

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI DNA CHLOROPHYTA ASAL PERAIRAN
RAWA DAN KOLAM BUDIDAYA IKAN PATIN**

***DNA IDENTIFICATION OF CHLOROPHYTA FROM SWAMPS
WATER AND PONDS OF CATFISH REARING***



**Oktavius Felix Ivan
05051281320003**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2019**

SUMMARY

OKTAVIUS FELIX IVAN. DNA Identification Of Chlorophyta From Swamp Waters and Ponds of Catfish (Supervised by **Marini Wijayanti dan Mochamad Syaifudin**).

Chlorophyta is the largest group of algal vegetation that has chlorophyll pigments for photosynthesis. Molecular DNA is used to distinguish the type of chlorophyta originally from swamp water and others water resources. Rapid identification is PCR techniques performed to sequence DNA and their components in phylogenetic trees. Swamp fish cultivation needs to be supported by a typical microalgae for natural feed, and green water system. The purpose of this research is to know the sequences nucleotide at 18 rRNA genes on chlorophyta isolates from swamp waters and catfish culture pond. This research was carried out at the Laboratory of Plant Physiology and Basic Fisheries Laboratory, Aquaculture Study Program, Faculty of Agriculture, Sriwijaya University from February to August 2018. Primer used in DNA identification is Fw_ITS1 and Rv_ITS 4, which resulted 873 bp. Chlorophyta DNA sequence from this study was constructed as phylogenetic trees with sequence from *Gene Bank* using BLAST program and Mega 6 maximum likelihood method. The results of the BLAST analysis showed that Chlorophyta isolates from ponds and swamps had proximity to *Micractinium* sp. LBA 32 (Brazil) with a match percentage of 91% and 97%.

Keywords: Chlorophyta, DNA, ITS, PCR.

RINGKASAN

OKTAVIUS FELIX IVAN. Identifikasi DNA Chlorophyta Pada Perairan Rawa dan Kolam Budidaya Ikan Patin (Dibimbing oleh **Marini Wijayanti dan Mochamad Syaifudin**).

Chlorophyta merupakan kelompok terbesar dari vegetasi alga yang memiliki pigmen klorofil untuk berfotosintesis. Identifikasi DNA molekuler digunakan untuk membedakan jenis chlorophyta asal kolam perairan rawa dan perairan umum lainnya. Teknik identifikasi yang cepat dilakukan yaitu teknik PCR yang dilakukan untuk mensekuensing DNA dan penyusunnya dalam pohon filogenetik. Budidaya ikan rawa perlu didukung dengan mikroalga khas perairan rawa untuk pakan alami atau sistem air hijau. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sekuen gen 18 rRNA Fw_ITS1 dan Rv_ITS 4 pada isolat Chlorophyta asal perairan rawa dan kolam budidaya ikan. Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Laboratorium Dasar Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada bulan Februari sampai Agustus 2018. Primer PCR yang digunakan dalam identifikasi DNA adalah primer Fw_ITS1 dan Rv_ITS 4 yang dilakukan sekuensing dengan target 876 bp. Sekuen DNA Chlorophyta dari studi ini dibentuk pohon filogenetik dengan sekuen serupa dari *gene bank* menggunakan program *Blast* dan *Mega 6* metode *maximum likelihood*. Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa isolat *Chlorophyta* asal kolam dan rawa memiliki kedekatan dengan *Micractinium* sp. LBA 32 asal Brazil dengan persentase kecocokan 91% dan 97%

Kata Kunci: Chlorophyta, DNA, ITS, PCR.

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI DNA CHLOROPHYTA ASAL PERAIRAN
RAWA DAN KOLAM BUDIDAYA IKAN PATIN**

Sebagai Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
Pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya



**Oktavius Felix Ivan
05051281320003**

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

2019

LEMBAR PENGESAHAN

**IDENTIFIKASI DNA *CHLOROPHYTA* PADA PERAIRAN
RAWA DAN KOLAM BUDIDAYA IKAN PATIN**

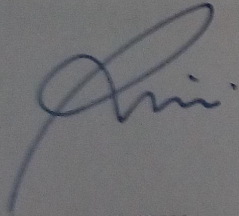
SKRIPSI

Sebagai Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
Pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

Oleh:

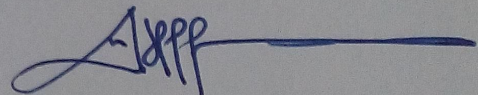
Oktavius Felix Ivan
05051281320003

Pembimbing I



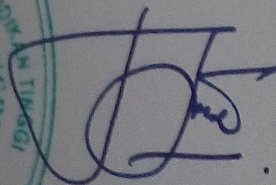
Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si.
NIP 197609102001122003

Indralaya, Maret 2018
Pembimbing II



M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP 197603032001121001

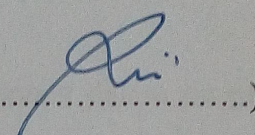
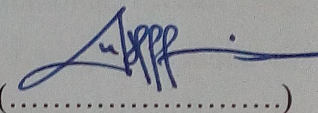
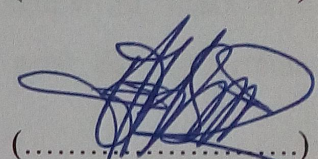
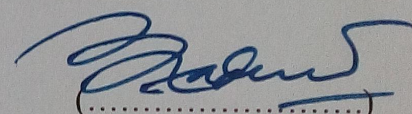
Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian



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

Skripsi dengan Judul "Identifikasi DNA Chlorophyta Pada Perairan Rawa dan Kolam Budidaya Ikan Patin" oleh Oktavius Felix Ivan telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 24 Februari 2019 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

- | | | |
|---|------------|---|
| 1. Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si.
NIP 197609102001122003 | Ketua | () |
| 2. M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP 197603032001121001 | Sekretaris | () |
| 3. Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si.
NIP 197612302000122001 | Anggota | () |
| 4. Sefti Heza Dwinanti, S.Pi., M.Si.
NIP 198409012012122003 | Anggota | () |

Ketua Jurusan
Perikanan



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

Indralaya, Maret 2019
Koordinator Program Studi
Budidaya Perairan

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

Universitas Sriwijaya

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Oktavius Felix Ivan
NIM : 05051281320003
Judul : Identifikasi DNA Chlorophyta Asal Perairan Rawa dan Kolam
Budidaya Ikan Patin

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya di bawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan jelas sumbernya, dan bukan hasil penjiplakan / plagiat. Apabila di kemudian hari ditemukan adanya unsur plagiasi dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar dari Universitas Sriwijaya.

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



Indralaya, Maret 2019



Oktavius Felix Ivan

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 17 Oktober 1995 di Palembang, Sumatera selatan. Penulis merupakan anak pertama dari 3 bersaudara, orang tua bernama Bapak Indraman dan Ibu Anita.

Pendidikan Sekolah Dasar di SD Xaverius 4 Palembang, Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di SMP Xaverius 6 Palembang dan Sekolah Menengah Atas diselesaikan di SMA Xaverius 3 Palembang. Penulis tercatat sebagai mahasiswa di Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tahun 2013.

Penulis sebelumnya pernah menjadi asisten mata kuliah Nutrisi Ikandan Ikhtiologi pada tahun 2015 dan asisten matakuliah Budidaya Pakan Alami pada tahun 2016 di Program Studi Budidaya Perairan Universitas Sriwijaya.

Penulis telah melakukan kegiatan Magang di Balai Benih Ikan Gandus, Palembang pada tahun 2016 dengan topik “Pembenihan Ikan Patin Siam (*Pangasius hypothalamus*) di UPTD Balai Benih Ikan Gandus, Palembang”. Kemudian melaksanakan kegiatan Praktek Lapangan di Kelompok Usaha Perikanan di Kelompok Usaha Perikanan Waring Jaya dengan topik “ Aplikasi pakan ikan lele (*Clarias gariepinus var.*) berbahan baku usus ayam di Kelompok Usaha Perikanan Waring Jaya, Kelurahan Bukit Lama Ilir Barat II Palembang”.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat 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 (Indraman dan Anita) dan saudara kandung (Marcelina Vianey dan Odorikus Irwan) 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 Bapak M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D 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. Ibu Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si. dan Ibu Sefti Heza Dwinanti, S.Pi., M.Si. Selaku penguji skripsi dalam ujian komprehensif yang telah memberikan saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini.
7. Staff dosen beserta Ibu Ani Sumarni, S.E selaku admin program studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan pendidikan S1.

8. Mahasiswa angkatan 2013 yang telah bahu-membahu dalam memberikan semangat dan membantu selama penelitian serta adik tingkat 2014, 2015 dan kakak tingkat yang sudah banyak membantu penulis pada saat menyelesaikan Skripsi ini.
9. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Agustina, Nabilah, Januar, Novi, serta teman-teman yang PMKRI Cabang Palembang yang telah banyak membantu penulis.
10. Analis Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Laboratorium Budidaya Perikanan, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Genetika dan Bioteknologi dan Laboratorium Dasar Perikanan yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian.

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

Indralaya, Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan dan Manfaat.....	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Chlorophyta.....	4
2.2. Ekologi dan Budidaya Perairan Rawa.....	5
2.3. Kultivasi.....	6
2.4. Pertumbuhan Mikroalga.....	7
2.4. Identifikasi DNA.....	9
2.5. PCR.....	10
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	13
3.1. Tempat dan Waktu.....	13
3.2. Bahan dan Alat.....	13
3.2.1. Alat.....	13
3.2.2. Bahan.....	14
3.3. Metodologi Penelitian.....	14
3.3.1. Pengambilan sampel.....	14
3.3.2. Isolasi dan Identifikasi Mikroalga.....	15
3.3.3. Pemurnian Isolat Mikroalga.....	15
3.3.4. Pembuatan Media Starter.....	15
3.3.5. Perbanyakkan Isolat Chlorophyta.....	16
3.3.6. Ekstraksi DNA.....	16
3.3.7. PCR.....	17
3.3.8. Elektroforesis.....	17
3.3.9. Pemotongan Gel Agarose.....	18

3.3.10. Sequence DNA.....	18
3.4. Pengamatan Parameter.....	18
3.5. Analisa Data.....	18
BAB 4. HASIL & PEMBAHASAN.....	20
4.1. Kultivasi dan Perbanyak Mikroalga.....	20
4.2. Identifikasi DNA Chlorophyta.....	21
4.2.1. Isolasi DNA.....	21
4.2.2. Hasil Sekuensing.....	23
4.3. Pertumbuhan <i>Micractinium</i>	28
4.4. Konsentrasi Biomassa dan Laju Pertumbuhan Spesifik.....	29
4.5. Suhu dan pH.....	30
4.6. DO Kultivasi <i>Micractinium</i> Menggunakan Kultur Cair.....	31
BAB 5. KESIMPULAN & SARAN.....	32
5.1. Kesimpulan.....	32
5.2. Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Hubungan kekerabatan filogenetik kelas Trebouxioophyceae dengan Chlorophyceae.....	5
Gambar 4.1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian.....	13
Gambar 4.4. Analisis Jarak Genetik Chlorophyta.....	25
Gambar 4.5. Pohon Filogenetik Chlorophyta.....	26
Gambar 4.6. Kurva Pertumbuhan Sel <i>Micractinium</i>	28
Gambar 4.7. Konsentrasi Biomassa dan Laju Pertumbuhan Spesifik.....	29
Gambar 4.8. Nilai Oksigen Terlarut Air kultivasi <i>Micractinium</i>	31

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian.....	13
Tabel 3.2. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian	14
Tabel 4.1. Hasil analisis BLASTn Chlorophyta Isolat rawa dan kolam.....	25
Tabel 4.2. Kisaran suhu dan pH.....	27

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Chlorophyta merupakan kelompok terbesar dari vegetasi alga yang memiliki pigmen klorofil untuk berfotosintesis. Chlorophyta mempunyai peranan penting di perairan umum sebagai produsen utama atau fitoplankton. Chlorophyta mendegradasi senyawa anorganik menjadi senyawa organik melalui fotosintesis sehingga dapat dimakan oleh zooplankton dan larva ikan (Andriyani *et al.*, 2014). Chlorophyta dapat ditemukan di perairan umum yang terkena sinar matahari yang cukup. Sebagian besar perairan rawa, terdapat spesies ikan endemik merupakan habitat, salah satunya ikan patin (*Pangasius pangasius*) yang banyak dibudidayakan di daerah perairan rawa (Muslim, 2012).

Kelimpahan mikroalga di perairan umum yang begitu luas belum dimanfaatkan manusia secara menyeluruh. Hal ini dikarenakan kurangnya kegiatan identifikasi dari mikroalga. Identifikasi DNA molekuler digunakan untuk membedakan jenis Chlorophyta asal kolam perairan rawa dan perairan umum lainnya. Menurut Radha *et al.* (2013), teknik ini sangat penting karena mikroalga sulit teridentifikasi ketika menggunakan pengamatan morfologis. Pengetahuan taksonomi mikroalga yang mendalam juga diperlukan agar terhindar dari kesalahan penamaan spesies mikroalga.

Identifikasi Chlorophyta pada perairan rawa perlu dilakukan untuk mengetahui jenis mikroalga yang berada di perairan rawa. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro* (Handoyo dan Rudiretna, 2000). Krienitz *et al.* (2004), melakukan sekuensing *Micractinium* sp. menggunakan primer ITS menghasilkan panjang amplikon 242 bp. Darienko *et al.* (2015), melakukan identifikasi Chlorophyta genus *Coccomyxa* amplifikasi dengan *Internal Transcriber Spacer* primer ITS-1 dan ITS-2 dengan panjang amplikon masing-masing 402 bp dan 308 bp.

Penyusunan pohon filogenetik digunakan untuk memberikan informasi mengenai hubungan kekerabatan spesies berdasarkan karakter genetik. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi DNA Chlorophyta yang berhasil diisolasi dari perairan umum rawa dan kolam patin sebagai pendekatan karakter, sebagai pakan alami atau *green water system* secara filogenetik. Menurut Rismiyati *et al.* (2016), pohon filogenetik yang diperoleh menggambarkan suatu perubahan yang terjadi pada gen penanda tiap spesies. Semakin panjang cabang, maka semakin banyak perubahan yang terjadi pada gen penanda. Pohon filogenetik memberikan informasi tentang pengklasifikasian populasi berdasarkan hubungan evolusioner karena data molekul lebih banyak dipakai dan dianggap lebih stabil dalam proses evolusi dibandingkan dengan data secara morfologis.

1.2. Rumusan Masalah

Budidaya ikan rawa perlu didukung dengan mikroalga khas perairan rawa untuk pakan alami atau *green water* sistem. Mikroalga perairan rawa didominasi oleh Chlorophyta. Akan tetapi, belum banyak diketahui DNA Chlorophyta yang digunakan dalam kegiatan akuakultur. Chlorophyta yang terdapat dalam kolam budidaya, diharapkan sudah jelas fungsi identitasnya, sehingga aman digunakan dalam kegiatan akuakultur. Teknik identifikasi yang cepat dilakukan yaitu teknik PCR yang dilakukan untuk mensekuensing DNA dan penyusunnya dalam pohon filogenetik. Pendekatan filogenetik tersebut diharapkan dapat memberikan informasi kedekatannya dengan Chlorophyta yang digunakan *green watersystem* atau pakan alami dalam akuakultur.

1.3. Tujuan dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui sekuen gen 18rRNA dengan primer *Forward ITS_1* dan Primer *Reverse ITS_4* isolat Chlorophyta asalperairan rawa dan kolam budidaya ikan patin.
2. Mengetahui pohon filogenetik antar spesies Chlorophyta dari hasil penelitian dan pusat *Gene Bank*.

Penelitian ini diharapkan dapat diperoleh identitas DNA Chlorophyta asal perairan rawa dan perairan kolam ikan patin untuk pengembangan pakan alami perairan rawa berdasarkan gen 18 rRNA dan Fw-ITS1/Rv-ITS 4.

DAFTAR PUSTAKA

- Amini, S dan Syamdidi., 2005. Konsentrasi Unsur Hara Pada Media dan Pertumbuhan *Chlorella vulgaris* Dengan Pupuk Anorganik Teknis. *Jurnal Perikanan (J. Fish. Sci)*. 7 (2). 201-206.
- Andriyani, H., Widyastuti, E., dan Widyartini, D.S., 2014. Kelimpahan Chorophyta Pada Media Budidaya Ikan Nila yang Diberi Pakan Fermentasi Dengan Penambahan Tepung Kulit Ubi Kayu dan Probiotik. *Scripta Biologica*. 1(1): 49-54.
- Braddock, T. dan Bernsten, L., 2007. *Wetlands An Introduction to Ecology, the Law, and Permitting*. The Scarecrow Press, Inc. USA.
- Bock, C., Krienitz, L., and Proschlod, T.211. Taxonomic Reassessment of The Genus *Chlorella* Using Molecular Signatures (Barcodes), Including Description of Seven New Species. *Fottea Journal*. 11(2): 293-312.
- Chilmawati, D. dan Suminto., 2008. Penggunaan Media Kultur yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Saintek Perikanan*. Vol 4(1): 42-49.
- Darienko, T., Lydia G., Anja E., Wiebke, W., and Thomas, P., 2015. Evaluating Bondaries of Green Microalgae (Coccomyxa, Trebouxiophyceae, Chlorophyta) Using Intergrative Taxonomy and DNA Barcoding with Further Implications for the Species Identification in Environmental Samples. *Journal Phone Plos One*. 10(6): 1-31.
- Fasya, A.G., Umi, K., Suci, A., Siti, K., dan Romaidi, 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* sp. Hasil Kultivasi Dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Pada Tiap Fase Pertumbuhan. *Alchemy*. 2(3). 162-169.
- Guiry, M.D., 2012. How Many Species of Algae Are Here? *Journal of Phycology, New Jersey*. V.48, n.5, p. 1057-1063.
- Hadi, S.I.A., Hugo, S., Patricia, P.M.B., Taisa, G.G., Marcia, D.O., Alexandre, M., Marcos, E.C.O., Flavia, C.P.S., and Bruno, S.A.F.B., DNA Barcoding Green Microalgae Isolated from Neotropical Inland Waters. *Journal Phone Plos One*. 11(2): 1-18.
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A., 2000. *Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Pusat Studi Bioteknologi - Universitas Surabaya.

- Hidajatiningtyas, H., 2011. Identifikasi dan Optimasi Media Tumbuh Isolat Mikroalga Asal Sumber Air Panas Cipanas Jawa Barat yang Berpotensi Sebagai Bahan Baku Diesel. *Tesis*. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Hong, J.W., Seung-Woo J., Hyung-Woo C., Seung WN., Wongghi S., Kyung MP., Kyoung IL., Ho-Sung Y., 2015. Phylogeny, Morphology, and Physiology of *Micractinium* Strains Isolated From Shallow Ephemeral Freshwater in Antarctica. *Japanese Society of Phycology*. 63: 212-218.
- Hoek, C.V.D.H., Mann, D.G., and Jahns, H.M., 1995. *Algae an Introduction to Phycology*. New York. Cambridge University Press.
- NCBI, 1988. *National Center for Biotechnology Information*. Available <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=3041&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>. [Accessed 9 Maret, 2019].
- Irianto, D., 2011. Pemanfaatan Mikroalga Laut *Scenedesmus* sp. Sebagai Penyerap Bahan Kimia Berbahaya Dalam Air Limbah Industri. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Ismanadji, I., 2007. Kebijakan Pengembangan Budidaya Patin dan Ikan Hias Air Tawar. *Makalah*. Diseminasi Hasil Riset Ikan Patin dan Ikan Hias Air Tawar. Palembang. 25 hal.
- 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.
- Jorgensen, S.E., 2009. *Ecosystem Ecology*. Elsevier's Science and Technology Rights. Italy.
- Jusadi, 2003. Modul Budidaya Pakan Alami Air Tawar (*Budidaya Chlorella*). Departemen Pendidikan Nasional.
- Kaidah dan Suprpto, 2013. Penentuan Metode Isolasi DNA Tanaman Salak Komersial. *Bulletin Penelitian*. 7: 55-56.
- Kawaroe M., Pratono T., Sanuddin A., Wulansari D., dan Augustine D. 2010. *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. IPB Press.
- Krienitz, L. dan Bock, C., 2012. Present State of the Systematics of Planktonic Coccoid Green Algae of Inland Waters. *Phytoplankton Responses to Human Impact at Different Scales: Springer*; 2012p. 295-326.

- Krienitz, L., Eberhard, H.H., Dominik, H., Volker, A.R.H., Thomas, R., and Mathias W., 2004. Phylogenetics Relationship of *Chlorella* and *Parachlorella* gen. nov (Chlorophyta, Treuboxiophyceae). *Phycologia*. 43(5):529-542.
- Krienitz, L., Volker, A.R.H., and Christina, B., 2014. *Chlorella*: 125 Years of The Green Survivalist. *Trend in Plant Science*. Vol 20 (02): 7-69.
- Lavens, P dan Sorgeloos, P., 1996. *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Food and Agriculture of the United Nation. Rome.
- Liana, H.A., 2017. Isolasi DNA *Chlorella* sp. Dengan Metode CTAB dan Identifikasi Sikuen 18S rDNA. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulina Ibrahim Malik, Malang.
- Luo, W., Stephan, P., Thomas, P., Norbert, W., dan Lothar, K., 2006. Genotype versus Phenotype Variability in *Chlorella* and *Micractinium* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *ProtistJournal*. 157: 315-333.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H., and Stahl, D., 2015. *Brock Biology of Microorganism*. Fourteenth Edition. United States of America.
- Maftuchah, Aris, W., dan Agus, Z., 2014. *Teknik Dasar Analisis Biologi Molekuler*. Deepublish. Yogyakarta.
- Muslim, 2012. *Perikanan Rawa Lebak Lebung Sumatera Selatan*. Unsri Press.
- Prabowo, D. A., 2009. *Optimasi pengembangan media untuk pertumbuhan Chlorella sp. Pada skala laboratorium*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Prihatini, N.B., Putri, B., dan Yuniati, R., 2005. Pertumbuhan *Chlorella spp.* Dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Dengan Variasi pH Awal. *Makara Sains*. Vol 9(1): 1-6.
- Posten, C. and Chen, S.F., 2016. *Microalgae Biotechnology*. German: Springer.
- Radha, S., Fathima, A.A., Iyappan, S., dan Ramya, M., 2013. Direct colony PCR for rapid identification of varied microalgae from freshwater environment *Journal of Applied Phycology*. 25: 609-613.
- Rismiati, A., Kusumaningrum, H.P., Zaiuri, M., dan Jiyanti S., 2016. Karakterisasi Dan Identifikasi Molekuler Fusan Hasil Fusi Protoplas Interspecies *Chlorella pyrenoidosa* dan *Chlorella vulgaris* Menggunakan 18SrDNA. *Jurnal Bioma*. 18(1): 30-40

- Rybicky, E.P., 1996. *Primer Design and Reaction Optimisation In Molecular Biology Techniques Manual*. [online]. Available at <http://www.mcb.uct.ac.za/mcb/resources/pcr/primer> [Accessed 21 September 2018]
- Saptasari, M., Triastono, dan Susriati, M., 2007. *Buku Ajar Botani Tumbuhan Bertalus: Alga*. Malang: Universitas Negeri Malang Press
- Sasmito, D.E.K., Rahadian, K., dan Izzati, M., 2014. Karakteristik Primer Pada *Polymerase Chain Reaciton (PCR)* untuk sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Nasional Informatika Medis*. V.93-102.
- Smith, R.T., Krys, B., Stephen, J.W., and James, G., 2015. Synergistic Carbon Metabolism in a Fast Growing Mixotrophic Freshwater Microalgal species *Micractinium Inernum*. *Journal Biomass and Energy*. 82: 73-76.
- Somma, M., 2006. *The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organism Session 4*. Institute for Health and Consumer Protection
- Sulisetijono, 2009. *Bahan Serahan Alga*. Malang: UIN Malang
- Sumantriyadi, 2014. Pemanfaatan sumber daya perairan rawa lebak untuk perikanan. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*. 9(1), 59-65.
- Surzycki, S.J., 2000. *Basic Technology in Molecular Biology*. Springer-Verlag. Publisher: New York.
- Susilo, B., Damayanti, R., dan Izza, N., 2017. *Teknik Bioenergi*. UB Press.
- White, T.J, Bruns, T., Lee, S.J.W.T., dan Taylor, J.W., 1990. *Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetic*: Acaemic Press; 1990. 315-22p.
- Widyanto, A., Susilo, B., Yulianingsih, R., 2014. Studi Kultur Semi - Massal Mikroalga *Chlorella* sp Pada Area Tambak Dengan Media Air Payau (Di Desa Rayunggumuk, Kec. Glagah, Kab. Lamongan). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol 2 (1) 1-7.
- Xie, Q., Lin, J., Qin, Y., Zhou, J., dan Bu, W. 2011., Structural Diversity of Eukaryotic 18S rRNA and its Impact on Aligment and Phylogenic Reconstruction, *Protein Cell* 2(2), 161-170. doi: 10.1007/s13238-011-1017-2.
- Yuwono, T., 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Penerbit ANDI. Yogyakarta.
- Yusuf, Z.K., 2010. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Saintek Vol 5 (6) 2010. Staf Pengajar Jurusan Kesehatan Masyarakat. Universitas Negeri Gorontalo

Zein, M.S.A. dan Prawiradilaga, D.M., 2013. *DNA Barcode Fauna Indonesia*. Penerbit Kencana. Jakarta.