

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN DEKAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN TIM PROMOTOR .....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN TIM PENGUJI. ....	v
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN .....	vi
PRAKATA .....	vii
DAFTAR ISI. ....	xi
DAFTAR TABEL... ..	xvi
DAFTAR GAMBAR .....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN. ....	xx
DAFTAR SINGKATAN .....	xxi
INTISARI .....	xxiii
ABSTRACT .....	xxv
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	7
C. Tujuan Penelitian .....	7
D. Manfaat Penelitian .....	8
E. Keaslian Penelitian .....	9
F. Ruang Lingkup Penelitian .....	13
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI .....	16
A. Tinjauan Pustaka .....	16
1. Ikan gurami .....	16
a. Karakteristik ikan gurami .....	15
b. Integumen ikan gurami .....	18
c. Nilai penting ikan gurami .....	20
2. Saprolegniasis .....	21
a. Definisi saprolegniasis .....	21
b. Gejala klinis saprolegniasis .....	21

c. Faktor pemicu terjadinya saprolegniasis .....	22
d. Spektrum infeksi saprolegniasis .....	24
e. Prevalensi saprolegniasis .....	24
f. Kejadian saprolegniasis pada ikan gurami .....	26
3. Organisme Penyebab Saprolegniasis .....	27
a. Taksonomi dan karakter umum .....	27
b. Siklus hidup .....	28
c. Karakterisasi morfologi dan identifikasi .....	30
d. <i>Saprolegnia</i> .....	34
e. <i>Achlya</i> .....	35
f. <i>Dictyuchus</i> .....	36
g. <i>Aphanomyces</i> .....	36
h. Karakter molekuler dan kajian filogenetik Saprolegniaceae .....	37
4. Patogenisitas .....	40
a. Definisi Patogenisitas .....	40
b. Patogenisitas jamur penyebab saprolegniasis pada ikan .....	40
c. Histopatologi saprolegniasis .....	42
5. Respons Imunofisiologis .....	43
a. Definisi respons imunofisiologis .....	43
b. Peranan sistem imun dalam fisiologi ketahanan tubuh ikan .....	44
c. Respons imun ikan terhadap infeksi jamur air .....	45
d. Peran mukus kulit dalam sistem kekebalan tubuh ikan .....	47
B. Landasan Teori .....	49
C. Hipotesis .....	54
BAB III. METODE PENELITIAN .....	55
A. Bahan .....	55
B. Alat .....	56
C. Cara Kerja .....	57
1. Koleksi Data Umum .....	57
2. Pengukuran prevalensi dan pengamatan gejala saprolegniasis pada ikan yang terinfeksi secara alami .....	58
3. Koleksi sampel jamur air .....	58

4. Isolasi dan kultur isolat jamur air .....	59
5. Karakterisasi morfologi dan identifikasi jamur air .....	60
6. Identifikasi jamur berdasarkan karakter molekuler .....	63
a. Isolasi DNA .....	63
b. Amplifikasi DNA dengan metode PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	64
7. Analisis Filogenetik .....	66
8. Uji patogenitas .....	67
a. Infeksi ikan uji dengan zoospora isolat jamur air .....	67
b. Rancangan percobaan perlakuan infeksi .....	69
c. Pengukuran karakteristik umum infeksi saprolegniasis .....	70
9. Pembuatan sediaan histologi .....	73
a. Prosedur pewarnaan HE .....	75
b. Prosedur pewarnaan PAS .....	76
10. Apus Darah .....	76
11. Analisis Protein mukus kulit ikan dengan SDS-PAGE dan LC-HRMS ...	78
a. Pengambilan sampel mukus kulit ikan .....	78
b. Isolasi protein mukus kulit ikan .....	79
c. Kuantifikasi protein mukus kulit ikan .....	79
d. SDS-PAGE .....	81
e. LC-HRMS .....	83
D. Analisis Data .....	84
E. Alur Kerja .....	85
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	86
A. Deskripsi Saprolegniasis pada Ikan Gurami di Kolam Budidaya dan Pasar Ikan .....	86
1. Prevalensi .....	86
2. Gejala saprolegniasis pada ikan gurami yang terinfeksi di alam .....	93
B. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Jamur Penyebab Saprolegniasis pada Ikan Gurami .....	98
1. Isolasi jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	98
2. Karakterisasi morfologi isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	100

3. Identifikasi spesies jamur penyebab saprolegniasis berdasarkan karakter morfologi .....	122
C. Identifikasi Molekuler Isolat Jamur dan Analisis Filogenetik Isolat Jamur Penyebab Saprolegniasis pada Ikan Gurami .....	132
1. Identifikasi molekuler isolat jamur .....	132
a. Ekstraksi, amplifikasi, dan kuantifikasi DNA isolat jamur .....	132
b. Sekuensing dan analisis BLAST sekuen ITS rDNA yang diisolasi dari jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	136
2. Analisis filogenetik jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami berdasarkan karakter molekuler .....	142
3. Taksonomi isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami berdasarkan karakter morfologi, molekuler dan filogenetik .....	149
D. Karakteristik Infeksi Jamur Penyebab Saprolegniasis pada Ikan Gurami .....	152
1. Infeksi zoospora isolat jamur ( <i>Achlya</i> sp.) pada ikan gurami .....	152
2. Karakteristik infeksi isolat jamur ( <i>Achlya</i> sp.) berdasarkan gejala klinis dan respons fisiologis ikan gurami .....	155
a. Gejala klinis .....	155
b. Respons fisiologis .....	165
3. Karakteristik infeksi jamur ( <i>Achlya</i> sp.) berdasarkan patologi jaringan terinfeksi pada ikan gurami .....	167
4. Karakteristik infeksi berdasarkan patogenisitas jamur ( <i>Achlya</i> sp.) pada ikan gurami .....	180
5. Karakteristik patologi infeksi <i>Achlya</i> sp. pada ikan gurami .....	184
6. <i>Koch's postulate</i> untuk karakter morfologi jamur berdasarkan hifa yang tumbuh pada uji patogenisitas .....	187
E. Respons Imunofisiologis Ikan Gurami berdasarkan Gambaran Sediaan Jaringan dan Analisis Protein Mukus Kulit Ikan .....	189
1. Analisis respons imun ikan berdasarkan gambaran sediaan jaringan integumen dan apus darah ikan .....	189
a. Gambaran sediaan jaringan integumen ikan gurami .....	185
b. Deskripsi darah apus .....	192
2. Respons imun terkait MALT ( <i>Mucosa-Associated Lymphoid Tissue</i> ) kulit...	200
a. Deteksi protein mukus kulit ikan dengan SDS-PAGE .....	200
b. Deteksi protein mukus kulit ikan dengan LC-HRMS.....	206
V. PEMBAHASAN UMUM .....	216

VI. SIMPULAN DAN SARAN .....	222
VII. RINGKASAN .....	225
DAFTAR PUSTAKA .....	231
LAMPIRAN .....	251

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik berbagai pola pelepasan zoospora pada jamur air yang tergolong dalam ordo Saprolegniales .....	31
Tabel 2. Daftar karakter morfologi jamur Saprolegniales yang diamati .....	61
Tabel 3. Komposisi reagen dan template untuk prosedur PCR, volume total 50 µl..	65
Tabel 4. Siklus reaksi PCR untuk pasangan primer ITS4 dan ITS5 .....	65
Tabel 5. Rancangan perlakuan uji patogenisitas pada ikan gurami .....	70
Tabel 6. Pedoman pemberian skor gejala umum infeksi zoospora jamur air pada ikan gurami .....	72
Tabel 7. Prevalensi saprolegniasis pada ikan gurami di pasar ikan dan kolam budidaya .....	87
Tabel 8. Gejala klinis saprolegniasis pada sampel ikan gurami dari kolam budidaya dan pasar ikan di beberapa wilayah Pulau Jawa .....	94
Tabel 9. Hasil isolasi jamur dari lesi saprolegniasis pada sampel ikan gurami	99
Tabel 10. Hasil karakterisasi morfologi berdasarkan karakter aseksual dari isolat jamur asal ikan gurami .....	101
Tabel 11. Hasil karakterisasi morfologi berdasarkan struktur seksual isolat jamur (semua isolat, kecuali isolat 8 dan 9 yang tidak muncul struktur seksualnya di laboratorium) .....	113
Tabel 12. Perbedaan karakter seksual isolat 4 dengan isolat 1, 2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, dan 12 .....	122
Tabel 13. Deskripsi dua kelompok isolat <i>Achlya</i> dari lesi saprolegniasis ikan gurami .....	124
Tabel 14. Perbandingan karakter morfologi <i>Achlya</i> spp dengan <i>Achlya oblongata</i> de Bary 1888 .....	129
Tabel 15. Hasil perbandingan sekuen ITS rDNA <i>Achlya</i> spp. yang diisolasi dari ikan gurami di Indonesia dengan spesies <i>Achlya</i> dari <i>GenBank</i> (BLASTn) .....	138
Tabel 16. Hasil Analisis Identifikasi sekuen ITS sampel jamur air asal ikan gurami di Jawa, Indonesia dengan menggunakan BOLD.....	139
Tabel 17. Penghitungan jarak genetik / <i>genetic distance</i> pada sekuen isolat <i>Achlya</i> asal ikan gurami dan sekuen jamur dari <i>GenBank</i> .....	146
Tabel 18. Kriteria spesies baru yang dipenuhi oleh spesies <i>Achya</i> kelompok-1 (spesies 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8) asal ikan gurami di Indonesia .....	151

Tabel 19. Karakteristik infeksi <i>Achlya</i> sp. pada ikan gurami berdasarkan kemunculan gejala klinis dan respons fisiologis pada ikan yang terinfeksi .....	158
Tabel 20. Gangguan gerak dan keseimbangan ikan gurami selama perlakuan uji .....	165
Tabel 21. Kelangsungan hidup ikan uji selama masa percobaan .....	182
Tabel 22. Hitung sel darah apus ikan gurami .....	195
Tabel 23. Densitometri analisis gel SDS-PAGE .....	205
Tabel 24. Hasil deteksi Protein pada mukus kulit ikan dengan uji LC-HRMS	208

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi ikan gurami dewasa .....	16
Gambar 2. Siklus hidup <i>Saprolegnia</i> : .....	29
Gambar 3. Tipe-tipe sporangia dan pola keluarnya zoospora pada enam genus yang berbeda dalam familia Saprolegniaceae .....	32
Gambar 4. Tipe-tipe oospora Saprolegniaceae .....	33
Gambar 5. Asal percabangan anteridium pada Saprolegniaceae .....	33
Gambar 6. Posisi wilayah ITS dalam gen ribosomal dan gambaran posisi primer .....	38
Gambar 7. Gejala klinis saprolegniasis pada sampel ikan gurami yang dikoleksi dari tempat budidaya dan pasar ikan .....	96
Gambar 8. Morfologi talus isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	104
Gambar 9. Morfologi sporangium isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	105
Gambar 10. Morfologi spora (zoospora) isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	107
Gambar 11. Morfologi gemma isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	109
Gambar 12. Morfologi oogonium isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	116
Gambar 13. Morfologi oospora isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	118
Gambar 14. Morfologi anteridium isolat jamur penyebab saprolegniasis pada ikan gurami .....	120
Gambar 15. Morfologi isolat <i>Achlya</i> spp. kelompok 1. ....	125
Gambar 16. Morfologi isolat <i>Achlya</i> spp. kelompok 2. ....	126
Gambar 17. Struktur hifa berpilin pada isolat <i>Achlya</i> spp. kelompok-1 asal ikan gurami. ....	127
Gambar 18. Perbandingan karakter anteridium dan oogonium isolat <i>Achlya</i> spp asal ikan gurami kelompok-1 dan kelompok-2 dengan <i>Achlya oblongata</i> de Barry 1888 dan <i>Achlya hypogyna</i> Coker 1908. ....	130
Gambar 19. Kualitas <i>band</i> / pita DNA hasil amplifikasi dengan primer ITS4 dan ITS5 menggunakan metode PCR .....	133



Gambar 20. Kuantifikasi sampel DNA isolat <i>Achlya</i> spp. asal ikan gurami hasil amplifikasi dengan primer ITS 5 dan ITS4 sebelum pemrosesan sekuen .....	135
Gambar 21. Konstruksi pohon filogenetik berbasis matriks jarak, UPGMA dan Neighbor-joining, isolat <i>Achlya</i> spp. asal ikan gurami.. .....	144
Gambar 22. Konstruksi pohon filogenetik berbasis karakter, <i>Maximum Likelihood</i> , sekuen ITS rDNA isolat <i>Achlya</i> spp. asal ikan gurami di Indonesia .....	145
Gambar 23. Perkembangan gejala saprolegniasis pada ikan gurami uji .....	160
Gambar 24. Perbandingan gejala saprolegniasis ikan gurami uji dengan ikan gurami yang terinfeksi alami .....	164
Gambar 25. Gambaran patologi jaringan tubuh ikan gurami yang diinfeksi isolat <i>Achlya</i> sp. isolat 5 .....	170
Gambar 26. Histopatologi jaringan terinfeksi dan interfensi hifa <i>Achlya</i> sp. isolat 5 pada ikan gurami .....	172
Gambar 27. Pertumbuhan hifa dan degenerasi jaringan epidermis dan dermis pada sirip dorsal.....	176
Gambar 28. Pertumbuhan hifa dan degenerasi jaringan tulang penyusun sirip.	177
Gambar 29. Histopatologi <i>Achlya</i> sp. pada jaringan integumen lainnya (integumen sirip anal). .....	178
Gambar 30. Konfirmasi karakter morfologi jamur air dari miselium yang tumbuh pada ikan gurami dengan perlakuan infeksi .....	188
Gambar 31. Persebaran sel darah putih pada jaringan integumen ikan gurami yang terinfeksi <i>Achlya</i> sp. ....	190
Gambar 32. Sel-sel darah dijumpai pada rongga tulang sirip.yang terinfeksi hifa. ....	191
Gambar 33. Gambaran umum apus darah ikan gurami. ....	193
Gambar 34. Morfologi berbagai jenis sel darah ikan gurami .....	193
Gambar 35. Gel SDS-PAGE sampel jamur dan mukus kulit ikan gurami dengan pewarnaan <i>Coomassie Blue</i> .....	202
Gambar 36. Gambaran hasil analisis berat molekul pita protein gel sampel mukus kulit ikan berdasarkan pita protein marker dengan aplikasi <i>GelAnalyzer</i> .....	203

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Lembar pengamatan uji patogenesisitas .....	251
Lampiran 2. Kuantifikasi protein .....	252
Lampiran 3. Keterangan kelaikan etik .....	253
Lampiran 4. Keterangan uji LC-HRMS .....	254
Lampiran 5. Dokumentasi lokasi pengambilan data dan sampel saprolegniasis ikan gurami .....	257
Lampiran 6. Hasil sekuensing isolat jamur <i>Achlya spp.</i> asal ikan gurami.....	261
Lampiran 7. Hasil consensus sekuen isolat <i>Achlya</i> yang mencakup sedikit wilayah 18S, wilayah utuh ITS1, 5.8S, ITS2, dan sedikit wilayah 28S .....	263
Lampiran 8. Hasil consensus sekuen isolat <i>Achlya</i> yang mencakup primer dan wilayah utuh ITS1, 5.8S, ITS2 .....	266
Lampiran 9. Hasil consensus sekuen isolat <i>Achlya</i> yang mencakup ITS1, 5.8S, ITS2 .....	269
Lampiran 10. Data analisis sekuen isolat <i>Achlya</i> yang dipotong tanpa menyertakan wilayah 18S dan 28S, analisis dengan menggunakan BLASTn .....	271
Lampiran 11. Data analisis sekuen <i>Achlya</i> isolat 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8 dengan sekuen <i>Achlya</i> yang memiliki <i>specific ephthet name</i> dari <i>GenBank</i> . Analisis dengan BLASTn. ....	272
Lampiran 12. Konstruksi pohon filogenetik Neighbor-Joining dengan metode substitusi <i>p-distance</i> dari isolat <i>Achlya</i> sp. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 dengan sekuen <i>Achlya</i> sp. terdekat dan isolat <i>Achlya</i> yang memiliki nama penunjuk spesies dari <i>GenBank</i> . ....	273
Lampiran 13. Pengukuran jarak genetik dengan <i>p.distance</i> pada sekuen isolat <i>Achlya</i> 1,2,3,4,5,6,7, 8 dan sekuen isolat <i>Achlya</i> dengan atau tanpa nama penunjuk spesies dari <i>GenBank</i> dengan jumlah takson pembandingan lebih banyak. ....	274

## DAFTAR SINGKATAN

AMP	<i>Antimicrobial peptide</i>
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
BOLD	<i>Barcoding of Life Data System</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CcO	<i>Cytochrome C oxidase</i>
COX-2	<i>Cyclooxygenase -2</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EUS	<i>Epidermal Ulcerative Syndrome</i>
GALT	<i>Gastrointestinal Associated Lymphoid Tissue</i>
GIALT	<i>Gill Associated Lymphoid Tissue</i>
GAPDH	<i>Glyceraldehyde-3-phosphate (phosphorylating)</i>
GYA	<i>Glucose Yeast-extract Agar</i>
GYB	<i>Glucose Yeast-extract Broth</i>
HE	<i>Hematoxylin- Eosin</i>
IL-	<i>Interleukin-</i>
ITS rDNA	<i>Internal Transcribed Spacer Ribosomal Deoxyribonucleic Acid</i>
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
LC-HRMS	<i>Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry</i>
LSU	<i>Large subunit</i>
MALT	<i>Mucous-Associated Lymphoid Tissue</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MOTUs	<i>Molecular Operational Taxonomic Units</i>
NALT	<i>Nasopharing Associated Lymphoid Tissue</i>
PAS	<i>Periodic Acid-Schiff</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
SALT	<i>Skin Associated Lymphoid Tissue</i>
SDS-PAGE	<i>Sodium Dodesil Sulfat Poliacrilamide</i>
SNX	<i>Sorting nexin</i>

sp.	<i>species</i>
spp.	<i>species plural</i>
SSU	<i>Small subunit</i>
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TNF $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
UDN	<i>Ulcerative Dermal Necrosis</i>
ZIC	<i>Zinc finger of the cerebellum</i>