

**KLASIFIKASI STRAIN ANGGOTA GENUS *Pseudomonas*  
DENGAN METODE TAKSONOMI NUMERIK**



**OLEH :  
Dr. MARIA MASSORA, S.Si., M.Sc**

**UNIVERSITAS PAPUA  
MANOKWARI  
2021**

## DAFTAR ISI

	<i>Halaman</i>
1. PENDAHULUAN.....	1
2. CARA KERJA.....	4
2.1.Strain-Strain yang Digunakan.....	4
2.2.Koleksi Data.....	5
2.3.Pengkodean Data.....	5
2.4.Analisis Komputer.....	6
2.5.Hasil.....	6
2.5.1.Data Unit Karakter Fenotipik .....	6
2.5.1.Indeks Similaritas.....	6
2.5.3.Konstruksi Dendogram.....	12
2.5.4 Evaluasi Dendogram Dengan Analisis Korelasi Kofenetik.....	12
2.5.5. Deteksi Phen.....	12
3. PEMBAHASAN.....	17
3.1.Penglasteran Berdasarkan Simple Matching Coeficient( $S_{SM}$ ) .....	17
3.2.Penglasteran Berdasarkan Jaccard Coeficient( $S_J$ ).....	18
3.3. Perbandingan Antara Penglasteran Dengan Menggunakan $S_{SM}$ dan $S_J$	21
4. KESIMPULAN.....	20
Daftar Pustaka.....	21
Lampiran.....	22

## 1. PENDAHULUAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan memperkenalkan prosedur taksonomi numerik-fenetik dalam klasifikasi mikrobial. Taksonomi numerik berkembang pada akhir tahun 1950-an yang merupakan bagian dari analisis multivarian, dan seiring dengan perkembangan computer. Taksonomi numerik didefinisikan oleh Sneath dan Sokal 1973 sebagai pengelompokan unit taksonomi (OTU) ke dalam taksa berdasarkan karakteristik mereka dengan menggunakan metode numerik (Priest & Austin, 1993). Tujuan utama taksonomi numerik adalah untuk menempatkan strain-strain bakteri ke dalam kelompok yang homogen berdasarkan tipe-tipe data fenotipik yang berbeda (Goodfellow & O'Donnel, 1993) sehingga menghasilkan suatu klasifikasi yang bersifat teliti, *reproducible* serta padat informasi.

Pendekatan taksonomi numerik dalam bakteriologi didasarkan pada 5 prinsip Adansonian yang dibuat pada abad 18 oleh seorang ahli botani bernama M. Adanson:

- a. Taksonomi yang ideal adalah taksonomi yang mengandung informasi terbesar yaitu yang didasarkan atas sebanyak-banyaknya karakter.
- b. Masing-masing karakter diberi nilai yang setara dalam mengkonstruksi takson yang bersifat alami.
- c. Tingkat kedekatan antara dua strain (OTU: *Operational taxonomical unit*) merupakan fungsi proporsi similaritas sifat yang dimiliki bersama.
- d. Taksa yang berbeda dibentuk berdasarkan atas sifat yang dimiliki.
- e. Similaritas tidak bersifat filogenetis melainkan bersifat fenetik.

Taksonomi Adansonian membawa kemajuan yang signifikan dalam klasifikasi bakteri. Kontribusi yang utama adalah pada penentuan kelompok yang homogen yang dapat disamakan dengan *taxospecies*, yaitu kelompok bakteri yang memiliki karakter yang sama dengan proporsi yang tinggi. Keunggulan metode taksonomi numerik tergantung pada kapasitasnya untuk memproses data dalam jumlah yang besar pada banyak strain. Semua karakter fenetik yang digunakan mencerminkan bagian, meskipun kecil, seperti genome bakterium. Dalam teori, lebih banyak karakter fenetik yang diuji akan lebih baik untuk mengukur *phenetic relatedness*, dan juga sebagian *genetic relatedness* diantara strain.

Kegiatan praktikum dilakukan dengan menggunakan 25 strain dari genus *Pseudomonas* untuk mengetahui indeks similaritas di antara strain yang di uji dengan melihat hasil uji menggunakan  $S_{SM}$  dan  $S_J$  kemudian dikonstruksi dendogram sesuai

dengan indeks similaritas yang diperoleh agar strain dapat di analisa dalam kelompok-kelompok atau klaster sesuai konsep *taxospecies*.

Karakteristik Anggota genus *Pseudomonas* adalah sebagai berikut:

- Berbentuk batang
- Gram-negatif
- Terdapat satu atau lebih flagel
- Aerobik meskipun beberapa jenis telah ditemukan tdk anaerobes (misalnya *P. aeruginosa*)
- Tidak membentuk spora
- Uji katalase positif

Karakteristik lain yang cenderung terkait dengan *Pseudomonas* spesies (dengan beberapa pengecualian) termasuk keluarnya dari pyoverdin (fluorescein), yang neon kuning-hijau siderophore di bawah besi-pembatasan kondisi. Spesies *Pseudomonas* tertentu juga dapat menghasilkan tambahan jenis siderophore, seperti pyocyanin oleh *Pseudomonas aeruginosa* dan thioquinolobactin oleh *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* juga biasanya memberikan hasil positif untuk tes oxidase, tanpa adanya pembentukan gas dari glukosa, Uji indole negative, Uji Voges Proskauer negatif, garam sitrat positif.

Cukup banyak yang dapat menghasilkan exopolysaccharides yang dikenal sebagai lapisan lendir. Exopolysaccharide membuat *Pseudomonas* sulit untuk diphagositosis oleh sel darah putih mamalia. Pertumbuhan *Pseudomonas* pada makanan menyebabkan kerusakan yang dapat menimbulkan bau. *Pseudomonas* memiliki kemampuan untuk tumbuh pada suhu rendah dan terdapat di mana-mana, sehingga dapat menyebabkan kerusakan susu, keju, daging, dan ikan. Contohnya *P. fragi*, *P. taetrolens* dan *P. mudicolens*, dan *P. lundensis*,

*Pseudomonas* memiliki kemampuan untuk metabolise berbagai beragam gizi. Dikombinasikan dengan kemampuan untuk membentuk biofilms, sehingga mereka mampu bertahan di berbagai tempat tak terduga. Misalnya, mereka telah ditemukan di wilayah-wilayah preparasi obat-obatan. Sebuah sumber karbon sederhana, seperti residu sabun adalah tempat yang cocok bagi *Pseudomonas* untuk berkembang.

Bakteri Gram-negatif, utamanya *Pseudomonas spp*, mempunyai daya tahan terhadap penisilin dan mayoritas beta-lactam antibiotik, tetapi sensitif terhadap piperacillin, imipenem, tobramycin, atau ciprofloxacin.

Kandungan dinding sel yang berisi porins, menyebabkan *Pseudomonas* dapat hidup dalam kondisi yang ekstrim.

Sejak pertengahan tahun 1980-an, beberapa anggota dari genus *Pseudomonas* telah digunakan untuk biji-bijian atau digunakan langsung ke tanah sebagai cara mencegah pertumbuhan patogen tanaman. Praktek ini biasanya disebut sebagai biocontrol. Bakteri yang dapat menimbulkan resistensi sistemik di host tanaman, sehingga dapat lebih baik melawan serangan patogen dengan benar; Spesies *Pseudomonas* dengan biocontrol properti termasuk *P. chlororaphis* yang memproduksi sebuah phenazine jenis antibiotik aktif terhadap agen tertentu fungal patogen tanaman dan terkait erat spesies *P. aurantiaca* yang memproduksi di-2 ,4-diacetylfluoroglucylmethan, sebuah kompleks antibiotically aktif terhadap organism Gram-positif.

Beberapa anggota dari genus *Pseudomonas* dapat digunakan sebagai agen bioremediasi, termasuk diantaranya

- *P. alcaligenes*, yang dapat menurunkan polycyclic aromatik hidrokarbon.
- *P. mendocina*, yang mampu menurunkan toluene.
- *P. pseudoalcaligenes* dapat menggunakan sianida sebagai nitrogen sumber.
- *P. resinovorana* dapat menurunkan carbazole.
- *P. veronii* telah ditunjukkan untuk menurunkan berbagai sederhana aromatik organik memanjang.
- *P. putida* mempunyai kemampuan untuk menurunkan organik solvents seperti toluene. Setidaknya satu strain bakteri ini dapat dikonversi morfin di aqueous ke dalam solusi yang lebih kuat dan cukup mahal untuk pembuatan obat hydromorphone (Dilaudid).
- *P. stutzeri* mampu menurunkan karbon Tetraklorida.

Baru-baru ini berdasarkan analisis sequence 16S rRNA , penggolongan / taksonomi berbagai jenis bakteri ditetapkan ulang. Akibatnya beberapa genus yang sebelumnya digolongkan kedalam genus *Pseudomonas* sekarang digolongkan dalam Genera *Burkholderia* dan *Ralstonia*.

## **2. CARA KERJA**

### **2.1. Strain - Strain yang Digunakan**

Strain yang digunakan dalam penelitian ini ada 25 (n = 25) yang termasuk dalam anggota genus *Pseudomonas* (Tabel 1)

Karakter fenotipik yang digunakan ada 50 (t = 50) yang diambil dari Bergey's Manual of Determinatif Bacteriologi (Holt *et al.*, 1994) dan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Krieg & Holt, 1984). Unit karakter yang digunakan dalam analisis taksonomi numerik disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Daftar strain dan kode strain yang digunakan dalam analisis sistematik numerik

Nama Strain	Kode Strain	Simbol Strain
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10145	A
<i>Pseudomonas fluorescens</i> biovar I		B
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	ATCC 9446	C
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	ATCC 13985	D
<i>Pseudomonas putida</i> biovar A		E
<i>Pseudomonas syringae</i> pathovars	ATCC 19310	F
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	ATCC 13223	G
<i>Pseudomonas cichorii</i>	ATCC 10857	H
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	ATCC 17588	I
<i>Pseudomonas mendocina</i>	ATCC 25411	J
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	ATCC 909	K
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	ATCC 17440	L
<i>Pseudomonas mallei</i>	ATCC 23344	M
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	ATCC 23343	N
<i>Pseudomonas caryophylli</i>	ATCC 25418	O
<i>Pseudomonas cepacia</i>	ATCC 25416	P
<i>Pseudomonas gladioli</i>	ATCC 19302	Q
<i>Pseudomonas pickettii</i>	ATCC 27511	R
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	ATCC 11696	S
<i>Pseudomonas acidovorans</i>	ATCC 15668	T
<i>Pseudomonas testosterone</i>	ATCC 11996	U
<i>Pseudomonas delafieldii</i>	ATCC 17505	V
<i>Pseudomonas facilis</i>	ATCC 11228	W
<i>Pseudomonas saccharophila</i>	ATCC 15946	X
<i>Pseudomonas flava</i>	DSM 619	Y

Tabel 2. Unit karakter yang digunakan dalam Analisis Sistematis Numerik

Unit Karakter	Unit Karakter
<b>Mikromorfologi</b>	<b>Uji Biokimia</b>
Flagella	Protocatechuate,ortho cleavage
PHB Accumulation	Acetate
	Succinate
<b>Aktivitas enzim</b>	Fumarate
Oksidase	Glutarate
Denitrification	Lactace
Arginin dihidrolase	Citrate
	$\alpha$ –ketoglutarat
<b>Pertumbuhan</b>	Pyruvat
Growth at 4 °C	Glycerol
Growth 40 °C	L-alanin
Growth at 41 °C	D-Alanin
	L-glutamate
<b>Uji Biokimia</b>	L-Aspartat
Pycocyanin production	L-Arginine
Pyoverdin production	L-Prolin
Chlororapin production	L-tyrosin
Phenazine monocarboxylate production	Glucose
Other pigments(non carotenoids)	Gluconate
Yellow-orange cellular pigments	2-Ketogluconate
Levan formation from sucrose	Propionate
Gelatin liquefaction	Meso inositol
Starch hydrolysis	L-Valine
Autotrophic growth with H <sub>2</sub>	$\beta$ -alanine
Lechitinase (egg yolk)	Malonate
Lipase(Tween 80 hydrolisis)	L-malate
Ekstracellular PHB hydrolisis	D-malate
Catechol, ortho cleavage	L-histidin

## 2.2. Koleksi Data

Strain bakteri atau *Operational Taxonomical Unit* (OTU) yang digunakan dalam analisis Sistematis Numerik sebanyak 25 strain ( $n = 25$ ) dan unit karakter yang dikoleksi sebanyak 50 karakter ( $t = 50$ ). Data tersebut disusun dalam matriks  $n \times t$  dengan menggunakan program MS Excell.

## 2.3. Pengkodean Data

Pemberian skor unit karakter dilakukan dengan menggunakan program computer Programmer's File Editor (PFE). Semua karakter fenotipik yang telah disusun dalam MS Excell di copy ke PFE dan diberi skor. Unit karakter yang positif (+) diberi skor 1, sedangkan unit karakter yang negative (-) diberi skor 0.

## **2.4. Analisis Komputer**

Data dianalisis dengan menggunakan Multi Variate Statistical Package (MVSP) Plus Version 2,0 menggunakan Simple Matching Coeficient ( $S_{SM}$ ) dan Jaccard Coeficient ( $S_J$ ). Pengelompokan/pengklasteran dilakukan dengan menggunakan algoritma Unweight Pair Group Method with Aritmetic Averages (UPGMA). Hasil analisis dipresentasikan sebagai dendogram dengan menggunakan program Paint Shop Pro (Sembiring,2002)

## **2.5 Hasil**

### **2.5.1. Data Unit Karakter Fenotipik**

Karakter fenotipik 25 strain yang dianalisis menggunakan 50 karakter ditampilkan pada Tabel 3. Karakter tersebut meliputi sifat morfologis, biokimiawi dan fisiologis.

### **2.5.2. Indeks Similaritas**

Matriks similaritas yang memuat nilai indeks similaritas yang diperoleh dari analisis program MVSP, dengan menggunakan Simple Matching Coeficient( $S_{SM}$ ) dan Jaccard Coeficient( $S_J$ ), disajikan pada table 4 dan 5. Nilai indeks similaritas  $S_{SM}$  dan  $S_J$  menunjukkan hasil yang berbeda. Hasil analisis selengkapnya disajikan pada Lampiran 1,2,3 dan 4.



Tabel 3. Data hasil unit karakter dari 25 unit strain anggota genus *Pseudomonas*

		Operational Taxonomical Units (OTUs)																									
N o.	Karakter	Kode Karakter	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biovar I	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	<i>Pseudomonas putida</i> biovar A	<i>Pseudomonas syringae pathovars</i>	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	<i>Pseudomonas cichorii</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	<i>Pseudomonas mallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Pseudomonas caryophylli</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Pseudomonas gladioli</i>	<i>Pseudomonas pickettii</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	<i>Pseudomonas acidovorans</i>	<i>Pseudomonas testosterone</i>	<i>Pseudomonas delafieldii</i>	<i>Pseudomonas facilis</i>	<i>Pseudomonas saccharophila</i>	<i>Pseudomonas flava</i>
1	Flagella	AA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Pycocyanin production	BB	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
3	Pyoverdinin production	CC	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
4	Chlororaphin production	DD	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Phenazine monocarboxylate production	EE	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
6	Other pigments(non carotenoids)	FF	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+
7	Yellow-orange cellular pigments	GG	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
8	Oksidase	HH	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	PHB accumulation	II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Levan formation from sucrose	JJ	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
11	Gelatin liquefaction	KK	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
12	Starch hydrolysis	LL	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
13	Autotrophic growth with H2	MM	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
14	Lechitinase (egg yolk)	NN	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
15	Lipase(Tween 80 hydrolysis)	OO	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
16	Ekstracelluler PHB hydrolysis	PP	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-

Lanjutan Tabel 3. Data hasil unit karakter dari 25 unit strain anggota genus *Pseudomonas*

		Operational Taxonomical Units (OTUs)																									
No	Karakter	Kode Karakter	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biovar I	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	<i>Pseudomonas putida</i> biovar A	<i>Pseudomonas syringae</i> pathovars	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	<i>Pseudomonas cichorii</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	<i>Pseudomonas mallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Pseudomonas caryophylli</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Pseudomonas gladioli</i>	<i>Pseudomonas pickettii</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	<i>Pseudomonas acidovorans</i>	<i>Pseudomonas testosterone</i>	<i>Pseudomonas delafieldii</i>	<i>Pseudomonas facilis</i>	<i>Pseudomonas saccharophila</i>	<i>Pseudomonas flava</i>
17	Growth at 4 °C	QQ	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
18	Growth 40 °C	RR	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
19	Growth at 41 °C	SS	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
20	Denitrification	TT	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
21	Arginin dihydrolase	UU	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+		+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Catechol, ortho cleavage	VV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	Protocatechuate, ortho cleavage	WW	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	Acetate	XX	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	Succinate	YY	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	Fumarate	aa	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Glutarate	bb	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
28	Lactate	cc	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	Citrate	dd	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
30	$\alpha$ -ketoglutarat	ee	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	Pyruvat	ff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	Glycerol	gg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
33	L-alanin	hh	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
34	D-Alanin	ii	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

Lanjutan Tabel 3. Data hasil unit karakter dari 25 unit strain anggota genus *Pseudomonas*

Operational Taxonomical Units (OTUs)

No	Karakter	Kode Karakter	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biovar I	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	<i>Pseudomonas putida</i> biovar A	<i>Pseudomonas syringae</i> pathovars	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	<i>Pseudomonas cichorii</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	<i>Pseudomonas mallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Pseudomonas caryophylli</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Pseudomonas gladioli</i>	<i>Pseudomonas pickettii</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	<i>Pseudomonas acidovorans</i>	<i>Pseudomonas testosterone</i>	<i>Pseudomonas delafieldii</i>	<i>Pseudomonas facilis</i>	<i>Pseudomonas saccharophila</i>	<i>Pseudomonas flava</i>
35	L-glutamate	jj	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	L-Aspartat	kk	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37	L-Arginine	ll	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
38	L-Prolin	mm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39	L-tyrosin	nn	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
40	Glucose	oo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
41	Gluconate	pp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42	2-Ketogluconate	qq	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
43	Propionate	rr	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
44	Meso inositol	ss	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
45	L-Valine	tt	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
46	$\beta$ -alanine	uu	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
47	Malonate	vv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
48	L-malate	ww	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49	D-malate	xx	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
50	L-histidin	yy	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+

Tabel 4. Matriks similaritas 25 strain anggota genus *Pseudomonas* menggunakan *Simple Matching Coeficient* (Sorted)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y		
A	100																										
B	82,7	100																									
C	82,7	92	100																								
D	82,7	90	90	100																							
E	88	82,7	82,7	82,7	100																						
F	69,4	69,4	69,4	69,4	69,4	100																					
G	69,4	69,4	69,4	69,4	69,4	86	100																				
H	69,4	69,4	69,4	69,4	73,6	88	86	100																			
I	74	74	73,6	74	73,6	69,4	73,6	69,4	100																		
J	74	74	74	74	74	74	73,6	69,4	86	100																	
K	74	74	74	74	74	69,4	74	74	77,5	77,5	100																
L	74	74	74	74	74	74	74	74	77,5	77,5	86	100															
M	77	77	77	77	77	77	69,4	69,4	77	77	77	77	100														
N	77	77	77	77	77	77	69,4	69,4	77	77	77	77	94	100													
O	77	77	77	77	77	77	69,4	69,4	77	77	77	77	91	91	100												
P	77	77	77	77	77	77	69,4	69,4	77	77	77	77	86	86	86	100											
Q	77	77	77	77	77	77	69,4	69,4	77	77	77	77	86	86	86	86	100										
R	74	74	74	74	74	74	69,4	69,4	85	85	77,6	77,5	74	74	74	74	74	100									
S	74	74	74	74	74	74	69,4	69,4	79,3	79,3	77	77,5	74	74	74	74	74	79,3	100								
T	74	74	74	74	74	74	73,6	69,6	74	74	74	74	64,8	74	74	74	74	77,5	74	100							
U	74	73	74	74	74	74	73,6	69,4	74	74	74	74	64,8	74	74	74	74	74	74	88	100						
V	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	100				
W	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	92	100		
X	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	84	84	100	
Y	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	82,7	82,7	82,7	100

Tabel 5. Matriks similaritas 25 strain anggota genus *Pseudomonas* menggunakan *Jaccard Coeficient* (Sorted)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	
A	100																									
B	79.4	100																								
C	79.4	90.0	100																							
D	79.4	87.7	87.7	100																						
E	85.0	79.4	79.4	79.4	100																					
F	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	100																				
G	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	81.4	100																			
H	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	84.6	81.4	100																		
I	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	100																	
J	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	80.5	100																
K	71.4	68.0	68.0	69.2	69.2	65.0	65.0	65.0	69.2	69.2	100															
L	71.4	68.0	68.0	69.2	69.2	65.0	65.0	65.0	69.2	69.2	71.4	100														
M	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	75.7	75.7	69.2	69.2	100													
N	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	75.7	75.7	69.2	69.2	93.5	100												
O	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	75.7	75.7	69.2	69.2	90.1	90.1	100											
P	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	75.7	75.7	69.2	69.2	85.2	85.2	85.2	100										
Q	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	75.7	75.7	69.2	69.2	85.2	85.2	85.2	100.0	100									
R	73.6	73.6	73.6	73.6	73.6	65.0	65.0	65.0	82.5	82.5	69.2	69.2	75.7	75.7	75.7	75.7	75.7	100								
S	68.0	68.0	69.2	69.2	69.2	65.0	65.0	65.0	69.2	69.2	71.4	78.9	69.2	69.2	69.2	69.2	68.0	68.0	100							
T	69.2	68.0	69.2	69.2	69.2	65.0	65.0	65.0	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	68.0	68.0	100						
U	69.2	68.0	69.2	69.2	69.2	65.0	65.0	65.0	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	69.2	68.0	82.0	100						
V	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	100				
W	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	88.6	100		
X	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	76.2	72.2	100	
Y	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	58.6	78.4	78.4	76.2	100

### 2.5.3 Konstruksi Dendogram.

Dendogram yang dihasilkan dari analisis  $S_{SM}$  dan  $S_J$  dengan algoritma pengelompokan UPGMA disajikan pada Gambar 1 dan yang dihasilkan Gambar 2.

### 2.5.4. Evaluasi Dendogram Dengan Analisis Korelasi Kofenetik

Evaluasi dendogram dilakukan dengan analisis korelasi kofenetik menggunakan program komputer MS Excel. Analisis korelasi kofenetik bertujuan untuk mengevaluasi dendogram, apakah representatif atau tidak. Dendogram dapat diterima jika nilai  $r \geq 60\%$ , dimana  $r$  adalah nilai koefisien korelasi yang dapat ditentukan dengan rumus dibawah ini:

Koefisien Korelasi( $r$ ):

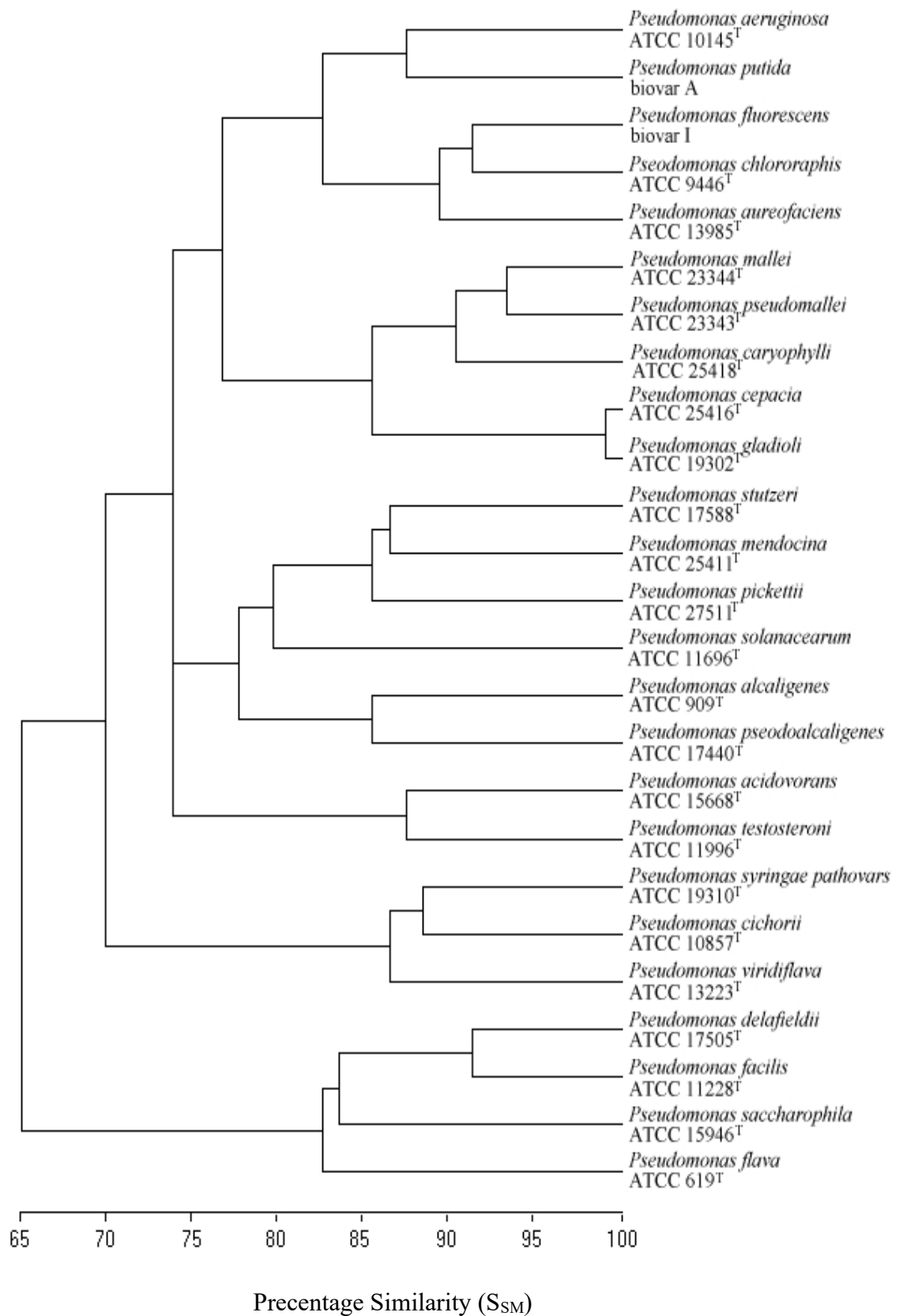
$$R = \frac{n(\sum XY) - \sum X \sum Y}{\sqrt{(n\sum X^2 - (\sum X)^2)(n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2)}}$$

$r \geq 60\%$  (nilai  $r$  yang dapat diterima)

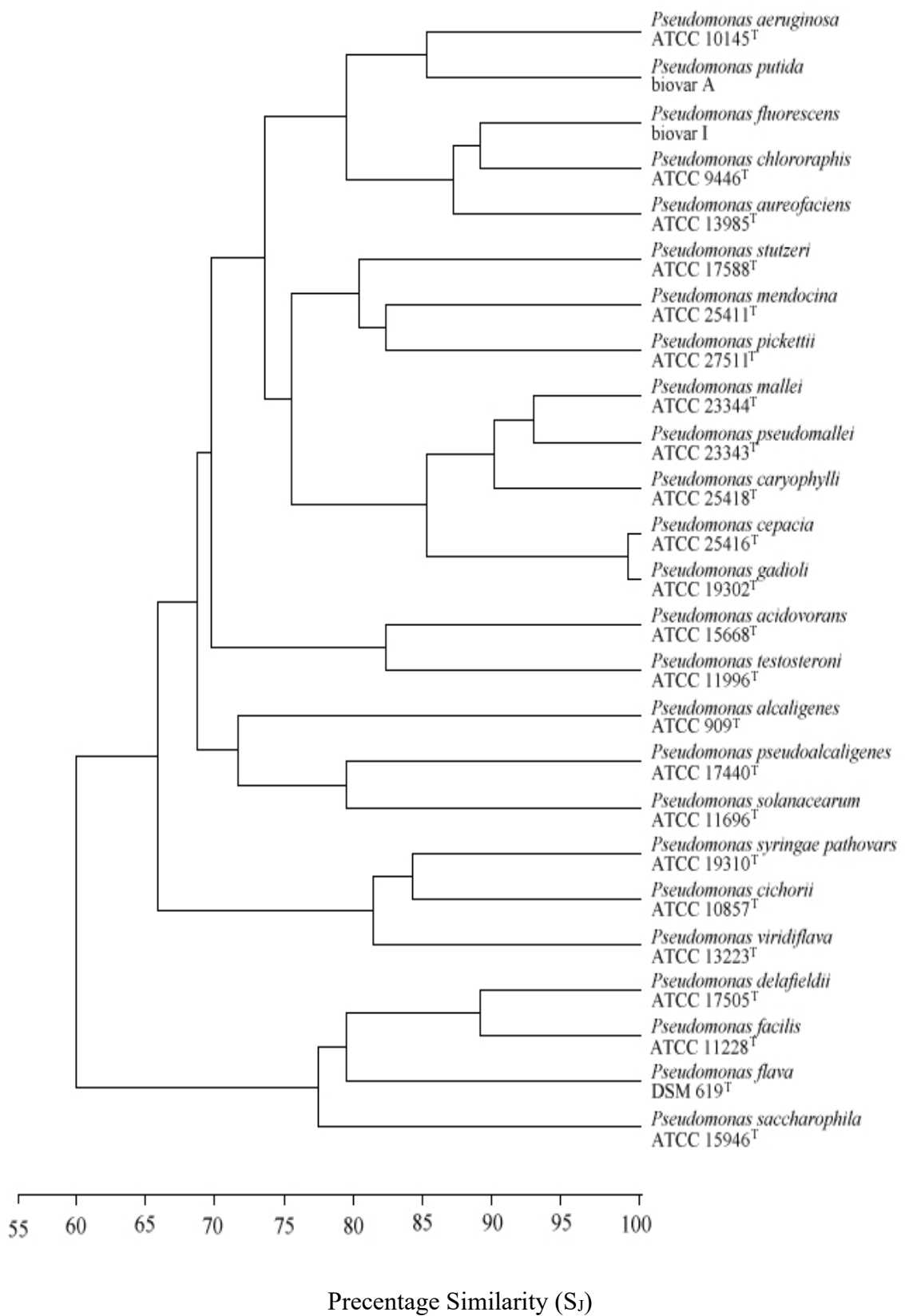
Dari perhitungan analisis korelasi kofenetik diperoleh hasil bahwa nilai koefisien korelasi ( $r$ ) pada dendogram berdasarkan clustering analysis menggunakan  $S_{SM}$  adalah 78% sedangkan pada dendogram berdasarkan clustering analysis menggunakan  $S_J$  adalah 85%. Dari nilai tersebut dapat disimpulkan bahwa kedua dendogram tersebut (Gambar 1 dan Gambar 2) adalah representatif atau dapat diterima.

### 2.5.5. Deteksi Phena

Phena didefinisikan sebagai cluster dari OUT yang berkaitan. Deteksi phena dilakukan dengan mengacu pada konsep *taxospecies*. Konsep *taxospecies* menyatakan bahwa strain-strain mikrobial dikatakan termasuk dalam satu spesies jika memiliki nilai indeks similaritas  $\geq 70\%$ . Berdasarkan konsep tersebut, maka diperoleh dendrogram yang menunjukkan klasifikasi berdasarkan konsep *taxospecies* seperti yang disajikan pada gambar 3 (berdasarkan nilai indeks similaritas  $S_{SM}$ ) dan Gambar 4 (berdasarkan nilai indeks similaritas  $S_J$ ).

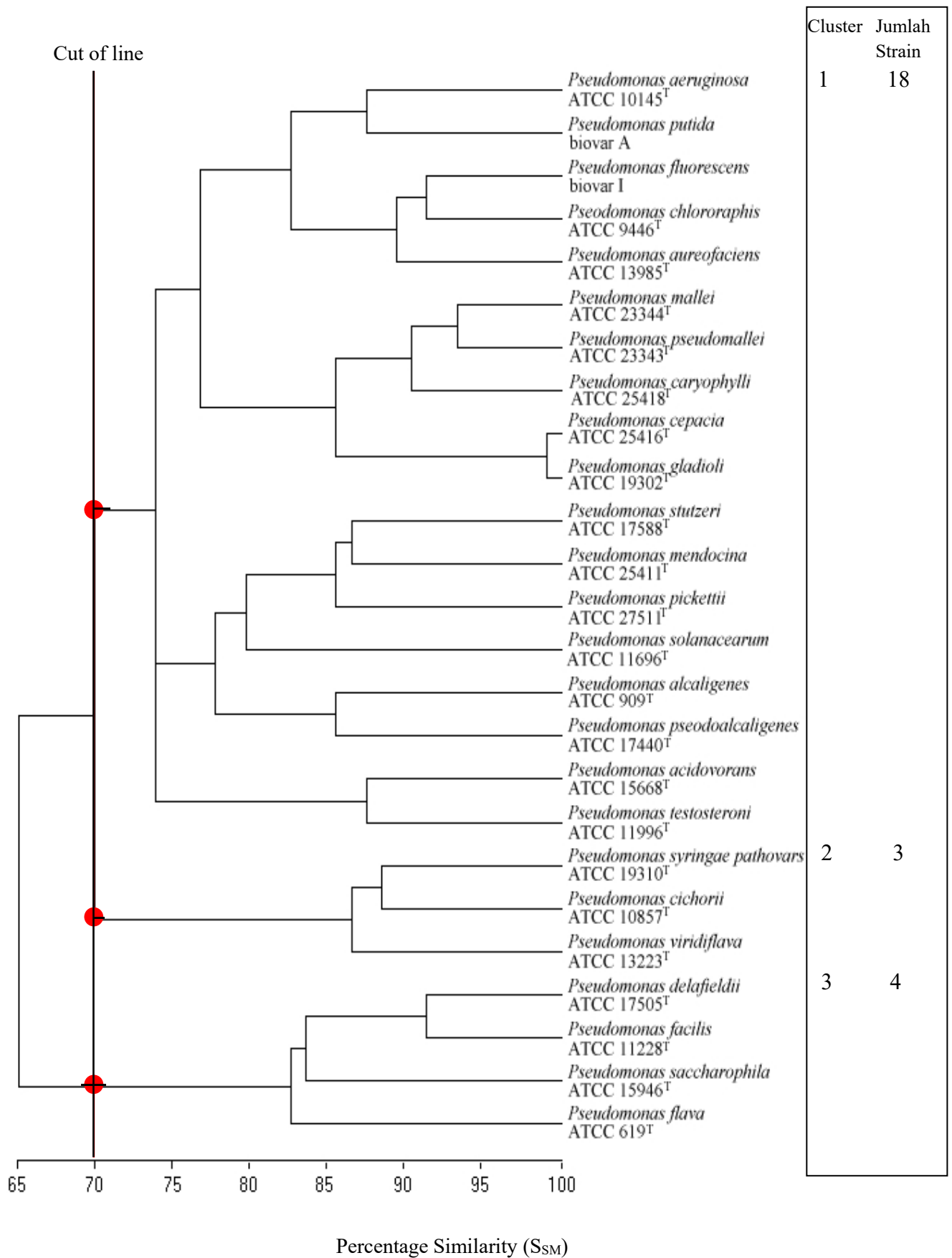


Gambar 1. Dendrogram yang menunjukkan hubungan antara 25 strain anggota genus *Pseudomonas* yang didasarkan atas analisis  $S_{SM}$  dan algoritme UPGMA

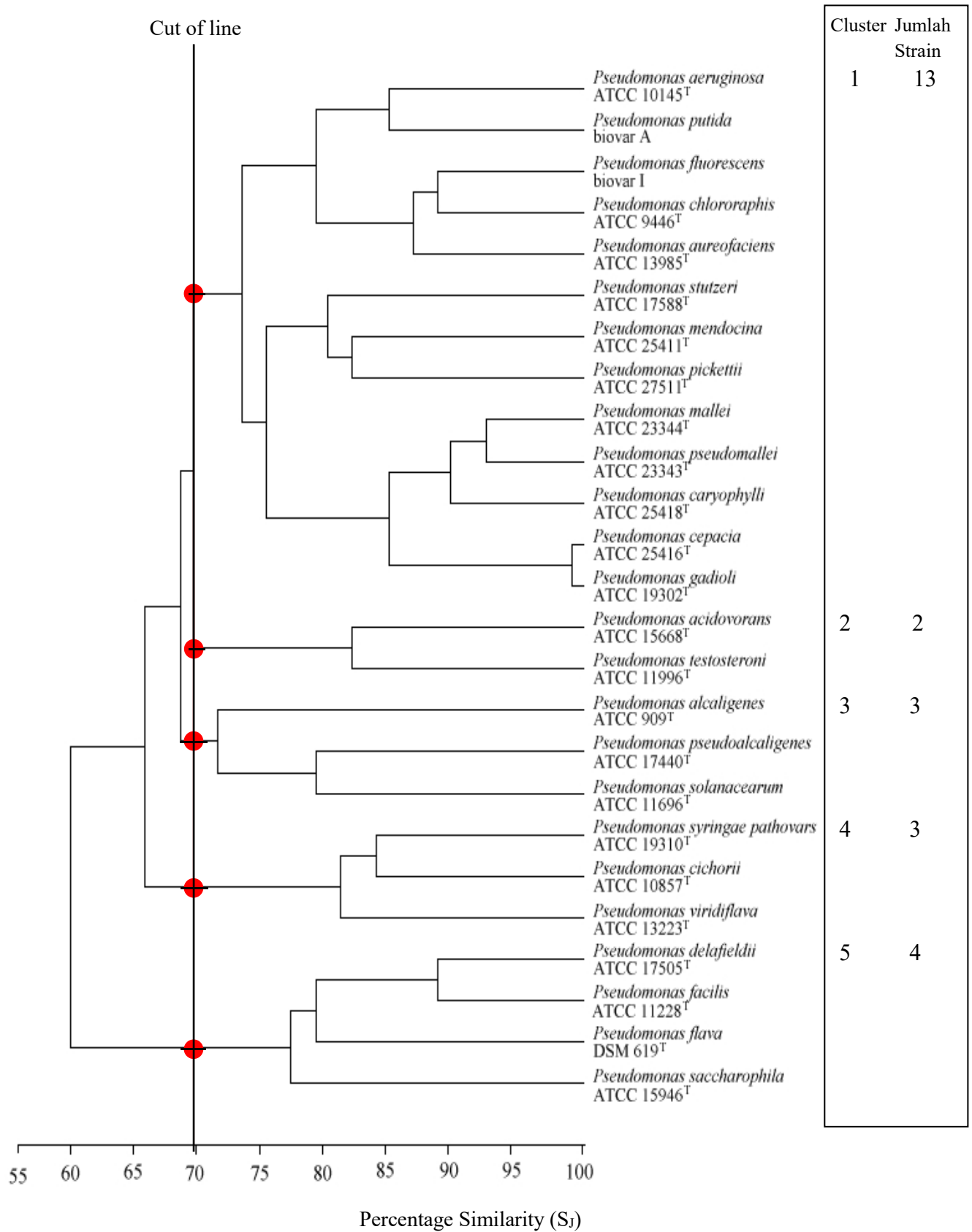


Gambar 2. Dendrogram yang menunjukkan hubungan antara 25 strain anggota genus *Pseudomonas* yang didasarkan atas analisis  $S_J$  dan algoritme UPGMA





Gambar 3. Dendrogram yang menunjukkan klasifikasi berdasarkan konsep Taxsospecies hasil analisis  $S_{SM}$  dengan algoritma UPGMA



Gambar 4. Dendrogram yang menunjukkan klasifikasi berdasarkan konsep Taxsospecies hasil analisis  $S_j$  dengan algoritma UPGMA

### 3. PEMBAHASAN

Strain yang digunakan dalam praktikum ini adalah strain anggota genus *Pseudomonas* berjumlah 25 ( $n = 25$ ) dan karakter fenotipiknya berjumlah 50 ( $t = 50$ ). Strain anggota genus *Pseudomonas* dipilih karena memiliki peran penting dalam bidang bioremediasi medis. Nama strain dan unit karakter fenotipik yang digunakan diperoleh dari buku identifikasi bakteri Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al*, 2000) dan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Sneath *et al.*, 1984).

#### 3.1. Pengklasteran Berdasarkan Simple Matching Coefficient ( $S_{SM}$ )

Hasil clustering analysis berdasarkan  $S_{SM}$  pada 25 strain anggota genus *Pseudomonas* diperoleh indeks similaritas tertinggi 100% pada *Pseudomonas cepacia* ATCC 25416 yang bergabung dengan *P. gladioli* ATCC 19302 sebagai satu cluster (nodus 1), hal ini berarti bahwa dari unit 50 karakter fenotipik yang digunakan semuanya memiliki kesamaan sifat. Indeks similaritas tertinggi yang kedua adalah 94% pada *Pseudomonas mallei* ATCC 23344 yang bergabung dengan *Pseudomonas mallei* ATCC 23343 sebagai satu cluster (nodus 2), hal ini berarti bahwa ada 47 unit karakter dari 50 unit karakter fenotipik pada strain-strain tersebut memiliki kesamaan sifat. *Separating character* diantara kedua strain tersebut adalah yellow-orange cellular pigments, flagella, dan malonate. Sedang Indeks similaritas terendah terdapat pada nodus 23 yaitu 64,8% (Tabel 3, Gambar 1 dan lampiran 1)

Berdasarkan tingkat similaritas karakter fenotipik ke 25 strain anggota genus *Pseudomonas* dengan nilai similaritas  $\geq 70\%$ , diperoleh 3 Klaster. Klaster pertama terdiri dari 18 strain anggota genus *Pseudomonas*, yaitu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *P. putida* biovar A, *P. fluorescens* biovar I, *P. chlororaphis* ATCC 9446, *P. aureofaciens* ATCC 13985, *P. mallei* ATCC 23344, *P. pseudomallei* ATCC 23343, *P. caryophylli* ATCC 25418, *P. cepacia* ATCC 25416, *P. gladioli* ATCC 19302, *P. stutzeri* ATCC 17588, *P. mendocina* ATCC 25411, *P. pickettii* ATCC 27511, *P. solanacearum* ATCC 11696, *P. alcaligenes* ATCC 909, *P. pseudoalcaligenes* ATCC 17440, *P. acidovorans* ATCC 15668, dan *P. testosteroni* ATCC 11996. Klaster kedua terdiri dari 3 strain yaitu *P. syringae pathovars* ATCC 19310, *P. cichorii* ATCC 10857 dan *P. viridiflava* ATCC 13223. Klaster ketiga terdiri dari 4 strain yaitu *P. delafieldii* ATCC 17505, *P. facilis* ATCC 11228, *P. flava* DSM 619 dan *P. saccharophila* ATCC 15946 (Gambar 3). Klaster pertama memiliki indeks similaritas 73,6%, klaster kedua: 88% dan klaster ketiga memiliki indeks similaritas 82%.

Metode klasifikasi numerik bertujuan menggolongkan setiap strain mikrobia kedalam kelompok takson yang homogen yaitu *taxospecies* (Sokal, 1985; Sacklin & Jones, 1993 Stackebrandt *et al.*, 2000 *cit.* Goodfellow M., 1999). Konsep taksospecies menyatakan bahwa sekelompok strain dikelompokkan dalam satu species jika memiliki nilai indeks similaritas  $\geq 70\%$ . Berdasarkan nilai indeks similaritas dengan menggunakan clustering analisis  $S_{SM}$  maka dapat dikatakan strain-strain yang terdapat dalam genus *Pseudomonas* memiliki tingkat kemiripan yang tinggi, tetapi perbedaan nilai indeks similaritas yang relatif besar diantara 3 klaster menunjukkan hubungan yang relatif jauh diantara ketiga klaster tersebut berdasarkan kemiripan sifat(fenetik)

Untuk mengevaluasi dendrogram dilakukan analisis korelasi kofenetik berdasarkan nilai indeks similaritas menggunakan  $S_{SM}$  (Lampiran 5). Dendrogram yang dihasilkan dikatakan representatif atau bisa diterima jika nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar  $\geq 60\%$ . Sistem klasifikasi yang baik akan memberikan manfaat yang besar bagi kemudahan identifikasi mikrobia. Berdasarkan analisis korelasi kofenetik diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 78%, maka dapat disimpulkan bahwa sistem klasifikasi yang diperoleh dari *clustering analysis* berdasarkan *Simple Matching Coefficient* ( $S_{SM}$ ) dengan algoritma *Average Linkage* atau UPGMA dapat diterima/representatif.

### 3.2. Pengklasteran Berdasarkan Jaccard Coefficient ( $S_J$ )

Hasil clustering analysis berdasarkan  $S_J$  pada 25 strain anggota genus *Pseudomonas* diperoleh indeks similaritas tertinggi 100% pada *Pseudomonas cepacia* ATCC 25416 yang bergabung dengan *P. gladioli* ATCC 19302 sebagai satu cluster (nodus 1), hal ini berarti bahwa dari unit 50 karakter fenotipik yang digunakan semuanya memiliki kesamaan sifat. Indeks similaritas tertinggi yang kedua adalah 93,5% pada *Pseudomonas mallei* ATCC 23344 yang bergabung dengan *Pseudomonas mallei* ATCC 23343 sebagai satu cluster (nodus 2), hal ini berarti bahwa ada 47 unit karakter dari 50 unit karakter fenotipik pada strain-strain tersebut memiliki kesamaan sifat. *Separating character* diantara kedua strain tersebut adalah yellow-orange cellular pigments, flagella, dan malonate. Sedang Indeks similaritas terendah terdapat pada nodus 23 yaitu 58,6% (Tabel 3, Gambar 1 dan lampiran 1)

Berdasarkan tingkat similaritas karakter fenotipik ke 25 strain anggota genus *Pseudomonas* dengan nilai similaritas  $\geq 70\%$ , diperoleh 5 Klaster. Klaster pertama terdiri dari 13 strain anggota genus *Pseudomonas*, yaitu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *P. putida* biovar A, *P. fluorescens* biovar I, *P. chlororaphis* ATCC 9446, *P. aureofaciens* ATCC 13985,

*P.stutzeri* ATCC 17588, *P. mendocina* ATCC 25411, *P. picketii* ATCC 27511, *P.mallei* ATCC 23344, *P.pseudomallei* ATCC 23343, *P. caryophylli* ATCC 25418, *P. cepacia* ATCC 25416, *P. gladioli* ATCC 19302, Klaster kedua terdiri dari 2 strain yaitu *P. acidovorans* ATCC 15668, dan *P. testosteroni* ATCC 11996. Klaster ketiga terdiri dari 3 strain yaitu *P. alcaligenes* ATCC 909, *P. pseudoalcaligenes* ATCC 17440. *P.solanacearum* ATCC 11696. Klaster keempat terdiri dari 3 strain yaitu, *P. syringae pathovars* ATCC 19310 , *P.cichorii* ATCC 10857 dan *P. viridiflava* ATCC 13223. Klaster kelima terdiri dari 4 strain yaitu *P.delafieldii* ATCC 17505, *P. facilis* ATCC 11228, *P. flava* DSM 619 dan *P.saccharophila* ATCC 15946 (Gambar 3). Klaster pertama memiliki indeks similaritas 73,6%, klaster kedua: 82,1%, klaster ketiga memiliki indeks similaritas 71,4%, kalster keempat: 81,4% dan klaster kelima 76,2%

Metode klasifikasi numerik bertujuan menggolongkan setiap strain mikrobial ke dalam kelompok takson yang homogen yaitu *taxospecies* (Sokal, 1985; Sacklin & Jones, 1993 Stackebrandt *et al.*, 2000 *cit.* Goodfellow M., 1999). Konsep taksospecies menyatakan bahwa sekelompok strain dikelompokkan dalam satu species jika memiliki nilai indeks similaritas  $\geq 70\%$ . Berdasarkan nilai indeks similaritas dengan menggunakan clustering analisis  $S_J$  maka dapat dikatakan strain-strain yang terdapat dalam genus *Pseudomonas* memiliki tingkat kemiripan yang tinggi. Perbedaan nilai indeks similaritas dari deteksi phenol menunjukkan bahwa kluster pertama dan klaster ketiga memiliki tingkat kemiripan yang tinggi karena perbedaan indeks similaritas yang relatif kecil. Demikian juga untuk kluster dua dan empat. Sedangkan untuk kluster 5, indeks similaritasnya relatif besar diantara 3 kluster menunjukkan hubungan yang relatif jauh diantara keempat kluster lainnya berdasarkan kemiripan sifat (fenetik)

Untuk mengevaluasi dendrogram dilakukan analisis korelasi kofenetik berdasarkan nilai indeks similaritas menggunakan  $S_{SM}$  (Lampiran 6). Dendrogram yang dihasilkan dikatakan representatif atau bisa diterima jika nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar  $\geq 60\%$ . Sistem klasifikasi yang baik akan memberikan manfaat yang besar bagi kemudahan identifikasi mikrobial. Berdasarkan analisis korelasi kofenetik diperoleh nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 85%, maka dapat disimpulkan bahwa sistem klasifikasi yang diperoleh dari *clustering analysis* berdasarkan *Simple Matching Coefficient* ( $S_J$ ) dengan algoritma *Average Linkage* atau UPGMA dapat diterima/representatif.

### 3.3. Perbandingan Antara pengelasteran dengan Menggunakan $S_{SM}$ dan $S_J$

Perbandingan berdasarkan hasil pengelasteran berupa Dendogram yang menunjukkan hubungan kekerabatan antara 25 strain anggota *Pseudomonas* dengan menggunakan analisis  $S_{SM}$  dan  $S_J$  serta algoritma UPGMA, dan konsep taksospecies maka dapat dilihat bahwa nilai indeks similaritas tertinggi untuk  $S_{SM}$  100% dan terendah 64,8%, sedangkan untuk  $S_J$  nilai indeks similaritas tertinggi juga 100% tetapi nilai terendahnya adalah 58,6%. Dari nilai ini dapat dilihat bahwa analisis dengan menggunakan  $S_{SM}$  dan  $S_J$  tidak berbeda jauh, hal ini disebabkan karena pada 50 karakter yang digunakan banyak yang bernilai + sehingga analisis menggunakan  $S_J$  tidak berbeda jauh dengan menggunakan analisis  $S_{SM}$ .

Dari deteksi phena berdasarkan indeks similaritas  $\geq 70\%$  dengan analisis  $S_{SM}$  maka diperoleh 3 kluster sedangkan untuk analisis  $S_J$  diperoleh 5 kluster.

Berdasarkan hasil evaluasi korelasi kofenetik menunjukkan bahwa dendogram hasil pengelasteran berdasarkan  $S_J$  memiliki nilai koefisien korelasi ( $r$ ) lebih tinggi yaitu 85% sedang nilai  $r$  berdasarkan  $S_{SM}$  hanya 78%. Ini menunjukkan bahwa dendogram berdasarkan  $S_J$  lebih representatif daripada dendogram berdasarkan  $S_{SM}$ .

## 4. KESIMPULAN

Analisis korelasi kofenetik menunjukkan bahwa dendogram hasil pengelasteran berdasarkan  $S_J$  memiliki nilai koefisien korelasi ( $r$ ) lebih tinggi yaitu 85% sedang nilai  $r$  berdasarkan  $S_{SM}$  hanya 78%. Ini menunjukkan bahwa dendogram berdasarkan  $S_J$  lebih representatif daripada dendogram berdasarkan  $S_{SM}$ .

Berdasarkan nilai indeks similaritas dengan menggunakan clustering analisis  $S_{SM}$  maka dapat dikatakan strain-strain yang terdapat dalam genus *Pseudomonas* memiliki tingkat kemiripan yang tinggi, tetapi perbedaan nilai indeks similaritas yang relatif besar diantara 3 kluster menunjukkan hubungan yang relatif jauh diantara ketiga kluster tersebut berdasarkan kemiripan sifat (fenetik)

Berdasarkan nilai indeks similaritas dengan menggunakan clustering analisis  $S_J$  maka dapat dikatakan strain-strain yang terdapat dalam genus *Pseudomonas* memiliki tingkat kemiripan yang tinggi. Perbedaan nilai indeks similaritas dari deteksi phena menunjukkan bahwa kluster pertama dan kluster ketiga memiliki tingkat kemiripan yang tinggi karena perbedaan indeks similaritas yang relatif kecil. Demikian juga untuk kluster dua dan

empat. Sedangkan untuk klaster 5, indeks simularitasnya relatif besar diantara 3 klaster menunjukkan hubungan yang relatif jauh diantara keempat klaster lainnya berdasarkan kemiripan sifat (fenetik).

## Daftar Pustaka

- Holt, J.G., Noel, R.K., Peter, H.A.S., James, T.S., Stanley, T., & William, 1994,. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi**, 9<sup>th</sup> Ed. William & Wilkins, USA
- Krieg, N.R., 1984, **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol I**, Williams and Wilkins Baltimore, London
- Lengeler, J.W., Drews, G., & SchMc Kay, elegel, H.G., 1999, **Biologi of Prokaryotes**, Georg Thieme Verlag, Rudigerstrsse 14, Stuttgart, Germany, 680-684
- Sembiring, L. 2002 Petunjuk Praktikum Sistematika Mikrobial (BIO 668), Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta
- Sembiring, L. 2002. **Peranan Bitosistematika Dalam Menunjanb Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati**, Makalah Utama dalam Seminar Nasional Biologi 24 September 2004, Prodi ITS, Surabaya
- Goodfellow, M. 1999. **Applied Microbial System**, Ed Fergust Priest University Edinburgh, UK



## Lampiran 1.

\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\* M V S P \*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

Ver. 2.0a

Date of analysis - December 1, 2008

Time of analysis - 1:36:44pm

Input file name - C:\MVSP\RIAP.MVD

Output file name - C:\MVSP\RIAP.OT2

### CLUSTER ANALYSIS

=====

riap - MATCH

File of 25 rows x 25 columns

### INPUT MATRIX

	A	B	C	D	E	F	G
A	1	0.780	0.820	0.780	0.880	0.680	0.660
B	0.780	1	0.920	0.920	0.860	0.740	0.680
C	0.820	0.920	1	0.880	0.860	0.780	0.680
D	0.780	0.920	0.880	1	0.860	0.740	0.640
E	0.880	0.860	0.860	0.860	1	0.720	0.700
F	0.680	0.740	0.780	0.740	0.720	1	0.860
G	0.660	0.680	0.680	0.640	0.700	0.860	1
H	0.720	0.740	0.740	0.700	0.760	0.880	0.860
I	0.800	0.620	0.700	0.620	0.760	0.680	0.660
J	0.860	0.680	0.760	0.680	0.820	0.660	0.640
K	0.760	0.620	0.660	0.620	0.680	0.600	0.620
L	0.780	0.640	0.680	0.600	0.700	0.660	0.680
M	0.780	0.720	0.800	0.760	0.700	0.700	0.600
N	0.760	0.700	0.780	0.740	0.680	0.680	0.580
O	0.820	0.760	0.840	0.800	0.780	0.700	0.600
P	0.820	0.760	0.800	0.800	0.740	0.740	0.640
Q	0.820	0.760	0.800	0.800	0.740	0.740	0.640
R	0.840	0.700	0.780	0.740	0.840	0.640	0.620
S	0.720	0.700	0.780	0.700	0.760	0.720	0.700
T	0.700	0.720	0.760	0.760	0.780	0.740	0.680
U	0.660	0.640	0.680	0.680	0.740	0.700	0.640
V	0.600	0.700	0.660	0.700	0.680	0.680	0.620
W	0.600	0.660	0.660	0.660	0.640	0.760	0.700
X	0.540	0.640	0.600	0.640	0.580	0.700	0.600
Y	0.540	0.640	0.640	0.640	0.620	0.700	0.680

	H	I	J	K	L	M	N
A	0.720	0.800	0.860	0.760	0.780	0.780	0.760
B	0.740	0.620	0.680	0.620	0.640	0.720	0.700
C	0.740	0.700	0.760	0.660	0.680	0.800	0.780
D	0.700	0.620	0.680	0.620	0.600	0.760	0.740
E	0.760	0.760	0.820	0.680	0.700	0.700	0.680
F	0.880	0.680	0.660	0.600	0.660	0.700	0.680
G	0.860	0.660	0.640	0.620	0.680	0.600	0.580
H	1	0.760	0.740	0.640	0.740	0.700	0.680
I	0.760	1	0.860	0.720	0.780	0.740	0.720
J	0.740	0.860	1	0.820	0.800	0.760	0.780
K	0.640	0.720	0.820	1	0.860	0.660	0.720
L	0.740	0.780	0.800	0.860	1	0.720	0.740
M	0.700	0.740	0.760	0.660	0.720	1	0.940
N	0.680	0.720	0.780	0.720	0.740	0.940	1
O	0.740	0.780	0.840	0.700	0.760	0.920	0.900
P	0.740	0.700	0.760	0.660	0.720	0.840	0.860
Q	0.740	0.700	0.760	0.660	0.720	0.840	0.860
R	0.720	0.840	0.860	0.720	0.820	0.820	0.800
S	0.760	0.760	0.780	0.720	0.820	0.740	0.760
T	0.820	0.700	0.760	0.700	0.760	0.720	0.740
U	0.780	0.700	0.720	0.660	0.720	0.680	0.740
V	0.720	0.680	0.620	0.560	0.660	0.660	0.640
W	0.760	0.680	0.620	0.560	0.700	0.660	0.640
X	0.660	0.660	0.560	0.580	0.680	0.600	0.620
Y	0.740	0.620	0.640	0.620	0.680	0.600	0.660

	O	P	Q	R	S	T	U
A	0.820	0.820	0.820	0.840	0.720	0.700	0.660
B	0.760	0.760	0.760	0.700	0.700	0.720	0.640
C	0.840	0.800	0.800	0.780	0.780	0.760	0.680
D	0.800	0.800	0.800	0.740	0.700	0.760	0.680
E	0.780	0.740	0.740	0.840	0.760	0.780	0.740
F	0.700	0.740	0.740	0.640	0.720	0.740	0.700
G	0.600	0.640	0.640	0.620	0.700	0.680	0.640
H	0.740	0.740	0.740	0.720	0.760	0.820	0.780
I	0.780	0.700	0.700	0.840	0.760	0.700	0.700
J	0.840	0.760	0.760	0.860	0.780	0.760	0.720
K	0.700	0.660	0.660	0.720	0.720	0.700	0.660
L	0.760	0.720	0.720	0.820	0.820	0.760	0.720
M	0.920	0.840	0.840	0.820	0.740	0.720	0.680
N	0.900	0.860	0.860	0.800	0.760	0.740	0.740
O	1	0.880	0.880	0.900	0.820	0.800	0.720
P	0.880	1	1	0.820	0.740	0.840	0.760
Q	0.880	1	1	0.820	0.740	0.840	0.760
R	0.900	0.820	0.820	1	0.840	0.820	0.780
S	0.820	0.740	0.740	0.840	1	0.820	0.740
T	0.800	0.840	0.840	0.820	0.820	1	0.880
U	0.720	0.760	0.760	0.780	0.740	0.880	1
V	0.700	0.660	0.660	0.680	0.680	0.660	0.620
W	0.660	0.660	0.660	0.640	0.680	0.660	0.620
X	0.600	0.600	0.600	0.580	0.660	0.600	0.600
Y	0.680	0.680	0.680	0.620	0.740	0.720	0.640

	V	W	X	Y
A	0.600	0.600	0.540	0.540
B	0.700	0.660	0.640	0.640
C	0.660	0.660	0.600	0.640
D	0.700	0.660	0.640	0.640
E	0.680	0.640	0.580	0.620
F	0.680	0.760	0.700	0.700
G	0.620	0.700	0.600	0.680
H	0.720	0.760	0.660	0.740
I	0.680	0.680	0.660	0.620
J	0.620	0.620	0.560	0.640
K	0.560	0.560	0.580	0.620
L	0.660	0.700	0.680	0.680
M	0.660	0.660	0.600	0.600
N	0.640	0.640	0.620	0.660
O	0.700	0.660	0.600	0.680
P	0.660	0.660	0.600	0.680
Q	0.660	0.660	0.600	0.680
R	0.680	0.640	0.580	0.620
S	0.680	0.680	0.660	0.740
T	0.660	0.660	0.600	0.720
U	0.620	0.620	0.600	0.640
V	1	0.920	0.820	0.820
W	0.920	1	0.860	0.860
X	0.820	0.860	1	0.800
Y	0.820	0.860	0.800	1

Lampiran 2.

UNWEIGHTED PAIR GROUP AVERAGE METHOD

NODE	GROUP 1	GROUP 2	SIMILARITY	NUMBER OF OBJECTS IN FUSED GROUP
1	P	Q	1.000	2
2	M	N	0.940	2
3	B	C	0.920	2
4	V	W	0.920	2
5	NODE 2	O	0.910	3
6	NODE 3	D	0.900	3
7	A	E	0.880	2
8	F	H	0.880	2
9	T	U	0.880	2
10	NODE 8	G	0.860	3
11	I	J	0.860	2
12	K	L	0.860	2
13	NODE 5	NODE 1	0.860	5
14	NODE 11	R	0.850	3
15	NODE 4	X	0.840	3
16	NODE 7	NODE 6	0.827	5
17	NODE 15	Y	0.827	4
18	NODE 14	S	0.793	4
19	NODE 18	NODE 12	0.775	6
20	NODE 16	NODE 13	0.770	10
21	NODE 19	NODE 9	0.740	8
22	NODE 20	NODE 21	0.736	18
23	NODE 22	NODE 10	0.694	21
24	NODE 23	NODE 17	0.648	25

Analysis finished at - 1:36:46pm

### Lampiran 3.

\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\* M V S P \*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*

Ver. 2.0a

Date of analysis - December 5, 2008  
Time of analysis - 11:38:28pm

Input file name - C:\MVSP\RIAJAC.MVD  
Output file name - C:\MVSP\RIAJAC.OT2

#### CLUSTER ANALYSIS

=====

ria - JACCA

File of 25 rows x 25 columns

#### INPUT MATRIX

	A	B	C	D	E	F	G
A	1	0.744	0.795	0.750	0.850	0.652	0.614
B	0.744	1	0.900	0.897	0.821	0.698	0.619
C	0.795	0.900	1	0.857	0.829	0.750	0.636
D	0.750	0.897	0.857	1	0.825	0.705	0.591
E	0.850	0.821	0.829	0.825	1	0.674	0.634
F	0.652	0.698	0.750	0.705	0.674	1	0.816
G	0.614	0.619	0.636	0.591	0.634	0.816	1
H	0.682	0.690	0.705	0.659	0.707	0.846	0.811
I	0.756	0.568	0.659	0.578	0.700	0.628	0.585
J	0.829	0.636	0.727	0.644	0.775	0.622	0.581
K	0.707	0.558	0.614	0.568	0.610	0.545	0.537
L	0.714	0.568	0.622	0.578	0.619	0.591	0.585
M	0.766	0.702	0.787	0.745	0.681	0.688	0.583
N	0.750	0.688	0.771	0.729	0.667	0.673	0.571
O	0.800	0.733	0.822	0.778	0.750	0.681	0.574
P	0.804	0.739	0.787	0.783	0.717	0.723	0.617
Q	0.804	0.739	0.787	0.783	0.717	0.723	0.617
R	0.810	0.659	0.750	0.705	0.800	0.609	0.568
S	0.682	0.651	0.744	0.659	0.707	0.674	0.634
T	0.689	0.659	0.711	0.705	0.714	0.682	0.605
U	0.659	0.591	0.644	0.600	0.683	0.651	0.571
V	0.578	0.619	0.600	0.628	0.595	0.605	0.524
W	0.587	0.591	0.609	0.600	0.568	0.690	0.610
X	0.522	0.558	0.543	0.568	0.500	0.619	0.500
Y	0.532	0.568	0.587	0.578	0.545	0.628	0.585

	H	I	J	K	L	M	N
A	0.682	0.756	0.829	0.707	0.714	0.766	0.750
B	0.690	0.568	0.636	0.558	0.568	0.702	0.688
C	0.705	0.659	0.727	0.614	0.622	0.787	0.771
D	0.659	0.578	0.644	0.568	0.578	0.745	0.729
E	0.707	0.700	0.775	0.610	0.619	0.681	0.667
F	0.846	0.628	0.622	0.545	0.591	0.688	0.673
G	0.811	0.585	0.581	0.537	0.585	0.583	0.571
H	1	0.700	0.690	0.571	0.659	0.681	0.667
I	0.700	1	0.816	0.641	0.692	0.711	0.696
J	0.690	0.816	1	0.763	0.725	0.739	0.761
K	0.571	0.641	0.763	1	0.778	0.630	0.689
L	0.659	0.692	0.725	0.778	1	0.711	0.733
M	0.681	0.711	0.739	0.630	0.711	1	0.935
N	0.667	0.696	0.761	0.689	0.733	0.935	1
O	0.711	0.744	0.814	0.659	0.744	0.911	0.891
P	0.717	0.674	0.739	0.630	0.711	0.833	0.854
Q	0.717	0.674	0.739	0.630	0.711	0.833	0.854
R	0.674	0.795	0.825	0.659	0.795	0.800	0.783
S	0.707	0.700	0.732	0.650	0.789	0.717	0.739
T	0.756	0.628	0.698	0.619	0.707	0.688	0.708
U	0.725	0.634	0.667	0.585	0.634	0.625	0.681
V	0.634	0.585	0.545	0.465	0.548	0.617	0.604
W	0.683	0.595	0.556	0.477	0.595	0.625	0.612
X	0.571	0.561	0.489	0.476	0.561	0.563	0.583
Y	0.659	0.535	0.568	0.524	0.571	0.571	0.625

	O	P	Q	R	S	T	U
A	0.800	0.804	0.804	0.810	0.682	0.689	0.659
B	0.733	0.739	0.739	0.659	0.651	0.659	0.591
C	0.822	0.787	0.787	0.750	0.744	0.711	0.644
D	0.778	0.783	0.783	0.705	0.659	0.705	0.600
E	0.750	0.717	0.717	0.800	0.707	0.714	0.683
F	0.681	0.723	0.723	0.609	0.674	0.682	0.651
G	0.574	0.617	0.617	0.568	0.634	0.605	0.571
H	0.711	0.717	0.717	0.674	0.707	0.756	0.725
I	0.744	0.674	0.674	0.795	0.700	0.628	0.634
J	0.814	0.739	0.739	0.825	0.732	0.698	0.667
K	0.659	0.630	0.630	0.659	0.650	0.619	0.585
L	0.744	0.711	0.711	0.795	0.789	0.707	0.634
M	0.911	0.833	0.833	0.800	0.717	0.688	0.625
N	0.891	0.854	0.854	0.783	0.739	0.708	0.681
O	1	0.870	0.870	0.881	0.791	0.756	0.652
P	0.870	1	1	0.800	0.717	0.841	0.733
Q	0.870	1	1	0.800	0.717	0.841	0.733
R	0.881	0.800	0.800	1	0.800	0.762	0.690
S	0.791	0.717	0.717	0.800	1	0.756	0.643
T	0.756	0.841	0.841	0.762	0.756	1	0.821
U	0.652	0.733	0.733	0.690	0.643	0.821	1
V	0.644	0.652	0.652	0.605	0.595	0.605	0.571
W	0.617	0.660	0.660	0.578	0.605	0.614	0.581
X	0.553	0.596	0.596	0.511	0.571	0.545	0.548
Y	0.630	0.674	0.674	0.556	0.659	0.667	0.595

	V	W	X	Y
A	0.578	0.587	0.522	0.532
B	0.619	0.591	0.558	0.568
C	0.600	0.609	0.543	0.587
D	0.628	0.600	0.568	0.578
E	0.595	0.568	0.500	0.545
F	0.605	0.690	0.619	0.628
G	0.524	0.610	0.500	0.585
H	0.634	0.683	0.571	0.659
I	0.585	0.595	0.561	0.535
J	0.545	0.556	0.489	0.568
K	0.465	0.477	0.476	0.524
L	0.548	0.595	0.561	0.571
M	0.617	0.625	0.563	0.571
N	0.604	0.612	0.583	0.625
O	0.644	0.617	0.553	0.630
P	0.652	0.660	0.596	0.674
Q	0.652	0.660	0.596	0.674
R	0.605	0.578	0.511	0.556
S	0.595	0.605	0.571	0.659
T	0.605	0.614	0.545	0.667
U	0.571	0.581	0.548	0.595
V	1	0.886	0.750	0.757
W	0.886	1	0.806	0.811
X	0.750	0.806	1	0.730
Y	0.757	0.811	0.730	1

Lampiran 4.

UNWEIGHTED PAIR GROUP AVERAGE METHOD

NODE	GROUP 1	GROUP 2	SIMILARITY	NUMBER OF OBJECTS IN FUSED GROUP
1	P	Q	1.000	2
2	M	N	0.935	2
3	NODE 2	O	0.901	3
4	B	C	0.900	2
5	V	W	0.886	2
6	NODE 4	D	0.877	3
7	NODE 3	NODE 1	0.852	5
8	A	E	0.850	2
9	F	H	0.846	2
10	J	R	0.825	2
11	T	U	0.821	2
12	NODE 9	G	0.814	3
13	I	NODE 10	0.805	3
14	NODE 8	NODE 6	0.794	5
15	L	S	0.789	2
16	NODE 5	Y	0.784	3
17	NODE 16	X	0.762	4
18	NODE 13	NODE 7	0.757	8
19	NODE 14	NODE 18	0.736	13
20	K	NODE 15	0.714	3
21	NODE 19	NODE 11	0.692	15
22	NODE 21	NODE 20	0.680	18
23	NODE 22	NODE 12	0.650	21
24	NODE 23	NODE 17	0.586	25

Analysis finished at - 11:38:31pm



Lampiran 5.. Pembuatan ruler bagi dendrogram dengan nilai skala yang didasarkan atas data *clustering analysis (Simple Matching Coeficient)* dan algoritma UPGMA

Nodus	Grup 1	Grup 2	Similaritas	Σ Grup yang bergabung
1	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Pseudomonas gladioli</i>	100 %	2
2	<i>Pseudomonas mallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	94%	2
3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas chlororaphi</i>	92 %	2
4	<i>Pseudomonas delafieldii</i>	<i>Pseudomonas facilis</i>	92 %	2
5	Nodus 2	<i>Pseudomonas caryophylli</i>	91 %	3
6	Nodus 3	<i>Pseudomonas aerofaciens</i>	90 %	3
7	<i>Pseudomonas aeuginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	88 %	2
8	<i>Pseudomonas pathovars</i>	<i>Pseudomonas cichorii</i>	88 %	2
9	<i>Pseudomonas acidoforans</i>	<i>Pseudomonas testosterone</i>	88 %	2
10	Nodus 8	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	86 %	3
11	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	86 %	2
12	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	86 %	2
13	Nodus 5	Nodus 1	86 %	5
14	Nodus 11	<i>Pseudomonas pickettii</i>	85 %	3
15	Nodus 4	<i>Pseudomonas saccharophila</i>	84 %	3
16	Nodus 7	Nodus 6	82,7 %	5
17	Nodus 15	<i>Pseudomonas flava</i>	82,7 %	4
18	Nodus 14	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	79,4 %	4
19	Nodus 18	Nodus 12	77,5 %	6
20	Nodus 16	Nodus 13	77 %	10
21	Nodus 19	Nodus 9	74 %	8
22	Nodus 20	Nodus 21	73,6 %	18
23	Nodus 22	Nodus 10	69,4 %	21
24	Nodus 23	Nodus 17	64,8 %	25

Dengan melihat pada dendrogram dalam Pointshop Pro diketahui bahwa

100 % (pada ujung dendrogram) setara dengan 506 pixel  
 64,8 % ≈ 65 % setara dengan 104 pixel

---

35,2 % ≈ 35 % setara dengan 402 pixel

Jadi 1 % setara dengan  $402/35$  pixel = 11,485 pixel

10 % setara dengan 114,85 pixel

5 % setara dengan 57,42 pixel

Skala ruler dibuat atas dasar nilai tersebut diatas

Percentage (%)	Scale length (pixel)
65	104
70	161,42
75	218,84
80	276,26
85	332,68
90	391,1
95	448,62
100	505,94 ≈ 506

Lampiran 6. Pembuatan ruler bagi dendrogram dengan nilai skala yang didasarkan atas data *clustering analysis* (*Jaccard coeficient*) dan algoritma UPGMA

Nodus	Grup 1	Grup 2	Similaritas	Σ Grup yang bergabung
1	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Pseudomonas gladioli</i>	100 %	2
2	<i>Pseudomonas mallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	93,5 %	2
3	Nodus 2	<i>Pseudomonas caryophylli</i>	90,1 %	3
4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	90 %	2
5	<i>Pseudomonas delafieldii</i>	<i>Pseudomonas facilis</i>	88,6 %	2
6	Nodus 4	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	87,7 %	3
7	Nodus 3	Nodus 1	85,2 %	5
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	85 %	2
9	<i>Pseudomonas syringae pathovars</i>	<i>Pseudomonas cichorii</i>	84,6 %	2
10	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Pseudomonas pickettii</i>	82,5 %	2
11	<i>Pseudomonas acidovorans</i>	<i>Pseudomonas testosterone</i>	82,1 %	2
12	Nodus 9	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	81,4 %	3
13	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Nodus 10	80,5 %	3
14	Nodus 8	Nodus 6	79,4 %	5
15	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	78,9 %	2
16	Nodus 5	<i>Pseudomonas flava</i>	78,4 %	3
17	Nodus 16	<i>Pseudomonas saccharophila</i>	76,2 %	4
18	Nodus 13	Nodus 7	75,7 %	8
19	Nodus 14	Nodus 18	73,6 %	13
20	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	Nodus 15	71,4 %	3
21	Nodus 19	Nodus 11	69,2 %	15
22	Nodus 21	Nodus 20	68 %	18
23	Nodus 22	Nodus 12	65 %	21
24	Nodus 23	Nodus 17	58,6 %	25

Dengan melihat pada dendrogram dalam Pointshop Pro diketahui bahwa

100 % (pada ujung dendrogram) setara dengan 808 pixel  
 58,6 % ≈ 59 % setara dengan 405 pixel

41,4 % ≈ 41 % setara dengan 403 pixel

Jadi 1 % setara dengan  $403/41$  pixel = 9,83 pixel

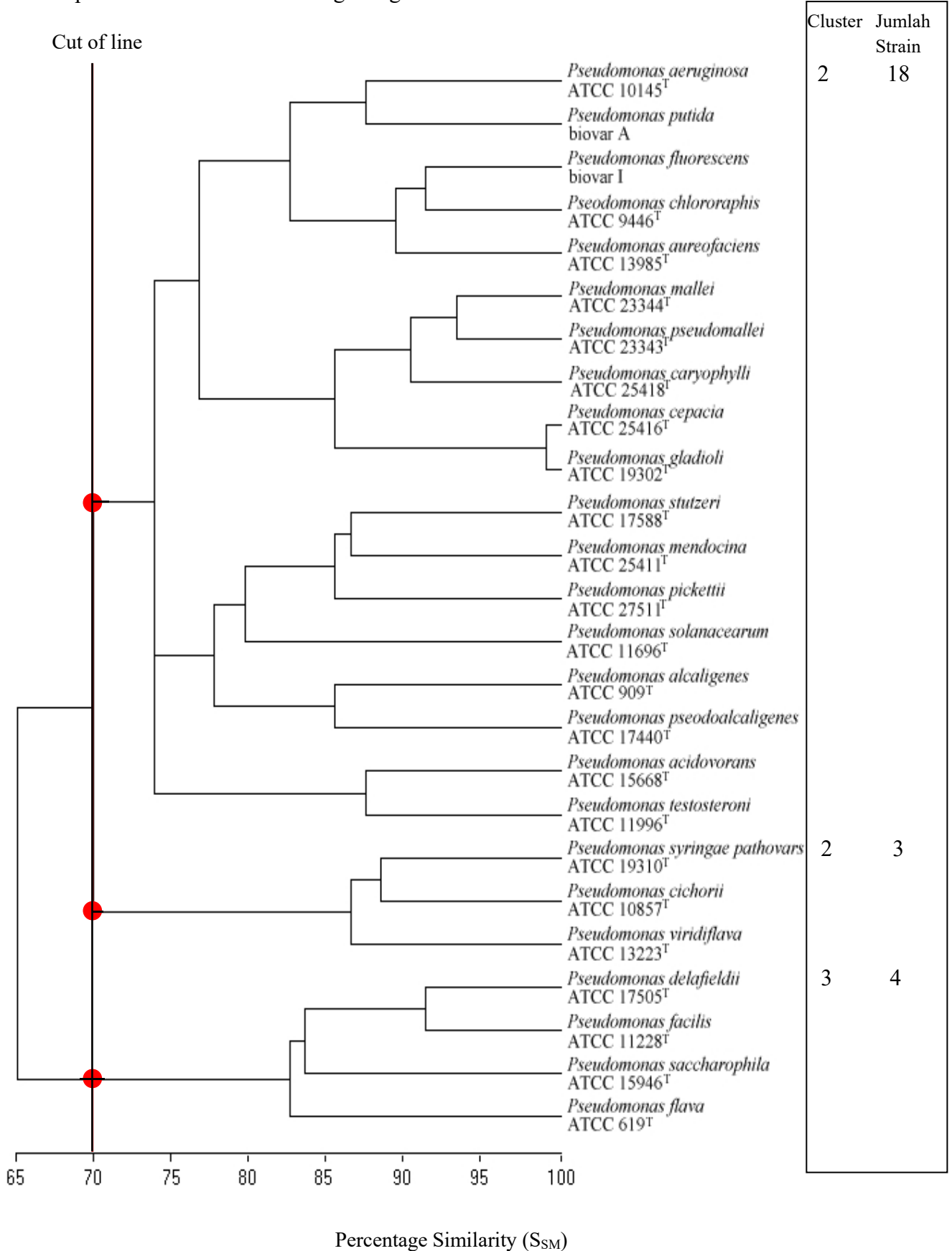
10 % setara dengan 98,3 pixel

5 % setara dengan 49,2 pixel

Skala ruler dibuat atas dasar nilai tersebut diatas

Percentage (%)	Scale length (pixel)
55	364
60	405
65	454,2
70	503,4
75	552,6
80	601,8
85	651
90	700,2
95	749,4
100	798,6

Lampiran 7. Dendrogram yang menunjukkan klasifikasi berdasarkan konsep Taxsospecies hasil analisis  $S_{SM}$  dengan algoritma UPGMA



Lampiran 6. Dendrogram yang menunjukkan klasifikasi berdasarkan konsep Taxsospecies hasil analisis  $S_j$  dengan algoritma UPGMA

