,2 mg/L).

Kandungan Karaginan

Data persentase kandungan karaginan pada akhir pengamatan dianalisis secara diskriptif dengan bantuan gambar.

Perubahan panjang dan Berat Basah *Thallus* Rumput Laut *K. alvarezii*

Data infeksi penyakit *ice-ice* ditentukan berdasarkan dari gejala kemunculan perubahan pada *thallus* rumput laut dan hasil pengukuran panjang *thallus* memutih. Pengukuran berat basah *thallus* rumput laut dilakukan setiap jam sampai timbulnya gejala penyakit *ice-ice*.

Analisa Data

Perubahan berat dan panjang *thallus* terinfeksi bakteri patogen dianalisis secara diskriptif dengan bantuan tampilan gambar grafik. Pengaruh perlakuan diuji dengan ANOVA (*Analisis of Varians*), jika terdapat pengaruh maka dilakukan analisis uji lanjut Duncan. Analisa data diolah dengan program SPSS (Statistical Program Software System) versi 17 dan MINITAB 15.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

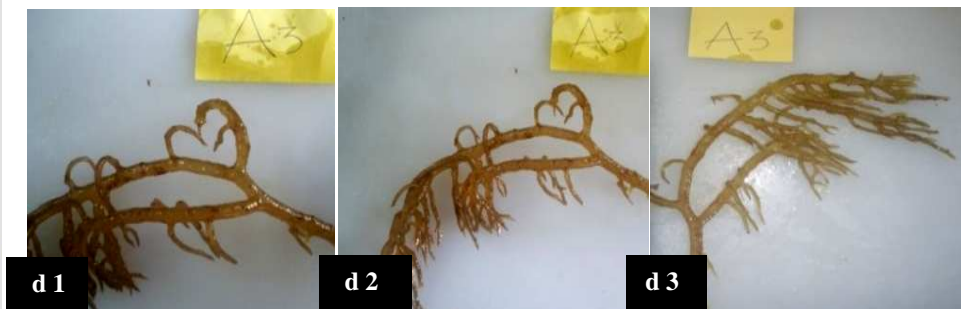
HASIL DAN PEMBAHASAN

Patogenisitas Bakteri pada *Thallus* Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Hasil pengamatan terhadap perubahan panjang *thallus* rumput laut yang mengalami pemutihan (penyakit *ice-ice*) disajikan pada Gambar 5 dan *thallus* rumput laut uji yang mengalami perubahan warna (*klorosis*) disajikan pada Gambar 6. Perubahan kondisi *thallus* rumput laut pada kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembandingan terhadap perlakuan yang dilakukan disajikan pada Gambar 7.



Gambar 5 Perubahan panjang *thallus* (mm) yang terinfeksi dan mengalami perubahan warna putih berdasarkan waktu penularan bakteri *Vibrio alginolyticus* dengan kepadatan 10^6 sel/ml. d0 = Hari ke-0, d1 = Hari ke-1 panjang rata-rata pemutihan thallus 1,95 mm, d2 = Hari ke-2 panjang rata-rata pemutihan *thallus* 24,53 mm.



Gambar 6 Perubahan warna *thallus* pasca uji transmisi bakteri *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta*, *Plesiomonas shigelloides*, dengan kepadatan bakteri 10^6 sel/ml. (d1 = Hari ke - 1: Warna *thallus* normal (coklat kehijauan) d2 = Hari ke - 2: Warna *thallus* memudar (coklat kekuningan) d3 = Hari ke - 3: Warna *thallus* kuning pucat).



Gambar 7 Kontrol penelitian pada uji transmisi bakteri *Vibrio alginolyticus* (+) = Kontrol positif ; kepadatan bakteri 10^8 sel/ml, (-) = Kontrol negatif ; tanpa perlakuan bakteri)

Isolat-isolat bakteri yang diperoleh dari *thallus* rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* menunjukkan bahwa isolat *Vibrio alginolyticus* memiliki tingkat patogenisitas tertinggi terhadap *thallus* rumput laut dibandingkan dengan isolat bakteri *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Plesiomonas shigelloides*. Perubahan *thallus* rumput laut secara signifikan terlihat pada hari ke-1 pasca infeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* yang ditandai dengan meningkatnya produksi lendir yang menyelimuti *thallus* rumput laut, perubahan warna *thallus* memudar (*klorosis*), layu dan timbulnya bintik hitam di sekitar bakal cabang *thallus* (Gambar 5). Setelah memasuki hari II bintik hitam tersebut berubah menjadi transparan yang diakibatkan oleh hilangnya pigmen. Kondisi perubahan warna pada *thallus* tersebut merupakan awal dari pemutihan *thallus* rumput laut. Kejadian ini seiring dengan hasil pengamatan Largo *et al.* (1995) menyatakan bahwa kehadiran bakteri *Vibrio* sp. pada rumput laut ditandai dengan munculnya gejala bintik gelap di sekitar *thallus* yang menjadi awal pemutihan *thallus* rumput laut.

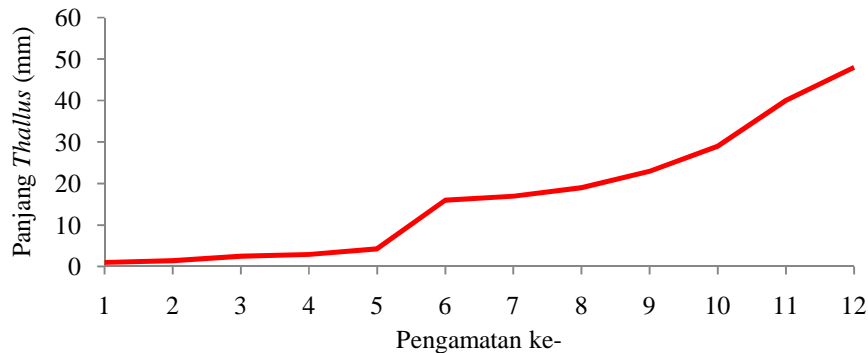
Untuk lebih memahami mekanisme patogenisitas bakteri terhadap *thallus* rumput laut dapat dilihat pada perubahan morfologi *thallus* khususnya perubahan warna normal (hijau dan coklat) ke warna putih (*klorosis*). Perubahan warna (*depigmentasi*) terjadi akibat terjadinya infeksi bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut. Perubahan tersebut semakin meningkat seiring dengan peningkatan waktu aktivitas bakteri dalam mensekresikan faktor-faktor virulensinya terhadap inang (*thallus* rumput laut). Hal ini sesuai dengan pernyataan

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lobban *et al.* (1994), Largo *et al.* (1995), bahwa peningkatan serangan penyakit *ice-ice* semakin intensif seiring dengan waktu infeksi bakteri patogen pada *thallus* rumput laut yang mengakibatkan kegagalan budidaya rumput laut *K. alvarezii*.

Panjang *Thallus* Terinfeksi Pasca Transmisi Bakteri

Perubahan panjang *thallus* yang memutih akibat infeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* meningkat seiring dengan waktu uji transmisi bakteri *Vibrio alginolyticus*. Pada hari I menunjukkan panjang *thallus* memutih berkisar 1 – 2,9 mm, sedangkan pada hari II panjang pemutihan *thallus* meningkat dengan nilai berkisar 4 – 15,5 mm (Gambar 8).



Gambar 8 Panjang *thallus* yang terinfeksi pasca transmisi bakteri *Vibrio alginolyticus* dengan kepadatan 10^6 sel/ml dengan interval waktu pengamatan 3 jam.

Kejadian tersebut sangat berhubungan dengan kondisi kejadian penyebaran penyakit *ice-ice* pada kawasan lokasi budidaya rumput laut *K. alvarezii* di wilayah Tawi-Tawi Filipina, Malaysia, Tanzania dan India (Hurtado *et al.* 2006; Msuya and Kyewalyanga 2006; Munoz and Sahoo 2007, Vairappan 2006). Penyakit *ice-ice* menyerang *thallus* rumput laut sehingga menimbulkan masalah dalam pengelolaan budidaya rumput laut. Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi bakteri dari *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice* yang dilakukan oleh Ask *et al.* (2003) mendapatkan bakteri dari genus *Vibrio* yang mendominasi *thallus* rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice*.

Fenomena perubahan warna *thallus* rumput laut *K. alvarezii* (*klorosis*) dengan melakukan transmisi bakteri dalam menguji tingkat patogenisitasnya menunjukkan



perubahan warna *thallus* (*klorosis*) yang tidak berbeda dari masing-masing perlakuan bakteri kecuali bakteri *Vibrio alginolyticus* yang memperlihatkan perubahan warna *thallus* menjadi putih (*klorosis*). Perubahan kekuatan warna *thallus* rumput laut oleh SeaPlant Net (2005) menggolongkan ke dalam tiga tingkatan perubahan dari warna *thallus* rumput laut *K. alvarezii* yakni; rendah, sedang dan tinggi. Tingkatan tersebut sangat berhubungan erat dengan empat faktor penyebab penyakit *ice-ice* yakni gulma, epifit, epizooa dan penyakit (WEED; *weeds, epifyt, epyzooa and disease*).

Perubahan *Thallus* Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Penyebaran penyakit *ice-ice* pada organisme rumput laut yang dibudidayakan sangat erat hubungannya dengan proses perpindahan agen penyakit (bakteri) dari *thallus* yang terinfeksi ke *thallus* yang sehat. Gejala penyakit *ice-ice* tersebut ditunjukkan dengan perubahan warna *thallus* yang mengarah kepada gejala kemunculan penyakit *ice-ice*. Hasil analisis varians terhadap interaksi antara berat *thallus* terserang penyakit *ice-ice* dengan waktu transmisi disajikan pada Lampiran 9.

Berdasarkan uji statistik (analisis varians) menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi signifikan antara perlakuan dengan waktu dengan nilai 0,99 ($p > 0,05$), sedangkan perlakuan taraf berat *thallus* terinfeksi terhadap transmisi penyakit *ice-ice* menunjukkan pengaruh secara signifikan dengan nilai 0,03 ($p < 0,05$) (Lampiran 7). Perlakuan dengan taraf waktu transmisi menunjukkan adanya pengaruh signifikan terhadap kemunculan penyakit *ice-ice* 0,01 ($p < 0,05$) (Lampiran 7).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa transmisi penyakit *ice-ice* terhadap *thallus* rumput laut yang sehat dengan perlakuan berat *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice* memperlihatkan terjadinya gejala penyakit *ice-ice*. Meskipun secara statistik tidak menunjukkan adanya pengaruh dari masing-masing perlakuan yang diujikan akan tetapi berdasarkan waktu pengamatan memperlihatkan adanya pengaruh yang signifikan. Berdasarkan hasil analisis statistik Duncan menunjukkan bahwa perlakuan pada hari kelima memiliki nilai yang lebih kecil (28,0472) dibandingkan dengan pada hari pertama (32,451), kedua (32,6769), sedangkan hari keempat (30,2365) memiliki nilai yang hampir sama dengan hari ketiga (32,2361) (Lampiran 10). Hal ini

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

menunjukkan bahwa seiring dengan waktu proses transmisi agen penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut sehat semakin meningkat dengan ditandainya penurunan berat basah *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii*.

Hal ini dapat dibuktikan lebih lanjut dengan munculnya gejala penyakit *ice-ice* dari masing-masing perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif yang tidak memperlihatkan gejala penyakit *ice-ice* selama pengamatan (Gambar 9).



Gambar 9 Kondisi *thallus* rumput laut setelah pengamatan uji kohabitasi (- = kontrol negatif, tanpa perlakuan *thallus* terserang penyakit *ice-ice*, + = kontrol positif dengan perlakuan berat *thallus* yang terinfeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* 100g).

Kecepatan perubahan morfologi *thallus* terlihat berbeda dari setiap perlakuan berdasarkan berat *thallus* rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice*, meskipun secara statistik perlakuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan. Kondisi perubahan *thallus* setelah transmisi penyakit *ice-ice* memiliki tanda-tanda kejadian yang sama di lokasi budidaya rumput laut, terlihat perubahan *thallus* berangsur-angsur terjadi seiring dengan waktu kemunculan gejala penyakit *ice-ice*. Fenomena kejadian penyakit *ice-ice* memiliki kesamaan yang dilaporkan Ask *et al.* (2003) bahwa kejadian penyakit *ice-ice* disuatu wilayah budidaya rumput laut diawali dengan perubahan *thallus* yang mengalami stress, dilanjutkan dengan terjadinya memutihan dan pada akhirnya mengalami kerusakan *thallus* (patah). Stress yang ditandai dengan perubahan warna *thallus* merupakan gejala awal dari rumput laut yang mengalami gangguan penyakit *ice-ice*, seiring dengan waktu pemeliharaan *thallus* memutih dan akhirnya keropos (Sulu *et al.* 2003).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

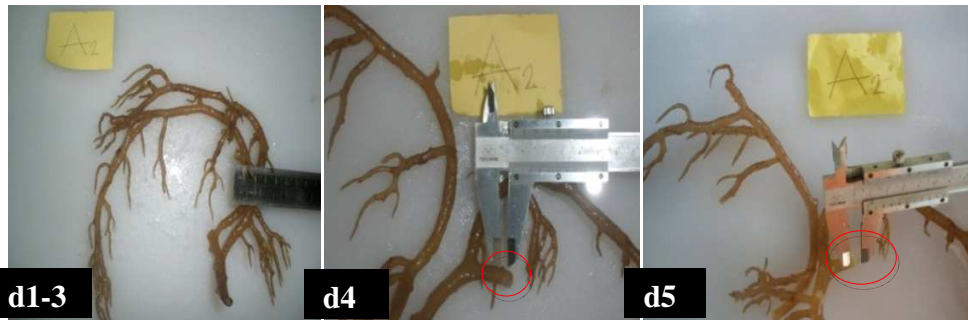
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Uji Transmisi Penyakit *Ice-Ice*

Tahapan perubahan *thallus* rumput laut selama uji transmisi melalui kohabitasi terlihat dari masing-masing perlakuan berdasarkan waktu pengamatan sebagai berikut:

Perubahan *Thallus* pada Perlakuan A (30g)

Perubahan morfologi *thallus* rumput laut dengan perlakuan berat basah rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* sebesar 30g menunjukkan adanya perubahan morfologi khususnya pemutihan *thallus* terjadi pada hari keempat dan kelima (Gambar 10).



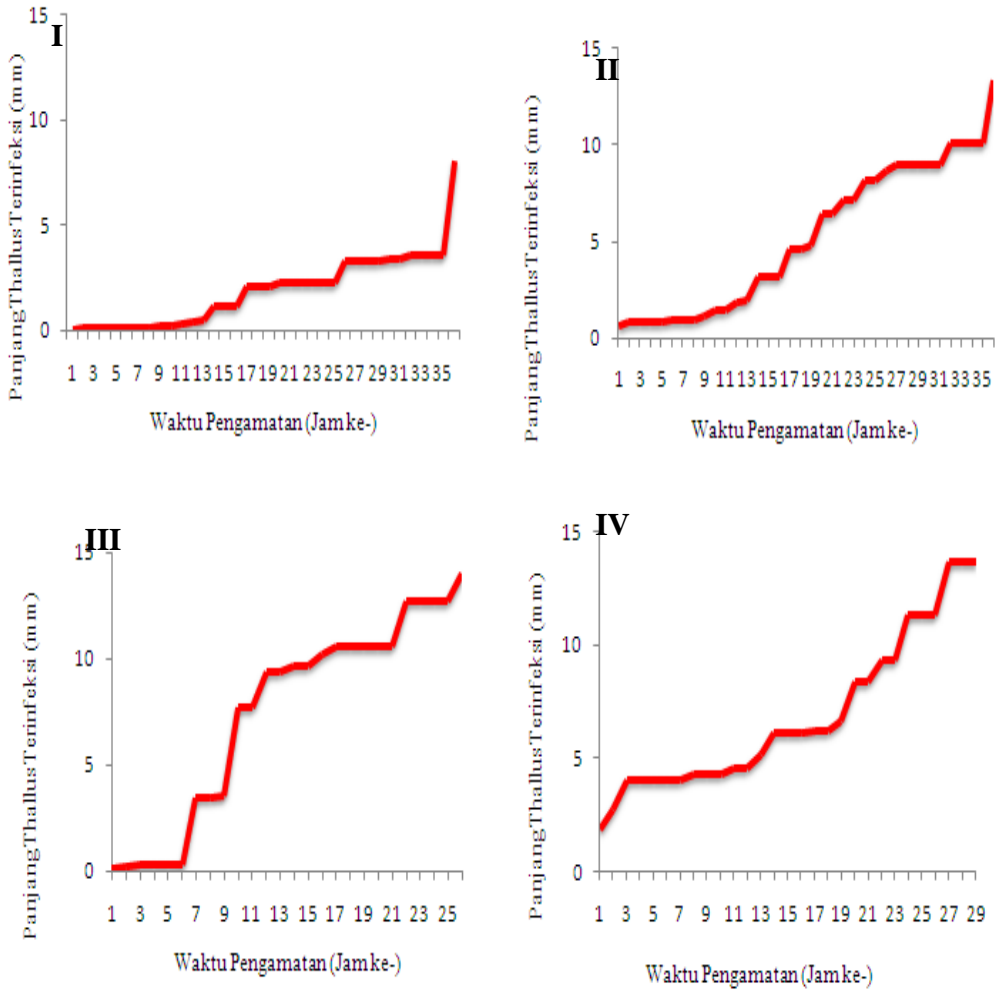
Gambar 10 Tahapan kejadian penyakit *ice-ice* dengan uji kohabitasi selama 5 (lima) hari pengamatan pada perlakuan A (Berat *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice* 30g). (d1-3 = Hari kesatu sampai hari ketiga; d4= Hari keempat; d5= Hari kelima).

Perubahan morfologi *thallus* rumput laut selama 5 (lima) hari pengamatan diawali dengan perubahan kondisi *thallus* yang mengalami kehilangan lendir di permukaan *thallus*. Kondisi tersebut menyebabkan permukaan *thallus* menjadi kasar dan berangsur-angsur *thallus* mengalami perubahan warna. Gejala tersebut berlanjut dengan semakin meningkatnya perubahan penurunan warna *thallus* dari kondisi awal warna *thallus* sehat. Kejadian ini berlangsung pada hari kedua pengamatan, setelah memasuki hari ketiga salah satu percabangan *thallus* menunjukkan pemutihan pada bagian ujung *thallus* dengan panjang rata-rata 0,08 mm. Perubahan ukuran panjang *thallus* yang putih tersebut meningkat pada hari keempat dengan ukuran panjang rata-rata 1,34 mm. Percabangan *thallus* rumput laut yang terinfeksi terus mengalami

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

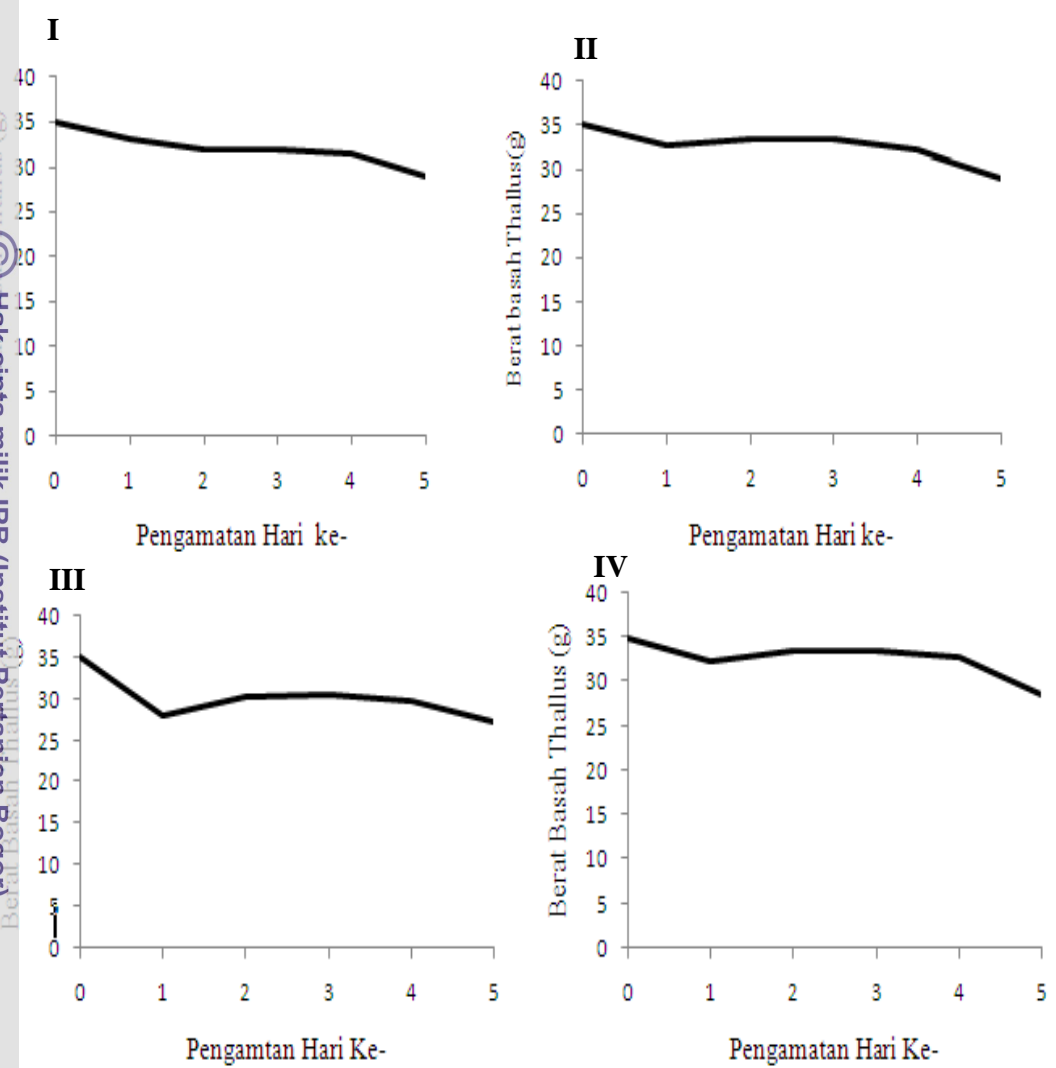
peningkatan dengan panjang rata-rata 3,97 mm (hari kelima pengamatan). Pemutihan mengalami terus penambahan ukuran seiring dengan waktu kohabitasi disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11 Ukuran panjang *thallus* yang memutih pada perlakuan berat basah rumput laut terserang penyakit *ice-ice* (I : Perlakuan A = 30g, II : Perlakuan B = 35g, III : Perlakuan C = 40g, dan IV : Perlakuan D = 45g), selama pengamatan.

Perubahan kondisi permukaan *thallus* dan perubahan warna serta timbulnya pemutihan pada ujung *thallus* ternyata diikuti dengan perubahan berat basah (g) rumput laut. Hubungan tersebut ditunjukkan dengan terjadinya kecenderungan penurunan berat basah rumput laut pada uji kohabitasi (Gambar 12).

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 12 Berat basah rumput laut selama masa pengamatan pada perlakuan berat basah rumput laut terserang penyakit *ice-ice* (I : Perlakuan A = 30g, II : Perlakuan B = 35g, III : Perlakuan C = 40g, IV : Perlakuan D = 45g)

Perubahan berat basah *thallus* rumput laut pada perlakuan A mengalami penurunan dari berat basah awal *thallus* rumput laut sehat yang dikohabitasikan yakni 35,66 g menjadi 33,22 g pada hari pertama. Penurunan juga terjadi pada hari kedua dengan kisaran berat rata-rata 33,21g, dan hari ketiga mengalami penurunan berat basah *thallus* rumput laut dengan kisaran rata-rata 32,44 g. sedangkan pada hari keempat mengalami penurunan dengan berat basah *thallus* rata-rata 30,26 g dan pada

hari kelima mengalami penurunan berat basah *thallus* dengan kisaran rata-rata 28,68 g (Gambar 12).

Perubahan *Thallus* pada Perlakuan B (35g)

Perlakuan B (*thallus* rumput laut terserang *ice-ice* yang dikohabitasikan 35 g) menunjukkan adanya perubahan morfologi *thallus* sampai munculnya gejala penyakit *ice-ice* (Gambar 13).



Gambar 13 Tahapan kejadian penyakit *ice-ice* pada uji kohabitasi selama pengamatan pada perlakuan B (Berat basah *thallus* terserang penyakit *ice-ice*. (d1-2 = Hari kesatu sampai hari kedua, d3 = Hari ketiga, d4 = Hari keempat, d5 = Hari kelima).

Perubahan morfologi *thallus* rumput laut pada perlakuan B dengan 5 (lima) hari pengamatan mengalami kondisi yang cenderung sama. Perubahan diawali dengan kondisi permukaan *thallus* yang kasar akibat kehilangan lendir/selaput permukaan, yang berangsur-angsur *thallus* mengalami perubahan warna. Kondisi tersebut berlanjut dengan semakin memudarnya warna *thallus* dari kondisi awal warna *thallus* *sehat*. Kejadian ini berlangsung pada hari ketiga hingga hari kelima pengamatan. Kondisi percabangan *thallus* yang terinfeksi pada hari ketiga menunjukkan pemutihan pada ujung *thallus* dengan panjang rata-rata 0,76 mm, pada hari keempat ukuran panjang *thallus* yang memutih tersebut bertambah dengan panjang rata-rata 4,02 mm, dan kondisi *thallus* yang terinfeksi terus meningkat dengan panjang rata-rata 9,90 mm pada hari kelima pengamatan. Pemutihan terus bertambah ukurannya seiring dengan waktu kohabitasi (Gambar 11). Perubahan kondisi permukaan *thallus* dan perubahan warna serta timbulnya pemutihan pada ujung *thallus* ternyata diikuti dengan perubahan berat basah (g) rumput laut.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hubungan tersebut ditunjukkan dengan terjadinya kecenderungan penurunan berat basah rumput laut pasca uji kohabitasi (Gambar 12).

Perubahan berat basah *thallus* rumput laut pada perlakuan B mengalami penurunan dari rata-rata berat basah awal *thallus* rumput laut sehat yang kohabitasi yakni 33,40 g menjadi 33,20 g pada hari pertama. Penurunan juga terjadi pada hari kedua dengan kisaran berat rata-rata *thallus* rumput laut 33,10 g, dan hari ketiga mengalami penurunan berat basah *thallus* rumput laut dengan kisaran rata-rata 32,60 g. Sedangkan pada hari keempat mengalami penurunan dengan berat basah *thallus* rata-rata 30,85 g dan pada hari kelima mengalami penurunan berat basah *thallus* dengan kisaran rata-rata 28,54 g (Gambar 12).

Perubahan *Thallus* pada Perlakuan C (40g)

Perlakuan C (*thallus* rumput laut terinfeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* yang kohabitasi 40 g) menunjukkan adanya perubahan morfologi *thallus* sampai munculnya gejala penyakit *ice-ice* (Gambar 14).



Gambar 14 Tahapan kejadian penyakit *ice-ice* pada uji kohabitasi selama pengamatan pada perlakuan C (Berat basah *thallus* terserang penyakit *ice-ice* (d1-3 = Hari kesatu sampai hari ketiga, d4= Hari keempat, d5 = Hari kelima).

Perubahan morfologi *thallus* rumput laut pada perlakuan C dengan 5 (lima) hari pengamatan mengalami kondisi yang cenderung sama. Perubahan diawali dengan kondisi permukaan *thallus* yang kasar akibat kehilangan lendir/selaput permukaan, yang berangsur-angsur *thallus* mengalami perubahan warna. Kondisi tersebut berlanjut dengan semakin memudarnya warna *thallus* dari kondisi awal warna *thallus* sehat. Kejadian ini berlangsung pada hari keempat hingga hari kelima

pengamatan. Kondisi percabangan *thallus* yang terserang *ice-ice* pada hari keempat menunjukkan pemutihan pada ujung *thallus* dengan panjang rata-rata 5,07 mm, kondisi *thallus* yang terinfeksi terus meningkat dengan panjang rata-rata 11,89 mm pada hari kelima pengamatan. Pemutihan terus bertambah ukurannya seiring dengan waktu kohabitasi (Gambar 11).

Perubahan kondisi permukaan *thallus* dan perubahan warna serta timbulnya pemutihan pada ujung *thallus* ternyata diikuti dengan perubahan berat basah (g) rumput laut. Hubungan tersebut ditunjukkan dengan terjadinya kecenderungan penurunan berat basah *thallus* rumput laut pasca uji kohabitasi (Gambar 12).

Perubahan berat basah *thallus* rumput laut pada perlakuan C mengalami penurunan dari rata-rata berat basah awal *thallus* rumput laut sehat yang dikohabitasikan yakni 33,03 g menjadi 32,42 g pada hari pertama. Penurunan juga terjadi pada hari kedua dengan kisaran berat rata-rata *thallus* 30,20 g, dan hari ketiga mengalami penurunan berat basah *thallus* dengan kisaran rata-rata 30,11g. sedangkan pada hari keempat mengalami penurunan dengan berat basah rata-rata 28,95 g dan pada hari kelima mengalami penurunan berat basah *thallus* dengan kisaran rata-rata 28,08 g (Gambar 12).

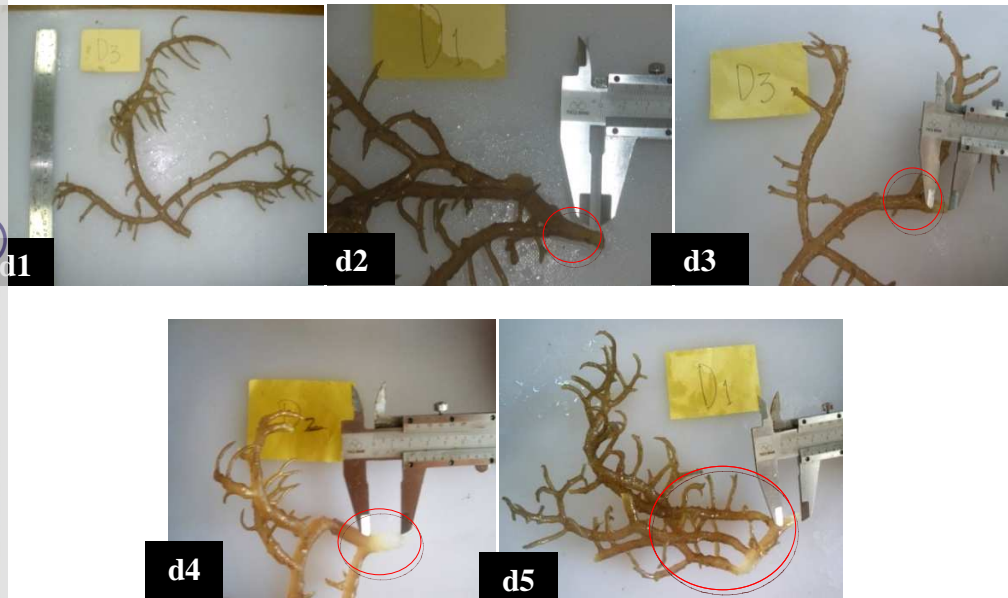
Berat Basah *Thallus* Terinfeksi *Vibrio alginolyticus* 45 g (Perlakuan D)

Perlakuan D (*thallus* rumput laut terserang *ice-ice* yang dikohabitasikan 45 g) menunjukkan adanya perubahan morfologi *thallus* sampai munculnya gejala penyakit *ice-ice* (Gambar 15).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 15 Tahapan kejadian penyakit *ice-ice* pada uji kohabitasi selama pengamatan pada perlakuan D (Berat basah *thallus* terserang penyakit *ice-ice*. (d1 = Hari kesatu, d2 = Hari kedua, d3 = Hari ketiga, d4 = Hari keempat, d5 = Hari kelima).

Perubahan morfologi *thallus* rumput laut pada perlakuan D dengan 5 (lima) hari pengamatan mengalami kondisi yang cenderung sama. Perubahan diawali dengan kondisi permukaan *thallus* yang kasar akibat kehilangan lendir/selaput permukaan, yang berangsur-angsur *thallus* mengalami perubahan warna. Kondisi tersebut berlanjut dengan semakin memudarnya warna *thallus* dari kondisi awal warna *thallus* sehat. Kejadian ini berlangsung pada hari ketiga hingga hari kelima pengamatan. Kondisi percabangan *thallus* yang terinfeksi pada hari kedua menunjukkan pemutihan dengan pada ujung *thallus* 0,51 mm dan pada hari ketiga menunjukkan pemutihan pada ujung *thallus* dengan panjang rata-rata 2,88 mm, pada hari keempat ukuran panjang *thallus* yang memutih tersebut bertambah dengan panjang rata-rata 6,77 mm, dan kondisi *thallus* yang terinfeksi terus meningkat dengan panjang rata-rata 16,80 mm pada hari kelima pengamatan. Pemutihan terus bertambah ukurannya seiring dengan waktu kohabitasi (Gambar 11).

Perubahan kondisi permukaan *thallus* dan perubahan warna serta timbulnya pemutihan pada ujung *thallus* ternyata diikuti dengan perubahan berat basah *thallus*



rumpun laut (g). Hubungan tersebut ditunjukkan dengan terjadinya kecenderungan penurunan berat basah *thallus* rumput laut pasca uji kohabitasi (Gambar 12).

Perubahan berat basah rumput laut pada perlakuan D mengalami penurunan dari rata-rata berat basah awal *thallus* rumput laut sehat yang dikohabitasi yakni 34 g menjadi 33,2 g pada hari pertama. Penurunan juga terjadi pada hari kedua dengan kisaran berat basah *thallus* rata-rata 33,05 g, dan hari ketiga mengalami penurunan berat basah *thallus* rumput laut dengan kisaran rata-rata 33,03 g. Sedangkan pada hari keempat mengalami penurunan dengan berat basah *thallus* rata-rata 31g dan pada hari kelima mengalami penurunan berat basah *thallus* dengan kisaran rata-rata 27,87 g (Gambar 12).

Kondisi perubahan ke arah gejala penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut sangat dipengaruhi oleh besarnya berat *thallus* yang terinfeksi. Proses pemutihan *thallus* terkait dengan keberadaan bakteri patogen yang melakukan aktivitas transmisi. Proses pelekatan agen penyakit (bakteri) dari organisme sampai produksi substansi ekstraselular sangat berhubungan dengan waktu dan penurunan berat inang baru akibat lisisnya sel-sel inang baru (Salyers and Whitt 1994). Pada penelitian Largo *et al.* (1995) menunjukkan bahwa proses penurunan substansi organik pada *thallus* diakibatkan oleh pemanfaatan substansi tersebut oleh bakteri yang menyebabkan rumput laut dengan mudah terinfeksi penyakit *ice-ice*. Perubahan *thallus* rumput laut dengan perlakuan berat *thallus* terinfeksi penyakit *ice-ice* yang diperoleh di perairan Pulau Panggang, Kepulauan Seribu menunjukkan perubahan *thallus* dari rumput laut sehat (uji).

Perubahan tersebut diawali dengan perubahan warna pada bagian tertentu dan pada hari ketiga dan keempat mengalami pemutihan. Secara umum gejala perubahan *thallus* tersebut seperti gambar yang dipublikasikan oleh SEAFDEC (2003) (Gambar

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang



Gambar 16 Gejala penyakit *Ice-ice* dari sampel rumput laut *Kappaphycus alvarezii* (SEAFDEC 2003).

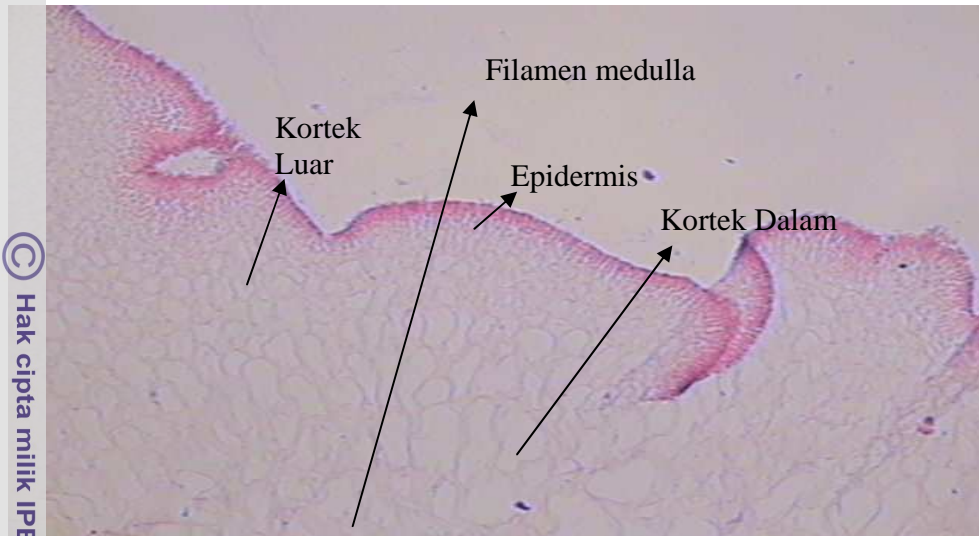
Histopatologi

Pengamatan secara mikroskopis terhadap penampang membujur *thallus* rumput laut jenis *K. alvarezii* mempunyai lapisan sel yang berbeda bentuk dan urutannya. Jensen and Kavaljian (1966) membagi tiga lapisan sel ini menjadi epidermis, pseudoparenchym (kortek) dan medulla (Gambar 17). Skema irisan penampang membujur *thallus* rumput laut terlihat bahwa epidermis tersusun atas dua lapis sel yaitu sel-sel yang berbentuk empat persegi panjang dilapisan luar dan sel-sel yang berbentuk bulat di lapisan bagian dalam, keduanya tersusun sangat rapat. Lapisan di dalamnya merupakan *pseudoparenchym* (kortek) yang tersusun atas 2 lapis sel yakni kortek luar yang berbatasan dengan epidermis berbentuk poligonal sedangkan lapisan di bawahnya adalah kortek dalam yang tersusun dua macam sel yang berukuran besar berbentuk bulat panjang dan sel-sel polygonal yang berukuran lebih kecil.

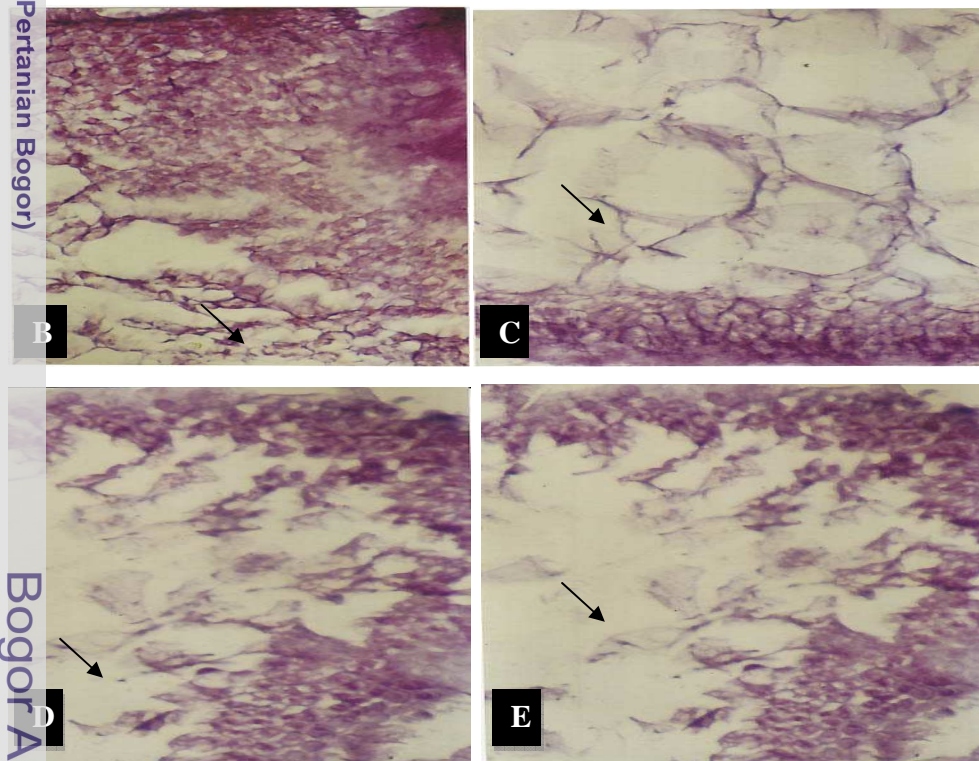
Fungsi kortek sebagai tempat berlangsungnya fotosintesis. Okamura (1959) menyatakan bahwa sel kortek bagian dalam yang berukuran besar berisi udara sehingga memungkinkan rumput laut dapat mengapung di dalam air. Lapisan yang paling dalam yang merupakan pusat *thallus* berukuran kecil, berbentuk bulat disebut medulla. Menurut Percival and Dowel (1967) karaginan yang terkandung pada rumput laut jenis *K. alvarezii* ini terdapat pada dinding sel dan lamella tengah yang membentuk suatu bahan yang kental.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 17 Penampang histologi jaringan *thallus* rumput laut *K.alvarezii* yang sehat (0), hari pengamatan: A = Hari ke-0 (H&E,100x),



Gambar 18 Penampang histologi jaringan *thallus* rumput laut *K.alvarezii* terserang penyakit *ice-ice* berdasarkan hari pengamatan: A = Hari ke-0, B = Hari ke-2, C = Hari ke-3, D = Hari ke-4, E = Hari ke-5. (H&E, 200x).

Kandungan Karaginan Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

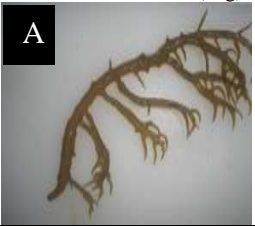

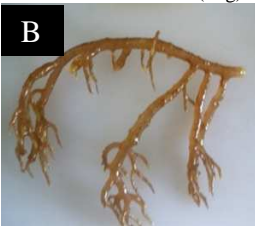





Berdasarkan hasil pengamatan histologi jaringan *thallus* rumput laut kondisi struktur jaringan terlihat pada gambar tersebut di atas menunjukkan perbedaan struktur jaringan. Kondisi jaringan rumput laut yang sehat menunjukkan komponen sel penyusun jaringan masih utuh seperti sel kortikal dan sel modular masih kompak, susun rapi (Gambar 17), sedangkan struktur jaringan rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* struktur jaringan pada hari pertama sampai hari kelima memperlihatkan perubahan degradasi sel-sel penyusun jaringan yang rusak (lisis) (Gambar 18). Proses pelekatan agen penyakit (bakteri) dari organisme sampai produksi substansi ekstraselular sangat berhubungan dengan waktu dan penurunan berat inang baru akibat lisisnya sel-sel inang baru (Salyers and Whitt 1994).

Perubahan kandungan karaginan rumput laut berbeda pada kondisi *thallus* yang sehat dengan rumput laut yang mengalami gangguan penyakit *ice-ice*. Berdasarkan analisis kandungan karaginan dari rumpun *thallus* rumput laut yang digunakan sebagai sampel untuk uji kohabitasi didapatkan nilai kandungan karaginan yang berkisar 28% - 35%. Jika dibandingkan dengan kandungan *thallus* rumput laut yang dari hasil uji kohabitasi, kisaran nilai kandungan karaginan lebih rendah dengan kisaran 2.9% - 4%. Kandungan karaginan (dinyatakan dalam berat mutlak (g)) terhadap *thallus* rumput laut sesudah uji kohabitasi/ terserang penyakit *ice-ice* dari masing-masing perlakuan disajikan pada Gambar 19. Kecenderungan kandungan karaginan menurun dengan meningkatnya jumlah atau berat rumput laut terserang penyakit *ice-ice* yang digunakan dalam uji kohabitasi.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

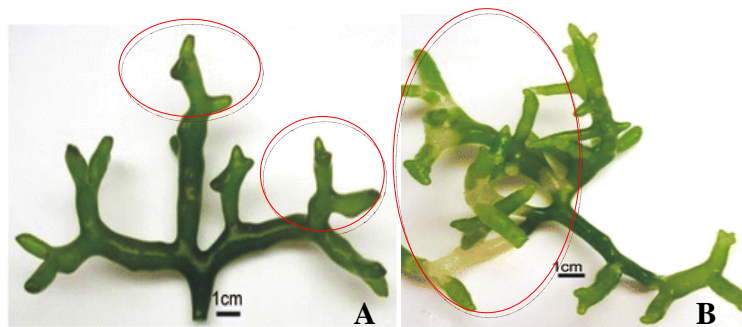
Waktu Uji Kohabitasi			
HO (Kondisi Awal Pengamatan)	H5 (Sesudah Pengamatan)		Kandungan Karaginan (g)
Perlakuan / <i>Thallus</i> Terinfeksi	<i>Thallus</i> Sehat	Berat <i>Thallus</i> (g)	
Perlakuan A Berat <i>Thallus</i> Terinfeksi (35g)	Berat <i>Thallus</i> Diinfeksi (35g) 	Berat <i>Thallus</i> (28,2g) 	1,1 g
Perlakuan B Berat <i>Thallus</i> Terinfeksi (35g)	Berat <i>Thallus</i> Diinfeksi (35g) 	Berat <i>Thallus</i> (27,6g) 	0,85 g
Perlakuan C Berat <i>Thallus</i> Terinfeksi (35g)	Berat <i>Thallus</i> Diinfeksi (35g) 	Berat <i>Thallus</i> (26,5g) 	0,82 g
Perlakuan D Berat <i>Thallus</i> Terinfeksi (45g)	Berat <i>Thallus</i> Diinfeksi (35g) 	Berat <i>Thallus</i> (26,8g) 	0,77 g

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Gambar 19 Kandungan karaginan (g) sesudah uji kohabitasi *thallus* rumput laut yang terinfeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 dengan *thallus* rumput laut sehat selama lima hari uji kohabitasi.

Terjadinya perubahan kandungan karaginan terhadap *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice*, diindikasikan dengan hilangnya pigmen akibat

lisisnya sel penyusun jaringan rumput laut. Dampak yang lain dari lisisnya sel tersebut terjadinya degradasi substansi organik secara signifikan dari jaringan *thallus* rumput laut. Berdasarkan hasil analisis kandungan karaginan terhadap rumput laut sesudah uji kohabitasi menunjukkan adanya perubahan yang memperlihatkan adanya kecenderungan penurunan kadar karaginan secara signifikan dari masing-masing perlakuan (Lampiran 11). Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA $P < 0,05$) menunjukkan adanya interaksi dari taraf perlakuan berat *thallus* terinfeksi dengan waktu uji kohabitasi terhadap respon penurunan kandungan karaginan (Lampiran 12). Interaksi masing-masing taraf perlakuan ditentukan dengan uji statistik lanjutan dengan uji Duncan. Hasil analisis menunjukkan perbedaan dari setiap interaksi taraf perlakuan sebelum dan sesudah uji transmisi penyakit *ice-ice* (Lampiran 13). Kondisi ini sejalan dengan hasil penelitian Hayashi *et al.* (2010) bahwa, kondisi *thallus* rumput laut yang mengalami kehilangan pigmen dan menunjukkan gejala penyakit *ice-ice* memiliki kandungan karaginan yang rendah berkisar 0,5% - 25%. Gambaran *thallus* rumput laut yang mengalami penurunan persentase kandungan karaginan dapat dilihat pada Gambar 20 (Hayashi *et al.* 2010).



Gambar 20 *Thallus* yang mengalami penurunan kandungan karaginan akibat perubahan warna (kehilangan pigmen)(A) dan terinfeksi penyakit *ice-ice* (B) (Hayashi *et al.* 2010).

Analisis persentase kandungan karaginan rumput laut sehat dengan yang terinfeksi dilakukan untuk membandingkan kandungan persentase kadar karaginan. Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji Duncan menunjukkan bahwa meskipun tidak terdapat perbedaan perlakuan yang signifikan pada hari kedua namun terlihat

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



pada perlakuan D memiliki penurunan persentase kandungan karaginan yang terendah (2,9%). Pada penelitian Mendoza *et al.* (2002), menunjukkan bahwa kadar viskositas dan karaginan *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii* menurun ketika terjadi infeksi penyakit *ice-ice*. Kualitas rumput laut *K. alvarezii* ditentukan oleh kadar karaginan yang berkisar 32% - 75%, dan mengalami penurunan kualitas ketika berada di bawah kisaran tersebut (Munoz and Sahoo 2004). Kandungan karaginan dan kekuatan menurun secara signifikan ketika gejala penyakit *ice-ice* mulai tampak pada *thallus*, dan semakin menurun seiring dengan waktu dan tingkat kerusakan *thallus* (SeaPlant Net, 2005). Hasil penelitian Amiluddin (2007), menunjukkan bahwa penurunan kandungan karaginan berbanding lurus dengan waktu infeksi bakteri *Vibrio* yang terjadi di perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu Provinsi DKI Jakarta.

KESIMPULAN

Bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 memiliki tingkat patogenisitas tertinggi terhadap *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Penularan penyakit *ice-ice* meningkat seiring dengan waktu transmisi bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1, yang ditandai dengan penurunan berat basah *thallus* rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice* dan penurunan berat karaginan. Berdasarkan analisis histologi menunjukkan kerusakan jaringan *thallus* meningkat seiring dengan kematian sel (*nekrosis*) penyusun jaringan *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



JUDUL 3. IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI PATOGEN DAN DESAIN PRIMER SPESIFIK PCR

Abstrak

Pengelolaan budidaya rumput laut yang sehat dan bebas penyakit *ice-ice* merupakan komponen penting dalam peningkatan produksi rumput laut. Untuk mendukung pengendalian terpadu penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut diperlukan informasi variasi genetik bakteri patogen dan penyediaan deteksi secara cepat dan akurat. Kajian yang dilakukan bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri patogen berdasarkan hasil analisis sekuen gen 16S-rRNA, mengkonstruksi primer PCR spesifik dari sekuen gen 16S-rRNA dari bakteri yang memiliki tingkat patogenisitas tertinggi. Gen 16S-rRNA bakteri yang memberikan tingkat patogenisitas tertinggi diamplifikasi dengan primer PCR universal domain bakteri forward primer 63f (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3') dan reverse primer 87r (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3'). Hasil sekuensing DNA dibandingkan dengan data base *European Bioinformatics Institute* (EBI) BLASTN. Perancangan dan analisis kelayakan pasangan primer yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan program Primer 3. Dua primer spesifik PCR berhasil dirancang yakni aSEFM-F (5- CAGCCACACTGGAAGTACTGAGA -3) dan aSEFM-R (TTAGCCGGTGCTTCTTCTGT -3). Kedua primer ini bereaksi optimum pada suhu 60°C dengan yang menghasilkan amplicon berukuran 201 bp.

Kata kunci : patogenisitas, gen 16S-rRNA, PCR, primer, spesifik.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mempublikasikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



III. MOLECULAR IDENTIFICATION OF PATHOGENIC BACTERIA AND PCR SPECIFIC PRIMER DESIGN

Abstract

Management of healthy seaweed aquaculture and control of ice ice disease are important component in seaweed production. To support the integrated prevention of ice ice disease, information about genetic variation of bacterial pathogen and the availability of fast and accurate detection are required. This study aimed to identify bacterial pathogen based on gene sequence analysis 16S-rRNA, construction of specific PCR primer from gene sequent analysis 16S-rRNA from bacteria that had the highest pathogenicity. Gene 16S rRNA of bacteria that had the highest pathogenicity was amplified with universal primer PCR domain forward primer 63f (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3') and reverse primer 1387r (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3'). DNA Sequence obtained was compared with data base *European Bioinformatics Institute* (EBI) BLASTN. Construction and feasibility analysis of primer pair was done using primer 3 program. Two specific primer PCR were successfully constructed namely aSEFM-F (5'-GCCACACTGGAAGTGA-3) and aSEFM-R(5'-TAGCCGGTGCTTCTTCTGT -3). Both primer reacted optimum at 60°C and produced 201 bp amplicon.

Keywords: pathogenicity, gene 16S-rRNA, PCR, primer, specific

PENDAHULUAN

Penyakit *ice-ice* dominan menyerang rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang dibudidayakan dengan gejala awal klinis yang ditimbulkan seperti produksi lendir meningkat, permukaan *thallus* kasar, *thallus* layu, terbentuknya bintik putih, dan pemutihan ujung *thallus*. Serangan penyakit *ice-ice* yang lebih parah dapat menyebabkan *thallus* menjadi keropos dan akhirnya *thallus* yang terinfeksi menjadi patah (rontok).

Penyebaran penyakit *ice-ice* pada lokasi budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* terjadi di seluruh pusat pengembangan produksi rumput laut baik secara global maupun di wilayah pengembangan produksi rumput laut di Indonesia. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa penyebaran penyakit *ice-ice* disebabkan oleh serangan bakteri patogen.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Pengelolaan budidaya rumput laut yang sehat dan bebas penyakit *ice-ice* merupakan komponen penting dalam peningkatan produksi rumput laut, sehingga diperlukan teknik deteksi cepat dan akurat. Selama ini identifikasi dan deteksi bakteri patogen dilakukan pengamatan berdasarkan gejala klinis dan riwayat kejadian penyakit di lokasi budidaya, serta karakteristik morfologi dan fisiologi. Walaupun metode ini sangat penting sebagai studi awal, namun cara ini kurang dapat menentukan hubungan filogenetis dan ekspresinya sangat dipengaruhi oleh lingkungan (Suwanto 1994). Untuk mendukung pengendalian terpadu penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut diperlukan informasi variasi genetik dari suatu bakteri patogen dan penyediaan identifikasi dan deteksi secara cepat, akurat dengan kepekaan tinggi.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk analisis deteksi bakteri patogen dengan menggunakan teknik PCR. Teknik ini digunakan untuk menelaah profil DNA gen 16S-rRNA. Penggunaan 16S-rRNA telah digunakan sebagai parameter sistematik molekuler universal, representatif, dan praktis untuk rekonstruksi kekerabatan filogenetik pada tingkat spesies. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas deteksi molekuler berbasis PCR ialah pemilihan primer yang tepat (Rychlic 1995). Primer PCR merupakan oligonukleotida yang berperan sebagai inisiasi amplifikasi molekul DNA. Keberadaan primer PCR tersebut, maka gen target akan teramplifikasi sepanjang reaksi PCR berlangsung. Analisis PCR dengan primer spesifik merupakan langkah terbaik untuk kepentingan deteksi bakteri patogen karena dapat menghasilkan penentuan secara cepat keberadaan gen target, cukup sensitif dan mudah digunakan dalam kegiatan rutin.

Untuk merancang primer spesifik tersebut diperlukan data sekuen gen yang menyandikan protein sejenis dengan fragmen yang akan diamplifikasi melalui PCR. Namun kajian spesifik kearah analisis gen bakteri patogen dari *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan sekuen gen 16S rRNA untuk mendesain primer spesifik PCR dalam deteksi cepat dan akurat.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Kajian yang dilakukan bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri patogen berdasarkan hasil analisis sekuen gen 16S-rRNA, mendesain primer PCR spesifik dari sekuen gen 16S-rRNA dari bakteri yang memiliki tingkat patogenisitas tertinggi. Penelitian ini diharapkan dapat menentukan strain bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* dan menghasilkan suatu primer spesifik PCR untuk mendeteksi bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada rumput laut.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



BAHAN DAN METODE

Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri secara Molekuler

Identifikasi isolat bakteri yang memberikan tingkat patogenisitas tertinggi dilakukan berdasarkan hasil sekuensing gen 16S-rRNA (Marchesi *et al.* 1998). Sekuensing gen 16S-rRNA terdiri dari tahapan ekstraksi DNA, amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR (Suwanto 2002), dan sekuensing dengan mesin *Sequenser*.

Ekstraksi DNA

Bakteri patogen yang mempunyai patogenisitas tertinggi ditumbuhkan dalam media SWC Broth. Kultur diinkubasi dalam *shaker water bath* pada suhu 28-29°C, 100 rpm selama 24 jam. Sel bakteri dipanen dengan mengambil 1,5 ml suspensi bakteri lalu dimasukkan ke dalam eppendorf dan disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit, selanjutnya supernatan dibuang. Tahap ini diulang sebanyak tiga kali. Pellet bakteri yang terbentuk diresuspensi dengan 1 ml buffer TE 1X dan disentrifugasi 6000 rpm selama 2 menit. Setelah disentrifugasi supernatan yang ada dibuang.

Pellet yang tertinggal diresuspensi dengan 500 µl buffer TE 1X, selanjutnya ditambahkan 100 µl SDS 10% dan 10 µl proteinase-K lalu dibolak balik perlahan-lahan hingga tercampur. Selanjutnya ditambahkan 100 µl 5 M NaCl dan 100 µl 10% CTAB/NaCl yang telah dihangatkan terlebih dahulu (65 °C) selanjutnya diinkubasi selama 20 menit pada suhu 65 °C. Kemudian ditambahkan 500 µl campuran phenol:chloroform:isoamylalcohol (25:24:1) lalu divortex hingga tercampur. Selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm.

Cairan yang terbentuk yang berada pada lapisan teratas dipindahkan ke dalam eppendorf yang lain lalu ditambahkan 0,6 volume isopropanol dingin. Tabung eppendorf dibolak balik secara perlahan supaya tercampur selanjutnya selama 20 menit disimpan pada suhu -20 °C. Kemudian disentrifugasi pada kecepatan maksimal selama 5 menit pada suhu -4°C, supernatan yang ada dibuang. Selanjutnya ditambahkan 1 ml etanol 70% dingin lalu disentrifugasi lagi pada kecepatan maksimum selama 2 menit. Supernatan dibuang kembali, lalu disimpan pada suhu

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



ruang hingga etanol menguap habis. Sebelum disimpan DNA ditambahkan dengan *elution buffer* atau aquabidest steril serta dilakukan pengecekan dengan elektroforesis.

Amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR

Primer yang digunakan adalah primer universal untuk domain bakteri berupa forward primer 63f (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3') dan reverse primer 87r (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3') (Marchesi *et al.* 1998). Semua komponen reaksi dicampur ke dalam *microtube* dan dimasukkan ke dalam mesin PCR. Tahapan PCR terdiri dari pre-denaturasi 94 °C, 2 menit; tahap denaturasi 92 °C, 30 detik; tahap annealing 55 °C, 30 detik, tahap elongasi 72 °C selama 1 menit. Proses PCR terdiri dari 30 siklus. Selanjutnya *post PCR* pada suhu 75 °C selama 20 menit dan tahap *stop PCR* pada suhu 4 °C. Hasil PCR disimpan pada suhu -20 °C atau langsung dielektroforesis

Elektroforesis

Gel elektroforesis disiapkan dengan 0,8 % agarose dalam 1x buffer TAE (0,24 g agarose dalam 30 ml 1xTAE) (50x tris-asetat EDTA (TAE):1 l dH₂O, 242 gr Tris-basa, 37,2 gr Na₂EDTA, 57,1 ml asam asetat glasial), dipanaskan dan setelah larut didinginkan sampai 50°C kemudian dituang pada cetakan gel. Wadah yang sudah berisi gel diberi buffer 1x TAE secukupnya kemudian memasukkan sampel hasil digesti pada sumur-sumur gel. Pada waktu elektroforesis diberikan suatu marker atau penanda molekul DNA. Elektroforesis dilakukan pada kondisi 30-40 Volt dan 28 – 29 mA dan diakhiri setelah bromofenol sampai tepi bawah gel.

Sekuensing dan Analisis Sekuen DNA

Sekuensing dilakukan dengan piranti *Automated DNA Sequencer* ABI PRISM 3100 (Perkin Elmer Biosystem, USA). *Cycle sequencing DNA template* dilakukan menggunakan kit *BigDye® Ready Reaction Mix* (Perkin Elmer Biosystem, USA). Campuran *cycle sequencing* terdiri atas 1 µl (300-500 ng) DNA template, 3,2 pmol primer, 1 µl DMSO, 6 µl *BigDye® Ready Reaction Mix*, dan *nuclease free water*



untuk menggenapkan volume menjadi 20 μ l. Proses *cycle sequencing* dilakukan pada mesin *sequencer* dengan kondisi sebagai berikut: pre-PCR pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* atau pelekatan primer (50°C, 30 detik), elongasi atau pemanjangan primer (72°C, 2 menit), dan *post-PCR* (50°C, 7 menit) dengan jumlah siklus sebanyak 25 kali. Hasil *cycle sequencing* tersebut selanjutnya dimurnikan dengan metode pengendapan etanol dan natrium asetat (Sambrook dan Russell 2001). Pada metode pemurnian ini campuran hasil *cycle sequencing* dimasukkan dalam tabung Eppendorf yang berisi 50 μ l 95% (v/v) etanol dan 2 μ l 3M natrium asetat pH 4.6 lalu divorteks. Setelah diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit, campuran disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 1000 rpm. Dengan hati-hati supernatan dibuang sampai habis menggunakan pipet mikro. Pelet yang tertinggal dicuci dua kali dengan 70% (v/v) etanol. Untuk menghilangkan sisa-sisa etanol, pelet divakum selama 10 menit. Pelet yang diperoleh selanjutnya dilarutkan dengan *loading buffer* dan siap dilarikan pada gel sekuensing. Sekuen DNA yang diperoleh dibandingkan dengan sekuen data base *European Bioinformatics Institute* (EBI) BLASTIN 2.0 atau FASTA3 pada situs <http://www.ebi.ac.uk>.

Perancangan Primer Spesifik

Data sekuen bakteri spesifik didapatkan dari isolat bakteri yang mempunyai tingkat patogenisitas tertinggi. Terhadap hasil sekuen tersebut dilakukan perancangan primer. Perancangan dan analisis kelayakan pasangan primer yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan program Primer 3 pada situs <http://www.justbio.com>. Primer hasil rancangan dipesan ke perusahaan Research Biolabs Singapura.

Optimalisasi Kondisi Suhu Annealing PCR

Setelah oligonukleotida primer diperoleh, hal pertama yang dilakukan adalah menentukan kondisi optimum PCR untuk primer spesifik khususnya terhadap suhu *annealing*. Suhu *annealing* yang diuji adalah 54°C, 56 °C, 58 °C, 60°C, 62 °C sedangkan suhu reaksi lainnya mengikuti prosedur.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Untuk penentuan kondisi optimum PCR tersebut, setiap reaksi PCR digunakan sampel positif berupa primer bakteri patogen, kontrol negatif berupa aquabides dan reaksi tanpa menggunakan primer. Suhu reaksi PCR yang memperlihatkan pita yang jelas dan spesifik pada ukuran 201 bp pada kontrol positif dan sampel, ditetapkan sebagai kondisi optimum PCR, dan digunakan untuk reaksi PCR selanjutnya.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi ini membutuhkan primer spesifik (sekuen oligonukleotida khusus) untuk daerah tersebut. Primer biasanya terdiri dari 10-20 nukleotida dan dirancang berdasarkan daerah konservatif dalam genom tersebut. Makin panjang primer, makin spesifik daerah yang diamplifikasi. Jika suatu kelompok organisme memang berkerabat dekat, maka primer dapat digunakan untuk mengamplifikasi daerah tertentu yang sama dalam genom kelompok tersebut.

Beberapa faktor seperti konsentrasi DNA, sebagai contoh, ukuran panjang primer, komposisi basa primer, konsentrasi ion Mg, dan suhu hibridisasi primer harus dikontrol dengan hati-hati agar dapat diperoleh pita-pita DNA yang utuh dan baik. Keberhasilan teknik ini lebih didasarkan kepada kesesuaian primer dan efisiensi dan optimasi proses PCR. Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi. Optimasi PCR juga diperlukan untuk menghasilkan karakter yang diinginkan. Optimasi ini menyangkut suhu *annealing* DNA dalam mesin PCR.

Suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan belum terbukanya DNA utas ganda sehingga tidak dimungkinkan terjadinya polimerisasi DNA baru. Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi atau sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya, akibatnya dapat teramplifikasi banyak daerah yang tidak spesifik dalam genom tersebut. Suhu penempelan (*annealing*) ini ditentukan berdasarkan primer yang digunakan yang dipengaruhi oleh panjang dan komposisi primer. Suhu penempelan ini sebaiknya sekitar 5°C di bawah suhu leleh. Secara umum suhu leleh (T_m) dihitung dengan rumus $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)^\circ C$ (Rybicky and Purver 1996).

Berikut ini disajikan contoh hasil amplifikasi gen 16S-rRNA pada gel elektroforesis dari bakteri dengan primer domain bakteri forward 63f (5'-CAG GCC

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

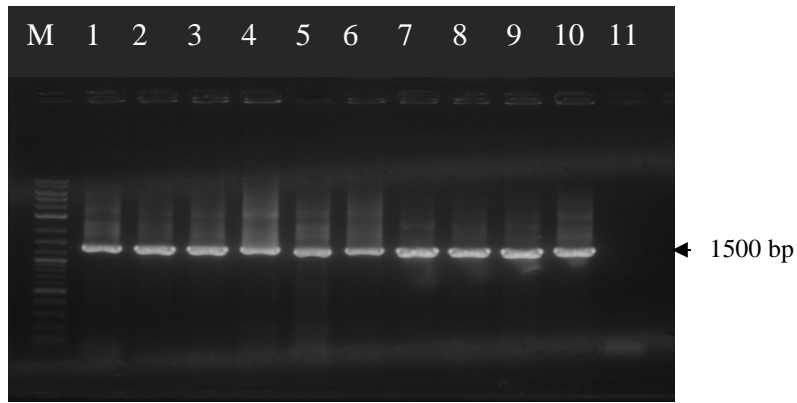
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

TAA CACATG CAA GTC) dan reverse 1387r (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC) (Marchesi *et al.* 1998).

Pemilihan DNA ribosom untuk tujuan identifikasi organisme didasarkan pada: Secara fungsional dan evolusioner memiliki sifat homolog dari berbagai organisme yang berbeda, molekul purba dengan struktur dan sekuen nukelotida sangat konservatif, sangat banyak di dalam sel, cukup besar untuk memungkinkan uji statistik perbedaan-perbedaannya satu sama lain. Hasil elektroforesis gel amplifikasi gen 16S-rRNA disajikan pada Gambar 21.



Gambar 21 Hasil elektroforesis gel amplifikasi gen 16S-rRNA. M: Marker 1 : PNG K, 2 : *Vibrio alginolyticus* PNGK 1, 3 : PNGK 2, 4 : PNG K3, 5 : PNG H1, 6 : PNG H2, 7 : PRB 4, 8 : PRB 5, 9 : PRB 6, 10: PRB7, 11 : Kontrol Negatif

Sekuen Gen 16S-rRNA Sampel Bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1

```
GACCTTCGGGGACGATACGGCGTCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAATTG
CCCTGATGTGGGGGATAACCATTGAAACGATGGCTAATACCGCATGATGCCTACGGGCC
AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCCTCTCGCGTCAGGATATGCCTAGGTGGGATTAGCTAGTTG
GAGGTAAGGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCA
CTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCAC
ATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTA
ACTTTTCAGTCGTGAGGAAGGCGGTCGTTAATAGCGGCGTTGTTTGACGTTAGCGACAG
GAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTA
CGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCATGCAGGTGGTTTGTAAAGTCAATGTGAAAGCCCG
GGCTCAACCTCGGAATAGCATTGAAACTGGCAGACTAGAGTACTGTAGAGGGGGGTA
ATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCG
```



GCCCCCTGGACAATACTGACCTCAATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC
CTGGTAGTCCCCCGTAAACGATGTCTACTTGGAGAGCGGAGGTTGTGGCCTTGAGCCGTG
GCTTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAACT
CAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACG
CGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGA AACTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTC
GAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGT CAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTT
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGT TTTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAACTCC
GGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTG GGGACGACGTCAAGTCATCATGGCC
TACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGG CGCATACAGAGGGCGGCCAACTTGCGA
AGTGAGCGAATCCCAAAAAGTGCGTCTAGTCC GGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCA
TAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGA ATGCCACGGGAAGCCC

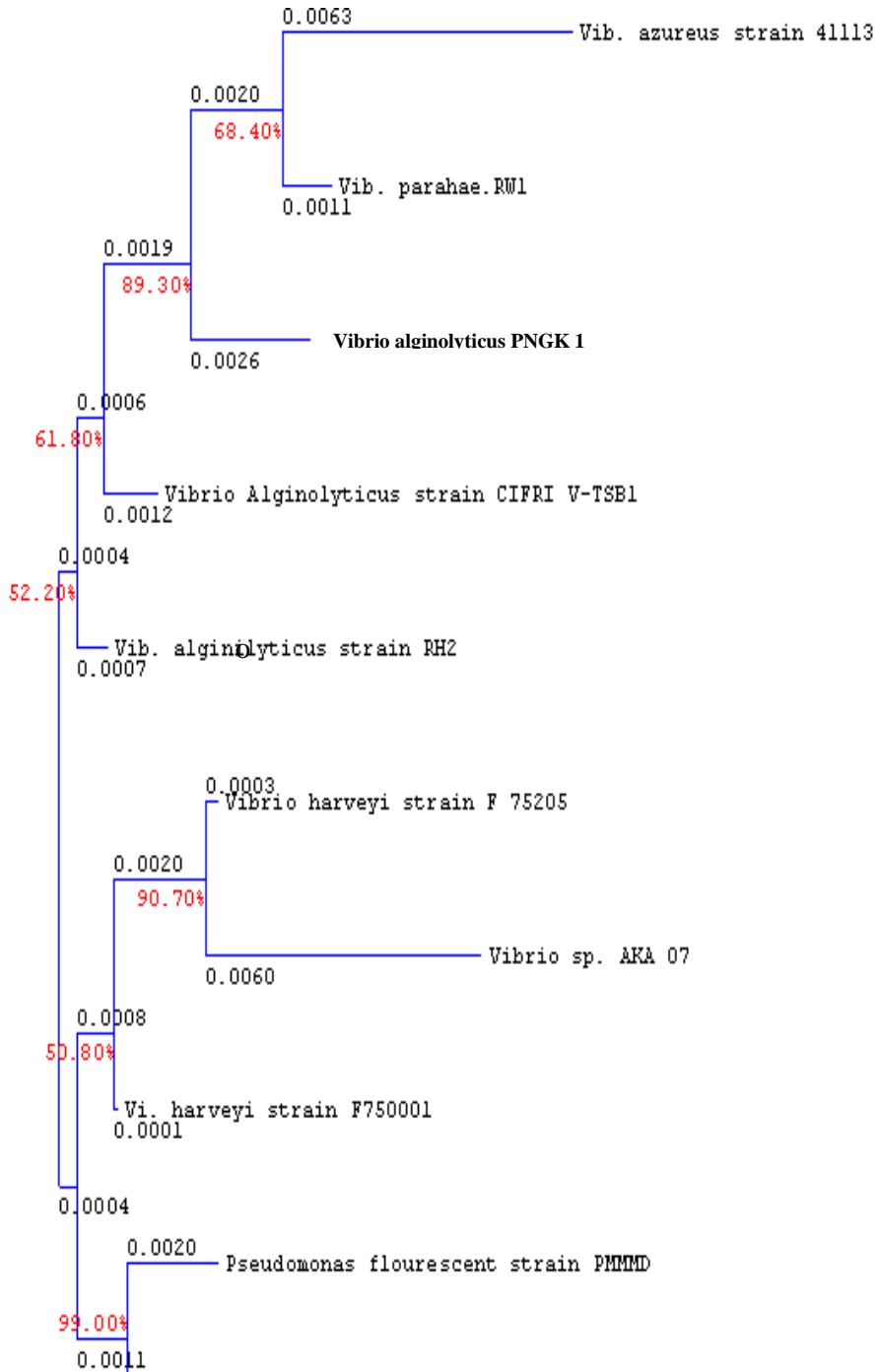
Sekuensing merupakan salah satu cara untuk mengidentifikasi suatu gen. Identitas suatu gen yang telah diketahui sekuennya dapat ditentukan dengan membandingkan dengan data sekuen yang terdapat pada *Genbank*. Menurut Ikevanis dan Oullete (2001) diketahui ada tiga *gene bank* di seluruh dunia, yaitu *European Bioinformatics Institute* atau EBI (<http://www.ebi.ac.uk>), *National Centre for Biotechnology Information/NCBI* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), dan *DNA Data Bank of Japan* atau DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp>).

Seluruh fragmen 1246 pasang basa dari hasil sekuen dengan primer universal domain bakteri forward 63f dan reverse 1387r. Hasil analisis sekuensing gen melalui situs *National Centre for Biotechnology Information/NCBI BLAST-N 2.0* menunjukkan adanya kemiripan dengan bakteri *Vibrio alginolyticus* strain CIFRI V-TSB1 (nomor aksesinya gb|JF784015.1|) dengan tingkat kemiripan 99% dengan 1346 nukleotida.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hasil analisis dendrogram dengan program GENETYX, disajikan pada Gambar 22



Gambar 22 Dendogram sampel bakteri PNGK 1 dan kerabatnya.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Perancangan Primer PCR

Primer-primer PCR dirancang menggunakan program **Primer 3** pada situs <http://www.justbio.com> berdasarkan sekuen DNA bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 (patogen) terhadap rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan mempertimbangkan beberapa kondisi. Perancangan primer yang baik harus mempertimbangkan beberapa peraturan tertentu, yakni memperlihatkan besarnya amplicon, panjang primer, titik leleh atau Tm, dan tidak membentuk struktur sekunder seperti *dimer*, *cross dimer*, atau hairpin (Dieffenbach dan Dveksler 1995).

Dua primer yang berhasil diridesain yaitu: aSEFM-F (5'-GCCACACTGGAAGTGA-3') dan aSEFM-R (5'-TAGCCGGTGTCTTCTGT-3') (Gambar 23). Primer aSEFM-F dan aSEFM-R memiliki titik leleh 60,2°C, amplifikasi menggunakan primer aSEFM-F dan aSEFM-R ini menghasilkan amplicon berukuran 201 bp.

```
SEQUENCE:
LEFT PRIMER          start  len    tm    gc%   any   3'   seq
GCCACACTGGAAGTGA          233   20   60.02  55.00  3.00  1.00
RIGHT PRIMER          433   20   60.02  50.00  4.00  0.00
TAGCCGGTGTCTTCTGT
SEQUENCE SIZE: 1301

PRODUCT SIZE: 201, PAIR ANY COMPL: 4.00, PAIR 3' COMPL: 3.00

1  GACCTTCGGGGACGATACGGCGTTCGAGCGGCCGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAATTGC
61  CCTGATGTGGGGGATAACCATTGAAACGATGGCTAATACCGCATGATGCCCTACGGGCA
121 AAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCGCGTCAGGATATGCCTAGGTGGGATTAGCTAGTTGG
181 TGAGGTAAGGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACA
>>>>>>>>
241 CTGGAAGTGAAGACGCGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
>>>>>>>>>>>>
301 GGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGTA
361 CTTTCAGTCGTGAGGAAGGCGGTTCGTTAATAGCGGCGTTGTTTACGTTAGCGACAGAAG
<<<<<<<<
421 AAGCACCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCGAGCGTTAATCG
<<<<<<<<<<<<<<
481 GAATTACTGGGCGTAAAGCGCATGCAGGTGGTTTGTAAAGTCAATGTGAAAGCCCGGGC
541 TCAACCTCGGAATAGCATTGAAACTGGCAGACTAGAGTACTGTAGAGGGGGGTAGAATT
```

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

601 TCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCC
 661 TGGACAATACTGACCTCAATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGGTAG
 721 TCCCCGTAAACGATGTCTACTTGGAGAGCGGAGGTTGTGGCCTTGAGCCGTGGCTTTTCG
 781 GAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAATGA
 841 ATTGACGGGGCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAA
 901 CCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACT
 961 CTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCC
 021 GCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTGTTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAACTCCAGGGAGA
 081 CTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAG
 141 TAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATAACAGAGGGCGCCAACCTTGCAGAAAGTGAGC
 201 GAATCCCAAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCG
 261 GAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGGAAGCCC

Gambar 23 Posisi primer aSEFM-F dan aSEFM-R pada sekuen DNA bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1.

Analisis kelayakan primer menggunakan program *Oligocalculator Properties* (www.basic.nwu.edu/biotools/oligocal.html) menunjukkan kedua primer tersebut memiliki suhu pelekatan yang sama, tidak terdapat struktur jepit rambut (*loop hairpin*) dan struktur *dimer*. Analisis primer perlu dilakukan untuk menguji validitas pasangan primer yang dipilih sehingga tidak menimbulkan masalah saat PCR, seperti banyaknya pita-pita non spesifik.

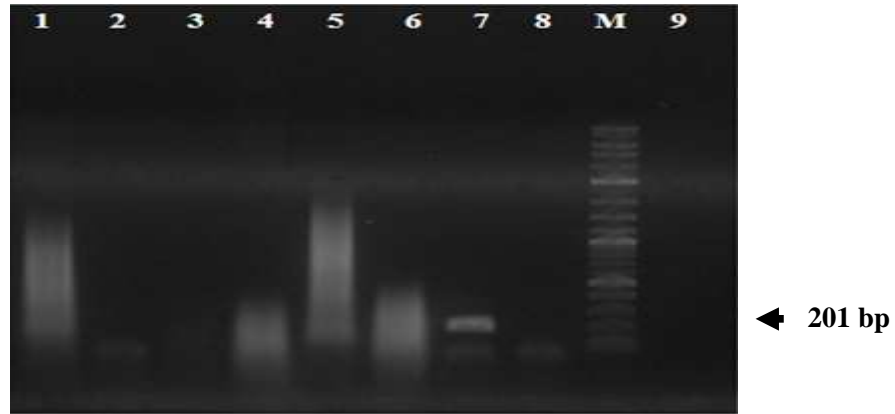
Kondisi Optimum PCR dengan Primer aSEFM-F dan aSEFM-R

Setelah oligonukleotida primer diperoleh maka hal utama yang dilakukan adalah mengetahui kondisi optimum reaksi PCR yang melibatkan primer tersebut. Setelah diuji beberapa kondisi suhu *annealing*, diperoleh suhu *annealing* 60 °C yang menghasilkan pita spesifik 201 bp secara jelas pada kontrol positif dan sampel *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 (Gambar 24). Oleh karena itu untuk reaksi selanjutnya digunakan kondisi running PCR adalah: *Pra* denaturasi pada suhu 94 °C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94 °C selama 30 detik, *annealing* primer pada suhu 60 °C selama 30 detik, sintesis 72 °C selama 2 menit, post PCR pada suhu 72 °C selama 7

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

menit dan reaksi PCR dihentikan pada suhu 4 °C. Jumlah siklus yang dilakukan sebanyak 25 kali.



Gambar 24 Hasil optimasi suhu annealing reaksi PCR dengan primer spesifik pada suhu 60 °C. M : Marker 100 bp, 1: *Pseudomonas cepacia*, 2: *Pseudomonas diminuta*, 3: *Plesiomonas shigelloides* 4: *Flavobacterium menginosepticum* 5-6 dan 8: *Vibrio* spp, 7: *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 9 : Kontrol negatif.

Secara garis besar PCR terdiri dari tiga langkah yang dilakukan secara bersamaan yaitu: (1) denaturasi awal, yaitu pemanasan awal pada suhu 95°C untuk mendenaturasi kompleks DNA secara komplit.(2) Penempelan primer (*primer annealing*) pada temperature 55-72°C, (3) Polimerisasi untai baru DNA oleh DNA *polimerase*, yaitu secara normal dilakukan pada temperatur 72°C (merupakan temperatur optimal Taq DNA *polimerase*). Jumlah siklus yang diperlukan oleh sebagian besar PCR adalah 25-40 siklus (Manheim 1995).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis sekuensing dan BLAST-N diperoleh susunan nukleotida dengan panjang 1301 pasang basa dengan tingkat kemiripan 99% bakteri *Vibrio alginolyticus* strain CIFRI V-TSB1 dan berhasil didesain dua primer spesifik PCR dari sekuen gen 16S-rRNA *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 yakni aSEFM-F (5'-AGCCGGTGCTTCTTCTGT -3) dan aSEFM-R (5'-AGCCACACTGGAAGTGA -3). Kedua primer ini bereaksi optimum pada suhu 60°C dengan menghasilkan amplicon berukuran 201 pasang basa.



JUDUL 4. PENGEMBANGAN TEKNIK PCR DENGAN PRIMER SPESIFIK UNTUK DETEKSI CEPAT BAKTERI PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT *ICE-ICE* PADA RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii*

Abstrak

Upaya peningkatan produksi dari pengelolaan budidaya rumput laut maka aspek kesehatan rumput laut merupakan hal yang penting. Salah satu komponen penting untuk mewujudkan hal tersebut tersedianya suatu perangkat teknologi yang dapat menunjang kesehatan rumput laut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan optimasi, spesifitas dan sensitifitas primer spesifik dan mengembangkan metode deteksi secara molekuler untuk mendeteksi bakteri penyebab penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut. Uji optimasi, spesifitas dan sensitivitas serta deteksi pada *thallus* rumput laut menggunakan primer spesifik PCR (aSEFM-F dan aSEFM-R). PCR dilakukan dengan sebagai berikut : *Pra* denaturasi 94 °C selama lima menit, denaturasi 94 °C selama 30 detik, penempelan primer 60°C selama 30 detik, sintesis 72 °C selama 2 menit, *post* PCR suhu 72 °C selama 7 menit dan reaksi PCR pendinginan pada suhu 4 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan PCR dengan primer spesifik aSEFM-F dan aSEFM-R mampu mengidentifikasi isolat *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 dari kultur murni dan mendeteksi penyakit *ice-ice* langsung dari jaringan rumput laut dalam waktu 6 jam dengan kepekaan konsentrasi DNA 0,21 ng/µl sedangkan kepekaan konsentrasi sel bakteri 2.3 x 10³ sel ml⁻¹ dan spesifikan yang tinggi yang ditandai munculnya pita pada gel elektroforesis 201 bp, dengan evaluasi perbandingan bakteri *Vibrio alginolyticus* SKT b, *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta* dan *Plesiomonas shigelloides*.

Kata kunci : *Vibrio alginolyticus* PNGK 1, optimasi, spesifitas, sensitifitas.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



TOPIC 4 DEVELOPMENT OF PCR TECHNIC WITH SPECIFIC PRIMER FOR QUICK DETECTION OF BACTERIAL PATHOGEN CAUSING ICE ICE DISEASE ON SEAWEED

Abstract

Management of ice ice free seaweed aquaculture is important in increasing seaweed production recently. For that reason, it is required a technology that is able to support the health of seaweed. This research aimed to determine the optimization, specificity, and sensitivity of specific primer and to develop molecularly quick detection method to detect the agent of *ice ice* disease on seaweed thallus. Optimization, specificity and sensitivity tests as well as detection on thallus used specific primer PCR (aSEFM-F and aSEFM-R). PCR was conducted as follows: pre- denaturation at 94°C for 5 minutes, synthesis at 72°C for 2 minutes, post PCR at 72°C for 7 minutes, and PCR reaction was stopped at 4°C. Research result showed the use of PCR with specific primer aSEFM-F and aSEFM-R was able to detect isolate *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 from pure culture and to detect ice-ice disease directly on seaweed tissue within 6 hours with DNA concentration of 0.21 ng/ μ L, while at concentration bacteria cell at 2.3×10^3 cell/mL and high specificity indicated the present of band electrophoresis get at 201 bp with comparative evaluation of bacteria *Vibrio alginolyticus* SKT-b, *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas cepacia*, *Moraxella meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta* and *Plesiomonas shigelloides*.

Keywords: *Vibrio alginolyticus* PNGK 1, aSEFM-F and aSEFM-R, optimization, specificity, sensitivcity

PENDAHULUAN

Pengelolaan budidaya rumput laut yang bebas penyakit *ice-ice* merupakan unsur penting dalam peningkatan produksi rumput laut dewasa ini. Upaya untuk mewujudkan hal tersebut dibutuhkan perangkat teknologi yang dapat menunjang kesehatan rumput laut. Salah satu komponen penting yakni penyediaan perangkat deteksi cepat penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Teknik yang banyak dikembangkan saat ini dalam mendeteksi patogen khususnya dalam pengelolaan budidaya ikan yaitu teknik deteksi molekuler berupa analisis DNA genom. Teknik ini merupakan suatu teknik deteksi yang cepat, tepat, biaya yang relatif rendah dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi (Sigeo 1993), lebih lanjut

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



dikemukakan bahwa metode tersebut dapat digunakan untuk mendeteksi bakteri pada saat prainfeksi rumput laut.

Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas deteksi molekuler berbasis PCR ialah pemilihan primer yang tepat (Rychlic 1995). Primer PCR merupakan oligonukleotida yang berperan sebagai inisiasi amplifikasi molekul DNA. Keberadaan primer PCR tersebut, maka gen target akan teramplifikasi sepanjang reaksi PCR berlangsung. Analisis PCR dengan primer spesifik merupakan langkah terbaik untuk kepentingan deteksi bakteri patogen karena dapat menghasilkan penentuan secara cepat keberadaan gen target, cukup sensitif dan mudah digunakan dalam kegiatan rutin.

Untuk mendesain primer spesifik tersebut diperlukan data sekuen gen yang menyandikan protein sejenis dengan fragmen yang akan diamplifikasi melalui PCR. Hasil rancangan primer spesifik PCR tersebut harus bersifat sensitif terhadap strain bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice*, dan tidak terdeteksi pada strain-strain dalam genus yang sama. Validitas metode akan dikonfirmasi dengan membandingkannya dengan kontrol positif dan negatif. Selain itu, spesifitas dan sensitifitas deteksi dari primer DNA akan dilakukan sehingga pemakaian metode diagnostik ini tidak akan menghasilkan hasil positif maupun negatif palsu.

Peningkatan kepekaan hasil amplifikasi PCR, khususnya amplifikasi yang berasal dari *thallus* rumput laut dengan konsentrasi sel bakteri yang sangat rendah, spesifik, nyata dan sensitif (Harper *et al.* 1998). Selain itu primer spesifik harus bersifat potensial dalam mendeteksi secara cepat keberadaan bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* di lokasi budidaya rumput laut berdasarkan teknik PCR. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang pengembangan primer spesifik PCR dengan memanfaatkan gen 16S-rRNA sebagai deteksi dini bakteri penyebab penyakit *ice-ice*.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan optimalisasi, spesifitas dan sensitifitas primer spesifik PCR dari sekuen gen 16S-rRNA dan mengembangkan metode deteksi secara molekuler untuk mendeteksi bakteri penyebab penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut yang dibudidayakan. Penelitian ini menghasilkan suatu

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



protokol metode deteksi penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut *Kappaphycua lavarezii* dengan cepat dan akurat.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



BAHAN DAN METODE

Amplifikasi PCR dari Sampel Kultur Murni

Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan mesin *geneAmp* PCR *System* 2400 (PERKIN ELMER). Campuran reaksi PCR (25 μ l) mengandung 1 x reaksi buffer, 100 μ l dNTP, 15 pmol untuk setiap primer, 1,25 U *Taq* DNA *Polymerase* (*New England Biolabs*) dan 1 μ l DNA bakteri. PCR dilakukan dengan kondisi uji optimasi sebagai berikut : *Pra* denaturasi 94 °C selama lima menit, denaturasi 94 °C selama 30 detik, penempelan primer 60°C selama 30 detik, sintesis 72 °C selama 2 menit, *post* PCR suhu 72 °C selama 7 menit dan reaksi PCR diakhiri dengan pendinginan pada suhu 4 °C. Hasil PCR dielektroforesis dalam gel agarose 1,5 % dengan buffer 1 x TAE (Tris EDTA pH 8,0) dengan voltase 70 Volt selama 90 menit. DNA diwarnai dengan etidium bromida dan divisualisasi di bawah UV transuminator kemudian didokumentasikan.

Spesifitas Teknik PCR dengan Primer aSEFM-F dan aSEFM-R

Kespesifikan primer yang dihasilkan diuji dengan isolat bakteri dari rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice*. Preparasi DNA dengan kit PROMEGA, komposisi reaksi dan kondisi PCR dilakukan seperti standar prosedur yang telah dijelaskan sebelumnya. Digunakan aquabides sebagai kontrol negatif dan DNA bakteri patogen sebagai kontrol positif.

Sensitifitas Teknik PCR dengan Primer Spesifik

Uji kepekaan dilakukan sebagai berikut: suspensi DNA bakteri patogen yang sudah diketahui konsentrasinya dengan menggunakan alat ukur gen quant yang diencerkan secara bertingkat. Satu mikro sampel dari setiap tingkat pengenceran di amplifikasi dengan PCR dengan primer spesifik bakteri patogen sesuai dengan kondisi PCR tersebut di atas.

Sensitifitas PCR dengan primer spesifik, diuji juga terhadap jumlah sel yang mampu terdeteksi. Setiap 1 ml dari tiap pengenceran tersebut diambil untuk



dilakukan ekstrak DNA dengan menggunakan metode Llop *et al.* (1999) yang digunakan sebagai *template* dalam reaksi PCR.

Deteksi *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 pada *Thallus* Rumput Laut

Deteksi bakteri patogen pada lokasi budidaya rumput laut dilakukan berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Zhao *et al.* (2002) dengan modifikasi sebagai berikut: sebanyak 0,5 gram rumput laut yang memperlihatkan gejala penyakit *white* disterilisasi permukaan dengan 0.25% sodium hiperklorit selama 30 detik, lalu dituangkan ke dalam erlenmeyer 100 ml yang berisi PBS. Sampel digoyang dalam *waterbath* pada suhu 30 °C selama 4-6 jam, supernatan diendapkan dan disentrifugasi selama 10 menit pada 10.000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya pellet diekstraksi sesuai dengan prosedur ekstraksi genom dan hasil ekstraksi dijadikan sebagai *template* DNA. Reaksi PCR dengan primer domain bakteri patogen dilakukan sebagaimana dijelaskan sebelumnya. Setelah dilakukan penambahan komponen PCR seperti buffer, dNTP, enzim *Taq polimerase* dan primer domain bakteri serta aquabides untuk total volume 20 µl.

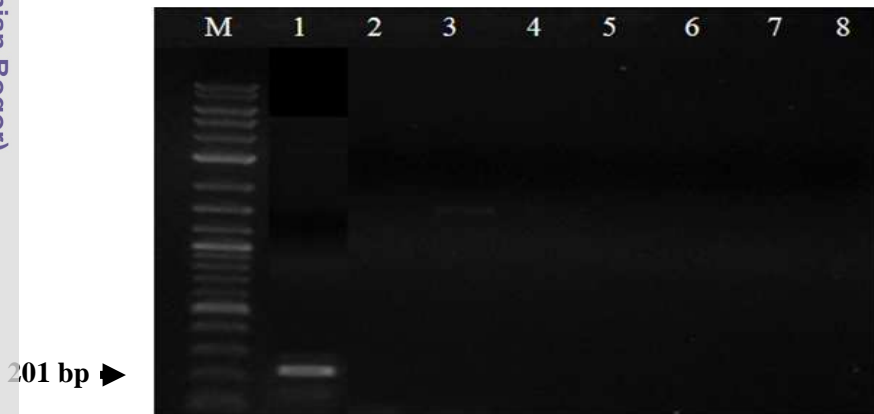
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kespesifikan Primer PCR aSEFM-F dan aSEFM-R Identifikasi *Vibrio alginolyticus* PNGK 1

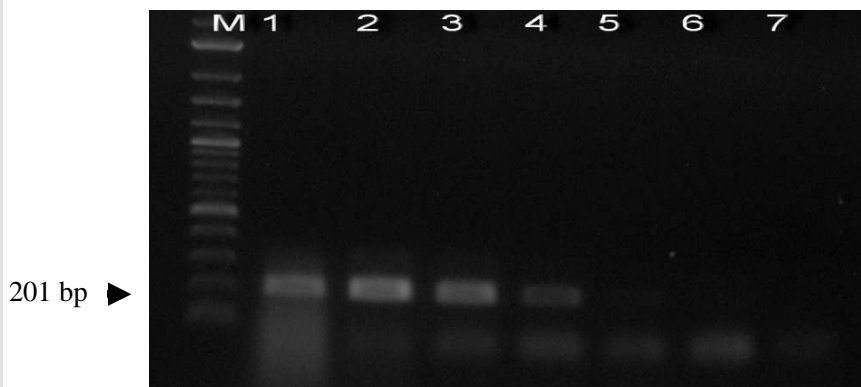
Optimasi kondisi PCR dilakukan dengan mengatur suhu *annealing* atau pelekatan primer pada DNA cetakan. Oleh karena titik leleh primer aSEFM-F lebih rendah dari aSEFM-R yang hanya sebesar 60,25°C, maka suhu pelekatan primer yang dipakai adalah 60°C. Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan DNA Polymerase termotabil. Kondisi PCR yang dipakai adalah: pre-PCR pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, pelekatan primer pada suhu 60°C selama 30 detik, elongasi pada suhu 72°C selama 2 menit, dan post-PCR pada suhu 72°C selama 7 menit. Setiap reaksi PCR dilakukan sebanyak 25 siklus. Elektroforesis hasil amplifikasi PCR dari sampel DNA beberapa bakteri pada suhu pelekatan 60°C masing-masing ditampilkan pada Gambar 25.



Gambar 25 Hasil elektroforesis genom hasil PCR sejumlah isolat dengan menggunakan primer aSEFM-F dan aSEFM-R(Uji spesifitas). M : Marker 100 bp, 1 = *Vibrio alginolyticus* PNGK 1, 2 = *Pseudomonas cepacia*, 3 = *Flavobacterium meningosepticum*, 4 = *Pseudomonas diminuta*, 5 = *Plesiomonas shigelloides*, 6 = *Vibrio alginolyticus* SKT b, 7 = *Vibrio harveyi*, 8 =, K- = kontrol negatif.

Kepekaan PCR dengan Primer Spesifik aSEFM-F dan aSEFM-R

Uji kepekaan metode PCR dengan primer spesifik aSEFM-F dan aSEFM-R dalam mendeteksi DNA bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 menunjukkan bahwa pengenceran serial kultur sel murni sampai pada konsentrasi sel bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 yakni 2.3×10^3 sel ml^{-1} masih mampu terdeteksi dengan baik yang ditandai dengan munculnya ampikon 201 bp (Gambar 28). Demikian juga dengan menggunakan DNA *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 sebagai *template* pada konsentrasi 0,21 $\text{ng}/\mu\text{l}$ (Gambar 26).



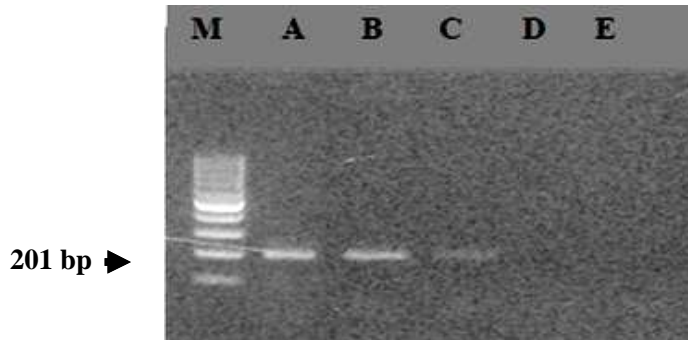
Gambar 26 Hasil Elektroforesis uji kepekaan PCR dengan primer aSEFM-F dan aSEFM-R (1 = $19,4 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, 2 = $7,23 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, 3 = $0,82 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, 4 = $0,21 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, 5 = $0,13 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, 6 = $0,06 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$, 7 = $0,03 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

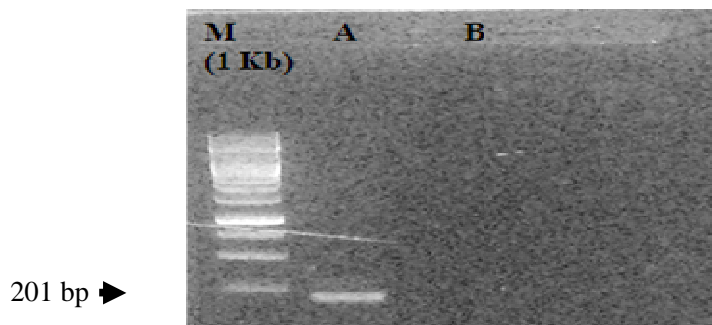


Gambar 27 Hasil Elektroforesis uji kepekaan PCR dengan primer aSEFM-F dan aSEFM-R (M = Marker 100 bp, A = 1.2×10^5 sel ml^{-1} , B = 1.4×10^4 sel ml^{-1} , C = 2.3×10^3 sel ml^{-1} , D = 1.1×10^2 sel ml^{-1} , E = 2.7×10^1 sel ml^{-1}).

Deteksi *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 pada *Thallus* Rumput Laut Terserang Penyakit *Ice-Ice*

Penggunaan teknik PCR dengan primer aSEFM-F dan aSEFM-R dalam reaksi PCR juga mampu mendeteksi bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 langsung dari jaringan yang menunjukkan gejala penyakit *ice-ice* tanpa dilakukan pengkulturan bakteri. Hal ini ditandai dengan adanya amplicon ukuran 201 bp. Amplicon yang sama tidak teramplifikasi pada sampel *thallus* sehat (Gambar 28).

Tahapan penting dalam prosedur ini adalah perendaman sampel *thallus* dalam PBS pada shaker selama 4 jam sebelum isolasi DNA. Perendaman dalam PBS mampu meningkatkan populasi bakteri dari sekitar 10^3 sel ml^{-1} menjadi 10^6 sel ml^{-1} sehingga sel bakteri cukup untuk bahan isolasi DNA genom.



Gambar 28 Hasil Elektroforesis produk PCR dari ekstrak *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* dengan primer aSEFM-F dan aSEFM-R, M : Marker DNA ladder 1 Kb, A : Ekstrak *thallus* yang terinfeksi, B : Ekstrak *thallus* sehat.



KESIMPULAN

Penggunaan teknik PCR dengan primer spesifik aSEFM-F dan aSEFM-R mampu mengidentifikasi isolat *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 dari kultur murni dan mendeteksi penyakit *ice-ice* langsung dari jaringan rumput laut dalam waktu singkat (jam) dengan kepekaan (DNA 0,21 ng/μl dan sel bakteri $2,3 \times 10^3$ sel/ml) dan spesifikan yang tinggi dengan evaluasi perbandingan bakteri *Pseudomonas gracila*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta*, *Plesiomonas sigelloides*, *Vibrio alginolyticus* SKT-b, *Vibrio harveyi*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



PEMBAHASAN UMUM

Pengendalian penyakit *ice-ice* terhadap pengelolaan budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* merupakan salah satu komponen penting dalam peningkatan produksi. Keberadaan penyakit *ice-ice* terhadap penurunan produksi merupakan permasalahan utama yang dihadapi pengelola budidaya rumput laut dan membutuhkan penanganan serius. Degradasi parameter kualitas lingkungan perairan meningkatkan patogenesis bakteri patogen dianggap sebagai pemicu penyebaran penyakit *ice-ice* di lokasi budidaya rumput laut. Beberapa kajian menunjukkan bahwa faktor lingkungan dan infeksi bakteri patogen memegang peranan penting dalam munculnya penyakit *ice-ice*. Penerapan teknologi dalam mendukung pengendalian penyakit *ice-ice* dapat dilakukan melalui pengembangan deteksi penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut. Pendekatan karakteristik fenotip merupakan salah satu alternatif dalam menentukan keberadaan mikroorganisme sebagai agen penyebab penyakit *ice-ice*. Diagnosis penyakit *ice-ice* berdasarkan karakteristik fenotip seperti gejala klinis yang ditandai perubahan morfologi *thallus*, respon parameter lingkungan perairan terhadap kemunculan penyakit *ice-ice*, serta isolasi dan identifikasi mikroorganisme bakteri penyebab penyakit *ice-ice* berdasarkan identifikasi karakteristik fisiologis dan biokimia. Diagnosis *Vibriosis* budidaya udang pada awal perkembangannya juga menggunakan teknik deteksi berdasarkan karakteristik fenotip (Abraham *et al.* 1997; Musa *et al.* 2008). Metode ini memiliki kelemahan karena ekspresinya sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan sebagai upaya pengendalian penyakit *ice-ice* terhadap budidaya rumput laut melalui pemahaman tingkat patogenesis bakteri penyebab penyakit *ice-ice* dan laju transmisi penyakit *ice-ice*. Pengembangan metode deteksi cepat penyakit *ice-ice* dengan teknik PCR merupakan suatu langkah strategis. Metode deteksi tersebut diharapkan dapat diaplikasikan dalam mendeteksi keberadaan bakteri patogen secara dini sehingga dapat ditetapkan suatu tindakan pencegahan (preventif). Metode deteksi ini diharapkan dapat memperbaiki kelemahan metode sebelumnya.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Meskipun penerapan teknologi deteksi kesehatan budidaya rumput yang bebas penyakit masih jauh ketinggalan dibandingkan dengan teknologi budidaya ikan dan udang, teknik deteksi secara molekuler terhadap bakteri patogen penyakit *ice-ice* pada rumput laut yang dibudidayakan diharapkan memberi kontribusi dalam pengembangan teknologi kesehatan budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Perhatian terhadap kondisi kesehatan budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dimulai sejak terjadinya kegagalan budidaya rumput laut yang mengakibatkan penurunan produksi rumput laut di Philipina hingga 100% (Largo *et al.* 1985)

Pengamatan terhadap penyebab penyakit *ice-ice* mulai dilakukan sejak adanya kegagalan budidaya di beberapa wilayah produksi rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Fokus kajian diarahkan untuk mencari solusi dari penyebab penyakit *ice-ice* di lokasi budidaya rumput laut. Manfaat dari kajian ini nantinya dapat menjadi acuan dalam pengembangan budidaya rumput laut guna peningkatan produksi optimal.

Teknologi kesehatan budidaya rumput laut telah dikembangkan sebagai komponen penting dalam peningkatan kualitas dan kuantitas produksi rumput laut. Beberapa unsur pendukung dalam teknologi kesehatan budidaya rumput laut yang berbasis deteksi penyebab (agen) penyakit *ice-ice* telah dilakukan yang terdiri dari : 1) Deteksi berdasarkan kondisi kualitas lingkungan perairan (Julieta *et al.* 2004), 2) Deteksi berdasarkan karakterisasi bakteri secara fisiologi dan biokimia (Yulianto 2002) sementara deteksi berdasarkan karakteristik genotip belum dilakukan untuk menentukan status kesehatan rumput laut.

Tahap pertama dalam penelitian ini mengkaji gejala munculnya penyakit *ice-ice* pada budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* terkait dengan adanya aktivitas bakteri patogen yang melakukan invasi ke *thallus* (inang). Identifikasi bakteri patogen ditentukan dari tingkat virulensi dari masing-masing bakteri berdasarkan hasil uji patogenisitas. Bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 memiliki aktivitas patogenisitas tertinggi yang ditandai dengan munculnya gejala penyakit *ice-ice* pada hari pertama pengamatan. Beberapa hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri *Vibrio* memiliki tingkat patogenisitas tertinggi dengan kemunculan gejala penyakit *ice-ice* (Largo *et al.* 1985). Bakteri patogen melakukan aktivitas infeksi melalui mekanisme

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



kolaborasi dari berbagai komponen pendukung dengan melepaskan produk ekstraseluler berupa selulase, karaginase, dan protease. Bakteri patogen yang menginfeksi rumput laut dengan mendegradasi komponen kimia berupa karaginan melalui hasil polimerisasi oleh enzim karaginase (Vairappan *et al.* 2006). Aktivitas bakteri patogen pada inang (*thallus* terserang penyakit *ice-ice*) ditunjukkan dari perubahan morfologi *thallus* rumput laut seperti perubahan warna *thallus* sampai terjadinya pemutihan. Keberhasilan proses infeksi penyakit *ice-ice* ditentukan oleh keberhasilan bakteri melakukan pelekatan pada tubuh inang (*thallus*). Proses pelekatan bakteri pada inang merupakan prasyarat yang akan menentukan keberhasilan bakteri patogen dalam melakukan kolonisasi dan mensekresikan faktor-faktor virulensinya (Bloemberg *et al.* 1993).

Menentukan identitas bakteri patogen dengan karakterisasi fisiologis dan biokimia serta pewarnaan gram sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan bakteri. Sementara karakterisasi molekuler melalui metode PCR (*Polymorphisme Chain Reaction*) merupakan salah satu metode yang sedang dikembangkan dalam diagnosis penyakit diorganisme akuakultur. Teknik PCR merupakan salah satu metode molekuler yang dominan digunakan dalam mendeteksi keberadaan bakteri patogen dengan memanfaatkan gen 16S-rRNA sebagai target. Bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 berhasil diidentifikasi berdasarkan analisis sekuen DNA. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas deteksi molekuler berbasis PCR ialah pemilihan primer yang tepat (Rychlic 1995). Primer merupakan suatu molekul yang digunakan untuk mengawali proses polimerisasi untai DNA dan polimerisasi hanya dapat dimulai jika tersedia molekul primer. Primer aSEFM-F dan aSEFM-R berhasil disain untuk mendeteksi bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 penyebab penyakit *ice-ice* pada *thallus* rumput laut yang dibudidayakan. Primer tersebut bereaksi secara optimum pada suhu 60°C dengan menghasilkan amplicon berukuran 201 pasang basa. Kedua primer tersebut juga mampu mendeteksi dengan spesifitas pada tingkat ngk dan sensitivitas yang tinggi (0,21 ng/μl dan 2,3 x 10³ sel/ml dalam waktu ngkat/cepat (6 jam). Pemanfaatan gen 16S-rRNA sangat potensial sebagai penanda molekuler untuk mendeteksi keberadaan bakteri patogen secara spesifik di perairan,

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



seperti *Vibrio harveyi* sebagai penyebab *Vibriosis* pada budidaya udang windu *Penaeus monodon* fabr. (Fukui and Sawabe 2007).

Perkembangan metode deteksi penyakit dalam sistem akuakultur mengarah kepada pengembangan metode deteksi molekuler secara langsung tanpa diawali dengan isolasi (Owens and Busico-Salcedo 2006). Metode deteksi tersebut selain dapat digunakan secara langsung terhadap organisme dalam budidaya juga dapat digunakan sebagai pengujian rutin terhadap lingkungan budidaya (Thompson *et al.* 2004). Selain spesifisitas dan sensitifisitas protokol deteksi penyakit dalam akuakultur sangat dibutuhkan, kecepatan deteksi penyakit sangat dituntut guna menentukan langkah preventif dan pencarian solusi cepat dalam menanggulangi keberadaan penyakit dalam usaha akuakultur.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



KESIMPULAN UMUM DAN SARAN

Kesimpulan

Rangkaian tahapan penelitian yang telah dilaksanakan dalam upaya mendeteksi bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* dalam rangka mendukung peningkatan produksi rumput laut *Kappaphycus alvarezii*, dengan kesimpulan umum yang dihasilkan adalah sebagai berikut :

1. Spesies bakteri yang berhasil diisolasi dari *thallus* rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terserang penyakit *ice-ice* adalah *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas cepacia*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Pseudomonas diminuta* dan *Plesiomonas shigelloides*
2. Bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 memiliki tingkat patogenisitas tertinggi dibandingkan dengan bakteri lain yang diisolasi dari *thallus* rumput laut terserang penyakit *ice-ice*.
3. Peningkatan transmisi penyakit *ice-ice* terhadap *thallus* rumput laut sehat semakin tinggi seiring dengan peningkatan waktu yang ditandai dengan penurunan berat *thallus* dan kandungan karaginan serta kerusakan jaringan *thallus* (nekrosis).
4. Hasil analisis sekuensing dan BLAST-N diperoleh susunan nukleotida dengan panjang 1301 pasang basa dengan tingkat kemiripan 99% bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 serta berhasil didesain dua primer spesifik PCR yakni aSEFM-F dan aSEFM-R dan kedua primer ini bereaksi optimum pada suhu *annealing* 60°C dengan menghasilkan amplikon berukuran 201 pasang basa.
5. Penggunaan teknik PCR dengan primer spesifik aSEFM-F dan aSEFM-R mampu mengidentifikasi *Vibrio alginolyticus* PNGK 1 dari kultur murni dan mendeteksi penyakit *ice-ice* langsung dari jaringan rumput laut dalam waktu singkat (6 jam) dengan tingkat kepekaan tinggi (DNA 0,21 ng/μl dan kepekaan sel 10³ sel/ml) serta kespesifikan yang tinggi dengan evaluasi perbandingan terhadap spesies bakteri *Vibrio* dan bakteri lain yang terdapat pada *thallus* rumput laut terserang penyakit *ice-ice*.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Saran

Upaya mewujudkan budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang bebas penyakit *ice-ice*, diperlukan adanya deteksi secara molekuler bakteri patogen penyebab penyakit *ice-ice* pada bibit rumput laut *Kappaphycus alvarezii* sebelum penanaman. Perlu dipertimbangkan pengembangan metode deteksi secara molekuler yang lebih spesifik dan sensitif dengan target gen patogenisitas.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, T., Manley, R., Palaniappan, R., 1997. Pathogenicity and antibiotic sensitivity of luminous *Vibrio harveyi* from diseased penaeid shrimp. *Aquaculture* 12, 1–18.
- Answorth PA, and Blanshard JMV. 1980. Effect of Thermal Processing on Structure and Rheological of Carrageenan/Carob Gum Gels. *Journal of Texture Studies* 11 (149)
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. Fourth Edition. Garland Science: New York.
- Amiluddin NM. 2007. Kajian Pertumbuhan dan Kandungan Karaginan Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terkena Penyakit Ice Ice di Perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu.[Tesis] Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor.
- Andersen AR. 2005. *Algal Culturing techniques*. Phycological society of America. Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Anggadiredja J. T, Achmad Z, Heri P, Sri I. 2007. Rumput Laut. Pembudidayaan, Pengolahan, & Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial. Seri Agribisnis. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Gunin M, T.P. Rumayar, Femmi N.F, D Kemur, IK Suwitra. 2005. Kajian Budidaya Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) dengan Sistem dan Musim Tanam yang Berbeda di Kabupaten Bangkep. Sulawesi Tengah. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*. 8(2), 282-291.
- Aslan L M. 1998. *Budidaya Rumput laut*. Penerbit Kanisius, Jakarta.
- Ask, E.I, Batibasaga A., Zertuche-Gonzalez J A., De San M. 2003. Three decade of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta) introduction to non-endemic locations. *Proceedings of the 17th International Seaweed Symposium, Cape town, 2001*. Oxford University Press.
- Manaja, W.S. 1986. Pengenalan Jenis Alga Merah (Rhodophyta). PUSLITBANG Oseanologi-LIPI. Hal. 79-119. Jakarta.
- Austin B and DA Austin (eds). 1993. *Bacterial Fish Pathogen : Disease in Farmed and Wild Fish*. Departement of Biological Sciences, Heriot-Watt University 3th
- Austin B. 2010. Vibrios as causal agents of zoonoses. Review. *Journal Veterinary Microbiology* 140 , 310–317.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

- Balai Besar Riset Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan - Departemen Kelautan dan Perikanan. 2007. Potret dan Strategi Pengembangan Perikanan Tuna, udang dan Rumput Laut Indonesia. Jakarta.
- Baxevanis AD, Oullete BFF. 2001. Bioinformatics of Practical Guide the Analysis of Genes and Proteins. 2nd ed. John Willey & Sons. Inc. New York.
- Bower, S.M. 1996. Synopsis of Infectious Disease and Parasites of Commercially Exploited Shellfish: White Spot Syndrome Baculovirus Complex of Penaeid Shrimp. bower@dfo-mpo.gcCa.
- Boemberg G V, Toole G A O, Lugtenberg B J J, Kolter R. 1993. Green fluorescent protein as marker for *Pseudomonas* spp. Appl Environ Microbiol 63:4543-4551.
- Brook J.A. 1986. An Introduction to Shrimp Disease. A Lecture Note Giving at Training in Shrimp Culture, Hawaii.
- Chile, M.V., Rekha S. Singhal. 2009. Use of carrot juice and tomato juice as natural precursors for enhanced production of ubiquinone-10 by *Pseudomonas diminuta* NCIM 2865. J. Food Chemistry 116, 302–305.
- Collock G.L. 1971. Identification of Fish Pathogenic Bacteria. London N. W. I. England.
- Cosadevall A. Pirofski L. 2001. Host-Pathogen Interactions: The Attributes of Virulence. J.Infect. Dis. 184, 337-344.
- Case RJ, Boucher Y, Dahllöf I, Holmström C, Doolittle WF, Kjelleberg S. 2007. "Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies". Appl. Environ. Microbiol. 73 (1), 278–88.
- Collen. J, Matern M, Katarina A, Adelaida S, Marianne P. 1995. Farming and Physiology of the Red Algae *Eucheuma*: Growing Commercial Importance in East Africa. Ambio. 24, 7-8.
- Conejero. M., Hadreyeda. T. 2003. Isolation of Partial toxR gene of *Vibrio harveyi* and design of toxR-Targeted PCR Primers for species Detection. Journal of Applied Microbiology. 95, 602-611.
- Conejero. M., Hadreyeda. T. 2004. PCR Detection of Hemolysin (vhh) gene in *Vibrio harveyi*. Journal Gen. Applied Microbiology. 50, 137-142.
- Cowan ST. 1974. Manual for the identification of Medical Bacteria. 2nd ed. Cambridge University press. London.
- Chen M, Qizhong Zhang, Zhanjuan Yao, Zhanhui Zhang, Haifa Zhang, Yunxin Wang. 2010. Immunoglobulin M gene expression analysis of orange-spotted

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



rouper, *Epinephelus coioides*, following heat shock and *Vibrio alginolyticus* challenge. Journal Fish & Shellfish Immunology 29.

Dawes C. J. 1981. Marine Botany. John Wiley. And Sons University of South Florida. New York. 268 hal.

Dieffenbach C.W., Dveksler G.S. 1995. PCR Primer: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.

DKP. 2004. Profil Rumput Laut Indonesia. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. Jakarta.

Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya DKP-RI. 2002. Petunjuk Pengendalian Penyakit *Ice-ice* pada Budidaya Rumput Laut. Jakarta.

Has Perikanan dan Kelautan Prov. Maluku Utara. 2003. Profil Peluang dan Usaha Sektor Perikanan dan Kelautan Provinsi Maluku Utara.

Hancourt, M., C. Bollet, A. Carlouz, R. Martelin, J.-P. Gayral, and D. Raoult. 2000. 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. J. Clin. Microbiol. 38:3623-3630.

Doty M.S. 1985. Biotechnological and Economic Approaches to Industrial Development Based on Marine Algae In Indonesia. Makalah dalam Workshop on Marine Algae in Biotechnology. Jakarta 11-13 Desember 1985. Nation Academy Press. Washington D.C. hal 31-43.

Doty M,S. 1986. Outplanting *Eucheuma* species and *Gracilaria* species in the tropics. In Abbott IA, Foster MS, Eklund LF (eds), Pacific Seaweed Aquaculture. Pub. by the California Sea Grant College Program. Institute of Marine Resources. University of California, pp. 19–22.

Edwards K.F, C. A. Pfister, K.L. Van Alstyne. 2006. Nitrogen content in the brown alga *Fucus gardneri* and its relation to light, herbivory and wave exposure. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 336 (2006) 99 – 109

Fritz GJ. 1986. The Structure and Reproduction of the Algae vol. 2. VICAS Publishing House.

Greenwood TE. 1981, Food Hydrocolloids. Vol 1. CRS Press Inc. Boca Raton Florida.

Greenwood D, Slack RCB, and Peutheres JF. 1995. Medical Microbiology. Division of Pearson Profesional Ltd. Hongkong.

Griffin, HG and Griffin, AM. 1993. DNA sequencing : Recent innovations and future trends. J. Appl. Biochem and Biotech 38: 147-159.

Griffins M. 1983. Food Hydrocolloids Vol.2. CRC Press. Inc. Florida. 207 pp.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memungut dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



- Hadioetomo RS. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan prosedur dasar laboratorium. PT Gramedia, Jakarta.
- Hameed, A. S. S, M. Anilkumar, M.I. Stephen Raj and K. Jayaraman. 1998. studies on Pathogenicity of Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculovirus and its Detection in Shrimp by Immunological Methods. *Aquaculture* 160. 31-45.
- Harper G, Dahal G, Thottappily G, Hull R. 1998. Detection of Episomal *banana streak badnavirus* by IC-PCR. *J. Virolog Meth.* 79:1-8
- Hayashi L, Nair S. Yokoya , Sérgio Ostini , Ricardo T.L. Pereira, Elisabete S. Braga, Eurico C. Oliveira. 2010. Nutrients removed by *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in integrated cultivation with fishes in re-circulating water. *Aquaculture* 277, 185–191.
- Hernandez. I, M. A. F. Engo, J. L. P. Llorens. 2005. Integrated outdoor culture of two estuarine macroalgae as biofilters for dissolved nutrients from *Sparus aurata* waste waters. *Journal of Applied Phycology* 17: 557-567.
- Holt, R., Krieg N., Sneath H.A., Staley J.T. and Williams S.T. 1998. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* Baltimore ; Williams & Wilkins Co. Baltimore.
- Hurtado AQ,. 2006. *Kappaphycus "Cottonii"* Farming. Cargill Texturing Solutions, 26 pp.
- Indriani H, Sumiarsih, E. 1999. Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Rumput Laut (Cetakan 7), Penebar Swadaya, Jakarta.
- Jansen W.A. and L. G. Kavaljian. 1966. *Fundamentals of Botany*. Wodsworth Publ Comp Inc. Third ed. California.
- Jooste P.J., Celia J. Hugo. 1999. The taxonomy, ecology and cultivation of bacterial genera belonging to the family *Flavobacteriaceae*. Review. *International Journal of Food Microbiology* 53 (1999) 81–94. Irene 0062, South Africa.
- Julietta Mun˜oz, Yolanda F.P, Daniel R. 2004. Mariculture of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) color strains in tropical waters of Yucata´n, Me´xico. *Aquaculture* 239. 161-177.
- Medi. A, dan Atmaja WS. 1988. RumputLaut (Algae) Jenis, Reproduksi, Produksi Budidaya dan Pascapanen. Proyek Studi Potensi Sumberdaya Alam Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi. LIPI Jakarta. 71 hal.
- Makita H, H. Kamishima. 2006. Effects of environmental factors and metal ions on growth of the red alga *Gracilaria chorda* Holmes (Gracilariales, Rhodopjyta). *Journal of Applied Phycology* (2006) 18: 469-474
- Price L A. 1997. *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Largo, D.B., Fukami, K., Nishijima, T. 1995. Occasional pathogenic bacteria promoting *ice-ice* disease in the Carrageenan- producing red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Eucheuma denticulatum* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 7: 545-554.

Largo, D.B., Fukami, K., Nishijima, T.1999. Laboratory Induced Development of The *Ice- ice* disease of the farmed red algae *Kappaphycus alvarezii* and *Eucheuma denticulatum* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* (11) : 129-136.

Largo D.B, Fukami K, Adachi M, Nishijima T. 2003. Immunofluorescent detection of *ice-ice* Disease-Promoting Bacterial Strain *Vibrio* sp. P11of the Farmed Macro Alga, *Kappaphycus alvarezii* of Aquatic Environmental Science (LAQUES), Departement of Aquaculture, Faculty of Agriculture, Kochi University-Japan.

Lizo GR, Roffey R, Gabriel DW. 1987. Conservation of Plasmid DNA Sequences and pathovar identification of strains of *Xanthomonas campestris* *Phytopathology* 77:448-453.

Lyring THA, Hoppe and Schmid OJ. 1969. Marine Alga : A Survey of Research and Utilization. Cram, De Gruyter and Co. Hamburg.

Lop P, Caruso P, Cubero J, Morente C, Lopez MM.. 1999. A simple extraction prosedur for efficient routinr detection of pathogenic bacteria in plant material by polymerase chain reaction. *J Microbial Meth* 37:23-31.

Lobban, C.S., P.J. Horrison. 1994. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge Univ. Press New York.

Loureiro R. R, Renata P. R, Alan T. C. 2009. In vitro cultivation of three *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Areschougiaceae) variants (green, red and brown) exposed to a commercial extract of the brown alga *Ascophyllum nodosum* (Fucaceae, Ochrophyta) Brazil. *Jurnal Application Phycology*, publication Springer Science.

Lourenco, S. O, E. Barbarino, A. Nascimento, J.N.P. Freitas, G.S. Diniz. 2006. Tissue nitrogen and phosphorus in seaweeds in a tropical eutrophic environment: What a long-term study tell us. *Journal of Applied Phycology* 18: 389-398

Landsor, E. 2002. *Eucheuma* Farming in Zanzibar. Broadcast System, an Alternative Method for Seaweed Farming. [Thesis]. Candidata Scientiarium in Marine Biology. University of Bergen.

Luning, K. 1990. *Seaweed Their Environment*, Biogeography and Ecophysiology. Jhon Wiley & Sons, Inc. University of South Florida New York.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Madigan M T, Martinko J M, Parker J. 1997. *Brock, the Biology of Microorganisms*. Ed ke-8. Prentice Hall. Upper saddle River. New jersey.
- Manheim B. 1995. Application Manual. Boehringer Manheim GmbH Biochemical Germany.
- Marchesi J.R., Sato T, Weightman A.J., Martin T.A., Fry J.C., Hiom S.J., Wade W.G. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl Environ. Microbiol* 64:795-9.
- Martin G., T. Paalme, K. Torn. 2006. Seasonality pattern of biomass accumulation in a drifting *Furcellaria lumbricalis* community in the waters of the Estonian Archipelago, Baltic Sea. *Journal of Applied Phycology* 18: 557-563.
- Martinez B., Rosa M. V, J.m. Rico, R.H. Rodde., V.A. Faes, J. Olivera, D. Alvarez., 2005. Open sea cultivation of *Palmaria palmate* (Rhodophyta) on the northern Spanish coast. *Journal Aquaculture*. 10.025
- McC. Candless EL, Craige JS. 1974. Revolution of Seasonal Factors Involved in Carageenan Production by *Chondrus crispus* : Carageenan of Carposporic Plants. *Bot. Mar.* 17 : 125-129.
- Mendoza W.G., Montano N.E., Ganzon-Fortes E.T., Villanu Eva R.D. 2002. Chemical and Gelling Profile of *ice-ice* Infected Carageenan from *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty "Sacol" Strain Solieciriciae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, University of the Philippines, Marine Science Institute, Queson City. Philippines.
- Msuya, F.E, Kyewalyanga, M.S. 2006. Quality and quantity of phycocolloid carrageenan in the seaweeds *Kappaphycus alvarezii* and *Eucheuma denticulatum* as affected by grow out period, seasonality, and nutrient concentration in Zanzibar, Tanzania. Report submitted to Cargill Texturizing Solutions, 46 pp.
- Mtolera M. S. P. 2003. Effect of Seagrass Cover and Mineral Content on *Kappaphycus* and *Eucheuma* Productivity in Zanzibar. *Institute of Marine Science, University of Dar es Salaam, Zanzibar, Tanzania. Western Indian Ocean J. Mar. Sci.* Vol. 2, No. 2, pp. 163–170, WIOMSA.
- Mubarak, H. 1978. Percobaan Budidaya Rumput Laut *Eucheuma spinosum* di Perairan Lorok, Pacitan dan Kemungkinan Pengemangannya. Balai Penelitian Perikanan Laut. Jakarta.
- Munoz J, Sahoo D. 2004. Impact of Large Scale *Kappaphycus alvarezii* Cultivation in Coastal Water of India, XIX th International seaweed Symposium, Kobe, Japan, Program and abstracts, 121 pp.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Musa N, Seong L, Wee W. 2008. Phenotypic and genotypic characteristics of *Vibrio harveyi* isolated from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). World Appl. Sci. J. 3, 885–902.
- Neish, I. C. 2003. The ABC of *Eucheuma* seaplant production. Monograph #1-0703. SuriaLink Infomedia. [http:// www. Surialink.com/abc_eucheuma](http://www.Surialink.com/abc_eucheuma) [Oktober, 2006]
- Ordjana M L, 2007. Revitalisasi Budidaya dan Ekspor Rumput Laut. Makalah disampaikan pada Workshop rumput laut dan budidaya kepiting lunak. Makassar, 15 Mei 2007, 54 pp
- Nygard C A, N G A Ekelund. 2006. Photosynthesis and UV-B tolerance of the marine alga *Fucus vesiculosus* at different sea water salinities. Journal of Applied Phycology (2006) 18: 461-467.
- Shimamura. 1959. Icones of Japanese Algae. Vol. II. Kazamashobo. Tokyo. Japan
- Silva L. Busico-Salcedo N. 2006. *Vibrio harveyi*: pretty problems in paradise. In: Thompson, F.L., Austin, B., Swings, J. (Eds.), The Biology of *Vibriosis*. ASM Press, Washington, DC, pp. 266–280.
- Sindamne, P., Peter Dawindt. 2011. Classification and identification of the *Pseudomonas cepacia* complex: Past, present and future. Mini review. Systematic and Applied Microbiology 34, 87-94.
- Six, Alvaro, Martha, Helena Ramírez-Bahena, Encarna Vela'zquez, 2009. Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. Review. Infection, Genetics and Evolution 9, 1132–1147. Salamanca, Spain.
- Solomon, M. J., Chan, E.C. S. 1988. Dasar- Dasar Mikrobiologi (Terjemahan), R. S. Hadjoetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosoepomo dan Angka. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 997 p.
- Stewart, E. and Mc Dowell R. 1967. Chemistry and Enzymology of Algae Polysaccharides. A.P. Press, London, N. Y.
- Storvin L, Sylvia G. Sander, Imelda Velasquez, Enitan Ibisanni, Gary R. eCleir, Steven W. Wilhelm. 2011. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 399, 43–47.
- Suarez Carlos González, Stefan B. Svensson, Laura Bravob, Anja Siitonenc, incenzo Pasqualee, Stefano Dumontete, Ivan Ciznard, Karel Krovacek. 2004. Journal Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases 27, 129–139.
- Szycki EP, Purves M. 1996. Enzyme-assisted immunoelectroblotting (IEB or western blotting). Di dalam: Coyne VE, James MD, Reid SJ, Rybicki EP (ed)



Molecular Biology Techniques Manual. Ed ke-3. Cape Town: Departemen of Microbiology University of Cape Town.

Rychlic W. 1995. Selection of primer for polymerase chain reaction. *Mol biotechnol* 3:129-134.

Sahoo,D, Yarish.C, 2005. Mariculture of Seaweeds. Marine Biotechnology Laboratory, Department of Botany, University of Delhi and Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Connecticut. Elsevier Academic Press.

ambrook J, and Russell. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Lab. Press. New York.

ayers, A.A, dan Whitt, D.D 1994. *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*. ASM Press. Washington D.C.

Shulze AD, Alabi AO, Tattersall-Sheldrake AR, Miller KM. 2006. Bacterial diversity in a marine hatchery : Balance between pathogenic and potentially probiotic bacterial strains. *Aquaculture* 256:50-73.

Shluenzen F, Tocilj A, Zarivach R, Harms J, Gluehmann M, Janell D, Bashan A, Bartels H, Agmon I, Franceschi F, Yonath A. 2000. Structure of functionally activated small ribosomal subunit at 3.3 angstroms resolution. *Cell* 102 (5): 615–23.

A PlantNet. 2005. *The Eucheuma Seaplant Handbook; Agronomics, Biology and Crop Systems*. Vol 1. Technical Monograph No 0505.

SEAFDEC. 2003. *The farming of Kappaphycus*. An information leaflet produced.

URL: <http://www.seafdec.org.ph/downloads/kappa>.

Singleton P. 1995. *Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine*, 3rd Edition New York: John Wiley and Sons. 319p.

Sigee D,C. 1993. *Bacterial Plant Patology: Cell and Molecular Aspects*. Cambridge Univ. Press. 325p.

egiarto AW, Sulistijo, Mubarak H. 1978. Rumput Laut (algae) Manfaat, Potensi dan Usaha Budidayanya. Lembaga Oseanologi Nasional. LIPI. Jakarta.

veve Rozen, Helen J. Skaletsky (1998) Primer3. Code available at http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html.

eel, R. G.D. and J. H. Torrie. 1984. *Principles and Procedures of tatistics*. Second Ed. Mc. Graw Hill Inc. 546 hal.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Sulu R, Lynette Kumar, Cameron Hay, Timothy Pickering. 2003. *Kappaphycus alvarezii* in The Pacific: Review of Introductions and Field Testing Proposed Quarantinem Protocols. The Institute of Marine Resources (IMR), The University of the South Pacific.
- Sudeesh PS, Jie K, Xu H. 2002. Random amplified polymorphic DNA-PCR typing of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* isolated from cultured shrimps. *Aquaculture* 207:11-17.
- istijo. 1994. The Harvest Quality of Alvarezii Culture by Floating Method in Pari Island North Jakarta. Research and Development Center for Oceanology Institut of Science. Jakarta.
- wanto, A. 1994. Pulsed-field gel electrophoresis: A revolution in microbial genetic. *Aspac. J. Mol. Biotechnol.* 2:78-85.
- wanto, A. 1995. Bacterial fingerprinting in the investigation of hospital infection.p.24-30. *In* Y. Ngeow and Y. Hiramatsu (Eds.). *Proceeding of Asean-Japan Seminar and Workshop on Hospital Infection.* Kuala Lumpur, Malaysia.
- wanto, A., S. Kaplan. 1992. Chromosome transfer of the *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1: Hfr formation and genetic evidence for two unique circular chromosomes. *J. Bacteriol.* 174: 1135-1145.
- wanto A 2002. *Complication of Practical Manual. Biotrop Training Course in Microbial Biodiversity.*
- Thomas S R, Joseph S E. 2004. Pathogenicity and Virulence. *Journal of Invertebrate Pathology* 85, 146-151.
- Thompson F L, Iida T, Swings J. 2004. Biodiversity of *vibrios*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68, 403-431.
- Vairappan, C.S. 2006. Seasonal occurrences of epiphytic algae on the commercially cultivated red alga *Kappaphycus alvarezii* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 18: 611-617.
- Vairappan, C.S., Chung, C.S., Hurtado, A.Q., Soya, F.E., Bleicher-Lhonneur, G. Critchley, A. 2008. Distribution and symptoms of epiphyte infection in major carrageenophyte-producing farms. *J. Appl. Phycol.* 20: 477-483.
- wardoyo TH. 1997. Pengelolaan Kualitas Air Tambak Udang. Makalah pada Pelatihan Manajemen Tambak Udang dan Hatchery. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.
- lianto K. 2002. Pengamatan Penyakit *Ice-ice* dan Alga Kompetitor Fenomena Penyebab Kegagalan Panen Budidaya Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*) di



Pulau Pari, Kepulauan Seribu. Prosiding Seminar Riptek Kelautan Nasional. Pusat Penelitian Oceanografi-LIPI. Jakarta.

Zhao Y, Damicome JP and Bender CL. 2002. Detection, survival, and source of inoculum for bacterial diseases of leafy crucifers in Oklahoma. *Plant Dis.* 86:883-888.

④ Du J, MA. Brunns, and JM Tiedje. 1996. DNA Recovery from Soils of Diverse Composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:316-322.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



LAMPIRAN

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 1 Nilai Parameter Kualitas Lingkungan Perairan Budidaya Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terserang Penyakit *Ice-ice* di pulau Panggang Kepulauan Seribu, DKI Jakarta selama periode tanam pada musim kemarau (April - Mei 2008) dan musim hujan (Desember 2008 – Januari 2009)

us	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu I	Minggu II
Hari ke-1	6.5	4.2	7.3	5.6	5.4
Hari ke-2	7.3	5.4	7.4	6.3	6.3
Hari ke-3	7	5.8	6.4	6.1	4.3
Hari ke-4	6.8	6.4	6.1	5.4	4.1
Hari ke-5	7.5	6.6	7.8	6	4.8
Hari ke-6	8.6	4.3	5.6	5.9	6.8
Hari ke-7	6.9	5.3	6.3	6.4	5.7
StDev	0.687299754	0.935796071	0.804155872	0.359894164	1.008062734
hu	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu I	Minggu II
Hari ke-1	30.3	29.7	29.3	28.6	28.1
Hari ke-2	29.8	30	31.2	29.7	28.6
Hari ke-3	32.4	30.5	30	28.4	28.4
Hari ke-4	30.2	32.3	29.5	28.3	28.2
Hari ke-5	31.4	31.4	29.3	27.8	28.4
Hari ke-6	30.5	30.6	29.7	28.4	28.3
Hari ke-7	29.9	31.2	30.2	28.2	28.2
StDev	0.936050467	0.889622713	0.671884344	0.589995964	0.167616342
Kecerahan	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu I	Minggu II
Hari ke-1	5.1	5.1	4.6	4.1	3.4
Hari ke-2	5.6	4.5	4.8	3.7	4
Hari ke-3	5	4.3	4.7	3.3	4.5
Hari ke-4	4.8	4.6	5	3	4.3
Hari ke-5	5.2	5	5.1	3.2	4
Hari ke-6	5.1	5.2	5	3	4
Hari ke-7	5	4.3	4.8	3	4.1
StDev	0.24784788	0.380475892	0.181265393	0.423140188	0.340867241
PH	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu I	Minggu II
Hari ke-1	8.2	8.3	8.6	7.6	6.7
Hari ke-2	8	8.4	8.6	7.2	6.6
Hari ke-3	8.7	8.3	8.5	6.7	6.8
Hari ke-4	8	8	8.7	6.8	7.4

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hari ke-5	8.1	8	8.6	6.8	7.6
Hari ke-6	8.4	8.1	8.4	6.8	7.6
Hari ke-7	8	8	8.6	6.9	7.4
StDev	0.264575131	0.171824939	0.095118973	0.319970237	0.439155033
Salinitas	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu I	Minggu II
Hari ke-1	30.4	31.2	31.4	28.8	27.6
Hari ke-2	30.2	30.8	31	29	28.1
Hari ke-3	31	30.8	30.8	27.6	28
Hari ke-4	30.8	30.6	31.2	27.8	27.8
Hari ke-5	30.7	30.7	31	27.8	27.6
Hari ke-6	31	30.6	32.3	28	27.6
Hari ke-7	30.8	31	32	28	28
Dev	0.3	0.219306266	0.561036456	0.538074167	0.219306266
DO	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu I	Minggu II
Hari ke-1	6.7	6.8	6.8	6.2	6.1
Hari ke-2	6.8	6.8	6.7	6.8	6
Hari ke-3	6.7	6.8	6.4	6.6	6
Hari ke-4	6.6	6.7	6.6	6.6	5.6
Hari ke-5	6.8	6.8	6.2	6.8	5.4
Hari ke-6	6.8	7	6	6	5.4
Hari ke-7	7	7.1	6.1	6	5.1
StDev	0.1253566	0.139727626	0.31091264	0.354562104	0.382348632

Parameter	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu I	Minggu II	stdev
Nitrat (mg/l)	0.556	0.219	0.371	0.205	0.066	0.186776069
Nitrit (mg/l)	0.037	0.025	0.371	0.085	0.038	0.14703469
Amoniak (mg/l)	0.218	0.226	0.165	0.142	0.11	0.049560065
Total-P (mg/l)	0.518	0.441	0.343	0.18	0.189	0.150105629
Orto-P (mg/l)	0.325	0.273	0.327	0.163	0.171	0.080431337

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 2 Prosedur Histologi Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

No	Proses	Reagensia	Waktu
1	Fiksasi	BNF 10 %	2 jam
2	Fiksasi	BNF 10 %	2 jam
3	Dehidrasi	Alkohol 70 %	1 jam
4	Dehidrasi	Alkohol 90 %	1 jam
5	Dehidrasi	Alkohol 100 %	1 jam
6	Dehidrasi	Alkohol 100 %	2 jam
7	Dehidrasi	Alkohol 100 %	2 jam
8	Clearing	Toluen	1 jam
9	Clearing	Toluen	1,5 jam
10	Clearing	Paraffin	1,5 jam
11	Impregnasi	Paraffin	2 jam
12	Impregnasi	Paraffin	3 jam
		Total	20 jam

Warnaan Mayers Hematoxylin Eosin

No	Reagensia	Waktu
	Xylol I	2 menit
	Xylol II	2 menit
	Alkohol 100 % I	1 menit
	Alkohol 100 % II	1 menit
	Alkohol 95 % I	1 menit
	Alkohol 95 % II	1 menit
	Mayers Haematoxylin	15 menit
	Rendam dalam Tap Water	20 menit
	Eosin	15 detik – 2 menit
	Alkohol 95 % III	2 menit
	Alkohol 95 % IV	2 menit
	Alkohol 100 % III	2 menit
	Alkohol 100 % IV	2 menit
	Alkohol 100 % V	2 menit
	Xylol III	2 menit
	Xylol IV	2 menit
	Xylol V	2 menit



Lampiran 3 Panjang *Thallus* Terinfeksi Penyakit *Ice-ice* pada Uji Transmisi Bakteri *Vibrio alginolyticus* dengan Kepadatan Sel 10^6 /ml.

Waktu Pengamatan	Jam ke -								
	1	3	6	9	12	15	18	21	StDev
Hari I					1	1.4	2.5	2.9	0.89628864
Hari II	4.3	16	17	19	23	29	40	48	11.1654228

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 4 Berat Basah Thallus Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terserang Penyakit *Ice-ice* Setiap Perlakuan Uji Patogenisitas Bakteri Selama Pengamatan.

Perlakuan A (Bakteri *Flavobacterium meningosepticum*)

Jam ke -	Hari I	Hari II	Hari III
3	35	34.9	34.79
6	35	34.902	34.789
9	35	34.902	34.772
12	35	34.892	34.766
15	34.976	34.888	34.742
18	34.955	34.856	34.67
21	34.926	34.833	34.643
24	34.913	34.8	34.61
Jumlah	279.77	278.973	277.782
Rata-rata	34.97125	34.87163	34.72275
Standar Deviasi	0.035924	0.038172	0.071147

Perlakuan B (Bakteri *Vibrio alginolyticus*)

Jam ke -	Hari I	Hari II
3	35	33.87
6	35	33.141
9	34.974	30.913
12	34.965	27.986
15	34.93	26.552
18	34.828	24.365
21	34.768	21.962
24	34.666	0
Jumlah	279.131	198.789
Rata-rata	34.89138	24.84863
Standar Deviasi	0.123849	10.86075

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Perlakuan C (Bakteri *Pseudomonas cepacia*)

Jam ke -	Hari I	Hari II	Hari III
3	35	34.78	34.59
6	34.978	34.783	34.585
9	34.977	34.779	34.549
12	34.867	34.722	34.485
15	34.834	34.695	34.469
18	34.821	34.662	34.414
21	34.815	34.637	34.377
24	34.792	34.6	34.33
Jumlah	279.084	277.658	275.799
Rata-rata	34.8855	34.70725	34.47488
Standar Deviasi	0.085278	0.070742	0.096575

Perlakuan D (Bakteri *Pseudomonas diminuta*)

Jam ke -	Hari I	Hari II	Hari III
3	35	34.81	34.65
6	34.984	34.808	34.603
9	34.984	34.805	34.591
12	34.983	34.797	34.354
15	34.97	34.775	34.034
18	34.917	34.715	33.696
21	34.851	34.864	33.628
24	34.813	34.66	33.51
Jumlah	279.502	278.234	273.066
Rata-rata	34.93775	34.77925	34.13325
Standar Deviasi	0.070467	0.063583	0.476703

Perlakuan E (Bakteri *Plesiomonas shigelloides*)

Jam ke -	Hari I	Hari II	Hari III
3	35	34.9	34.72
6	35	34.889	34.712
9	35	34.887	34.697
12	34.985	34.883	34.66
15	34.985	34.812	34.646
18	34.967	34.777	34.611
21	34.92	34.752	34.584

Jumlah	244.857	243.9	242.63
Rata-rata	34.97957	34.84286	34.66143
Standar Deviasi	0.028919	0.061236	0.051691

Gambar 5 Panjang *Thallus* Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terserang Penyakit *Ice-ice* Setiap Perlakuan Selama Pengamatan.

Perlakuan A (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 30g)

Jam ke-	Hari I	Hari II	Hari III
1		0.1	3.333
2		0.1	3.333
3		0.1	3.4
4		0.1	3.4
5		0.1	3.566
6		0.2	3.566
7		0.2	3.6
8		0.26	3.6
9		0.43	8
10		0.5	
11		1.1	
12		1.1	
13		1.16	
14		2.1	
15		2.1	
16		2.1	
17		2.26	
18		2.26	
19		2.26	
20		2.26	
21		2.3	
22	0.06	2.3	
23	0.1	3.33	
24	0.1	3.33	
Jumlah	0.26	8.96	35.798
Rata-rata	0.086667	2.986667	3.977556
Standar Deviasi	0.023094	0.594671	1.512529

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Perlakuan B (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 35g)

Jam ke-	Hari I	Hari II	Hari III
1		0.85	8.933
2		0.85	8.933
3		0.9	8.933
4		0.9	8.933
5		0.9	10.03
6		1.15	10.03
7		1.4	10.03
8		1.45	10.03
9		1.8	13.33
10		1.95	
11		3.2	
12		3.2	
13		3.2	
14		4.6	
15		4.6	
16		4.75	
17		6.4	
18		6.4	
19		7.1	
20		7.1	
21		8.133	
22	0.65	8.133	
23	0.8	8.6	
24	0.85	8.933	
Jumlah	2.3	25.666	89.182
Rata-rata	0.76667	8.55533	9.90911
Standar Deviasi	0.10408	0.40187	1.39518

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Perlakuan C (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 40g)

Jam ke-	Hari III	Hari IV	Hari V
1			10.6
2			10.6
3			10.6
4			10.6
5			12.67
6			12.67
7			12.67
8		0.13	12.67
9		0.2	14
10		0.26	
11		0.333	
12		0.333	
13		0.333	
14		3.433	
15		3.433	
16		3.567	
17		7.667	
18		7.667	
19		9.333	
20		9.333	
21		9.667	
22		9.667	
23		10.2	
24		10.6	
Jumlah		86.156	26.67
Rata-rata		5.068	13.335
Standar Deviasi		4.29528	0.940452

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Perlakuan D (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 45g)

Jam ke-	Hari III	Hari IV	Hari V
1		3	13.67
2		4	13.67
3		4	14.4
4		4	14.4
5		4.267	16.87
6		4.267	16.87
7		4.3	19.67
8		4.533	19.67
9		4.533	22
10		5.2	
11		6.133	
12		6.133	
13		6.133	
14		6.2	
15		6.2	
16		6.667	
17		8.333	
18		8.333	
19		9.333	
20		9.333	
21		11.33	
22	1.9	11.33	
23	2.75	11.33	
24	4	13.67	
Jumlah	8.65	36.33	151.22
Rata-rata	2.88333	12.11	16.80222
Standar Deviasi	1.05633	1.351	3.054451

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Lampiran 6 Berat Basah *Thallus* Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terserang Penyakit *Ice-ice* Setiap Perlakuan Uji Kohabitasi Selama Pengamatan.

Perlakuan A (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 30g)

Jam ke-	Hari I	Hari II	Hari III	Hari IV	Hari V
1		31.966	31.966	31.5	28.933
2		32.666	31.666	31.53	28.9
3		33.4	33.4	31.53	28.833
4		33.866	33.866	31.53	28.833
5		33.733	33.733	31.53	28.7
6		33.733	33.733	31.53	28.7
7		33.9	33.9	31.37	28.566
8		33.533	33.533	31.23	28.566
9		33.6	33.6	31.1	28.166
10		33.3	33.3	30.97	
11		33.233	33.233	30.1	
12		33.433	33.166	30.1	
13		33.433	31.966	30.03	
14		33.333	31.966	29.67	
15		33.066	31.766	29.67	
16		32.966	31.633	29.67	
17	33.166	32.866	31.633	29.37	
18	33.533	33.033	31.533	29.37	
19	33.433	33.1	31.533	29.23	
20	33.7	32.733	31.533	29.23	
21	33.633	32.266	31.533	29.23	
22	32.633	33.333	31.533	28.93	
23	32.3	33.533	31.533	28.93	
24	33.4	33.233	31.533	28.93	
Jumlah	265.798	266.797	265.797	251.75	230.031
Rata-rata	33.2248	33.3496	33.2246	31.4688	28.7539
Standar Deviasi	0.50291	0.68467	0.88831	0.11115	0.14261

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Perlakuan B (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 35g)

Jam ke-	Hari I	Hari II	Hari III	Hari IV	Hari V
1		33.467	33.466	32.1	28.9
2		33.333	33.333	32.1	28.9
3		33.133	33.133	32	28.9
4		31.967	31.966	32	28.9
5		33.067	31.9	32	28.4
6		33.4	31.9	32	28.4
7		33.5	32.166	31.9	28.4
8		33.333	32.2	31.9	28.4
9		33.2	32.066	31.8	27.666
10		33.067	32.033	31.7	
11		33.167	32	31.2	
12		33.067	31.933	31.2	
13		33.367	33.3	31.2	
14		33.233	33.233	30.8	
15		32.967	32.966	30.8	
16		32.967	32.966	30.7	
17	32.7	32.933	32.966	29.8	
18	33.266	32.967	32.9	29.8	
19	33.266	33.033	32.9	29.8	
20	32.766	33	32.9	29.3	
21	33.433	33.367	32.866	29.3	
22	33.266	33.367	32.833	29	
23	33.233	33.2	32.8	29	
Jumlah	33.133	265.2	260.064	256	229.2
Rata-rata	33.1329	33.15	32.508	32	28.65
Standar Deviasi	0.26056	0.5013	0.6797	0.07559	0.26726

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Perlakuan C (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 40g)

Jam ke-	Hari I	Hari II	Hari III	Hari IV	Hari V
1		30.267	30.466	29.8	27.366
2		30.333	30.333	29.8	27.366
3		30	30	29.8	27.366
4		30.433	30.433	29.8	27.366
5		30.233	30.233	29.8	26.933
6		30.3	30.233	29.8	26.933
7		30.3	30.166	29.8	26.933
8		30.2	30.166	29.7	26.933
9		30.133	30.133	29.6	26.533
10		30.033	30.033	29.6	
11		30.033	30.033	29.5	
12		30.1	29.933	29.5	
13		30.5	30.4	29.5	
14		30.5	30.4	29	
15		30.2	30.2	29	
16		30.133	30.033	28.9	
17	28.066	30.033	30.033	28	
18	30.133	30.2	30	28	
19	26.566	30	30	28	
20	30.266	29.9	30	27.7	
21	29.8	30.133	29.866	27.7	
22	30.233	30.367	29.866	27.6	
23	30.066	30.267	29.866	27.6	
24	30.233	30.367	29.833	27.4	
Jumlah	235.363	242.066	242.03	238.3	217.196
Rata-rata	29.4204	30.2583	30.2538	29.7875	27.1495
Standar Deviasi	1.36729	0.12559	0.15312	0.03536	0.23145

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Perlakuan D (Berat Basah *Thallus* Terserang *ice-ice* 45g)

Jam ke-	Hari I	Hari II	Hari III	Hari IV	Hari V
1		33.567	33.566	32.8	28.566
2		33.433	34.433	32.63	28.566
3		34.267	34.422	32.63	28.333
4		33.733	33.733	32.63	28.333
5		34.367	34.266	32.63	27.8
6		33.867	34.266	32.43	27.8
7		34.6	34.233	32.43	27.333
8		34.333	34.2	32.13	27.333
9		34.367	34.2	32.13	26.833
10		33.8	34.133	31.77	
11		34.367	33.8	31.07	
12		34.133	33.8	31.07	
13		34.133	33.766	31.07	
14		34.1	33.566	31	
15		34.1	33.566	31	
16		34.1	33.566	30.7	
17	32.4	34.033	33.466	29.87	
18	34.266	33.967	33.466	29.87	
19	34.3	33.8	33.433	29.87	
20	34.7	33.8	33.433	28.93	
21	33.733	33.933	33.4	28.93	
22	34.2	34.133	32.9	28.93	
23	34.266	34.167	32.933	28.93	
24	34.33	34.133	33.066	28.57	
Jumlah	272.195	271.966	266.097	233.9	250.897
Rata-rata	34.0244	33.9958	33.2621	29.2375	27.8774
Standar Deviasi	0.7068	0.14628	0.25027	0.53771	0.61836

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Lampiran 7 Hasil analisis varians perubahan berat *thallus* rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.410 ^a	15	.227	60.396	.000
Intercept	54543.288	1	54543.288	1.4497	.000
Perlakuan	.472	5	.094	25.053	.000
Hari	2.243	2	1.122	297.999	.000
Perlakuan * hari	.608	8	.076	20.179	.000
Error	.120	32	.004		
Total	57898.371	48			
Corrected Total	3.531	47			

(0,05) ; * Signifikan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 8 Hasil Analisis Uji lanjut Duncan dari Interaksi Taraf Perlakuan terhadap Transmisi Penyakit *Ice-ice*

interaksi	Subset								
	N	1	2	3	4	5	6	7	8
FH3	3	34.0917 ^a							
DH3	3	34.1327 ^a							
CH3	3		34.4757 ^b						
EH3	3			34.6493 ^c					
CH4	3			34.7077 ^{cd}	34.7077 ^{cd}				
AH4	3			34.7230 ^{cde}	34.7230 ^{cde}	34.7230 ^{cde}			
DH4	3			34.7563 ^{cde}	34.7563 ^{cde}	34.7563 ^{cde}			
FH5	3				34.8137 ^{def}	34.8137 ^{def}	34.8137 ^{def}		
EH5	3					34.8280 ^{efg}	34.8280 ^{efg}	34.8280 ^{efg}	
AH6	3						34.8713 ^{fgh}	34.8713 ^{fgh}	34.8713 ^{fgh}
CH6	3						34.8983 ^{fgh}	34.8983 ^{fgh}	34.8983 ^{fgh}
BH7	3						34.8997 ^{fgh}	34.8997 ^{fgh}	34.8997 ^{fgh}
FH8	3							34.9337 ^{gh}	34.9337 ^{gh}
DH8	3								34.9450 ^h
EH8	3								34.9727 ^h
AH8	3								34.9743 ^h
Sig.		.419	1.000	.058	.060	.063	.134	.067	.082

Keterangan: *) Superskrip angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak signifikan ($P > 0,05$).

Lampiran 9 Hasil Analisis Varians Perubahan *Thallus* Rumput Laut *K. alvarezii* pada Uji Transmisi Penyakit *Ice-ice* terhadap Rumput Laut Sehat.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	284.989 ^a	19	14.999	1.757	.066
Intercept	58163.169	1	58163.169	6814.278	.000
Perlakuan	81.060	3	27.020	3.166	.035
Hari	187.389	4	46.847	5.489	.001
Perlakuan * Hari	16.541	12	1.378	.161	.999
Error	341.419	40	8.535		
Total	58789.578	60			
Corrected Total	626.409	59			

R Squared = .455 (Adjusted R Squared = .196) ($P < 0,05$)

Lampiran 10 Hasil Analisis Uji Duncan terhadap Hari Transmisi Penyakit *Ice-ice*

Hari	N	Subset	
		1	2
H5	12	28.0472 ^a	
H4	12	30.2635 ^{ab}	30.2635 ^{ab}
	12		32.2361 ^b
	12		32.4510 ^b
	12		32.6769 ^b
		.071	.070

Superskrip huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata (signifikan)

Lampiran 11 Persentase Kandungan Karaginan Rumpuk Laut *Kappaphycus alvarezii* pada awal dan akhir perlakuan *thallus* yang terserang penyakit *ice-ice*

No.	Perlakuan	Waktu Pengamatan
	(g)	Sesudah (%)
1	30	4.0
2	35	3.1
3	40	3.1
4	45	2.9

Lampiran 12 Hasil Analisis sidik Ragam (ANOVA) terhadap Interaksi Perlakuan pada Perubahan Kandungan Karaginan.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4842.778 ^a	7	691.825	1124.919	.000
Intercept	7273.202	1	7273.202	11826.344	.000
Perlakuan	37.288	3	12.429	20.210	.000
Hari	4765.802	1	4765.802	7749.271	.000
Perlakuan * Hari	39.688	3	13.229	21.511	.000
Error	9.840	16	.615		
Total	12125.820	24			
Corrected Total	4852.618	23			

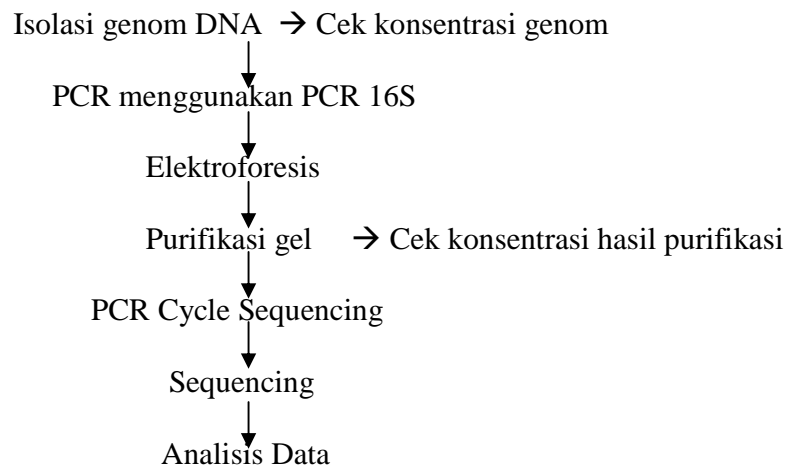
R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997) (p<0,05)

Lampiran 13 Hasil Analisis Uji Duncan Interaksi antara Taraf Perlakuan

Interaksi	N	Subset			
		1	2	3	4
D2	3	2.933±0,577 ^a			
B2	3	3.166±0,288 ^a			
	3	3.166±0,288 ^a			
	3	4.000±0,866 ^a			
	3		28.000±1 ^b		
	3			31.0000±1 ^c	
	3			32.0000±1 ^c	
	3				35.0000±1 ^d
		.144	1.000	.138	1.000

Superskrip huruf yang berbeda menunjukkan signifikansi

Lampiran 14 Prosedur Isolasi genom DNA



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

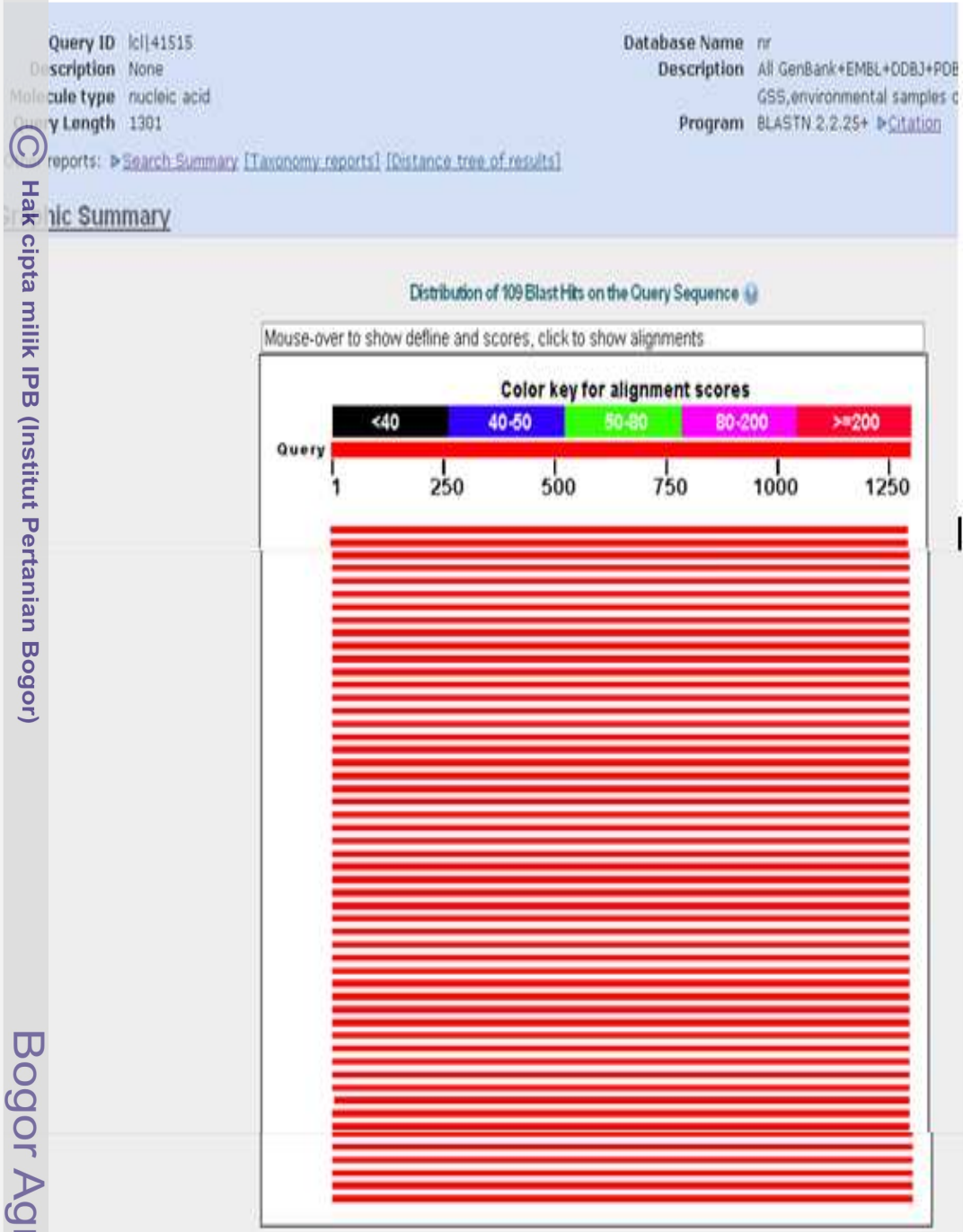
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 15 Ekstraksi DNA Bakteri (Kromosom) / Isolasi DNA Metode Phenol Cloroform.

1. Sel bakteri dipanen dari media broth sebanyak 5 sampai 10 ml.
2. Ditambahkan 500 μ l TE kemudian di spin down selama 30 – 60 detik, cairan TE dibuang kemudian ditambahkan lagi 500 μ l TE.
3. Ditambahkan 100 μ l lysosim (50 mg/ml,(50 mg lysosim, 30 μ l NaCl 5M, 200 μ l EDTA, 770 μ l ddH₂O)).
4. Diinkubasi pada suhu 37°C selama satu jam (setiap 15 menit dibolak balik).
5. Ditambahkan 100 μ l SDS 10 % (0,1 M NaCl 0,5 M Tris HCl, pH 8,4 % SDS)
6. Ditambahkan 10 μ l proteinase K (10 mg/ml)
7. Inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam
8. Ditambahkan 100 μ l 5 M NaCl dicampur dengan dibolak balik
9. Ditambahkan 100 μ l CTAB/NaCl yang sudah dipanaskan pada suhu 65°C dan dibiarkan pada suhu ruang
10. Diinkubasi pada suhu 65°C selama 20 menit
11. Dibiarkan pada suhu ruang
12. Ditambahkan 500 μ l (phenol : CHCl₃ : Cloroform= 25 : 24 : 1) : IAA
13. Disentrifuse 10000 rpm selama 5 menit
14. Supernatan diambil dan dipindahkan ke tube baru
15. Equal volume Isopropanol (-20°C)
16. Diinkubasi pada suhu – 20°C selama 20 menit
17. Sentrifuse maksimal (12000 rpm)
18. Ditambahkan 1 μ l ethanol 70 %
19. Disentrifuse maksimal (12000 rpm)
20. Buang supernatant dan keringkan

Lampiran 16 Hasil BLAST Nucleotida Bakteri *Vibrio alginolyticus* PNGK 1



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

▼ Descriptions

Legend for links to other resources: [U](#) UniGene [E](#) GEO [G](#) Gene [S](#) Structure [M](#) Map Viewer [P](#) PubChem BioAssay

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage
JF784015.1	Vibrio alginolyticus strain CIFRI V-TSB1 16S ribosomal RNA gene, partial	2289	2289	99%
EU734521.1	Vibrio sp. JLT1207 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2289	2289	99%
AB498798.1	Vibrio sp. B-1 gene for 16S rRNA, partial sequence	2289	2289	99%
FM878645.1	Uncultured Vibrio sp. partial 16S rRNA gene, clone HG103	2289	2289	99%
DQ647618.1	Vibrio sp. 99WF10-27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2289	2289	99%
AF064637.1	Vibrio sp. NAP-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2289	2289	99%
DQ513193.1	Vibrio sp. S19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2283	2283	99%
DQ647617.1	Vibrio sp. 99WF10-51 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2283	2283	99%
AF410778.1	Vibrio sp. NLEP97-1598 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2283	2283	99%
JF792067.1	Vibrio natriegens strain 1D 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2281	2281	99%
AB617569.1	Vibrio harveyi gene for 16S rRNA, partial sequence, isolate: D2-2T	2278	2278	99%
GU584770.1	Uncultured bacterium clone PropaneSIP14-6-36 16S ribosomal RNA gene	2278	2278	99%
CP001805.1	Vibrio sp. Ex25 chromosome 1, complete sequence	2278	2.251e+04	99%
FJ937884.1	Vibrio sp. LS21 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2278	2278	99%
FJ172044.1	Vibrio parahaemolyticus strain RW1 16S ribosomal RNA gene, partial seq	2278	2278	99%
DQ664544.1	Vibrio alginolyticus strain RH2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2278	2278	99%
DQ146987.1	Vibrio sp. V615 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2278	2278	99%
DQ530291.1	Vibrio sp. LAR2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2276	2276	99%
DQ642824.1	Vibrio sp. 18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2276	2276	99%
AF410779.1	Vibrio sp. NLEP97-1599 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2276	2276	99%
DQ642823.1	Vibrio sp. 21 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2274	2274	99%
GU542492.1	Vibrio sp. G5 1-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2272	2272	99%
GU542491.1	Vibrio sp. AC1-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2272	2272	99%
GQ205448.1	Vibrio parahaemolyticus strain JGB080708-1 16S ribosomal RNA gene, p	2272	2272	99%
FJ906748.1	Vibrio alginolyticus strain HN08155 16S ribosomal RNA gene, partial seq	2272	2272	99%
FJ154796.1	Vibrio harveyi strain WG1702 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2272	2272	99%
EU086102.1	Vibrio sp. HS1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2272	2272	99%
DQ497398.1	Vibrio parahaemolyticus strain 93A-5807 16S ribosomal RNA gene, parti	2272	2272	99%
AF513447.1	Vibrio alginolyticus 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2272	2272	99%
FJ861080.1	Pseudomonas fluorescens strain PMMD3 16S ribosomal RNA gene, parti	2270	2270	99%

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



HM566068.1	Vibrio sp. O8EPH64 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	99%
FJ952678.1	Vibrio sp. JF58 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	98%
FJ952645.1	Vibrio sp. SO14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	98%
FJ227119.1	Vibrio harveyi isolate EHP13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	99%
FJ025774.1	Vibrio sp. sx1w5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	99%
EU195936.1	Vibrio sp. P124 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	99%
EF542798.1	Vibrio alginolyticus strain YJ0666 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	99%
EF467290.1	Vibrio parahaemolyticus 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2255	2255	99%
FJ497680.1	Vibrio sp. VS-59 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2254	2254	99%
HQ908739.1	Vibrio owensii strain F77007 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2252	2252	99%
FJ952671.1	Vibrio sp. JF45 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2252	2252	98%
EU937751.1	Vibrio sp. JG 07 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2252	2252	99%
JF784044.1	Vibrio sp. CIFRI CH-TSB-27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
JF700507.1	Vibrio natriegens strain BPRIST057 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
JF431423.1	Vibrio natriegens strain BPRIST034 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
HQ908716.1	Vibrio azureus strain F77118 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
HQ161740.1	Vibrio harveyi strain F75205 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GQ907022.1	Vibrio sp. IMSF-02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223600.1	Vibrio sp. K323 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223599.1	Vibrio sp. K324 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223596.1	Vibrio sp. K350 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223595.1	Vibrio sp. N380 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223594.1	Vibrio sp. N382 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223593.1	Vibrio sp. A975 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223584.1	Vibrio sp. N377 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
GU223583.1	Vibrio sp. N376 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
FJ937923.1	Vibrio sp. LS193 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
AF108137.3	Uncultured Vibrio sp. 'Artemia' 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
FJ870691.1	Vibrio sp. A-C 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
FJ866782.1	Rhodobacter capsulatus strain PSB-03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2250	2250	99%
AB571950.1	Vibrio sp. AKA07-9 gene for 16S rRNA, partial sequence	2242	2242	99%

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Primer3 Output

PRIMER PICKING RESULTS FOR *Vibrio azureus* strain 41113

```

No mispriming library specified
Using 1-based sequence positions
OLIGO       start len tm gc% any 3' seq
1981 HT PRIMER   271  20 60.02 55.00 3.00 1.00 CAGCCACACTGGAACTGAGA
1982 HT PRIMER   473  20 60.02 50.00 4.00 0.00 TTAGCCGGTGCTTCTTCTGT
SEQUENCE SIZE: 940
INCLUDED REGION SIZE: 940
PRODUCT SIZE: 203, PAIR ANY COMPL: 4.00, PAIR 3' COMPL: 3.00

1981 TCGCTACACATGCAGTCGAGCGGAACGAGTTATCTGAACCTTCGGGGAACGATAACGGCG
1982 TCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAATTGCCCTGATGTGGGGGATAACCATT
1983 TGGAAACGATGGCTAATACCGCATGATGCCTACGGGCCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTC
1984 TCGCGTCAGGATATGCCTAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAGGGCTCACCAAGGC
1985 TAGCATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGGTGGAGACACGGTCCAG
    >>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>
1986 TACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCA
1987 TGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTTCAGTCGTGAGGAAGGTGG
1988 TCGTCGTTAATAGCTGCGTGTGTTTACGTTAGCGACAGAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTG
    <<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<
1989 TCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGG
541 CATGCAGGTGGTTTGTTAAGTCAGATGTGAAAGCCCAGGGGCTCAACCTCGGAATAGCATT
601 TGAAACTGGCAGACTAGAGTACTGTAGAGGGGGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAAT
661 GCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCGGCCCCCTGGACAGATACTGACACT
721 CAGATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAAC
781 GATGTCTACTTGAGGTTGTGGCCTTGAGCCGTGGCTTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAG
841 ACCGCCTGGGGAGTACGGTGCAGATTAAGTCAATGAATTGACGGGGCCCGCACAGCGG
901 TGAGCATGTGGTTTCGATGCACGCGAGATCTTACTACTCT
  
```

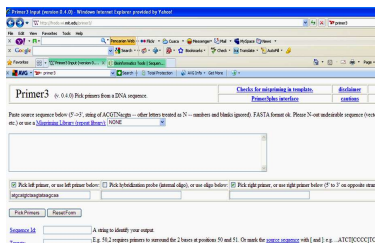
Bogor Agricultural University

Lampiran 18 Skema Desain Primer Bakteri *Vibrio alginolyticus*

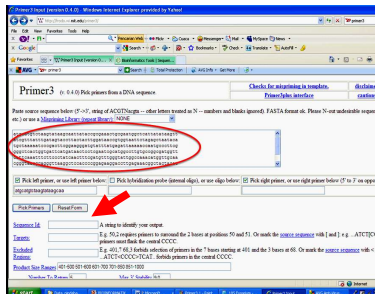
Input sekuens kedalam teks editor



Link <http://molbiol-tools.ca/PCR.htm> (Primer3: www.primer3.org)



Pada interface, paste sekuens nukleotida pada boks.



Pada bagian 'sequence id', berikan nama primer tersebut

Klik 'pick primer'

display primer yang telah disusun

1. Diaransir mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Diaransir mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Lampiran 19 Susunan Nukleotida dari Bakteri *Vibrio alginolyticus* strain CIFRI V-TSB1

gb|JF784015.1| *Vibrio alginolyticus* strain CIFRI V-TSB1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Length=1448

Score = 2289 bits (1239), Expect = 0.0
Identities = 1289/1309 (98%), Gaps = 20/1309 (2%)
Strand=Plus/Plus

Query	2	ACCTTCGGGG-ACGAT-ACGGCGTCGAGCGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAATTG	59
Sbjct	45	ACCTTCGGGGAACGATAACGGCGTCGAGCGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAAATTG	104
Query	60	CCCTGATGTGGGGGATAACCATTGAAACGATGGCTAATACCGCATGATGCCTACGGGCC	119
Sbjct	105	CCCTGATGTGGGGGATAACCATTGAAACGATGGCTAATACCGCATGATGCCTACGGGCC	164
Query	120	AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCGCGTCAGGATATGCCTAGGTGGGATTAGCTAGTTG	179
Sbjct	165	AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTCGCGTCAGGATATGCCTAGGTGGGATTAGCTAGTTG	224
Query	180	GTGAGGTAAGGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCAC	239
Sbjct	225	GTGAGGTAAGGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCAC	284
Query	240	ACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAA	299
Sbjct	285	ACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAA	344
Query	300	TGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGT	359
Sbjct	345	TGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGT	404
Query	360	ACTTTCAGTCGTGAGGAAGGCGG--TCGTTAATAGCGGCGTTGTTGACGTTAGCGACAG	417
Sbjct	405	ACTTTCAGTCGTGAGGAAGGCGGCGTTCGTTAATAGCGGCGTTGTTGACGTTAGCGACAG	464
Query	418	AAGAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAA	477
Sbjct	465	AAGAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAGCGTTAA	524
Query	478	TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCATGCAGGTGGTTTGTAAAGTCA-ATGTGAAAGCCCG	536
Sbjct	525	TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCATGCAGGTGGTTTGTAAAGTCAAGTGTGAAAGCCCG	584
Query	537	GGGCTCAACCTCGGAATAGCATTTGAAACTGGCAGACTAGAGTACTGTAGAGGGGGTAG	596
Sbjct	585	GGGCTCAACCTCGGAATAGCATTTGAAACTGGCAGACTAGAGTACTGTAGAGGGGGTAG	644
Query	597	AATTTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTA-AGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG	655
Sbjct	645	AATTTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGAAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG	704
Query	656	CCCCCTGGACA-ATACTGAC-CTCA-ATGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	712
Sbjct	705	CCCCCTGGACAGATACTGACACTCAGATCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	764
Query	713	CC-TGGTAGTCC-C-CCGTAACGATGTCTACTTGGAGAGCGGAGGTTGTGGCCTTGAGC	769
Sbjct	765	CCCTGGTAGTCCACGCGGTAACGATGTCTACTTGGAG-G-----TTGTGGCCTTGAGC	817
Query	770	CGTGGCTTTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAA	829
Sbjct	818	CGTGGCTTTTCGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAA	877

- 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
- 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Query	830	AACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGC	889
Sbjct	878	AACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGC	937
Query	890	AACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACCTTCCAGAGATGGATTGGTGC	949
Sbjct	938	AACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACCTTCCAGAGATGGATTGGTGC	997
Query	950	CTTCGGGAACCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGTGAAATGTTG	1009
Sbjct	998	CTTCGGGAACCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGTGAAATGTTG	1057
Query	1010	GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAA	1069
Sbjct	1058	GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTGTTTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAA	1117
Query	1070	CTCCAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATG	1129
Sbjct	1118	CTCCAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATG	1177
Query	1130	GCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATAACAGAGGGCGGCCAACTTG	1189
Sbjct	1178	GCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATAACAGAGGGCGGCCAACTTG	1237
Query	1190	CGAAAGTGAGCGAATCCCAAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACT	1249
Sbjct	1238	CGAAAGTGAGCGAATCCCAAAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACT	1297
Query	1250	CCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGG-GAA	1297
Sbjct	1298	CCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGA	1346

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.