

**SKRIPSI**

***BARCODING DNA ISOLAT BAKTERI BERPOTENSI  
SEBAGAI PROBIOTIK ASAL SEDIMEN RAWA***

***DNA BARCODING ISOLATES BACTERIAL OF POTENTIAL  
AS PROBIOTIC FROM SEDIMENTS OF SWAMP***



**Januar Ahlan Suhada  
05051281419037**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2018**

## SUMMARY

**JANUAR AHLAN SUAHADA.** DNA Barcoding Isolates Bacterial Of Potential As Probiotic From Sediments Of Swamp. (Supervised by **MARINI WIJAYANTI and DADE JUBAEDAH**).

Bacteria derived from swamp sediments and aquaculture ponds potential to be probiotics. The research aims to determine the sequence of 16S rRNA gene of isolate of probiotics candidate bacteria from sediment of swamp and pangasius pond, to determine the phylogenetic tree between the bacterial species from isolates and GeneBank data central for their potentially as probiotic. The samples of bacteria resulted from pure isolation selected from the sediment of pond cultivation and swamp waters at Lebung Karang Reservation, Ogan Ilir Regency, Indralaya, South Sumatra. This study was started from cultivating bacteria, extracting DNA of bacteria, amplifying 16S rRNA genes by PCR, running electrophoresis, and sequencing the amplicon for determining DNA barcodes of bacteria from sediment of swamp and rearing pond. Results of 16S sRNA gene sequencing were obtained nucleotide length 1324bp (KA Isolate), 1328bp (RA Isolate), 1324bp (KE Isolate), and 1342bp (RE Isolate). The result of BLAST analysis showed that KA isolate has the highest similarity 97% with *Streptomyces sp.* Hjorring101 from Denmark and RA isolate had the highest similarity 98% with *Streptomyces sp.* BD99 from Pakistan. KE isolate had the highest similarity 99% with *Bacillus subtilis* CESi5 from Japanese and RE isolate had the highest similarity 93% with *Bacillus sp.* 2bFR from Manado. All of isolates were bacteria potentially as aquaculture probiotics. Water quality in cultivation medium were temperature 29,3-29,9<sup>0</sup>C, pH 6,0-8,2, dissolved oxygen 3,3-5,0 mgL<sup>-1</sup>. All of isolates were bacteria potentially as aquaculture probiotics.

Key words : Bacteria, isolate, 16S rRNA gene, sequencing, probiotic.

## RINGKASAN

**JANUAR AHLAN SUAHAHA.** *Barcoding* DNA Isolat Bakteri Berpotensi Sebagai Probiotik Asal Sedimen Rawa. (Dibimbing oleh **MARINI WIJAYANTI dan DADE JUBAEDAH**).

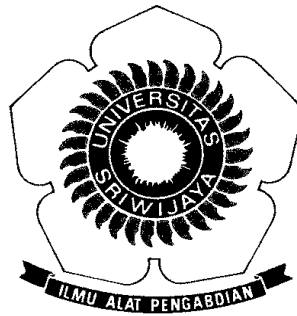
Bakteri yang berasal dari sedimen rawa dan kolam budidaya dapat berpotensi sebagai probiotik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sekuen gen 16S rRNA pada isolat bakteri yang berpotensi probiotik asal sedimen rawa dan kolam budidaya ikan patin, mengetahui pohon filogenetik antar spesies bakteri isolat dan pusat data *GeneBank* yang berpotensi sebagai probiotik. Sampel bakteri berasal dari hasil isolasi murni yang dikultur dari sedimen kolam budidaya dan perairan rawa di Reservat Lebung Karang, Kabupaten Ogan Ilir, Indralaya, Sumatera Selatan. Penelitian ini akan dimulai dengan menumbuhkan bakteri, mengekstraksi DNA bakteri, amplifikasi dengan gen 16S rRNA menggunakan PCR, menjalankan elektroforesis, dan sekuensing ampikon untuk menentukan *barcode* DNA bakteri asal sedimen rawa dan kolam pemeliharaan. Hasil sekuensing gen 16S sRNA didapatkan panjang nukleotida 1324bp (Isolat KA), 1328bp (Isolat RA), 1324bp (Isolat KE), dan 1342bp (Isolat RE). Hasil analisis jarak genetik menunjukkan aktinomiset isolat KA memiliki tingkat kemiripan tertinggi yaitu 97% dengan spesies *Streptomyces sp.* Hjorring101 asal Denmark dan isolat RA memiliki tingkat kemiripan tertinggi yaitu 98% dengan spesies *Streptomyces sp.* BD99 asal Pakistan. Eubakteria isolat KE memiliki tingkat kemiripan tertinggi yaitu yaitu 99% dengan *Bacillus subsp. Subtilis* CESi5 asal Jepang dan isolat RE memiliki tingkat kemiripan tertinggi yaitu 93% dengan *Bacillus sp.* 2bFR asal Manado. Kualitas air pada media kultivasi yaitu suhu 29,3-29,9°C °C, pH 6,0-8,2, dan DO 3,3-5,0 mg.L<sup>-1</sup>. Seluruh isolat bakteri tersebut berpotensi sebagai probiotik akuakultur.

Kata kunci : Bakteri, isolat, gen 16S rRNA, sekuensing, probiotik.

**SKRIPSI**

***BARCODING DNA ISOLAT BAKTERI BERPOTENSI  
SEBAGAI PROBIOTIK ASAL SEDIMEN RAWA***

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan  
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya



**Januar Ahlan Suhada  
05051281419037**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN PERIKANAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2018**

# LEMBAR PENGESAHAN

## **BARCODING DNA ISOLAT BAKTERI BERPOTENSI SEBAGAI PROBIOTIK ASAL SEDIMEN RAWA**

### SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan  
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

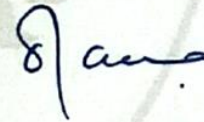
Oleh

**Januar Ahlan Suhada**  
05051281419037

Indralaya, Agustus 2018

Pembimbing I

Pembimbing II



**Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si**  
NIP. 197609102001122003

**Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si**  
NIP. 197707212001122001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Pertanian

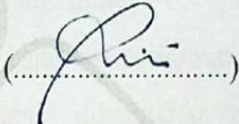
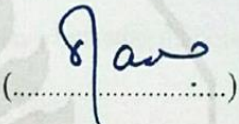
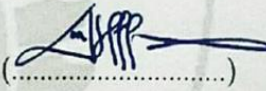
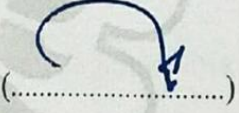


**Prof. Dr. Ir. Andy Mulyana, M.Sc.**  
NIP 196012021986031003



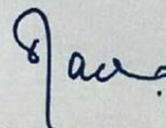
Skripsi dengan Judul "Barcoding DNA Isolat Bakteri Berpotensi Sebagai Probiotik Asal Sedimen Rawa" oleh Januar Ahlan Suhada telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 25 Juli 2018 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

### Komisi Penguji

1. Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si      Ketua      ()  
NIP. 197609102001122003
2. Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si      Sekretaris      ()  
NIP. 197707212001122001
3. M. Syaifudin, S.Pi., M.Si, Ph.D      Anggota      ()  
NIP. 197603032001121001
4. Dr. Mohamad Amin, S.Pi., M.Si      Anggota      ()  
NIP. 197604122001122001

Indralaya, Agustus 2018

Koordinator Program Studi  
Budidaya Perairan



Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si  
NIP. 197707212001122001

Ketua Jurusan Perikanan



Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D  
NIP. 197404212001121002

## PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Januar Ahlan Suhada

NIM : 05051281419037

Judul : *Barcoding* DNA Isolat Bakteri Berpotensi Sebagai Probiotik Asal Sedimen Rawa

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat di dalam skripsi ini merupakan hasil tulisan saya sendiri dibawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya. Apabila dikemudian hari ditemukan adanya unsur plagiasi dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak mendapat paksaan dari pihak manapun.



Indralaya, Agustus 2018



[Januar Ahlan Suhada]

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan pada tanggal 14 Januari 1996 di DKI Jakarta yang merupakan anak kedua dari empat bersaudara dari orang tua yang bernama Adi Mulyawan dan Suhaida Binti M Sori. Penulis menyelesaikan Sekolah Dasar pada tahun 2008 di Madrasah Ibtidaiyah MIS Daarul-Uluum. Sekolah menengah pertama pada tahun 2011 di SMPN 145 Jakarta dan sekolah menengah atas tahun 2014 di SMAN 20 Jakarta. Sejak Agustus 2014 penulis tercatat sebagai mahasiswa di jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya melalui jalur SBMPTN.

Pada tahun 2014-2016 penulis merupakan anggota aktif Himpunan Mahasiswa Akuakultur (HIMAKUA). Untuk mengaplikasikan ilmu dibidang perikanan, pada tahun 2017 penulis pernah mengikuti kegiatan magang di Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu Dan Keamanan Hasil Perikanan Jakarta. dengan judul “Deteksi IHHNV Pada Udang Vaname Dengan Teknik PCR” selama 2 bulan, serta melaksanakan kegiatan praktek lapangan di UPR Mitra Mina Sejahtera Indralaya dengan Judul “Maskulinisasi Ikan Cupang (*Betta Splendens*) Menggunakan Madu” selama 50 hari.

Selama aktif menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti lomba baik tingkat provinsi maupun nasional.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan karunia-Nya yang diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “*Barcoding* DNA Isolat Bakteri Berpotensi Sebagai Probiotik Asal Sedimen Rawa”. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Hibah Kompetitif tahun 2017 dengan judul “Probiotik Bioflok Asal Rawa Untuk Produktivitas Akuakultur Khas Rawa” dengan Nomor: 988/UN9.3.1/PP/2017.

Shalawat beriring salam tidak lupa disanjungkan kepada nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. Kedua orang tua (Adi Mulyawan dan Suhaidah Binti M Sori) dan saudara kandung (Andini Juliyanti, Adisa Puteri Sya’baniyah, dan Alansyah Fatahir Risqan) terima kasih atas segala doa, kasih sayang, pengertian, dukungan dan materi yang diberikan selama ini.
2. Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D. selaku ketua Jurusan dan Ibu Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si selaku sekretaris Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan pendidikan S1.
3. Ibu Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si dan Ibu Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
4. Ibu Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si Selaku Koordinator Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
5. Bapak Ir. H. Marsi, M.Sc, Ph.D selaku pembimbing akademik penulis yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat berharga.
6. Bapak M. Syaifudin, S.Pi., M.Si, Ph.D dan bapak Dr. Mohamad Amin, S.Pi., M.Si. Selaku penguji skripsi dalam ujian komprehensif yang telah memberikan saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini.
7. Bapak Yulisman, S.Pi., M.Si, Bapak Tanbiyaskur, S.Pi., M.Si, Bapak Muslim, S.Pi., M.Si, Bapak Danang Yonarta, S.St.Pi., M.P, Bapak Ferdinand Hukama

T, S.Pi., M.Si, Ibu Madyasta Anggana R, S.Pi., M.P, Ibu Sefti Heza Dwinanti, S.Pi., M.Si, Ibu Retno Cahya M, S.Pi., M.Si, dan Ibu Mirna Fitriani, S.Pi., M.Si selaku staff dosen dan Ibu Ani Sumarni, S.E selaku admin program studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan pendidikan S1.

8. *Aquatic PicoBacteriologist Team* sebagai kakak dan teman seperjuangan penelitian, serta teman-teman seperjuangan di Program Studi Budidaya Perairan khususnya angkatan 2014 yang telah bahu-membahu dalam memberikan semangat dan membantu selama penelitian serta adik tingkat 2015, 2016 dan kakak tingkat yang sudah banyak membantu penulis pada saat menyelesaikan Skripsi ini.
9. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Yusuf, Fitri, Magdalena, Evi, Lusi, Novi, Mahendra, Noer, Zen, Ka Felix, Ka Agustina, Ka Nabillah dan Ka Siti, serta teman-teman yang berada di Jakarta yang telah banyak membantu penulis.
10. Analis Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Laboratorium Budidaya Perikanan, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Genetika dan Bioteknologi dan Laboratorium Mikrobiologi yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat dijadikan acuan bagi yang membutuhkannya.

Indralaya, Agustus 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Kerangka Pemikiran.....	2
1.2. Tujuan dan Kegunaan .....	3
1.3. Manfaat .....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1. <i>DNA Barcoding</i> berdasarkan 16S rRNA.....	4
2.2. Ekstraksi DNA dan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	5
2.3. Bakteri Probiotik Asal Sedimen.....	6
2.4. Perhitungan Koloni Bakteri Menggunakan Larutan <i>McFarland</i> .....	7
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN .....	9
3.1. Tempat dan Waktu .....	9
3.2. Bahan dan Metoda.....	9
3.3. Metode Penelitian.....	10
3.4. Parameter yang Diamati.....	12
3.5. Analisis Data .....	12
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	13
4.1. Kultivasi dan Perbanyakkan Isolat Bakteri .....	13
4.2. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	15
4.3. Konsentrasi Biomasa dan Laju Pertumbuhan Spesifik Bakteri .....	17
4.4. Visualisasi Hasil Amplifikasi DNA .....	18
4.5. Kekekabatan Spesies.....	19
4.6. Pohon Filogenetik .....	23
4.7. Kualitas Air .....	27

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	29
5.1. Kesimpulan .....	29
5.2. Saran.....	29
DAFTAR PUSTAKA .....	30
LAMPIRAN	

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Standar larutan <i>McFarland</i> .....	8
Tabel 4.1. Isolat bakteri yang digunakan pada kultivasi dan perbanyakan isolat bakteri.....	13
Tabel 4.2. Hasil analisis BLASTn sampel eubakteria dan aktinomiset dengan data di <i>Genbank</i> .....	20
Tabel 4.3. Kualitas air di media kultur cair aktinomiset dan eubakteria pada saat awal dan akhir kultivasi.....	27



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 4.1. Koloni tunggal isolat bakteri.....	14
Gambar 4.2. Kurva standar <i>McFarland scale</i> .....	15
Gambar 4.3. Data kurva pertumbuhan bakteri .....	16
Gambar 4.4. Grafik konsentrasi biomasa dan laju pertumbuhan spesifik bakteri .....	17
Gambar 4.5. Visualisasi hasil amplifikasi gen 16S rRNA isolat bakteri .....	18
Gambar 4.6. Analisa jarak genetik aktinomiset dan eubakteria.....	22
Gambar 4.7. Pohon filogenetik aktinomiset dan eubakteria .....	24

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Data pengukuran standar <i>McFarland scale</i> pada panjang gelombang 565 nm.....	38
Lampiran 2. Data nilai pengukuran absorbansi aktinomiset per hari menggunakan spektrofotometer.....	38
Lampiran 3. Data nilai pengukuran absorbansi eubakteria per 4 jam menggunakan spektrofotometer.....	38
Lampiran 4. Data perhitungan kepadatan bakteri yang dikultur dari media cair didapat dari nilai regresi kurva standar <i>McFarland</i> .....	39
Lampiran 5. Data nilai kepadatan aktinomiset ( $\times 10^9$ CFU.ml <sup>-1</sup> ) per hari dari data hasil pengukuran absorbansi.....	40
Lampiran 6. Data nilai kepadatan eubakteria ( $\times 10^9$ CFU.ml <sup>-1</sup> ) per 4 jam dari data hasil pengukuran absorbansi.....	41
Lampiran 7. Data konsentrasi biomasa dan perhitungan laju pertumbuhan spesifik bakteri di media cair.....	41
Lampiran 8. Data perhitungan laju pertumbuhan spesifik bakteri yang dikultur di media cair.....	42
Lampiran 9. Data kualitas air aktinomiset .....	43
Lampiran 10. Data kualitas air eubakteria .....	44
Lampiran 11. Ekstraksi DNA <i>Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit (Geneaid Biotech Ltd.)</i> .....	44
Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian .....	46

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Sedimen mengandung populasi mikroorganisme yang melimpah dengan keanekaragaman yang tinggi (Bisset *et al.*, 2007). Sedimen rawa mengandung limbah organik yang mengendap di dasar perairan. Bakteri dapat tumbuh di sedimen rawa karena adanya limbah organik tersebut. Menurut Kusuma (2016) bahan organik merupakan sumber energi bagi flora dan fauna tanah baik makro maupun mikro. Bakteri asal kolam budidaya tumbuh akibat limbah organik yang beberapa berasal dari ekskresi organisme akuatik, sisa pakan dan bangkai organisme yang mengendap di dasar kolam. Bakteri yang berasal dari sedimen rawa dan kolam budidaya dapat digunakan sebagai kandidat probiotik.

Probiotik adalah agen mikroba hidup yang mampu memberikan keuntungan bagi inang dengan memperbaiki nilai nutrisi dan pemanfaatan pakan, meningkatkan respon inang terhadap penyakit dan memperbaiki kualitas lingkungan (Verschuere *et al.*, 2000). Menurut Yulvizar *et al.* (2014) probiotik akan lebih efektif apabila menggunakan jenis mikroorganisme *indigenous* (asli) yaitu yang diperoleh berasal dari saluran pencernaan dan lingkungan yang sama atau mirip dengan hewan inang. Isolasi bakteri probiotik sudah dilakukan oleh Firdaus (2012) yang berasal dari air kolam pemeliharaan ikan nila. Hasil isolasi yang diperoleh yaitu bakteri dari genus *Staphylococcus*. Bakteri tersebut merupakan jenis bakteri proteolitik yang menjadi kandidat probiotik terpilih dengan kemampuan menghambat pertumbuhan patogen *S. agalactiae*. Pada penelitian Kurniasih *et al.* (2013) isolasi bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan ikan lele didapatkan bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Bacillus cereus* merupakan spesies yang sebagian besar anggotanya merupakan probiotik bagi hewan darat dan ikan.

Identifikasi bakteri biasa dilakukan berdasarkan pengamatan morfologis, fisisologis, dan uji biokimia (Wulandari *et al.*, 2014). Karakterisasi bakteri yang didasarkan pada penampakan morfologi, fisiologi, dan uji biokimia hasilnya kurang stabil, kurang seragam dan sangat dipengaruhi penilaian subyektif. Hal ini

mengakibatkan jumlah strain bakteri yang diperoleh biasanya sangat kecil sekali dibandingkan dengan keragaman bakteri yang sebenarnya (Sarjito, 2010)

Untuk memastikan spesies bakteri yang diduga potensial sebagai kandidat probiotik, perlu adanya identifikasi secara genetik yang menunjukkan hasil identifikasi secara spesifik (Feliatra *et al.*, 2012). Untuk itu perlu diketahui karakteristik molekuler bakteri probiotik menggunakan sekuensing gen 16S rRNA. Menurut Feliatra *et al.* (2012) dari isolasi strain bakteri yang berpotensi sebagai probiotik, dilanjutkan ke uji molekuler dengan menggunakan 16S rRNA untuk memastikan spesiesnya. *Barcoding* DNA menggunakan gen 16S rRNA telah banyak digunakan dalam mengetahui karakterisasi DNA molekuler bakteri. Menurut hasil penelitian Yosmaniar (2017) hasil *barcoding* menggunakan 16s rRNA diperoleh bakteri kandidat probiotik pada sampel air dan sedimen dikoleksi dari kolam budidaya ikan patin, hasil sekuen bakteri kelompok nitrifikasi antara lain: *Pandoraea pnomenusa* strain 1318, *Pseudomonas aeruginosa* strain PSE12, *Pseudomonas aeruginosa* strain PSE12, *Burkholderia vietnamiensis* strain NE 7 dan kelompok denitrifikasi yaitu: *Achromobacter xylosoxidans* strain TPL14, *Stenotrophomonas acidaminiphila* strain BTY, *Stenotrophomonas maltophilia* strain BHWSL2, *Ochrobactrum intermedium* strain: SQ 20. Pada pengembangan budidaya ikan di lahan rawa identifikasi bakteri rawa menggunakan gen 16S rRNA perlu dilakukan untuk didapatkannya karakterisasi bakteri rawa yang nantinya diharapkan bakteri tersebut dapat berpotensi sebagai probiotik dan menentukan struktur pohon filogenetik yang sudah terdata di *GenBank*.

## 1.2. Kerangka Pemikiran

Salah satu alternatif dalam upaya penanggulangan penyakit pada komoditas perikanan adalah pemanfaatan bakteri probiotik yang bersifat non patogen dan memiliki kemampuan mengurangi koloni bakteri patogen, menghambat pertumbuhan bakteri patogen, dapat berfungsi sebagai bakteri pengurai dan menetralsir kualitas air, serta memungkinkan sebagai makanan di dalam perairan (Muliani, 2012). Probiotik memiliki keunggulan dibandingkan cara-cara pengendalian yang lainnya, diantaranya adalah: (1) menekan pertumbuhan bakteri patogen dan (2) mampu memperbaiki kualitas air

(Moriarty,1998). Seiring perkembangan teknologi dalam analisis molekular, metode praktis serta efisien seperti *bercoding DNA* dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies bakteri dalam suatu lingkungan yang nantinya dapat digunakan untuk kandidat probiotik. Hal ini menjadikan pentingnya mengetahui karakterisasi bakteri asal sedimen rawa dan kolam budidaya ikan patin yang di dekati dengan melakukan *barcoding DNA* menggunakan gen 16S rRNA untuk kelanjutannya sebagai kandidat probiotik.

### **1.3. Tujuan dan Kegunaan**

Tujuan dan kegunaan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui sekuen gen 16S rRNA pada isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik asal sedimen rawa dan kolam budidaya ikan patin.
2. Mengetahui pohon filogenetik antar spesies bakteri dari hasil penelitian dan pusat data *GeneBank*.
3. Mengetahui identitas kelayakan isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik asal sedimen rawa dan kolam budidaya ikan patin berdasarkan kedekatannya dengan genus probiotik.

### **1.4. Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai karakterisasi DNA molekuler dan identitas isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik asal sedimen rawa dan kolam budidaya ikan patin berdasarkan gen 16S rRNA.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adlhani, E., Mahsunah, A.H. dan Yunianta., 2012. Uji aktivitas senyawa antibiotika yang dihasilkan oleh aktinomisetes endofit *Streptomyces bacillaris* AY999817 dari batang tanaman urang aring. *Jurnal Teknologi & Industri*, 2(1).
- A'isah, N. dan Mardiana., T.Y., 2016. Pengaruh pemberian berbagai jenis probiotik terhadap pertumbuhan ikan nila merah (*Oreochromis* sp.). *PENA Akuatika*, 13(1), 14-22.
- Ambarwati dan Purwani, E., 2012. Keanekaragaman *Streptomyces* yang berasosiasi dengan rizosfer jagung (*Zea Mays*). Prosiding Seminar Nasional Biologi, 9(1), 513-517.
- Aris, M., Sukenda., Harris, E., Sukadi, M.F., dan Yuhana, M., 2013. Identifikasi molekular bakteri patogen dan desain primer PCR. *Jurnal Budidaya Perairan*, 1 (3), 43-50.
- Balcazar, J.I, DeBlas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Cunningham, D., Vendrell, D. and Muzquiz, J.L., 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology Review*, 114, 173-186.
- Baris, O., Gulluce, M., Sahin, F., Ozer, H., Kilic, H., Ozkan, H., Sokmen, M. and Ozbek ,T., 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea Biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Turk. J. Biol*, 30, 65-73.
- Berdy, J., 2005. Bioactive microbial metabolites: a personal view. *J. Antibiot*, 58(1), 1–26.
- Bissett, A., Burke, C., Cook, P.L.M. and Bowman, J.P., 2007. Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. *Environmental Microbiology*, 9(1), 46 – 60.
- Brugger, S.D., Baumberger, C., Jost, M., Jenni, W., Brugger, U. and Muhlemann, K., 2012. Automated counting of bacterial colony forming units on agar plates. *J. Plos One*, 7(3), 1-6.
- Dalahi, F., Subekti, S. dan Agustono., 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri yang terdapat pada saluran pencernaan ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) dengan pemberian pakan komersil yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 6 (1), 87-92.
- Denton, M. and Kerr. K. G., 1998. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 57 – 80.

- Diarti, M.W., Rohmi., Achmad, Y.S.K. dan Jiwintarum, Y., 2017. Karakteristik morfologi, koloni dan biokimia bakteri yang diisolasi dari sedimen laguna perindukan nyamuk. *Jurnal Kesehatan Prima*, 11(2), 124-136.
- Faturrahman., 2005. Keragaman genetik sejumlah isolat *Clostridium bifermentans* berdasarkan *amplified ribosomal DNA restriction analysis*. *J. Biol. Tropi*, 6(2), 57-64.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *J. Evolution*, 39,783-791.
- Firdaus, R., 2012. *Seleksi bakteri kandidat probiotik untuk penghambatan patogen Streptococcus agalactiae tipe non-hemolitik pada ikan nila Oreochromis niloticus secara in vitro dan in vivo*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Gouliamova, D.E., Stoilova-Disheva, M.M.,Dimitrov, R.A., Gushterova, A.G., Vasileva-Tonkova, E.S., Paskaleva, D.A. and Stoyanova, P.E., 2012. Preliminary characterization of yeasts and actinomycetes isolated from mammalian feces. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 26(1), 1-4.
- Hajibabaei, M., Smith, M.A., Janzen, D.H., Rodriguez, J.J., Whitfield, J.B. and Hebert, P.D.N., 2006. A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *J Compilation Blackwell Publishing*, 6, 959-964.
- Hatmanti, A., 2000. Pengenalan *Bacillus spp. J.Oseana*, 25(1),31-41.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and DeWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 270, 313- 321.
- Hong, H.A., Duc, L.H. and Cutting, S.M., 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 813–835.
- Janda, J.M. and Abbott, S.L., 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal Of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761–2764.
- Joko, T., Kusumandari, N. dan Hartono, S., 2011. Optimasi metode PCR untuk deteksi *Pectobacterium carotovorum*, penyebab penyakit busuk lunak angrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 17(2), 54–59.
- Jumiarni, D., 2010. Isolasi dan identifikasi bakteri sedimen waduk. *Jurnal Exacta*,8(1), 1-11.

- Kanti, A., 2005. *Actinomycetes* selulolitik dari tanah hutan taman nasional Bukit dua belas, jambi. *Biodiversitas*, 6(2), 85-90.
- Kadri, A.N., Gelgel, K.T.P. dan Suarjana, I.G.K., 2015. Perbedaan cara penyebaran suspensi terhadap jumlah bakteri pada media *eosin methylene blue* agar. *J. Indonesia Medicus Veterinus*, 4(3), 205-212.
- Kurniasih, T., Widanarni, Mulyasari, Melati, I., Azwar, Z.I. dan Lusiastuti, A.M., 2013. Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri dari saluran pencernaan ikan lele sebagai kandidat probiotik. *J. Ris. Akuakultur*, 8(2), 277-286.
- Kurniawati, S., Mutaqin, K.H. dan Giyanto., 2015. Eksplorasi dan uji senyawa bioaktif bakteri agensia hayati untuk pengendalian penyakit kresek pada padi. *J. HPT Tropika*, 15(2), 170-179.
- Kusuma, R.R., Aini, L.Q. dan Khoirunnisaa, L., 2016. Kajian mikroba rizosfer di kawasan pertanian organik kebun percobaan cangar. *Seminar Pembangunan Pertanian*. Hal 51-57.
- Kusuma, S.A.F., Agung, M.U.K. dan Meika, J., 2015. Skrining antibakteri produk ekstrasel eksosimbion bakteri laut pada makroalga terhadap biofilm *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. *Jurnal Akuatik*, 6(2), 128-139.
- Lingarjati, K.H., Djunaedi, A. dan Subagiyo., 2013. Uji penggunaan *Bacillus* sp. sebagai kandidat probiotik untuk pemeliharaan rajungan (*Portunus* sp.). *Journal Of Marine Research*, 2(1), 1-6.
- Lusiastuti, A.M., Ulkhaq, M.F., Widanarni. dan Prihadi, T.H., 2016. Evaluasi pemberian probiotik *Bacillus* pada media pemeliharaan terhadap laju pertumbuhan dan perubahan histopatologi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 11 (2), 171-179.
- Maier, R.M., Pepper, I.L. and Gerba, C.P., 2000. *Environmental Microbiology*. Academic Press. San Diego.
- Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J. and Wade, W.G., 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl. Environm. Microbiol*, 64(2), 795-799.
- Martins. R.A., Guimaraes, L.M., Pamboukian, C.R., Tonso, A., Facciotti, M.C.R. and Schmidell, W., 2004. The effect of dissolved oxygen concentration control on cell growth and antibiotic retamycin production in *Streptomyces olindensis* so20 fermentations. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21(2),185 – 192.

- Marwayana, O.N., 2015. Ekstraksi Asam Deoksiribonukleat (DNA) dari Sampel Jaringan otot. *Jurnal Oseana*, 11(2), 1-9.
- Mcfarland Standard., 2014. *Mcfarland standard: for in vitro use only*. Dalynn Biologicals. Catalogue No. TM50-TM60.
- Mohapatra, S., Chakraborty, T., Kumar, V., DeBoeck, G. and Mohanta, K.N., 2013. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr*, 97(3), 405-430.
- Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous vibrio species in penaeid aquaculture ponds. *Journal Aquaculture*, 164, 351 – 358.
- Morakchi, H., Ayari, A., Taok, M., Kirane, D. and Cochet, N., 2009. Characterization of *Streptomyces* strain slo-105 isolated from lake oubeira sediments in north-east of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 8(22), 6332-6336.
- Mullen, M.P., Howard, D.J., Powell, R. and Hanrahan, J.P., 2009. A note on the use of fta™ technology for storage of blood samples for dna analysis and removal of pcr inhibitors. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 48(1), 109–113.
- Muliani., Nurbaya., Nurhidayah. dan Susianingsih, E., 2012. Kemampuan bakteri probiotik yang diisolasi dari makroalga terhadap kualitas air dan sintasan udang windu skala Laboratorium. *J. Ris. Akuakultur*, 7(1), 101-110.
- Mrozik, A., Nowak, A., Piotrowska-Seget, Z., 2014. Microbial diversity in waters, sediments and microbial mats evaluated using fatty acid-based methods. *International Journal Environ. Sci. Technol*, 11, 1487–1496.
- Nasrah, S.N., Suryanto, D., Jamilah, I., 2012. Viabilitas dan keriap *Bacillus* sp. bk17 dan *Enterobacter* sp. bk15 pada sumber karbon dan nitrogen yang berbeda. *Sintia Biologi*, 1(1), 1-6.
- Nurhayati., Jenie, B.S.L., Kusumaningrum, H.D., Widowati, S., 2011. Identifikasi fenotipik dan genotipik bakteri asam laktat asal fermentasi spontan pisang var. agung semeru (*Musa paradisiaca* formatypica). *Jurnal ILMU DASAR*, 12(2), 210 – 225.
- Pandin, D.S., 2000. *Kemiripan Genetik Populasi Kelapa Dalam Mapanget Tenga, Bali, Palu dan Sawarna Berdasarkan Penanda RAPD*. Tesis. Program Pasca Sarjana IPB.
- Pangastuti, A., 2006. Definisi spesies prokaryota berdasarkan urutan basa gen penyandi 16S rRNA dan gen penyandi protein. *Biodiversitas*, 7(3), 292-296.

- Pertiwi, N.P.D., Mahardika, I.G.N.K., dan Watiniasih, N.L., 2015. Optimasi amplifikasi dna menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Pada ikan karang anggota famili *Pseudochromidae* (dotyback) untuk identifikasi spesies secara molecular. *Jurnal Biologi*, 19(2), 1 – 5.
- Puspita, P.J., 2010. *Optimasi konsentrasi xilosa dan glukosa untuk produksi xilitol oleh Candida Tropicalis*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pradana, M. S., Suprpto, H. dan Sasmita, R., 2010. *Aplikasi Pseudomonas untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen di dalam pencernaan juvenil ikan bandeng (Chanos chanos forskal) dan penguraian bahan organik*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rahayu, T., 2011. *Streptomyces* sebagai sumber antibiotik baru di Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 8(1), 456-460.
- Rajikkannu, M., Natarajan, N., Santhanam, P., Deivasigamani, B., Ilamathi, J. and Janani, S., 2015. Effect of probiotics on the haematological parameters of Indian major carp (*Labeo rohita*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(5), 105-109.
- Riyantini, I., Yuniar, M. dan Agung, M.U.K., 2014. Hubungan filogenetik molekuler beberapa jenis mangrove di Pulau Penjarangan, Ujung Kulon, Provinsi Banten. *Jurnal Akuatik*, 5(1), 63-70.
- Rossita, A.S., Munandar, K. dan Komarayanti, S., 2017. Komparasi media NA pabrikan dengan NA Modifikasi untuk media pertumbuhan bakteri. *Prosiding pengembangan potensi lokal dalam pembelajaran biologi dan ipa menuju pendidikan berkemajuan*, 192-201.
- Safrida, Y.D., Yulvizar, C. and Devira, C.N., 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri berpotensi probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger sp.*). *J.Depik*, 1(3), 200-203.
- Saitou, N. and Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4,406-425.
- Salamoni, S.P., Mann, M.B., Campos, F.S., Franco, A.C., Germani, J.C. and Sand, S.T.V.D., 2010. Preliminary characterization of some *Streptomyces* species isolated from a composting process and their antimicrobial potential. *World J Microbiol Biotechnol*, 26, 1847–1856.
- Salle, A.J., 1984. *Fundamental of Principle of Bacteriology*. McGraw Hill Publishing Company, New Delhi: 812 pp.



- Saraswati, N., 2018. *Isolasi aktinomiset untuk bioremediasi air rawa yang tercemar bahan organik*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Sarjito., 2010. *Aplikasi Biomolekuler Untuk Deteksi Agen Penyebab Vibriosis pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti Vibriosis*. Disertasi. Program Doktor Manajemen Sumberdaya Pantai Universitas Diponegoro. Semarang.
- Setyati, W.A., Martani, E., Triyanto., Subagiyo. dan Zainuddin, M., 2015. Kinetika pertumbuhan dan aktivitas protease isolat 36k dari sedimen ekosistem mangrove, karimunjawa, jepara. *J. Ilmu Kelautan*, 20(3),163-169.
- Setyati, W.A. dan Subagiyo., 2012. Isolasi dan seleksi bakteri penghasil enzim ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik dan selulolitik) yang berasal dari sedimen kawasan mangrove. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 17(3), 164-168.
- Soeka, Y.S., Triana, E. dan Setianingrum, N., 2010. Aktivitas aktinomisetes dari bangsa-belitung koleksi bidang mikrobiologi, puslit biologi- lipi dalam memproduksi enzim kitinase. *J. Tek. Ling*, 11(3), 417-423.
- Soelama, H.J.J., Kepel, B.J. dan Siagian, K.V., 2015. Uji minimum inhibitory concentration (mic) ekstrak rumput laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG)*, 3(2), 374-379.
- Sumiardi, E., 2016. Karakterisasi isolat bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon dari tanah tercemar oli bekas di kawasan PT. Krakatau Steel Cilegon Banten. *J. Sci. Phar*, 2(2), 28-33.
- Suriani, S., Soemarno, dan Suharjo., 2013. Pengaruh suhu dan ph terhadap laju pertumbuhan lima isolat bakteri anggota genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari ekosistem sungai tercemar deterjen di sekitar kampus universitas brawijaya. *J-PAL*, 3(2), 58-62.
- Susanti, E., 2003. Isolasi dan karakterisasi protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15. *Biodiversitas*, 4(1), 12-17.
- Thomas, L., Joseph, A., Arumugam, M., Pandey, A., 2013. Production, purification, characterization and over-expression of xylanases from *Actinomycetes*. *Indian Journal of experimental Biology*, 51, 875-884.
- Urakawa, H., Tsukamoto, K.K. and Ohwada, K., 1999. Microbial diversity in marine sediments from Sagami Bay and Tokyo Bay, Japan, as determined by 16S rRNA gene analysis. *Microbiology*, 145(3), 305-315.

- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 64(4), 655-671.
- Virgilio, M., Jordaens, K., Breman, F., Norman, B., Backeljau, T. and DeMeyer, M., 2012. *Turning DNA barcodes into an alternative tool for identification: African fruit flies as a model (Poster)*. Consortium for the Barcode of Life (CBOL)
- Wafa, N.I., 2011. *Uji aktivitas antibakteri fraksi air daun gambir (uncaria gambir roxb) dengan mikrodilusi dan analisis komponen penyusunnya*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wijaya, R.C., Utari, E.L., Yudianingsih., 2015. Perancangan alat penghitung bakteri. *Jurnal Teknologi Informasi*, 10(29).
- Wulandari, A., Prayitno, S.P., Sarjito., 2014. Patogenisitas isolat k14 yang diisolasi dari lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang berasal dari demak. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(2),143-149.
- Yuliani, S., 2017. *Isolasi bakteri rawa sebagai agen bioaugmentasi pada air rawa tercemar bahan organik*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Indralaya
- Yulvizar, C., Dewiyanti, I. dan Defira, C.N., 2014. Seleksi bakteri berpotensi probiotik dari ikan mas (*Cyprinus carpio*) indegenous jantho berdasarkan aktivitas antibakteri secara in vitro. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 6(2), 20-24.
- Yuwono, T., 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Zein, M. S. A., Prawiradilaga, D. M., 2013. *DNA barcoding Fauna Indonesia*. Kencana Press. Jakarta, pp. 9-21.