

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke Hadirat Allah SWT. berkat rahmat dan izin-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Skrining Bakteri *Vibrio* sp Penyebab Penyakit Udang Berbasis Teknik Sekuens 16S rDNA."

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. H. Feliatra, DEA selaku pembimbing I dan Dr. Titania Nugroho, M.Si, sebagai pembimbing II, yang telah menyumbangkan ide, pikiran dan waktu dalam membimbing penelitian ini sehingga penulis selesai dalam menyusun laporan ini.

Terima kasih yang tak terhingga juga kepada HEI-IU I-M HERE Project yang telah memberikan bantuan dana sehingga terlaksananya penelitian ini. Selain itu, penulis berterima kasih ayahnda Habib Abdullah dan ibunda Bariyah KS serta keluarga tercinta yang selalu memberikan dukungan, doa dan harapan yang besar bagi penulis. Andil teman-teman mahasiswa juga sangat penting artinya bagi penulis, sehingga penulis mampu meraih gelar sarjana.

Keterbatasan waktu, informasi, data, maupun ilmu yang penulis miliki, menjadikan baik isi maupun cara penyajian dalam laporan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan masukan dari semua pihak yang sifatnya membangun demi kesempurnaan laporan penelitian ini.

Pekanbaru, Desember 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRACT	ii
RINGKASAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
GLOSARIUM	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	2
1.3. Tujuan dan Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Bakteri <i>Vibrio</i>	4
2.2. <i>Vibrio</i> merupakan Patogen bagi Udang	5
2.3. Toksin pada Bakteri Patogen	6
2.3. Identifikasi Molekuler Bakteri	7
2.4. DNA dan RNA.....	8
2.4. Isolasi DNA.....	10
2.5. Karakterisasi DNA.....	10
2.6. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	12
2.7. Gel Elektroforesis	14
2.8. Sekuensing 16S rDNA	16
III. METODE PENELITIAN	17
3.1. Waktu dan Tempat	17
3.2. Bahan dan Alat	17
3.3. Metode.....	17
3.4. Prosedur Penelitian	18
3.4.1. Pengambilan Sampel dan Isolasi Bakteri	18
3.4.2. Identifikasi Bakteri.....	19
3.4.2.1. Pewarnaan Gram	19
3.4.2.2. Pertumbuhan pada Medium TSI Agar	19
3.4.2.3. Uji Katalase.....	20

3.4.2.4. Uji Oksidase	20
3.4.2.5. Uji Metil Red.....	20
3.4.3. Isolasi DNA <i>Vibrio</i>	20
3.4.4. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	21
3.4.5. Elektroforesis dan Pengamatan Hasil PCR.....	21
3.4.6. Purifikasi Gel Elektroforesis.....	22
3.4.7. Sequensing dan Analisis BLAST.....	23
3.5. Analisis Data	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1. Hasil	24
4.1.1. Isolasi Bakteri.....	24
4.1.2. Pewarnaan dan Pengamatan Morfologi	24
4.1.3. Uji Biokimia.....	25
4.1.4. Uji Medium TSIA	25
4.1.5. Konsentrasi DNA	26
4.1.6. Amplifikasi DNA	27
4.1.7. Sekuensing 16S rDNA	28
4.1.8. Analisis BLAST dan Submit GenBank.....	28
4.1.9. Phylogenetic Tree.....	29
4.2. Pembahasan.....	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1. Kesimpulan	36
5.2. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil Pewarnaan dan Pengamatan Secara Morfologi	24
2. Hasil Pengujian Biokimia.	24
3. Hasil Uji Menggunakan Medium TSIA	25
4. Konsentrasi Genom Ekstrak DNA	26
5. Hasil Sekuensing Gen 16S rDNA	26

DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Kurva titik leleh DNA.....	11
2. Amplifikasi Fragmen DNA dengan PCR.....	14
3. Pemisahan DNA melalui elektroforesis gel agarosa.....	15
4. Hasil Elektroforesis DNA pada Gel Agarose.....	27
5. Phylogenetic tree <i>Vibrio alginolyticus</i> FNS A08.....	28
6. Phylogenetic tree <i>Vibrio parahaemolyticus</i> FNS C08.....	29
7. Phylogenetic tree <i>Vibrio harveyi</i> FNS B08.....	29
8. Phylogenetic tree <i>Vibrio shilonii</i> FNS D08.....	29
9. Phylogenetic tree <i>Vibrio vulnificus</i> FNS E08.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Isolat <i>Vibrio</i> A, D, E, H, dan I	43
2. Alur Kerja Identifikasi Bakteri 16S rDNA	44
3. Proses Sekuensing.....	45
4. Analisis BLAST	46
5. Alat dan Bahan selama Penelitian.....	47
6. Sekuen Gen 16S rDNA	48
7. Flat File GenBank	51
8. Sequencing Electrophoregram	56

GLOSARIUM

Amplifikasi PCR	=	Proses penggandaan DNA target melalui reaksi polimerase berantai
Annealing	=	Tahap pada reaksi polimerase berantai (PCR) di mana primer berkomplemen dengan salah satu untai DNA
BLAST	=	(Basic Lokal Alignment Search Tool), sistem pencarian spesies melalui penelusuran DNA yang terdapat pada database Gen di Gen Bank
Denaturasi	=	Pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal melalui perlakuan penambahan suhu dalam proses PCR
DNA	=	Singkatan dari Deoxyribonucleid Acid, asam nukleat yang mengandung materi genetik, terdiri dari satu gugus fosfat, satu gula pentosa, dan sepasang nukleotida
Elektroforesis	=	Proses untuk memisahkan DNA oleh medan listrik. Dalam hal ini, molekul-molekul tersebut dipisahkan berdasarkan laju perpindahannya oleh gaya gerak listrik di dalam matriks gel. Laju perpindahan tersebut bergantung pada ukuran molekul.
Eukariot	=	Organisme dengan sel kompleks, sudah memiliki inti sel atau membran inti.
Filogenetik	=	Sistem penggolongan makhluk hidup berdasarkan kekerabatan secara evolusi.
Fragmen DNA	=	Visualisasi DNA pada gel agarose setelah dielektroforesis
Gel Agarose	=	Gel yang digunakan untuk proses elektroforesis
Gen 16S rDNA	=	Gen yang terdapat pada daerah 16S ribosomal DNA, gen ini dipisahkan berdasarkan sedimentasi
Gen Bank	=	Database DNA, terdiri dari puluhan ribu sekuen DNA organisme di seluruh dunia yang berhasil di sekuensing, yang bisa diakses pada http://www.ncbi.nlm.nih.gov/
Homologi DNA	=	Perbandingan kemiripan urutan DNA yang diteliti dengan DNA pada database Gen Bank.
Kromosom	=	Struktur makromolekul besar yang memuat DNA yang membawa informasi genetik dalam sel. DNA terbalut dalam satu atau lebih kromosom.
Marker DNA	=	Penanda pada gel agarose untuk mengetahui ukuran pasang basa DNA yang dielektroforesis
Nukleotida	=	Molekul yang tersusun dari gugus basa heterosiklik, gula, dan satu atau lebih gugus fosfat. Basa penyusun nukleotida biasanya adalah berupa purin atau pirimidin sementara gulanya adalah pentosa (ribosa), baik berupa deoksiribosa maupun ribosa.
Patogen	=	Mikroorganisme penyebab penyakit pada organisme



	=	inang
Patogen Oportunistik	=	Mikroorganisme yang bisa menyebabkan penyakit pada organisme lain dalam kondisi yang memungkinkan
Patogentitas	=	Potensi suatu organisme dalam menimbulkan penyakit atau menginfeksi
PCR	=	Singkatan dari Polymerase Chain Reaction, atau reaksi polimerase berantai, suatu metode untuk memperbanyak urutan DNA yang diinginkan (DNA Target) pada suatu molekul DNA kompleks. PCR terdiri dari denaturasi, annealing dan polimerisasi.
Polimerisasi	=	Pembentukan rantai polimer organik (DNA) yang panjang dan berulang-ulang, terjadi saat proses PCR
Primer	=	Oligonukleotida sintetis, atau molekul DNA, RNA atau protein yang spesifik, berguna dalam mensintesis nukleotida pada daerah yang diapit oleh primer.
Prokariot	=	Organisme yang belum memiliki inti sel atau membran inti
RNA	=	Asam ribonukleat (<i>Ribonucleic Acid</i>) senyawa yang merupakan bahan genetik dan memainkan peran utama dalam ekspresi genetik. RNA menjadi perantara antara informasi yang dibawa DNA dan ekspresi fenotipik yang diwujudkan dalam bentuk protein.
Sekuensing DNA	=	Proses penentuan urutan nukleotida pada suatu fragmen atau RNA. Metode sekuensing di antaranya menggunakan metode Sanger dan metode fluorescens (<i>dye terminator</i>)
Sekuens	=	(Sekuens genetika) sebuah seri huruf-huruf mewakili struktur primer dari molekul DNA atau "strand" nyata atau hipotetis.
Sentrifugasi	=	Metode yang digunakan dalam pencapaian sedimentasi di mana partikel dipisahkan dari fluida oleh gaya sentrifugasi yang dikenakan pada partikel
Skrining	=	Strategi yang digunakan untuk mendeteksi jenis spesies dengan menggunakan teknik identifikasi tertentu.
Taq Polymerase	=	Enzim polimerase yang digunakan sebagai katalis dalam proses polimerisasi
Toksin	=	Suatu zat yang ditimbulkan oleh bahan kimia atau organisme yang menimbulkan gangguan pada sel, jaringan atau organ sehingga menyebabkan penyakit

