

**ANALISIS KELIMPAHAN BAKTERI BERBASIS DNA PADA  
GASTROINTESTINAL TRACT IKAN GABUS (*Channa striata*)  
BUDIDAYA DAN ALAM DI SUNGAI MESUJI**

**Skripsi**

**Oleh**

**SYAKILA NAFLAH ASISIFA HASANUDIN**

**1917021033**



**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### **ANALISIS KELIMPAHAN BAKTERI BERBASIS DNA PADA GASTROINTESTINAL TRACT IKAN GABUS (*Channa striata*) BUDIDAYA DAN ALAM DI SUNGAI MESUJI**

Oleh

**SYAKILA NAFLAH ASISIFA HASANUDIN**

Ikan gabus (*Channa striata*) adalah jenis ikan dengan nilai ekonomis. Selain itu, ikan gabus memiliki kandungan albumin yang dibutuhkan manusia untuk mengatasi beberapa penyakit. Ikan ini masuk kedalam jenis ikan karnivora air tawar yang biasa hidup di sungai, danau, dan/atau tambak dan biasanya bersarang di rawa-rawa dan semak-semak di tepi sungai termasuk sungai di daerah Mesuji. Ikan gabus memiliki pertumbuhan yang lamban pertahunnya, salah satu faktor penyerapan nutrisi pada *gastrointestinal tract* yaitu bakteri seperti bakteri probiotik. Dengan demikian dilakukannya penelitian ini untuk melihat kelimpahan bakteri yang ada pada *gastrointestinal tract* ikan gabus karena diyakini bahwa bakteri probiotik mampu meningkatkan laju pertumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus tangkapan liar dengan ikan gabus budidaya dari hasil elektroforesis. Metode yang digunakan pada penelitian ini berbasis analisis DNA dengan menggunakan berat ikan gabus budidaya dan alam  $\pm 700$ gr. Melalui penelitian ini diketahui bahwa kelimpahan bakteri Gram positif lebih banyak dibandingkan bakteri Gram negatif pada ikan gabus budidaya maupun alam dengan bakteri Gram positif ikan gabus budidaya lebih banyak 1,3 – 1,7 kali lipat dibandingkan dengan ikan gabus alam.

Kata kunci: Ikan Gabus (*Channa striata*), *gastrointestinal tract*, ekstraksi DNA, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), elektroforesis

## **ABSTRACT**

### **ANALYSIS ABUNDANCE OF DNA-BASED BACTERIA IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF SNAKEHEAD FISH (*Channa striata*) CULTURE AND WILDLIFE IN THE MESUJI RIVER**

**By**

**SYAKILA NAFLAH ASISIFA HASANUDIN**

Snakehead fish (*Channa striata*) is a type of fish with economical value. In addition, snakehead fish contains albumin which is needed by humans to overcome several diseases. This fish is a type of freshwater carnivorous fish that usually lives in rivers, lakes, and/or ponds and usually nests in swamps and bushes on the riverside including rivers in the Mesuji area. Snakehead fish have slow yearly growth, one of the factors of nutrient absorption in the gastrointestinal tract is bacteria such as probiotic bacteria. Thus, this study was conducted to see the abundance of bacteria in the gastrointestinal tract of snakehead fish because it is believed that probiotic bacteria can increase growth rates. This study aims to determine the abundance of bacteria in the gastrointestinal tract of wildlife snakehead fish with aquaculture snakehead fish from the results of electrophoresis. The method of this research is based on DNA analysis using the weight of aquacultured and wildlife snakehead fish  $\pm$  700gr. Through this research, it is known that the abundance of Gram-positive bacteria is more than Gram-negative bacteria in aquacultured and wildlife snakehead fish with Gram-positive bacteria of cultured snakehead fish is 1.3 - 1.7 times more than wildlife snakehead fish.

**Keywords:** Snakehead (*Channa striata*), gastrointestinal tract, DNA extraction, Polymerase Chain Reaction (PCR), electrophoresis

**ANALISIS KELIMPAHAN BAKTERI BERBASIS DNA PADA  
GASTROINTESTINAL TRACT IKAN GABUS (*Channa striata*)  
BUDIDAYA DAN ALAM DI SUNGAI MESUJI**

**Oleh**

**SYAKILA NAFLAH ASISIFA HASANUDIN**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Penelitian : **ANALISIS KELIMPAHAN BAKTERI BERBASIS  
DNA PADA *GASTROINTESTINAL TRACT* IKAN  
GABUS (*Channa striata*) BUDIDAYA DAN ALAM DI  
SUNGAI MESUJI**

Nama Mahasiswa : *Syakila Hafifah Asisifa Hasanudin*

NPM : 1917021033

Jurusan : S1-Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



**Dr. Kusuma Handayani, M.Si**  
**NIP. 197808192008012018**



**Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.**  
**NIP. 197912302008121001**

2. Ketua Jurusan Biologi  
FMIPA Universitas Lampung




**Dr. Jani Master, M.Si.**  
**NIP. 198301312008121001**

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Kusuma Handayani, M.Si.




.....

Sekretaris : Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.



.....

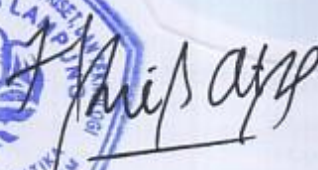
Penguji  
Bukan Pembimbing : Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.



.....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



  
Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 15 Juni 2023

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Syakila Naflah Asisifa Hasanudin  
NPM : 1917021033  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul:

**"Alisis Kelimpahan Bakteri Berbasis DNA pada *Gastrointestinal Tract* Ikan Gabus (*Channa striata*) Budidaya dan Alam di Sungai Mesuji"**

adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Kemudian, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan/atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

Jika kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandarlampung, 19 Juni 2023  
Yang menyatakan,



**Syakila Naflah Asisifa Hasanudin**  
NPM. 1917021033

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kota Bekasi, Jawa Barat pada 24 Mei 2002, anak kedua dari pasangan Ibu Ir. Yani Heryani dan Bapak Iwa Syihabudin, S.E. Penulis memiliki satu kakak laki-laki bernama Muhamad Rid'ham Hasanudin dan satu adik laki-laki bernama Muhammad Hassanal Mu'Izzam Hassanudin. Penulis memulai pendidikannya di Sekolah Dasar (SD) Negeri Margahayu XIII Kota Bekasi dan lulus pada 2013. Dilanjutkan pendidikan menengah di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 3 Bekasi dan lulus pada 2016. Penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 8 Bekasi, jurusan Ilmu Pengetahuan Alam (IPA) dan lulus pada 2019. Penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada 2019 melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten dosen praktikum Zoologi Invertebrata, Zoologi Vertebrata, Keterampilan Dasar/ Kerja Laboratorium, dan Biologi Molekuler. Selain itu, beberapa kegiatan beberapa kegiatan yang pernah diikuti penulis antara lain menjadi anggota bidang Kaderisasi dan Kepemimpinan Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) 2020, bendahara bidang Kaderisasi dan Kepemimpinan Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) 2021, dan Koordinator divisi Dekorasi dan Dokumentasi pada acara Pekan Konservasi Sumber Daya Alam XXV.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPT Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT LTSIT) dengan judul "Teknik Preparasi Sampel pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Mawar (*Rosa sp.*)



Menggunakan *Scanning Electron Microscope* dan *Apotome Microscope* dengan Metode *Non-Embedding*". Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sumberhadi, Kec. Melinting, Kab. Lampung Timur pada bulan Juni – Agustus 2022.

## MOTTO

*“Let it flow”*

*“If God brings you to it; He will bring you through it”*

*“Whoever does good, it is to their own benefit. And whoever does evil, it is to their own loss. Your Lord is never unjust to His creation”*

[Qur'an 41:46]

*“The minute you learn to love yourself, you won't want to be anyone else”*

[Rihanna]

*“It's a beautiful day. Don't let it get away”*

[U2 – Beautiful Day]

“Kau terlalu berharga untuk luka; katakan pada dirimu; semua baik-baik saja; bisikkanlah; terima kasih pada dirimu sendiri; hebat dia; terus menjagamu dan sayangimu”

[Tulus – Diri]

## PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**Skripsi ini penulis buat dengan hati dan penuh dedikasi sebagai salah satu persembahan terbaik untuk kedua orang tua penulis, Ibu Yani Heryani dan Bapak Iwa Syihabudin**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. yang telah memberikan kelancaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Alisis Kelimpahan Bakteri Berbasis DNA pada *Gastrointestinal Tract* Ikan Gabus (*Channa striata*) Budidaya dan Alam di Sungai Mesuji**”. Selama penulisan skripsi, penulis menyadari keterbatasan, kemampuan, dan pengetahuan yang dimiliki, sehingga penulis membutuhkan dukungan dan motivasi dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT. yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis.
2. Kedua orang tua penulis, Ibu Ir. Yani Heryani dan Bapak Iwa Syihabudin, S.E. dan kedua saudara kandung penulis yang tidak henti-hentinya mendoakan dan memberikan semangat untuk penulis.
3. UPT Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT LTSIT) yang telah memberikan kesempatan untuk belajar.
4. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi dan Dosen Pembimbing I yang telah membimbing penulis selama penelitian.
5. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Dosen Pembimbing II yang telah memberikan penulis ilmu baru dan membantu serta membimbing penulis hingga menyelesaikan skripsi.
6. Ibu Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji Utama yang telah membimbing penulis sejak PKL dan memberikan penulis kritik dan saran sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
7. Bapak Dr. Jani S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

9. Erdia Girls, Tamasya, dan Kirologi yang telah membantu dan menemani penulis disaat-saat sulit, meberikan canda tawa, dan kenyamanan selama perkuliahan.
10. Seseorang dengan NPM 1915021011 yang telah menjadi *support system* dan memberikan semangat serta dukungan penuh untuk penulis.
11. Seluruh teman-teman Jurusan Biologi Angkatan 2019.
12. Seluruh penulis lagu dan penyanyi ada di *playlist* penulis atas karyanya yang secara tidak langsung telah membantu penulis untuk menyelesaikan skripsi.
13. *Last but not least, I wanna thank me; I wanna thank me for believing in me; I wanna thank me for doing all this hard work; I wanna thank me for having no days off; I wanna thank me for, for never quitting. Great job, Child! Thank you Snoop Dogg for this beautiful words.*

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Penulis berharap skripsi ini dapat menjadi referensi bagi pembaca yang akan melakukan penelitian di kemudian hari.

Bandarlampung, 19 Juni 2023

Penulis

**Syakila Nafiah Asisifa Hasanudin**

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK .....</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN JUDUL DALAM .....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>	<b>v</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....</b>	<b>vii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>viii</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>ix</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>x</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvii</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan .....	3
1.3. Manfaat .....	3
1.4. Kerangka Penelitian .....	3
1.5. Hipotesis Penelitian .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1. Ikan Gabus ( <i>Channa striata</i> ) .....	5
2.1.1. Morfologi Ikan Gabus .....	40
2.1.2. Pertumbuhan Ikan Gabus .....	40
2.1.3. Reproduksi Ikan Gabus .....	40
2.1.4. Habitat Ikan Gabus.....	40
2.1.5. Klasifikasi .....	40
2.2. Mikroba pada <i>Gastrointestinal Tract</i> Ikan .....	9

2.3.	Teknik Biologi Molekuler .....	11
2.3.1.	Ekstraksi DNA .....	11
2.3.2.	Analisis Kemurnian DNA .....	13
2.3.3.	Gen 16S rRNA .....	13
2.3.4.	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	14
2.3.5.	Visualisasi Hasil PCR .....	18
<b>III.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>19</b>
3.1.	Waktu dan Tempat.....	19
3.2.	Alat dan Bahan.....	19
3.3.	Metode Penelitian .....	19
3.4.	Diagram Alir .....	20
3.5.	Pelaksanaan Kegiatan .....	21
3.5.1.	Pengambilan Sampel Ikan.....	21
3.5.2.	Preparasi Sampel.....	21
3.5.3.	Preparasi Pelarut yang Digunakan .....	22
3.5.4.	Ekstraksi Ikan Gabus Budidaya dan Alam .....	22
3.5.5.	Analisis Konsentrasi dan Kemurnian.....	24
3.5.6.	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	24
3.5.7.	Elektroforesis Hasil PCR .....	26
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
4.1.	Hasil .....	21
4.1.1.	Hasil Ekstraksi DNA.....	27
4.1.2.	PCR dan Visualisasi Hasil PCR.....	29
4.2.	Pembahasan .....	32
<b>V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
5.1.	Kesimpulan .....	40
5.2.	Saran .....	40
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>46</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Ikan gabus .....	6
Gambar 2. Saluran pencernaan ikan.....	6
Gambar 3. Diagram alir.....	20
Gambar 4. Bagian <i>gastrointestinal tract</i> yang digunakan .....	21
Gambar 5. Visualisasi hasil PCR DNA bakteri Gram positif pada <i>gastrointestinal tract</i> ikan gabus alam dan budidaya.....	30
Gambar 6. Visualisasi hasil PCR DNA bakteri Gram negatif pada <i>gastrointestinal tract</i> ikan gabus alam dan budidaya.....	31



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Distribusi spesies ikan gabus di Indonesia (Froese and Pauly, 2019) .....	8
Tabel 2. Primer (Arista et. al., 2018).....	25
Tabel 3. Komposisi PCR.....	25
Tabel 4. Pengaturan Program PCR (Gupta, 2019).....	25
Tabel 5. Hasil kemurnian dan konsentrasi DNA bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif pada <i>gastrointestinal tract</i> ikan gabus budidaya dan alam.....	28

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Ikan gabus dikenal mengandung albumin, kepopuleran ikan gabus mulai meluas semenjak ada beberapa rumah sakit yang memanfaatkan ikan gabus sebagai sumber albumin bagi pasien yang kekurangan albumin (hipoalbumin), serta untuk terapi pengobatan, mempercepat penyembuhan luka bakar, luka biasa maupun luka pascaoperasi (Maulana & Fajar, 2015).

Ikan gabus atau yang lebih dikenal dengan “snakehead” memiliki arti ikan kepala ular merupakan salah satu jenis ikan air tawar liar yang rakus saat memangsa, ikan gabus sangat ditakuti oleh para pembudidaya ikan. Ikan ini merupakan ikan liar (predator karnivora) namun bernilai ekonomi tinggi. Kehidupan *snakehead* dalam lingkup yang terbatas dengan jumlah ikan yang cukup pada kehidupan lingkungan dan tersedianya makanan yang memadai dapat menyebabkan maksimalisasi produksi. Namun, jika kepadatan tebar terlalu tinggi, dapat menghambat kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan yang disebabkan oleh persaingan ruang, pakan dan oksigen serta peningkatan limbah metabolisme pada pencernaan sebagai faktor yang berperan penting dalam menjaga pertahanan tubuh untuk pertumbuhan pada ikan (Latifah *et. al.*, 2022).

Untuk pemeliharaan ikan gabus dinilai cukup sulit dimana mortalitas ikan gabus yang cukup tinggi dan bakteri dapat menginfeksi perairan media hidup benih dengan mudah. Pemberian probiotik dapat dilakukan sebagai salah satu upaya perbaikan kualitas air untuk benih ikan gabus serta sebagai

pengendali patogen dalam saluran pencernaan yang bisa didapatkan oleh ikan gabus melalui pakan yang sudah dimodifikasi (Muflikhah *et. al.*, 2008) seperti yang dilakukan oleh Dinas Kelautan dan Perikanan (DKP) Mesuji yang sedang melakukan pembudidayaan dan pemijahan ikan gabus jenis *Channa*.

Komunitas bakteri (mikrobiota) pada hewan akuatik diduga memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan dan kemampuan bertahan hidup inang. Mikrobiota dapat mempengaruhi sejumlah besar ekspresi gen pada inangnya, terutama gen yang berperan dalam imunitas dan nutrisi (Nayak, 2010). Bakteri dapat membantu nutrisi inang dengan produksi enzim atau senyawa esensial dan dapat mencegah bakteri patogen oportunistik untuk berproliferasi dan mengkolonisasi tubuh inang, terutama pada tahap larva di mana sistem imunitas belum berkembang sempurna. Bakteri-bakteri ini bersifat oportunistik dan keberadaannya bersifat transitori tergantung kondisi lingkungan. Peran bakteri pada sistem pencernaan memiliki potensi untuk menghasilkan enzim hidrolitik yang mampu meningkatkan kemampuan ikan dalam mencerna nutrisi dan dapat menjadi suplemen dan vitamin yang dapat mempengaruhi aktivitas pencernaan (Hamonangan dkk., 2016).

Pada penelitian terdahulu, ditemukan bahwa terdapat beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Dilihat dari hasil pengamatan jumlah populasi disetiap perlakuan populasi bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. masih ditemukan dalam perlakuan, hal ini diduga yang menyebabkan enteritis. Bakteri *Aeromonas* sp. memperbanyak diri di *gastrointestinal tract* dan menyebabkan peradangan (Dina dkk., 2013).

Kelimpahan suatu bakteri dapat diketahui dengan analisis molekuler berbasis DNA, menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) sebagai metode amplifikasi. Salah satu elemen kunci dalam analisis DNA menggunakan metode PCR adalah isolasi DNA, yang meliputi proses ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA adalah prosedur rutin dalam analisis

molekuler dan masalah kritis yang sangat mempengaruhi hasil analisis. Kuantitas dan kualitas DNA yang diekstraksi mempengaruhi analisis lebih lanjut dengan PCR. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) hasil budidaya dan hasil tangkapan alam yang dapat dijadikan sebagai panduan untuk melakukan riset kedepannya.

## 1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kelimpahan bakteri berbasis DNA pada *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) budidaya dan alam di sungai Mesuji.

## 1.3. Manfaat

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai pengetahuan baru terkait kelimpahan bakteri yang ada pada *gastrointestinal tract* Ikan Gabus (*Channa striata*) budidaya dan alam berbasis DNA.

## 1.4. Kerangka Penelitian

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan ikan air tawar yang dapat ditemukan di seluruh perairan Indonesia. Kepopulerannya di masyarakat dikarenakan ikan gabus memiliki kandungan albumin yang dipercaya dapat menyembuhkan beberapamasalah kesehatan. Ikan gabus dari sudut pandang kesehatan juga mengandung protein (khususnya albumin) yang diperlukan bagi proses penyembuhan dan pertahanan tubuh, selain itu ikan gabus juga memiliki kandungan karbohidrat dan lemak yang rendah. Ikan gabus dapat beradaptasi dengan lingkungannya dengan mudah. Efektivitas dari kelangsungan hidup ikan gabus dapat disebabkan oleh bakteri yang ada pada saluran pencernaan terutama *gastrointestinal tract* ikan gabus. Kemampuan adaptasi ikan gabus didukung oleh sistem pencernaan dan makanannya. Jenis makanan yang mengandung bakteri probiotik dapat

meningkatkan pertumbuhan ikan gabus dan memicu dilakukannya penelitian tentang “Analisis Kelimpahan Bakteri Berbasis DNA pada *Gastrointestinal Tract* Ikan Gabus (*Channa Striata*) Budidaya dan Alam Di Sungai Mesuji”. Analisis kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus diawali dengan dilakukannya pengisolasian DNA dari *gastrointestinal tract* ikan gabus guna memurnikan DNA dari membran sel, protein, dan komponen lain. DNA yang dihasilkan dari ekstraksi kemudian dijadikan sebagai *template* untuk proses amplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. *Polymerase Chain Reaction (PCR)* melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda dan mengamplifikasi sampel DNA dalam jumlah kecil menjadi cukup besar untuk dapat dianalisis. DNA yang telah diamplifikasi kemudian divisualisasi dengan proses elektroforesis. Pita yang terbentuk menggambarkan banyak salinan fragmen DNA yang terpisah pada proses elektroforesis.

### **1.5. Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan kerangka penelitian yang telah dikemukakan, maka hipotesis penelitian ini adalah terdapat perbedaan kelimpahan jenis bakteri yang ada pada *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) budidaya dan alam yang berasal dari sungai Mesuji.

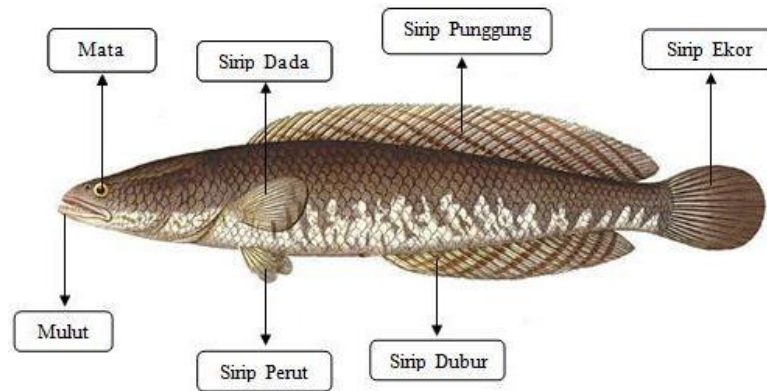
## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Ikan Gabus (*Channa striata*)

*The striped snakehead* (*Channa striata* Bloch, 1793) adalah ikan air tawar yang ditemukan di berbagai habitat, meliputi rawa, sungai, dan danau di Asia Tenggara, Timur Tengah dan Afrika (Gustiano *et. al.*, 2021). *Channa striata* secara lokal dikenal sebagai ikan gabus, termasuk kedalam famili Channidae, yang memangsa ikan, krustasea, dan gastropoda. Selain itu, ikan gabus memiliki nilai gizi dan ekonomi. Secara ekologis ikan gabus berperan sebagai predator teratas, karena keberadaan mereka dapat mengendalikan populasi mangsa dan komposisi spesies.

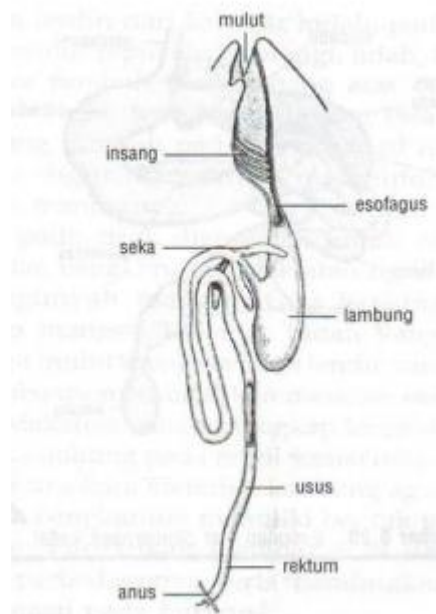
#### 2.1.1. Morfologi Ikan Gabus

Karakteristik ikan gabus menurut Ardianto (2015) ikan gabus dapat disebut dengan *snakehead* dikarenakan kepalanya yang seperti ular dan agak gepeng, mulut lebar dan besar dengan gigi yang runcing, dan di atas kepalanya terdapat sisik yang besar. Ikan gabus juga memiliki tubuh bulat memanjang, biasanya memiliki warna gelap hitam kecoklatan atau kehijauan pada bagian sisi atas tubuhnya dengan warna putih pada bagian sisi bawahnya seperti pada Gambar 1TAB dibawah. Beberapa spesies *snakehead* berukuran relatif sedang dengan ukuran dewasa biasanya sekitar 17cm, sementara spesies lain berukuran besar dan dapat mencapai hingga 1,8m. Semua spesies *snakehead* adalah karnivora dan predator yang dapat memakan ikan air tawar lainnya. Saluran pencernaan ikan gabus sama seperti ikan pada umumnya yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Ikan gabus

Sumber: Bloch, 1793 (fishbase.org)



Gambar 2. Saluran pencernaan ikan

Sumber: fishbase.org

### 2.1.2. Pertumbuhan Ikan Gabus

Pola pertumbuhan pada ikan terdapat dua macam yaitu pertumbuhan isometrik ( $n=3$ ), apabila pertambahan panjang dan berat ikan seimbang dan pertumbuhan allometrik ( $n>3$  atau  $n<3$ ).  $n>3$

menunjukkan ikan itu gemuk/ montok, dimana penambahan berat lebih cepat dari penambahan panjangnya.  $n < 3$  menunjukkan ikan dengan kategori kurus, dimana penambahan panjangnya lebih cepat dari penambahan berat (Nurhayati, 2016). Menurut hasil penelitian Selviana (2017) pola pertumbuhan ikan gabus secara umum bersifat allometrik positif artinya bahwa penambahan panjang ikan tidak secepat penambahan berat.

### **2.1.3. Reproduksi Ikan Gabus**

Ikan gabus merupakan ikan air tawar yang melakukan pemijahan secara alami selama musim hujan. Secara alami, faktor fisiologis dan lingkungan dijadikan pertimbangan sebagai isyarat penting dalam merangsang pemijahan pada ikan teleost. Perubahan temperatur perairan dan amplitude ketinggian permukaan air yang disebabkan oleh pergantian musim di wilayah tropis dapat menjadi pemicu untuk ikan melakukan pemijahan (Selviana, 2017).

### **2.1.4. Habitat Ikan Gabus**

Di daerah yang bersinggungan dengan sungai-sungai besar, seperti Sumatera dan Kalimantan, ikan gabus seringkali menjadi hama yang memangsa ikan peliharaan apabila air sungai meluap dan membanjiri parit di sekitar rumah atau kolam ikan warga. Ketika ladang, kolam, atau selokan mengering, ikan ini akan mencoba pindah ke lokasi lain atau, jika dipaksa, akan menggali lumpur. Mereka sering terlihat berada di darat untuk mencari tempat lain yang lebih banyak airnya. *Snakeheads* dapat bertahan hidup tanpa air karena mereka menggunakan alat bantu pernapasan labirin untuk bernapas dan mengambil oksigen. Pemijahan ikan gabus bersifat musiman, terjadi pada musim hujan dari bulan Oktober sampai Desember. Selama musim kawin, jantan dan betina bekerja sama untuk membangun sarang di antara tanaman pinggir perairan. Spesies *snakehead* termasuk dalam famili Channidae, garis keturunan ikan air tawar



yang dicirikan memiliki kemampuan pernapasan udara mengingat adanya organ *supra-branchial*. Ada dua marga dari *snakehead* termasuk *Channa* dengan 39 spesies yang tersebar di Asia, dan *Parachanna* dengan tiga spesies dapat ditemukan di Afrika. Di Indonesia, *snakehead* pertama kali didokumentasikan oleh Weber dan Beaufort (1922) dengan 11 spesies. Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa hanya ada sepuluh spesies *snakehead* yang ditemukan di Indonesia. Temuan ini didukung oleh Kottelat dkk. yang juga menemukan sepuluh spesies *snakehead* seperti pada Tabel 1. Sembilan dari sepuluh spesies yang ada di Indonesia, yaitu *C. bankanensis*, *C. gachua*, *C. lucius*, *C. maruloides*, *C. melanopterus*, *C. melasoma*, *C. micropeltes*, *C. pleurophthalmus*, and *C. striata*, yang telah memiliki kode untuk diidentifikasi (Serrao *et. al.*, 2014).

Tabel 1. Distribusi spesies ikan gabus di Indonesia (Froese and Pauly, 2019)

No.	Spesies	Nama umum	Distribusi
1	<i>Channa bankanensis</i> (Bleeker 1853)	<i>Bangka snakehead</i>	Indonesia (Kalimantan dan Sumatra) dan Malaysia
2	<i>Channa cyanospilos</i> (Bleeker 1853)	<i>Bluespotted snakehead</i>	Indonesia (Sumatra) dan Malaysia
3	<i>Channa gachua</i> (Hamilton 1822)	<i>Dwarf snakehead</i>	Indonesia, Malaysia, Asia Tenggara, China, Asia Selatan, Afganistan, dan Iran
4	<i>Channa lucius</i> (Cuvier 1831)	<i>Splendid snakehead</i>	Indonesia, Malaysia, dan Indo-China
5	<i>Channa maruloides</i> (Bleeker 1851)	<i>Emperor snakehead</i>	Indonesia (Sumatra dan Kalimantan), Malaysia dan Selatan Thailand
6	<i>Channa melanoptera</i> (Bleeker 1855)	<i>Blackfinned snakehead</i>	Indonesia (Sumatra dan Kalimantan)
7	<i>Channa melasoma</i> (Bleeker 1851)	<i>Black snakehead</i>	Indonesia (Sumatra dan Kalimantan), Malaysia, Thailand dan Kamboja
8	<i>Channa micropeltes</i> (Cuvier 1831)	<i>Giant snakehead</i>	Indonesia (Kalimantan dan Sumatra), Malaysia, dan Indo-China.
9	<i>Channa pleurophthalma</i> (Bleeker 1851)	<i>Ocellated snakehead</i>	Indonesia (Kalimantan dan Sumatra)
10	<i>Channa striata</i> (Bloch 1793)	<i>Chevron snakehead/ Striped snakehead</i>	Asia Tenggara

### 2.1.5. Klasifikasi

Klasifikasi ikan gabus menurut Bloch (1793) dalam *Integrated Taxonomy International System* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Perciformes
Famili	: Channidae
Marga	: <i>Channa</i>
Spesies	: <i>Channa striata</i> (Bloch, 1793).

## 2.2. Mikroba pada *Gastrointestinal Tract* Ikan

Menurut Putri, dkk (2012), populasi bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp.) serta aktifitasnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada saluran pencernaan dengan daya hambat 6,6 – 6,9 mm. Bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp.) dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen dengan memproduksi protein yang disebut bakteriosin. Senyawa bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat bermanfaat karena menghambat bakteri patogen yang dapat menginfeksi saluran pencernaan. Peran *Lactobacillus* sp. menurut Arief dkk (2008) yakni dapat menyeimbangkan mikroba dalam saluran pencernaan untuk meningkatkan proses pencernaan ikan dengan mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Asam laktat dapat menurunkan pH, sehingga merangsang produksi endogenus untuk meningkatkan penyerapan nutrisi dari pakan, pertumbuhan, dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Pemberian probiotik pada media pemeliharaan juga dapat menghambat pertumbuhan *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam *gastrointestinal tract* ikan.

Pada penelitian sebelumnya, telah temukan kelimpahan beberapa bakteri yang dapat teridentifikasi dengan contoh ikan sidat, yakni *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Stenotrophomonas*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Comamonas*, dan

*Achromobacter* (Silfani, 2018). Pada ikan tongkol kelimpahan bakteri yang teridentifikasi menggunakan metode metagenomik diantaranya *Photobacterium leiognathi*, *Rothia nasinurium*, *Psychrobacter celer*, *Bacillus megaterium*, *Myroides phaeus*, *Psychrobacter faecalis*, *Acinetobacter johnsonii*, *Vagococcus fessus*, *Vibrio gallicus*, *Shewanella baltica*, *Shewanella algae*, *Yersinia ruckeri*, *Uruburuella testudinis* dan, dan *Aeromonas mulluscorum* (Ramona, dkk., 2015). Pada ikan nila kelimpahan bakteri yang teridentifikasi menggunakan metode metagenomik diantaranya *Ochrobactrum anthropi*, *Ochrobactrum intermedium*, *Brucella abortus*, *Bartonella capreoli*, *Bartonella bacilliformis*, *Cetobacterium somerae*, *Ilyobacter insuetus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Xanthomonas oryzae*, *Lysinibacillus boronitolerans*, *Acetobacter pasteurianus*, dan *Bacillus cellulocilyticus* (Perdana, 2011).

Menurut penelitian Sugiyani *et. al.*, (2018), bakteri yang didapat dari hasil isolasi ikan gabus setelah melewati uji fisik dan uji biokimia teridentifikasi dua jenis spesies bakteri yaitu *Pasteurella pneumotropica* dan *Aeromonas hydrophila*.

Genus *Pasteurella* terdiri dari sekelompok bakteri Gram negatif yang merupakan patogen dan oportunistik. Penyakit ini mempengaruhi sebagian besar saluran pernapasan dan alat kelamin tetapi juga dapat menyebabkan infeksi sistemik, bertanggung jawab atas penyakit-penyakit pada hewan peliharaan dan liar, termasuk kolera unggas, Septisemia epizotik, dan pneumonia pada ternak, *swine atrophic* atau *purulent rhinitis* pada kelinci (Sahagun-Ruiz *et. al.*, 2014).

*Aeromonas hydrophila* mulai dikenal di Indonesia sekitar tahun 1980; bakteri ini menyebabkan wabah penyakit pada ikan karper di Jawa Barat dan berakibat pada kematian ikan sebanyak 125 ton. Di tahun yang sama, kejadian serupa juga terjadi di mana dikenal dengan nama penyakit borok/penyakit merah, yang mengakibatkan kematian sekitar kurang lebih

173 ton ikan mas, termasuk di dalamnya 30% ikan-ikan kecil/benih. Kematian ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. Bakteri *A. hydrophila* menyebabkan infeksi keseluruhan tubuh ikan, yang disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penyebaran yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kematian benih sampai 90%. Penyakit yang dapat timbul oleh serangan *A. hydrophila* adalah penyakit bercak merah pada permukaan tubuh, kulit meradang yang diakhiri dengan luka yang seperti bisul. Ikan yang terinfeksi ini biasanya akan mati dalam waktu satu minggu (Arwin dkk., 2016).

## **2.3. Teknik Biologi Molekuler**

### **2.3.1. Ekstraksi DNA**

Asam Nukleat Deoksiribosa (DNA) adalah asam nukleotida, biasanya dalam bentuk heliks ganda, mengandung instruksi genetik yang menentukan perkembangan biologis semua bentuk kehidupan sel. DNA sering disebut sebagai molekul genetik karena terlibat dalam pewarisan genetik dari sebagian besar sifat yang dapat diwariskan. Bagi manusia, misalnya, ciri-ciri ini berkisar dari warna rambut hingga kerentanan terhadap penyakit. DNA direplikasi selama pembelahan sel dan diteruskan ke keturunannya selama reproduksi (Campbell 2000). RNA adalah polimer yang tersusun dari rangkaian nukleotida. Setiap nukleotida memiliki gugus fosfat, gugus gula ribosa, dan gugus basa nitrogen (basa-N). Polimer terdiri dari hubungan bolak-balik antara gugus fosfat dari satu nukleotida dan gugus gula ribosa dari yang lain.

Untuk mendapatkan DNA yang memenuhi syarat untuk analisis molekuler, maka dilakukan ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA adalah proses pemisahan DNA dari komponen seluler lainnya seperti protein, karbohidrat, dan lemak. Ekstraksi DNA terdiri dari tiga

langkah utama: penghancuran dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari komponen lain, dan pemurnian DNA (Corkill dan Rapley 2008). Pemecahan sel atau lisis bertujuan untuk memecah membran dan dinding sel sehingga bagian dalam sel dapat dikeluarkan (Holme dan Peck, 1998). Langkah selanjutnya adalah memisahkan DNA dari makromolekul lain seperti protein, fraksi kecil RNA, lipid dan polisakarida (Muladno (2010); Utami (2012)). Langkah terakhir adalah pemurnian DNA. Langkah ini dimaksudkan untuk menghilangkan residu dari bahan yang digunakan pada langkah lisis dan pemisahan DNA.

Metode konvensional untuk ekstraksi DNA adalah metode ekstraksi menggunakan fenol-kloroform. Prosedur ini memerlukan beberapa langkah tambahan dan memerlukan waktu perawatan yang lama ( $\pm$  18 jam) (Andreas *et. al.*, 2010). Seiring berkembangnya teknologi, prosedur ekstraksi DNA dikembangkan lebih lanjut dan dimodifikasi menjadi lebih efisien. Salah satu bentuk modifikasi prosedur ekstraksi DNA adalah dengan menggunakan kit ekstraksi komersial yang sudah berisi campuran bahan-bahan yang diperlukan untuk prosedur ekstraksi dengan waktu proses yang cukup singkat ( $\pm$  2 jam).

Ekstraksi DNA merupakan teknik isolasi DNA pertama yang digunakan untuk mendapatkan DNA murni. Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai metode atau kit konvensional. Ekstraksi DNA umumnya mencakup prosedur seperti isolasi dari jaringan, lisis dinding dan membran sel, ekstraksi dalam larutan, pemurnian, dan presipitasi. DNA yang diekstraksi divisualisasikan menggunakan sinar UV dengan elektroforesis.

### 2.3.2. Analisis Kemurnian DNA

Penghitungan kemurnian DNA dilakukan menggunakan alat nanofotometer dan/atau spektrofotometer. Sebelum dilakukan penghitungan pada sampel, alat harus dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan blanko. Setelah kalibrasi selesai, sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan ditunggu hingga hasilnya terlihat. Kemurnian DNA yang baik berkisar 1,8-2,0 (Andryani, dkk., 2020) dengan prinsip bila cahaya (monokrommatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan sebagian diserap dalam medium itu dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel (Hasibuan, 2015).

### 2.3.3. Gen 16S rRNA

Gen 16S rRNA merupakan bagian dari prokariot yang memiliki bagian yang bersifat “terkonsevasi” (*conserved*). Pemanfaatan gen 16S rRNA untuk metode deteksi molekuler dianggap memiliki tingkat diskriminasi yang rendah karena sebagian besar hasil runutan DNA 16S rRNA menunjukkan adanya kesamaan yang tinggi di dalam satu spesies. Apabila homologi sekuen 16S rRNA menunjukkan <97.5% dapat dikatakan sebagai spesies yang berbeda atau novel spesies (Akihary dan Kolondam, 2020). Metode gen 16S rRNA dapat digunakan untuk identifikasi jika didapati sulit untuk mengidentifikasi bakteri secara fisiologi. Selain identifikasi secara fisiologis, uji biokimia juga bila dirasa tidak dapat dikenali maka metode ini dapat dijadikan sebagai alternatif (Bajaj *et. al.*, 2019).

### 2.3.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Reaksi berantai polimerase, juga dikenal sebagai *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah proses sintetik enzimatik untuk memperkuat

urutan nukleotida tertentu secara *in vitro*. Metode ini pertama kali dikembangkan oleh Kary B. Mulis pada tahun 1985. Metode ini sekarang banyak digunakan untuk berbagai jenis manipulasi dan analisis genetik. Awalnya, metode ini hanya digunakan untuk amplifikasi molekul DNA, tetapi dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat juga digunakan untuk amplifikasi dan kuantifikasi molekul mRNA.

Dengan menggunakan metode PCR, jumlah sekuens DNA dapat dilipatgandakan dari jumlah aslinya hingga ribuan bahkan jutaan kali, sekitar 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> kali. Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi digandakan. Setiap siklus PCR menghasilkan DNA target 2<sup>n</sup> kali lebih banyak. Kunci pengembangan PCR adalah menemukan cara untuk hanya mengamplifikasi sekuens DNA target dan meminimalkan amplifikasi sekuens non-target. Metode PCR dapat dilakukan dengan jumlah komponen yang sangat sedikit. Misalnya, hanya sekitar 5 g templat DNA yang diperlukan, hanya sekitar 1 mM oligonukleotida yang digunakan, dan reaksi biasanya dilakukan dalam volume 50-100 l.

PCR adalah reaksi berantai polimerase, reaksi berulang yang melibatkan enzim polimerase. Yang berulang adalah proses pemisahan DNA untai ganda menjadi untai tunggal, hibridisasi primer untuk memulai replikasi DNA, dilanjutkan dengan amplifikasi DNA oleh enzim polimerase untuk mendeteksi aktivitas ini dalam tabung PCR yang merespon perubahan suhu ke templat. Penelitian ini juga memerlukan mesin *thermocycler*, mesin yang dapat dengan cepat menaikkan dan menurunkan suhu, dan bahan untuk melakukan reaksi PCR (Kurniawan, 2012).

Pada proses Polymerase Chain Reaction (PCR) yang terdiri dari tiga tahapan, yakni:

1) Denaturasi, selama proses denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal. Hal ini disebabkan karena suhu denaturasi yang tinggi menyebabkan putusannya ikatan hidrogen diantara basa-basa yang komplemen. Pada tahap ini, seluruh reaksi enzim tidak berjalan, misalnya reaksi polimerisasi pada siklus yang sebelumnya. Denaturasi biasanya dilakukan antara suhu 90°C – 95°C.

2) *Annealing*, primer akan menuju daerah yang spesifik yang komplemen dengan urutan primer. Pada proses annealing ini, ikatan hidrogen akan terbentuk antara primer dengan urutan komplemen pada templat. Proses ini biasanya dilakukan pada suhu 50°C – 60°C. Selanjutnya, DNA polimerase akan berikatan sehingga ikatan hidrogen tersebut akan menjadi sangat kuat dan tidak akan putus kembali apabila dilakukan reaksi polimerisasi selanjutnya misalnya pada 72°C.

3) Polimerisasi, umumnya, reaksi polimerisasi atau perpanjangan rantai ini, terjadi pada suhu 72°C. Primer yang telah menempel tadi akan mengalami perpanjangan pada sisi 3'nya dengan penambahan dNTP yang komplemen dengan templat oleh DNA polimerase.

Jika siklus dilakukan berulang-ulang maka daerah yang dibatasi oleh dua primer akan diamplifikasi secara eksponensial (disebut amplikon yang berupa untai ganda), sehingga mencapai jumlah *copy* yang dapat dirumuskan dengan  $(2^n) \times x$ . Dimana  $n$  adalah jumlah siklus dan  $x$  adalah jumlah awal molekul DNA. Jadi, seandainya ada 1 *copy* DNA sebelum siklus berlangsung, setelah satu siklus, akan menjadi 2 *copy*, sesudah 2 siklus akan menjadi 4, sesudah 3 siklus akan menjadi 8 kopi dan seterusnya. Sehingga perubahan ini akan berlangsung secara eksponensial. PCR dengan menggunakan enzim Taq DNA polimerase pada akhir dari setiap siklus akan menyebabkan penambahan satu nukleotida A pada ujung 3' dari potongan DNA yang dihasilkan. Sehingga nantinya



produk PCR ini dapat dikloning dengan menggunakan vektor yang ditambahkan nukleotida T pada ujung-ujungnya (Kurniawan, 2012).

Selain ketiga proses tersebut, secara umum PCR didahului dan diakhiri oleh tahapan berikut:

- 1) Pradenaturasi, dilakukan selama 1-9 menit di awal reaksi untuk memastikan kesempurnaan denaturasi dan mengaktifasi DNA *Polymerase* (jenis hot-start alias baru aktif jika dipanaskan terlebih dahulu).
- 2) Final Elongasi, biasanya dilakukan pada suhu optimum enzim (70-72°C) selama 5-15 menit untuk memastikan bahwa setiap utas tunggal yang tersisa sudah diperpanjang secara sempurna. Proses ini dilakukan setelah siklus PCR terakhir (Kurniawan, 2012).

Untuk mendapatkan hasil yang akurat dan sensitif, optimasi tahapan PCR sangat penting dalam amplifikasi DNA. Hal ini didukung oleh Cheng *et. al.* (2018) yang menyatakan beberapa hal yang perlu dilakukan optimasi antara lain:

1) Konsentrasi primer

Konsentrasi primer yang tepat sangat penting untuk mengoptimalkan tahapan annealing. Konsentrasi primer yang terlalu rendah dapat menghasilkan spesifisitas rendah dan konsentrasi primer yang terlalu tinggi dapat menghasilkan produk yang tidak diinginkan. Dalam banyak kasus, konsentrasi primer antara 0,1 dan 0,5  $\mu\text{M}$  merupakan konsentrasi yang optimal.

2) Suhu annealing

Suhu annealing primer harus dioptimalkan agar primer dapat berikatan dengan target DNA secara spesifik. Suhu yang terlalu rendah dapat menghasilkan primer yang tidak berikatan dengan target DNA secara spesifik, sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat menghasilkan produk yang tidak diinginkan. Suhu annealing yang optimal bergantung pada panjang primer dan

komposisi basa, namun suhu antara 50-60 derajat Celsius biasanya merupakan pilihan yang tepat.

3) Konsentrasi magnesium

Magnesium diperlukan untuk aktivitas enzim DNA polimerase. Konsentrasi magnesium yang terlalu rendah dapat menghambat aktivitas enzim, sedangkan konsentrasi magnesium yang terlalu tinggi dapat menghasilkan produk yang tidak diinginkan.

Konsentrasi magnesium yang optimal berkisar antara 1-2 mM.

4) Suhu elongasi

Suhu elongasi harus dioptimalkan agar enzim DNA polimerase dapat bekerja secara optimal dalam menambahkan nukleotida ke primer. Suhu yang terlalu rendah dapat menghasilkan aktivitas enzim yang rendah, sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat menghasilkan produk yang tidak diinginkan. Suhu elongasi yang optimal biasanya sekitar 72 derajat Celsius.

5) Jumlah siklus

Jumlah siklus PCR harus dioptimalkan agar amplifikasi DNA dapat dilakukan secara efisien tanpa menghasilkan produk yang tidak diinginkan. Jumlah siklus yang optimal bergantung pada target DNA dan sensitivitas deteksi, namun umumnya antara 25-35 siklus merupakan pilihan yang tepat.

### **2.3.5. Visualisasi Hasil PCR**

Elektroforesis telah digunakan dan dikembangkan sebagai teknik analisis untuk penelitian di bidang biologi dan genetika. Metode ini berkembang sangat pesat di zaman kemajuan teknologi karena prosedurnya yang sangat sederhana dan sangat mudah, banyak digunakan dalam filogeni dan genetika. Metode elektroforesis baru sebenarnya sudah digunakan oleh para peneliti genetika pada tahun 1957. Kemudian muncul ide penelitian menggunakan sifat-sifat enzim sebagai katalis untuk membuktikan keberadaannya dalam kimia histologis (elektroforesis zona).

Elektroforesis adalah metode analisis kimia berdasarkan pergerakan molekul protein bermuatan dalam medan listrik (titik isoelektrik). Gerak molekul dalam medan listrik dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, kekuatan muatan, dan sifat kimianya. Pemisahan didasarkan pada perbedaan berat molekul dan besar muatan yang terkandung dalam makromolekul. Setelah masuk ke dalam buffer yang sudah mengandung protein plasma, komponen protein mulai bermigrasi (A. Dean *et. al.*, 2013).

### III.METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada rentang waktu bulan Desember 2022-Januari 2023. Seluruh kegiatan penelitian dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi tabung reaksi, *beaker glass*, pipet tetes, *vortex*, *gloves*, spidol, plastik klip, alat bedah, *laminar air flow*, *sprayer*, *cool box*, *tube* 1,5 ml, rak tube 1,5 ml, *centrifuge*, *thermocycler*, *tube* berfilter (CP9471), *collection tube*, , rak mikropipet, mikropipet (1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 10  $\mu$ L, 2,5  $\mu$ L), wadah tip, mikrotip (1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 10  $\mu$ L), *freezer*, *spinner*, nanofotometer, mesin PCR, elektroforesis.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alkohol (70% dan 100%), *Phosphate Buffered Saline* (PBS) 1x, *lysozym*, *lysis solution C*, chloroform, *column preparation solution*, *wash solution*, *elute*, ddH<sub>2</sub>O, es batu, master mix, primer 16s rRNA dengan 63F dan 1387R, air, dan sampel *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) dengan kode sampel A1, A2, G1, dan G2.

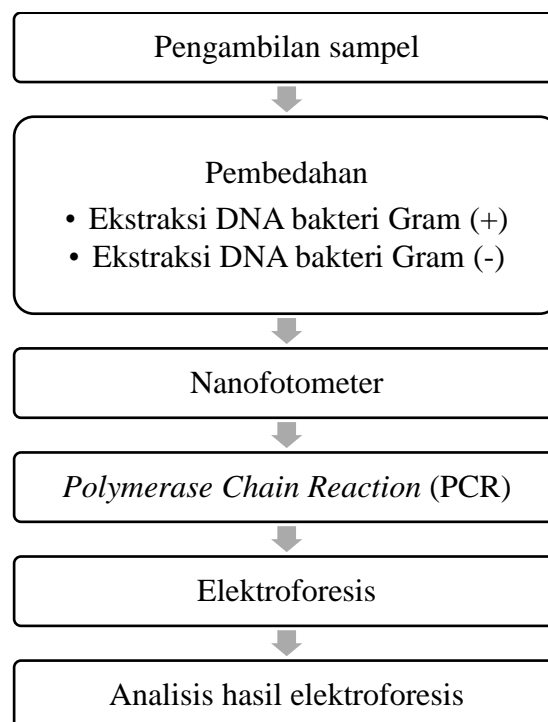
#### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi DNA dengan masing-masing 1 sampel ikan gabus dari alam dan budidaya. Kontrol negatif berupa SM-

100 dan kontrol positif berupa ikan gabus budidaya. Penelitian ini dilakukan untuk melihat kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus yang berasal dari alam. Sampel yang digunakan terdiri dari ikan gabus alam dan ikan gabus budidaya dengan bobot tubuh masing-masing  $\pm 700$  g.

### 3.4. Diagram Alir

Pada diagram alir ini menjelaskan runtutan garis besar yang dilakukan pada sampel organ *gastrointestinal tract* ikan gabus yang terdiri dari pengambilan sampel, ekstraksi DNA, nanofotometer, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan elektroforesis seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir

### 3.5. Pelaksanaan Kegiatan

#### 3.5.1. Pengambilan Sampel Ikan

Sampel ikan gabus dikirim langsung oleh DKP Mesuji yang diambil liar pada Sungai di Mesuji dan sampel ikan gabus budidaya yang berasal dari Budi Fish Farm Pringsewu dengan berat total tubuh ikan sekitar 700 Gram dalam kondisi hidup.

#### 3.5.2. Preparasi Sampel

Tahapan pertama yang dilakukan adalah pembiusan ikan gabus menggunakan air dan es batu pada wadah. Setelah ikan gabus pingsan, dilanjutkan dengan pembedahan perut ikan gabus untuk diambil organ *gastrointestinal tract*nya. Isi dari seluruh organ *gastrointestinal tract* ikan gabus yang terdiri dari *gastrointestinal tract* depan, *gastrointestinal tract* tengah, dan *gastrointestinal tract* belakang seperti pada Gambar 4 dikeluarkan lalu dipindahkan ke tabung reaksi dan ditambahkan  $\pm 5$  ml *Phosphate Buffered Saline* (PBS) 1X dengan pH 7,4.



Gambar 4. Bagian *gastrointestinal tract* yang digunakan

Sumber: kibrispdr.org

### 3.5.3. Preparasi Pelarut yang Digunakan

Terdapat beberapa pelarut yang akan digunakan pada proses ekstraksi, diantaranya:

1. Phosphate Buffered Saline (PBS) 1X merupakan buffer isotonic yang digunakan dalam aplikasi biologis, seperti mencuci sel, transportasi jaringan, dan pengenceran. Komposisi dari PBS 1x yaitu Sodium chloride 8 g 0,137 M, Potassium chloride 0,2 g 0,0027 M, Sodium Phosphate Dibasic 1,44 g 0,01 M dan Potassium Phosphate Monobasic 0,245 g 0,0018 M.
2. Lisozym merupakan enzim bakteriolitik
3. Larutan Lisis C merupakan campuran dari 10 mM Tris-HCl pH 7,5, 125 mM NaCl, 10 mM EDTA pH 7,5, dan 4 M Urea.
4. Larutan Elusi merupakan campuran dari 10 mM Tris-HCl, 0,5 mM EDTA pH 9
5. ddH<sub>2</sub>O merupakan aquades yang di sterilisasi
6. Master Mix merupakan campuran dari dNTP, MgCl<sub>2</sub>, PCR buffer, Nuclease-free atau PCR-grade water, enzim.
7. Column preparation solution
8. Wash Solution merupakan campuran dari NaCl, KCl, dan Tween 20 atau Polysorbate.

### 3.5.4. Ekstraksi Ikan Gabus Budidaya dan Alam

Pada proses ekstraksi bakteri Gram positif, sampel diambil sebanyak 1ml dan ditambahkan NaOH 2% lalu disentrifus dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Cairan supernatan dibuang lalu ditambahkan 480 µL ddH<sub>2</sub>O dan 20 µL *lisozym*. Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 55 menit kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Cairan supernatan dibuang lalu ditambahkan 600 µL *Nucleic Lysis Solution* dan divortex hingga homogen.

Setelah homogen, sampel diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 15 menit (tiap 5 menit dibolak-balik) lalu diamkan di suhu ruang. Setelah bersuhu ruang, sampel ditambahkan 200  $\mu$ L *Protein Precipitation Solution* lalu vortex. Sampel diinkubasi es selama 5 menit. Disentrifus kembali dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 3 menit. Ditambahkan 600  $\mu$ L isopropanol ke *tube* kosong steril lalu ditambahkan supernatan dari *tube* sampel yang lama dan dilakukan inversi. Disentrifus dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Supernatan dibuang pada kertas/*tissue* steril lalu ditambahkan 600  $\mu$ L *ethanol* 70% dan dilakukan inversi. Disentrifus dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Sampel ditiris dan dikeringkan selama 15 menit lalu ditambahkan sebanyak 30  $\mu$ L *DNA Rehydration Solution* dan diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 30 menit dan setiap 15 menit *ditapping* dan *dispin*.

Pada proses ekstraksi bakteri Gram negatif, sampel diambil sebanyak 1ml dan disentrifus dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 5 menit. Cairan supernatan dibuang lalu ditambahkan 100  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O dan 10  $\mu$ L *lysozym* kemudian di vortex. Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 15 menit kemudian disentrifus kembali dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 5 menit. Cairan supernatan dibuang lalu ditambahkan 600  $\mu$ L *Nucleic Lysis Solution* dan divortex hingga homogen.

Setelah homogen, sampel diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 5 menit lalu diamkan di suhu ruang. Setelah bersuhu ruang, sampel ditambahkan 200  $\mu$ L *Protein Precipitation Solution* dan 200  $\mu$ L klorofom lalu vortex. Sampel diinkubasi es selama 5 menit. Disentrifus kembali dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 3 menit. Ditambahkan 600  $\mu$ L isopropanol ke *tube* kosong steril lalu ditambahkan supernatan dari *tube* sampel yang lama dan dilakukan inversi. Disentrifus dengan kecepatan 13.500RPM pada



suhu 4<sup>0</sup>C selama 3 menit. Supernatan dibuang pada kertas/*tissue* steril lalu ditambahkan 600  $\mu$ L *ethanol* 70% dan dilakukan inversi. Disentrifus dengan kecepatan 13.500RPM pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Sampel ditiris dan dikeringkan selama 15 menit lalu ditambahkan sebanyak 30  $\mu$ L *DNA Rehydration Solution* dan diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 30 menit dan setiap 15 menit *ditapping* dan *dispin*.

### 3.5.5. Analisis Konsentrasi dan Kemurnian

Analisis kemurnian dan konsentrasi DNA hasil ekstraksi dilakukan menggunakan nanofotometer. Nanofotometer mampu menganalisa kemurnian DNA, RNA, Protein, serta dapat mengukur kerapatan sel mikroorganisme. Pada display monitor ditunjukkan  $A_{260}/A_{280} = 1,8-2$  untuk kemurnian DNA,  $A_{260}/A_{230}$  untuk pengotor atau protein dan konsentrasi DNA (Ardiansyah dkk., 2018).

### 3.5.6. Polymerase Chain Reaction (PCR)

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknik yang mengamplifikasi sampel DNA dengan spesifik secara *in vitro*. Keterbatasan utama dari PCR secara praktis yaitu sekuens DNA yang diamplifikasi berada di antara dua primer yang konvergen. Primer adalah salah satu oligonukleotida yang dapat digunakan untuk mengawali dalam pengamplifikasi sekuens DNA. Ada tiga langkah dalam proses PCR: denaturasi, penempelan, dan pemanjangan dengan masing-masing waktu pada Tabel 5. Proses amplifikasi dilakukan menggunakan primer 16s rRNA yang dikombinasikan dengan 63F dan 1387R dengan sekuens yang terdapat pada Tabel 3. Amplifikasi dilakukan dalam volume 21,5  $\mu$ L yang terdiri dari 11  $\mu$ L master mix dan 0,25  $\mu$ L masing-masing primer 16sF dan 16sR, 8  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O dan masing-masing sampel sebanyak 2  $\mu$ L seperti pada Tabel 4.

Tabel 2. Primer (Arista *et. al.*, 2018).

Primer Kode	Sekuens
16s rRNA 63F	5'CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC 3'
16s rRNA 1387R	5'GGG CGG WTG GTA CAA GGC 3'

Tabel 3. Komposisi PCR

No.	Nama Bahan	Volume ( $\mu$ L)
1	Master Mix	11 $\mu$ L
2	Primer 63F	0,25 $\mu$ L
3	Primer 1387R	0,25 $\mu$ L
4	ddH <sub>2</sub> O	8 $\mu$ L

Tabel 4. Pengaturan Program PCR (Gupta, 2019).

Tahapan	Suhu	Waktu
Denaturasi awal	95 <sup>0</sup> C	5'
Denaturasi	95 <sup>0</sup> C	1'
Penempelan	50 <sup>0</sup> C	1'
Pemanjangan	72 <sup>0</sup> C	1'
Pemanjangan Akhir	72 <sup>0</sup> C	5'
Pendinginan	20 <sup>0</sup> C	10'

} 35 siklus

### 3.5.7. Elektroforesis Hasil PCR

Hasil amplifikasi DNA dapat dilihat dengan menggunakan gel elektroforesis. Elektroforesis memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukuran dengan gel elektroforesis. Setiap pita yang muncul saat proses elektroforesis berisi banyak salinan dari partikel fragmen DNA (Tortora *et al.*, 2018). Menurut Oliveira *et al.*(2017) DNA merupakan molekul bermuatan negatif karena fosfat yang

berbentuk gula fosfat pada “tulang punggung” molekul DNA mempunyai muatan negatif. Oleh karena itu, ketika ditempatkan pada medan elektrik, DNA akan bermigrasi ke kutub positif (anoda). Metode elektroforesis telah berkembang dari metode konvensional dengan gel agarose elektroforesis ke elektroforesis gel kapiler. Pemisahan fragmen DNA pada metode elektroforesis gel kapiler dilakukan dengan pada kapiler dari gel *cartridge* precetak. Molekul berpindah melalui kapiler melewati detektor yang mendeteksi dan mengukur sinyal fluoresens. Detektor *photomultiplier* mengubah sinyal emisi menjadi data elektronik. Setelah rangkaian proses selesai, data ditampilkan sebagai elektroferogram atau *gel image*. *Software* proses elektroforesis menghitung ukuran fragmen DNA berdasarkan pada waktu migrasi fragmen yang dibandingkan dengan referensi *size marker* yang berukuran 50 bp-1,5 kb (Qiagcell DNA Handbook, 2014).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan didapatkan pada penelitian ini ialah terdapatnya perbedaan kelimpahan bakteri antara *gastrointestinal tract* ikan gabus alam dan budidaya. Hal ini ditunjukkan dengan tingginya bakteri Gram positif pada gabus budidaya dan alam dengan perbandingan 41:30.

### 5.2. Saran

Diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mengidentifikasi jenis-jenis bakteri yang ada pada ikan gabus alam maupun budidaya untuk mengetahui keragaman bakteri menggunakan analisis metagenomik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andreas, E., Sumantri, C., Nuraini, H., Farajallah, A., and Anggraeni, A. 2010. Identification of GH|AluI and GHR|AluI genes polymorphisms in Indonesian Buffalo. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 35: 215-221.
- Ardiansyah, F., Hanum, L., Muharni, dan Windusari, Y. 2018. Analisis Polimorfisme Padi Varietas Lokal Sumatera Selatan Berdasarkan Pendekatan PCR-RAPD. *Jurnal Lahan Suboptimal* 7: 50-58, 56.
- Ardianto, D. 2015. *Buku Pintar Budidaya Ikan Gabus*. FlashBooks. Yogyakarta.
- Arief, M., Mufidah, dan Kusriningrum . 2008. Pengaruh Penambahan Probiotik Pada Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhan dan Rasio Konversi Pakan Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus*). *Berkala Ilmiah Perikanan* 3(2): 53-58.
- Arista, A. M., Yuliani, dan Lisdiana, L. 2018. Identifikasi Isolat Bakteri Endofit A1 dan B1 dari Akar Tanaman Ubi Jalar Berdasarkan Sekuens 16S rDNA. *Jurnal Lentera Bio* 10.
- Azrita, R., Wibowo, A., Kusdarwati, R., and Irawan, B. 2020. The effects of water pH to the growth and health of giant snakehead (*Channa micropeltes*) fingerlings. *AAFL Bioflux*, 13(2), 615-621.
- Bajaj, A., Pathak, N., and Mishra, A. 2019. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in clinical microbiology: a review of pros and cons. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 37(2), 147-161.
- Cheng, X., and Ferrell, R. E. 2018. *An Introduction to Polymerase Chain Reaction (PCR) methods in neuroscience*. In *Neuromethods* (pp. 1-18). Humana Press. New York.
- Corkill G, Rapley R. 2008. *The Manipulation of Nucleic Acid: Basic Tools & Techniques in Molecular Biomethods Handbook*. Ed ke-2. Humana Press. New York.
- Dewanata, P. A., and Mushlih, M. 2021. Differences in DNA purity test using UV-Vis spectrophotometer and nanodrop spectrophotometer in type 2 diabetes mellitus patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 8.

- Ekasari, J., Maharani, D., Nur, M., and Wibowo, A. (2013). Effects of water pH on survival rate, growth and body composition of snakehead (*Channa striata*) larvae. *HAYATI Journal of Biosciences*, 20(3), 116-122.
- FAO. 2000. Species Fact Sheet: *Channa striata* (Bloch, 1793). FAO Fisheries & Aquaculture. <http://www.fao.org/fishery/species>. Diakses pada 26 Oktober 2022.
- Fatchiyah, 2009. *Dasar-Dasar Teknik Analisa Biologi Molekuler*. Jakarta : Erlangga.
- Fiandra, F., dan Wardono, H. 2022. Kajian Ketersediaan dan Kebutuhan Air Baku Kabupaten Mesuji. *Jurnal Rekayasa Lampung*. Vol 3(1).
- Froese, R., and Pauly, D. 2019. FishBase World Wide Web electronic publication [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org). Diakses pada 5 November 2022.
- Glass, J. I., Assad-Garcia, N., Alperovich, N., Yooseph, S., Lewis, M. R., Maruf, M and Venter, J. C. 2006. Essential genes of a minimal bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(2), 425-430.
- Gupta, N. 2019. DNA Ekstraktion and Polymerase Chain Reaction. *Journal of cytology* 116-117.
- Gustiano, R., Kurniawan, K., and Kusmini, I. I. 2021. Bioresources and Diversity Of Snakehead, *Channa striata* (Bloch 1793): A Proposed Model For Optimal and Sustainable Utilization Of Freshwater Fish. *Earth and Environmental Science*.
- Hairuddin, R. 2013. Isolasi DNA dan Amplifikasi, (PCR) Genom DNA Kopi (*Coffea* sp.) Melalui Proses Elektroforesis Gel Poliakrilamid. *Jurnal Dinamika*. Vol. 04(1).
- Handbook, Q. D. 2014. *Qiagen Sample Assay and Technologies*. QIAGEN. Hilden, Germany.
- Hasibuan, E. 2015. *Pengenalan Spektrofotometri pada Mahasiswa yang Melakukan Penelitian di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU*. Universitas Sumatera Utara. Sumatera, Indonesia.
- Hermansyah, Sutami, N., dan Miksusanti. 2018. Amplifikasi PCR domain d1/d2 28s rDNA menggunakan primer its1 dan its4 sampel DNA dari candida tropicalis yang diisolasi dengan metode pendinginan. *Journal of Pure and Applied Chemistry*, 1-9.
- Hill C, Guarner F, Reid G. 2014. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 11(8):506-514.

- Holme, D. J., and Peck, H. 1998. *Analytical Biochemistry*. Ed ke-3. Pearson Education Limited. Harlow, England.
- Hommelsheim, C., Frantzeskakis, L., Huang, M. 2014. PCR amplification of repetitive DNA: a limitation to genome editing technologies and many other applications. *Sci Rep* (4) 5052.
- Irianto, A. 2003. *Probiotik Akuakultur*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Komalasari, K. 2009. Pengaruh perbandingan volume darah dan lisis buffer serta kecepatan sentrifugasi terhadap kualitas produk DNA pada sapi Frensian Holstein (FH). [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Koopae, H., A. Koshkoiyeh. 2014. SNPs Genotyping Technologies and Their Applications in Farm Animals Breeding Programs: Review. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 57(1): 87-95.
- Kurniawan, K. 2012. *PCR (Polimerase Chain Reaction)*. Universitas Pendidikan Ganesha. Bali, Indonesia.
- Latifah, H., Prayogo and Rahardja. B. S. 2022. The Effect of Different Stocking Densities On Specific Growth Rate and Survival Rate of Striped Snakehead (*Channa Striata*) Culture In Bucket System. *Earth and Environmental Science*.
- Muflikhah, N. M., Safran, M., dan Suryati. 2008. *Gabus*. Balai Riset Perikanan Perairan Umum. Palembang, Indonesia.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Pustaka Wirausaha Muda. Bogor.
- Murtiyaningsih, H. 2017. Isolasi DNA Genom dan Identifikasi Kekerabatan Genetik Nanas Menggunakan RAPD (*Random Amplified Polimorphic DNA*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. Vo. 15(1).
- Ochman, H., Gerber, A. S., and Harti, D. L. 1988. Genetic Applications of an Inverse Polymerase Chain Reaction. *Journal Genetics* 120: 621-623.
- Perdana, A. B. 2011. *Studi Keanekaragaman Genetik Bakteri dari Gastrointestinal Tract Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Melalui Teknik Metagenom Sequence-based*. Adhitya Bayu Perdana. Depok, Indonesia.
- Prayitno, E., dan Nuryandani, E. 2011. Optimalisasi Ekstraksi DNA Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Melalui Pemilihan Daun yang Sesuai. *Jurnal Bioteknologi* 8 (1): 24-31.
- Putri, F. S., Hasan, Z., dan Haetami, K. 2012. Pengaruh pemberian bakteri probiotik pada pellet yang mengandung kaliandra (*Calliandra calothyrsus*) terhadap pertumbuhan benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 3(4): 283-291.

- Rahayu, E. S., dan Margino. 1997. *Bakteri Asam Laktat Isolasi dan Identifikasi*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta, Indonesia.
- Ramandita, A. 2021. *Identifikasi Gen Ghrelin pada Lambung Ikan Gabus (Channa striata) Melalui Polymerase Chain Reaction (PCR)*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 36 p.
- Ramona, Y., Mahardika, G. N., dan Violentina, G. A. 2015. Identifikasi Bakteri dari Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) yang Diperdagangkan di Pasar Ikan Kedonganan Bali. *Jurnal Biologi* 19(2): 60.
- Sambrook, J., and Russel. 2001. *Molecular Cloning-A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sholihah, S. M. 2014. Hubungan Kekebalan Beberapa Kultivar Pisang (*Musa* sp) untuk Sifat Ketahanan Terhadap Penyakit Berdasarkan RGA. [Skripsi]. UIN Malang.
- Silfani, L. 2018. *Analisis Metagenomik Bakteri pada Gastrointestinal Tract Ikan Sidat (Anguilla sp.) Fase Glass Eel dan Elver*. Leni Silfani. Bandung, Indonesia.
- Simanjuntak, H. I. C., dan Sudaryono, A. 2016. Pengaruh Konsentrasi Bakteri Probiotik yang Berasosiasi dalam *Gastrointestinal Tract* Sebagai Bioflok Terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan, Pertumbuhan dan Kelulushidupan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology* 5(2).
- Tortora, G., Funke, and Case. 2018. *Microbiology An Introduction Thirteenth Edition*. *Jurnal Pearson*. London.
- Trisna, D. E., Sasanti, A. D., dan Muslim. 2013. Populasi Bakteri, Kualitas Air Pemeliharaan dan Histologi Benih Ikan Gabus (*Channa striata*) yang Diberi Pakan Berprobiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia* 1(1).
- Utami, A., Meryalita, R., Prihatin, N. A., Ambarsari, L., Kurniatin, P. A., dan Nurcholis, W. 2012. Variasi Metode Isolasi DNA Daun Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. Surabaya, Indonesia.
- Wahyuni, E. S., Susilowati, T., and Triyanto. 2018. The diversity of intestinal bacteria in snakehead fish (*Channa striata*) fed with artificial and natural feed. *AAAL Bioflux*, 11(6), 1999-2007.
- Zeinhom, M. M. A., and Yang, C. 2021. The effect of DNA quality on PCR amplification efficiency: a review of the different methods of DNA quality assessment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(6), 2257-2271.



Zwespana, A., Yulisman, dan Sasanti, A. D. 2016. Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Benih Ikan Gabus (*Channa striata*) yang Diberi Pakan Berprobiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia* 4(2): 1-8.