

SKRIPSI

**BARKODE DNA *Spirulina* YANG DIKULTUR
MENGUNAKAN MEDIA PUPUK TEKNIS DAN
LIMBAH BUDIDAYA IKAN LELE BERDASARKAN
GEN 16S rRNA**

***DNA BARCODING OF Spirulina CULTURED AT
TECHNICAL FERTILIZER AND WASTE WATER
MEDIUM OF CATFISH FARMING
BASED ON 16S rRNA***



**Yully Nurianti
05051281520037**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

**BARKODE DNA *Spirulina* YANG DIKULTUR
MENGUNAKAN MEDIA PUPUK TEKNIS DAN LIMBAH
BUDIDAYA IKAN LELE BERDASARKAN GEN 16S rRNA**

SKRIPSI

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

Oleh:

Yully Nurianti
05051281520037


Indralaya, Januari 2020

Pembimbing I

Pembimbing II



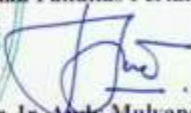
Dr. Marini Wijavanti, S.Pi., M.Si.
NIP 197609102001122003



M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP 19760303201121001



Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian



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


Skripsi dengan judul "Barkode DNA *Spirulina* yang Dikultur Menggunakan Media Pupuk Teknis dan Limbah Budidaya Ikan Lele Berdasarkan Gen 16S rRNA" oleh Yully Nurianti telah dipertahankan dihadapan komisi penguji skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Pada tanggal 17 Desember 2019 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan dari tim penguji.

Komisi Penguji

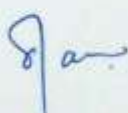
- | | | |
|--|------------|---|
| 1. Dr. Marini Wijayanti, S.Pi., M.Si.
NIP. 197609102001122003 | Ketua | () |
| 2. M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP. 19760303201121001 | Sekretaris | () |
| 3. Yulisman, S.Pi., M.Si.
NIP. 197607032008011013 | Anggota | () |
| 4. Tanbiyaskur, S.Pi., M.Si.
NIP. 198604252015041002 | Anggota | () |

Indralaya, Januari 2020

Ketua Jurusan
Perikanan


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

Koordinator Program Studi
Budidaya Perairan


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

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yully Nurianti
NIM : 05051281520037
Judul : Barkode DNA *Spirulina* yang Dikultur Menggunakan Media Pupuk Teknis dan Limbah Budidaya Ikan Lele Berdasarkan Gen 16S rRNA

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat di dalam skripsi ini merupakan hasil saya sendiri di bawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya. Apabila di kemudian 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, Januari 2020

METERAI
TEMPEL
CIB07AAHF149070200
6000
RUPIAH
[Yully Nurianti]

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Barkode DNA *Spirulina* yang Dikultur Menggunakan Media Pupuk Teknis dan Limbah Budidaya Ikan Lele Berdasarkan Gen 16S rRNA”. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian hibah profesi Ibu Prof. Dr. Ir. Nuni Gofar, M.S. Nomor: 0144.25/UN9/SB3.LP2M.PT/2019 dengan judul “Aplikasi Mikroba Rawa Fungsional untuk Pangan dan Pakan Organik”

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya bimbingan, dorongan, nasihat serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih sebanyak-banyaknya kepada :

1. Keluarga tersayang, terimakasih untuk kedua orang tua tercinta terutama mama yang selalu menjadi motivasi terbesar penulis, yang telah memberikan doa, kasih sayang, pengertian dan dukungan moril maupun materil sehingga menjadi kekuatan penulis untuk bertahan sejauh ini dan menyelesaikan skripsi ini, juga kepada kakak (Selli) dan adik (Indah) yang selalu memberikan semangat dan doa bagi penulis.
2. Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D. Selaku ketua Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
3. Ibu Dr. Dade Jubaedah, S.Pi., M.Si. Selaku Koordinator Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
4. 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 sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Ibu Prof. Dr. Ir. Nuni Gofar, M.S. yang telah memberikan bantuan selama penelitian ini berlangsung.
6. Bapak Yulisman, S.Pi., M.Si. dan Bapak Tanbiyaskur, S.Pi.,M.Si. selaku penguji dalam ujian komprehensif yang telah memberikan saran dan masukan dalam penyempurnaan penulisan skripsi ini.

7. Ibu Ade Dwi Sasanti, S.Pi., M.Si. selaku pembimbing akademik dan Bapak M. Syaifudin, S.Pi., M.Si., Ph.D. yang menggantikan ibu Ade selama melanjutkan pendidikan S3 yang telah memberikan arahan dan nasehatnya selama penulis tercatat aktif sebagai mahasiswa.
8. Seluruh dosen dan staf administrasi Program Studi Budidaya Perairan yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan, saran, masukan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
9. Mbak Yani selaku Analis Laboratorium Dasar Perikanan yang telah banyak memberikan dukungan dan semangat selama penulis mengerjakan tugas akhir dan Mbak Ana selaku analis Laboratorium Budidaya Perairan yang membantu penulis dalam melaksanakan penelitian.
10. Tim *Swamp Aquaculture Microbiology* (Della, Anita, Oktin, Risti, Ayu dan Antika) sebagai teman seperjuangan, teman bertukar pikiran, dan yang selalu memberikan motivasi, dukungan dan jasa sehingga yang sulit menjadi lebih mudah dan yang berat terasa lebih ringan.
11. Tara dan Kurniasih, serta teman-teman angkatan 2015 Budidaya Perairan yang tidak dapat saya sebutkan semuanya satu persatu atas semua dorongan, masukan, doa, dan partisipasi selama penyusunan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan informasi bagi yang membacanya.

Indralaya, Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan dan Kegunaan Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. <i>Spirulina</i>	4
2.2. Morfologi dan Siklus Hidup <i>Spirulina platensis</i>	4
2.3. <i>DNA Barcoding</i> berdasarkan Gen 16S rRNA.....	6
2.4. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	7
2.5. <i>PCR Spirulina</i>	8
2.6. Filogenetik.....	8
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	11
3.1. Tempat dan Waktu.....	11
3.2. Bahan dan Metoda.....	11
3.3. Analisis Data.....	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
4.1. Morfologi <i>Spirulina</i>	16
4.2. Visualisasi Hasil Amplifikasi DNA.....	18
4.3. Kekerabatan Spesies dan Pohon Filogenetik.....	21
BAB 5. KESIMPULAN.....	25
5.1. Kesimpulan.....	25
5.2. Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Morfologi <i>Spirulina platensis</i> perbesaran mikroskop 100x	5
Gambar 2.2. Siklus hidup <i>Spirulina</i>	6
Gambar 2.3. Analisis pohon filogenetik <i>Arthrospira (Spirulina)</i> dikonstruksi menggunakan MEGA 6 dengan metode <i>Maximum Likelihood</i> ..	9
Gambar 4.1. Morfologi <i>Spirulina</i> komersil perbesaran 40x	16
Gambar 4.2. Hasil identifikasi morfologi isolat <i>Spirulina</i> perbesaran 40x.....	17
Gambar 4.3. Visualisasi hasil amplifikasi isolat <i>Spirulina</i>	19
Gambar 4.4. Pohon filogenetik dari isolat yang dikultur dengan media pupuk teknis dan limbah menggunakan MEGA 6.0	23

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1. Bahan-Bahan yang digunakan dalam penelitian	11
Tabel 3.2. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian	12
Tabel 4.1. Isolat <i>Spirulina</i> yang digunakan.....	16
Tabel 4.2. Hasil analisis BLASTn sampel <i>Spirulina</i> yang dikultivasi dalam media pupuk teknis dan limbah dengan data di <i>GenBank</i>	21
Tabel 4.3. Jarak genetik isolat pupuk teknis dan limbah dengan data di <i>GenBank</i> menggunakan MEGA 6.0	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Ekstraksi DNA.....	30
Lampiran 2. Dokumentasi.....	32
Lampiran 3. Komposisi media pupuk teknis dan limbah yang dianalisis di Balai Riset dan Standarisasi Industri Palembang.....	35

ABSTRAK

Teknologi produksi *Spirulina* dalam media limbah budidaya ikan lele dapat menjadi alternatif untuk mengurangi pencemaran lingkungan. Namun, beberapa faktor lingkungan seperti nutrisi, cahaya dan kadar air dapat mempengaruhi bentuk morfologi *Spirulina* dan menyebabkan variasi pada tingkat genetik. Barcode DNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies dan mengetahui karakterisasi DNA serta variasi genetik antar spesies. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi spesies dan bentuk morfologi *Spirulina* yang dikultur dengan menggunakan media pupuk teknis dan limbah, serta mengetahui pohon filogenetik antar spesies dari hasil penelitian dan pusat *GeneBank* berdasarkan gen 16S rRNA. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Perairan Program Studi Budidaya Perairan, Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Perikanan, Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya pada bulan Desember 2018-Februari 2019. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolasi DNA, amplifikasi menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan sekuensing dengan fragmen gen 16S rRNA. Penelitian ini mendeskripsikan morfologi *Spirulina* yang dikultur pada media pupuk teknis (ST) dan limbah (SL), jarak genetik dan pohon filogenetik *Spirulina* yang dikonstruksi menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat yang digunakan dalam penelitian merupakan *Arthrospira* dimana isolat SL memiliki filamen linier dan beberapa heliks namun lebih pendek dari ST. Jarak genetik isolat ST dan SL yaitu 0,068 (6,8%). Pohon filogenetik menunjukkan bahwa *Spirulina platensis* yang dikultur pada media pupuk teknis (ST) memiliki kedekatan dengan spesies *Arthrospira platensis* petH yang berasal dari Jepang (nilai *bootstrap* 95%). Sedangkan *Spirulina platensis* yang dikultur pada media limbah (SL) membentuk *subcluster* tersendiri dari isolat ST dan spesies *Arthrospira platensis* petH yang berasal dari Jepang (nilai *bootstrap* 85%).

Kata Kunci: barcode DNA, filogenetik, limbah budidaya ikan lele, *Spirulina*, 16S rRNA

Indralaya, Januari 2020

Pembimbing I



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

Pembimbing II



M. Syaifuldin, S.Pi., M.Si., Ph.D.
NIP. 19760303201121001

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikroalga merupakan salah satu biota perairan yang bermanfaat sebagai pakan alami. Salah satu mikroalga yang banyak digunakan untuk pakan alami adalah *Spirulina*. *Spirulina* adalah ganggang hijau-biru bersel tunggal dan berfilamen yang termasuk ke dalam kelompok Sianobakter. *Spirulina* merupakan mikroalga yang memiliki protein tinggi sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai pakan alami (Nur, 2014). Unsur hara yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *Spirulina* terdiri dari makronutrien (C, H, N, P, K, S, Mg, dan Ca) dan mikronutrien (Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si). Nitrogen dan fosfor sering menjadi faktor pembatas pertumbuhan *Spirulina* (Nemerrow, 1991). Modifikasi media *Spirulina platensis* sebagai upaya pemanfaatan air limbah budidaya ikan lele telah dilakukan oleh Widyantoro *et al.* (2018), berdasarkan hasil analisa di Balai Riset dan Standarisasi Industri Palembang, media pupuk teknis modifikasi mengandung kadar nitrogen total sebesar 31,94 mg.L⁻¹, total organik karbon 24,05 mg.L⁻¹, dan fosfor 0,07 mg.L⁻¹. Sedangkan limbah budidaya ikan lele yang berasal dari kolam pembesaran ikan lele berukuran 13x18x1 m³ dipelihara selama 30 hari dengan kepadatan 115 ekor.m⁻³ ukuran 15-20 cm mengandung kadar nitrogen total 8,42 mg.L⁻¹, total organik karbon 12,45 mg.L⁻¹, dan fosfor 0,06 mg.L⁻¹. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Spirulina* yaitu kadar nitrogen dan karbon. Menurut Setyoningrum *et al.*, (2014) pupuk teknis mengandung sumber karbon yang terdapat dalam bentuk natrium bikarbonat. Ketersediaan sumber karbon yang cukup di lingkungan menyebabkan proses metabolisme berlangsung cepat. Berdasarkan penelitian Suminto (2009) konsentrasi nitrogen yang tinggi pada media kultur akan sangat berpengaruh terhadap kelimpahan sel *Spirulina platensis*.

Pada dasarnya, morfologi *Spirulina* ditandai dengan trikoma yang melingkar secara teratur (heliks). Namun, morfologi abnormal juga dapat terjadi pada *Spirulina* seperti bentuk melingkar yang tidak beraturan bahkan linier. Dalam beberapa kondisi budidaya, filamen linier dapat kembali ke heliks. Namun,

ada perbedaan yang signifikan dalam morfologi, ultrastruktur, fisiologi, biokimia, dan karakteristik genetik antara filamen heliks dan filamen linier tetapi tidak ada perbedaan antara filamen asli (heliks) dan yang dikembalikan (linier-heliks). Linierisasi pada *Spirulina* merupakan variasi pada tingkat genetik yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor lingkungan seperti nutrisi, cahaya dan kadar air (Wang dan Zhao, 2005).

Menurut Widodo (2014), metode yang dilakukan untuk mengidentifikasi *Spirulina* yaitu analisis melalui pendekatan morfologi yang diidentifikasi menggunakan gambar sketsa dari buku. Sketsa dalam buku seringkali kurang jelas dan terdapat kemiripan bentuk morfologi antar spesies serta tidak mencerminkan struktur asli atau alamiahnya. Menurut Liu *et al.* (2016), *DNA barcoding* telah berkembang sebagai teknologi yang dapat diandalkan untuk mengidentifikasi spesies berdasarkan variasi dalam urutan wilayah DNA standar. Metode ini berhasil digunakan dalam berbagai aplikasi biologi termasuk menemukan spesies samar, mendeteksi spesies invasif, dan mengidentifikasi tanaman. *DNA barcoding* merupakan sekuen genom pendek sederhana yang diamplifikasi melalui PCR dengan menggunakan primer yang sesuai (Internasional Barcode Of Life, 2012). *DNA barcoding* menggunakan gen 16S rRNA telah banyak digunakan dalam mengetahui karakterisasi DNA molekuler bakteri. Oleh karena itu, identifikasi *Spirulina* menggunakan gen 16S rRNA perlu dilakukan untuk mendapatkan karakterisasi *Spirulina* yang dikultur pada media pupuk teknis dan limbah serta menentukan struktur pohon filogenetik yang sudah terdata di *GenBank*.

1.2. Rumusan Masalah

Spirulina merupakan Sianobakter yang memiliki peran penting dalam kehidupan, baik dalam bidang kesehatan, lingkungan, perikanan dan sebagainya. Hal ini menyebabkan penelitian mengenai *Spirulina* terus berkembang. Wang dan Zhao (2005), menyebutkan bahwa beberapa faktor seperti cahaya, kadar air dan nutrisi dapat mempengaruhi bentuk morfologi *Spirulina* dari helix kelinier. Beberapa metode yang dilakukan untuk mengidentifikasi morfologi yaitu menggunakan gambar sketsa dari buku. Sketsa dalam buku seringkali kurang jelas dan terdapat kemiripan bentuk morfologi antar spesies serta tidak mencerminkan

struktur asli atau alamiahnya. Seiring perkembangan teknologi dalam analisis molekular, metode praktis serta efisien dan akurat seperti *barcoding DNA* dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies mikroalga dan bakteri dalam suatu lingkungan. Pada prokaryota terdapat tiga jenis RNA ribosomal, yang digunakan sebagai penanda molekular yaitu 5S, 16S, dan 23S rRNA. Molekul 5S rRNA memiliki urutan basa terlalu pendek, sehingga tidak ideal dari segi analisis statistika, sementara molekul 23S rRNA memiliki struktur sekunder dan tersier yang cukup panjang sehingga menyulitkan analisis. Sedangkan gen penyandi 16S rRNA memiliki ukuran pasangan basa yang cukup (1500 bp) untuk keperluan informatika serta dapat ditemukan hampir disemua bakteri. Hal ini menjadikan pentingnya mengetahui karakterisasi *Spirulina* yang dikultur pada media pupuk teknis dan limbah yang di dekati dengan melakukan *barcoding DNA* berdasarkan gen 16S rRNA.

1.3. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi spesies dan bentuk morfologi *Spirulina* yang dikultur dengan menggunakan media pupuk teknis dan limbah, serta mengetahui pohon filogenetik antar spesies dari hasil penelitian dan pusat *GeneBank* berdasarkan gen 16S rRNA. Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai karakterisasi morfologi dan mengetahui pohon filogenetik antar spesies *Spirulina* yang dikultur dengan media pupuk teknis dan limbah serta data DNA *barcode* dari pusat *GeneBank* berdasarkan gen 16S rRNA.

DAFTAR PUSTAKA

- Astiani, F., Dewiyanti, I. dan Mellisa S., 2016. Pengaruh kultur yang berbeda terhadap laju pertumbuhan dan biomassa *Spirulina* sp. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1 (3), 441-447.
- Ballot, A., Dadheech P.K. and Krienitz L., 2004. Phylogenetic relationship of *Arthrospira*, *Phormidium* and *Spirulina* strain from Kenyan and Indian waterbodies. *Algological studies*, 113, 37-56.
- Christwardana, Nur, M.M.A. dan Hadiyanto. 2013. *Spirulina platensis*: Potensinya sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2 (1), 19 – 22.
- Ciferri, O., 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *American Society for Microbiology*, 47 (4), 551-578.
- Davis, C.C., 1955. *The Marine and Fresh-Water Plankton*. United States of America: Michigan State University Press
- Drancourt, M., Bollet C., Carlioz, A., Martelin R., Gayral, J.P. and Raoult D. 2000. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *Journal of Clinical*, 38 (10), 3623-3630.
- Elsalam, K.A.A., 2003. Bioinformatic tools and guideline for PCR primer design. *African Journal of Biotechnology*, 2(5), 91-95
- Fogg, G.E., Stewart, W.D.P., Fay, P., Walsby, A.E, 1973. The blue-green algae. *Biologia Plantarum*, 16(5), 340–340.
- Hall, B.G., 2001. *Phylogenetic Trees Made Easy: A How - To Manual for Molecular Biologists*. Sinauer Associates. Inc. Sunderland. Massachusetts, USA.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., DeWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 270, 313- 321.
- Hendrayanti, D., Kusmadji, L.R. dan Yuliana, P., 2012. Phylogeny of Indonesian *Nostoc* (*Cyanobacteria*) isolated from paddy fields as inferred from partial sequence of 16S rRNA gene. *Makara Journal of Science*, 16 (3), 203-208.
- Hillis, D.M. and Bull, J.J., 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analyses. *Syst. Biol*, 42, 182–192.
- International Barcode of Life, 2012. DNA Barcode standards: new community standards adopted for fungi and protists. *Bulletin*, 3(3), 1-17.

- Joko, T., Kusumandari, N. dan Hartono S., 2001. Optimasi metode PCR untuk deteksi *Pectobacterium carotovorum* penyebab penyakit busuk lunak angrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 17 (2), 54-59.
- Lee, Y.K., Kim, H.W., Liu, C.L. dan Lee, H.K., 2003. A simple method for DNA extraction from marine bacteria that produce extracellular materials. *Journal of Microbiological Methods*, 52, 245– 250.
- Liu, J., Yan H.F. and Ge X.J., 2016. The Use of DNA Barcoding on Recently Diverged Species in the Genus *Gentiana* (Gentianaceae) in China. *PLOS ONE*, 11 (4), 1-14.
- 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. *Applied And Environmental Microbiology*, 6(2), 795-799.
- Muhling, M., Harris, N., Belay, A. and Whitton, B.A., 2003. Reversal of helix orientation in the cyanobacterium *Arthrospira*. *J. Phycol*, 39, 360–7.
- Nemerow, N. L. 1991. *Stream, Lake, Estuary, and Ocean Pollution*. Second Edition. Van Nostrand Reinhold, New York
- Nur, M.M.A., 2014. Potensi Mikroalga sebagai Sumber Pangan Fungsional di Indonesia (overview). *Jurnal Eksergi*, 11(2), 01 – 06.
- Pangastuti. A., 2006. Definisi spesies prokaryota berdasarkan urutan basa gen penyandi 16s rRNA dan gen penyandi protein. *Biodiversitas*, 7(3), 292-296.
- Patel, J.B., 2001. 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Molecular Diagnosis*, 6 (4), 313-321.
- Prihantini NB., Wardana W., Hendrayanti D., Widyawan A., Ariyani Y dan Rianto R. 2008. Biodiversitas *Cyanobacteria* dari beberapa situ/danau di kawasan Jakarta-Depok-Bogor, Indonesia. *J. Makara, Sains*. 12(1): 44-54.
- Rahman, F., 2005. Genetic diversity of *Clostridium bifermentans* strain by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *J. Biol Tropi*, 6(2), 57-64.
- Ramos, V., Morais, J., dan Vasconcelos, V.M., 2017. A curated database of cyanobacterial strains relevant for modern taxonomy and phylogenetic studies. *Scientific Data*. 4: 170054. DOI: 10.1038/sdata.2017.54.
- Rout, N.P., Khandual, S., Gutierrez, A., Ibarra, M.J.L., Vega, G. dan Valero, 2015. Divergence in three newly identified *Arthrospira* species from Mexico. *World J. Microbiol Biotechnol*.

- Setyoningrum T.M., Wikasitakusuma V.A., Annisaturraihan., Putra N.I dan Nur M.M.A., 2014. Evaluasi Rasio C/N pada kultivasi *Spirulina platensis* dengan penambahan molase sebagai sumber karbon organik. *Eksergi*. 10(2), 30-34.
- Sili, C., Torzillo, G. dan Vonshak A., 2012. Ecology of *Cyanobacteria* II: Their diversity in space and time (Ed.) Berlin: *Springer Science+Business Media*, 677-705.
- Sukartini, 2008. Analisa jarak genetik dan kekerabatan aksesori-aksesori pisang berdasarkan primer random amplified polymorphic DNA. *Jurnal Hortikultura*, 18 (3), 261-266
- Sukartiningrum S.D., 2012. *Penentuan Pohon Filogenetik Bakteri Xilanolitik Sistem Abdomal Rayap Tanah Berdasarkan Gen 16S rRNA*. Skripsi. Universitas Airlangga.
- Suminto. 2009. Penggunaan jenis media kultur teknis terhadap produksi dan kandungan nutrisi sel *Spirulina platensis*. *Jurnal Saintek Perikanan*. 4 (2), 53-61.
- Sunarno, Muna, F., Fitri N., Malik A., Karuniawati, A., dan Soebandrio A. 2014. Metode cepat ekstraksi DNA *Corynebacterium diphtheriae* untuk pemeriksaan PCR. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 42 (2), 85-92
- Svenning, M.M., Eriksson, T., Rasmussen, U., Phylogeny of symbiotic cyanobacteria within the genus *Nostoc* based on 16S rDNA sequence analyses. *Arch. Microbiol*, 183, 19–26.
- Tomaselli L. 1997. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In : Vonshak A (Ed.) *platensis (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology*. (textbooks). Ben –Gurion University of the Negev. Israel. 1, 1-15.
- Uji, M., Aat, 2014. *Mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan laut*. Bandung: Mitra Edukasi Indonesia
- Usharani, G., Saranraj, P. And Kanchana D., 2012. *Spirulina* Cultivation: a review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3(6), 1327-1341
- Wang, Z.P. and Zhao, Y., 2005. Morphological reversion of *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Cyanophyta): from linear to helical. *Jurnal Phycol*, 41, 622-628
- Widodo, 2014. Aplikasi Mikrofotografi Untuk Mengeksplorasi Jenis-Jenis Cyanophyta. *Jurnal Florea*, 1 (2), 8-13.

- Widyantoro, H., Wijayanti, M. dan Dwinanti, S.H., 2018. Modifikasi media *Spirulina platensis* sebagai upaya pemanfaatan air limbah budidaya ikan lele. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 6(2), 153-164.
- Wu, Z., Shi, J., Lin, S., Li, R., 2010. Unraveling molecular diversity and phylogeny of *Aphanizomenon* (Nostocales, Cyanobacteria) strains isolated from China. *J. Phycol.* 46, 1048–1058.
- Yustinadewi, P.D., Yustiantara, P.S. dan Narayani, I., 2018. Teknik perancangan primer untuk sekuen gen MDR-1 varian 1199 pada sampel *buffy coat* pasien anak dengan LLA. *Jurnal Metamorfosa*, 1, 105-111.
- Yusuf, Z.K., 2010. Polymerase chain reaction (PCR). *Saintek*, 5 (6).
- Zhao, F., Zhang, X., Liang C., Wu, J., Bao, Q. and Qin S., 2006. Genome-wide of restriction-modification system in unicellular and filamentous cyanobacteria. *Physiol Genomic*, 24, 181-190