

KARAKTER BARKODING DNA SIANOBAKTER ASAL AIR RAWA DAN KOLAM BUDIDAYA PATIN DI OGAN ILIR SUMATERA SELATAN***DNA Barcode Character of Cyanobacter from Swamp and Pangasius Rearing Pond at Ogan Ilir South Sumatera*****M. Wijayanti^{1*}, D. Jubaedah¹, Tanbiyaskur¹, N.W. Mustika¹, Nuni Gofar²**¹Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Kampus Indralaya, Ogan Ilir, Sumatera Selatan, Indonesia²Program Studi Ilmu Tanah, Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Kampus Indralaya, Ogan Ilir, Sumatera Selatan, Indonesia

*Korespondensi email : mariniwijayanti@fp.unsri.ac.id

ABSTRACT

Pangasius catfish rearing ponds and swamp waters are types of stagnant waters (lentic) that are commonly found in the South Sumatra region. Cyanobacteria is a group of phytoplankton that plays an important role in the management of the aquatic area, but it is not widely known which species is the most dominant in swamp waters. This study aimed to determine the types of cyanobacteria that are abundant in the swamps and Pangasius catfish cultivation ponds in Ogan Ilir, South Sumatra. This research had been carried out by cyanobacteria isolation from the swamp water and the pond, isolate liquid cultivation, DNA isolation, 16S rRNA gene amplification, and DNA amplicon sequencing. The sequencing results were analyzed using BLAST (Basic local alignment search tool-nucleotide) and MEGA 6 with the help of NCBI gene bank data to obtain a phylogenetic tree for predicting the identity of the cyanobacterial isolates. Based on the morphological characteristics, it was suspected that the pond isolates were similar to *Synechococcus* and the swamp isolates were identical to *Microcystis* genera. The amplification of cyanobacterial DNA using the PCR method with the universal 16S rRNA 63F (Forward) and 1387 R (Reverse) resulted in an amplicon with 1302-1307 base pairs. Analysis using BLAST showed that the cyanobacterial isolates from ponds had 91% similar to Uncultured *Synechococcus* sp. from Australia, while the swamp isolates had 86% similar to *Microcystis* sp. from China.

Key words : Cyanobacteria, Microcystis, PCR, Phylogenetic, Synechococcus

ABSTRAK

Kolam budidaya patin dan perairan rawa merupakan jenis perairan menggenang yang banyak ditemukan di wilayah Sumatera Selatan. Sianobakter merupakan kelompok fitoplankton yang berperan penting dalam pengelolaan perairan tergenang, tetapi belum banyak diketahui jenis yang paling dominan di perairan rawa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dari Sianobakter yang melimpah di rawa dan kolam budidaya patin di Ogan Olir, Sumatera Selatan. Penelitian ini telah dilakukan dengan isolasi Sianobakter dari perairan rawa dan kolam budidaya patin, kultivasi cair isolat, isolasi DNA, amplifikasi gen 16S rRNA dan sekuensing amplicon DNA. Hasil sekuensing dianalisis dengan BLAST dan MEGA 6 dengan bantuan data bank gen NCBI sampai diperoleh pohon filogenetik untuk menduga identitas isolat Sianobakter tersebut.

Berdasarkan karakter morfologi, diduga isolat kolam mirip *Synechococcus* sp. dan isolat rawa *Microcystis* sp. Amplikasi DNA Sianobakter menggunakan metode PCR dengan universal 16S rRNA 63F (Forward) dan 1387 R (Reverse) menghasilkan 1302-1307 bp. Analisis melalui BLAST (Basic local Alignment Search Tool- nucleotide) isolat kolam 91 % mirip dengan Uncultured *Synechococcus* sp. yang berasal dari Australia sedangkan isolat rawa 86% mirip dengan *Microcystis* sp. yang berasal dari China.

Kata Kunci: Cyanobacteria, Filogenetik, Microcystis, PCR, Synechococcus

PENDAHULUAN

Kolam budidaya patin dan perairan rawa merupakan jenis perairan menggenang yang banyak ditemukan di wilayah Sumatera Selatan. Semakin berkembangnya budidaya patin menjadikan semakin banyaknya perairan rawa yang digunakan sebagai kolam budidaya patin. Permasalahan air limbah budidaya patin yang dibuang ke perairan rawa semakin tinggi. Limbah ini menjadikan perairan rawa rentan mengalami pencemaran. Mikrob yang banyak ditemukan pada *blooming* plankton diantaranya adalah kelompok sianobakter (Cyanobacteria). Sianobakter yang selama ini menjadi komoditas akuakultur seperti Spirulina (*Arthrospira*) telah menghasilkan berbagai senyawa hayati dalam proporsi berbeda yang memiliki kepentingan komersial dan telah dimanfaatkan penggunaannya dalam makanan, akuakultur, pengelolaan air limbah, industri *nutraceutical*, farmasi, kosmetik dan perawatan pribadi (Tang *et al.*, 2020). Sianobakter telah terbukti menjadi sumber

yang kaya metabolit sekunder yang aktif secara biologis termasuk sebagai agen antivirus, antiinflamasi, imunostimulan dan sifatnya sebagai obat maupun nutrasetikal (Deyab *et al.*, 2019; Tabarzad *et al.*, 2020). Tiwari dan Tiwari (2020) telah meringkas dan memperbarui aplikasi terapeutik Sianobakter dalam pengembangan obat, dengan pengenalan istilah baru "cyanotherapeutics", setelah banyak penelitian yang menunjukkan bahwa sianobakter ini mempunyai aktivitas imunomodulator, antitumor-antikanker, antivirus-antiHIV, antibakteri, antimalaria, antidiabetes yang merupakan karakter spesifik untuk kandidat obat.

Sianobakter merupakan bakteri *phototrophic*, dengan ukuran dinding selnya 0,5 μm -100 μm (Madigan *et al.*, 2015) yang berperan penting dalam pengelolaan perairan tergenang, tetapi belum banyak diketahui jenis yang paling dominan di perairan rawa. Berkembangnya budidaya ikan di lahan rawa juga memiliki pengaruh pada karakter perairan yang menjadi habitat Sianobakter. Perbedaan habitat ini dapat

menjadikan keragaman Sianobakter di perairan rawa akibat aktivitas budidaya ikan. Perubahan lingkungan dapat menyebabkan perubahan perubahan diversitas maupun variasi genetik sianobakter sebagai mekanisme adaptasi lingkungan.

Kesulitan membedakan secara fenotipik morfologi antara sianobakter baik uni maupun multiseluler dapat didekati dengan melakukan karakterisasi DNA barcode isolat sianobakter. DNA *Barcoding* adalah metode taksonomi dalam sebuah marker genetik pendek untuk mengidentifikasi DNA organisme atau bagian dari spesies (Sarvananda, 2018). PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah pengujian enzimatik yang sederhana, namun elegan, yang memungkinkan amplifikasi fragmen DNA tertentu dari kumpulan DNA yang kompleks (Garibyan and Avashia, 2013). Analisis gen penyandi untuk DNA kromosom prokariotik adalah 16S rRNA (Marchesi *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2003; Nurwati dan Nawfa, 2015). Struktur primer 16S rRNA paling konservatif untuk spesies biasanya mempunyai 70% atau lebih similaritas DNAny (Stackebrandt dan Goebel, 1994). Pendekatan kekerabatan filogenetik sekuen DNA diharapkan dapat mengetahui jenis Sianobakter dominan yang telah diisolasi oleh Genti (2017) dari kolam budidaya maupun perairan rawa Indralaya untuk

pengelolaan kualitas air budidaya lahan rawa. Jenis sianobakter yang dominan pada rawa diharapkan menjadi kandidat komoditas akuakultur untuk pengelolaan kualitas air, pakan alami, ataupun nutrasetikal dan bahan industri obat sebagaimana *Arthrospira* yang telah banyak diteliti (Wijayanti, *et al.*, 2020).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis dari Sianobakter dengan identifikasi melalui gen 16sr RNA Sianobakter yang berasal dari kolam budidaya ikan dan perairan rawa Ogan Ilir sehingga dapat menjadi komoditas akuakultur yang aman.

METODE PENELITIAN

Kultivasi

Sampel Sianobakter yang berasal dari kawasan perairan rawa lebak di rawa umum dan kolam patin dekat rawa masing-masing mewakili wilayah air masuk (*inlet*) dan air keluar (*outlet*), di desa Lebung Karang, kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan yang telah diisolasi dan diperbanyak dalam skala laboratorium di Laboratorium Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Komposisi pupuk yang digunakan berasal dari penelitian sebelumnya (Genti, 2017) yakni : MgSO₄ 0,02 gram; CaCl₂ 0,004 gram; EDTA 0,008 gram; urea 0,03 gram; ZA 0,132 gram; soda kue 0,85 gram; larutan AB 1ml (larutan A

20 gram/100 ml ditambah larutan B 20 gram/100 ml air) dan TSP 0,05 gram, masing-masing untuk 100 ml air. Pada penelitian ini menggunakan 1000 ml air dengan media pupuk yang digunakan sebanyak 900 ml ditambahkan dengan starter berupa Sianobakter ±100 ml. Kultivasi dilakukan selama 28 hari dengan menggunakan pencahayaan 2 buah lampu LED dengan rasio gelap:terang 0:24 jam. Pengamatan morfologi sebelum isolasi DNA (Wijayanti *et al.*, 2020).

Morfologi Sianobakter

Pengamatan morfologi Sianobakter melalui mikroskop dengan pembesaran 100x sebelum isolasi DNA dengan pengenceran 30x, dikarenakan sel yang terlalu padat untuk diamati. Pengamatan morfologi Sianobakter dengan membandingkan dengan berbagai sumber, agar dapat melihat persamaan dari segi morfologi dengan sumber acuan (Bellinger dan Sigeo, 2010).

Isolasi DNA

Isolat sianobakter terlebih dahulu di sentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit untuk mengambil peletnya untuk memisahkan antara biomassa dengan media kulturnya. Isolasi DNA membutuhkan pelet hasil kultivasi pada hari ke 16 (puncak populasi saat dikultur dalam media kultur (Wijayanti *et al.*, 2018) sebanyak 0,19

gram/15 ml isolat dan 0,15 gram/ 15 ml isolat (rawa dan kolam). Perlakuan kimiawi dengan penambahan *lizozim white egg* 0,003 gram (rawa) dan *lysozyme white egg* 0,005 gram (kolam), masing-masing ditambahkan *aqua pro injection* 250 µl. Perlakuan fisik dengan cara inkubasi dengan suhu 60°C selama 10 menit (rawa) sedangkan 20 menit (kolam). Masing-masing sampel di vortex selama 30 menit. Sel diekstraksi dengan metode manual menurut instruksi manual Quick-DNA™ Miniprep Plus Kit Zymo Research (dengan modifikasi).

Amplifikasi DNA

Proses amplifikasi DNA menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Bahan PCR sebanyak 50 µl dimana larutan PCR dan tahapan PCR pada Tabel 1. Primer yang digunakan primer 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC) dan primer 1387R (5'-GGGCGGWGTGTACAA-GGC) (Marchesi *et al.*, 1998). Adapun tahapan amplifikasi PCR nya menggunakan metode Lee *et. al.* (2002) sebagaimana tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 1. Komposisi larutan untuk PCR

No	Jenis Larutan	Volume (µl)
1.	Go Taq Green	25
2.	DNA Template	8
3.	Primer 63 F	2
4.	Primer 1387 R	2
5.	Nuclease Free Water	13

Tabel 2. Tahapan reaksi PCR

Reaksi	Suhu (°C)	Waktu
Initial	95	5 menit
Denaturasi	94	3detik
Annealing	55	30 detik
Extention	72	1 menit
Final extention	72	7 menit

Elektroforesis Gel Agarose

Elektroforesis dilakukan menurut metode Agarose 1% ditimbang sebanyak 0,75 gram dan ditambahkan larutan TAE 1x diukur sebanyak 75 ml. Larutan dihomogenkan dengan dididihkan, hingga semua bahan larut (jernih), lalu didiamkan hingga uap menghilang dan dituangkan kedalam *chamber*. Ketika dingin (30-45 menit) gel akan berwarna sedikit putih, lalu sisir dilepas secara hati-hati. Larutan TAE 1X dituangkan kedalam *chamber* hingga menyelimuti agar (diatas gel +/-1 mm). Larutan DNA marker 4 µl dan DNA hasil PCR 6 µl dicampur dengan *loading die* 1 µl hingga homogen dan dimasukkan pada lubang, dan di *running* elektroforesis gel tersebut dengan daya 75 V selama 50 menit. Agarose yang sudah di elektroforesis direndam dengan campuran larutan *diamond dye* 10 µl dan larutan buffer TAE 1x 100 ml selama 30 menit tanpa terpapar cahaya, pada tiap 5 menit bahan tersebut digoyang. Hasilnya divisualisasi melalui *Gel Documentation* dengan pengamatan migrasi DNA menggunakan lampu UV

transilluminator (protocol of Diamond™ Nucleic Acid Dye).

Sekuensing Gen

Sampel DNA Sianobakter yang berhasil diamplifikasi menggunakan PCR kemudian disekuensing. Sekuensing dengan fragmen gen 16S rRNA. Produk hasil amplifikasi yang sudah diketahui ukuran menggunakan *marker* 1 kb kemudian disekuensing melalui jasa Lembaga *Macrogen* di Jakarta.

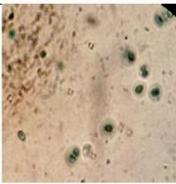
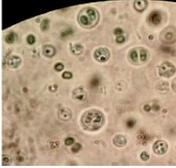
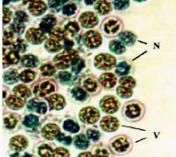
Sekuens DNA

Sekuens DNA Sianobakter yang didapat dalam bentuk fasta format. Menurut Nurwati dan Nawfa (2015), Sekuens fragmen 16S rDNA yang didapat ini kemudian diunggah melalui program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). BLAST merupakan program untuk mencari dan menganalisis kehomologian sekuen suatu organisme, pada website *ncbi.nlm.nih.gov* sehingga dapat diketahui homologinya dengan sekuen gen 16S rRNA Sianobakter lain yang telah terdaftar pada database *GenBank* untuk mengetahui jarak genetik dan pohon filogenetik antar spesies Sianobakter dikonstruksi menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ) (Saitou dan Nei, 1987) dalam Dharmayanti (2011) model *Maximum Composite Likelihood* dan

Substitutions to include d: Transitions + Transversions dengan *bootstrap* 1000x.

Hasil pengamatan isolat Rawa dan Kolam Sianobakter dapat dilihat sebelum dilakukan isolasi DNA pada Tabel 3.

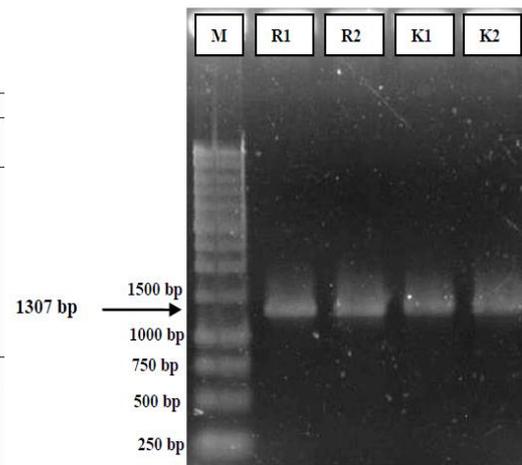
Tabel 3. Pengamatan morfologi sianobakter asal kolam patin dan rawa (mikroskop pembesaran 100x)

Sumber	Gambar	Morfologi
1. Mikroskop pembesaran 100x Asal Kolam		Berbentuk lonjong, berwarna biru hijau, sel tunggal, dan selnya berbentuk kecil.
Asal Rawa		Berbentuk bulat tidak beraturan, banyak mengandung sel didalamnya, dan selnya lebih besar.
2. Bellingger dan Singger 2010 Asal Kolam		Berbentuk bulat lonjong dan selnya tunggal.
Asal Rawa		Membentuk bulatan yang besar dan tidak teratur mengandung lendir dimana didalamnya terdapat ratusan sel.

Visualisasi Hasil Amplifikasi DNA

Isolasi DNA dilakukan sebelum amplifikasi DNA, menggunakan metode modifikasi dan *Zymo Research*. Isolasi DNA yang sukses yang ditandai dengan hasil pita yang tebal dilanjutkan tahap amplifikasi DNA. Amplifikasi DNA

Sianobakter menggunakan metode PCR dengan primer universal 16S rRNA 63F (*Forward*) dan 1387R (*Reverse*) serta template dari DNA hasil ekstraksi Sianobakter sebanyak 4 isolat. Isolat yang diambil dari R2 dan K2 dengan masing-masing 2 ulangan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Visualisasi hasil amplifikasi gen 16S rRNA isolat Sianobakter

Hasil pengamatan isolat Rawa dan Kolam Sianobakter dapat dilihat sebelum dilakukan isolasi DNA pada Tabel 3. Berdasarkan Gambar 1, visualisasi hasil amplifikasi 16S rRNA pada Sianobakter didapat pada (1302-1307 bp).

Kekerabatan Spesies

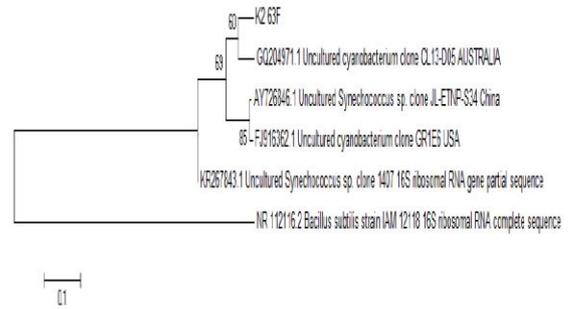
Setelah dilakukan pemotongan urutan pasangan asam basa dan disejajarkan menghasilkan 869 bp isolat kolam dan 689 bp isolat rawa. Selanjutnya isolat dianalisis melalui BLAST disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis BLASTn sampel Sianobakter berasal dari kolam dengan data di *Genbank*.

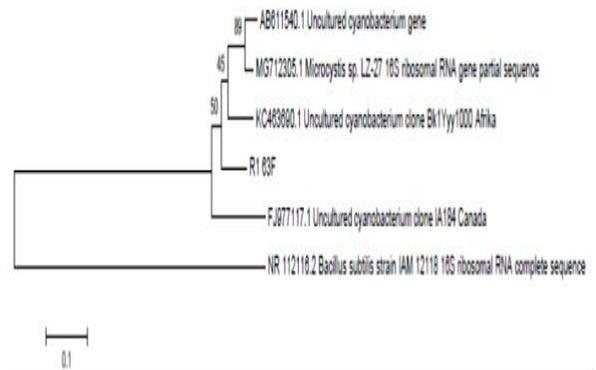
Deskripsi	Identity (%)	Kode Akses	Asal Sampel
Isolat Kolam			
<i>Uncultured Synechococcus</i> sp. clone 1407	91	KR267843	Australia
<i>Uncultured cyanobacterium</i> clone C113-D05	87	GQ204971	Australia
<i>Uncultured Synechococcus</i> sp. clone ETNP S34	85	AY726846	Cina
<i>Uncultured Cyanobacterium</i> clone GR136	85	FJ9163621	USA
Isolat Rawa			
<i>Microcystis</i> sp. LZ-27	86	MG712305	China
<i>Uncultured cyanobacterium</i> clone Bk1Yy1000	85	KC463890	Afrika
<i>Uncultured Cyanobacterium</i> clone gene	84	AB611540	Jepang
<i>Uncultured cyanobacterium</i> clone IA184	82	FJ977117	Canada

Berdasarkan Tabel 4 hasil analisis BLAST sekuen nukleotida gen 16S rRNA sampel Sianobakter isolat kolam memiliki persentase identitas spesies 91 % dengan spesies *Uncultured Synechococcus* sp. clone 1407 berasal dari Australia. Sedangkan Sianobakter isolat rawa memiliki persentase identitas tertinggi yaitu 86% *Microcystis* sp. LZ-27 clone 1447 dari China. Isolat yang telah diekstrasi DNA sampai pada sekuen DNA disejajarkan/ dengan menggunakan *software* Mega 6.0. Setelah disejajarkan menghasilkan urutan basa nukleotida dengan panjang 869 bp (Isolat Kolam) dan 689 kb (isolat rawa).

Pohon filogenetik merupakan sebuah grafik dua dimensi yang menunjukkan hubungan diantara organisme atau klasifikasi populasi berdasarkan sejarah evolusinya. Pohon filogenetik *Cyaobacteria* isolat kolam dan isolat rawa disajikan pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Pohon filogenetik sianobakter isolat kolam patin



Gambar 3. Pohon filogenetik sianobakter isolat rawa

Pohon filogenetik dibentuk dari dua sekuen yang didapat dari hasil penelitian dengan masing-masing dua isolat yaitu isolat kolam dan rawa. Hasil kontruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa kedua sampel membentuk cabang dengan skala 0,1. Pohon filogenetik *Bacillus subtilis* membentuk cluster tersendiri dari isolat kolam dan rawa karena merupakan out group pada pohon filogenetik Sianobakter.

PEMBAHASAN

Berdasarkan Tabel 3. didapatkan perbedaan antara isolat rawa dan isolat kolam dari salah satu sumber, diduga isolat

rawa merupakan jenis *Microcystis* dan isolat kolam merupakan jenis *Synechococcus*. Perbedaan ini dapat dikarenakan kondisi habitatnya sudah berbeda, dengan karakter alami rawa lebak yang pHnya cenderung asam dan biodiversitasnya masih tinggi pada lingkungan rawa, sedangkan karakter kolam budidaya yang lebih netral pH nya dan tinggi bahan organik sisa metabolisme maupun pakan ikan dengan kondisi keberadaan ikan monokultur yaitu patin.

Menurut Prihantini *et al.* (2008) ordo *Chroococcales* merupakan bentuk koloni berupa persegi dan *spherical*. Bentuk koloni *spherical* ada pada spesies *Aphanothece* sp., *Chroococcus* sp., dan *Synechococcus* sp., sedangkan sel *Microcystis* sp. tersusun rapat dalam koloni teratur. PicoSianobakter dari genus *Synechococcus* genus uniseluler autotrofik polifiletik kosmopolitan dari Sianobakter yang terdiri dari sel-sel dalam kisaran ukuran 0,2– 2 μm tersebar luas di ekosistem perairan danau maupun laut (Callieri, 2017). Heterogenitasnya memungkinkan adanya perbedaan filotipe *Synechococcus* menempati niche yang berbeda sehingga karakterisasi yang lebih rinci perlu ditelaah faktor ekologisnya (Di Cesare *et al.*, 2020).

Menurut Guiry & Guiry (2012), *Synechococcus* sp. memiliki ciri-ciri berwarna hijau pucat, hijau zaitun, hijau biru

terang. *Synechococcus* sp. Menurut Bellingger dan Sige (2010), ada 2 strain yang paling besar diwakili oleh genus *Synechococcus* dan *Synechocystis* digambarkan dari bentuknya ada yang batang, *Spherical* dan pembelahan ganda, *Synechococcus* berbeda dengan strain lain yang mempunyai sel yang lebih kecil dan berbeda satu dengan lainnya di dalam struktur.

Microcystis dapat membentuk bulatan yang besar dan tidak teratur mengandung lendir dimana didalamnya terdapat ratusan sel. *Microcystis* juga terkenal baik memproduksi racun seperti *Microcystins* dan *lipopolysaccharides* didalam air (Bellingger dan Sige, 2010).

Menurut Nnadozie *et al* (2018), amplifikasi menggunakan primer 63F dan 1387R menghasilkan ukuran ampikon 16S rRNA rata-rata sebesar ± 1350 bp. Terlihat adanya pita menunjukkan bahwa ampikon PCR sebesar 1302-1307 pb, nilai yang lebih rendah dari rata-rata yang biasa diperoleh. Hal ini dapat dikarenakan kondisi preparasi elektroforesis yang belum optimal sehingga terjadi kerusakan sedikit DNA ampikon. Meski demikian, visualisasi elektroforesis ampikon menunjukkan bahwa PCR yang dilakukan masih sesuai estimasi dan membentuk pita tunggal. Hasil visualisasi yang baik juga menunjukkan bahwa isolasi

DNA yang dilakukan sukses. Dalam hal ini adanya modifikasi dalam isolasi, dan hasil modifikasi ini menunjukkan hasil yang baik. Modifikasi yang telah diterapkan menghasilkan pita yang tebal, sehingga estimasi yang telah diterapkan sangat cocok untuk isolasi isolat tersebut. Estimasi DNA yang dilakukan dengan adanya penambahan waktu pemanasan, lizozim yang berfungsi untuk memecahkan dinding sel sehingga DNA keluar dari dalam sel. Menurut Sunarno *et al.* (2014), isolasi atau ekstraksi DNA diperoleh dengan cara merusak atau memecahkan dinding sel sehingga DNA keluar dari dalam sel. Pada metode *boiling*, pemanasan tinggi selama beberapa menit akan menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel yang berakibat pada masuknya cairan dan materi lain di sekitar sel dan keluarnya materi-materi dari dalam sel.

Karakterisasi barkod DNA diperoleh dari sekuensing amplicon. Sehingga dibutuhkan tahap pengurutan basa nukleotida (*sequencing*) agar dapat dianalisis bahwa urutan basa nukleotida gen-gen tersebut dapat menunjukkan kehomologian dengan genus yang datanya terdapat dalam gene bank. Identifikasi suatu spesies dapat digunakan untuk mengetahui hubungan antara spesies yang berdekatan. Identifikasi secara molekuler dapat menentukan spesies

secara akurat. Hal ini berdasarkan data sekuen DNA yang dijadikan sebagai data kuantitatif dengan mensejajarkan sekuen DNA yang diperoleh dengan sekuen data hasil BLAST dari *Genbank* untuk dilanjutkan pada penyusunan pohon filogenetik. Pohon filogenetik yang diperoleh menunjukkan bahwa kedekatan sianobakter isolat kolam dan isolat rawa berbeda sebagaimana pendugaan morfologinya. Konsep pohon filogenetik menggunakan metode *neighbor-joining* (NJ). Pohon filogenetik *Uncultured Synechococcus* sp. clone 1407 dari Australia membentuk *subcluster* tersendiri memiliki nilai *bootstrap* 69% dengan sampel kolam yang artinya 1000 kali pengulangan hanya 690 kali pohon filogenetik yang sama. Sedangkan pohon filogenetik *Microcystis* sp. dari China memiliki nilai *bootstrap* 89% dengan *Uncultured Cyanobacterium* dari Jepang, ini terlihat pada spesies tersebut membentuk *subcluster* tersendiri. Sianobakter isolat kolam lebih dekat dengan *Uncultured Cyanobacterium* asal Australia dan *Synechococcus* asal China. Sianobakter isolat rawa membentuk cluster dengan *Uncultured cyanobacterium* dan *Microcystis*. Perbedaan yang cukup jauh secara genetik antara isolat sianobakter rawa dengan *Microcystis* asal China 86% dan isolat sianobakter

asal kolam 91% kemiripannya dengan *Synechococcus* asal Australia. Jauhnya similaritas atau kemiripannya dengan data *gene bank* di NCBI, menunjukkan bahwa kedua sianobakter yang diidentifikasi ini mempunyai karakteristik genetik yang belum teridentifikasi secara spesifik molekul DNA berupa gen16S rRNA. Tetapi kemiripan dari pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan ciri yang serupa dengan *Synechococcus* dan *Microcystis*.

Klade yang muncul bersamaan yang menempati rezim yang sama termasuk dalam evolusioner yang berbeda garis keturunan dalam *Synechococcus*. Hal ini menunjukkan bahwa banyak ekotipe genus ini yang telah berevolusi secara independen menempati niche serupa dan mewakili contoh evolusi paralel (Sohm *et al.*, 2016). Sianobakter *Microcystis* juga dapat tidak stabil genomnya sehingga dapat jauh jarak genetiknya atau sangat kecil similaritasnya dengan *Microcystis* yang habitatnya berbeda. Analisis biologi molekuler telah memberikan wawasan yang signifikan tentang ekologi dan fisiologi *Microcystis*. Karakter *Microcystis* yang sangat dinamis berpotensi tidak stabil genomnya,

sehingga sangat rendah similaritasnya (Harke *et al.*, 2016).

Bioprospeksi kedua jenis sianobakter ini adalah kemampuannya menghasilkan senyawa toksin dan anti bakteri pada *Synechococcus* (Barboza *et al.*, 2017) juga antiinflamasi pada *Microcystis* (Tabarzad *et al.*, 2020), atau potensi keduanya sebagai *cyanoteurapeutic agent* (Tiwari & Tiwari, 2020), antivirus (Naidoo *et al.*, 2020), anticancer-tumor, anti-malaria, dan potensi sebagai neutrasetikal dan farmasetikal lainnya (Zahra *et al.*, 2020). Potensi sianobakter rawa dan kolam patin sebagai komoditas akuakultur masih perlu terus dikembangkan dalam penelitian bioprospeksi maupun aplikasinya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil sekuensing jenis Sianobakter dari isolat kolam 91% kemiripannya dengan *Uncultured Synechococcus* berasal dari Australia sedangkan jenis Sianobakter dari isolat rawa 86% kemiripannya dengan *Microcystis* sp. berasal dari China. Kedua jenis tersebut berpotensi menjadi komoditas akuakultur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Universitas Sriwijaya yang telah membiayai penelitian ini melalui hibah profesi Nomor: 0144.25/UN9/SB3.LP2MPT/2019. Terimakasih kami sampaikan juga kepada Dr. dra. Harry Widjajanti MSi dan Mochamad Syaifudin, SPi, MSi, PhD atas bantuannya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Barboza GFO, Gorlach-Lira K, Sassi CFC & Sassi R. 2017. Microcystins production and antibacterial activity of cyanobacterial strains of *Synechocystis*, *Synechococcus* and *Romeria* from water and coral reef organisms (Brazil). *Rev. Biol. Trop.* 65:890-899.
- Bellinger EG and Sigeo DC. 2010. *Freshwater Algae*. USA: Wiley-Blackwell
- Callieri C. 2017. *Synechococcus* plasticity under environmental changes. *FEMS Micro-biol. Lett.* 364:229.
- Deyab M, Mofeed J, El-Bilawy E, Ward F. 2019. Antiviral activity of five filamentous cyanobacteria against coxsackievirus B3 and rotavirus. *Archives of Microbiology.* 202:213–223.
- Di Cesare A, Dzhenbekova N, Cabello-Yeves PJ, Eckert EM, Slabakova V, Slabakova N, Peneva E, Bertoni R, Corno G, Salcher MM, Kamburska L, Bertoni F, Rodriguez-Valera F, Moncheva S and Callieri C. 2020. Genomic Comparison and Spatial Distribution of Different *Synechococcus* Phylotypes in the Black Sea. *Front. Microbiol.* 11:1979.
- Garibyan L and Avashia N. 2013. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). *J Invest Dermatol.* 133:1-8.
- Genti KS. 2017. *Isolasi Cyanobacteria Rawa Untuk Pengelolaan Media Budidaya Ikan*. Skripsi. Universitas Sriwijaya. Indralaya.
- Guirry MD dan Guiry GM. 2012. *Algae Base*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>. [Diakses 28 April 2019].
- Harke MJ, Steffen MM, Gobler CJ, Otten TG, Wilhelm SW, Wood SA, Paerl HW. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae* 54:4–20.
- Lee YK, Kim HW, Liu CL dan Lee HK. 2003. A simple method for DNA extraction from marine bacteria that produce extracellular materials. *Journal of Microbiological Methods.* 52:245-250.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2015 *Biology of Microorganism*. United States of America: Prentice Hall International Inc.
- Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ & Wade WG. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl. Environm. Microbiol.* 64 :795-799.
- Nnadozie CF, Lin J, Govinden R. 2018. Optimisation of protocol for

- effective detachment and selective recovery of the representative bacteria for extraction of metagenomic DNA from *Eucalyptus* spp. Woodchips. *Journal of Microbiological Methods*. 148:155–160
- Nurwati L dan Nawfa R. 2015. Identifikasi spesies isolat bakteri galur D dengan metode analisa sekuen fragmen gen 16S rDNA. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 4:2337-3520.
- Prihantini NB, Wardhana W, Hendrayanti D, Widyawan A, Ariyani Y, dan Rianto R. 2008. Biodiversitas Cyanobacteria dari Beberapa situ/danau di kawasan Jakarta-Depok-Bogor Indonesia. *Makara Sains*. 12:44-54.
- Sarvananda, L. 2018. Short Introduction of DNA Barcoding. *International Journal of Research*. 05:673-686.
- Springstein BL, Woehle C, Weissenbach J, Helbig AO, Dagan T, Stucken K. 2020. Identification and characterization of novel filament-forming proteins in cyanobacteria. *Scientific Reports Nature Research*. 10:1894-2011.
- Stackebrandt, E and Goebel, B.M. 1994. A Place for DNA-DNA Reassociation and 16s rRNA Sequence Analysis in The Present Species Definition in Bacteriology. *Journal of Ststematic Bacteriology*. 44:.
- Sunarno, Muna F, Fitri N, Malik A, Karuniawati A, Soebandrio A. 2014. Metode Cepat Ekstraksi. *Jurnal Peneliti Kesehatan*. 42:85-92 .
- Tabarzad M, Atabaki V, Hosseinabadi T. 2020. Anti-inflammatory Activity of Bioactive Compounds from Microalgae and Cyanobacteria by Focusing on the Mechanisms of Action. *Molecular Biology Reports*. 47:6193–6205.
- Tang DYY, Khoo KS, Chew KW, Tao Y, Ho SH, Show PL. 2020. Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products. *Bioresource Technology*. 304:122997
- Tiwari AK & Tiwari BS. 2020. Cyanotherapeutics: an emerging field for future drug discovery, *Applied Phycology*. 1:1-14,
- Wijayanti M, Jubaedah D, Gofar N. and Anjastari D, 2019. Optimization of *Spirulina platensis* culture media as an effort for utilization of pangasius farming waste water. *Sriwijaya Journal of Environment*, 3(3):108-112.
- Wijayanti M, Syaifudin M, Yulisman Y, Nurianti Y, Hidayani A, and Gofar N, 2020. Characterization of *Arthrospira platensis* cultured in wastewater of Clarias catfish farming media: DNA barcode, helical form, growth, and phycocyanin. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(12).
- Zahra Z, Choo DH, Lee H, Parveen A. 2020. Cyanobacteria: Review of Current Potentials and Applications. *Environments*. 7:1-17.