

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

**Skripsi**

**Oleh:**

**Muhamad Ade Nugraha**



**JURUSAN 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 TANGGAMUS

Oleh

MUHAMAD ADE NUGRAHA

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan ikan konsumsi yang diminati oleh masyarakat. Selain itu, ikan gabus memiliki kandungan albumin yang tinggi sehingga dibutuhkan bagi penderita hipoalbumin dan luka. Tingginya peminatan ikan gabus membuat masyarakat melakukan kegiatan budidaya ikan gabus untuk mempercepat pertumbuhan dan memenuhi kebutuhan masyarakat. Ikan gabus adalah jenis ikan predator yang mempunyai penyebaran luas yang secara alami dapat hidup di danau, sawah, rawa, tambak, dan sungai, salah satunya sungai yang ada di daerah Tanggamus. Faktor yang membantu pertumbuhan ikan gabus yaitu jenis makanan dan bakteri yang terdapat pada *gastrointestinal tract* ikan. Jenis makanan dapat memberikan perbedaan kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kelimpahan bakteri yang terdapat pada *gastrointestinal tract* ikan gabus alam dan budidaya berbasis PCR. Penelitian ini menggunakan metode berbasis analisis DNA untuk melihat kelimpahan bakteri yang terdapat pada *gastrointestinal tract* ikan gabus. Penelitian ini memiliki beberapa tahapan proses yaitu, ekstraksi DNA Bakteri, analisis konsentrasi dan kemurnian DNA, PCR, dan visualisasi DNA dengan elektroforesis. Sampel ikan gabus alam pada penelitian ini berasal dari sungai Tanggamus sedangkan ikan gabus budidaya pada penelitian ini berasal dari Budi *Fish Farm* di daerah Pringsewu. Masing – masing sampel diambil dari ikan dengan bobot total 700 Gram. Perbedaan kelimpahan bakteri total antara ikan gabus budidaya dan alam dianalisis melalui elektroforesis hasil PCR. Melalui penelitian ini diketahui bahwa bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus budidaya maupun alam memiliki kelimpahan bakteri Gram positif lebih banyak dibandingkan bakteri Gram negatif. Kelimpahan bakteri Gram positif pada ikan gabus budidaya lebih banyak dibandingkan dengan ikan gabus alam (41 : 25), sedangkan kelimpahan bakteri Gram negatif lebih banyak pada ikan gabus alam dibandingkan ikan gabus budidaya (23 : 24).

**Kata kunci:** Ikan gabus (*Channa striata*), *Gastrointestinal tract*, Ekstraksi DNA, Nanofotometer, *Polymerase Chain Reaction*, Elektroforesis.

## ABSTRACT

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

By

MUHAMMAD ADE NUGRAHA

Snakehead fish (*Channa striata*) a consumption fish that in demand by the public. In addition, snakehead fish has a high albumin content so it is needed for people with hypoalbumin and wounds. The high interest in snakehead fish makes people carry out snakehead fish farming activities to accelerate growth and meet the needs of the community. Snakehead fish is a type of predatory fish that has a wide distribution that can naturally live in lakes, rice fields, swamps, ponds, and rivers, one of which is the Tanggamus river. Factors that help the growth of snakehead fish are the types of food and bacteria found in the *gastrointestinal tract* of fish. The type of food can provide differences in the abundance of bacteria in the *gastrointestinal tract* of fish. This study aims to determine the difference in the abundance of bacteria found in the *gastrointestinal tract* of natural snakehead fish and PCR-based cultivation. This study used a method based on DNA analysis to see the abundance of bacteria found in the *gastrointestinal tract* of snakehead fish. This research has several stages of the process, namely, bacterial DNA extraction, DNA concentration and purity analysis, PCR, and DNA visualization by electrophoresis. Natural snakehead fish samples in this study came from the Tanggamus river while farmed snakehead fish in this study came from Budi *Fish Farm* in the Pringsewu area. Each sample was taken from fish with a total weight of 700 grams. The difference in total bacterial abundance between farmed and natural snakehead fish was analyzed through electrophoresis of PCR results. Through this study, it is known that bacteria in the *gastrointestinal tract* of farmed and natural snakehead fish have an abundance of more Gram positive bacteria than Gram negative bacteria. The abundance of Gram positive bacteria in farmed snakehead fish is more than in natural snakehead fish (41: 25), while the abundance of Gram negative bacteria is more in natural snakehead fish than in farmed snakehead fish (23: 24).

**Keywords:** Snakehead fish (*Channa striata*), *Gastrointestinal tract*, DNA extraction, Nanophotometer, *Polymerase Chain Reaction*, Electrophoresis.

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

**Oleh**

Muhamad Ade Nugraha

**Skripsi**

**Sebagai salah satu syarat untuk  
mencapai gelar SARJANA SAINS**

**Pada**

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



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

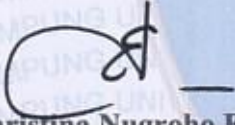
Judul penelitian : ANALISIS KELIMPAHAN BAKTERI  
BERBASIS DNA PADA  
GASTROINTESTINAL TRACT IKAN  
GABUS (*Channa striata*) BUDIDAYA DAN  
ALAM DI SUNGAI TANGGAMUS


Nama Mahasiswa : Muhamad Ade Nugraha  
NPM : 1917021016  
Jurusan : S1-Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyetujui,  
Komisi pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

  
Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si.

  
Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.

NIP. 195808181985032001

NIP. 197912302008121001

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

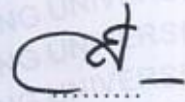
  
Dr. Jani Waster, M.Si.

NIP. 198301312008121001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua : Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si.**



**Sekretaris : Wawan Abdullah Setiawan, M.Si.**



**Penguji Utama : 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 : 16 Juni 2023**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhamad Ade Nugraha

NPM : 1917021016

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandarlampung,

Yang menyatakan,



**Muhamad Ade Nugraha**

NPM. 1917021016

## RIWAYAT HIDUP



**Muhamad Ade Nugraha** lahir di kota Bandarlampung pada tanggal 01 Maret 2001. Penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara pasangan Bapak Sudiman dan Ibu Sri Haryati (Alm)

Penulis menempuh Pendidikan pertama di TK Dwi Tunggal pada tahun 2006 dan melanjutkan pendidikan pada tingkat Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 1 Wayhalim Permai pada tahun 2007 – 2013 dan melanjutkan pendidikan pada Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 12 Bandar Lampung pada tahun 2013 – 2016. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan pada Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAS Gajah Mada Bandarlampung pada tahun 2016 – 2019. Setelah itu penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN Angkatan 2019.

Selama menjadi mahasiswa, penulis juga aktif dalam mengikuti organisasi diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota pada tahun 2020 dan pernah menjadi Kepala Bidang Ekspedisi HIMBIO FMIPA Unila pada tahun 2021 dan Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Bulutangkis Universitas Lampung sebagai anggota hubungan masyarakat. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Zoologi Invertebrata, Biologi Sel, Biologi Molekuler, dan Pengenalan Keterampilan Dasar Laboratorium (PKDL).

Selama menjadi mahasiswa penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) pada bulan Januari – Februari 2022 dengan judul **“Teknik Preparasi Sampel Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Mawar (*Rosa sp.*) Untuk Analisis Menggunakan Scanning Electron Microscope dan Apotome Microscope Dengan Metode**



***Embedding***” dan melanjutkan penelitian mengenai “**Analisis Kelimpahan Bakteri Berbasis Dna Pada *Gastrointestinal tract* Ikan Gabus (*Channa striata*) Budidaya Dan Alam Di Sungai Tanggamus**”. Penulis juga pernah mengikuti kegiatan Kampus Merdeka pada program Kampus Mengajar Angkatan 3 yang ditempatkan di SD Negeri 2 Sepang Jaya pada bulan Februari – Juni 2022. Kemudian penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Srigading, Kec. Labuhan Maringgai, Lampung Timur, Lampung selama 40 hari pada Juli – Agustus 2022.

## **MOTTO**

**“Genius adalah orang yang bisa melakukan hal yang biasa Ketika semua orang lain di sekelilingnya kehilangan akal”**

**-Napolen**

**“Dunia penuh hal – hal yang jelas tapi tak pernah diperhatikan siapa pun”**

**-Sherlock Holmes**

**“Jangan pernah sia – siakan kesempatan, karena kesempatan tidak datang dua kali dan jangan pernah menunggu waktu karena waktu tidak akan pernah menunggu kita”**

**-Kevin Sanjaya**

**“Nothing to lose”**

**-Kevin Sanjaya**

**“Semua akan baik – baik saja, kita punya masa – masa sulit di depan tapi semua akan baik – baik saja, karena kita keluarga”**

**-Dominic Toretto**

**“Ketika mereka sibuk tertawa, saya sibuk berlari”**

**-Penulis**

**“Hidup terlalu kejam untuk seorang bayi besar”**

**-Penulis**

## **PERSEMBAHAN**

Dengan mengucap Bismillahirrahmanirahim serta syukur kepada Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa, saya persembahkan karya ini dengan kesungguhan dan keikhlasan hati sebagai tanda cinta penulis kepada:

Kedua orang tua, Bapak Sudiman dan Ibu Sri Haryati (Alm). Serta Saudari Novianti Herlinawati, Saudara Putra Anggar Kusuma dan Niko Indranatha, serta keponakan tercinta Keanu Pradana Indranatha dan Khaira Arsyla Indranatha serta diri Penulis sendiri;

Bapak Ibu Dosen di kampus yang tak kenal lelah memberikan ilmunya dengan tulus dan ikhlas sampai penulis mengemban gelar sarjana;

Brother aug dan teman – teman biologi Angkatan 19 yang telah berjuang bersama dari awal menjadi mahasiswa hingga sekarang;

**Almamater kebanggaan**  
**Universitas Lampung**

## UCAPAN TERIMA KASIH

*Assalamu 'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh*

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT, karena rahmat, nikmat serta hidayah-Nya penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan judul “**Analisis Kelimpahan Bakteri Berbasis DNA Pada Usus Ikan Gabus (*Channa striata*) Budidaya Dan Alam Di Sungai Tanggamus**” yang merupakan salah satu pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan S1 dan sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun berkat ridho Allah SWT penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Dalam penulisan skripsi ini tidak luput dari arahan, kritik, saran, dukungan, serta semangat dari berbagai pihak sehingga penulis mampu menyelesaikan sesuai waktunya. Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan terimakasih kepada:

1. Allah SWT, yang selalu memberikan kelancaran kepada penulis dalam melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi;
2. Kepada orang tua alm. Mamah Sri Haryati yang pastinya tak henti – henti mendoakan penulis, menyemangati penulis, dan menginginkan penulis menjadi sarjana;
3. Kepada orang tua Bapak Sudiman yang selalu memberikan semangat dan support;
4. Ibu Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si., selaku pembimbing I yang membimbing penulis dengan baik;
5. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, M.Si., selaku pembimbing II yang selalu sabar dalam membimbing penulis baik dalam proses penelitian dan penulisan skripsi;
6. Ibu Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D selaku dosen pembahas;
7. Bapak Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu selaku Kepala UPT LTSIT;

8. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku pembimbing akademik yang senantiasa memberikan masukan kepada penulis selama menempuh pendidikan S1;
9. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
10. Ibu Kusuma Handayani, M.Si., selaku Ketua Prodi S1-Biologi FMIPA Universitas Lampung;
11. Seluruh Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan banyak ilmu serta pengalaman kepada penulis selama menempuh pendidikan S1;
12. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung;
13. Kementerian Pendidikan Kebudayaan Riset Dan Teknologi (Kemendikbut Ristek);
14. Lembaga Pengelolaan Dana Pendidikan LPDP;
15. Ibu Prof. Dr. Ir Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung;
16. Bule Sri Atun selaku ibu kedua bagi penulis yang tak henti-henti menyemangati penulis;
17. Saudara saudari kandung penulis Novianti Herlinawati, Putra Anggar Kusuma, dan Nicko Indranatha yang selalu mensupport dan mendoakan penulis;
18. Keponakan Keanu Pradana Indranatha dan Khaira Arsyla Indranatha yang selalu menghibur penulis di kala jenuh;
19. Puput Ayu Nurvadilla, Aryanti Rafika Sari, Diyon Hanggara, dan Arif Kurniawan selaku tim riset keilmuan;
20. David Asadudin selaku saudara seperjuangan yang selalu memberika kritik, saran, semangat dan bantuan sekecil apapun kepada penulis;
21. Zaqi Arief Firmanto, M. Zidane Pradana, Ramadhan Surya Saputra selaku sahabat seperjuangan;
22. Viki Ramadan, Nadia Nurrisa, Syakila N.A. Hasanudin selaku Kirologi team;

23. Adib Ahmad Daffa dan Jihan Kamila Wardani selaku keluarga kecil penulis yang selalu menemani penulis dalam menyelesaikan penelitian;
24. Alma, Ainun, Kezia, Daffara, Asty, Annisa selaku teman tertawa;
25. Teman-teman Jurusan Biologi Angkatan 2019 yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terimakasih atas rasa kekeluargaan serta perjuangannya selama menjadi mahasiswa baru hingga sekarang;
26. Orang-orang yang tidak bisa disebutkan namanya yang telah memberikan bantuan, pengalaman dan pelajaran hidup untuk memotivasi penulis agar menjadi pribadi yang lebih baik lagi;
27. Almamater Universitas Lampung.

Penulis berharap semoga Allah SWT selalu memberikan lindungan kepada semua yang telah membantu penulis dalam Menyusun skripsi ini. Penulis menyadari bahwa ini masih jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi pembaca. Akhir kata, dengan mengucap Alhamdulillah, penulis dapat menyelesaikan skripsi pada waktu yang tepat.

Bandarlampung, 19 Juni 2023

Penulis,

**Muhamad Ade Nugraha**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>MENGESAHKAN</b> .....	<b>v</b>
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	<b>vi</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>vii</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>xviii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xix</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	4
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
1.4. Kerangka Penelitian .....	4
1.5. Hipotesis.....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1. Ikan Gabus ( <i>Channa striata</i> ).....	7
2.1.1. Morfologi Ikan Gabus.....	7
2.1.2. Pertumbuhan Ikan Gabus.....	8
2.1.3. Reproduksi Ikan Gabus.....	8
2.1.4. Habitat dan Distribusi .....	9
2.1.5. Klasifikasi .....	9

2.2.	Mikroba Pada <i>Gastrointestinal tract</i> Ikan.....	10
2.3.	Teknik Biologi Molekuler.....	12
2.3.1.	Ekstraksi DNA.....	12
2.3.2.	Analisis Kemurnian DNA.....	13
2.3.3.	Gen 16s rRNA .....	14
2.3.4.	Polymerase Chain Reaction (PCR).....	15
2.3.5.	Visualisasi Hasil PCR.....	16
<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.....	20
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 DNA.....	22
3.5.4.1.	Bakteri Gram Positif.....	22
3.5.4.2.	Bakteri Gram Negatif .....	23
3.5.5.	Analisis Konsentrasi dan Kemurnian.....	24
3.5.6.	Polymerase Chain Reaction (PCR).....	24
3.5.7.	Elektroforesis Hasil PCR.....	26
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
4.1.	Hasil .....	27
4.1.1.	Ekstraksi DNA Bakteri <i>Gastrointestinal tract</i> Ikan Gabus Budidaya dan Alam .....	27
4.1.2.	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) dan Visualisasi DNA Hasil PCR.....	29
4.2.	Pembahasan.....	31
<b>V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>41</b>
5.1.	Kesimpulan .....	41



5.2. Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>52</b>

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar 1.</b> Ikan Gabus ( <i>Channa striata</i> ) (Bhat, et al., 2014) .....	9
<b>Gambar 2.</b> Diagram Alir .....	20
<b>Gambar 3.</b> Gastrointestinal tract Ikan Gabus. Keterangan : a: Pyloricceca, b: Gastrointestinal tract, c: Rektum, d: Anus. ....	21
<b>Gambar 4.</b> Visualisasi Hasil PCR DNA Bakteri Gram (+) Pada <i>Gastrointestinal tract</i> Ikan Gabus Budidaya dan Alam .....	29
<b>Gambar 5.</b> Visualisasi Hasil PCR DNA Bakteri Gram (-) Pada <i>Gastrointestinal tract</i> Ikan Gabus Budidaya dan Alam .....	30

**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel 1.</b> Primer 16s rRNA.....	25
<b>Tabel 2.</b> Setting PCR .....	25
<b>Tabel 3.</b> Komposisi PCR .....	25
<b>Tabel 4.</b> Kemurnian dan konsentrasi DNA bakteri Gram (+) dan bakteri Gram (-) pada gastrointestinal tract ikan gabus budidaya dan alam. ....	27

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

Ikan gabus banyak diminati oleh masyarakat karena memiliki nilai ekonomis penting dan banyak manfaat salah satunya dalam bidang kedokteran, ikan ini digunakan sebagai obat untuk membantu mempercepat pemulihan luka atau pasca operasi. Hal ini dikarenakan tingginya kandungan albumin yang terdapat pada ikan gabus (Sofian, *et al.*, 2019).

Ikan gabus atau *snakehead fish* dikenal sebagai ikan predator yang masuk ke dalam famili Channidae. Pada famili Channidae ini memiliki 2 genus, yaitu *Channa* dan *Parachanna*. Genus *Channa* memiliki 34 spesies dan habitatnya asli di wilayah Asia, sedangkan genus *Parachanna* memiliki 3 spesies dan habitatnya asli di wilayah Afrika. Ikan gabus banyak di jumpai pada seluruh perairan daratan Indonesia. Keanekaragaman ikan gabus cukup tinggi di Indonesia, salah satu spesiesnya yaitu *Channa striata* yang hampir tersebar luas di perairan dataran Indonesia (Irmawati, *et al.*, 2017).

Ikan gabus hidup di perairan yang terdapat tanah seperti rawa – rawa. Keberadaan ikan gabus biasanya dipengaruhi oleh musim. Ketika musim kemarau, ikan gabus akan bersembunyi di dalam tanah sedangkan ketika musim hujan ikan gabus akan keluar dari tanah dan menuju perairan.

Keadaan ini membuat ikan gabus melakukan adaptasi terhadap lingkungannya. Daya adaptasi pada ikan gabus tidak hanya dilihat dari kondisi lingkungan, namun juga dapat dilihat dari kualitas makanan serta saluran pencernaan. Faktor fisiologi pencernaan merupakan faktor yang berperan penting dalam menjaga pertahanan tubuh serta memicu pertumbuhan pada ikan (Haetami, *et al.*, 2008).

Pertumbuhan ikan gabus dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu jenis makanan dan bakteri yang membantu dalam proses pencernaan makanan. Makanan juga menjadi salah satu faktor pada sistem pencernaan ikan. Perbedaan makanan dapat menghasilkan perbedaan populasi bakteri pada sistem pencernaan. Jenis makanan yang digunakan biasanya mengandung probiotik. Probiotik berupa mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam memodifikasi populasi bakteri dalam saluran pencernaan.

Probiotik dapat meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup pada ikan (Dewi dan Tahapari, 2017). Populasi bakteri yang ada di dalam *gastrointestinal tract* mampu mempengaruhi pertumbuhan serta perkembangan ikan, karena bakteri berperan aktif dalam metabolisme nutrisi, meningkatkan sistem kekebalan tubuh serta mampu menghambat patogen. Bakteri di *gastrointestinal tract* juga bersifat *fluid* (tidak pasti) sesuai dengan lingkungan dan sensitif terhadap jenis makanan ikan. Selain pakan, faktor yang mempengaruhi kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan yaitu air budidaya, intensitas cahaya, pH, serta suhu lingkungan (Lestari, *et al.*, 2016).

Bakteri pada hewan akuatik memiliki peran terhadap pertumbuhan dan kemampuan bertahan hidup inang. Bakteri juga mampu mempengaruhi ekspresi gen pada inangnya, terutama gen yang berperan dalam imunitas dan nutrisi serta membantu memproduksi enzim atau senyawa esensial untuk mencegah bakteri patogen terutama pada tahap larva dimana sistem imunitas belum berjalan sempurna (Lestari, *et al.*, 2016). Bakteri pada sistem pencernaan memiliki potensi untuk menghasilkan enzim hidrolitik yang mampu meningkatkan kemampuan ikan dalam mencerna nutrisi (Listiowati, *et al.*, 2022). Bakteri pada sistem pencernaan dapat menjadi suplemen dan vitamin yang dapat mempengaruhi aktivitas pencernaan (Hamonangan, *et al.*, 2016).

Beberapa peneliti sebelumnya mengidentifikasi kelimpahan bakteri dari berbagai jenis *gastrointestinal tract* ikan. Bakteri *E. coli* dan *M. luteus* ditemukan pada *gastrointestinal tract* ikan sidat (Lestari, *et al.*, 2016). Bakteri *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, dan *Enterobacter mori* telah berhasil diisolasi dari *gastrointestinal tract* ikan nilam (Listiowati, *et al.*, 2022). Semua diketahui berperan membantu sistem pencernaan ikan inangnya.

Faktor lingkungan dapat membuat karakter bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan terlihat dan mampu mendominasi sistem pencernaan. Bakteri yang tidak mendominasi pada sistem pencernaan dikarenakan faktor lingkungan yang kurang mendukung yang membuat karakter dari bakteri kurang terlihat. Faktor lingkungan yang mempengaruhi karakter bakteri pada sistem pencernaan diantaranya suhu,

pH, kualitas air dan intensitas cahaya. Karakter yang terlihat merupakan hasil ekspresi gen dari bakteri, adanya faktor lingkungan membuat gen yang terdapat pada bakteri untuk terekspresikan.

## **1.2. Tujuan Penelitian**

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

## **1.3. Manfaat Penelitian**

Memberikan informasi ilmiah tentang kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) budidaya dan alam berbasis DNA.

## **1.4. Kerangka Penelitian**

Ikan gabus (*Channa striata*) banyak diminati oleh masyarakat sebagai sumber albumin yang tinggi dalam penyembuhan luka atau pasca operasi. Pertumbuhan ikan gabus dipengaruhi oleh jenis makanan dan bakteri yang membantu proses metabolisme. Jenis makanan yang dikonsumsi ikan gabus dapat mempengaruhi kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus. Bakteri yang terdapat pada *gastrointestinal tract* ikan gabus dapat membantu dalam penyerapan nutrisi agar ikan gabus dapat tumbuh dengan baik.

Bakteri di lingkungan *gastrointestinal tract* ikan memiliki karakteristik yang berbeda tergantung dengan kondisi

perairan habitatnya. Kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus dapat diidentifikasi melalui karakter morfologi dan fisiologi. Morfologi bakteri meliputi warna, bentuk, koloni, dan bentuk sel. Fisiologi bakteri meliputi sifat Gram, produksi spora, serta produksi enzim. Karakter morfologi dan fisiologi tersebut merupakan ekspresi gen pada DNA. Ekspresi gen dipengaruhi oleh faktor lingkungan di dalam *gastrointestinal tract* ikan gabus, antara lain pH dan jenis makanan yang dimakan. Jika faktor lingkungan mendukung maka karakter morfologi dan fisiologi akan terekspresi atau disebut fenotipe.

Dengan demikian, tidak semua karakter bakteri dapat terlihat melalui pengamatan yang berdasarkan karakter morfologi dan fisiologi bakteri, karena keragaman bakteri berdasarkan karakter morfologi dan fisiologi terbatas. Saat ini, keragaman bakteri mengacu kepada analisis filogenetik berdasarkan urutan gen 16s rRNA sehingga kelimpahannya pun bisa mengacu kepada urutan 16s rRNA dari DNA bakteri di *gastrointestinal tract* ikan gabus. Metode isolasi DNA bakteri Gram positif berbeda dengan isolasi DNA bakteri Gram negatif. Oleh sebab itu, diperlukan analisis pada *gastrointestinal tract* ikan gabus budidaya dan alam di sungai Tanggamus berbasis DNA.

PCR dengan menargetkan gen 16s rRNA. Sampai saat ini belum ada informasi terkait penelitian ini, sehingga dilakukan penelitian ini untuk mengetahui kelimpahan bakteri berbasis DNA pada *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) budidaya dan alam di sungai Tanggamus.



### **1.5. Hipotesis**

Terdapat perbedaan kelimpahan bakteri pada *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) budidaya dan alam yang berasal dari sungai Tanggamus.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

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

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan salah satu jenis ikan karnivora air tawar yang terdapat di wilayah Asia Tenggara (Listyanto dan Andriyanto, 2009). Ikan gabus merupakan ikan air tawar yang diminati oleh masyarakat (**Gambar 1**). Ikan ini memiliki rasa yang enak serta tekstur dagingnya yang putih dan tebal. Kandungan protein yang tinggi sering kali dijadikan sebagai bahan obat (Muliani, *et al.*, 2021).

#### 2.1.1. Morfologi Ikan Gabus

Tubuh ikan gabus berwarna coklat kehitaman pada bagian atas dan coklat muda keputihan pada bagian perut. Bentuk kepala ikan gabus sedikit pipih seperti ular dengan sisik besar di atas kepalanya. Tubuh bagian atas ikan gabus berwarna gelap, hitam kecoklatan. Sedangkan tubuh bagian bawah ikan gabus berwarna cerah. Sisi samping ikan gabus bercorak tebal sesuai dengan lingkungannya. Bentuk mulut ikan gabus besar dan memiliki gigi yang tajam. Sirip ikan gabus pada bagian punggung berbentuk memanjang dan pada bagian ekor berbentuk bulat pada bagian ujungnya (Listyanto dan Andriyanto, 2009).

### 2.1.2. Pertumbuhan Ikan Gabus

Pertumbuhan pada ikan terdiri dari dua pola pertumbuhan yaitu, pola pertumbuhan isometrik dan allometrik. Isometrik adalah penambahan bobot seimbang dengan penambahan panjang sedangkan allometrik adalah penambahan bobot tidak seimbang dengan penambahan panjang. Pola pertumbuhan pada ikan gabus termasuk kedalam pola pertumbuhan isometrik (Muslim, 2017). Ikan gabus akan tumbuh dengan baik jika diberikan pakan buatan dengan kandungan protein 40%, namun pada umumnya nilai pertumbuhan masih tergolong rendah diduga karena daya cerna protein yang belum optimal. Penentuan daya cerna protein selain jenis pakan juga ditentukan dari bakteri pada saluran pencernaan ikan (Maulidin, *et al.*, 2016).

### 2.1.3. Reproduksi Ikan Gabus

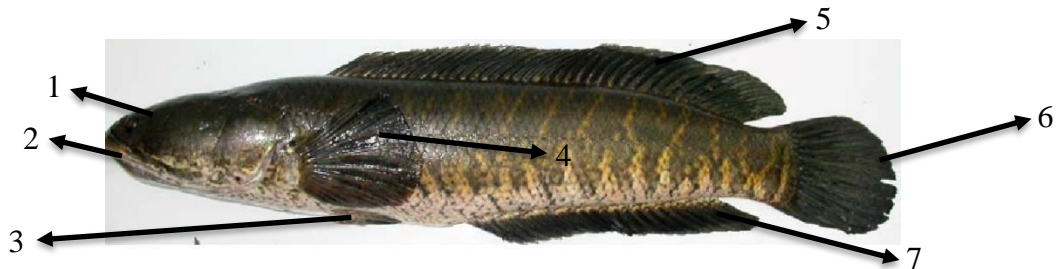
Secara umum ikan dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu jantan dan betina, dimana sepanjang hidupnya memiliki jenis kelamin yang sama, namun terdapat istilah *hermafrodit* dimana di dalam tubuh individu ditemukan memiliki dua jenis gonad. Gonad adalah organ reproduksi yang berfungsi menghasilkan sel kelamin. Suatu populasi ikan yang memiliki perbedaan seksualitas disebut dengan populasi yang heteroseksual. Pada perairan alami umumnya yaitu populasi heteroseksual, namun berbeda dengan perairan budidaya, jenis kelamin ikan dapat dimanipulasi sehingga dapat menjadikan populasi ikan yang monoseksual. Sistem reproduksi ikan gabus pada umumnya sama dengan jenis ikan lainnya yang memerlukan gonad untuk melakukan perkembangbiakan. Ikan gabus akan mencapai tingkat kematangan gonad akhir apabila diameter telur sudah

mencapai 0,9 – 1 mm. Ikan gabus akan melakukan pemijahan pada awal musim hujan (Muslim, 2017).

#### 2.1.4. Habitat dan Distribusi

Ikan gabus sering dijumpai pada perairan dangkal seperti sungai dan rawa. Ikan gabus cenderung memilih perairan yang gelap, berlumpur, berarus tenang, dan wilayah bebatuan (Listyanto dan Andriyanto, 2009). Ikan gabus merupakan ikan predator asli perairan Indonesia. Penyebaran ikan gabus di Indonesia hampir merata dari sabang sampai marauke (Asfar, *et al.*, 2014). Faktor ekologi habitat ikan gabus untuk rata – rata pH sekitar 7,0, rata – rata kejernihan air 87,6 cm, rata – rata suhu air 25,8<sup>0</sup>C (Pariyanto, *et al.*, 2021).

#### 2.1.5. Klasifikasi



**Gambar 1.** Ikan Gabus (*Channa striata*) (Bhat, *et al.*, 2014), Keterangan: 1. Mata, 2. Mulut, 3. Sirip perut, 4. Sirip dada, 5. Sirip punggung, 6. Sirip ekor, dan 7. Sirip dubur.

Kerajaan : Animalia  
 Filum : Chordata  
 Kelas : Actinopterygii  
 Ordo : Perciformes  
 Famili : Channidae  
 Genus : *Channa*  
 Spesies : *Channa striata* (Listyanto dan Andriyanto, 2009).

### 2.1.6. *Gastrointestinal Tract*

*Gastrointestinal tract* merujuk pada sistem pencernaan mulai dari mulut hingga anus. *Gastrointestinal tract* terdiri dari serangkaian organ yang berperan dalam proses pencernaan dan penyerapan nutrisi (Tortora dan Derrickson, 2017). Saluran pencernaan ikan gabus mirip dengan saluran pencernaan pada ikan lainnya, namun setiap ikan memiliki variasi dalam struktur dan fungsi saluran pencernaan (Nelson, *et al.*, 2016).

### 2.2. Mikroba Pada *Gastrointestinal tract* Ikan

Probiotik merupakan salah satu mikroorganisme hidup yang memiliki peran menguntungkan. Bakteri ini mampu bertahan hidup pada saluran pencernaan. Bakteri pada probiotik EM-4 terdiri dari *Lactobacillus* sp., *Streptomyces* sp. dan *Actinomycetes* sp. Pemberian probiotik EM-4 mampu meningkatkan populasi *Lactobacillus* sp. (Trisna, *et al.*, 2013). Bakteri yang terdapat pada ikan gabus dari hasil identifikasi terhadap beberapa antibiotik diantaranya *Pasteurella pneumotropica* dan *Aeromonas hydrophila* (Sugiyani, *et al.*, 2018).

Probiotik dapat diisolasi dari saluran pencernaan ikan. Faktor penting dalam pertumbuhan bakteri pada usus ikan yaitu kadar pH. pH dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri yang terdapat pada sistem pencernaan dan membantu aktivitas dari suatu enzim. Bakteri yang terkandung dalam pakan probiotik harus mampu bertahan di dalam sistem pencernaan ikan. Beberapa bakteri probiotik yang terdapat pada sistem pencernaan ikan lele diantaranya *Lactobacillus*, *Streptococcus*

dan *Bifidobacterium* (Indrato, *et al.*, 2017).

Probiotik bila diberikan pada ikan akan mempengaruhi inang dengan membantu memperbaiki mikroflora dari inang atau lingkungannya. Mikroba probiotik telah digunakan untuk meningkatkan kesehatan ikan karena mampu menghambat mikroba patogen yang kebal terhadap antibiotik. Pada ikan mas dilakukan identifikasi bakteri yang terdapat pada sistem pencernaan. Dari hasil identifikasi hanya terdapat 1 jenis bakteri pada sistem pencernaan yaitu *Lactobacillus* (Novitarizky, *et al.*, 2018). Selain probiotik yang merupakan mikroba menguntungkan bagi ikan, terdapat juga mikroba patogen yang merugikan pada ikan. Terdapat dua tipe bakteri patogen pada ikan yaitu, bakteri penyebab primer dan patogen oportunistik. Bakteri penyebab primer merupakan bakteri patogen yang tidak bisa hidup lama diluar tubuh inangnya sedangkan patogen oportunistik merupakan bakteri patogen yang dapat hidup baik pada inangnya atau di air. Beberapa bakteri yang menyerang ikan dan jenis penyakitnya yaitu, *Aeromonas hydrophilia* menyebabkan penyakit *Motile aeromonas septicemia*, *Flavobacterium branchiophila* menyebabkan penyakit insang, dan *Renibacterium salmoninarium* menyebabkan penyakit ginjal pada ikan (Nur, 2019). Pada penelitian yang dilakukan oleh Manurung (2018) mengidentifikasi 7 jenis bakteri patogen yang menyerang ikan nila yaitu, *Aeromonas hydrophila*, *Corynebacterium* sp., *Enterobacteria* sp., *Listeria* sp., *Pseudomonas* sp., *Plesiomonas* sp. dan *Kurtiha* sp.

Menurut penelitian Setiadi dan Wadjdy (2019) bahwa pada usus ikan gabus terdapat 2 isolat bakteri yang berbeda yaitu

*Pasteurella pneumotropica* dan *Aeromonas hydrophila*. Penelitian yang dilakukan oleh Sugiani *et al.* (2018) juga menemukan 2 isolat bakteri pada usus ikan gabus yaitu *Pasteurella pneumotropica* dan *Aeromonas hydrophila* yang keduanya merupakan bakteri Gram negatif.

Fenotipe mencakup berbagai macam tingkat dalam ekspresi gen dari organisme. Pada tingkat organisme fenotipe merupakan sesuatu yang dapat dilihat. Pada fenotipe pada tingkat biokimia berupa kandungan substansi kimiawi di dalam tubuh. Sedangkan pada tahap molekuler fenotipe dapat berupa RNA yang diproduksi atau terdeteksinya pita DNA atau RNA pada elektroforesis. Fenotipe ditentukan sebagian oleh genotipe individu, sebagian oleh lingkungan, waktu, sifat serta interaksi antar genotipe dan lingkungan (Mustami, 2013).

### **2.3. Teknik Biologi Molekuler**

#### **2.3.1. Ekstraksi DNA**

Ekstraksi DNA merupakan teknik pemisahan DNA yang bertujuan untuk mendapatkan DNA murni. Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, mulai dari metode konvensional ataupun metode kit.

Terdapat beberapa tahapan dalam proses ekstraksi DNA yaitu, pelisisan sel, purifikasi, presipitasi, dan elusi (Siswoyo, 2019). Prinsip utama dalam proses ekstraksi DNA yaitu penghancuran membran sel atau organel - organel dengan tujuan memisahkan DNA dari bahan penyusun sel lain tanpa merusak DNA tersebut (Arianti dan Sianturi, 2019). Proses lisis merupakan proses awal yang dijadikan

penentu keberhasilan ekstraksi DNA. Beberapa cara dapat digunakan dalam tahapan lisis ini, diantaranya menggunakan teknik kimiawi yaitu menggunakan enzim seperti roteinase-K dan SDS dan juga menggunakan teknik mekanik yaitu penggerusan menggunakan mortar atau menggunakan *TissueLyser* (Hariyadi, *et al.*, 2018).

Tahapan selanjutnya penambahan kloroform yang memiliki berat jenis lebih besar dari sampel sehingga membuat kloroform bergerak ke dasar tabung. Kloroform berfungsi untuk menghilangkan sisa – sisa dinding sel dari tahap lisis dan dapat mendenaturasi protein. Langkah berikutnya adalah sentrifugasi dengan tujuan untuk memisahkan DNA dan protein. Pada tahap presipitasi supernatan dimasukan ke dalam tabung yang berisi isopropanol dengan volume yang sama dengan volume supernatan. Isopropanol bersifat fiksatif yaitu dapat menarik air atau mengondisikan dehidrasi yang membuat DNA terbentuk dan tidak mengendap. Selanjutnya tahapan purifikasi DNA menggunakan alkohol 70% dengan tujuan untuk mencuci dan mengendapkan DNA, setelah DNA mengendap diresuspensi dengan TE dan DNA dapat disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  (Aristya, Agriansyah, dan Daryono, 2013).

### **2.3.2. Analisis Kemurnian DNA**

Pengukuran kemurnian DNA dapat dilakukan menggunakan alat nanofotometer atau spektrofotometer. Sebelum melakukan analisis kemurnian, alat harus dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan blanko. Kemurnian DNA yang baik berkisar 1,8-2 (Andryani, *et al.*, 2020). Cahaya diteruskan melalui lensa menuju monokromator kemudian diubah menjadi cahaya monokromatis. Cahaya yang



dilewatkan pada sampel mengandung zat konsentrasi tertentu, cahaya yang terbentuk ada yang diserap dan ada juga yang dilewatkan. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga dapat diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Mubarok, 2021).

### **2.3.3. Gen 16s rRNA**

Gen 16s rRNA memiliki panjang sekitar 1.500 pb. 16s rRNA memiliki beberapa fungsi, antara lain sebagai peran struktural dan menjadi penting untuk sintesis protein. Semua mikroorganisme memiliki satu salinan 16s yang membuatnya ada dimana – mana. Dalam urutan tertentu, 16s mampu memberikan tanda spesifik genus atau spesies yang memungkinkan identifikasi yang cukup akurat tergantung pada wilayah gen yang ditargetkan untuk kelompok bakteri tertentu (Church, *et al.*, 2020). Adanya teknologi sekuensing generasi selanjutnya, identifikasi molekuler telah menggantikan kultur tradisional, memungkinkan dalam mengetahui keragaman komunitas mikroba. Sebagian besar studi ini didasarkan pada pengurutan gen 16s rRNA, yang memiliki beberapa daerah yang sangat terkonservasi yang disisipkan dengan daerah variabel. Daerah yang dilestarikan berfungsi sebagai "jangkar" untuk merancang primer reaksi berantai polimerase (PCR) sambil mengurutkan daerah variabel yang mengidentifikasi bakteri (Fuks, *et al.*, 2018). Gen 16s rRNA memiliki panjang sekitar 1600 pasangan basa konservatif. Metabarkoding menggunakan gen 16s rRNA tersebar dalam studi berbagai komunitas mikroba (Bukin, *et al.*, 2018).

Desain studi khusus dan protokol eksperimen diperlukan untuk mengurutkan dan menganalisis metagenoik mikroba usus di lingkungan. Teknik pengurutan molekul beresolusi tinggi yang ditetapkan sebagai metagenomik dapat dibagi menjadi dua pendekatan yaitu gen 16s rRNA dan pengurutan metagenomik shotgun. Pendekatan sekuensing gen 16s rRNA mengandalkan gen 16s ribosomal RNA sebagai penanda genetik untuk mempelajari filogeni dan taksonomi bakteri (Osman, *et al.*, 2018).

#### **2.3.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)**

*Polymerase chain reaction* (PCR) merupakan metode enzimatik yang digunakan untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro*. PCR mampu mengamplifikasi DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam (Setyawati dan Zubaidah, 2021). Amplifikasi DNA di luar sel melalui teknik PCR dapat menyederhanakan berbagai prosedur standar dalam cloning, analisis, dan modifikasi nukleotida (Kusnadi, 2020). Pada proses amplifikasi, yang diperbanyak adalah materi DNA.

Proses amplifikasi terjadi melalui beberapa tahap yaitu, denaturasi, *annealing*, dan elongasi. Setiap tahapan proses amplifikasi dipengaruhi oleh waktu serta suhu yang tepat (Kurniawati, *et al.*, 2019). Denaturasi merupakan proses sebelum enzim *polymerase* bekerja, yaitu terjadinya pelepasan rantai ganda DNA menjadi rantai tunggal Amanda, *et al.*, 2019). Proses denaturasi adalah kerusakan enzim yang disebabkan karena terputusnya ikatan yang menunjang struktur dan protein (Romualdo, *et al.*, 2010). Untai tunggal DNA diubah menjadi DNA komplemen dengan pengaturan

suhu 48<sup>0</sup>C selama 30 menit pada tahap pertama dan 94<sup>0</sup>C selama 2 menit pada tahap kedua sehingga menjadi rantai ganda DNA (Kurniawati, *et al.*, 2019).

Tahapan *annealing* merupakan tahapan yang cukup penting, karena pada tahap ini terjadi penempelan primer setelah rantai ganda DNA terbuka. Pemilihan suhu pada tahap ini dapat menyebabkan penempelan yang tidak spesifik, dan jika suhunya terlalu tinggi akan menyebabkan kesulitan dalam pembentukan ikatan primer dan DNA. Suhu pada tahap *annealing* harus disesuaikan dengan suhu leleh dan panjang primer. Suhu dari primer *forward* dan *reverse* adalah 55<sup>0</sup>C dan 51<sup>0</sup>C (Amanda, *et al.*, 2019).

Elongasi adalah proses pemanjangan DNA yang dapat terjadi pada suhu 72<sup>0</sup>C selama 2 menit dan berlangsung sekitar 35 siklus. Tahap terakhir siklus diperpanjang 1 step elongasi 72<sup>0</sup>C selama 8 menit. Tahapan akhir ini bertujuan untuk memberikan kesempatan proses elongasi berjalan dengan sempurna (Hutabarat, *et al.*, 2020).

### 2.3.5. Visualisasi Hasil PCR

Hasil PCR dapat divisualisasikan menggunakan metode elektroforesis digital *QiaxCel Advanced* (Qiagen, Jerman). Prosedur penggunaan elektroforesis digital mengikuti panduan manual *QiaxCel Advanced* dari Qiagen, Jerman.

Tahapan preparasi:

Sebelum alat digunakan *cartridge* di diamkan di suhu ruang  $\pm$  20 menit. Kemudian *separation buffer* dan *wash buffer* dituang ke dalam *buffer tray*, dan dimasukkan pada *buffer tray holder*. *Aligment marker* (15 pb – 3.000 pb) dihomogenkan

terlebih dahulu dan diletakkan pada *well* di *buffer tray* dengan posisi tabung terbuka.

Tahapan visualisasi dan penentuan ukuran fragmen DNA:

Visualisasi dan penentuan ukuran fragmen DNA dilakukan menggunakan *software QIAxel ScreenGel* yang ditampilkan dalam bahasa Instrumen QIAxel. Kemudian komputer yang digunakan dinyalakan, masuk ke dalam *QIAxel ScreenGel software* pada “DNA mode” sebagai *routine user*. *Buffer tray* yang berisi *alignment marker*, *separation buffer*, dan *wash buffer* dimasukkan ke bagian dalam *QIAxel Advanced* dengan memilih “*park position*” pada bagian *status information*. Selanjutnya *cartridge* dan *smart key* dimasukkan ke dalam *QIAxel Advanced instruments* pada bagian atas. *Size marker* (100 pb – 2.500 pb) dihomogenkan terlebih dahulu dan diletakkan pada *well* di *sample row* dengan posisi tabung terbuka. Kemudian klik “*process profile*” pada bagian “*instrument status*”, *cartridge type* yang dipakai yaitu *DNA Screening*, pilih “*process profile*” yang akan digunakan. Pemilihan sampel dilakukan dengan memilih “*sample selection*”, *size marker* yang digunakan yaitu 100 pb – 2,5 kb (20 ng/  $\mu$ L), *alignment marker* menggunakan QX 15pb -3 kb, pada bagian “*sample row selection*” dipilih baris A apabila hanya  $\leq 11$  sampel yang akan di elektroforesis, klik kanan pada salah satu kolom antara 1-12 untuk memilih lokasi *size marker*, kemudian klik kotak “*show lot information*”. Selanjutnya, pilih “*sample information*” untuk memberi nama masing-masing sampel dan *size marker* untuk menyesuaikan posisi sampel di *sample row*.

Setelah seluruh informasi *cartridge*, sampel dan penanda (*marker*) terisi, kemudian pilih “*run chcek*”. Klik pada kotak untuk

mengkonfirmasi *sample rows* telah terisi sampel juga *alignment marker* dan *size marker* telah dimasukkan. Nitrogen diaktifkan dan *cartridge* dikunci dengan memilih “*latch*” pada bagian *status information*. Setelah “*errors and warnings*” tidak menunjukkan peringatan, maka proses elektroforesis dapat dijalankan dengan memilih “*Run*”. Setelah laju migrasi DNA selesai ( $\pm 11$  menit), *software* akan menampilkan posisi dan ukuran fragmen DNA , untuk dapat mengetahui ukuran fragmen DNA pilih “*Analysis*” pada bagian *menu bar*.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2022 – Januari 2023. Proses pembedahan ikan gabus, ekstraksi DNA, nanofotometer, *Polymerase Chain Reaction* dan elektroforesis dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (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, oven, sprayer, cool box, tabung 1 ml, tabung 1,5 ml, tabung 2 ml, centrifuge, thermocycler, 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.

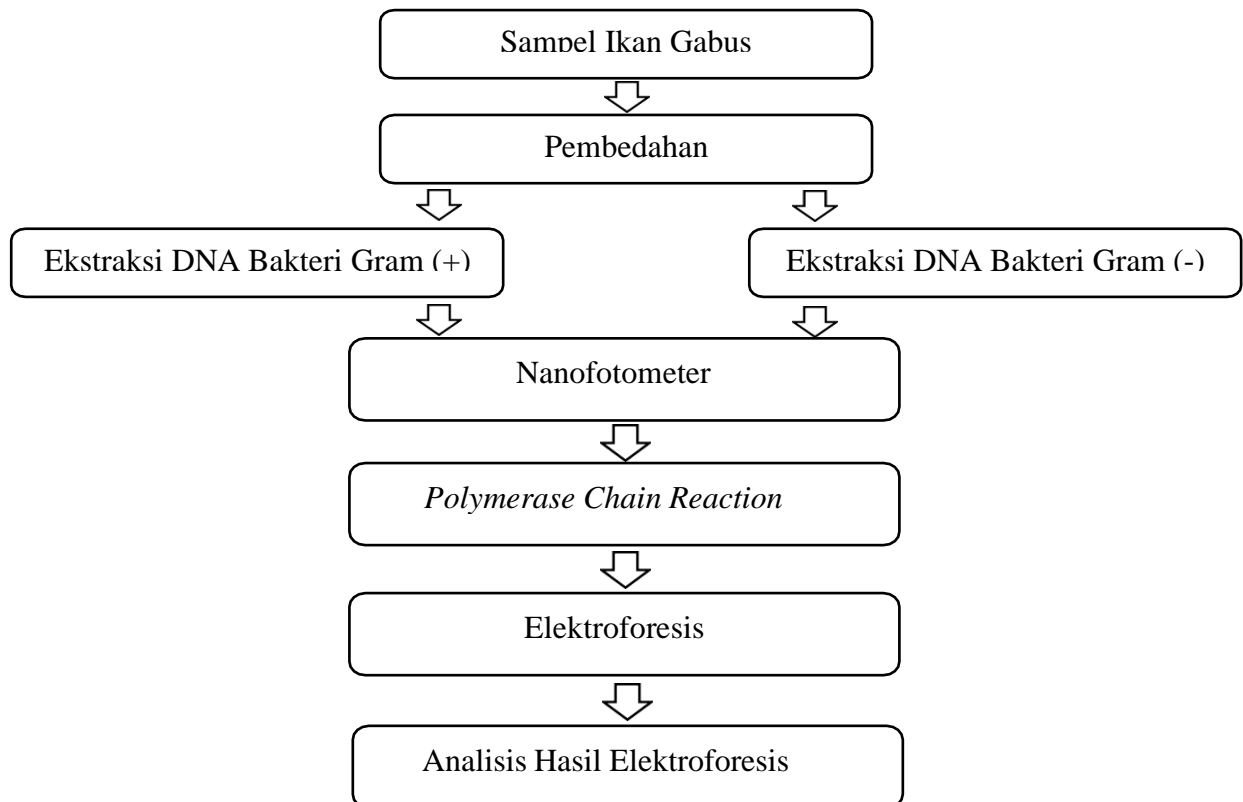
Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alkohol (70% dan 100%), *Phosphate Buffered Saline* (PBS) 1x, *Lisozym*, *chloroform*, *Nucleic Lysis Solution*, *Protein Precipitation Solution*, *DNA Rehydration Solution*, ddH<sub>2</sub>O, es batu, master mix, primer 16s rRNA dengan 63F dan 387R, air, dan sampel *gastrointestinal tract* ikan gabus (*Channa striata*) dengan kode sampel GA (Gabus Alam) dan GB (Gabus Budidaya).

### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode berbasis analisis DNA, 2 sampel ikan gabus, 1 sampel dari budidaya dan 1 sampel dari alam. Kontrol positif berupa ikan gabus budidaya dan kontrol negatif berupa SM-100. Penelitian ini dilakukan untuk melihat kelimpahan bakteri yang terdapat pada *gastrointestinal tract* ikan gabus alam. Sampel ikan gabus budidaya dan alam yang digunakan memiliki bobot total  $\pm 700$  Gram.

### 3.4. Diagram Alir

Penelitian ini dilakukan dengan 5 tahap yaitu pengambilan sampel, ekstraksi DNA pada *gastrointestinal tract* ikan gabus, nanofotometer, PCR, elektroforesis yang secara lengkap ditampilkan pada **Gambar 2**.



**Gambar 2.** Diagram Alir

### 3.5. Pelaksanaan Kegiatan

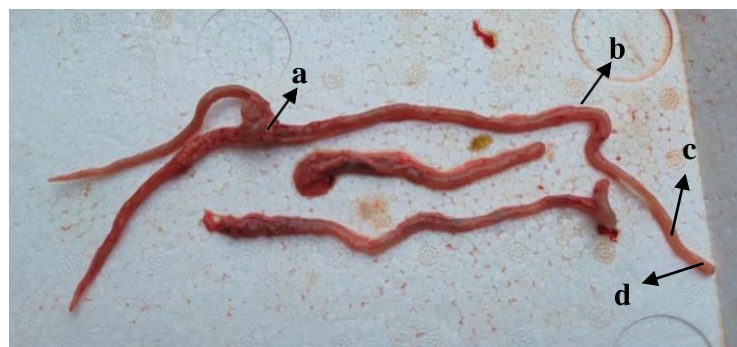
#### 3.5.1. Pengambilan Sampel Ikan

Sampel ikan gabus alam di beli dari pasar Untung Suropati yang berasal dari tangkapan penjual di Sungai Tanggamus dan sampel ikan gabus budidaya di beli dari Budi Fish Farm Pringsewu dengan bobot tubuh ikantotal  $\pm 700$  Gram.

#### 3.5.2. Preparasi Sampel

Sampel ikan gabus dibius dengan merendam ikan gabus di dalam air yang berisi batu es. Kemudian setelah ikan pingsan dilakukan pembedahan bagian perut ikan gabus untuk mengambil *gastrointestinal tract* ikan gabus **Gambar 3**. Setelah itu, seluruh isi dari *gastrointestinal tract* ikan gabus dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam tabung rekasi dan kemudian ditambahkan  $\pm 5$  ml PBS 1x.

Bagian *gastrointestinal tract* ikan gabus yang digunakan yaitu pada bagian *pyloric ceca* sampai bagian anus.



**Gambar 3.** *Gastrointestinal tract* Ikan Gabus. Keterangan : a: *Pyloric caeca*, b: *Gastrointestinal tract*, c: Rektum, d: Anus.



### 3.5.3. Preparasi Pelarut yang Digunakan

1. *Phosphate Buffered Saline* (PBS) 1x merupakan buffer isotonik 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. ddH<sub>2</sub>O merupakan aquades yang di sterilisasi
4. Mater Mix merupakan campuran dari dNTP, MgCl<sub>2</sub>, PCR buffer, Nuclease-free atau PCR-grade water, enzim.
5. *Nucleic Lysis Solution*
6. *Protein Precipitation Solution*
7. *DNA Rehydration Solution*

### 3.5.4. Ekstraksi DNA

#### 3.5.4.1. Bakteri Gram Positif

Ekstraksi DNA bakteri Gram positif pada *gastrointestinal tract* ikan gabus budidaya dan alam:

Sampel diambil 1 ml, dimasukkan ke tabung 1,5 ml dan disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Supernatan dibuang. Ditambah 480 µL ddH<sub>2</sub>O dan 20 µL lisozim. Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 55 menit. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Supernatan dibuang. Ditambahkan 600 µL

*Nucleic Lysis Solution* dan divortex. Diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 15 menit dan setiap 5 menit dibolak – balik. Didiamkan hingga suhu ruang. Ditambahkan 200  $\mu$ L *Protein Precipitation Solution* dan divortex. Diinkubasi menggunakan es batu selama 5 menit. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 3 menit. Ditambahkan 600  $\mu$ L isopropanol pada tabung 1,5 ml steril lalu supernatan dimasukkan dan diinversi. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Supernatan dibuang pada kertas atau tissue steril. Ditambahkan 600  $\mu$ L etanol 70% dan diinversi. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Supernatan dibuang dan dikeringanginkan selama 15 menit. Ditambahkan 30  $\mu$ L *DNA Rehydration Solution*. Diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 30 menit dan setiap 15 menit di tapping dan di spin.

#### **3.5.4.2. Bakteri Gram Negatif**

Ekstraksi DNA bakteri Gram negatif pada *gastrointestinal tract* ikan gabus budidaya dan alam: Sampel diambil 1 ml dimasukkan ke tabung 1,5 ml dan disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 5 menit. Supernatan dibuang. Ditambah 100  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O dan 10  $\mu$ L lisozim divortex. Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 15 menit. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 5 menit. Supernatan dibuang. Ditambahkan 600  $\mu$ L *Nucleic Lysis Solution* dan divortex. Diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 5 menit. Didiamkan hingga suhu ruang. Ditambahkan 200  $\mu$ L *Protein Precipitation Solution* dan 200  $\mu$ L kloroform kemudian divortex. Diinkubasi menggunakan es batu selama 5 menit. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 3 menit.

Ditambahkan 600  $\mu\text{L}$  isopropanol pada tabung 1,5 ml steril lalu supernatan dimasukkan dan diinversi. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 3 menit. Supernatan dibuang pada kertas atau tissue steril. Ditambahkan 600  $\mu\text{L}$  etanol 70% dan diinversi. Disentrifus 13.500 rpm pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 2 menit. Supernatan dibuang dan dikeringanginkan selama 15 menit. Ditambahkan 30  $\mu\text{L}$  *DNA Rehydration Solution*. Diinkubasi pada suhu 65<sup>0</sup>C selama 30 menit dan setiap 15 menit di tapping dan di spin.

### 3.5.5. Analisis Konsentrasi dan Kemurnian

Hasil ekstraksi DNA kemudian di analisis kemurnian serta konsentrasi DNA menggunakan alat nanofotometer.

Absorbansi yang digunakan adalah A260 untuk DNA, A280 untuk protein.

### 3.5.6. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Tahapan pada proses PCR meliputi 3 tahap yaitu, denaturasi, *annealing*, dan elongasi pada **Tabel 2**. Proses amplifikasi dilakukan menggunakan Primer 16s rRNA dengan kombinasi 63F dan 1387R pada **Tabel 1**. Amplifikasi dilakukan dengan volume 21,5  $\mu\text{L}$  setiap tabung yang terdiri dari 11  $\mu\text{L}$  Master mix, 0,25  $\mu\text{L}$  63F, 0,25  $\mu\text{L}$  1387R, 8  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O, dan 2 $\mu\text{L}$  DNA cetakan pada **Tabel 3**.

**Tabel 1.** Primer 16s rRNA

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'

(Arista, *et al.*, 2018).

**Tabel 2.** Setting PCR

Step	Temperatur	Waktu	
Denaturasi awal	95 <sup>0</sup> C	5'	
Denaturasi	95 <sup>0</sup> C	1'	} 35 siklus
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'	

**Tabel 3.** Komposisi PCR

No	Bahan	Volume ( $\mu$ L)
1	10x PCR buffer	11
2	Primer 63F 10 pM	0,25
3	Primer 1387R 10 pM	0,25
4	ddH <sub>2</sub> O	8
5	DNA Cetakan	2

### 3.5.7. Elektroforesis Hasil PCR

Sampel DNA hasil PCR kemudian dianalisis menggunakan elektroforesis secara digital menggunakan alat *QIAxcel Advanced*. Elektroforesis digital tidak menggunakan gel agarosa melainkan menggunakan KIT DNA QIAxcel untuk analisis fragmen DNA secara otomatis. *QIAxcel Advanced* terhubung dengan komputer sehingga visualisasi pita DNA dapat dilihat dengan jelas melalui perangkat lunak *QIAxcel Advanced ScreenGel*.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Kelimpahan bakteri Gram positif pada ikan gabus budidaya dan alam di sungai Tanggamus lebih banyak dibandingkan dengan bakteri Gram negatif pada ikan gabus budidaya dan alam. Kelimpahan bakteri Gram positif pada *gastrointestinal tract* ikan gabus budidaya dan alam memiliki perbandingan 41 : 25 sedangkan kelimpahan bakteri Gram negatif pada *gastrointestinal tract* ikan gabus alam memiliki perbandingan 23 : 24.

### 5.2. Saran

Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keragaman bakteri menggunakan pada *gastrointestinal tract* ikan gabus budidaya dan alam menggunakan metode analisis metagenomik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amanda, K., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Optimasi suhu annealing proses PCR amplifikasi gen shv bakteri *Escherichia coli* pasien ulkus diabetik . *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*.
- Adhiyanto, C., Hendarmin, L., & Puspitaningrum, R. (2020). *Pengenalan dasar teknik bio-molekuler*. Yogyakarta: deepublish.
- Aisin, U., Tumbol, R., Kreckhoff, R., Manoppo, H., Pangemanan, N., & Ginting, E. (2018). Penggunaan bakteri probiotik untuk pencegahan infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila, *Oreochromis niloticus*. *Jurnal Budidaya Perairan Vol. 6 No.2*, 40.
- Andryani, D. T., Bakri, A. A., & Bungalim, M. I. (2020). Perbandingan metode isolasi DNA terhadap nilai kemurnian DNA untuk pengujian *white spot syndrom virus* (WSSV) pada lobster bambu (*Panulirus versicolor*). *Jurnal Prosiding Simposium Nasional VII Kelautan dan Perikanan*, 241.
- Anugrah, D. (2021). Identifikasi bakteri Gram positif serta pengaruhnya terhadap histopatologi organ ginjal pada ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) di danau Lapompakka dan danau sidenreng, Kabupaten Wajo. *Skripsi*, 7-8.
- Anwar, M., Nurjanah, S., & Rahayu, W. (2022). Aplikasi *basic local alignment search tool* (blast) NCBI pada penelitian molekuler *Salmonella* spp. *Jurnal Ilmiah Indonesia p-ISSN: 2541-0849 e-ISSN: 2548-1398 Vol.7,No.11*, 15450.
- Ariani, Y. W., Damai, A. A., & Kartini, N. (2019). Pemantauan kualitas air sungaidi perairan sungai semuong di dalam hutan lindung register 39, Desa Gunung Doh, Kabupaten Tanggamus,

Provinsi Lampung. *Jurnal Perikanan*.

- Arianti, Y., & Sianturi, S. (2019). Ekstraksi DNA total dari sumber jaringan hewan (Ikan Kerapu) menggunakan metode kit for animal tissue. *Journal of Science and Applicative Technology vol. 3 (1)*, 41.
- Arista, A. M., Yuliani, & Lisdiana, L. (2018). Identifikasi isolat bakteri endofit A1 dan B1 dari akar tanaman ubi jalar berdasarkan sekuens 16s rDNA. *Jurnal Lentera Bio ISSN: 2252-3979*, 10.
- Aristya, G. R., Agriansyah, A., & Daryono, B. S. (2013). Deteksi dan skrining pewarisan sifat ketahanan penyakit powdery mildew pada generasi backcross tanaman melon (*Cucumis melo L.*) Var . *Repository UGM*, 298.
- Asfar, M., Tawali, A. B., & Mahendradatta, M. (2014). Potensi ikan gabus (*Channa striata*) sebagai sumber makanan kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Industri II*, 150.
- Astuti, M. Y., & Abdullah. (2016). Evaluasi kesesuaian perairan untuk budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di kawasan pesisir desa Kandang Besi Kecamatan Kota Agung Barat Kabupaten Tanggamus. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 625.
- Awan, F., Dong, Y., Wang, N., Liu, J., Ma, K., & Liu, Y. (2018). The fight for invincibility: Environmental stress response mechanisms and *Aeromonashydrophila*. *Microbial Pathogenesis 116*, 135.
- Benga, L., Sager, M., & Christensen, H. (2018). *From the [Pasteurella] pneumotropica complex to Rodentibacter spp.: an update on [Pasteurella] pneumotropica*. Duesseldorf.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., Tapingkae, S., & Sumpavapol, K. (2010). Molecular identification and characterization of lactic acid bacteria from fish and fish products. *Journal of Food Science*.
- Budiarto, B. R. (2017). Bio-kontaminan penyebab tidak tegaknya



diagnosis molekuler berbasis amplifikasi asam nukleat.

*Jurnal BioTrends Vol.8Nomor 1*, 29.

- Bukin, Y., Galachyants, Y., Morozov, I., Bukin, S., Zakharenko, A., & Zemskaya, T. (2018). The effect of 16s rRNA region choice on bacterial community metabarcoding results. *Journal Scientific Data*.
- Church, D., Cerutti, L., Gürtler, A., Griener, T., Zelazny, A., & Emler, S. (2020). Performance and application of 16s rRNA gene cycle sequencing for routine identification of bacteria in the clinical microbiology laboratory. *Journal American Society for Microbiology*, 4.
- Dewanata, P. A., & 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.
- Dewi, R. S., & Tahapari, E. (2017). Pemanfaatan probiotik komersial pada pembesaran ikan lele (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 276.
- Fawole, F., & Ogundiran, M. (2015). Effect of pH on the digestive enzyme activity of catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. *International Journal of Aquatic Biology*, 264-268.
- Fuks, G., Elgart, M., Amir, A., Zeisel, A., Turnbaugh, P., Soen, Y., & Shental, N. (2018). Combining 16s rRNA Gene variable regions enables high-resolution microbial community profiling. *Jurnal Microbiome*, 2.
- Ginting, S. B., Suryanto, D., & Desrita. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan bandeng (*Chanos chanos*). *Jurnal Aquatic Sciences*, 26.
- Haetami, Abun, & Mulyani. (2008). Studi pembuatan probiotik (*Bacillus licheniformis*, *Aspergillus niger*, dan *Sacharomices cereviceae*) sebagai feed suplement serta implikasinya

- terhadap pertumbuhan ikan nila merah .*Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran*, 46.
- Hairuddin, R. (2013). Isolasi DNA dan amplifikasi, (PCR) genom DNA kopi (*Coffea Sp* ) melalui proses elektroforesis gel poliakrilamid. *Jurnal Dinamika Vol.04 Nomor 01*, 47.
- Hamka, M. S., Meryandini, A., Widanarni, Wahidin, L. O., & Kurniaji, A. (2021). Peran probiotik *Bacillus megaterium* PTB 1.4 dan *Pediococcus pentosaceus* E2211 dalam meningkatkan pertumbuhan dan konsumsi pakan ikan lele (*Clarias sp.*). *Jurnal Perikanan Darat dan Pesisir (JPDP)Vol. 1 No. 2*, 47.
- Hamonangan Simanjuntak, I. C., & 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 Volume 5, Nomor 2*, 2.
- Harahap, A. S. (2017). Uji kualitas dan kuantitas DNA beberapa populasi pohon kapur sumatera. *Journal of Animal Science and Agronomy Panca Budi*, 2.
- Hariyadi, S., Nurulita, E., & Rais, A. (2018). Perbandingan metode lisis jaringan hewan dalam proses isolasi dna genom pada organ liver tikus putih (*Rattusnorvegicus*). *Jurnal Proceeding Biology Education Conference, Volume 15, Nomor 1*, 689.
- Hermansyah, Sutami, N., & 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 andApplied 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.

- 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.
- Hossam, M. Z., dan Saha, S. (2017). DNA degradation: an impediment to DNA barcoding.
- Hutabarat, M. S., Hamid, F., Mutmainnah, Latief, N., & Massi, M. N. (2020). Application of polymerase chain reaction (PCR) technique to detect *Streptococcus pneumoniae* using autolysin gene (lyta) as a virulence factor in clinical specimens sputum. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia Vol 9 No2*, 92.
- Ibrahim, M., Al Shabeeb, S. S., Nouredin, & Ramadhan, G. A. (2016). Occurrence of potentially pathogenic vibrio and related species in seafoods obtained from the eastern province of Saudi Arabia. *Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 71.
- Indrato, A. F., Sulistyarsi, A., & Ardhi, M. W. (2017). Isolasi bakteri probiotik dari *gastrointestinal tract* ikan lele untuk fermentasi yoghurt sebagai bahan modul berbasis riset dan keterampilan proses sains. *Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS II, Madiun*, 320-321.
- Iqbal, M., Buwono, I. D., & Kurniawati, N. (2016). Analisis perbandingan metode isolasi DNA untuk deteksi *white spot syndrome virus* (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan Vol. VII Nomor 1*, 61.
- Irmawati, Tresnati, J., Nadiarti, Fachruddin, L., Rahmawaty, N., Arma, & Haerul, A. (2017). Identifikasi ikan gabus, *Channa spp.* (Scopoli 1777) stok liar dan generasi I hasil domestikasi berdasarkan gen cytochrome c oxidase subunit I (COI). *Jurnal Ichtilogi Indonesia* 17(2): 165-173, 166.
- Kamaliah. (2018). Modification of DNA extraction methods in pasteurized

- milk. *Journal Bioleuser Vol.2 Nomor 1*, 20.
- Kartini, A. (2012). Karakterisasi molekuler padi transgenik dengan beberapa metode isolasi DNA. *Skripsi*, 31.
- Koduru, S. K. (2019). *The impact of bioinformatics tools in the development of antimicrobial drugs and other agents*. Tirupati: Sri Padmavati Women's University.
- Kurniawati, M. D., Sumaryam, & Hayati, N. (2019). Aplikasi *polymerase chain reaction* (PCR) konvensional dan real time-PCR untuk deteksi virus VNN (*Viral Nervous Necrosis*) pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal TECHNO-FISH Vol. 3 No. 1 ISSN : 2581-1592, E-ISSN : 2581-1665*, 20.
- Kusnadi, J. (2020). *Polymerase chain reaction (PCR) teknik dan fungsi*. Malang:UB Press.
- Lestari, N. W., Budiharjo, A., & Pangastuti, A. (2016). Bakteri heterotrof aerobikasal saluran pencernaan ikan sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) dan potensinya sebagai probiotik. *Jurnal Bioteknologi 13 (1): 9-17*, 10.
- Li, R., Liu, J. X., Zhang, H., Piao, Y., Xinyanhu, Zhu, B. W., . . . Dong, L. (2016). Assessment of the microbial diversity during an industrial-scale malting process by a polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Institute of Brewing & Distilling*, 122.
- Listiowati, Ekasanti, Nugrayani, Syakuri, Wisudyanti, Nurhafid, & Evander. (2022). Studi komunitas bakteri hidrolitik saluran pencernaan ikan nilam (*Osteochilus vittatus*) yang dibudidayakan di Kabupaten Banyumas. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*, 7(2), 115-116.
- Listyanto, N., & Andriyanto, S. (2009). Ikan gabus (*Channa striata*) manfaat pengembangan dan alternatif teknik budidayanya. *Jurnal Media Akuakultur Volume 4 Nomor 1*, 18.

- Lorenz, T. (2012). Polymerase chain reaction: basic protocol plus trouble shooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, 1-15.
- Luten, J., Oehlenschläger, J., & Olafsdottir, G. (2017). Eafood research from fish to dish: quality, safety and processing of wild and farmed fish. *Elsevier*.
- Manurung, U. N. (2018). Identifikasi bakteri patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Prosiding Seminar Nasional KSP2K II*, 188.
- Marwayana, O. N. (2015). Ekstraksi asam deoksiribonukleat (DNA) dari sampel jaringan otot. *Jurnal Oseana Volume XL, Nomor 2*, 2.
- Maulidin, R., Muchlisin, Z., & Muhammadar, A. (2016). Pertumbuhan dan pemanfaatan pakan ikan gabus (*Channa striata*) pada konsentrasi enzim papain yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 280-290.
- Mohr, K., Tebbe, C., & Smalla, K. (2007). Identification and characterization of epiphytic bacterial communities on roots of different rice cultivars and their response to the herbicide 2-chloro-4-(ethylamino)-6-(isopropylamino)-s-triazine (atrazine). *Environmental Microbiology*, 2680.
- Mubarok, F. (2021). Spektrofotometer prinsip dan cara kerjanya. *Jurnal ResearchGate*, 2.
- Muliani, Asriyana, & Ramli, M. (2021). Preferensi habitat ikan gabus *Channa striata* (Bloch 1793) di perairan Rawa Aopa, Sulawesi Tenggara. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI) Vol. 26 (4): 546-554*, 546.
- Mulyono. (2006). *Kamus kimia*. Jakarta.
- Muslim. (2017). *Budidaya ikan rawa*. Palembang: Unsri Press.
- Mustami, M. K. (2013). Genetika. In L. K. Pongsibanne. Makasar:

Universitas Islam Negeri Alauddin.

- Nelson, J. S., Grande, T. C., dan Wilson, M. V. (2016). *Fishes of the World*. Wiley.
- Noer, S. (2021). Identifikasi bakteri secara molekular menggunakan 16s rRNA . *Jurnal Edu Biologia, Biological Science and Education Journal*, 1.
- Novitarizky, I. A., Manoppo, H., & Longdong, S. (2018). Isolasi bakteri probiotik *Lactobacillus* Sp. dari *gastrointestinal tract* ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Budidaya Perairan Vol. 6 No.2*, 18-21.
- Nur, I. (2019). *Penyakit ikan*. Yogyakarta: CV BUDI UTAMA.
- Osman, M. A., Neoh, H. M., Mutalib, N. S., Chin, S. F., & Jamal, R. (2018). 16s rRNA gene sequencing for deciphering the colorectal cancer gut microbiome: current protocols and workflows. *Jurnal Frontiers in Microbiology*, 2.
- Pariyanto, Hidayat, T., & Sulaiman, E. (2021). Studi populasi ikan gabus (*Channa striata*) di sungai Air Manna Desa Lembak Kemang Kabupaten Bengkulu Selatan. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains e-ISSN 2775-9253 Volume 1 Nomor 2*, 57.
- Pratama, D., Yanda, R., & Fajar, M. (2022). Analisa status mutu air dan daya tampung beban pencemaran di sungai Way Jelai Provinsi Lampung. *Journal of Water Resources Engineering*, 132.
- Qiagen. (2020). *DNeasy® Blood & Tissue Handbook*. Hilden, Jerman.
- Robin, J., Ludlow, A., LaRanger, R., Wright, W., & Shay, J. (2016). Comparison of DNA quantification methods for next generation sequencing. *Journal Scientific Reports*, 1.
- Romualdo, A., Wuryanti, & Suprihati. (2010). Uji aktivitas isolat l-asparaginase dari rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) terhadap sel hela. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 41-45.
- Rychlik, I., Gregorova, D., & Hradecka, H. (2006). Distribution and

- function of plasmids in *Salmonella enterica*. *Journal Veterinary Microbiology*, 1-10.
- Sambrook, J., and Russel. 2001. *Molecular Cloning-A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sasmito, D. E., Kurniawan, R., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik primer pada *polymerase chain reaction* (PCR) untuk sekuensing DNA: mini review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) V*, 94.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors –occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 1.
- Setiadi, & Widjdy, E. F. (2019). Teknik isolasi dan identifikasi bakteri pada ikan gabus (*Channa striata*). *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 74.
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi konsentrasi primer dan suhu annealing dalam mendeteksi gen leptin pada sapi peranakan ongole (PO) menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) . *INDONESIAN JOURNAL OF LABORATORY Vol 4 (1) 2021*, 36-40, 36.
- Shalaby, A. (2013). Influence of dietary supplementation with probiotics on the survival, growth, and digestive enzyme activities of nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal Fish Physiology and Biochemistry*, 1435-1446.
- Siswoyo, A. B. (2019). Laporan praktikum ekstraksi DNA. *Jurnal Ekstraksi DNA*, 2.
- Sitohang, S., Suryanto, D., & Soemaryono, Y. (2018). Identifikasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*). 8.
- Sofian, Anwar, S., & Saputra, M. (2019). Kinerja pertumbuhan ikan gabus (*Channa striata*) dengan suplementasi astaxanthin pada level berbeda. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesi*, 78.

- Sugiani, D., Purwaningsih, U., Andrianto, S., & Lusiastuti, A. M. (2018). Bakteri pada ikan gabus *Channa striata*, semah *Tor spp.*, dan baung *Hemibagrus sp.* identifikasi, virulensi, dan kerentanan terhadap beberapa antibiotik. *Jurnal Riset Akuakultur*, 351.
- Tortota, G. J., Derrickson, B. H. (2017). Principles of Anatomy and Physiology. Wiley
- Trisna, D. E., Sasanti, A. D., & Muslim. (2013). Populasi bakteri, kualitas air media pemeliharaan dan histologi benih ikan gabus (*Channa striata*) yang diberi pakan berprobiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, ISSN : 2303-2960, 95.
- Urbasa, P., Undap, S., & Rompas, R. (2015). Water quality impact on fish cultured in stick net cage in Toulimembet Village Lake Tondano. *Jurnal Budidaya Perairan*, 63-64.
- Yuenleni. (2019). Langkah-langkah optimasi PCR. *Indonesian Journal Of Laboratory*, 52.
- Zhu, W., Liang, X., & Wang, G. (2019). Acute pH stress affects intestinal microbiota diversity and expression of stress-response genes in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Journal Aquaculture*, 9-16.