

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PATOGEN PADA  
INSANG IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) DI JABUNG  
KABUPATEN MALANG BERDASARKAN KARAKTER  
MORFOLOGI DAN MOLEKULER ITS (*Internal Transcribed  
Spacer*)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**FIKRON**  
NIM. 17620011



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PATOGEN PADA  
INSANG KOI (*Cyprinus carpio*) DI JABUNG KABUPATEN  
MALANG BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN  
MOLEKULER ITS (*Internal Transcribed Spacer*)**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
FIKRON  
NIM. 17620011**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PATOGEN PADA  
INSANG KOI (*Cyprinus carpio*) DI JABUNG KABUPATEN  
MALANG BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN  
MOLEKULER ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

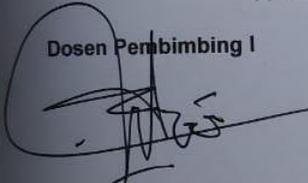
SKRIPSI

Oleh:  
FIKRON  
NIM. 17620011

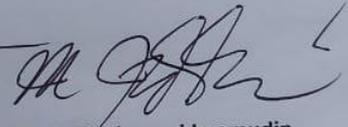
Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

  
Dr. Kiptiyah, M.Si

NIP. 197310052002122003

  
Dr. H. Mochamad Imamudin,  
Lc., M.A.

NIP. 197406022009011010

Tanggal

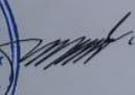
2021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi

UIN Maulana Malik Ibrahim Malang



  
Dr. Evika Sandi Savitri, M.P

NIP. 19741018 200312 2 002

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PATOGEN PADA  
INSANG KOI (*Cyprinus carpio*) DI JABUNG KABUPATEN  
MALANG BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN  
MOLEKULER ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

SKRIPSI

Oleh:  
FIKRON  
NIM. 17620011

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima  
sebagai  
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana  
Sains (S.Si.)

Tanggal: \_\_\_\_\_ 2021

Ketua Penguji	Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si NIP. 19741018 200312 2 002	
Anggota Penguji 1	Priyda Dewi Fitriyari, M.Sc NIP. 19900428 2016080 1 2062	
Anggota Penguji 2	Dr. Kiptiyah, M.Si NIP. 19731005 200212 2 003	
Anggota Penguji 3	Dr. H. Mochamad Imamudin, Lc., M.A. NIP. 19740602 200901 1010	

Mengesahkan,



## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Ayah dan Ibu tercinta, Latipan dan Siti zaenab yang telah merawat, mendidik serta mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Romaidi, M.Sc., D.Sc. (Alm) dan Bayu Agung Prahardika, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
3. Dr. Kiptiyah, M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Dr. H. Mochamad Imamudin, Lc., M.A., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
5. Fitriyah M.Si., selaku dosen yang selalu memberi arahan dan saran pada penelitian ini sehingga dapat menyelesaikan tugas dengan baik.
6. Mahrus Ismail, M.Si. yang sudah memberikan ilmu dan pengalaman dalam mengoperasikan alat-alat dan teknik molekuler sehingga membenatu proses penelitian skripsi berjalan dengan lancar.
7. Teman-teman seperjuangan khususnya Zahrobotul Lil Ilmi S.Si., yang telah meluangkan waktunya untuk membantu proses pengambilan data.
8. Dwi Putri Ayu Wardani S.Si., yang telah memberikan motivasi, arahan dan saran sehingga membantu proses penelitian skripsi dengan baik.
9. Teman-teman Wolves Biologi 2017 dan ABIO 2017 yang selalu memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik.

**MOTTO**

“Sebaik-baik manusia adalah orang yang bermanfaat bagi orang lain”

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fikron  
NIM : 17620011  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi jamur patogen pada insang Koi (*Cyprinus carpio*) di jabung kabupaten malang berdasarkan karakter morfologi dan molekuler ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, dan/atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan dan/atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 19 November 2021  
yang bertanda tangan,



Fikron  
NIM. 17620011

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PATOGEN PADA INSANG KOI (*Cyprinus carpio*) DI JABUNG KABUPATEN MALANG BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN MOLEKULER ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

Fikron, Kiptiyah, M Imamudin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas  
Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

## ABSTRAK

Budidaya perikanan di Indonesia saat ini telah mengalami perkembangan yang pesat salah satunya budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*). Kawasan Jabung merupakan salah satu sentra budidaya ikan koi terbesar di Kabupaten Malang. Namun, di sisi lain budidaya ikan koi juga sering mengalami kerugian akibat jamur patogen yang menginfeksi sehingga menimbulkan penyakit mematikan bagi ikan koi. Salah satu penyakit yang menyerang ikan koi adalah jamur insang dimana jamur patogen menginfeksi organ insang dan perlahan menimbulkan kematian. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi jamur patogen yang menginfeksi organ insang pada ikan koi serta melakukan identifikasi berdasarkan karakter morfologi dan molekuler berdasarkan gen ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Sampel ikan yang terinfeksi disiapkan untuk isolasi jamur. Hasil isolat jamur kemudian diujikan pada ikan koi sehat untuk mengetahui tingkat infeksius tertinggi. Identifikasi jamur pada tingkat genus dilakukan pertama secara morfologi dengan mengamati karakter makroskopis dan mikroskopis dari isolat. Identifikasi tingkat spesies dilakukan secara molekuler menggunakan primer universal ITS1 dan ITS4. Hasil isolasi didapatkan 5 sampel isolat jamur patogen dan diberi kode JI1, JI2, JI3, JI4, dan JI5. Uji infeksius pada ikan koi menunjukkan bahwa sampel isolat JI4 adalah isolat jamur patogen dengan infeksius tertinggi. Identifikasi secara morfologi menunjukkan bahwa isolat JI4 adalah genus *Annulohyphoxylon*. Hal tersebut dikonfirmasi secara molekuler berdasarkan gen ITS dan diketahui bahwa isolat JI4 adalah *Annulohyphoxylon* sp.

Kata Kunci: *koi (Cyprinus carpio)*, *jamur patogen*, *karakter morfologi*, *ITS*

# ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PATHOGENIC FUNGI FROM KOI FISH GILL (*Cyprinus carpio*) IN JABUNG MALANG REGENCY BASED ON MORPHOLOGY AND MOLECULAR CHARACTERS ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

Fikron, Kiptiyah, M Imamudin

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

## ABSTRACT

Indonesian aquaculture has experienced rapid development and one of which is the koi fish farming (*Cyprinus carpio*). Jabung is the one of the largest area of koi fish farming in Malang Regency. Although, on the other hand koi fish farming also losses due to pathogenic fungi that infecting and causing a dangerous disease for koi fish. One of the diseases that attacked koi fish is gill fungus. This is the pathogenic fungi infected the gill organs and causing death slowly. The purposes of this study are to isolating pathogenic fungi infected gill organs in koi fish and to identifying based on morphology and molecular characters based on ITS (*Internal Transcribed Spacer*) gene. Samples of infected fish were prepared for fungal isolation. The results of the fungal isolation were tested on healthy koi fish to determine the highest infectious level. The identification of fungi at the genus level was first carried out morphologically by observing the macroscopic and microscopic characters of the isolates. Species level identification was carried out molecularly using universal primers ITS1 and ITS4.

The isolation results were obtained 5 samples of pathogenic fungal isolates and were coded JI1, JI2, JI3, JI4, and JI5. Infectious test on koi fish showed that JI4 isolate sample was the highest infectious fungal pathogen isolate. Morphological identification showed that isolate JI4 was the genus *Annulohyphoxylon*. This result was confirmed molecularly based on the ITS gene and it known that JI4 isolate was *Annulohyphoxylon* sp.

Keyword: *koi (Cyprinus carpio)*, *pathogenic fungi*, *morphological character*, *ITS*

عزل وتحديد الفطريات المسببة للأمراض على خياشيم الأسماك كوي (*Cyprinus carpio*) في جابونج ، منطقة مالانج استنادًا إلى خصائصها الصخرية والجزينية ITS  
(Internal Transcribed Spacer)

فكران، كبتية، محمد إمام الدين  
قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية

مالانج

مستخلص البحث

في وقت الحالي ، شهد استزراع مصايد الأسماك في إندونيسيا تطورًا سريعًا، أحدها هو استزراع أسماك الكوي (*Cyprinus carpio*). تعد منطقة جابونج من إحدى أكبر مراكز زراعة أسماك الكوي في منطقة مالانج. ومن ناحية أخرى، قد تؤدي غالبًا استزراع أسماك الكوي الخسائر بسبب الفطريات المسببة للأمراض التي تصيب، وتسبب ذلك أمراضًا مميتة لأسماك الكوي. إحدى الأمراض التي تهاجم أسماك الكوي هي فطره الخيشومية حيث تصيب الفطريات المسببة للأمراض أعضاء الخياشيم وتسبب الموت ببطء. أما أهداف هذه الدراسة هي عزل الفطريات المسببة للأمراض التي تصيب أعضاء الخياشيم في أسماك الكوي وتعرف على أساس الصفات المورفولوجية والجزينية بناءً على جين ITS (*Internal Transcribed Spacer*). تعد عينات من الأسماك المصابة لعزل الفطريات. وبعد ذلك، اختبر نتائج العزلات الفطرية على أسماك كوي الصحية لتحديد أعلى مستوى للعدوى. تم التعرف على الفطريات على مستوى الجنس لأول مرة من ناحية الشكلية من خلال ملاحظة الصفات الميكروسكوبية والميكروسكوبية للعزلات. تم تحديد مستوى الأنواع جزيئيًا باستخدام الأشعال العالمي ITS1 و ITS4. أما العزلات المحصولة هي على ٥ عينات من العزلات الفطرية الممرضة وتميزها J11 و J12 و J13 و J14 و J15. يدل الاختبار المعدي على أسماك الكوي أن عينة عزلة J14 كانت أعلى عزلة مسببة للأمراض الفطرية المعدية. و يدل التحديد المورفولوجي أن عزلة J14 كانت من جنس *Annulohyphoxylon*. وتأكيد ذلك جزيئيًا، بناءً على جين ITS و تعريف أن عزل *Annulohyphoxylon* sp. هو J14

مفاتيح الكلمة : *Cyprinus carpio* ، الفطريات المسببة للأمراض ، الطابع المورفولوجي ITS، (*Internal Transcribed Spacer*)

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan anugerah serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik sebagai salah satu persyaratan kelulusan di Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan kepada semua pihak dalam penyusunan skripsi ini. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri M.P., selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Kiptiyah, M.Si., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Dr. H. Mochamad Imamudin, Lc., M.A., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
6. Romaidi, M.Sc., D.Sc. (Alm) dan Bayu Agung Prahardika, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
7. Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
8. Latipan dan Siti Zaenab selaku orang tua yang selalu memberikan dukungan baik berupa doa dan materi.
9. Teman-teman Wolves Biologi 2017 yang selalu memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan. Penulis berharap kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Malang, 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

SKRIPSI.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT .....	ix
مستخلص البحث.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	11
1.3 Tujuan.....	11
1.4 Manfaat Penelitian.....	12
1.5 Batasan Masalah.....	12
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	10
2.1 Budidaya Perikanan .....	10
2.2 Ikan Koi (Cyprinus carpio) .....	13
2.3 Jamur.....	15
2.3.1 Jamur Patogen .....	18

2.3.2 Faktor yang mempengaruhi kualitas air dan pertumbuhan jamur .....	19
2.4 Identifikasi Isolat Jamur .....	21
2.4.1 Identifikasi Morfologi.....	21
2.4.2 Identifikasi Molekuler .....	23
2.5 Gen ITS (Internal Transcribed Spacer) .....	29
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	25
3.2 Waktu dan Tempat .....	25
3.3 Alat dan Bahan .....	26
3.3.1 Alat Penelitian.....	26
3.3.2 Bahan Penelitian .....	26
3.4 Prosedur Penelitian .....	27
3.4.1 Pemilihan Sampel Ikan.....	27
3.4.2 Isolasi Jamur Pada Insang Ikan .....	28
3.4.3 Identifikasi Morfologi Jamur.....	28
3.4.4 Sampel Ikan Uji Infeksius .....	30
3.4.5 Identifikasi Molekuler .....	31
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
4.1 Isolat Jamur .....	33
4.2 Karakteristik Isolat Jamur Insang Ikan Koi secara Makroskopis dan Mikroskopis .....	38
4.2.1 Isolat JI1 .....	38
4.2.2 Isolat JI2 .....	41
4.2.3 Isolat JI3 .....	44
4.2.4 Isolat JI4 .....	47
4.2.5 Isolat JI5 .....	50
4.3 Seleksi isolat jamur infeksius tertinggi.....	53

4.4 Hasil Identifikasi Molekuler Isolat .....	59
BAB V PENUTUP .....	59
5.1 Kesimpulan .....	59
5.2 Saran .....	59
DAFTAR PUSTAKA .....	60
LAMPIRAN .....	67

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Ikan Koi ( <i>Cyprinus carpio</i> ) .....	15
Gambar 4.1 Penampakan isolat jamur hasil pemurnian	33
Gambar 4.2 Isolat 1.....	40
Gambar 4.3 Isolat 2.....	43
Gambar 4.4 Isolat 3.....	46
Gambar 4.5 Isolat 4.....	49
Gambar 4.6 Isolat 5.....	52
Gambar 4.7 Rekonstruksi pohon filogenetik isolat J14	67

## DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI1 .....	39
Tabel 4. 2 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI2 .....	41
Tabel 4. 3 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI3 .....	45
Tabel 4. 4 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI4 .....	48
Tabel 4. 5 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI5 .....	51
Tabel 4. 6 Sampel ikan Koi yang telah terinfeksi (Hasil Uji).....	54
Tabel 4. 7 Hasil Uji Kuantitatif Kemurnian DNA .....	63
Tabel 4. 8 Hasil Analisis Penyejajaran BLAST.....	64

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. 1. Hasil Pemurnian Isolat Jamur .....	67
Lampiran 1. 2 Uji infeksius patogen oleh isolat jamur .....	69
Lampiran 1. 3. Karakterisasi morfologi isolat .....	71
Lampiran 1. 4 Hasil sequensing .....	73
Lampiran 1. 5 Hasil grafik BLAST .....	75
Lampiran 1. 6 Hasil penyejajaran dengan metode ClustalW multiple alingment.....	76

# **BAB I PENDAHULUAN**

## **1.1 Latar Belakang**

Negara Indonesia adalah kawasan dengan sumber daya alamnya yang melimpah. Indonesia memiliki kondisi perairan dan lahan yang cocok untuk pertanian, perkebunan dan perikanan. Perikanan di Indonesia pada saat ini tidak mengandalkan hasil laut saja, akan tetapi orang-orang sudah mulai membudidayakan ikan jenis air tawar seperti budidaya ikan hias (Rifqiyati, 2017). Budidaya perikanan dapat dijadikan sebagai salah satu cara membangun perikanan yang ada di Indonesia agar lebih berkembang, dalam setahun produksi budidaya ikan sendiri secara keseluruhan dapat diproyeksikan meningkat dengan rata-rata 4,9% (Mulyani, 2013).

Budidaya ikan hias dapat menghasilkan untung yang besar, dalam laporan kinerja direktorat budidaya perikanan menjelaskan bahwa capaian produksi perikanan budidaya Indonesia tahun 2019 mencapai 60,47% dan terjadi peningkatan kenaikan sebesar 5,58%. Dalam budidaya perikanan kondisi air sangat mempengaruhi munculnya mikroorganisme penyebab penyakit pada ikan (Indrawati, 2016). Semua upaya pengolahan

budidaya akan menjadi sia-sia tanpa adanya prosedur yang tepat dikarenakan akan menciptakan limbah yang berlebih dan merusak lingkungan yang seharusnya dibutuhkan oleh ikan, perubahan ekosistem atau prosedur yang salah akan mengakibatkan kematian massal pada ikan dan berujung pada kerugian (Indrawati, 2016). Alasan utama terjadinya kegagalan pada budidaya adalah serangan penyakit yang disebabkan oleh faktor eksternal dan akibat adanya senyawa pencemar yang memiliki sifat toksik seperti Nitrit,  $H_2S$ ,  $NH_3$  dan lainnya (Andayani, 2012).

Produksi budidaya perikanan saat ini sebagian besar diperoleh dari teknologi semi intensif dan intensif menggunakan padat penebaran yang tinggi pada suatu lahan, akan tetapi sistem tersebut memiliki kendala dalam keberlangsungannya, diantaranya adalah masalah pakan dan kualitas air. Beberapa faktor yang dapat merusak kualitas air kolam atau tambak adalah sisa-sisa pakan yang mengendap pada dasar kolam yang menyebabkan tumbuhnya jamur patogen yang dapat merusak kualitas air sehingga menimbulkan penyakit pada ikan. Salah satu cara untuk menangani permasalahan tersebut yakni melakukan pengecekan rutin kualitas air dan sering membersihkannya,

dengan penanganan yang tepat dapat mengatasi permasalahan yang terjadi pada budidaya ikan (Suwarsito, 2011).

Jenis ikan hias yang memiliki banyak peminat salah satunya adalah ikan Koi. Ikan Koi yang memiliki nama latin *Cyprinus carpio* tergolong ikan hias yang berada diperairan tawar dan memiliki daya jual yang relatif stabil. Ikan Koi memiliki peminat yang tinggi dikarenakan ikan ini memiliki banyak warna pada tubuhnya serta sifatnya yang jinak sehingga memiliki nilai lebih bagi pembudidaya. Koi memang memiliki warna yang bagus akan tetapi mudah terserang penyakit yang disebabkan oleh jamur patogen, jamur tersebut dapat menyebabkan kematian pada ikan Koi bahkan bisa menimbulkan kematian masal ikan dan kerugian besar bagi pembudidaya ikan Koi. Serangan penyakit adalah masalah utama dalam usaha pengembangan ikan Koi yang dapat menimbulkan kerugian besar, menurut data statistik kelautan dan perikanan membuktikan terjadinya penurunan produksi ikan Koi sejumlah 5.707.820 ekor (Suwarsito, 2011).

Sentra budidaya ikan Koi berada di berbagai lokasi di Jawa Timur, salah satu sentra budidaya ikan Koi yang terletak di Malang berada di Desa Tebelo Sidomulyo kecamatan Jabung.

Tempat ini menampung segala jenis ikan Koi dengan berbagai ukuran. Data dari tempat itu menyebutkan bahwa budidaya tersebut memiliki total 7 kolam yang setiap kolam memiliki ukuran 7x10 cm dengan kapasitas yang mampu menampung 250 ekor ikan Koi setiap kolam. Kegiatan budidaya ditempat ini dimulai sejak tahun 1999 sampai sekarang dengan selalu memperhatikan kualitas ikan agar terhindar dari serangan penyakit.

Jamur patogen merupakan salah satu agen yang menyebabkan penyakit dan membawa kerugian pada budidaya (Iqbal, 2013). Jamur patogen menginfeksi inangnya saat inang dalam kondisi stress dan pertahanan tubuh berkurang sehingga rentan terinfeksi (Suprpto, 2013). Infeksi jamur patogen disebut dengan *mycosis* yang mana hal tersebut merupakan peristiwa umum yang terjadi pada ikan budidaya salah satunya seperti ikan Koi (Verma, 2008). Jenis jamur patogen yang biasa menginfeksi ikan Koi seperti: *Aspergillus Michelim*, *Annulohyphoxylon sp*, *Achlya bisexualis*, *Saprolegnia spp.*, *Aphanomyces spp.* and *Branchiomyces sp* (Siddique et al., 2009; Vijayan and Rao, 2009). Jamur patogen yang menginfeksi ikan Koi akan menyerang organ ikan Koi. Organ ikan Koi yang terinfeksi jamur patogen salah

satunya pada insang. Insang yang terinfeksi akan menunjukkan luka membusuk dimana pada luka tersebut terdapat benang halus menyerupai kapas sehingga menyebabkan penyakit insang busuk dan kemudian kematian pada ikan Koi (Kusdarwati *et al.*, 2016).

Penyakit insang busuk merupakan penyakit yang disebabkan oleh jamur patogen yang menyerang pada bagian insang, salah satu contohnya adalah jamur *Annulohyphoxylon* sp. merupakan anggota family Hypoxylaceae. Bagian kulit dan insang merupakan bagian yang paling sering terinfeksi. Bagian insang yang terinfeksi akan terlihat seperti kapas berwarna putih tumbuh yang ukurannya kecil dan kemudian akan menyebar luas pada organ insang. Bagian berwarna putih kapas tersebut lama-kelamaan akan berubah warna menjadi merah, coklat atau hijau disertai dengan luka membusuk pada insang (Verma, 2008). Munculnya bibit parasit ini bisa dikarenakan ikan yang sedang mengalami stress dan turunnya sistem imun. Adanya suatu hubungan yang tidak seimbang antara lingkungan dan ikan yang dapat menyebabkan tumbuhnya parasit seperti jamur dan akan mempengaruhi dan menyebabkan kondisi ikan menjadi tidak stabil (Suwarsito, 2011). Untuk mencegah terjadinya infeksi insang ikan

Koi dalam skala yang lebih besar, maka dibutuhkan isolasi dan identifikasi guna mengetahui jenis jamur patogen yang menginfeksi terutama jamur dengan tingkat infeksius yang tinggi.

Pada penelitian ini identifikasi jamur dilakukan secara morfologi dan molekuler. Identifikasi morfologi dapat menggambarkan karakter isolat baik secara makroskopis maupun mikroskopis, dari identifikasi morfologi ini dapat diketahui jenis isolat sampai tingkat genus. Kekurangan dari identifikasi morfologi adalah adanya kesamaan beberapa karakter pada jenis jamur yang sebenarnya berbeda secara genetik, hal inilah yang menjadikan identifikasi morfologi menjadi tidak spesifik (Deacon, 2006). Berdasarkan kekurangan identifikasi morfologi, maka diperlukan tahap identifikasi berbasis molekuler. Identifikasi secara molekuler dapat digunakan untuk mengetahui jenis isolat sampai pada tingkat spesies dengan menggunakan teknologi sekuens DNA, hasil yang didapatkan akan menjadi lebih spesifik karena spesies dapat diketahui dengan membandingkan bagian kode genetik yang bersifat stabil (Fatchiyah, 2011).

Terdapat berbagai jenis sekuens DNA barcode yang dapat digunakan dalam identifikasi jamur, salah satunya ITS (*Internal*

*Trancribed Spacer*). ITS (*Internal Trancribed Spacer*) merupakan sekuens DNA barcode universal dan bersifat konservatif serta berukuran pendek sehingga mudah untuk diamplifikasi (Umesha *et al.*, 2016). Berdasarkan studi terbaru oleh *funggal laboratory consortium*, ITS (*Internal Trancribed Spacer*) telah dipilih sebagai DNA barcode untuk jamur dikarenakan semua sekuens ITS jamur disimpan di *Gen Bank*. ITS telah digunakan dalam kombinasi dengan subunit besar atau *large sub unit* (LSU) dari RNA ribosom dalam studi lingkungan. Selain itu, ITS juga digunakan untuk mengukur jarak genetik antara kelompok jamur yang berbeda (Mahmoud *et al.*, 2015).

Tentunya manusia sendiri tidak lepas tangan dalam menjaga ekosistem buatan kolam agar tetap seimbang, perawatan yang dilakukan oleh manusia akan berdampak baik pula kepada pertumbuhan ikan dan kualitas budidaya. Sebagai makhluk ciptaan Allah SWT, sudah seharusnya manusia juga memperlakukan hewan budidaya dengan baik karena pada dasarnya manusia dan hewan sama-sama makhluk ciptaan Allah SWT. Pada ayat ke- 38 Surah Al-an'am yang berbunyi :

وَمَا مِنْ دَابَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا طَيْرٍ يَطِيرُ بِجَنَاحَيْهِ إِلَّا أُمَّمٌ أَمْثَلُكُمْ مِمَّا فَرَّطْنَا فِي الْكُتُبِ مِنْ شَيْءٍ  
ثُمَّ إِلَىٰ رَبِّهِمْ يُحْشَرُونَ ٣٨

*Artinya: “dan tidak ada seekor pun binatang yang ada di bumi dan burung-burung yang terbang dengan kedua sayapnya, melainkan semuanya merupakan umat (juga) seperti kamu. Tidak ada sesuatu pun yang kami luputkan didalam kitab, kemudian kepada tuhan mereka dikumpulkan” (Q.S Al-An’am ayat 38).*

Manusia diciptakan ke dunia ini agar menjadi Kholifah di bumi, segala sesuatu telah Allah SWT sediakan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Menurut tafsir *Al-Mukhtasar* menjelaskan bahwa tanda-tanda kuasa Allah SWT di alam semesta ini tidak terhitung banyaknya, segala sesuatu Allah SWT ciptakan pasti memiliki maksud dan tujuan tertentu, bahkan hewan yang memiliki banyak jenis rupa adalah ciptaan Allah SWT yang sama seperti manusia. Setiap makhluk yang hidup di dunia ini dipastikan mendapatkan kasih sayang dari Allah SWT dan juga dirawat sedemikian rupa, “ semuanya telah kami tetapkan dan semuanya diketahui oleh Allah SWT”. Maka dari itu sudah seharusnya manusia sebagai kholifah di bumi wajib merawat ekosistem agar tetap dalam kondisi yang seimbang, manusia boleh memanfaatkan hewan dengan syarat memperlakukakannya dengan layak sebagai ciptaan Allah SWT dan melestarikannya agar tidak punah. Sama halnya dengan menjaga ekosistem buatan kolam agar ikan-

ikan budidaya tetap menjadi sehat dan dapat bertahan hidup (Ath-Thabari, 2009).

Allah berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah:26 yang berbunyi:

﴿إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعْضُهَا فَمَا فَوْقَهَا﴾

*Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu.” (QS. Al-Baqarah ayat 26)*

Pada lafadz “*famaa fauqohaa*” artinya (yang lebih rendah dari itu) menjelaskan maksud dari sesuatu yang lebih kecil dari nyamuk, dalam hal ini yang dimaksud nyamuk merupakan hewan yang berukuran kecil. Allah SWT mampu menciptakan dan mengatur bentuk ukuran berbagai spesies di muka bumi ini. Tentunya Allah juga menciptakan makhluk berukuran kecil bahkan lebih kecil dari nyamuk, tujuan diciptakan makhluk tersebut agar manusia terus belajar dan mencari tau akan ilmu dan kekuasaan milik Allah SWT. Menurut penafsiran Ibnu Katsir menjelaskan pada kata yang berbunyi “yang lebih rendah dari itu” bahwasanya Allah SWT mampu melakukan berbagai penciptaan yang beranekaragam jenis dan ukuran (Al-Mubarak, 2006). Dalam tafsir *Ath-Thabari* menjelaskan dalam riwayat bahwasanya Allah SWT menyebutkan sebagai kiasan atau perumpamaan yang paling

kecil, dimana Allah SWT memberitahukan bahwa tidak ada kesegaran dalam hal membuat perumpamaan paling kecil dan hina dalam kebenaran, sebagai jawaban bagi orang yang munafik. Hal tersebut adalah penjelasan bahwa makhluk yang berukuran kecil dapat memberikan kemudorotan bagi orang munafik yang mengingkari Allah SWT, yaitu bagi orang yang hanya mencari kenikmatan dunia tanpa menjaganya (Ath-Thabari, 2009).

Allah SWT yang memiliki sifat pengasih lagi penyayang tentunya tidak menjadikan sesuatu apapun dengan sia-sia, setiap apa yang diciptakan oleh Allah pasti memiliki maksud tertentu. Orang-orang beriman percaya bahwasanya Allah SWT menciptakan semua hal pasti memiliki tujuan tertentu bagi kehidupan manusia yang dapat dirasakan manfaatnya (Al-Mubarak, 2006). Ukuran dari jamur patogen memang relatif kecil, akan tetapi dengan ukuran yang relatif kecil ini bisa menjadi ancaman bagi kesehatan dan dapat menimbulkan kerugian. Dari jamur patogen tersebut menjadi bukti bahwa Allah SWT memberikan pelajaran bagi manusia agar mau terus belajar tentang alam agar manusia terhindar dari hal yang merugikan dan senantiasa mengingat kepada Allah SWT. Tentunya budidaya ikan

Koi juga tidak terlepas dari ancaman penyakit dari jamur pada ikan, ikan Koi sendiri adalah ikan hias yang memiliki keunikan yang tidak dimiliki oleh ikan lain dan juga jumlah peminat yang tinggi sehingga berdasarkan penjabaran latar belakang tersebut perlu dilaksanakannya sebuah penelitian isolasi dan identifikasi jenis jamur patogen yang ditemukan pada insang ikan budidaya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik jamur patogen yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi pada insang ikan Koi (*Cyprinus carpio*) budidaya di Jabung Kabupaten Malang?
2. Apa jenis jamur patogen dengan infeksius tinggi pada ikan Koi (*Cyprinus carpio*) budidaya kawasan Jabung Kabupaten Malang?

## 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui karakteristik jamur patogen yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi pada insang ikan Koi (*Cyprinus carpio*) budidaya di Jabung Kabupaten Malang.

2. Untuk mengetahui jenis jamur patogen dengan infeksius tinggi pada ikan Koi (*Cyprinus carpio*) budidaya kawasan Jabung Kabupaten Malang.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat menambah wawasan tentang jenis dan sifat jamur patogen yang menginfeksi ikan Koi yang dibudidayakan.
2. Penelitian yang telah dilakukan diharapkan mampu diterapkan untuk penanggulangan dan pencegahan infeksi penyakit dalam bidang budidaya ikan Koi.
3. Melengkapi informasi ilmiah petani ikan Koi di Jabung Kabupaten Malang tentang adanya korelasi kualitas air dan pertumbuhan jamur patogen.

#### **1.5 Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Sampel ikan koi diambil dari tempat budidaya ikan hias koi Jabung Kabupaten Malang.

2. Sampel ikan yang diambil adalah ikan yang terindikasi terinfeksi jamur patogen pada bagian insang dengan ciri-ciri tubuh ikan yang lemas, berenang menyendiri di permukaan air, tidak nafsu makan dan terdapat bercak putih pada bagian organ insang.
3. Isolat jamur yang didapatkan diambil dari organ ikan Koi yaitu pada organ insang.
4. Identifikasi molekuler dilakukan pada isolat jamur yang memiliki tingkat infeksius tertinggi.
5. Pasangan primer yang digunakan dalam identifikasi molekuler adalah ITS1 dan ITS4.
6. Identifikasi isolat jamur secara makroskopis berdasarkan bentuk koloni, diameter koloni, warna dan tekstur sedangkan identifikasi mikroskopis didasarkan pada buku pedoman identifikasi *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species 2th Edition (2002)*, *Description of Medical Fungi* dan *Identification of pathogenic fungi* serta rujukan jurnal penelitian terdahulu.
7. Parameter data penelitian ini adalah hasil identifikasi isolat jamur patogen ikan Koi.



## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Budidaya Perikanan**

Ada beberapa jenis budidaya perikanan yang ada di Indonesia, mulai dari budidaya ikan konsumsi sampai budidaya ikan hias. Budidaya perikanan sendiri adalah kegiatan pemeliharaan dengan tujuan untuk menjaga, melestarikan dan juga menumbuhkan serta meningkatkan kualitas biota akuatik di dalam suatu lingkungan buatan agar mendapatkan hasil yang maksimal dan mutu terjamin (Rizqiyah, 2015). Kualitas budidaya perikanan dapat dikendalikan dengan cara memperhatikan teknis budidaya, tata guna lahan dan dinamika hidrologi perairan disekitarnya, akan tetapi perkembangan budidaya perikanan saat ini masih banyak yang belum menerapkan sistem keamanan yang sesuai. Penyakit adalah kunci yang mempengaruhi hasil kualitas perikanan, salah satu penyebab munculnya bibit penyakit pada ikan adalah mikroorganisme yang merugikan (Mulyani, 2013). Kondisi air yang bersih dan sehat akan menjadi lingkungan yang ideal bagi ikan, begitupun dengan kondisi air pada kolam budidaya. Kondisi air kolam yang bersih dan sehat akan menjadikan ikan merasa nyaman dan menjadi sehat serta dapat tumbuh

berkembang dengan baik, akan tetapi masalah yang sering terjadi pada budidaya ikan adalah menumpuknya sisa pakan dan amoniak akibat terlalu banyaknya ikan yang ada pada suatu kolam (Mulyani, 2013).

Polusi air adalah kontaminasi yang terjadi karena penyebab bahan-bahan sisa pangan yang tidak habis, kualitas dan fungsi alami dari ekosistem. Polutan yang dapat menyebabkan polusi air sangat bermacam, ada yang dapat diuraikan menjadi senyawa yang sederhana dan ada juga yang tidak bisa. Walaupun polutan dapat didegradasi dalam jumlah yang banyak akan tetapi tidak ada penanganan khusus akan menjadi racun dalam kolam. Hal ini seperti sisa pakan ikan yang tidak dibuang lama kelamaan akan menjadi racun bagi ikan dan akan merusak kualitas air dan ditambah adanya amoniak akan memperkeruh kondisi air pada kolam (Dwi, 2018). Pencemaran air kolam pada umumnya dapat ditanggulangi dengan cara menggunakan metode pencegahan pencemaran air yang memperhatikan tentang jenis atau karakteristik air yang tercemar. Pemilihan metode yang benar diharapkan bisa merubah kualitas efluen standart sehingga dapat memenuhi standar kualitas badan air penerima (*stream-standard*) yang dapat digunakan secara optimal untuk melindungi serta

memberikan toleransi bagi kualitas air dalam kolam. Pada dasarnya pengendalian cemaran air dapat dilakukan dengan bioremediasi yang memanfaatkan peran biologis dengan memanfaatkan bakteri untuk melakukan proses perbaikan kualitas air (Priadie, 2012).

Kegiatan budidaya perikanan tidak akan lepas dengan sistem pengelolaan. Sistem pengelolaan merupakan salah satu manajemen pemeliharaan biota perikanan dengan tujuan menjadikan ekosistem buatan tambak menjadi sehat. Sistem budidaya yang berbeda, akan menunjukkan adanya interaksi yang berbeda pula dengan lingkungan. Kadar sisa pakan yang tidak terurai dalam jumlah yang tinggi pada sistem tambak, maka akan menghasilkan endapan pada dasar kolam yang tinggi pula dan menyebabkan kondisi air menjadi tidak stabil. Setiap metode yang dipakai tidak hanya dijadikan sebagai wadah yang hanya bisa menahan air dan menampung sisa metabolisme yang dihasilkan oleh ikan, namun juga mampu menyediakan berbagai unsur hara yang diperlukan ikan untuk bertahan hidup. Tanah memiliki kemampuan menyediakan berbagai jenis unsur hara yang dibutuhkan dalam pertumbuhan sebagai makanan alami yang dipengaruhi oleh kesuburan tambak (Hastuti, 2011).

## 2.2 Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Ikan Koi termasuk kedalam keluarga Cyprinidae, Koi merupakan varietas hias dari ikan peliharaan yang memiliki banyak peminat dikarenakan motif tubuhnya yang unik dan ikan ini memiliki harga yang ekonomis. Dalam buku karangan Papiilon (2017) menyebutkan tentang klasifikasi ikan Koi yaitu:

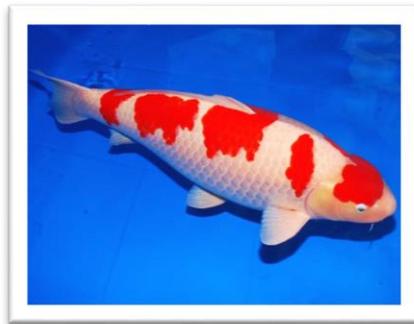
Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Oisteichthyes
Order	: Cyrpyniformes
Family	: Cyprinidae
Genus	: <i>Cyprinus</i>
Species	: <i>Cyprinus carpio</i>

Ikan Koi memiliki bentuk tubuh unik yang menyerupai torpedo dan bergerak menggunakan sirip, sirip pada ikan Koi sama seperti ikan pada umumnya yaitu terdapat sepasang sirip bagian perut, sebuah sirip bagian atas atau punggung, sepasang sirip bagian bawah atau dada dan juga sirip pada bagian anus. Bagian sirip pada tubuh ikan seperti jari- jari keras, lunak dan juga terdapat selaput ditambah bagian depan ikan Koi dibawah mulut terdapat

kumis seperti lele yang berfungsi sebagai indra penciuman (Susanto, 2001). Ikan Koi memiliki morfologi yang tidak berbeda jauh dengan jenis ikan yang lain, pada permukaan kulit ikan ini dilapisi dengan dua jenis kulit, yaitu dermis (bagian dalam) dan epidermis (bagian luar). Epidermis berfungsi sebagai pelindung kulit dari ancaman luar seperti kotoran ataupun parasit, sedangkan dibagian dermis mengandung pigmen yang penuh akan warna (Haikal, 2008). Menurut Bachtiar (2002) menambahkan bahwa mata ikan Koi berwarna merah, hitam dan keputihan. Bentuk mulut ikan Koi relatif kecil, ikan ini menghancurkan makanannya menggunakan gigi yang berada dalam kerongkongannya. Koi memiliki bentuk hidung dengan lekukan yang tidak berhubungan langsung dengan organ pernapasan, alat pernapasan Koi menggunakan insang yang terletak dibagian kepala.

Ikan Koi merupakan ikan yang hidup di air tawar dengan kemampuan beradaptasi di lingkungan yang baru dengan baik, ikan ini dapat beradaptasi dengan berbagai kondisi tempat akan tetapi jika terjadi perubahan lingkungan yang drastis akan menyebabkan ikan Koi mengalami stres. Ikan Koi hidup di air tawar dan bisa hidup pada temperatur 8°-30°C, oleh karena itu tidak heran jika ikan ini dapat dijumpai diberbagai wilayah indonesia

mulai dari pegunungan sampai pantai. Ikan Koi tergolong jenis omnivora atau pemakan segala baik berupa tanaman atau hewan. Ikan ini memiliki kemampuan untuk mengenali pakannya dan mampu mencarinya hingga bagian dasar kolam, hal itu dikarenakan ikan ini memiliki organ penciuman yang bagus berupa dua pasang barbel yang berada di bagian depan samping mulut (Papilon, 2017).



Gambar 2. 1 Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) (Papilon, 2017)

### **2.3 Jamur**

Jamur merupakan makhluk eukariota yang termasuk kedalam kelompok cendawan yang memiliki ukuran relatif kecil, didalam dinding sel jamur tersusun atas kitin dan tidak memiliki kandungan klorofil. Jamur hidup secara heterotrof dengan menyerap nutrisi dari bahan organik atau inang yang dihinggapi.

Bahan organik yang terdapat disekitar dapat diubah menjadi molekul sederhana lalu akan diserap menggunakan hifa, hifa yang berkumpul akan menjadi satu dan disebut dengan miselium. Jamur adalah mikroorganisme heterofilik yang memerlukan senyawa organik demi memenuhi kebutuhannya, jamur ini dapat menyerap nutrien melalui dinding sel dan mengeskresikan enzim ekstraseluler ke inangnya. Dalam proses reproduksinya, jamur menghasilkan spora atau konidia dan melakukan reproduksi secara seksual maupun aseksual. Cara hidup jamur dengan cara besrsimbiosis baik secara saprofit maupun parasit (Post, 1987). Jamur bersifat aerobik atau memerlukan oksigen untuk hidupnya, pada bagian tubuh vegetatif jamur terdapat thalus yang tersusun dari filamen yang pada dasarnya terdiri atas dua bagian yaitu miselium dan spora. Miselium sendiri adalah kumpulan beberapa filamen yang disebut dengan hifa dan berkumpul menjadi satu. Hifa merupakan salah satu bagian yang terpenting, hifa ini dapat menyerap nutrisi yang didapatkan dari inangnya serta membentuk struktur untuk reproduksi. Hifa adalah bagian dari struktur fungus yang menyerupai untaian benang panjang yang terbentuk dari pertumbuhan spora dan konidia, hifa dewasa memiliki tambahan bahan pada dinding selnya, yaitu melamin dan lipid serta memiliki

ukuran tebal berkisar 100-150  $\mu\text{m}$  (Sigler, 1983). Jamur dapat berkembang biak secara vegetatif (aseksual) dan generatif (seksual), perkembangbiakan aseksual dapat dilakukan dengan fragmentasi miselium (thallus) dan pembentukan spora aseksual. Ada beberapa klasifikasi jamur, yaitu *Acrasiomycetes* (Jamur lendir seluler), *Myxomycetes* (Jamur lendir sejati), *Phycomycetes* (Jamur tingkat rendah), dan *Eumycetes* (Jamur tingkat tinggi). *Eumycetes* terdiri dari 3 klasifikasi yaitu *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* dan *Deuteromycetes* (Pamungkas, 2010).

Jamur memiliki kurva pertumbuhan, kurva tersebut dapat diperoleh dengan cara menghitung masa pada media. Suatu kurva pertumbuhan dapat memberikan informasi mengenai faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi suatu jamur, seperti suhu optimum dan nutrisi minimum yang dibutuhkan. Kurva pertumbuhan jamur memiliki beberapa fase, yaitu fase lag, akselerasi, eksponensial, deselerasi, stasioner dan yang terakhir adalah fase kematian. Fase lag merupakan fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan dan membentuk beberapa enzim untuk mengurai media, fase akselerasi adalah mulainya sel-sel aktif untuk membelah. Fase eksponensial adalah fase memperbanyak sel dan aktivitas sel yang meningkat, setelah fase eksponensial

selanjutnya adalah fase deselerasi. Fase deselerasi adalah saat dimana sel mulai mengalami penurunan aktivitas dan pembelahan semakin berkurang yang menyebabkan fase stasioner, yaitu jumlah sel yang bertambah dan berkurang tidak seimbang. Pada tahap yang terakhir yaitu fase kematian akan terjadi banyak kematian sel yang terjadi yang menyebabkan jamur tersebut tidak dapat tumbuh lagi (Gandjar *et al.*, 2006).

### **2.3.1 Jamur Patogen**

Habitat jamur terdapat pada air dan tanah, cara hidup jamur dapat bebas, bersimbiosis, tumbuh sebagai saprofit dan juga parasit (Pamungkas, 2010). Jamur yang menjadi parasit bagi inangnya disebut dengan jamur patogen, jamur patogen dapat menghasilkan racun yang berbahaya. Infeksi jamur patogen dapat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan dan penurunan metabolisme pada inangnya (Sukmawati, 2018). Salah satu yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan adalah jamur, jamur patogen merupakan jenis yang merugikan bagi inangnya, dalam keadaan stres atau berkurangnya pertahanan tubuh ikan Koi akan lebih rentan terkena jamur (Suprpto, 2013). Insang busuk adalah salah satu penyakit yang disebabkan oleh jamur patogen. Penyakit

jamur pada ikan ini paling ditakuti diberbagai dunia terutama pada budidaya ikan hias seperti Koi. Penyakit ini juga disebut dengan jamur insang atau busuk insang, insang busuk telah menyebabkan jumlah angka kematian pada budidaya ikan meningkat. Jenis jamur patogen yang biasa menginfeksi ikan Koi seperti: *Aspergillus Micheli*, *Achlya bisexualis*, *Saprolegnia* spp., *Aphanomyces* spp. and *Branchiomyces* sp (Siddique *et al.*, 2009). Ikan- ikan yang sudah terkena penyakit ini kemungkinan kecil akan terus dapat bertahan hidup, tidak ada pengobatan untuk branchiomycosis dan ikan yang mati akibat jamur tersebut harus dibakar agar tidak menyebar ke ikan yang lainnya (Hussain, 2020).

### **2.3.2 Faktor yang mempengaruhi kualitas air dan pertumbuhan jamur**

Beberapa parameter air yang mempengaruhi pertumbuhan jamur yaitu (Papilon, 2017)

#### **1. Kelembapan**

Kelembapan pada suatu lingkungan tentunya mempengaruhi pertumbuhan suatu makhluk hidup, setiap individu memiliki kondisi yang optimal untuk tumbuh. Pada jamur pertumbuhan optimal miselium dapat terjadi pada kelembapan

65% - 70%. Pada proses degradasi polimer kondisi yang lembab mendukung proses hidrolisis dengan menghasilkan lebih banyak reaksi pemotongan rantai polimer.

## 2. Suhu

Suhu ideal untuk kolam berkisar antara 20° - 28°C, tentunya jamur juga memiliki suhu optimum untuk pertumbuhannya. Suhu optimal untuk pertumbuhan jamur adalah 22-25 °C.

## 3. Derajat keasaman atau pH

Kondisi air dengan pH 7,0 – 8,0 merupakan derajat keasaman air kolam yang ideal bagi kelangsungan hidup bagi ikan Koi, umumnya jamur akan beraktivitas pada pH 7,0 atau dalam kondisi asam. Maka dari itu air kolam yang memiliki derajat keasaman yang rendah akan mudah ditemukan jamur pada tubuh ikan Koi.

## 4. Amonia

Level amonia yang terlalu jenuh akan membahayakan bagi kelangsungan hidup ikan Koi, pemeriksaan amonia dibawah ambang batas dapat disebabkan oleh pemberian pakan yang berlebihan dan amonia sendiri bersifat racun bagi ikan. Masalah amonia dapat diselesaikan dengan cara pengurusan air kolam agar bersih dan amonia yang mengendap dapat dihilangkan atau

dengan cara menggunakan mikroba baik atau probiotik sehingga mikroba tersebut dapat mengubah nitrit menjadi nitrat supaya aman bagi ikan.

## **2.4 Identifikasi Isolat Jamur**

### **2.4.1 Identifikasi Morfologi**

Karakterisasi morfologi isolat jamur dilakukan dengan cara mengamati penampakan karakteristik dari suatu organisme, identifikasi morfologi dilakukan untuk mengetahui identitas suatu organisme sampai pada tingkat genus. Pada tingkat identifikasi ini terdapat dua tahapan yaitu identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati beberapa karakter yang dapat dilihat seperti warna jamur pada permukaan atas dan bawah (*reverse slide*), bentuk, tepi koloni, ukuran koloni, garis radial dari pusat koloni ke tepi, ada atau tidaknya lingkaran kosentris, pola pertumbuhan dari awal ditanam serta tekstur permukaan seperti halus, kasar, rata, licin dan ada tidaknya tetes eksudat. Sedangkan untuk Identifikasi jamur secara mikroskopis menggunakan alat bantu berupa mikroskop dengan cara mengamati bentuk sel, ukuran sel, tipe miselium, tipe reproduksi dan tipe pertunasan (Deacon, 2006).

Menurut Gandjar (1999) dalam identifikasi morfologi secara makroskopis jamur ada beberapa hal yang harus diperhatikan yaitu media yang digunakan, suhu saat inkubasi dan umur isolat pada saat pengamatan. Sedangkan dalam identifikasi secara mikroskopis beberapa hal yang harus diperhatikan adalah:

1. Pengamatan karakter hifa berseptum atau tidak, berpigmen hialin (munculnya warna biru atau tidak saat ditambahkan pewarna) atau dematiaceous (berwarna coklat kehijauan dan kehitaman) serta bentukan hifa (mempunyai rhizoid atau tidak).
2. Pengamatan spora aseksual meliputi bentuk seperti arthospora, blastospora dan klamidospora atau spora khusus seperti konidia dan aleuspora. Karakter spora askus diamati yaitu bentuk, ukuran, jumlah dan letak.
3. Pengamatan spora seksual yang memiliki beberapa bentuk seperti basidiospore, askospora dan zigospora.
4. Karakter sel berupa sel tunggal (berdinding tipis atau tebal dan berpigmen atau tidak) atau bersel banyak (dinding tipis atau tebal, bersepta atau tidak, bersepta transversal dan longitudinal dan berpigmen atau tidak).

## 2.4.2 Identifikasi Molekuler

### 2.4.2.1 Isolasi DNA Jamur

Tahap awal dalam proses isolasi DNA adalah ekstraksi DNA dari dalam sel, ekstraksi DNA genomik dari jamur berfilamen memiliki tingkat kesulitan yang tinggi karena struktur dinding sel yang kompleks, konsentrasi polisakarida tinggi dan keberadaan metabolit sekunder lain yang mengikat atau mengendap bersama dengan asam nukleat. Oleh karena itu dalam ekstraksi ini membutuhkan metode yang paling efektif agar mendapatkan DNA dengan kemurnian yang tinggi. Metode yang digunakan untuk proses ekstraksi DNA jamur adalah metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*), CTAB mengandung surfaktan kationik yang sangat efektif dalam melisiskan dinding sel dengan kandungan polifenol dan polisakarida tinggi. Metode CTAB banyak digunakan dikarenakan memiliki harga yang relatif murah dan lebih efisien dibandingkan dengan metode kit komersial. Metode CTAB memiliki prinsip seperti isolasi DNA pada umumnya yaitu lisis sel, ekstraksi, presipitasi dan purifikasi. Komposisi buffer lisis dalam metode ini adalah surfaktan CTAB, NaCl, EDTA, Tris-HCl dan Polivinilpirolidon (PVP). Komposisi buffer sangat berpengaruh terhadap keberhasilan lisis (Huang *et al.*, 2019).

CTAB (*Cetyl Trimetyl Ammonium Bromide*) sendiri adalah surfaktan kationik bermuatan positif pada bagian kepala dan gugus hidrofobik pada bagian ekor, gugus hidrofobik pada surfaktan akan berinteraksi dengan lemak sehingga akan terdenaturasi sedangkan muatan positif surfaktan akan berinteraksi dengan muatan negatif protein sehingga protein akan terdenaturasi. CTAB juga memiliki kemampuan untuk memecah polisakarida menjadi monomer sederhana dengan cara berinteraksi dengan polisakarida secara hidrofobik membentuk senyawa kompleks. Kandungan NaCl berfungsi menghilangkan senyawa polisakarida, EDTA berfungsi mengurangi integritas dinding sel dengan mengikat ion magnesium agar aktivitasnya menurun, ion magnesium berkontribusi dalam mempertahankan aktivitas enzim nuklease, Tris-HCl berfungsi menyeimbangkan pH, dan PVP berfungsi untuk menghilangkan senyawa fenolik (Nystrom, 2009).

Dinding sel yang telah lisis menyebabkan semua isi yang ada didalam sel termasuk DNA akan keluar, kontaminan yang masih tersisa bisa dikeluarkan dengan menggunakan pelarut organik. Pelarut organik yang dipakai adalah kloroform dan isoamil alkohol, dalam larutan ini kloroform berfungsi sebagai pendenaturasi protein dan isoamil alkohol berfungsi

menghilangkan busa. Perlakuan tersebut membentuk 3 lapisan dengan penampakan yang berbeda, lapisan yang paling atas mengandung DNA dan RNA karena sifatnya yang polar. Hal ini dikarenakan meningkatnya kelarutan DNA dalam air akibat interaksi antara muatan dipol negatif pada gugus fosfodiester DNA. Protein yang terdenaturasi akan masuk diantara lapisan intermediet atau fase organik air, sedangkan pada lapisan bawah atau fase organik tersisa lemak dan protein nonpolar yang mudah larut dalam kloroform (Almarhoon, 2019).

Presipitasi DNA adalah proses dimana DNA akan diendapkan dengan bantuan etanol dingin dan garam ammonium asetat, fungsi etanol sendiri dapat menghilangkan sisa kloroform dengan memekatkan DNA. Etanol akan menurunkan aktivitas molekul H<sub>2</sub>O sehingga molekul DNA dengan muatan netral akan menggumpal dan mengendap menjadi pelet. Garam ammonium asetat berfungsi menurunkan kelarutan DNA dalam air kemudian kontaminan RNA dapat didenaturasi dengan penambahan enzim RNase. Pemurnian DNA merupakan proses pencucian DNA dari sisa-sisa kontaminan dan garam, pelet DNA yang terbentuk dilarutkan dalam TE agar sampel DNA agar tetap stabil (Fatchiyah, 2011). Tingkat keberhasilan isolasi DNA dari suatu isolat DNA

dapat ditentukan dari nilai rasio absorbansi A260/A280 dan hasil visualisasi elektroforesis gel agarosa dibawah sinar UV transluminator. DNA dengan kualitas kemurnian baik memiliki rentang nilai rasio A260/A280 antara 1,8-2,0 dan menunjukkan pita tunggal yang utuh tanpa *smear* pada hasil elektroforegram. Jika nilai rasio A260/280 lebih kecil dari 1,8 maka isolat DNA terkontaminasi oleh fenol dan jika lebih besar dari 2,0 maka isolat mengandung protein dan senyawa lain (Fatchiyah, 2011).

#### **2.4.2.2 Amplifikasi DNA dengan PCR**

PCR adalah suatu teknik yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA pada suatu daerah tertentu, proses amplifikasi tersebut bertujuan agar mendapatkan salinan sekuen dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat. Saat proses PCR berlangsung, terjadi beberapa kali pengulangan siklus yang mana setiap siklusnya terjadi duplikasi sejumlah target DNA untai ganda. Beberapa komponen yang dibutuhkan saat PCR adalah DNA template, sepasang primer, master mix PCR, deoxynucleotide (dNTPs), MgCl<sub>2</sub> dan DNA polymerase (Garibyan, 2013). Proses PCR memiliki 3 tahapan utama, yakni denaturasi, *annaeling* dan elongasi. Pada tahap denaturasi, untai ganda DNA

akan berpisah menjadi untai tunggal DNA yang dapat digunakan sebagai cetakan untuk untai baru dalam kondisi untai tunggal. Pada tahap annealing terjadi proses penempelan primer tepat di daerah DNA target, setelah penempelan primer maka enzim taq polymerase akan mulai membentuk untai DNA baru. Tahap terakhir adalah elongasi yang mana primer yang telah menempel akan mengalami pemanjangan dari sisi dengan penambahan dNTPs yang komplemen dengan DNA template oleh DNA polymerase (Alsohaili, 2018).

Kesuksesan saat mengamplifikasi sangat berhubungan dengan pemilihan primer yang tepat, saat amplifikasi dibutuhkan dua jenis primer yaitu *forward* dan *reverse*. Primer *forward* adalah titik penanda awal yang akan menempel pada untai DNA dari ujung 3'5', sedangkan primer *reverse* adalah titik akhir daerah yang diamplifikasi. Kunci keberhasilan amplifikasi PCR adalah pemilihan primer dan suhu penempelan yang tepat, Umesha *et al.*, (2016) melakukan penelitian dengan menggunakan pasangan primer ITS1 dan ITS4 menunjukkan keberhasilan amplifikasi DNA yang mengindikasikan fragmen ITS.

#### **2.4.2.3 Sekuen DNA dan Analisis Bioinformatika**

DNA merupakan materi genetik yang memiliki urutan basa, urutan basa tersebut adalah informasi dasar dari suatu gen atau genom untuk menentukan identitas atau fungsi dari suatu gen. Sekuensing DNA merupakan teknik yang dipakai dalam penentuan urutan basa nukleotida adenin (A), sitosin (C), guanin (G), timin (T) yang ada pada suatu molekul DNA. Proses sekuensing DNA menggunakan metode *dideoxy nucleotide chain termination* yang akan menghasilkan kromatogram yang tersusun atas puncak dalam empat warna berbeda, warna tersebut adalah representasi dari empat macam basa yang menyusun DNA (Fatchiyah dkk., 2011)

Urutan DNA yang telah diproses dapat diolah dan dibaca menggunakan beberapa program komputer seperti Sequen scanner, Bioedit, BLAST-n dan Mega. Sequen scanner digunakan untuk melihat bagus tidaknya hasil amplifikasi dari PCR, kemudian diolah menggunakan Bioedit untuk menganalisa bagian contig (serangkaian bagian DNA yang tumpang tindih) untuk memperoleh hasil sekuensing yang lebih baik. Bioedit akan menghapus daerah yang tidak termasuk hasil konsensi dari sekuen *forward* dan *reverse*. Program Blast-n digunakan untuk mencocokkan sekuen DNA query dengan sekuen yang tersedia di NCBI (Mulyawati *et*

*al.*, 2017). Setelah hasil amplifikasi berhasil diolah, selanjutnya menggunakan program MEGA untuk melakukan konstruksi pohon filogenetik berdasarkan pendekatan *maximum likelihood* atau kemiripan yang paling tinggi. Metode ini memberikan estimasi terbaik dari setiap panjang percabangan, artinya yang paling dekat merefleksikan jarak nyata antar sekuen. Bootsrap 1000 digunakan untuk memperkirakan tingkat kredibilitas pohon filogenetik (Kumar *et al.*, 2018).

## **2.5 Gen ITS (Internal Transcribed Spacer)**

Organisme eukariotik memiliki deret rDNA yang berada di inti sel dan mitokondria, deret rDNA sendiri (DNA ribosomal) sendiri merupakan daerah penyandi genom dalam komponen rRNA (RNA ribosomal). Daerah penyandi dipisahkan menjadi beberapa segmen oleh daerah pembatas yaitu ETS (*external transcribed spacer*), IGS (*intergenic spacer*) dan ITS (*internal transcribed*). Fragmen ITS menjadi pembatas antara segmen 18S, 5.8S dan 28S. Pada jenis jamur memiliki daerah ITS yang terbagi menjadi dua bagian yaitu ITS1 dan ITS2, skema letak daerah ITS. Kedua daerah tersebut merupakan daerah non-coding karena

tidak dapat diterjemahkan saat proses pengkodean RNA ribosom (Mulyatni *et al.*, 2011).

Daerah ITS mempunyai tingkat konservasi yang tinggi sehingga sering digunakan sebagai penanda universal dalam mengidentifikasi jamur, sehingga gen ITS juga sering digunakan sebagai dasar mempelajari hubungan kekerabatan. Pada daerah ITS ini memiliki kelebihan yaitu dapat terjadinya perubahan atau mutasi yang cepat sehingga menunjukkan variasi genetik yang tinggi. Variasi yang tinggi dapat membedakan antara spesies satu dengan yang lain dalam satu genus. Daerah ITS memiliki ukuran basa yang pendek, hal itu dapat mempermudah proses amplikasi menggunakan primer universal (Rampersad, 2014).

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis eksploratif untuk mengetahui jenis jamur patogen di kawasan budidaya ikan Koi Malang yang diidentifikasi secara morfologi dan molekuler, serta menggunakan pendekatan deskriptif kualitatif berdasarkan karakteristik air berupa suhu, Ph dan cemaran yang ada pada air kolam budidaya.

### **3.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan Mei 2021. Sampel ikan yang akan diteliti diambil di tempat budidaya ikan Koi kawasan Jabung Malang, pemeriksaan kualitas air dengan beberapa parameter diperiksa langsung di lapangan yaitu budidaya ikan Koi kawasan Jabung Kabupaten Malang. Selanjutnya proses isolasi dan identifikasi dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan alat-alat diantaranya kantong steril, sendok steril, kotak penyimpanan sampel, *blender*, timbangan digital, gelas, tabung Erlenmeyer, pipet ukur, tabung kaca (*Amoxsan*), cawan petri, jarum ose, spatula, tabung mikro 1.5 mL, tabung *Eppendorf*, *Shaker*, kompor listrik (*Thermo scientific*), vortex (*Maxi Mix*) I, *Laminar air flow*, perangkat elektroforesis (*Mupid*), incubator (*mammerr*), mikropipet (*BIO-RAD*), tip (*ONEMED*) (biru, kuning dan putih), bunsen, *autoclave* (*SS XFS 280A*), alat sentrifugasi (*Thermo scientific*), alat sentrifugasi (*HIRAEUS*), *microwave* (*UROLUX*), cetakan agar (*power supply BIO-RAD*), *Molecular Imager® Agar Doc™ XR System* (*BIO-RAD*), *AE-200 Nano Nucleic Acid Analyzer*, dan *MyCycler™ Thermal Cycler* (*BIO-RAD*).

#### 3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah isolat jamur yang berhasil diisolasi dari organ insang ikan Koi, etanol 70%, media PDA komersial (*Merck*), akuades steril, isopropanol, buffer TE, ddH<sub>2</sub>O, dan etanol 70 %, kloroform. Bahan yang

digunakan saat elektroforesis DNA jamur adalah *agarose*, buffer TAE 1X, EtBr dan *loading dye*. Proses amplifikasi DNA menggunakan kit primer ITS1 dan ITS4, PCR mix, marker 1 kb (*Firstbase Genetica Science*).

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Pemilihan Sampel Ikan**

Sampel ikan berasal dari suatu populasi budidaya ikan hias Koi yang bertempat di Jabung Kabupaten Malang. Sampel ikan yang diambil adalah ikan yang terindikasi telah terinfeksi dengan gejala klinis seperti tubuh ikan yang lemas, berenang menyendiri di permukaan air, tidak nafsu makan dan terdapat bercak putih pada bagian organ insang yang kemudian akan dibawa ke laboratorium dengan cara dimasukkan kedalam kantong plastik yang berisikan oksigen.

### 3.4.2 Isolasi Jamur Pada Insang Ikan

Pemurnian kultur dilakukan dengan menyiapkan PDA (*Potato Dextrose Agar*), untuk menghambat pertumbuhan bakteri ditambahkan 500 µg/ml penisilin dan streptomisin kedalam masing- masing media PDA. Sampel ikan kemudian disterilkan dengan etanol 70% dan dibilas dengan 3 kali air suling steril, diambil 10g jaringan dari daerah organ insang dengan alat steril kemudian di maserasi secara aseptik didalam lesung dan dicampur dengan 10 ml air pepton steril. Dari hasil maserasi hasil maserasi tersebut, kemudian suspensi dihomogenkan dan dilakukan pengenceran sampai larutan sampel tidak pekat. Pada penelitian ini dilakukan lima kali pengenceran ( $10^{-5}$ ), pengenceran  $10^{-3}$  dan  $10^{-5}$  akan dipakai dan ditanam ke dalam media PDA menggunakan metode *pour plate* sebanyak 1 mL. Setelah selesai ditanam kemudian diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu ruang. Koloni jamur yang muncul setelah 7 hari lalu dipindahkan ke media PDA baru sampai mendapat isolat murni (Khalidah, 2015).

### 3.4.3 Identifikasi Morfologi Jamur

Identifikasi morfologi dilakukan dengan dua jenis pengamatan, yaitu pengamatan yang dilakukan secara

makroskopis dan juga mikroskopis, pengamatan makroskopis dilakukan langsung pada koloni jamur yang telah tumbuh selama tujuh hari. Beberapa karakter yang diamati secara makroskopis adalah warna jamur (atas dan bawah), tekstur permukaan koloni, munculnya garis radial, ditemukannya garis konsentris, ada tidaknya titik air (eksudat), diameter koloni, tepi koloni dan pertumbuhan koloni (Indrawati, 2016).

Pengamatan mikroskopis menggunakan alat bantu mikroskop, pengamatan ini dilakukan dengan metode *slide culture* (Rosana, *et al.*, 2014). Disiapkan isolat jamur dari media tumbuh dengan ukuran 1x1 cm<sup>2</sup> diambil menggunakan pinset yang steril secara aseptis. Diletakkan potongan media diatas kaca obyek steril. Dikultur isolat jamur yang akan diidentifikasi dengan cara digoreskan pada empat sudut media, kemudian ditutup dengan kaca penutup dan ditekan secara perlahan. Preparat tersebut diletakkan diatas tisu yang telah dibasahi dengan akuades steril dalam cawan petri steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari. Langkah selanjutnya adalah pengamatan dibawah mikroskop, sebelumnya disiapkan kaca obyek baru dan ditetesi larutan pewarna *Lactophenol cotton blue*. Ditutup dengan kaca penutup yang berasal dari preparat kultur jamur. Diamati dibawah

mikroskop binokuler dengan perbesaran 100X dan 1000X. Komponen yang diamati meliputi: hifa, konidia, konidiofor dan rizoid. Hasil pengamatan dikomparasikan dengan buku identifikasi jamur buku *Description of Medical Fungi, Pictoral Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species 2th Edition (2002)* dan *Identification of pathogenic fungi* serta jurnal penelitian terdahulu untuk menentukan genus dari isolat (Bechem & Afanga, 2018).

#### **3.4.4 Sampel Ikan Uji Infeksius**

Seleksi ini bertujuan untuk memilih isolat jamur yang akan di sekuensing. Pengujian dilakukan dengan cara memilih beberapa ikan Koi sehat yang akan dijadikan sebagai hewan coba, selanjutnya koloni jamur dicampurkan dengan air didalam aquarium. Kondisi air dibuat sedemikian rupa dengan memperhatikan habitat tumbuh jamur agar jamur dapat tumbuh dengan baik. Ikan diletakkan kedalam masing-masing unit percobaan dengan kepadatan 1 ekor per liter, kemudian koloni jamur diinokulasi kedalam unit percobaan sebanyak 5 goresan menggunakan spatula dan kapas steril. Ikan uji dipelihara selama 2 minggu, selama percobaan ikan diberi pakan pelet dengan

pemberian secara *ad libitum* (ikan kondisi kenyang). Pergantian air dilakukan setiap 3 hari sekali menggunakan selang sipon (Juniati, 2015).

### **3.4.5 Identifikasi Molekuler**

#### **3.4.5.1 Isolasi DNA Menggunakan Metode CTAB**

Miselium jamur disiapkan sebanyak 100 mg kemudian digerus menggunakan mortar dan alu sampai hancur, ditambahkan nitrogen cair untuk memudahkan penggerusan kemudian ditambah 1000  $\mu$ L bufer 2X CTAB yang mengandung 20 mM EDTA; 1,4 M NaCl; 10 mM Tris-HCl pH 8; 2% CTAB; 2% PVP40; 0,2%  $\beta$ -mercaptoethanol, divortex dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 60 menit. Selama proses inkubasi, tabung mikro dibolak-balik setiap 5 menit sekali. Ditambah 900  $\mu$ L (24:1) chloroform: isoamilalkohol dan diinkubasi di suhu ruang selama 1 jam. Disentrifugasi 13000 rpm selama 10 menit, supernatan yang terbentuk dipindah pada tube 1.5 mL. Ditambah 1X volume chloroform: isoamilalkohol (24:1) dan disentrifugasi 13000 rpm selama 10 menit. Diambil supernatan dan dipindah pada tube 1.5 mL.

Langkah selanjutnya adalah presipitasi DNA dengan isopropanol dingin sebanyak 2/3 kali volume supernatan yang diperoleh, disimpan semalaman dalam suhu -4 °C kemudian dilakukan sentrifugasi 13.000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh endapan DNA pada pellet. Ditambahkan 500 µL etanol absolut dan disentrifugasi 13.000 rpm/ 5 menit kemudian dikering anginkan dan diresuspensi dengan 50 µL buffer TE. Disimpan pada suhu -4 °C dan dilakukan uji kuantitatif dengan spektrofotometer NanoDrop dengan panjang gelombang 260/280 nm (Prabha *et al.*, 2013).

#### **3.4.5.2 Uji Kuantitatif DNA**

Uji kuantitatif DNA menggunakan nanodrop dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260-280 nm dan 260-230 nm. Langkah pertama ditentukan nilai absorbansi pada larutan *blank* (larutan TE) kemudian klik tombol *blank* pada layer nanodrop, proses pembacaan selesai ditandai dengan tulisan *Acid ready measurement* menandakan siap untuk membaca nilai absorbansi DNA. Disiapkan sampel sebanyak 1-2 µL dan diletakkan di tempat sampel kemudian ditekan tombol *Measure* pada layer untuk memulai proses. Hasil pengukuran uji kuantitatif

DNA berupa nilai konsentrasi DNA (ng/  $\mu$ L) dan nilai rasio *Optical Density (OD)* (Lee *et al.*, 2012).

#### **3.4.5.3 Uji Kualitatif DNA**

Uji kualitatif DNA menggunakan *agarose* konsentrasi 1 %, 0,3 gram bubuk *agarose* dilarutkan dalam 30 mL buffer TAE 1X, kemudian dipanaskan dalam *microwave* sampai homogen. Gel didinginkan sampai suhu 60 °C kemudian ditambah 1-2  $\mu$ L pewarna EtBr dan dituang ke dalam *tray*, kemudian dipasang sisir. Gel dibiarkan selama 1 jam agar mengeras, kemudian sisir dilepas dan *agarose* dapat digunakan dengan dimasukkan kedalam tanki elektroforesis yang berisi buffer TE. Selanjutnya 5  $\mu$ L sampel dimasukkan kedalam sumur. Proses elektroforesis dilakukan selama 60 menit dengan voltase 85 V kemudian gel diletakkan dibawah UV transluminator untuk diamati pita-pita DNA yang terbentuk. Pada sampel hasil amplifikasi, posisi pita menunjukkan panjang fragmen DNA (pb) yang mengacu pada ukuran marker (Lee *et al.*, 2012).

#### **3.4.5.4 Amplifikasi gen ITS dengan PCR**

Amplifikasi daerah ITS dilakukan dengan pembuatan PCR mix volume 25  $\mu$ L dan menggunakan primer universal ITS1 dan

ITS4. Komponen dalam PCR mix meliputi: DNA *template* 2  $\mu$ L, primer *forward* 2  $\mu$ L 1 pmol, primer *reverse* 2  $\mu$ L 1 pmol, ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ L, PCR mix 12  $\mu$ L. Primer *forward* yang digunakan adalah ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'), sedangkan primer *reverse* yang digunakan adalah ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'). Amplifikasi dilakukan dengan tahapan denaturasi awal 95 °C selama 3 menit sebanyak satu siklus. Selanjutnya 35 siklus yang terdiri atas: denaturasi 95 °C selama 30 detik, penempelan 55 °C selama 45 detik dan pemanjangan 72 °C selama 3 menit kemudian diakhiri dengan tahap tiga sebanyak satu siklus pada 72 °C selama 5 menit. Sampel hasil amplifikasi dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui panjang fragmen DNA (Raihan *et al.*, 2016).

#### **3.4.5.5 Sekuensing DNA dan Analisis Bioinformatika**

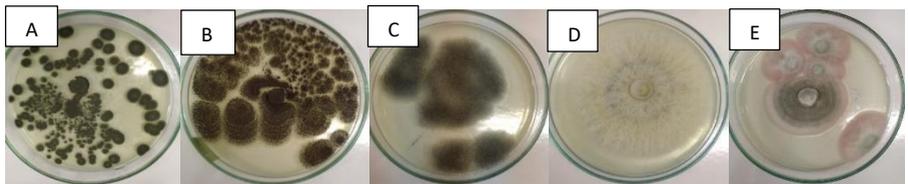
Hasil amplifikasi yang diperoleh kemudian dilakukan proses sekuensing di perusahaan Genetika Sains di Singapura. Hasil sekuensing DNA disusun dengan program Bioedit kemudian dilakukan analisis dengan program BLAST-N pada NCBI dan ditentukan *outgroup* dari family yang berbeda. Setelah itu dilakukan konstruksi pohon filogenetik menggunakan *software* MEGA-X. Data yang telah disejajarkan sebelumnya dibuka dengan

aplikasi MEGA-X dan dikonfirmasi pembuatan pohon filogenetik dengan metode statistik Maximum Likelihood. Digunakan tes filogeni berupa metode *bootstrap* (jumlah replikasi sebanyak 1000 kali) dan model substitusi Tamura-Nei. Tingkat kemiripan yang paling tinggi ditunjukkan dengan jarak terdekat dari sekuen sampel terhadap sekuen pembanding (Suchowersky, 2013; Yuniarti *et al.*, 2017).

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Isolat Jamur

Jamur berhasil diisolasi dari sampel insang ikan Koi yang didapatkan dari budidaya ikan koi Jabung dan didapatkan lima jenis jamur patogen. Jamur patogen hasil isolasi memiliki penampakan morfologi yang berbeda-beda dan diberi kode pada setiap isolat. Isolat hasil pemurnian diberi kode JI1, JI2, JI3, JI4 dan JI5 (Gambar 4.1).



Gambar 4. 1 Penampakan isolat jamur hasil pemurnian, media PDA, masa inkubasi 7 hari, suhu ruang: (A) isolat JI1 (B) isolat JI2 (C) isolat JI3 (D) isolat JI4 (E) isolat JI5.

Isolat jamur patogen yang ditemukan pada insang ikan Koi memiliki penampakan makroskopis yang berbeda-beda. Hal tersebut dapat dilihat dari koloni yang terbentuk pada setiap isolat (Gambar 4.1). Perbedaan karakter menjadikan ciri khas masing-masing isolat agar bisa dibedakan satu sama lain bahkan pada makhluk yang berukuran mikroskopis. Diciptakannya berbagai makhluk dengan bentuk dan ukuran yang berbeda di dunia ini

bukan tanpa tujuan, akan tetapi Allah SWT menciptakan makhluknya dalam bentuk dan ukuran yang beragam untuk dijadikan pengenalan satu sama lain. Hal tersebut telah dijelaskan oleh Allah SWT dalam Al-Qur'an surat Al-haqqah ayat 38-40:

فَلَا أُقْسِمُ بِمَا تُبْصِرُونَ وَمَا لَا تُبْصِرُونَ إِنَّهُ لَقَوْلُ رَسُولٍ كَرِيمٍ

*Artinya: Maka Aku bersumpah dengan apa yang kamu lihat. Dan dengan apa yang tidak kamu lihat. Sesungguhnya Al-Qur'an itu adalah benar-benar wahyu (Allah yang diturunkan kepada) Rasul yang mulia (Al-Qur'an surat Al-haqqah ayat 38-40).*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan Al-Qur'an sebagai wahyu yang diturunkan kepada Rasul yang mulia, apapun yang diciptakan oleh Allah SWT pasti memiliki maksud tertentu mulai dari yang tampak mata maupun tak kasat mata. Berbagai jenis makhluk hidup yang ada di bumi memiliki fungsi yang berbeda, contohnya seperti jamur patogen mikroskopis yang berukuran kecil. Jamur memiliki ukuran yang kecil bahkan tak terlihat oleh mata telanjang, akan tetapi dari jamur patogen tersebut bisa mengajarkan manusia untuk tidak meremehkan hal sekecil apapun. Bagaimana siklus rantai makanan yang mana setiap organisme memiliki peran masing-masing mulai dari produsen sampai pengurai. Peristiwa ini menjelaskan bahwasanya penciptaan keanekaragaman makhluk hidup dengan

berbagai macam perbedaan morfologis maupun fisiologis disesuaikan dengan fungsinya untuk menunjang keberlangsungan hidup di muka bumi ini (Shihab, 2012).

Jamur merupakan organisme yang mampu hidup pada kondisi lingkungan yang beragam termasuk insang ikan yang berada di air keruh, kebanyakan jamur yang hidup di insang ikan merupakan parasit yang menyebabkan kematian. Siklus hidup parasit ini terjadi secara tidak langsung yang melibatkan vertebrata khususnya ikan, parasit yang menjadi patogen bagi ikan perlu diwaspadai keadaannya karena dapat menyebabkan kerugian (Prihartini, 2017). Adapun peranan jamur yang merugikan dalam akuakultur antara lain sebagai penyebab terjadinya penyakit pada ikan. Jamur sendiri merupakan jasad eukariot yang berbentuk benang atau sel tunggal, multiseluler atau uniseluler. Sel-sel jamur tidak berklorofil, dinding sel tersusun dari kitin dan belum ada proses diferensiasi jaringan (Pamungkas, 2010).

Isolat jamur patogen pada penelitian ini tumbuh dengan baik pada media PDA. Hal tersebut dikarenakan faktor lingkungan yang baik dan nutrisi yang terpenuhi. Hampir semua isolat hasil pemurnian tumbuh rata-rata pada hari ke-7 dengan pertumbuhan miselium yang memenuhi cawan petri, walau pada isolat J15

menunjukkan pertumbuhan yang lebih lambat daripada yang lainnya. Menurut Gandjar (2006), pertumbuhan jamur dipengaruhi oleh berbagai macam faktor seperti: substrat, kelembapan, suhu, pH dan senyawa kimia.

Pertumbuhan bagi jamur sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, dalam penelitian ini isolasi dan inkubasi dilakukan pada suhu ruang yang stabil. Saat pengambilan data di lapangan, suhu air pada kolam sebesar 26°C dan pH yang berkisar 7,0. Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi mikroorganisme agar dapat tumbuh maksimal atau tidak, hal ini dijelaskan oleh Ahmed (2018) yang mengatakan bahwa suhu optimal bagi pertumbuhan jamur adalah suhu ruangan yang berkisar antara 22-27°C. Kondisi air dengan pH 7,0 – 8,0 merupakan derajat keasaman air kolam yang ideal bagi kelangsungan hidup bagi ikan Koi, umumnya jamur akan beraktivitas pada pH 7,0. Hussein (2019) juga menambahkan bahwa infeksi ikan yang disebabkan oleh jamur biasanya dapat menyebar dengan cepat dan diperparah dengan suhu air yang tinggi antara 22-32°C. Selain faktor suhu, kelembapan ruang juga dapat mempengaruhi pertumbuhan bagi jamur. Kelembapan ruang berhubungan erat dengan persediaan air dilingkungan yang

digunakan sebagai media transportasi nutrisi, kelembapan udara dengan rentang 65% - 70% merupakan kondisi optimal agar miselium jamur dapat tumbuh (Ahmed, 2018). Tentunya nutrisi tidak lepas dari pertumbuhan jamur, menurut Qadr (2018) mengatakan bahwa jamur membutuhkan pasokan nutrisi untuk menjalankan proses metabolisme sehingga dapat tumbuh optimal. Molekul sederhana seperti gula dan asam amino dapat langsung diserap oleh hifa jamur, sedangkan polimer yang lebih kompleks seperti selulosa, pati dan protein harus diproses terlebih dahulu sebelum digunakan oleh jamur.

Koloni yang ditemukan pada setiap isolat memiliki warna yang berbeda (Gambar 4.1). Isolat J11 memiliki warna hijau kehitaman, isolat J12 dan J13 hitam serta isolat J14 memiliki warna putih kekuningan. Seluruh isolat memiliki warna koloni sedangkan pada isolat J15 menunjukkan warna merah pada tepian koloni, hal ini dijelaskan oleh Bouhri (2019) bahwa filamen memiliki kapasitas atau kemampuan yang dapat memproduksi sejumlah zat yang menghasilkan pigmen. Dapat diamati dari semua isolat yang didapatkan dalam penelitian ini bahwa pigmentasi miselium menunjukkan warna yang jelas.

## **4.2 Karakteristik Isolat Jamur Insang Ikan Koi secara Makroskopis dan Mikroskopis**

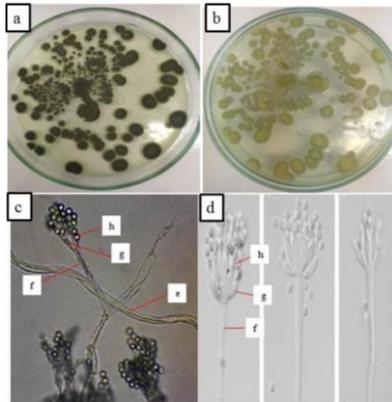
### **4.2.1 Isolat JI1**

Hasil karakterisasi isolat jamur JI1 secara morfologi dengan pengamatan makroskopis pada permukaan koloni atas menunjukkan warna koloni hijau tua kehitaman dengan tekstur seperti serbuk dan koloni yang menyebar (Gambar 4.3). Pertumbuhan koloni ini termasuk cepat karena pada hari ke-7 mampu tumbuh memenuhi cawan petri. Pada awal pertumbuhan isolat ini memiliki miselium tampak berwarna hijau dengan lingkaran putih ditepi, semakin lama miselium tumbuh menjadi warna hijau tua kehitaman dan permukaan bawah isolat berwarna putih kekuningan.

Tabel 4. 1 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI1

Karakter	Isolat JI1
Permukaan Koloni	Atas Tekstur seperti serbuk, halus, berwarna hijau tua kehitaman dengan tepi berwarna putih yang muncul pada hari ke 7.
Sisi Balik	Putih kekuningan.
Ukuran/ bentuk	Membentuk koloni menyebar.
Lingkaran Konsentris	Tidak ada
Hifa	Bersekata dan bercabang
Konidia/ Spora	Konidia berbentuk bulat dan bergerombol pada phialid
Dugaan isolat	<i>Penicillium</i> sp.

Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 1000x menunjukkan karakter hifa bersekata dan bercabang, memiliki hifa dan konidiofor yang membentuk cabang. Pada cabang tersebut terdapat konidia yang berbentuk bulat dan bergerombol yang menempel pada phialid. Berdasarkan hasil karakterisasi dan kajian literatur diduga isolat JI1 merupakan kelompok jamur *Penicillium* sp. Hal tersebut didasarkan pada Kusdarwati (2016), yang menyatakan bahwa *Penicillium* sp. memiliki ciri-ciri koloni berbentuk bulat kecil, berwarna hijau tua dan terdapat warna putih pada bagian tepi.



Gambar 4. 2 : Isolat 1 | *Penicillium* sp. (a) Morfologi permukaan atas (b) Morfologi permukaan bawah (c) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000x (d) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000x (Wang, 2017) (e) Hifa (f) Konidiofor (g) Fialid (h) Konidia.

*Penicillium* sp tumbuh pada suhu 25°C dan memiliki struktur konidia serta konidiofor monoverticilla yang tegak lurus. *Penicillium* sp. memiliki hifa bersepta dan membentuk badan spora yang disebut konidium, konidium ini memiliki tangkai yang disebut phialid. Spora yang dihasilkan oleh phialid disebut konidia, konidia sendiri memiliki bentuk bulat yang membentuk rantai panjang. Infeksi pada budidaya ikan Koi bisa terjadi karena beberapa faktor, salah satu penyebabnya melalui kontaminasi pakan oleh jamur. *Penicillium* sp. dapat mencemari dan menghasilkan mikrotoksin, pakan yang sebelumnya sudah berjamur dapat menjadi awal mula

infeksi jamur pada ikan. Jika pemberian pakan yang sudah berjamur terus dilakukan, secara perlahan jamur akan tumbuh pada tubuh ikan (Sukmawati, 2018).

#### 4.2.2 Isolat JI2

Hasil karakterisasi isolat jamur JI2 secara morfologi dengan pengamatan makroskopis pada permukaan koloni atas menunjukkan warna hitam dengan tekstur seperti serbuk yang kasar (Gambar 4.4). Pada awal pertumbuhan, isolat memiliki miselium putih yang mulai berubah menjadi warna coklat kehitaman saat hari ke 7. Permukaan pada bagian bawah terlihat berwarna putih kekuningan.

Tabel 4. 2 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI2

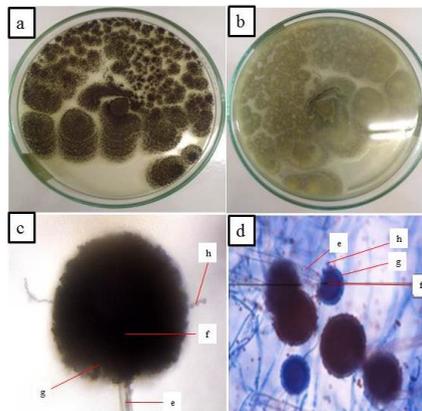
<b>Karakter</b>	<b>Isolat JI2</b>
Permukaan Koloni	Atas Berwarna hitam, koloni menyebar dan bertekstur serbuk kasar.
Sisi Balik	Putih kekuningan.
Ukuran/ bentuk	koloni menyebar.
Lingkar Konsentris	Tidak ada.
Hifa	Bersekat dan tidak bercabang, konidiofor memanjang dan

---

	menggembung pada bagian ujungnya membentuk vesikula bulat.
Konidia/ Spora	Konidia berbentuk lonjong menggerombol pada vesikula.
Dugaan isolat	<i>Aspergillus</i>

---

Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa isolat JI2 memiliki konidiofor panjang, bersekat dan menggembung pada ujung membentuk vesikel berbentuk bulat dan memiliki fialid yang memenuhi seluruh permukaan vesikel. Konidia yang terlihat nampak berwarna hitam kecoklatan dan memiliki bentuk yang bulat. Hasil yang telah didapatkan berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada isolat JI2 menunjukkan dugaan isolat genus *Aspergillus*. Hal tersebut didasarkan pada penelitian Tawab *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa *Aspergillus* memiliki vesikel bulat diujung konidiofor dan konidia yang berbentuk bulat. Berdasarkan karakter yang diperoleh dan kajian literatur diduga isolat JI2 merupakan jenis jamur *Aspergillus* sp.



Gambar 4. 3: Isolat 2| *Aspergillus* sp. (a)Morfologi permukaan atas (b) Morfologi permukaan bawah (c) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000x (d) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000x (Kusdarwati, 2016) (e) Konidiofor (f) Vesikel (g) Fialid (h) Konidia.

*Aspergillus* sp memiliki karakteristik permukaan atas berwarna hitam, permukaan bawah berwarna kuning kehitaman dan memiliki konidiofor panjang bercabang. Hal tersebut sesuai dengan Watanabe (2011) bahwa *Aspergillus* sp. memiliki konidiofor hialin yang tegak dengan ukuran sekitar  $740 \mu\text{m} \times 10\text{--}14 \mu\text{m}$ , berdinding tebal, menggembung diujung membentuk vesikula bulat berukuran  $55\text{--}75 \mu\text{m}$ , terdiri dari konidia catenulate berdiameter  $3,7\text{--}4,5 \mu\text{m}$  di atas fialida niseriat atau biseriate. Menurut Kusdarwati (2016) menyatakan bahwa *Aspergillus* sp. merupakan jamur yang menghasilkan aflatoksin, aflatoksin sendiri

adalah toksin yang menyebabkan ikan tersebut mengkonsumsi akan terinfeksi. Salah satu jenis aflatoksin yang dihasilkan oleh *Aspergillus* sp. adalah aflatoksin B1 yang dapat menimbulkan masalah serius pada aquakultur.

Jamur *Aspergillus* sp. merupakan jamur yang bersifat patogenik, jamur ini banyak ditemukan pada lingkungan yang lembab dan basah. *Aspergillus* sp. juga merupakan jamur kontaminan yang mampu tumbuh di luka yang terdapat pada ikan, hal ini yang dapat menyebabkan infeksi dikarenakan jamur ini memproduksi aflatoksi dan akhirnya menyebabkan kematian. Jamur ini dapat menginfeksi ikan melalui transmisi inhalasi, air maupun makanan. Ketika ikan tersebut terinfeksi Jamur *Aspergillus* sp. maka spora jamur akan bisa masuk kedalam insang, secara perlahan jamur akan merusak organ tersebut dan menyebabkan kematian (Barati, 2011).

#### **4.2.3 Isolat JI3**

Hasil karakterisasi isolat jamur JI3 secara morfologi dengan pengamatan makroskopis pada permukaan koloni atas menunjukkan bahwa isolat JI3 berteskstur lembut seperti kapas dan memiliki warna kehitaman (Gambar 4.5). Pada awal pertumbuhan miselium berwarna putih, lalu mengalami perubahan warna

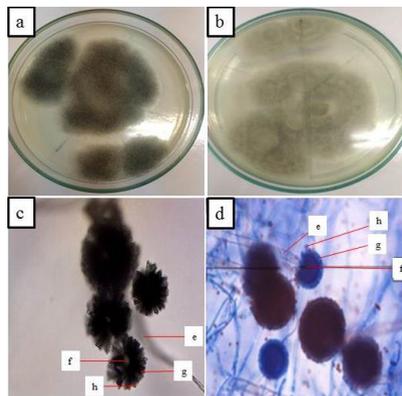
menjadi kehitaman mulai hari ke-4. Pada bagian bawah koloni nampak berwarna putih yang bercampur dengan warna kehitaman.

Tabel 4. 3 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI3

<b>Karakter</b>	<b>Isolat JI3</b>
Permukaan Koloni	Atas Memiliki tekstur yang lembut, berwarna hitam dan menyebar merata.
Sisi Balik	Putih kegelapan
Ukuran/ bentuk	Membentuk koloni yang tidak terpisah
Lingkarannya Konsentris	Tidak ada
Hifa	Bersekat dan bercabang, memanjang dan pada bagian ujungnya mengembang membentuk vesikula bulat.
Konidia/ Spora	Konidia berbentuk bulat dan menggerombol pada vesikula.
Dugaan isolat	Aspergillus

Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa isolat ini memiliki karakter hifa yang bersekat dan bercabang, bentuk hifa jamur ini juga memanjang. Pada bagian ujung mengembang dan membentuk vesikula bulat. Konidia berbentuk bulat dan menggerombol pada vesikula, pada vesikula tersebut terdapat batang pendek yang disebut sterigmata dan setiap anakan dari sterigmata akan menghasilkan spora yang berbentuk

globose. Berdasarkan hasil katakterisasi, isolat JI3 diduga merupakan kelompok jamur *Aspergillus* sp. Hal tersebut sesuai dengan Kusdarwati, (2016), bahwa *Aspergillus* sp. Memiliki hifa bersepta (bersekat) dan memanjang dengan ujung yang mengembang dan membentuk vesikula bulat. Spora *Aspergillus* sp. berbentuk globose.



Gambar 4. 4: Isolat 3| *Aspergillus* sp. (a)Morfologi permukaan atas (b) Morfologi permukaan bawah (c) Hasil pengamatan mikroskopis hifa perbesaran 1000x (d) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000x (Kusdarwati, 2016) (e) Konidiofor (f) Vesikel (g) Fialid (h) Konidia.

Hasil karakterisasi makroskopis isolat JI3 juga sesuai dengan pengamatan Praja (2017) yang mengatakan bahwa *Aspergillus* sp. memiliki permukaan atas seperti kapas yang bertekstur halus. Isolat ini berwarna hijau tua bahkan kehitaman

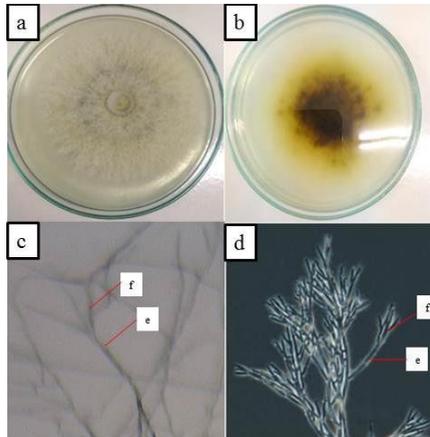
dengan tepi berwarna putih yang merupakan miselium muda, pada bagian bawah berwarna putih kuning kehitaman. Secara mikroskopis isoalat JI3 sesuai dengan pendapat Debasi (2016) yang menjelaskan bahwa *Aspergillus* sp. memiliki konidia tegak dan konidia udara, konida bercabang dengan ujungnya membentuk fialida sebagai penghasil spora. Watanabe (2011) juga menambahkan bahwa *Aspergillus* sp. memiliki konidiofor hialin yang sederhana dan berdinding tipis dengan tinggi antara 55–125  $\mu\text{m}$ , memiliki vesikel berukuran 12,5–16,3  $\mu\text{m}$ , memiliki phialide berdiameter 3,6–4,9  $\times$  2,5  $\mu\text{m}$ , kepala konidia berdiameter 175,1–243,3  $\times$  15–55  $\mu\text{m}$ , dan diameter konidia 2,4– 2,7  $\mu\text{m}$ .

#### **4.2.4 Isolat JI4**

Hasil karakterisasi isolat jamur JI4 secara morfologi dengan pengamatan makroskopis pada permukaan koloni atas menunjukkan bahwa isolat JI4 memiliki tekstur halus berserabut dan berwarna putih kehitaman. Bagian bawah berwarna hitam dan warna kuning dibagian tepi. (Gambar 4.6). Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa isolat JI4 pada awal pertumbuhan memiliki miselium putih cerah yang mulai berubah menjadi warna putih kehitaman saat hari ke 7 dan menyebar dengan cepat.

Tabel 4. 4 Hasil karakterisasi morfologi isolat J14

<b>Karakter</b>	<b>Isolat J14</b>
Permukaan Koloni	Atas Memiliki tekstur berserabut dan berwarna putih kekuningan.
Sisi Balik	Hitam kekuningan.
Ukuran/ bentuk	Menyebar keseluruhan media.
Lingkarannya Konsentris	Ada.
Hifa	Bersekat dan bercabang, memanjang dan pada bagian ujungnya mengembang membentuk vesikula bulat.
Konidia/ Spora	Hifa bercabang, berwarna transparan dan bersekat, ujung konidiofora membentuk percabangan.
Dugaan isolat	<i>Annulohypoxyton</i>



Gambar 4. 5 : Isolat 4| *Annulohypoxyylon* sp. (a)Morfologi permukaan atas (b) Morfologi permukaan bawah (c) Hasil pengamatan makroskopis hifa perbesaran 1000x (d) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000x (Sir et al., 2018) (e) Konidiofor (f) Konidia.

Hasil karakteristik makroskopis sesuai dengan Sir *et al.*, (2018), *Annulohypoxyylon* sp. memiliki karakteristik warna putih dengan permukaan yang berbentuk bundar dan menonjol serta memiliki tekstur permukaan seperti kapas, warna putih perlahan berubah menjadi kehitaman. Secara mikroskopis *Annulohypoxyylon* sp. memiliki organ reproduksi aseksual berupa konidia. Sesuai dengan Sir *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa konidia *Annulohypoxyylon* sp. berbentuk oval dan terletak pada ujung percabangan konidiofor. Namun, pada pengamatan ini tidak terlihat strutur konidia.

*Annulohypoxyton* sp. merupakan anggota family Hypoxylaceae (ordo Xylariales) (Becker *et al.*, 2020). Spesies ini bereproduksi secara asexual menggunakan konidia. Menurut Zheng *et al.*, (2012), konidia adalah alat reproduksi aseksual dan alat penyebaran pada spesies jamur patogen salah satunya seperti pada *Annulohypoxyton* sp. Konidia juga memerankan peran penting dalam epidemi penyakit pada hewan. Maka dari itu *Annulohypoxyton* sp. tergolong jamur patogen berbahaya yang menginfeksi hewan termasuk ikan Koi. Maciel *et al.*, (2017) juga mengungkapkan bahwa genus *Annulohypoxyton* sp. menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan sitotoksik yang berbahaya dan dapat menyerang struktur sel.

#### **4.2.5 Isolat JI5**

Hasil karakterisasi isolat jamur JI5 secara morfologi dengan pengamatan makroskopis pada permukaan koloni atas menunjukkan bahwa isolat JI5 memiliki tekstur yang halus dan berwarna abu-abu dengan warna merah muda dibagian tepi. Bagian bawah hanya terdapat warna merah muda yang tersebar merata (Gambar 4.7). Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis diketahui isolat JI5 Saat hari ke-4 hanya hanya muncul

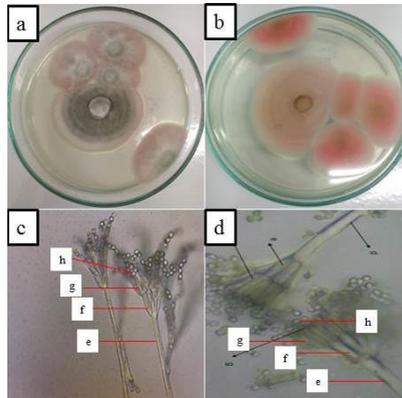
warna putih kemudian berubah warna menjadi abu-abu dengan tambahan warna merah muda sejak hari ke-5.

Tabel 4. 5 Hasil karakterisasi morfologi isolat JI5

<b>Karakter</b>	<b>Isolat JI5</b>
Permukaan Koloni	Atas Bertekstur halus dengan warna abu-abu muda dan pada bagian pinggirnya terdapat warna merah muda.
Sisi Balik	Putih kemerahan.
Ukuran/ bentuk	Menyebar pada media.
Lingkaran Konsentris	Ada.
Hifa	Bersekatek dan bercabang. Percabangan hifa (Konidiofor) memanjang dan terdapat metula diujungnya. Terdapat phialid pada ujung metula, phialid menghasilkan spora pada bagian ujung.
Konidia/ Spora	Konidia berbentuk bulat membentuk rantai memanjang.
Dugaan isolat	Penicilium

Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 1000x menunjukkan karakter hifa bersekatek dan bercabang, memiliki hifa dan konidiofor yang membentuk cabang. Pada cabang tersebut terdapat konidia yang berbentuk bulat dan bergerombol yang menempel pada phialid. Berdasarkan hasil karakterisasi dan kajian

literatur diduga isolat J15 merupakan kelompok jamur *Penicillium* sp. Hal tersebut didasarkan pada Chitarra *et al.*, (2004), *Penicillium* sp memiliki hifa bersepta (bersekat) dan bercabang. *Penicillium* sp. memiliki spora berukuran kecil dan berbentuk bulat.



Gambar 4. 6: Isolat 5| *Penicillium* sp. (a)Morfologi permukaan atas (b) Morfologi permukaan bawah (c) Hasil pengamatan makroskopis hifa perbesaran 1000x (d) Literatur pengamatan mikroskopis perbesaran 1000x (Sukmawati *et al.*,2018) (e) Konidiofor (f) Metula (g) Fialid (h) Konidia.

*Penicillium* adalah salah satu genus jamur yang paling umum ditemukan di lingkungan yang beragam, jamur ini mampu menguraikan bahan organik dan memainkan peran penting dalam sirkulasi biologis biomassa di alam (Wang, 2017). *Penicillium* sp. memiliki spora yang berbentuk kecil dan bulat, Menurut Chitarra, *et al.*, (2004) spora merupakan bagian penting yang berguna untuk

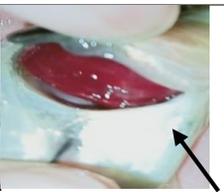
kelangsungan hidup dalam jangka panjang pada kapang. Konidia adalah spora aseksual nonmotil, yang dapat diproduksi dalam jumlah yang sangat besar oleh jamur yang termasuk dalam ordo Eurotiales yang meliputi genus *Penicillium*. Tekstur permukaan halus dan terdapat beberapa koloni dalam satu media pertumbuhan, menurut Coton (2020) mengatakan bahwa batas ukuran koloni dapat bervariasi sesuai dengan regangan yang dihasilkan mulai dari sangat tipis hingga sepertiga diameter koloni. Dijksterhuis (2019) juga menambahkan bahwa spora kapang biasanya berukuran mikroskopis (sebagian besar spesies berukuran antara 3 dan 30 mikron), terkadang lebih kecil dari serbuk sari. Spora memiliki berbagai variasi yang sangat banyak dalam bentuk, pigmentasi, ornamen dan ketahanan stress.

#### **4.3 Seleksi isolat jamur infeksius tertinggi**

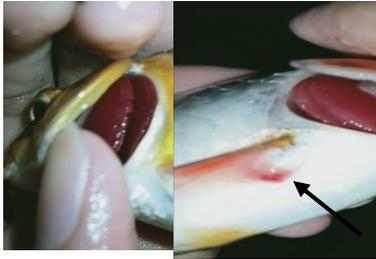
Ikan Koi yang terinfeksi jamur patogen ditunjukkan dengan beberapa indikasi seperti pergerakan yang melambat, berenang keatas permukaan air, tidak nafsu makan bahkan menyebabkan kematian. Hal tersebut sesuai dengan Juniati (2015) yang menyatakan bahwa ikan yang telah terinfeksi jamur akan terlihat lesu, kehilangan keseimbangan dan umumnya rentan terhadap kematian. Kondisi ikan Koi yang diinfeksi dengan spora jamur

pada minggu pertama menunjukkan tingkah laku yang normal, ikan uji tersebut masih terlihat aktif, lincah dan respon pakan tinggi. Namun pada minggu kedua kondisi ikan mulai mengalami perubahan tidak normal, setiap sampel jamur menunjukkan waktu yang berbeda-beda dalam mempengaruhi kondisi ikan. Saat minggu kedua pergerakan ikan mulai melambat, tidak aktif dan keseimbangan ikan mulai terganggu, respon terhadap pakan juga mulai berkurang.

Tabel 4. 6 Sampel ikan Koi yang telah terinfeksi (Hasil Uji)

NO	Sebelum	Sesudah	Keterangan
J11			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Minggu pertama= Ikan menunjukkan kondisi sehat dengan pergerakan yang lincah dan aktif terhadap respon pakan.</li> <li>• Minggu kedua= Pada minggu kedua tidak ada perubahan yang signifikan</li> <li>• Minggu ketiga= Mulai muncul gejala pada ikan yaitu adanya sedikit bercak putih pada insang, akan tetapi pergerakan ikan masih lincah dan respon terhadap pakan masih normal.</li> </ul>

JI2



- Minggu pertama= Ikan masih dalam kondisi yang sehat dengan pergerakan aktif dan merespon terhadap pakan.
- Minggu kedua= kondisi ikan masih terlihat normal dan tidak ada perubahan.
- Minggu ketiga= Pergerakan ikan masih lincah akan tetapi terjadi perubahan warna insang yang awalnya merah tua menjadi lebih pudar, pada bagian kulit terdapat bercak warna merah yang mengindikasikan ikan tersebut sedang stres.

JI3



- Minggu pertama= Ikan menunjukkan kondisi sehat dengan pergerakan yang lincah dan aktif terhadap respon pakan.
- Minggu kedua= Pergerakan ikan menjadi lebih lambat akan tetapi masih aktif dalam merespon pakan.
- Kondisi insang masih berwarna merah

		<p>segar akan tetapi muncul luka berwarna merah dibagian dekat insang serta tubuh ikan berlendir.</p>
J14		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Minggu pertama= Pergerakan ikan terlihat lincah, respon pakan aktif dan insang yang berwarna merah segar.</li> <li>• Minggu kedua= Pergerakan ikan mulai melambat dan lemas serta respon terhadap pakan mulai berkurang.</li> <li>• Minggu ketiga= Pada bagian insang terlihat tumbuhnya jamur dan organ insang tersebut pecah serta perubahan warna yang sangat jelas. Ikan ditemukan sudah mati saat minggu ketiga.</li> </ul>
J15		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Minggu pertama= Ikan menunjukkan kondisi sehat dengan pergerakan yang lincah dan aktif terhadap respon pakan.</li> <li>• Minggu kedua= Kondisi ikan masih</li> </ul>

---

normal akan tetapi tubuh ikan dipenuhi dengan lendir.

- Minggu ketiga= Terjadi perubahan insang yang awalnya berwarna cerah menjadi pudar disertai adanya lendir yang menyelimuti tubuh ikan.

---

Sampel ikan uji yang terinfeksi akan menunjukkan perubahan yang nampak pada sekitar tubuh, pada bagian tertentu terlihat warna kemerahan dengan selaput putih atau lendir pada sekeliling luka khususnya pada bagian kepala dan sekitar insang (Gambar 4.2). Menurut Juniati *et al.*, (2015), selaput yang tampak pada sekeliling luka merupakan bentuk respon seluler (fagositik) sebagai mekanisme pertahanan ikan terhadap penyakit, sedangkan luka yang memerah merupakan suatu inflamasi. Luka yang tetap memerah menandakan bahwa sel darah putih yang menyusun sistem pertahanan tidak mampu bekerja secara maksimal yang disebabkan oleh infeksi jamur dan pada akhirnya menyebabkan kematian.

Insang pada sampel ikan yang terinfeksi seluruhnya menunjukkan luka dikarenakan tumbuhnya jamur patogen

(Gambar 4.2). Luka pada insang disebabkan oleh peleburan terutama lamela dan prliferasi berat filamen insang. Hal tersebut didasarkan pada penelitian Juniati *et al.*, (2015), bahwa sesuai dengan pemeriksaan hispatologi pada insang yang terinfeksi jamur patogen, tampak sebagai dengan munculnya sejumlah besar spora dan hifa yang tidak berseptata. Spora dan hifa dalam pembuluh darah insang menyebabkan penyumbatan, hemostatis dan trombosis yang berakibar nekrosis luas pada filamen insang dan area sekitarnya menjadi coklat. Hal tesebut senada dengan Ibrahim *et al.*, (2011) yang menyatakan bahwa proses infeksi terjadi secara cepat dan disertai dengan proliferasi epitel insang dengan hasil penempelan filamen. Sporangium berdinding keras, ketika menyebar ke jaringan sekitarnya, spora tersebut teragregasi didalam sel besar seperti makrofag dengan nukleus marginal pipih. Sel-sel epitel yang berproliferasi tersusun menjadi lapisan-lapisan konsentris disekitar hifa jamur, dinding hifa yang tertanam dalam lapisan matriks merupakan produk akhir dari nekrosis seluler lokal. Berdasarkan uji infeksius pada sampel didapatkan bahwa hasil infeksius tertinggi ditunjukkan oleh isolat JI4, hal ini juga diperkuat dengan laju cepat pertumbuhan koloni di media PDA yang paling cepat adalah JI4.

#### 4.4 Hasil Identifikasi Molekuler Isolat

Satu isolat terpilih yaitu JI4 memiliki kemampuan infeksius tertinggi dalam kurun waktu 21 hari, selama kurun waktu 21 hari ikan mengalami gejala yang beruntun dimulai dari hilangnya nafsu makan, lesu, berenang ke permukaan air dan akhirnya kematian. Berdasarkan karakterisasi secara morfologi diduga bahwa isolat JI4 merupakan kelompok jamur dari genus *Annulohyphoxylon*, maka untuk mengetahui jenis isolat pada tingkat spesies perlu dilakukan identifikasi secara molekuler dengan menganalisis urutan DNA. Menurut (Nasution, 2005) DNA adalah suatu bentuk susunan yang juga merekam informasi tentang status dan sejarah suatu kehidupan, tentunya diperlukan suatu pengetahuan dasar untuk menghubungkan kedua informasi tersebut menggunakan ilmu yang bernama bioinformatika agar informasi menjadi lebih berguna. Dalam Al-Qur'an surah Al-Furqaan ayat 2 Allah SWT berfirman:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمَلِكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ  
فَقَدَرَهُ تَفْدِيرًا

*Artinya: "Yang kepunyaan-Nya lah kerajaan langit dan bumi, dan dia tidak mempunyai anak dan tidak ada sekutu bagi Nya, dan dia telah menciptakan segala sesuatu dan dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya." (Q.S Al-furqaan:2).*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT adalah penguasa mutlak dan Maha Esa, Allah SWT juga menciptakan apapun itu dengan serapi-rapinya. Tafsir *Al-Misbah* volume 9 menjelaskan bahwa setiap makhluk memiliki sifat dan waktu perkembangan masing-masing, semua kejadian berjalan sesuai dengan sistem yang sangat teliti dan tentunya sesuai dengan apa yang direncanakan oleh Allah SWT. Dari semua kejadian yang telah terjadi, sudah jelas bahwa semua makhluk hidup terdiri atas kesatuan unsur-unsur yang sangat terbatas jumlahnya. Sedangkan dalam tahapan perkembangannya, sifat-sifatnya berkembang dari makhluk bersel satu seperti mikroba sampai kepada yang bersel banyak seperti manusia (Shihab, 2012).

Proses dalam penciptaan makhluk hidup tentunya tidak lepas dari komposisi yang sangat presisi dan susunan yang terstruktur menjadi pusat informasi yang membedakan antara satu individu dengan yang lain. Tafsir *Al-Misbah* juga menjelaskan bahwa setiap jenis makhluk hidup memiliki sifat-sifat tertentu yang akan diwariskan ke generasi selanjutnya, semua itu berjalan sesuai hukum dan aturan yang bersifat konstan dan teliti yang menunjukkan jelas kebesaran dan kekuasaan Allah SWT. Hal ini berhubungan dengan adanya daerah ITS sebagai gen penanda

universal dalam mengidentifikasi jamur, daerah ITS dimiliki oleh setiap jamur namun memiliki variasi genetik yang tinggi. Variasi genetik ini dapat membedakan antara spesies satu dengan yang lain. Maha suci Allah dari apa yang mereka persekutukan (Shihab, 2012).

Keberhasilan identifikasi molekuler ditentukan oleh kemurnian DNA melalui uji kualitas dan kuantitas DNA. Hasil uji kuantitatif menggunakan nanodrop menunjukkan rentang kemurnian DNA pada nilai absorbansi A260/A280 berkisar antara 1,53- 1,76. Nilai tersebut menunjukkan bahwa tingkat kemurnian DNA masih rendah. Hal tersebut sesuai dengan Sambrook (2006) yang menyatakan bahwa rasio nilai kemurnian DNA yang baik pada absorbansi A260/A280 adalah 1.8–2.0. Isolat JI4 menunjukkan nilai absorbansi tertinggi yaitu sebesar 1,76, sedangkan nilai kemurnian terendah dimiliki oleh sampel isolat JI3 yaitu sebesar 1,53 (Tabel 4.7). Hasil uji kualitatif DNA menunjukkan bahwa seluruh sampel menunjukkan adanya smear, smear tersebut adalah hasil elektroforesis DNA genom yang disebabkan adanya presipitasi protein hasil isolasi DNA (Skutkova, 2013).

Hasil isolasi DNA selanjutnya diamplifikasi pada teknik PCR menggunakan dua jenis primer ITS yaitu ITS 1 sebagai primer *forward* dan ITS 4 sebagai primer *reverse*. Visualisasi hasil PCR menunjukkan bahwa sampel JI1, JI2, dan JI5 memunculkan band dengan panjang 550 bp. Sampel JI4 menunjukkan panjang 850 bp sedangkan pada sampel JI3 tidak memunculkan band. Hal tersebut dikarenakan sampel isolat JI3 memiliki kemurnian DNA yang rendah yaitu 1,53 (Tabel 4.7). Menurut Harahap (2018), visualisasi hasil PCR dipengaruhi oleh tingkat kemurnian DNA, kemurnian DNA yang baik akan mempengaruhi proses amplifikasi sehingga *band* akan terlihat pada saat visualisasi DNA. Berdasarkan keterangan tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi DNA yang rendah membuat DNA tidak teramplifikasi dengan baik dan tidak memunculkan band.

Tabel 4. 7 Hasil Uji Kuantitatif Kemurnian DNA

No	260/230	Abs	Abs	Abs	260/280	Con(ng/l)
		230	260	280		
1	1,41	28.12	39,73	23,52	1,67	1986,7
2	1,42	29,59	42,4	25,29	1,66	2102,2
3	1,72	5,32	9,15	5,96	1,53	457,27
4	1,40	30,47	42,59	27,04	1,76	2129,6
5	1,61	4,20	6,75	3,83	1,57	337,27

Hasil sekuensing yang didapatkan dari PT. Genetika Sains dianalisis dengan data serupa yang tersedia di *Gen bank* menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Hasil dari program BLAST memberikan data grafik yang menunjukkan tingkat homologi dari dua sekuen atau lebih, Sogandi (2018) menjelaskan bahwa BLAST adalah suatu program analisa penyejajaran untuk mengetahui kemiripan dua sekuen ataupun lebih. Hasil analisis berdasarkan program BLAST pada tabel 4.8 diketahui bahwa skor tertinggi adalah *Annulohyphoxylon stygium* dengan nilai *query coverage* tertinggi yaitu mencapai 97%, hal ini menunjukkan bahwa nukleutida isolat JI4 memiliki homogenitas yang paling mirip dengan sekuen yang dicari. Sogandi (2018)

menjelaskan bahwa *query coverage* adalah presentasi dari panjang nukleotida yang selaras dengan database yang terdapat pada BLAST.

Tabel 4. 8 Hasil Analisis Penyejajaran BLAST Untuk Nilai Lima Tertinggi Antara Isolat JI4 Dengan Data Gen Bank

No	Jenis Isolat	Query Coverage	Percent Identity
1	<i>Annulohypoxyton stygium</i> <i>isolate EF2</i>	97%	98,43%
2	<i>Annulohypoxyton stygium</i> <i>isolate MG2J2</i>	97%	98,43%
3	<i>Annulohpoxyton sp.</i> <i>Strain ICMP 18216</i>	97%	98,43%
4	<i>Annulohpoxyton sp.</i> <i>Isolate P2-16</i>	97%	98,43%
5	<i>Annulohpoxyton sp.</i> <i>Isolate 18WL131</i>	97%	98,43%

Berdasarkan data yang telah didapatkan dari hasil analisis penyejajaran BLAST, isolat JI4 memiliki tingkat kemiripan 98,43% dengan spesies *Annulohypoxyton stygium*. Menurut Sogandi

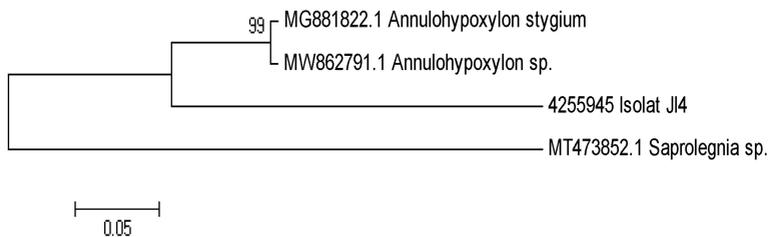
(2018) nilai *max identity* adalah nilai tertinggi dari presentase identitas atau kecocokan antar sekuen *query* dengan database yang disejajarkan. Nilai *max identity* diatas 97% menandakan bahwa isolat memiliki tingkat homologi yang tinggi dan merupakan spesies yang sama (Kwasna, 2008). Pada hasil BLAST juga menunjukkan Hasil *E-value* 0.0 dimana angka ini mengindikasikan adanya keidentikan antara sampel dengan data, *E-value* adalah nilai ukuran statistik yang signifikan antara kedua sekuen. Jika *E-value* menunjukkan nilai yang tinggi maka homologi kedua sekuen termasuk rendah, sedangkan semakin rendah nilai *E-value* maka homologi antara kedua sekuen semakin tinggi. Nilai *E-value* yang bernilai 0 maka menunjukkan kedua sekuen tersebut identik (Claverie, 2003).

Hasil sekuensing menunjukkan bahwa hasil identifikasi isolat J14 secara molekuler sama dengan hasil identifikasi secara morfologi. Hasil identifikasi morfologi yang didasarkan pada struktur makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa isolat J14 menyerupai genus *Annulohyphoxylon* dan berdasarkan hasil sekuensing menunjukkan *Annulohyphoxylon stygium*. Pentingnya identifikasi molekuler dilakukan karena struktur mikroskopis isolat yang tidak terlihat dengan jelas saat pengamatan akan

menimbulkan hasil identifikasi yang tidak akurat. Hal tersebut senada dengan Hyde *et al.*, (2016) dalam Senanayake *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa identifikasi berbasis morfologi pada jamur (fungi) terkadang tidak dapat menghasilkan hasil yang akurat dikarenakan karakter yang tumpang tindih, terjadinya plastisitas fenotip tingkat tinggi, spesies samar dan adanya perbedaan morfologi taksa dikarenakan faktor lingkungan. Penelitian Wijayawardene *et al.*, (2014) juga menambahkan bahwa spesies samar merujuk pada spesies jamur yang terlihat sama secara morfologi namun berbeda secara genetik yang mana terjadi pada penelitian ini. Isolat JI4 secara morfologi serupa dengan *Annulohyphomyces* dan dikuatkan dengan analisis secara molekuler yang menunjukkan *Annulohyphomyces stygium*.

Hubungan antara kedua spesies tersebut juga bisa dilihat dari analisis *p-distance* dan rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan *software* MEGA 5. Dalam jurnalnya Yuniarti (2017) menjelaskan bahwa analisis *p-distance* dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan berdasarkan jarak genetik dari basa nukleotidanya, semakin kecil jarak genetik maka semakin besar similiaritas antar sampel dengan masing-masing individu yang menjadi spesies pembanding. Rekonstruksi pohon filogenetik

bertujuan untuk mengetahui hubungan antara organisme dengan tepat serta mengestimasi perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya (Sogandi, 2018). Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat JI4 berada di cabang yang lebih dekat dengan *Annulohypoxyylon stygium* (Gambar 4.8), dimana hal tersebut menunjukkan bahwa isolat JI4 memiliki kekerabatan dekat dengan *Annulohypoxyylon stygium*. Diperkuat dengan data hasil BLAST yang menunjukkan nilai homologi >200, grafik berwarna merah, nilai Query coverage 93% dan nilai max identity 99,76%, dapat disimpulkan bahwa isolat JI4 dengan *Annulohypoxyylon stygium* memiliki kemiripan identik.



Gambar 4. 7 Rekonstruksi pohon filogenetik isolat JI4 metode Neighbor joining, bootstrap 1000 pengulangan berdasarkan nilai p-distance basa-basa nukleotida rDNA ITS.

Nilai *bootstrap* dapat dijadikan dasar penentuan kestabilan untuk cabang pohon filogenetik, percabangan yang stabil berarti akurat dan pohon filogenetik tidak akan berubah. Osawa (2004) menjelaskan bahwa konstruksi pohon filogenetik dikatakan stabil jika nilai *bootstrap* diatas 90%, sedangkan nilai dibawah 70% dianggap rendah. Metode yang digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik adalah metode *Neighbor joining* dengan analisis *bootstrap* menjadi metode terbaik dalam mengevaluasi hubungan kekerabatan berbasis jarak.

Berdasarkan penelitian ini telah diketahui ada beberapa mikroba yang hidup patogen di lingkungan perairan budidaya ikan hias, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui penyebab terjadinya penyakit insang busuk yang dapat menjadi edukasi bagi para pembudidaya ikan hias. Melakukan penelitian ini merupakan sebuah implementasi amal kebaikan karena memberikan dampak kebaikan dan edukasi yang bermanfaat bagi manusia dan lingkungan. Hal tersebut sesuai dengan firman Allah SWT dalam surah An-Nahl ayat 97.

مَنْ عَمِلَ صَالِحًا مِّنْ ذَكَرٍ أَوْ أُنْثَىٰ وَهُوَ مُؤْمِنٌ فَلَنُحْيِيَنَّهٗ حَيٰوةً طَيِّبَةً وَلَنَجْزِيَنَّهُمْ أَجْرَهُمْ بِأَحْسَنِ مَا كَانُوا يَعْمَلُونَ

*Artinya: "Barangsiapa mengerjakan kebaikan, baik laki-laki maupun perempuan, dalam keadaan iman, maka pasti akan kami berikan kepadanya kehidupan yang baik dan kami beri balasan dengan pahala yang lebih baik dari apa yang telah mereka kerjakan." (QS. An-Nahl: 97).*

Kementrian Agama melalui tafsir tematiknya menjelaskan bahwasanya Allah SWT telah memberikan janji kepada hamba-Nya baik laki-laki ataupun perempuan akan diberikan kehidupan yang bahagia dan sejahtera jika melakukan amal soleh dan kebaikan. Lebih tepatnya dijelaskan bahwa amal sholeh yang dimaksud berupa semua amal dan perilaku yang sesuai petunjuk Al-Qur'an dan Sunnah Rasul yang dilakukan dengan hati yang penuh dengan keimanan (Kemenag, 2014). Meneliti sebuah kejadian yang ada di alam dapat memberikan dampak baik bagi kehidupan sekitar, dari penelitian ini bisa mengedukasi manusia agar selalu belajar tentang apapun itu bahkan sampai hal sekecil apapun. Memberikan dampak positif dan edukasi bagi warga juga merupakan salah satu contoh amal sholeh, manusia di anugerahi akal bertujuan agar manusia dapat mengolah bumi dan mencegah kerusakan alam dan salah satunya juga dari serangan penyakit yang merugikan. Maha suci Allah SWT dengan segala firman-Nya.

## **BAB V PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat 5 jenis isolat jamur patogen yang berhasil diisolasi dari insang ikan Koi yang terinfeksi yaitu: JI1, JI2, JI3, JI4 dan JI5. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat JI1 adalah *Penicillium* sp, isolat JI2 dan isolat JI3 adalah *Aspergillus* sp, isolat JI4 adalah *Annulohyphoxylon stygium* dan isolat JI5 adalah *Penicillium* sp.
2. Jamur patogen dengan infeksius tertinggi terhadap ikan Koi (*Cyprinus carpio*) adalah isolat JI4 yaitu *Annulohyphoxylon stygium*.

### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian lebih lanjut diharapkan analisis sekuensing dilakukan pada seluruh sampel untuk membuktikan keakuratan dalam tahap identifikasi mengingat identifikasi jamur berdasarkan morfologi yang masih bersifat subjektif dan kurang akurat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A. A., Noman, M., Muhammad, S. 2018. Biodegradation of Plastics: Current Scenario and Future Prospects for Environmental Safety. *ESPR*. 25(8): 7287–7298.
- Almarhoon, Z. M., Al-Onazi, W. A., Allothman, A. A., Al-Mohaimeed, A. M., & Al-Farraj, E. S. 2019. Synthesis, DNA Binding, and Molecular Docking Studies of Dimethylaminobenzaldehyde-based Bioactive Schiff Bases. *J. Chem.* 2019: 1-14.
- Al-Mubarak, Ahmad Zaki. 2006. *Pendekatan Strukturalisme Linguistik dalam Tafsir Al-Qur'an Kontemporer "ala" M. Shahrur*. Yogyakarta : eLSAQ
- Al-Niaaem, K. S., Ameen, F., Hatamleh, A., & Bakri, M. 2015. *Isolation and identification of pathogenic jamur on Oreochromis aureus (Steindachner, 1864) in the University of Basrah fish ponds.*
- Alsohaili, S. A., & Bani-Hasan, B. M. 2018. Morphological and Molecular Identification of Fungi Isolated from Different Environmental Sources in the Northern Eastern Desert of Jordan. *Jordan J. Biol. Sci.* 11(3): 329–337.
- Andayani, S., Suprastyani, H., Gumala, GDA., Oktava, U., Fatikah, NM., Wahyudi, M., Farida, A., Pratama, R. 2017. *Pengaruh Pemberian Bakteri Lactobacillus plantarum Terhadap Histopatologi dan Hematologi Ikan Patin Jambal (Pangasius djambal) yang Diinfeksi Bakteri Edwardsiella tarda.* *Jurnal of Fisheries and Mariene Science.* 1 (4)
- Ath-Thabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2009. *Jami' Al-Bayan an Ta'wil Ayi Al-Qur'an*, penerjemah: Abdul Somad, Yusuf Hamdani, dkk, jilid 3, 12, 13, 21, Jakarta: Pustaka Azzam

- Bachtiar, Y. 2002. Mencemerlangkan warna Koi. Agromedia Pustaka. Bogor. Hal 72.
- Bechem, E. T., & Afanga, Y. A. 2018. Morphological and Molecular Identification of Fungi Associated with Corm Rot and Blight Symptoms on Plantain (*Musa paradisiaca*) in Macro-propagators. *IJBACS*. 11(6): 2793.
- Becker, K., Wessel, A. C., Luangsa-Ard, J. J., & Stadler, M. (2020). Viridistratins A– C, antimicrobial and cytotoxic benzo [j] fluoranthenes from stromata of *Annulohyphoxylon viridistratum* (Hypoxylaceae, Ascomycota). *Biomolecules*, 10(5), 805.
- Bouhri, Y., Askun, T., Tunca, B., Deniz, G., Aksoy, S. A., & Mutlu, M. (2020). The orange-red pigment from *Penicillium mallochii*: Pigment production, optimization, and pigment efficacy against Glioblastoma cell lines. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101451.
- Chitarra, G. S., Abee, T., Rombouts, F. M., Posthumus, M. A., & Dijksterhuis, J. (2004). Germination of *Penicillium paneum* conidia is regulated by 1-octen-3-ol, a volatile self-inhibitor. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 2823-2829.
- Claverie JM. Notredame C. 2003. Bioinformatics for Dummies. Indianapolis: Wiley Publishing.
- Coton, E., Coton, M., Hymery, N., Mounier, J., & Jany, J. L. (2020). *Penicillium roqueforti*: an overview of its genetics, physiology, metabolism and biotechnological applications. *Fungal Biology Reviews*, 34(2), 59-73.
- Deacon, J. W. 2006. Fungal Biology 4th Edition. Blackwell Publishing (4th ed.).
- Debasi, T., Al Bekairy, A. M., Alkatheri, A. M., Al-Ferayan, Y. A., Al-Fakhri, A. S., & Alenazi, T. 2016. A Successfully Treated Case of *Aspergillus Flavus* Fungal Keratitis

Caused by Stale Bread Corneal Injury Tariq. *Am. J. Med. Case Rep.* 4(1): 5–7.

Dijksterhuis, J. (2019). Fungal spores: Highly variable and stress-resistant vehicles for distribution and spoilage. *Food microbiology*, 81, 2-11.

Doyle., J.J. & Doyle J.L. 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin.* 19:11-15.

Fatchiyah, E.L., Arumingtyas S., Widyarti, & Rahayu, S. 2011. Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis. Jakarta. Penerbit Erlangga.

Gandjar, I. (2006). *Mikologi dasar dan terapan.* Yayasan Obor Indonesia.

Gandjar, I., Robert A. S., Karin V. D. Ariyanti O., Iman S. 1999. Pengenalan Kapang Tropik Umum. Jakarta. Yayasan Obor Indonesia.

Garibyan, L., & Avashia, N. 2013. Polymerase Chain Reaction. *J. Invest.Dermatol.*133(3):1–4.

Haikal, F.L dan Mulyana, 2008. Koi. Penebar Swadaya. 184 hal

Harahap, A. P. L. (2018). Isolasi *Aspergillus sp.* pada paru-paru ayam broiler. Isolation of *Aspergillus sp.* from the lung of broiler. *ETD Unsyiah.*

Hastuti, Y. P. 2011. Nitrifikasi dan denitrifikasi di tambak Nitrification and denitrification in pond. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 10(1), 89-98.

Huang, X., Duan, N., Xu, H., Xie, T. N., Xue, Y. R., & Liu, C. H. 2019. Erratum: "CTAB-PEG DNA Extraction from Jamur with High Contents of Polysaccharides." *Mol.Biol.*53(4):624.<https://doi.org/10.1134/S0026893319080016>.

Hussain, M. J., & Kadhim, B. S. 2020. Histological alterations of

gills in common CARP (*CYPRINUS CARPIO L.*) Infected by branchiomycosis. Vol. 23. issue 24.

- Hyde KD, Hongsanan S, Jeewon R, Bhat D et al. 2016 – Fungal diversity notes 367–490: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Divers* 80, 1–270.
- Ibrahim, K. S. (2011). Isolation and pathological study of Branchiomycosis from the commercial pond of common carp (*Cyprinus carpio*) fish, in Governorate of Duhok/Iraq. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine (ISSN-P: 1609-5693 ISSN-E: 2410-7409)*, 35(1), 1-9.
- Ibrahim, K. S. (2011). Isolation and pathological study of Branchiomycosis from the commercial pond of common carp (*Cyprinus carpio*) fish, in Governorate of Duhok/Iraq. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine (ISSN-P: 1609-5693 ISSN-E: 2410-7409)*, 35(1), 1-9.
- Ibtisam, A. M. K. A. N., Hussein, M., & Abed, A. R. A. 2019. Comparative study between the pollution of eupharates river water and the drainage water and their effects on branchiomycosis sanguinis growth.
- Indrawati, I., & Fakhrudin, S. D. (2016). Isolasi dan Identifikasi Jamur Patogen pada Air Sumur dan Air Sungai di Pemukiman Warga Desa Karangwangi, Cianjur, Jawa Barat. *Jurnal biodjati*, 1(1), 27-38.
- Iqbal, Z., & Sajjad, R. 2013. Some pathogenic jamur parasitizing two exotic tropical ornamental fishes. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15(3).
- Juniati, K., Amir, S., & Mukhlis, A. (2015). PENGARUH KONSENTRASI ZOOSPORA TERHADAP PREVELENSI INFEKSI *Saprolegnia* spp. PADA IKAN NILA *Oreochromis niloticus*. *Jurnal Perikanan*, 7(2), 1-8.
- Kim, H. J., Park, J. S., Kim, S. Y., Koo, J. G., Bang, I. C., & Kwon, S. R. (2013). Identification of water mold from wild brook

- lamprey, Lethenterone reissneri. *Journal of fish pathology*, 26(1), 39-44.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35(6): 1547–1549.
- Kusdarwati, R., Meles, D. K., & Ratnaningtyas, A. (2013). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L) terhadap Saprolegnia sp. Secara In Vitro [Antifungal Activities Test Of Betel Leaf Extract (Piper betle L) On Saprolegnia sp. By In Vitro]. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 5(1), 15-22.
- Kusdarwati, R., Sudarno, S., & Hapsari, A. (2016). Isolasi dan Identifikasi Fungi pada Ikan Maskoki (Carassius auratus) di Bursa Ikan Hias Gunung Sari Surabaya, Jawa Timur [Isolation and Indentification of Fungi on the Gold Fish (Carassius auratus) in the Fish Market Gunung Sari Surabaya East Java]. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 8(1), 1-15.
- Kwaśna, H., Bateman, G. L., & Ward, E. (2008). Determining species diversity of microfungal communities in forest tree roots by pure-culture isolation and DNA sequencing. *Applied Soil Ecology*, 40(1), 44-56.
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. 2012. Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Jove-J. Vis. Exp.* 62: 1–5.
- Maciel, O. M. C., Tavares, R. S. N., Caluz, D. R. E., Gaspar, L. R., & Debonsi, H. M. (2018). Photoprotective potential of metabolites isolated from algae-associated fungi *Annulohyphoxylon stygium*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 178, 316-322.
- Mulyani, Y., Bachtiar, E., & Agung, M. U. K. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove

- terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika*, 4(1).
- Mulyatni, A. S., Priyatmojo, A., & Purwantara, A. 2011. Sekuen Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA ribosomal *Oncobasidium theobromae* dan Jamur Sekerabat Pemanding. 79(1). 1–5.
- Mulyawati, C., Salmawati, S., Subianto, M., & Wafdan, R. 2017. Molecular Identification of *Shorea johorensis* in Ketambe Research Station, Gunung Leuser National Park. *Jurnal Natural*. 17(2): 69.
- Nasution, Mahyuddin KM. "Pangkalan data untuk rangkaian DNA." *Al-Khawarizmi: Journal of Computer Science* 1.2 (2005): 7-12.
- Nyström, B., Kjøniksen, A. L., Beheshti, N., Zhu, K., & Knudsen, K. 2009. Rheological and Structural Aspects on Association of Hydrophobically Modified Polysaccharides. *Soft Matter*. 5(7): 1328–1339.
- Osawa, H., Yamada, K., Onuma, H., Murakami, A., Ochi, M., Kawata, H., ... & Makino, H. (2004). The G/G genotype of a resistin single-nucleotide polymorphism at- 420 increases type 2 diabetes mellitus susceptibility by inducing promoter activity through specific binding of Sp1/3. *The American Journal of Human Genetics*, 75(4), 678-686.
- Pamungkas, W., & Khasani, I. (2010). PERANAN FUNGI DALAM AKUAKULTUR PENDAHULUAN Di dalam dunia mikrobia, jamur termasuk divisio Mycota. Mycota. *Media Akuakultur*, 5(1), 32-37.
- Papilon, U.M. 2017. *Ikan Koi*. Penebar swadaya
- Post, G. 1987. Text of fish health. United states of Amerika. TFH Publication. 288 hal.
- Prabha, T. R., Revathi, K., Vinod, M. S., Shanthakumar, S. P., &

- Bernard, P. 2013. A simple Method for Total Genomic DNA Extraction from Water Moulds. *Curr. Sci.* 104(3): 345–347.
- Praja, R. N., & Yudhana, A. (2017). Isolasi dan Identifikasi *Aspergillus* spp. pada Paru-Paru Ayam Kampung yang Dijual di Pasar Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(1), 6-11.
- Priadie, B. 2012. Teknik bioremediasi sebagai alternatif dalam upaya pengendalian pencemaran air. *Jurnal ilmu lingkungan*, 10(1), 38-48.
- Prihartini, N. C., & Alfiah, A. (2017). MYXOSPOREASIS IN KOI (*Cyprinus carpio*). *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 8(1), 06-10.
- Qadr, N., & Abdulla, F. 2018. The Some Physiological and Nutritional Factors that affect the growth of Some Fungi. *ZJPAS*. 30(5).
- Raihan, A., Rahman, A., & Mohammad, A. S. 2016. Genomic DNA Extraction Method from *Trichoderma* Spp. Colonies without The Use of Phenol. *IJIR*. 2(4): 2454–1362.
- Rampersad, S. N. 2014. ITS1, 5.8S And ITS2 Secondary Structure Modelling for Intra-Specific Differentiation among Species of The *Colletotrichum gloeosporioides* Sensu Lato Species Complex. *Springerplus*. 3(1): 1–10.
- Rifqiyati, N., Luthfi, M. J. F., & Miftah, A. N. 2017. Gambaran Histologi Insang Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) yang Terinfeksi Ektoparasit *Argulus* sp. *bionature*, 18(1).
- Rosana, Y., Tetsuhiro Matsuzawa, Tohru Gono & Anis Karuniawati. 2014. Modified Slide Culture Method for Faster and Easier Identification of Dermatophytes. *Microbiol Indones*. 8(3): 135-139.

- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2006). Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2006(1), pdb-prot4455.
- Sannin, H. 1984. Taksonomi dan kunci identifikasi 1. Binacipta, Bandung. 245hal.
- Senanayake, I. C., Rathnayaka, A. R., Marasinghe, D. S., Calabon, M. S., Gentekaki, E., Lee, H. B., ... & Xiang, M. M. (2020). Morphological approaches in studying fungi: collection, examination, isolation, sporulation and preservation. *Mycosphere*, 11(1), 2678-2754.
- Shihab, M. Quraish. 2012. Tafsir al-Mishbah Volume 9. Jakarta. Lentera Hati.
- Sigler, L., J.W Chamichael. 1983. Redisposition of Some Jamur Reffered Tp Oidium Microspermum and a review Authographics. *Microbiologi* 18:495-507.
- Sir, E. B., Kuhnert, E., Hladkil, A. I., & Romero, A. I. (2018). Annulohypoxylon (Hypoxylaceae) species from Argentina. *Darwiniana*, 6(1), 68-83.
- Skutkova, H., Vitek, M., Krizkova, S., Kizek, R., & Provaznik, I. (2013). Preprocessing and classification of electrophoresis gel images using dynamic time warping. *Int J Electrochem Sci*, 8(2), 1609-1622.
- Sogandi, S. 2018. Biologi Molekuler Identifikasi Bakteri Secara Molekuler. Jakarta Utara: Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.
- Suchowersky, O. 2013. BioEdit: An important Software for Molecular Biology. *Can. J. Neurol. Sci.* 40(1): 1–2.
- Sukmawati, D., Saidah, N., Handayani, K. T., & Rahayu, S. (2018). The characteristics of fungi contaminating chicken feed in Tegal, Bogor, West Java. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 6(4), 472-480.

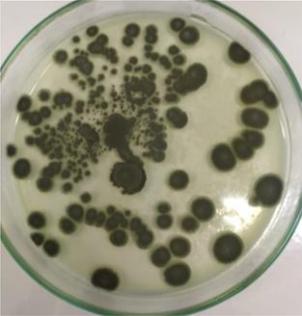
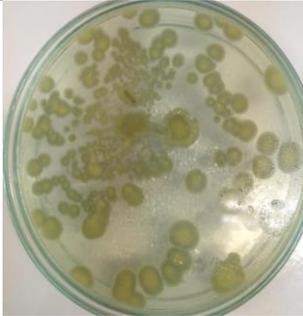
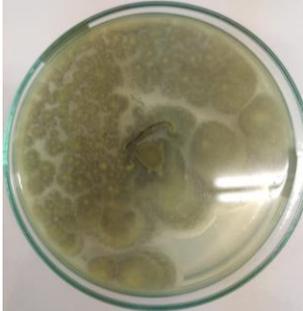
- Suprpto, H. 2013, Patologi ikan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 95.
- Susanto, H. 2001. Koi. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 77.
- Suwarnito, 2011. Diagnosa penyakit ikan menggunakan sistem pakar (Diagnosing fish disease using expert system). *JUITA*, 1 (4) :131.
- Tawab, A., Elhofy, F., Moustafa Moustafa, E., & Halawa, M. 2020. Isolation and Molecular Identification of *Aspergillus* Species from Cultured Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *BVMJ*. 38(2),136–140.
- Umesha, S., Manukumar, H. M., & Raghava, S. 2016. A Rapid Method for Isolation of Genomic DNA from Food-Borne Fungal Pathogens. *3 Biotech*. 6(2).
- Utami, DP., Gumilar, I., dan Sriati. 2012. Analisis Bioekonomi Penangkapan Ikan Layur (*Trichirus* sp) di Perairan Parigi Kabupaten Ciamis. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 3 (3): 137-144
- Wahyuningsih, S. P. A. (2006). Penggunaan Formalin untuk Pengendalian Saprolegniasis pada Telur Ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.). *Berkala Penelitian Hayati*, 11(2), 167-171.
- Wang, X. C., Chen, K., Zeng, Z. Q., & Zhuang, W. Y. (2017). Phylogeny and morphological analyses of *Penicillium* section *Sclerotiora* (Fungi) lead to the discovery of five new species. *Scientific reports*, 7(1), 1-14.
- Watanabe, Tsuneo. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species 2th Edition. New York. CRC Press.
- Wijayawardene NN, Hyde KD, Bhat DJ, Camporesi E et al. 2014 – *Camarosporium*-like species are polyphyletic in Pleosporales; introducing *Paracamarosporium* and *Pseudocamarosporium* gen. nov. in Montagnulaceae. *Cryptogam Mycol* 35(2), 177–198.

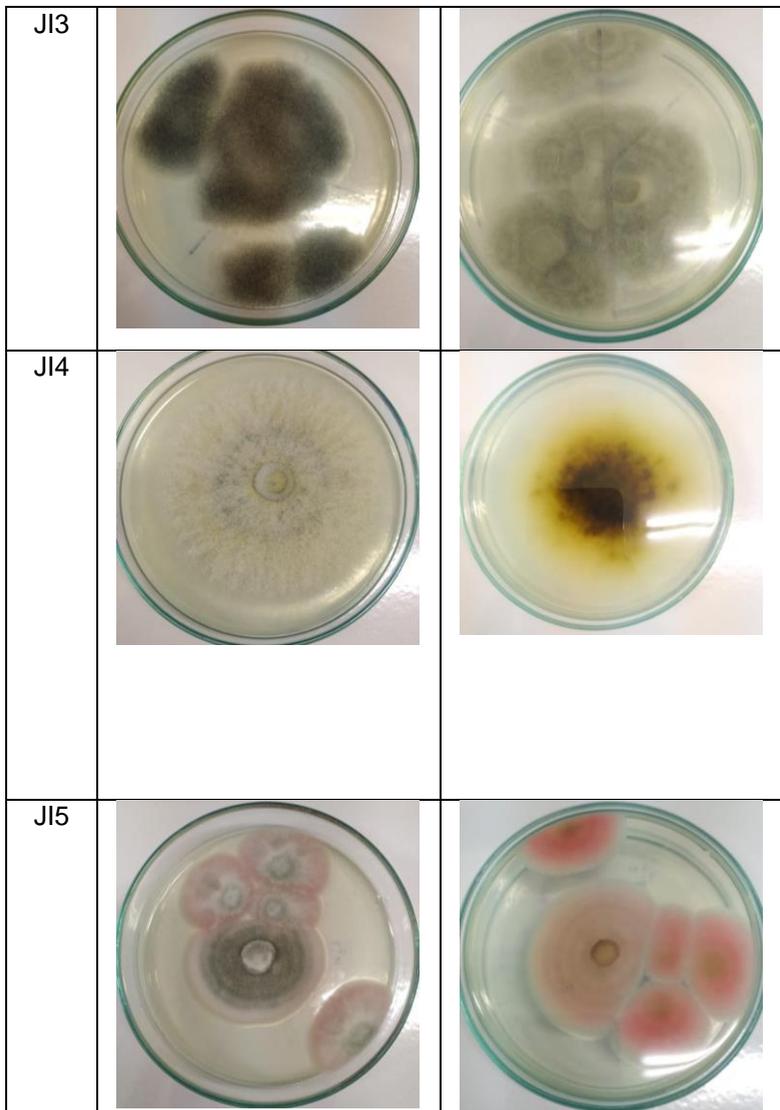
- Yuniarti, H., S, Bambang Cholis, & Rinanti, A. 2016. Diagram Filogenik Hasil Sekuens Basa Dna Menggunakan Program Mega-7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis). *Penelitian Dan Karya Ilmiah*. 1(2): 109–117.
- Zheng, W., Zhao, X., Xie, Q., Huang, Q., Zhang, C., Zhai, H., ... & Wang, Z. (2012). A conserved homeobox transcription factor Htf1 is required for phialide development and conidiogenesis in *Fusarium* species.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. 1. Hasil Pemurnian Isolat Jamur

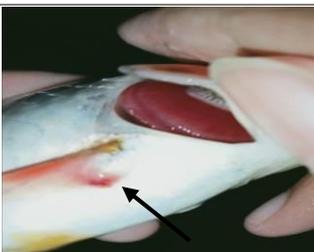
Hasil isolasi jamur dari budidaya ikan koi Jabung Malang diperoleh lima isolat dengan penampakan morfologi sebagai berikut:

Kode	Tampak depan	Tampak belakang
J11		
J12		



## Lampiran 1. 2 Uji infeksius patogen oleh isolat jamur

Uji infeksius patogen dilakukan dengan melakukan percobaan kepada ikan sehat dengan masa waktu inkubasi tiga minggu oleh isolat jamur.

Kode	Sebelum	Sesudah
Isolat		
JI1		
JI2		
JI3		

J14



J15



## Lampiran 1. 3. Karakterisasi morfologi isolat

Hasil karakterisasi morfologi isolat yang diisolasi disajikan dalam tabel berikut:

Karakter	Isolat JI1	Isolat JI2	Isolat JI3	Isolat JI4
Permukaan atas koloni	Tekstur seperti serbuk, halus, berwarna hijau tua dengan tepi berwarna putih yang muncul pada hari ke 7.	Berwarna hitam, koloni menyebar dan bertekstur kasar.	Memiliki tekstur yang lembut, berwarna hitam dan menyebar merata.	Memiliki tekstur berserabut dan berwarna putih kekuningan.
Sisi balik	Putih kekuningan.	Putih kehitaman.	Putih kegelapan	Hitam kekuningan.
Ukuran	Membentuk koloni menyebar.	koloni menyebar	Membentuk koloni yang tidak terpisah	Menyebar keseluruhan media.
Lingkaran konsentris	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Ada
Hifa	Bersekatan dan bercabang	Bersekatan dan tidak bercabang, konidiofor memanjang	Bersekatan dan bercabang, memanjang dan pada bagian	Bersekatan dan bercabang, memanjang dan pada bagian ujungnya mengembang

		ng dan menggembung pada bagian ujungnya membentuk vesikula bulat.	ujungya mengembang membentuk vesikula bulat.	membentuk vesikula bulat.
Konidia/ Spora	Konidia berbentuk bulat dan bergerombol pada phialid	Konidia berbentuk lonjong menggerombol pada vesikula.	Konidia berbentuk bulat dan menggerombol pada vesikula.	Hifa bercabang, berwarna transparan dan bersekat, ujung konidiofora membentuk percabangan.
Dugaan isolat	Penisilium	Aspergillus	Aspergillus	<i>Annulohyphoxylon</i>

## Lampiran 1. 4 Hasil sequencing

Hasil sekuensing adalah sebagai berikut:

>4255945\_4\_ITS\_1

```
GGAATTCAAACCTCCAACCCTTTGTGAACCTACCTATGTTTCCT
CCGGCGTACCGCTTTAGCCTACCCACAGGGCTCCCCTAAGG
GGGGGTTCTGCTGGGAGGTGCCTGAGTGCTACCCATCCTTC
GGGGTACGGTTAGTGCAAGTGAAGGTGCTGACCAAGGCCTC
GGCGGCGCCGAGTAGGACCGCTCCAAACTTAAGCACCTAGT
GCATCCAACCCCGCGTTGAACAACCTATCGAAAATCTGCTTTT
GCTTTTTTTCTTTACGCTAAAACGTCTTTCTGGTTGGAATTA
TTGCTCGAAATAATAATTTCTTTACCCTGCAGTCGTTTGTTC
CAAGCTACAATATCTGCTCGAAAATTGTTCAAAGCTCTGAGG
GGTCTGAATGAATTCATAAAATTGGCAAAGCCACCTATAAA
CTACGGTTCTTATGGGGTGATCAAACCAAGGTTTTAAAAACC
AAATACATTAATACTTTCAACAACGAATCTCTTGGGTCTGGCA
GCGATTAATAACTCTTGCCA
```

>4255948\_4\_ITS\_4

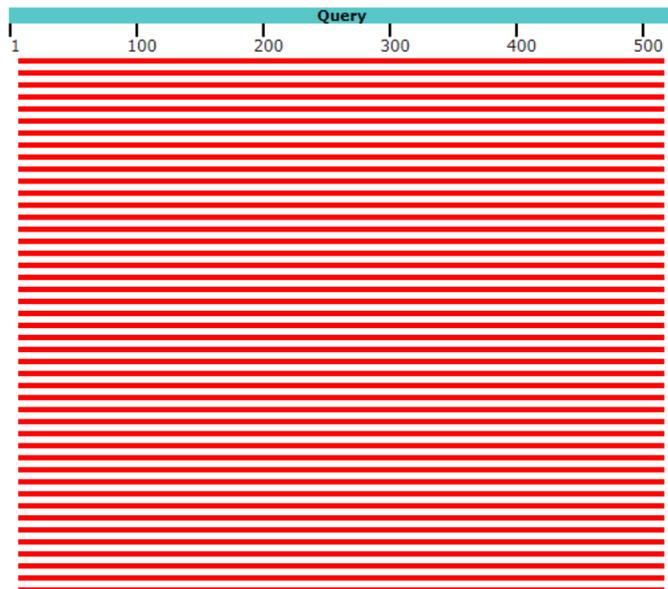
```
CCGTTGGTTCTACCTAATCCGAGGTCAACCACTATAAGTTAT
AGGGGGTTTTACGGCAAGCAGCTACAGCCTCCCTGAAAGCG
AGTTAAACTACTACGCTTAGAGTGTGCTATAACCCCGCCACT
AAATTTAAGGAACCTACCCTCAGTGAGGGGTAGATCCCAAC
GCTAAGCTACAAGGCTTAAGGGTTGTAATGACGCTCGAATAG
GCATGCCCACTAGAATACTAATGGGCGCAATGTGCGTTCAA
GATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCG
CATTTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCC
GTTGTTGAAAGTTTTAACGTATTTGGTTTTTAAACCTTGGTT
TGATCACCCCTAAGAACCGTAGTTTATAGGTGGCTTTTGCC
AATTTTATGAATTCATTCAGACCCCTCAGAGCTTTGAACAATT
TTCGAGCAGATATTGTAGCTTGAAAACAAACGACTGCAGGGT
AAAGAAATTATTATTTTCGAGCAATAATTCCAACCAGGAAAGAC
GTTTTAGCGTAAAGAAAAAAGCAAAAGCAGATTTTCGATAG
TTGTTCAACGCGGGGTTGGATGCACTAGGTGCTTAAGTTTG
GAGCGGTCCTACTCGGCGCCGCGGAGGCCTTGGTCAGCAC
CTTCACTGCACTAACCGTACCCCGAAGGATGGGTAGCACTC
AGGCACCTCCCCAGCAGAACCCCCCTTAGGGGAGCCCTGT
```

GGGTAGGCTAAAGCGGTACGCCGGAGGAAACATAGGTAGG  
TTCACAAAGGGTTGGAGTTTTTGATAACTCAGTAATGATCCC  
TCCGCAGGTTACCTACGGAAGGGGAGGGATCATTANTGAG  
TTATCAAAAACCCACCTTTGGGAAACTACCTTTGTTTCCTCG  
GGTACGCTTACC

### Lampiran 1. 5 Hasil grafik BLAST

Analisis BLAST memberi data berupa grafik yang menunjukkan tingkat homologi kedua sekuen. Hasil analisis BLAST penelitian ini menunjukkan warna merah dan memiliki nilai >200. Hal ini menandakan bahwa dua sekuen yang dibandingkan sama dan memiliki hubungan evolusi yang erat (Sogandi, 2018). Grafik homologi dapat dilihat pada gambar berikut:

**Distribution of the top 100 Blast Hits on 100 subject sequences**





Lampiran 1. 7 *Pemeriksaan kondisi air di lapangan*





KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Fikron  
NIM : 17620011  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Genap TA 2020/2021  
Pembimbing  
Judul Skripsi : Dr. H. M. Imamudin L.c., M.A.

: ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PATOGEN PADA INSANG KOI (Cyprinus carpio) DI JABUNG KABUPATEN MALANG BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN MOLEKULER ITS (Internal Transcribed Spacer)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	28/2/2021	Integrasi BAB I	<i>[Signature]</i>
2.	09/03/2021	Revisi	<i>[Signature]</i>
3.	12/03/2021	ACC Proposal	<i>[Signature]</i>
4.	06/09/2021	Konsultasi Naskah Skripsi	<i>[Signature]</i>
5.	17/09/2021	Revisi Naskah Skripsi 1	<i>[Signature]</i>
6.	24/09/2021	Revisi Naskah Skripsi 2	<i>[Signature]</i>
7.	27/09/2021	Revisi Naskah Skripsi 3	<i>[Signature]</i>
8.	01/10/2021	ACC Naskah Skripsi	<i>[Signature]</i>

Pembimbing Skripsi,

*[Signature]*

Dr. H. M. Imamuddin L.c., M.A  
NIP. 1974060220090110110



10 November 2021  
Pembimbing Studi,

*[Signature]*  
D. Suci Savitri, M.P  
NIP. 198108182003122002



KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
 PROGRAM STUDI BIOLOGI  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Fikron  
 NIM : 17620011  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Genap TA 2020/2021  
 Pembimbing : Dr. Kiptiyah, M.Si  
 Judul Skripsi : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI JAMUR PATOGEN PADA INSANG KOI (Cyprinus carpio) DI JABUNG KABUPATEN MALANG BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAN MOLEKULER ITS (Internal Transcribed Spacer)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	01/03/2021	Konsultasi BAB I-III	A
2.	22/04/2021	Pengajuan Proposal Skripsi	F
3.	21/06/2021	Konsultasi Data Penelitian	F
4.	06/09/2021	Konsultasi Naskah Skripsi	F
5.	24/09/2021	Revisi Naskah Skripsi	F
6.	25/09/2021	ACC	F
7.			
8.			
9.			
10.			

Pembimbing Skripsi,

Dr. Kiptiyah, M.Si  
 NIP. 197310052002122003



Dr. Fikron Sandi Savitri, M.P  
 NIP. 197710182003122002