Bacillus sp. SEBAGAI AGENSIA PENGURAI DALAM PEMELIHARAAN Brachionus rotundiformis YANG MENGGUNAKAN IKAN MENTAH SEBAGAI SUMBER NUTRISI

by Elvy Like Ginting 7

Submission date: 01-Mar-2021 03:37PM (UTC-0800)
Submission ID: 1521735501
File name: diformis_YANG_MENGGUNAKAN_IKAN_MENTAH_SEBAGAI_SUMBER_NUTRISI.pdf (703.54K)
Word count: 5367
Character count: 32914

Jurnal Ilmiah Platax Vol. 7:(1), Januari 2019 ISSN: 2302-3589

Bacillus sp. SEBAGAI AGENSIA PENGURAI DALAM PEMELIHARAAN *Brachionus rotundiformis* YANG MENGGUNAKAN IKAN MENTAH SEBAGAI SUMBER NUTRISI

(*Bacillus* sp. As a Decomposition Agent in The Maintenance of *Brachionus rotundiformis* Which Uses Raw Fish As a Source of Nutrition)

Hatopan G. Napitupulu [1]*, Inneke F. M. Rumengan[1]*, Stenlly Wullur[1]*, Elvy L. Ginting[1], Joice R. T. S. L. Rimper[1], Boyke H. Toloh[2]

[1] Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado 95115.

haganana45@gmail.com

* Author Correspondent: e-mail : innekerumengan@unsrat.ac.id ; stenlywullur@unsrat.ac.id

[2] Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado 95115.

ABSTRACT

The research was conducted at the Laboratory of Marine Molecular Biology and Pharmacy, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Sam Ratulangi University. This research aims to isolate and analyze the morphology and molecular types of bacteria associated in rotifer's culture media that use fisheries waste.
The research was begin by culturing bacteria in rotifer maintenance media using Nutrient Broth media. After bacterial isolates were obtained, morphological characterization and DNA extraction was carried out. extraction was done using DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen). After DNA was obtained, DNA was amplified through the Polymerase Reaction Chain (PCR) machine using a 16S RNA primer, followed by the separation of PCR products through electrophoresis and detection through UV Transluminator. The target PCR product was determined by comparing the 100 bp ladder DNA, with a yield of around 1400 bp, which was measured using ladder DNA available in the laboratory. The DNA that was successfully amplified was sent to be sequenced to determine the species of each microbe obtained.
Based on the results of the research conducted, obtained *Bacillus* sp. bacteria associated with rotifer maintenance media.

Keywords: Bacteria, Culture Media, DNA Extraction, PCR, Sequencing

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menganalisis morfologi dan molekuler jenis-jenis bakteri yang berasosiasi dalam media pemeliharaan rotifer yang menggunakan limbah perikanan.
Penelitian dilakukan dengan cara mengkultur bakteri yang ada pada media pemeliharaan rotifer menggunakan media *Nutrient Broth*. Setelah isolat bakteri didapatkan, dilakukan karakterisasi morfologi dan dilakukan ekstraksi DNA. ekstraksi dilakukan menggunakan *DNeasy Blood and Tissue Kit* (*Qiagen*). Setelah DNA didapatkan, DNA diamplifikasi melalui mesin *Polymerase Reaction Chain* (PCR) menggunakan primer 16S RNA, diikuti dengan pemisahan produk PCR melalui electrophorisis dan deteksi melalui UV Transluminator. Produk PCR target

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

ditentukan dengan membandingkan *ladder DNA* 100 bp, dengan hasil sekitar 1400 bp, yang diukur menggunakan *ladder DNA* yang tersedia di laboratorium. DNA yang berhasil diamplifikasi, dikirim untuk dilakukan sekuensing untuk mengetahui spesies dari setiap mikroba yang didapatkan. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diperoleh bakteri *Bacillus* sp. yang berasosiasi pada media pemeliharaan rotifer.

Kata Kunci: Bakteri, Media Pemeliharaan, Ekstraksi DNA, PCR, Sekuensing

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang sangat tinggi dengan sumberdaya hayati dan non-hayati yang sangat beragam. Kekayaan alam tersebut, sangat berlimpah baik di darat maupun di perairan laut. Pada wilayah laut, kekayaan alam berupa organisme-organisme laut sangat berpotensi untuk diteliti dan dimanfaatkan. Salah satu organisme yang sangat berpotensi untuk diteliti adalah rotifer.

Berdasarkan berbagai laporan, dikatakan bahwa rotifer mampu hidup pada kondisi perairan yang kotor. Hal tersebut didukung dengan pernyataan dari Redjeki (1999) yang mengatakan bahwa rotifer akan melimpah pada kondisi perairan yang mengandung banyak detritus dan nanoplankton. Hal tersebut juga didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Sumarno dan Subari (2013) yang memanfaatkan rotifer sebagai salah satu mikroorganisme yang mampu mengurai bahan organik pada tangki pengurai. Dikatakan bahwa pada proses penjernihan air limbah secara bioteknologi, rotifer akan timbul ketika air limbah sudah mengandung banyak oksigen (Sugiharto, 1987 *dalam* Sumarno dan Subari, 2013).

Selain berfungsi sebagai bioremediator, karakteristik yang unik juga dimiliki oleh rotifer, dimana rotifer mampu menghasilkan telur dorman. Telur dorman merupakan telur yang berada pada fase tidak aktif dikarenakan mengalami metabolisme basal. Sehingga, telur dorman tersebut mampu untuk bertahan tanpa adanya air dalam waktu yang lama (Rumengan *et al.,* 2017). Selain karakteristiknya, rotifer juga memiliki peran penting sebagai konsumen primer dalam rantai makanan. Sebagai penyedia nutrient bagi larva biota laut, rotifera mengandung banyak asam amino, lemak tak jenuh tingkat tinggi, mineral, vitamin, dan antibiotik tanpa menyebabkan efek samping bagi larva (Rumengan, 1997 *dalam* Fembri *et al.,* 2017). Selain itu, rotifer juga mengandung senyawa kitin dan kitosan. Dari bimoassa seberat 5 – 48 gram, rendemen kitin dapat diekstrak sekitar 4,6% dan kitosan didapatkan dengan melakukan deasetilasi kitin sebesar 52,7% (Rumengan *et al.,* 2014 *dalam* Rumengan 2017).

Karena tingginya potensi yang dimiliki oleh rotifer baik dalam segi sediaan bahan obat maupun dalam pemanfaatannya di bidang budidaya laut, sejumlah penelitian telah dilakukan dalam upaya untuk mengkultur massal rotifer dengan cara yang sederhana. Dalam hal ini, rotifer yang diteliti adalah spesies *B. rotundiformis*. Penelitian terhadap *B. rotundiformis* telah dilakukan sejak tahun 1995 dan pengembangan metode kultur rotifer tersebut telah dikembangkan dengan cara pemberian ikan mentah pada media kultur rotifer tersebut (Rumengan *et al.,* 2017). Adapun dengan adanya ikan mentah yang dimasukkan ke dalam media kultur rotifer, pasti akan terjadi proses penguraian bangkai ikan tersebut menjadi bahan-bahan organik yang dilakukan oleh bakteri.

Salah satu bakteri yang berperan dalam penguraian unsur organik adalah *Bacillus* sp. Bakteri ini tergolong dalam bakteri probiotik yang dapat ditemukan pada perairan tawar dan laut serta

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

terdapat di dalam sistem pencernaan hewan (Hong *et al.,* 2005). Beberapa laporan mengatakan bahwa bakteri *Bacillus* sp. dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi dalam pemeliharaan rotifer. Menurut Murillo dan Vilamil (2011), penambahan bakteri *Bacillus* ke dalam media pemeliharaan rotifer dapat meningkatkan jumlah rotifer. Hal tersebut dapat dikaitkan dengan kemampuan *Bacillus* sp. untuk menghasilkan bakteriosin sehingga pertumbuhan bakteri patogen terhambat. Selain itu, *Bacillus* sp. juga mengandung enzim dan nutrisi yang dapat meningkatkan pencernaan rotifer. Sejauh ini, kajian tentang jenis-jenis bakteri yang terlibat dalam proses penguraian limbah perikanan tersebut sehingga menjadi sumber nutrisi rotifer, belum banyak diketahui. Padahal, kajian dan data menyangkut keberadaan mikroba ini menjadi acuan penting dalam memahami proses pasokan nutrisi dalam system rantai makanan dalam pemeliharaan rotifer sebagai sumber nutrisi dalam industri pembenihan ikan laut.

METODE PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan sejak bulan Mei 2018 sampai Oktober 2018. Adapun penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasitika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado. Sampel rotifer *Brachionus rotundiformis* yang digunakan diambil dari Balai Perikanan Budidaya Laut di Ambon, Maluku. Sampel tersebut memiliki kepadatan awal 100 individu/ml.

Pembuatan Media Kultur Rotifer

Media pemeliharaan rotifer dalam penelitian ini dibuat berdasarkan pada metode yang sudah dikembangkan oleh Rumengan *et al.,* (2017) dengan nomor paten P00201609066 dan Wullur *et al.,* (2018) dengan nomor paten P14201802692. Media merupakan air laut artificial dengan salinitas 25 ppt yang diberikan ikan mentah dengan komposisi 2 gr/ 10 liter. Air laut tersebut dibuat dengan melarutkan garam sebanyak 875 gram dalam 35 liter air sumur. Larutan kemudian diaduk menggunakan pengaduk hingga garam terlarut secara sempurna di dalam air. Ukuran pembuatan air garam dengan salinitas 25 ppt menggunakan rumus:

$$\frac{N1}{V1} = \frac{N2}{V2}$$

Keterangan:
N1: Jumlah garam dalam salinitas 25 ppt
N2: Jumlah garam yang diperlukan untuk membuat media bersalinitas 25 ppt
V1: Volume air dalam salinitas 25 ppt
V2: Volume air yang diperlukan untuk membuat media bersalinitas 25 ppt
Dari rumus tersebut, didapatkan persamaan sebagai berikut:

1. $\frac{25\,gr}{1\,l} = \frac{x}{35\,l}$
2. $1x = 25\,gr\ x\ 35\,l$
3. $x = 875\,gr$

Setelah air garam dilarutkan, diberikan ikan mentah sebagai penyediaan sumber nutrisi bagi rotifer. Metode yang diterapkan menggunakan acuan dari metode pembuatan media rotifer sederhana yang sudah dipatenkan oleh Rumengan *et al.,* (2017) dengan nomor paten P00201609066 dan Wullur *et al.,* (2018) dengan nomor paten P14201802692. Pada metode yang telah dipatenkan tersebut, perbandingan ikan mentah dengan volume media pemeliharaan rotifer sebesar 250 – 300 gram ikan mentah : 1000 liter media pemeliharaan rotifer.

Pertama-tama disiapkan ikan mentah dari jenis *Euthynnus affinis* satu ekor. Kemudian ikan digiling menggunakan alat penggiling. Ikan yang sudah digiling kemudian ditimbang

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

sebanyak 2 gram untuk media kultur rotifer. Ikan yang sudah ditimbang diletakkan ke dalam potongan kain kecil yang berisi batu kecil di dalamnya kemudian diikat menggunakan benang woll. Penambahan batu berfungsi sebagai pemberat pakan agar tenggelam ke dasar media.

Kultur Rotifer

Sebelum dilakukan pengkulturan rotifer menggunakan media yang diberikan ikan mentah, dilakukan penghitungan kepadatan rotifer kembali. Hal ini bertujuan untuk memeriksa apakah rotifer masih bertahan hidup pada media yang sebelumnya atau tidak. Dari hasil penghitungan kepadatan rotifer, diketahui bahwa kepadatan rotifer masih berjumlah 100 individu/ml. hal tersebut menunjukkan bahwa rotifer masih bertahan hidup dan bisa dilakukan pengkulturan.

Pada tahap pengkulturan, ikan seberat 2 gr yang sudah dibungkus dengan potongan kain berpori dimasukkan ke dalam 10 liter media pemeliharaan rotifer. Setelah pakan dimasukkan, dituangkan media awal rotifer sebanyak 7,5 liter ke dalam ember berukuran 70 liter. Rotifer yang dikultur diberikan aerasi selama 24 jam. Kemudian, dilakukan sampling media kultur rotifer sebanyak 1 ml untuk diilakukan isloasi bakteri pada media tersebut.

Pembuatan Media Kultur Bakteri

Setelah rotifer berhasil dikultur pada media yang diberikan ikan mentah, tahap selanjutnya adalah pengkulturan bakteri yang berasosiasi pada media kultur rotifer tersebut. Sebelum dilakukan kultur bakteri, disiapkan terlebih dahulu media bakteri tersebut. Adapun media kultur bakteri terdiri dari dua jenis, yaitu media *nutrient agar* dan media *nutrient broth*.

Media *Nutrient Agar* (NA)

Media *nutrient agar* dibuat dengan tujuan sebagai media kultur isolat bakteri. Sebelum membuat media *nutrient agar*, dilakukan sterilisasi *petry disk* di dalam *autoclave* selama ± 1 jam dengan suhu 121°C. Setelah itu, bahan media agar dibuat dengan mencampurkan 2 gram *nutrient broth* (1%), dan 4 gram agar (2%) ke dalam 200 ml air garam dan diaduk menggunakan *magnetic steerer*. Setelah bahan teraduk secara sempurna, erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan alumunium foil dan disterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121ºC selama ± 1 jam. Media yang sudah steril kemudian dituang secara aseptik ke dalam *petry disk* steril hingga permukaan *petry disk* tertutup dengan media agar. Selanjutnya, media agar didiamkan hingga mengeras dan ditutup menggunakan *Cling Wrap* agar tidak terkontaminasi. Media agar digunakan sebagai media tumbuh dan isolasi bakteri.

Media Cair *Nutrient Broth* (NB)

Media cair dibuat dengan tujuan sebagai media kultur bakteri sebelum bakteri diisolasi DNAnya. Pertama, *Nutrient Broth* sebanyak 0,5 gram (1%) dilarutkan di dalam 50 ml air garam. Larutan kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 9 ml dan ditutup dengan kapas dan aluminum foil agar tidak terkontaminasi. Media cair kemudian disterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121ºC selama ± 1 jam. Setelah steril, media *nutrient broth* didinginkan pada Laminar Air Flow kemudian disimpan di dalam kulkas. *Nutrient broth* yang sudah dibuat akan dipakai pada tahap sebelum isolasi DNA bakteri.

Isolasi Bakteri Dari Media Kultur Rotifer

Setelah media agar sudah siap di *petry disk,* selanjutnya dilakukan pengkulturan bakteri dari media pemeliharaan rotifer. Pengkulturan bakteri dilakukan pada media *nutrient agar*. Pengkulturan dilakukan dengan

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

tujuan untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri yang terdapat pada media pemeliharaan rotifer. Sebelum sampel dikultur pada media agar, pertama-tama dilakukan pengenceran sampel pada air garam steril. Tujuan dari pengenceran tersebut adalah untuk mendapatkan isolat bakteri murni yang terdapat pada media pemeliharaan rotifer.

Sebanyak 1 ml sampel diambil dari media kultur rotifer kemudian dicampurkan ke dalam 9 ml air garam steril yang ada pada tabung reaksi kemudian dilanjutkan ke tabung kedua hingga tabung ketiga kemudian diberikan label pada setiap tabung untuk menunjukkan pengenceran pertama hingga ketiga. Selanjutnya, campuran pada tabung reaksi ketiga dipindahkan sebanyak 100 µl ke dalam media *nutrient agar*. Semua tahapan dilakukan secara aseptik. Sampel yang ada pada *nutrient agar* akan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37ºC. Bakteri yang berhasil dikultur akan diidentifikasi secara morfologi dengan melihat bentuk koloninya. Isolat-isolat bakteri yang didapat dikarakterisasi morfologinya berdasarkan acuan Leboffe (2012) kemudian diekstrak untuk mendapatkan DNA bakteri target.

Karakterisasi Morfologi Bakteri

Setelah isolat - isolat bakteri didapatkan, tahap selanjutnya dilakukan karakterisasi morfologi bakteri yang bertujuan untuk melihat ciri-ciri dari bakteri secara fisik. Hasil karakterisasi morfologi bakteri digambarkan dalam bentuk tabel berdasarkan ukuran, warna, *margin*, *elevation,* dan bentuk koloni. Morfologi bakteri tersebut ditentukan berdasarkan bentuk koloni bakteri dari Leboffe (2012).

Pada tahap pertama dalam karakterisasi morfologi bakteri, *Petry disk* yang berisi media padat dan isolat bakteri di dalamnya diletakkan di atas kain berwarna hitam. Kain hitam tersebut berfungsi untuk memperjelas penampakan dari isolat bakteri ketika difoto. Setelah diletakkan di atas kain hitam, isolat bakteri yang didapatkan diamati dan dibedakan berdasarkan perbedaan ukuran, warna, bentuk tepi, pertumbuhan koloni, dan bentuk koloni secara keseluruhan menggunakan patokan karakteristik bakteri dari Leboffe (2012).

Isolat-isolat bakteri yang telah dikarakterisasi selanjutnya dikultur kembali pada media *nutrient broth* dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, DNA dari isolat-isolat tersebut diisolasi agar dapat dianalisa secara molekuler.

Isolasi DNA Bakteri

Sebelum DNA bakteri diisolasi, dilakukan penyegaran bakteri pada media *nutrient broth* selama 24-48 jam. Sampel bakteri yang berhasil bertumbuh pada media *nutrient broth* dipindahkan ke dalam 4 tube *eppendorf* sebanyak 1,5 µl setiap tubenya. Setelah itu, semua tube disentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan hasil sentrifuge dibuang dan pellet yang ada di 4 tube disatukan ke dalam tube *eppendorf* baru. Setelah disatukan, sampel disentrifuge kembali agar supernatan dan pellet terpisah lebih sempurna. Setelah itu supernatan dibuang kembali.

Setelah preparasi, dilakukan isolasi DNA bakteri menggunakan metode yang sudah dikembangkan oleh perusahaan Qiagen Inc. Pertama-tama, Ditambahkan 180 µl *buffer* ATL dan 20 µl proteinase K ke dalam sampel kemudian divortex. Kemudian, sampel diinkubasi selama 1 jam dan dilakukan vortex setiap 15 menit sekali. Setelah 1 jam, sampel ditambahkan dengan 200 µl *buffer* AL, kemudian di vortex. Setelah itu, sampel diinkubasi selama 10 menit dengan suhu 70ºC lalu ditambahkan 200 µl etanol 100%.

Sampel kemudian dipindahkan pada *spin filter* yang berada di atas 2 ml *collection tube*. Setelah dipindahkan, dilakukan sentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit. Cairan akan terpindah ke *collection tube*

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

kemudian dibuang. Setelah cairan dibuang, ditambahkan 500 µl *buffer* AW1 kemudian disentrifuge kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit dan cairan yang terpindah ke *collection tube* dibuang kembali. Selanjutnya, ditambahkan kembali 500 µl *buffer* AW2 dan disentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 3 menityang dilanjutkan dengan membuang kembali cairan yang terkumpul di *collection tube*.

Selanjutnya, *spin filter* dipindahkan ke atas *collection tube* baru dan ditambahkan sebanyak 200 µl *buffer* AE, dilanjutkan dengan menginkubasi selama 1 menit pada suhu ruangan. Setelah diinkubasi, lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit. DNA template yang sudah dikoleksi pada *collection tube* selanjutnya diamplifikasi menggunakan PCR. Apabila DNA belum diamplifikasi, DNA template disimpan di kulkas.

Amplifikasi DNA Bakteri

Amplifikasi DNA bakteri dilakukan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Amplifikasi dilakukan dengan tujuan untuk memperbanyak DNA dari bakteri. Sebelum dilakukan amplifikasi, dibuat campuran 5 µl 5x Hotfirepool, 17 µl ddH2O, 1 µl Primer 8F 10x, 1 µl Primer 1492R 10x, dan 1 µl sampel. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam *tube eppendorf* khusus untuk PCR dengan total campuran 25 µl. Setelah campuran dibuat, sampel dirunning di PCR dengan siklus: (1) 95ºC selama 6 menit; (2) 95ºC selama 30 detik; (3) 52ºC selama 30 detik; (4) 72ºC selama 30 detik; (5) 72ºC selama 10 menit. Siklus PCR tersebut dilakukan sebanyak 35 siklus.

Proses amplifikasi dilakukan terhadap gen 16S rRNA. Gen tersebut merupakan gen yang banyak digunakan dalam identifikasi filogeni, keragaman antar spesies bakteri serta menunjukkan hubungan evolusi antar organisme melalui pendekatan molekuler (Cai H *et al.,* 2003 *dalam* Rinanda, 2011). Sebagian besar organisme prokariotik memiliki 3 jenis rRNA, yaitu 5s, 16s dan 23s. Akan tetapi, gen 16s rRNA yang paling ideal untuk digunakan dalam sekuens karena memiliki sekitar 1550 pasang basa. Pada 500 pasang basa paling ujung sekuens, terdapat daerah *hypervariable region* yang membedakan antar organisme. Dengan demikian, organisme yang disekuens akan memiliki suatu ciri khas yang berbeda dengan organisme lainnya (Rinanda, 2011).

Tabel 1. Urutan Basa Sekuens Primer 8F dan 1492R gen 16sRNA

Nama Primer	Sequence (5' – 3')
8F	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG
1492R	GGT TAC CTT GTT ACG ACT T

Sumber: Eden et al., 1991 dan James 2018

Elektroforesis Gel

Elektroforesis dilakukan untuk memisahkan DNA yang sudah diamplifikasi menggunakan PCR. Sebelum dilakukan *running* elektroforesis gel, dilakukan pembuatan agarose dengan melarutkan 0,5 gram agarose dan 5 ml TBE ke dalam 45 ml ddH2O. Kemudian larutan dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih, larutan didiamkan selama 10 menit dan ditambahkan 1 µl *Green I Nucleic Acid Gel Strain 10.000x Concentrate in DMSO*. Setelah itu, agarose dituang ke dalam cetakan dan dibiarkan membeku selama 30 menit.

Setelah agar membeku, selanjutnya dituang TBE *buffer* sebanyak 500 ml ke dalam wadah elektroforesis. Agarose yang sudah membeku diletakkan de dalam wadah tersebut hingga terendam secara menyeluruh.

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

Sampel sebanyak 4 µl diambil menggunakan *micropipette* dan kemudian dicampurkan dengan 1 µl *Loading Dye*. Didapatkan campuran sampel sebanyak 5 µl dan kemudian dimasukkan ke dalam sumur yang ada di agarose gel. Setelah sampel dimasukkan, *Ladder* sebanyak 2 µl dimasukkan ke dalam sumur agarose yang ada di paling pertama menggunakan *micropipette*.

Setelah sampel dan *Ladder* dimasukkan, wadah elektroforesis ditutup dan *dirunning* selama 30 menit dengan tegangan 80V. Hasil amplifikasi DNA bakteri yang didokumentasikan pada gel agarose diuraikan berdasarkan ada atau tidaknya pita DNA (*band*) menggunakan UV Transluminator.

Analisis Hasil Sekuens

Analisis hasil sekuens dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi spesies bakteri yang berhasil diamplifikasi DNAnya. Analisis tersebut dilakukan dengan mengkonstruksi pasangan basa DNA yang sudah diubah ke dalam bentuk file software dan dapat digunakan pada aplikasi MEGA X.

Pertama, file DNA dari bakteri (forward dan reverse) dalam bentuk AB1 file diinput ke dalam aplikasi MEGA X. setelah itu, urutan basa DNA beserta dengan panjang gelombangnya akan muncul di tampilan layar monitor komputer. Pada urutan basa reverse, dilakukan *reverse complement sequence* agar urutan basa DNA *forward* dan *reverse* menjadi sama. Setelah itu, dilakukan *alignment* pada urutan basa DNA *forward* dan *reverse* dengan cara mengklik pilihan *Add Unmasked Sequence To Alignment Explorer* kemudian klik pilihan *muscle*. Aplikasi akan mencocokkan urutan-urutan basa DNA hingga cocok satu sama lain.

Tahap selanjutnya adalah memeriksa dan mencocokkan basa yang ada pada urutan *forward* dan *reverse*. Apabila terdapat perbedaan basa, basa akan ditentukan dengan cara membandingkan tinggi gelombang basa yang mengalami perbedaan tersebut. Setelah DNA selesai dikonstruksi, data disimpan dalam bentuk FASTA file dan akan diproses pada https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ untuk diidentifikasi keragaman spesies bakterinya.

DNA yang sudah disimpan dalam bentuk FASTA, kemudian dibuka menggunakan aplikasi *notepad*. Pada *notepad* akan muncul hasil urutan DNA yang sudah dikonstruksi sebelumnya. Data tersebut dicopy, kemudian di *BLAST* pada website https://www.ncbi.nlm.nih.gov/. Data yang sudah terbaca akan menampilkan keragaman spesies bakteri yang memiliki kecocokan dengan DNA yang sudah diolah. Hasil *sequencing* DNA bakteri digambarkan dalam bentuk tabel berdasarkan spesies dan urutan basa DNA bakteri tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Morfologi Bakteri

Setelah dilakukan isolasi bakteri dari media kultur rotifer. Dilakukan identifikasi morfologinya berdasarkan warna, ukuran, *elevation*, *margin*, dan bentuk koloninya menggunakan acuan pada Leboffe (2012). Adapun hasil dari identifikasi tersebut didapatkan bakteri *Bacillus* sp. yang dapat dilihat ciri-cirinya pada Tabel.2 dan Gambar.1 di bawah.

Berdasarkan uraian pada Tabel.2 dapat dilihat bahwa isolat bakteri F0-0-3-1 yang berukuran sedang dan isolat bakteri F0-0-3-3 berukuran kecil. Selain itu, bakteri *Bacillus* sp. pada bakteri F0-0-3-1 memiliki warna putih susu sedangkan bakteri F0-0-3-3 memiliki warna putih kekuningan. Bentuk elevasi dari sampel F0-0-3-1 berbentuk *umbonate*, sedangkan sampel F0-0-3-3 berbentuk *raised margin*. Adapun bentuk *margin* dari sampel F0-0-3-3berbentuk *smooth*, dan sampel bakteri F0-0-3-1 berbentuk *erose*. Sedangkan bentuk koloni secara keseluruhan (*whole colony*) dari semua isolat bakteri dapat dilihat berbentuk *round*.

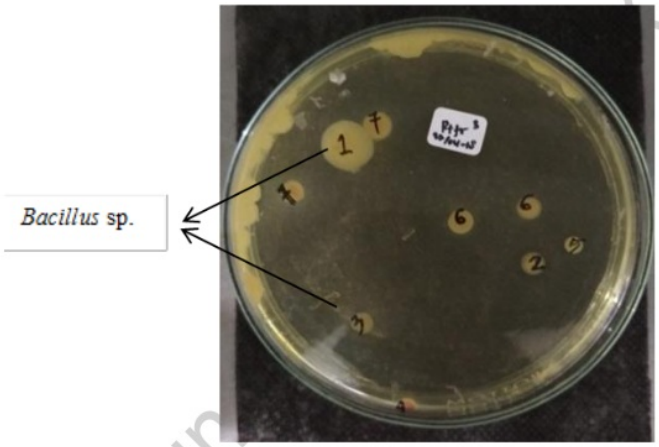
ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

Pada umumnya, bentuk koloni bakteri berbentuk *round, irregular, filamenthous,* dan *rhizoid*. Elevasi berbentuk *raised, covex, flat, umbonate, plateau, spreading edge, raised margin,* dan *growth into medium.* Sedangkan tepian memiliki bentuk *smooth, rhizoid, irregular, lobate,* dan *filamenthous* (Leboffe, 2012).

Menurut Fitri dan Yasmin (2011), isolat bakteri yang berasal dari kawasan laut rata-rata memiliki bentuk koloni bulat. Kisaran ukuran koloni berkisar dari 1 mm – 3,5 mm. seluruh isolat berwarna putih susu dan selnya berbentuk basil. Lay (1994) dalam Fitri dan Yasmin (2011) menambahkan, dengan adanya data ciri-ciri morfologi koloni bakteri dapat dilakukan proses identifikasi jenis-jenis mikroorganisme yang lebih lanjut baik dengan menggunakan uji biokimia atau menggunakan analisis molekuler.

Tabel 2. Morfologi Bakteri Berdasarkan Warna, Ukuran, *Elevation*, *Margin*, dan Bentuk Koloni

Kode Bakteri	Ukuran	Warna	Elevation	Margin	Whole Colony
F0-0-3-1	Sedang	Putih Susu	Umbonate	Erose	Round
F0-0-3-3	Kecil	Putih Kekuningan	Raised Margin	Smooth	Round



Gambar 1. Penampakan Bakteri *Bacillus* sp. Pada Media Agar

Hasil Sekuens DNA Bakteri

Setelah karakteristik dari isolat bakteri F0-0-3-1 dan F0-0-3-3 didapatkan, isolat-isolat tersebut diidentifikasi secara molekuler. DNA dari isolat-isolat bakteri tersebut diekstrak menggunakan Qiagen DNA kit, kemudian diamplifikasi menggunakan PCR dan DNA dipisahkan menggunakan Elektroforesis. DNA yang berhasil terdeteksi pada gel elektroforesis selanjutnya akan disekuens untuk melihat klasifikasi sampel bakteri target. Berdasarkan hasil BLAST dari sampel bakteri F0-0-3-1 dan F0-0-3-3 teridentifikasi bakteri dari genus *Bacillus.* Pada Tabel.3 dapat dilihat beberapa laporan dari genbank yang menunjukkan bahwa sampel F0-0-3-1 dan sampel F0-0-3-3 memiliki kemiripan dengan beberapa hasil sekuens yang ada di database genbank.

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

Tabel. 3 Data Kemiripan Hasil Sekuens Sampel F0-0-3-1 dan F0-0-3-3 Pada Database Genbank

Kode Bakteri	*Accession Number*	*Total Score*	*Query Coverage (%)*	*E. Value*	*Identity (%)*	Spesies Bakteri
F0-0-3-1	MG371991.1	1731	100	0,0	98	*B. cereus*
F0-0-3-3	MG020095.1	1609	85	0,0	96	*B. jeotgali*

Elektroforesis Gel

Elektroforesis dilakukan untuk memisahkan DNA yang sudah diamplifikasi menggunakan PCR. Sebelum dilakukan *running* elektroforesis gel, dilakukan pembuatan agarose dengan melarutkan 0,5 gram agarose dan 5 ml TBE ke dalam 45 ml ddH2O.

Adapun klasifikasi dari bakteri *Bacillus* sp. sudah diatur oleh International Committee on Bacteriological Nomenclature pada tahun 1947 dan ditetapkan dalam Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Editions (Hadioetomo, 1985 *dalam* Hatmanti, 2000). Klasifikasi bakteri *Bacillus* ditetapkan sebagai berikut:

Kingdom : Procaryotae
Filum : Bacteria
Kelas : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Famili : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Jenis : *Bacillus* sp.

Berdasarkan data pada Tabel.3 di atas dapat dilihat bahwa *Accession Number* menunjukkan kode data pada genbank yang memiliki kemiripan tertinggi dengan hasil sekuens dari masing-masing sampel bakteri. *Total Score* menunjukkan keselarasan semua segmen dari urutan database yang cocok dengan nukleotida. Semakin tinggi *Total Score* yang didapatkan, maka semakin tinggi juga tingkat kemiripan hasil sekuens dengan data pada genbank. *Query Coverage* menunjukkan presentasi panjang nukleotida yang selaras. *Identity* menunjukkan presentasi kemiripan hasil sekuens dengan data pada genbank (Miller, 1990). *Expect Value* menunjukkan nilai dugaan. Apabila nilai *Expect Value* menunjukkan angka 0,0 menandakan bahwa kedua sekuens identik (Claverie, 2003).

Bakteri genus *Bacillus* memiliki morfologi yaitu: berwarna putih susu, bentuk koloni keseluruhan bulat, memiliki tepian yang keriput. Bentuk sel batang dan lurus dengan ukuran 0,5-2,5 µm x 1,2-10 µm. *Bacillus* sering berpasangan atau membentuk rantai dan memiliki ujung bundar atau persegi empat. Hidup optimal pada suhu 30-37ºC dan tumbuh baik pada NaCl dengan konsentrasi 1-3% (Feliatra *et al.*, 2004). Mampu melakukan mobilitas menggunakan flagel peritrichous. Memiliki endospora berbentuk bundar atau silinder dan hanya ada satu spora pada satu sel. Dapat ditemukan di bermacam-macam habitat karena sangat resisten pada kondisi ekstrim; dan sedikit spesies bersifat patogen pada hewan invertebrata dan vertebrata. Memiliki tingkat kepekaan yang tinggi terhadap panas, pH, dan salinitas. Mampu melakukan kemoorganotrof menggunakan metabolisme fermentasi (Holt *et al.*, 1994 *dalam* Feliatra, 2004). Menurut Chang dan Liu, (2002) *dalam* Feliatra,

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

(2004), dikatakan bahwa *Bacillus toyoi* mampu menekan bakteri patogen pada hewan ternak.

Dari hasil analisis DNA yang diapatkan, *Bacillus* sp. yang berhasil dikultur merupakan bakteri halofilik. Bakteri halofilik merupakan bakteri yang hidup pada lingkungan yang memiliki kadar garam. Bakteri ini tergolong dalam famili *Halobacteriacea.* Bakteri halofilik pada umumnya tahan dalam kondisi lingkungan bersalinitas tinggi sehingga mampu mendegradasi bahan organik. Selain itu, bakteri halofilik memiliki toleransi yang tinggi terhadap pencemar (Nilawati *et al.,* 2015).

Dalam pemeliharaan rotifer, salah satu bakteri yang memiliki manfaat penting bagi pertumbuhan rotifer adalah *Bacillus* sp. Hal tersebut dikarenakan *Bacillus* sp. mampu menghasilkan senyawa antimikroba alami yang mampu mengurangi jumlah bakteri patogen seperti *Vibrio* sp. (Gatesoupe, 1999 *dalam* Zink, 2011). Selain itu, *Bacillus* sp. juga dapat bermanfaat bagi pertumbuhan populasi rotifer karena memproduksi vitamin B12 dan mengurangi konsentrasi amonia (Chen dan Chen, 2001 *dalam* Zink, 2011).

Sahandi *et al.,* 2012 mengatakan bahwa dengan menambahkan bakteri *Bacillus* sp. ke dalam biokapsul rotifer mampu meningkatkan mortalitas larva ikan *Hypophthalmichthys molitrix* sekalipun hasilnya tidak seefisien dengan penambahan langsung bakteri *Bacillus* sp. ke dalam air pemeliharaan. Rotifer yang ditambahkan dengan bakteri *Bacillus* sp. juga dikatakan dapat membantu sistem pencernaan dari *H. molitrix* karena mengandung enzim pencernaan dan nutrisi penting tertentu sehingga dapat mendorong pertumbuhan larva yang lebih baik (Rosovitz *et al.,* 1998; Farzanfar, 2006 *dalam* Sahandi, 2012).

Contohnya *B. cereus* dan *B. subtilis* yang mampu melakukan aktivitas enzimatik yang penting dari esterase lipase (C8), leucine arylamidase, dan asam fosfat yang memiliki efek positif dalam pencernaan lipid. Selain itu, produksi β 1,3 glukanase dari bakteri *B. clausii* juga memberikan potensi untuk menghidrolisis β 1-3 glukan. Produksi enzim-enzim tersebut dapat meningkatkan efisiensi penyerapan nutrisi yang sangat bermanfaat bagi rotifer (Murillo dan Villamil, 2011).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil isolasi bakteri dari media kultur bakteri, diperoleh isolat bakteri F0-0-3-1 dan F0-0-3-3 yang memiliki ciri-ciri berbeda berdasarkan ukuran, warna, *elevation*, *margin*, dan bentuk koloninya.
2. Hasil analisis molekuler dengan primer 16sRNA terhadap sampel bakteri F0-0-3-1 dan F0-0-3-3 yang didapatkan menunjukan bahwa jenis-jenis bakteri ini tergolong dalam genus *Bacillus* sp.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memanfaatkan bakteri *Bacillus* sp. yang ada pada media kultur rotifer yang diberikan ikan mentah.
2. Perlu dilakukan perbanyakan bagi bakteri *Bacillus* sp. yang menguntungkan pada kegiatan budidaya rotifer.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia dan Universitas Sam Ratulangi, Manado yang telah membiayai penelitian ini dalam skema penelitian Kerjasama Luar Negeri (KLN) tahun anggaran 2018; ucapan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Inneke F. M. Rumengan dan Stenly Wullur, S.Pi, M.Sc, Ph.D atas bimbingan dan arahan

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

baik selama penelitian maupun setelah penelitian; juga ucapan terima kasih kepada Lina, Asriel, Herlin, Ade, dan Debhy mahasiswa Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT atas bantuan teknisnya selama penelitian berlangsung di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

Andika, Z.P.; A. Sulistyarsi. (2017). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik Pada Limbah Air Cucian Ayam Potong dan Cucian Ikan Sebagai Penyusun Modul Biologi SMA Kelas X.* Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS II, Madiun, 30 September 2017. ISSN: 9772599121008

Claverie, J. M.; C. Notredame. (2003). *Bioinformatics for Dummies.* Indianapolis (US) : Wiley Publishing.

Feliatra; I. Efendi; E. Sruyadi. (2004). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (Ephinephelus fuscogatus) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan.* Jurnal Natur Indonesia 6(2): 75-80 (2004). ISSN 1410-9379.

Felix, F.; T. T. Nugroho; S. Silalahi; Y. Octavia. (2011). *Screening of Indonesian Original Bacteria Vibrio sp. As a Cause of Shrimp Disease Based on 16S Ribosomal DNA-Technique.* Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis Vol.3, No.2. ISSN: 2087-9423.

Fembri, F. I. K; E. Kaligis; I. F. M. Rumengan. (2017). *Karakteristik Pertumbuhan Populasi Rotifer (Brachionus rotundiformis) Tanpa Pemberian Aerasi dan Mikroalga Sebagai Pakan Pada Media Kadar Garam Berbeda.* Jurnal Pesisir dan Laut Tropis Vol. 1 No.1 tahun 2017.

Fitri, L.; Y. Yasmin. (2011). *Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolik.* Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi Vol. 3, No. 2, Desember 2011, hlm. 20-25

Hatmanti, A. (2000). *Pengenalan Bacillus spp.* Oseana, Vol. XXV, No. 1, 2000 : 31 - 41

Leboffe, M. J dan B. E. Pierce. (2012). *Brief Microbiology. Laboratory Theory & Application 2nd Edition.* Englewood: Morton Publishing.

Miller, G; R. Beckwith; C. Fellbaum; D. Gross; K. Miller. (1990). *WordNet: An On-Line Lexical Database.* International Journal of Lexicography.

Murillo, I. dan L. Villamil. (2011). *Bacillus cereus and Bacillus subtilis Used as Probiotics in Rotifer (Brachionus plicatilis) Cultures.* Journal of Aquaculture Research and Development S1:007. DOI : 10.4172/2155-9546.S1-007.

Nilawati; Marihati; Susdawanita; N. I. Setianingsih. (2015). *Kemampuan Bakteri Halofilik Untuk Pengolahan Limbah Industri Pemindangan Ikan.* Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri Vol. 5, No. 2, November 2014. Hal 23-28

Raharja, E.; S. B. Prayitno; Sarjito. (2016). *Pengaruh Konsentrasi Konsorsium Bakteri K7, K8, dan K9 Terhadap Status Kesehatan Rumput Laut (Eucheuma cottonii).* Journal of Aquaculture Management and Technology Vol. 5, No. 1, Tahun 2016. Hal. 108-115.

Redjeki, S. (1999). *Budidaya Rotifera (Brachionus plicatilis).* Oseana, Volume XXIV, No. 2, 1999 : 27-43.

Rinanda, T. (2011). *Analisis Sekuensing 16s rRNA di Bidang Mikrobiologi.* Jurnal Kedokteran Syiah Kuala Vol. 11 No. 3 Desember 2011.

Rumengan, I. F. M; E. Kaligis; V. Warouw; S. Wullur. (2017). *Karakteristik Morfologi Telur Dorman Rotifer (Brachionus rotundiformis) Hasil Kultur Masal.* Ethos (Jurnal Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat). 240 – 246.

Rumengan, I. F. M; M. Sulung; Z. Lantiunga; J. Kekenusa. (2007).

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

Morfometri Rotifer Brachionus rotundiformis Strain SS Asal Tambak Minanga Dan Tambak Watuliney Sulawesi Utara yang Dikultur Pada Salinitas Berbeda. Jurnal Riset Akuakultur Vo.2 No.2 Tahun 2007.

Rumengan, I. F. M; E. Suryanto; R. Modaso; S. Wullur; T. E. Tallei; D. Limbong. (2013). *Karakteristik Struktur Kitin Dan Kitosan Yang Diisolasi Dari Biomassa Rotifer Brachionus rotundiformis Hasil Kultur.* Seminar Tahun Ke-2 & Workshop Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Serta Kongres Forum Biofarmasi Kelautan Indonesia.

Rumengan, I. F. M; Budiyanto; R. Modaso; D. Dewanto; D. Limbong. (2012). *Mekanisme Sistem Panen Pada Kultur Massal Rotifer, Brachionus rotundiformis.* Jurnal Riset Akuakultur Vol. 7 No. 1 Tahun 2012.

Rumengan, I. F. M; S. Wullur. (2017). *Pemeliharaan Rotifer Berbasis Penguraian Ikan Mentah Sebagai Sumber Nutrisi.* Berita Resmi Paten Seri-A. No. BRP564/XI/2017. November 2017.

Sahandi, J.; H. Jafariyan; R. Roozbehfar; S. Babaei; M. Dehestani. (2012). *The Use of Two Enrichment Forms (Brachionus plicatilis Enrichment and Rearing Water Enrichment) With Probiotic Bacilli Spore on Growth and Survival of Silver Carp (Hypophthalmichthys molitrix).* Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, Vol. 13, No. 1, Ser.No. 41, 2012.

Ahmed, S.; A. M. Nour; T. M. Srour; S. S. Assem; H. A. Ibrahim; H. S. El-Sayed. (2015). *Greenwater, Marine Bacillus subtilis HS1 Probiotic and Synbiotic Enriched Artemia and Rotifers Improved European Seabass Dicentrarchus labrax Larvae Early Weaning Length Growth, Survival, Water, Bacteriology Quality.* American Journal of Life Sciences 2015; 3(6-1): 45-52.

Solis BioDyne. (2018). *100 bp DNA Ladder Ready to Load.* https://www.sbd.ee/EN/products/dna_ladders/100_bp_dna_ladder_. Diakses pada tanggal 16 Oktober 2018.

Sumarno, E dan Subari. (2013). *Perencanaan In Take Air Limbah Rumah Tangga Dengan Sistem Pengelolaan Bio Teknologi Pada Perumahan Citra Gran Cibubur.* Jurnal Bentang Vol. 1 No. 2 Juli 2013.

Solis BioDyne. (2018). *100 bp DNA Ladder Ready to Load.* https://www.sbd.ee/EN/products/dna_ladders/100_bp_dna_ladder_. Diakses pada tanggal 16 Oktober 2018.

Sumarno, E dan Subari. (2013). *Perencanaan In Take Air Limbah Rumah Tangga Dengan Sistem Pengelolaan Bio Teknologi Pada Perumahan Citra Gran Cibubur.* Jurnal Bentang Vol. 1 No. 2 Juli 2013.

Supriyati, D. (2009). *Stappia aggregate G1 dan Alteromonas sp.G2 Bakteri Pendegradasi Phenantrene yang Diisolasi dari Lingkungan Laut.* Berita Biologi 9(6).

Wulur, S.; I. F. M. Rumengan; V. Warouw; M. Ompi. (2018). *Metode Pembuatan Pakan Dari Limbah Perikanan Yang Telah Di Kemas Kedap Udara Dalam Kondisi Beku Untuk Pemeliharaan Rotifer.* Paten No. P14201802692.

Zink, I. C.; P. A. Douillet; D. D. Benetti. (2011). *Improvement of Rotifer Brachionus plicatilis Population Growth Dynamics With Inclusion of Bacillus spp. Probiotics.* Aquaculture Research, 2011, 1 – 12. DOI : 10.1111/j.1365-2109.2011.03023.x

ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax

Bacillus sp. SEBAGAI AGENSIA PENGURAI DALAM PEMELIHARAAN Brachionus rotundiformis YANG MENGGUNAKAN IKAN MENTAH SEBAGAI SUMBER NUTRISI

ORIGINALITY REPORT

18%	13%	11%	7%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Cindy C. Mudeng, Henky Manoppo, Sartje Lantu, Reni L. Kreckhoff, Reiny A. Tumbol. "Suplementasi bakteri probiotik meningkatkan performa pertumbuhan dan efisiensi pakan benih ikan mas (Cyprinus carpio).", e-Journal BUDIDAYA PERAIRAN, 2020 Publication	1%
2	repository.uin-suska.ac.id Internet Source	1%
3	Submitted to University of Waikato Student Paper	1%
4	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	1%
5	Submitted to Universitas Nasional Student Paper	1%
6	Maratade Mopay, Stenly Wullur, Erly Kaligis. "Identifikasi molekuler sirip ikan hiu yang	1%

didapat dari pengumpul sirip di Minahasa", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2017
Publication

7	Sanjay Gagu, Suria Darwasito, Billy Th Wagey, Antonius P Rumengan, Ari B Rondonuwu, Carolus P Paruntu. "DIMENSI DAN KOMPOSISI NEMATOSIT PADA KARANG SCLERACTINIA, Acropora florida DAN Acropora divaricata DI PANTAI MOTANDOI SELATAN KABUPATEN BOLAANG MONGONDOW SELATAN", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2019 Publication	1%
8	www.jurnal.unsyiah.ac.id Internet Source	<1%
9	pt.scribd.com Internet Source	<1%
10	Dewi Wulandari. "Pengaruh Minyak Atsiri Bangle (Zingiber Purpureum Roxb.) sebagai Antibakteri terhadap Kualitas Sabun Cair", JURNAL AGROINDUSTRI HALAL, 2018 Publication	<1%
11	Submitted to Universitas Jenderal Soedirman Student Paper	<1%
12	jurnal.utu.ac.id Internet Source	<1%

13	zombiedoc.com Internet Source	<1%
14	eprints.umm.ac.id Internet Source	<1%
15	jurnal.darmajaya.ac.id Internet Source	<1%
16	Submitted to Pondicherry University Student Paper	<1%
17	kelolaminapembudidaya.blogspot.com Internet Source	<1%
18	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	<1%
19	docplayer.info Internet Source	<1%
20	Gledys Giacinta Poluan, Elvy Like Ginting, Stenly Wullur, Veibe Warouw, Fitje Vera Losung, Meiske Salaki. "KARAKTERISTIK MORFOLOGI BAKTERI SIMBION SPONS MENYERUPAI Cribochalina sp DARI PERAIRAN MALALAYANG SULAWESI UTARA", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2019 Publication	<1%
21	Aditya Pasodung, Fitje Losung, Esther Angkouw, Rosita Lintang, Desy Mantiri, Deiske	<1%

Sumilat. "Uji aktivitas antibakteri spons Plakortis sp. yang dikoleksi dari perairan Bunaken", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2018
Publication

22	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	<1%
23	Submitted to Curtin University of Technology Student Paper	<1%
24	jperairan.unram.ac.id Internet Source	<1%
25	eprints.ucm.es Internet Source	<1%
26	repo.unsrat.ac.id Internet Source	<1%
27	padlipratama.wordpress.com Internet Source	<1%
28	ejournal.unisba.ac.id Internet Source	<1%
29	jpsmipaunsri.files.wordpress.com Internet Source	<1%
30	Salem Ahmed Md.. "Greenwater, Marine Bacillus subtilis HS1 Probiotic and Synbiotic Enriched Artemia and Rotifers Improved European Seabass Dicentrarchus labrax Larvae Early Weaning Length Growth, Survival, Water	<1%

and Bacteriology quality", American Journal of Life Sciences, 2015
Publication

31	scholar.unand.ac.id Internet Source	<1%
32	www.kahedu.edu.in Internet Source	<1%
33	Vivian Hlordzi, Felix K.A. Kuebutornye, Gyamfua Afriyie, Emmanuel Delwin Abarike, Yishan Lu, Shuyan Chi, Melody A. Anokyewaa. "The use of Bacillus species in maintenance of water quality in aquaculture: A review", Aquaculture Reports, 2020 Publication	<1%
34	repository.ub.ac.id Internet Source	<1%
35	asrorysaiful.blogspot.com Internet Source	<1%
36	sinta.unud.ac.id Internet Source	<1%
37	Otong Zenal Arifin, Titin Kurniasih. "VARIASI GENETIK TIGA POPULASI IKAN NILA (Oreochromis niloticus) BERDASARKAN POLIMORFISME mt-DNA", Jurnal Riset Akuakultur, 2016 Publication	<1%

38	www.jakbelajar.com Internet Source	<1%
39	www.coursehero.com Internet Source	<1%
40	ojs3.unpatti.ac.id Internet Source	<1%
41	fpik.unpad.ac.id Internet Source	<1%
42	Andre Wehantouw, Elvy Ginting, Stenly Wullur. "Identifikasi sirip ikan hiu yang didapat dari pengumpul di Minahasa Tenggara menggunakan DNA Barcode", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2017 Publication	<1%
43	pdfs.semanticscholar.org Internet Source	<1%
44	Cindy Kalangi, Vanda S. Kamu, Maureen Kumaunang. "Barcode DNA Tanaman Leilem (Clerodendrum minahassae L.) Berdasarkan Gen matK", Jurnal MIPA, 2014 Publication	<1%
45	journal.ipb.ac.id Internet Source	<1%
46	ejournal.kemenperin.go.id Internet Source	<1%

47	Fransiskus Fembri, Erly Kaligis, Inneke Rumengan. "karakteristik pertumbuhan populasi rotifer (Brachionus rotundiformis) tanpa pemberian aerasi dan mikroalga sebagai pakan pada media kadar garam berbeda", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2017 Publication	<1%
48	Jefri Sahari, Joice Rimper, Stenly Wullur. "Identifikasi molekuler rotifer Brachionus sp. asal perairan Tumpaan, Minahasa Selatan", JURNAL PESISIR DAN LAUT TROPIS, 2017 Publication	<1%
49	adoc.pub Internet Source	<1%
50	anzdoc.com Internet Source	<1%
51	biosaintropis.unisma.ac.id Internet Source	<1%
52	ebookinga.com Internet Source	<1%
53	thunnus918.wordpress.com Internet Source	<1%
54	Zevri Harefa, Swenekhe S Durand, Olvie V Kotambunan. "MANAJEMEN PEMASARAN IKAN MARLIN HITAM (MAKAIRA INDICA) DI	<1%

PASAR BERSEHATI KELURUHAN CALACA KOTA MANADO", AKULTURASI (Jurnal Ilmiah Agrobisnis Perikanan), 2016
Publication

55	omiyage.ppj.unp.ac.id Internet Source	<1%
56	worldwidescience.org Internet Source	<1%
57	library.um.ac.id Internet Source	<1%
58	Asy'ari Asy'ari, Erly Kaligis, Stenly Wullur, Joice Rimper. "Viability of Tumpaan-strained rotifers, Brachionus rotundiformis, at different salinities", AQUATIC SCIENCE & MANAGEMENT, 2014 Publication	<1%
59	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	<1%
60	M Y Farisa, K E Namaskara, M B Yusuf, Desrina. " Antibacterial Potention of Extract of Rotifers Fed with Different Microalgae to Control ", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019 Publication	<1%
61	vdocuments.site Internet Source	<1%

62	www.jurnal.ar-raniry.ac.id Internet Source	<1%

Exclude quotes	On	Exclude matches	Off
Exclude bibliography	On		