

Profil Genetik Isolat Bakteri dari Sampel Air Sungai Gangga Menggunakan Teknik RAPD

Indria Palupi¹⁾, Alifah Hazelia Elviana¹⁾, Shafiah Adilla Putri¹⁾, Silvy Annisa¹⁾, Nadia Sefina¹⁾, Rahmi Dwi Huria¹⁾, Annisa Muthmainah¹⁾

¹⁾ Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jalan Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Padang, Sumatera Barat. Telephone: 0751 7058692.

*Email: indriapalupi183@gmail.com

ABSTRACT

Rivers are one of the places that are vulnerable to contamination by bacteria due to human-made factors, for example the careless dumping of rubbish into rivers. The Ganges River is one of the rivers located along the FMIPA UNP area. The PCR marker technique with RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) has been widely used in studying bacterial genetic variations. This research aims to determine the genetic profile of bacterial isolates and the ability of primers in the RAPD reaction PCR in producing genetic profiles of bacterial isolates from Ganges River water samples using the RAPD technique. Ganges River water samples were taken in murky, polluted and non-flowing conditions and inoculated on agar media to isolate bacteria. Bacterial DNA was extracted and amplified using the universal primer OPB-12 dan OPC-15, and the result was that the positive isolate contained DNA in it, with codes C'C and C'K, where C'C was the code for the Cream bacterial isolate, while C'K was the code for the Yellow bacterial isolate.

Keywords: *Bacteria, DNA isolation, Bacterial genetic profile, Electrophoresis*

ABSTRAK

Sungai merupakan salah satu tempat yang rentan terkontaminasi oleh bakteri akibat dari faktor-faktor ulah manusia contohnya pembuangan sampah sembarangan ke sungai. Sungai Gangga merupakan salah satu sungai yang terletak di sepanjang area FMIPA UNP. Teknik PCR dengan penanda RAPD (random amplified polymorphic DNA) telah dipergunakan secara luas dalam studi variasi genetik bakteri. Penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui profil genetik isolat bakteri dan kemampuan primer pada reaksi RAPD PCR dalam Menghasilkan profil genetik isolat bakteri dari sampel air sungai gangga menggunakan teknik RAPD, Sampel air Sungai Gangga diambil dalam kondisi air keruh, tercemar dan tidak mengalir dan diinokulasi pada media agar untuk mengisolasi bakteri, DNA bakteri diekstraksi dan diamplifikasi dengan menggunakan primer OPB-12 dan OPC-15, dan didapatkan hasil bahwa isolat positif mengandung DNA di dalamnya, dengan kode C'C dan C'K, dimana C'C adalah kode isolat bakteri Cream, sedangkan C'K adalah kode untuk isolat bakteri Kuning.

Kata kunci: *Bakteri, Isolasi DNA, Profil genetik bakteri, RAPD, Elektroforesis*

PENDAHULUAN

Bakteri adalah kelompok organisme mikroskopis yang pada umumnya bersel tunggal, dan tidak memiliki membran inti sel. Pada umumnya organisme ini memiliki dinding sel namun tidak berklorofil. beberapa kelompok bakteri dikenal bermanfaat untuk kehidupan, antara lain bakteri telah digunakan dalam sektor industri pangan. namun ada juga bakteri yang merugikan, (Rahmaningsih *et al.*, 2017). Air minum adalah air yang melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum. Air minum aman bagi kesehatan apabila memenuhi persyaratan fisika, mikrobiologis, kimiawi, dan radioaktif. Parameter wajib penentuan kualitas air minum secara mikrobiologi adalah total bakteri *coliform* dan *Escherichia coli*, kontaminasi dengan bakteri *coliform*. (Pratiwi, 2017).

Salah satu penyebab terjadinya pencemaran air adalah mikroorganisme patogen yang terkandung dalam tinja karena dapat menularkan berbagai macam penyakit apabila masuk ke dalam tubuh manusia. Dampak limbah ini akan semakin terlihat pada saat musim kemarau dikarenakan volume debit air sungai mengalami penurunan sehingga kemampuan (Zikra *et al.*, 2018). Menurut Prayitno, (2009), masalah air tercemar limbah domestik lebih besar karena *coliform* yang ada dalam limbah dan perilaku hidup masyarakat yang kurang sehat. Tingginya indikasi limbah domestik sebagai penyebab penyakit ini, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Vibrio cholera*, berbagai jenis virus. Bakteri *coliform* dapat digunakan sebagai indikator karena densitasnya berbanding lurus dengan tingkat pencemaran air (Kusuma *et al.*, 2015).

Metode RAPD mampu menampilkan hasil dalam waktu relatif singkat. Hasil dapat segera divisualisasi setelah proses amplifikasi DNA, Karakter yang muncul sangat banyak tergantung pada primer yang digunakan. Kelemahan metode ini adalah reproducibility yang rendah, namun kelemahan ini dapat diatasi dengan konsistensi kondisi PCR (Rai *et al.*, 2008) Primer yang dibuat berdasarkan urutan sekuen mikrosatelit yang menyebar di sepanjang genom dan bersifat co-dominant perlu digunakan untuk mengeksplorasi variasi genetik. Primer inter-simple sequence repeat (ISSR) yang (Angisimanto *et al.*, 2007). Sebagian besar pita DNA informatif pada RAPD biasanya berjarak 300-3000 bp. Metode RAPD telah digunakan dalam proses genetika fingerprinting, menyajikan peta hubungan kekerabatan, menemukan gen ketahanan penyakit, identifikasi penanda spesifik kromosom dan karakterisasi hibrida somatik, (Spuriyanto *et al.*, 2006).

Mengamplifikasi sekuen di antara mikrosatelit dapat dengan cepat membedakan individu individu yang berkerabat dekat (Angisimanto *et al.*, 2007). Menurut Angraheni & Mulyaningsih (2018), hasil visualisasi dari metode RAPD dikelompokkan dengan analisis klaster, analisis klaster adalah suatu teknik yang digunakan untuk mengklasifikasikan objek ke dalam kelompok yang cenderung mirip satu sama lain dan berbeda jauh dengan objek dari kelompok lain. Primer-primer ini tidak memerlukan lokus spesifik karena primer-primer tadi akan mencari setiap tempat di dalam genom yang mengandung motif mikrosatelit (Tuwo *et al.*, 2021).

Kunci RAPD bahwa primer yang digunakan dengan urutan acak, primer tidak spesifik untuk gen tertentu atau dengan urutan tertentu dan mengikat DNA komplemennya dari

bermacam-macam spesimen DNA. Primer yang digunakan tunggal dan menganealing tempat pelekatan primer (priming site) dengan arah yang berlawanan untuk terjadinya amplifikasi. (Raza *et al.*, 2020) Primer menentukan daerah genom mana yang akan diamplifikasi melalui PCR. Walaupun faktor lain pada metode ini termasuk waktu denaturasi, waktu extension dapat mempengaruhi banyak hasil, Urutan primer yang digunakan dalam analisis ini panjangnya dapat bervariasi, kadang dipakai sebagai standar universal. Primer 10 mer paling sering digunakan Arsyad *et al.*, (2022), tergantung pada daerah pelekatan primer yang komplemen yang dicampuri pada genom individu tersebut dan panjangnya urutan DNA yang diintervensi, primer mengamplifikasi 0 sampai 30 produk amplifikasi penggunaan teknik RAPD primer OPD-13 dapat menghasilkan 7 pita dan OPD-20 menghasilkan 2 pita pada tanaman kelapa sawit, teknik RAPD primer OPO-16 dapat menghasilkan 2 pita pada tanaman kelapa sawit (Amelia, 2022). dengan menggunakan 2 'arbitrary' primer RAPD terpilih, yaitu OPA 16 dan OPB 12 ng merupakan primer yang menghasilkan pita polimorfik dan sebelumnya diuji Sukweenadhi, (2023), bahwa DNA genomik bakteri mengkodekan semua informasi genetik yang diperlukan untuk memfungsikan sel bakteri. Gen pengkode 16S rRNA banyak digunakan untuk identifikasi bakteri dengan pendekatan molekuler karena memiliki daerah yang konservatif dan variatif.

Isolasi DNA genomik yang cepat dari mikroorganisme sangat penting untuk analisis DNA seperti PCR dan Gen pengkode 16S rRNA dapat diamplifikasi dengan metode PCR menggunakan primer universal spesifik terhadap gen 16S rRNA. Produk PCR dapat digunakan untuk identifikasi jenis bakteri dengan metode sekuensing. Identifikasi ini sangat penting mengingat potensi yang dimiliki bakteri endofit Andaleh sebagai penghasil senyawa antimikroba dibidang pengobatan (Rahmat & Putri, 2019). Menurut Suarman *et.al* (2019), metode RAPD-PCR juga mentolerir tingkat kemurnian yang dihasilkan. Namun perlu adanya senyawa-senyawa kontaminan yang dapat mengganggu reaksi PCR seperti polisakarida dan metabolit sekunder.

Analisis RAPD secara cepat dan efektif dapat mengidentifikasi penanda genetik untuk membedakan spesies-spesies yang berhubungan erat. RAPD digunakan sebagai alat untuk pembuatan peta genetik, identifikasi suatu strain, spesies, populasi dan sistematik bermacam-macam organisme (Sari *et al.*, 2022). Penanda RAPD dapat membedakan populasi laboratorium yang secara morfologi tidak bisa dibedakan. Metode RAPD merupakan metode yang penting untuk menyelidiki fenomena genetik pada organisme yang tersebar luas pada berbagai macam organisme termasuk bakteri, dan tanaman tingkat tinggi (Indrayati *et al.*, 2021). Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan penelitian yang berjudul “Profil genetik isolat bakteri dari sampel air sungai gangga menggunakan teknik RAPD”

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: mikropipet, *tube*, tips berbagai ukuran, bunsen, *centrifuge*, vortex, mesin PCR, *water bath*, nanodrop, *Laminar Air Flow*, alat elektroforesis, erlenmeyer, *microwave*, timbangan, jarum ose.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: isolat murni bakteri, TE 1x, NFW, Primer RAPD (OPB-12 & Opc-15), Mastex Mix, Buffer TAE 1x, Gel agarose 1,2%, Loading dye, Gel red 1:1000, Ladder 100bp, Parafilm.

Rancangan Penelitian

Sterilisasi Alat

Alat yang tahan panas (seperti tube PCR, akuades, dan microtips) disterilisasi menggunakan autoklaf. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121⁰C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Adapun alat seperti rak *microtube*, pinset, botol schott, cetakan agarosa, dan spatula dicuci untuk kemudian disterilkan menggunakan alkohol 70%. Pada tahapan pencampuran reagen PCR, alat seperti *mikropipette*, *microtube*, rak *microtube*, disterilkan menggunakan alkohol 70% kemudian dimasukkan ke dalam LAF untuk kemudian disterilkan menggunakan sinar UV selama kurang lebih 10 menit.

Pengenceran Larutan Stok

Larutan stok diencerkan menggunakan rumus pengenceran:

$$V1.M1=V2.M2$$

Keterangan :

V1 = volume awal

M1 = konsentrasi awal

V2 = volume akhir

M2 = konsentrasi akhir

Pengenceran larutan TE 1x menjadi 0,1x

$$V1.1 = 0,1.700$$

$$V1 = 70 \mu\text{L}$$

(Jadi 70 μL TE yang dibutuhkan)

Karena yang dibutuhkan 700 maka diperlukan 630 μL NFW.

Pembuatan Gel Agarosa

Gel agarosa 1,2% dibuat dengan volume 50 mL dengan cara sebanyak 0,6 g bubuk agarosa dicampurkan dengan 100 mL TAE 1x. Campuran dipanaskan dalam *microwave* selama 1 menit. Setelah itu, campuran diaduk hingga bubuk agarosa terlarut sempurna dalam *buffer* TAE, dan kemudian siap dicetak dalam cetakan agarosa.

Pelaksanaan Penelitian

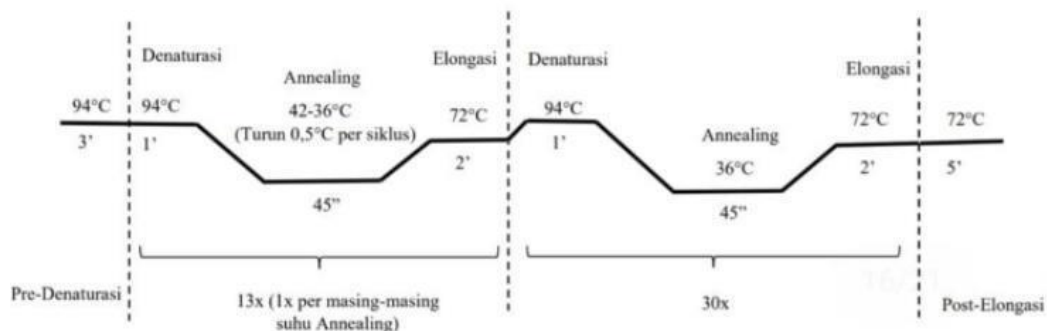
Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan pada masing masing isolat murni (kuning & cream). Pada tahap awal masing-masing isolat diambil 1 koloni tunggal dengan jarum ose dengan bantuan bunsen, 1 koloni dimasukkan kedalam tube 1,5ml yang sudah berisi larutan 630 μl NFW + 70 μl TE yang sudah diencerkan dengan rumus pengenceran, dimana kegiatan ini bekerja di LAF. Setelah dicampurkan kemudian tube masing-masing isolat tadi diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 100⁰C selama 30 menit. Setelah 30 menit sampel

dikeluarkan dan dilanjutkan dengan *sentrifuge* sampel selama 15 menit. Setelah disentrifuge diambil supernatan sampel sebanyak 500 μL ke tube baru ukuran 1,5 mL. Kemudian dicek konsentrasi dan kemurnian dari masing-masing sampel tadi menggunakan Nanodrop (Arif & Putri, 2019 dan Handayani & Putri, 2021)

RAPD PCR

Primer RAPD yang digunakan adalah OPB-12 dan OPC-15. Setiap primer dilakukan 2 kali ulangan (duplo). Dalam meracik sampel untuk PCR harus dilakukan pada kondisi suhu 4°C (bahan-bahan disimpan di dalam es) dan memakai gloves. Yang disiapkan yaitu tube ukuran 1,5ml. komposisi reagen yang dicampurkan pada masing masing sampel isolat yaitu master mix 5 μL + primer RAPD 0,4 μL + 4,6 isolat = 10 μL dalam masing-masing ulangan. Vortex mix PCR selama 3 detik untuk mencampurkan semua komponen. Setelah semua reagen tercampur, sampel tadi dimasukan ke dalam *Thermal Cycler* di-*running* selama 3 jam dengan mengatur suhu dan siklus PCR pada *Thermal cyclers* sesuai gambar dibawah.



Gambar 1. Keterangan pengaturan suhu dan siklus pada *Thermal cyclers*

Elektroforesis

Untuk melihat pita yang dihasilkan dapat divisualisasikan menggunakan sinar violet melalui proses elektroforesis, dengan menggunakan gel agarose. Pertama membuat gel agarose, dengan mengambil gel agarose konsentrasi 1,2% sebanyak 0,6g dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi 100 mL TAE 1x, kemudian dipanaskan dalam microwave hingga mendidih (2-3 menit). Mendinginkan gel agarose di suhu ruang hingga tidak terlalu panas untuk dituang ke cetakan gel. Menyiapkan cetakan gel dan sisir pembentuk sumur. Menuangkan gel agarose ke dalam cetakan hingga ujung sisir terendam kira-kira 0,5 cm. Kemudian lepaskan sisir pembentuk sumur dari gel agarose, lalu menempatkan gel agarose bersama cetakannya di *chamber* elektroforesis dan mengisi *chamber* elektroforesis dengan Buffer TAE 1x hingga gel agarose terendam.

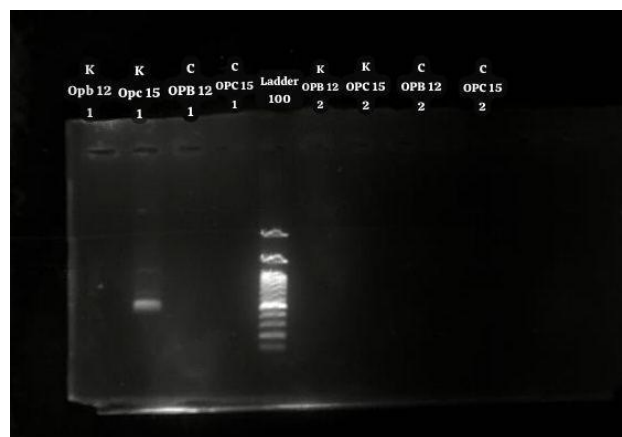
Kedua, menyiapkan campuran Ladder DNA diatas parafilm/selotip dengan mikropipet yaitu Gel red 1;1000=15 μL , loading dye=1 μL , ladder DNA 100bp (mengandung 12 fragmen DNA untai ganda linear cocok untuk menentukan ukuran DNA untai ganda dari 100bp hingga 3.000bp) sebanyak 3 μL . Kemudian setelah tercampur, gel agarose dimasukkan ke dalam salah satu sumur dengan mikropipet (bagian tengah gel agarose).

Ketiga, membuat loading sampel, dengan menyiapkan campuran sampel di atas parafilm/selotip dengan mikropipet yaitu Gel red 1:1000=5 μ L, loading dye=1 μ L, dan sampel DNA=5 μ L. Setelah tercampur, kemudian dimasukkan ke dalam sumur gel agarose dengan mikropipet sesuai ulangan tiap sampelnya. Setelah semua campuran dimasukkan ke dalam sumur gel agarose tutup *chamber* elektroforesis, sumur gel berada pada kutub negatif. Kemudian menyambungkan alat elektroforesis dengan *power supply* dengan mengatur voltase 50 V dan waktu sekitar 30 menit. Setelah sampel hampir seluruhnya masuk ke dalam gel. Matikan power dengan menggunakan sarung tangan. Keluarkan gel dalam cetakan dengan hati-hati, buang sisa buffer yang terbawa, dan pindahkan ke UV Transilluminator untuk divisualisasikan.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

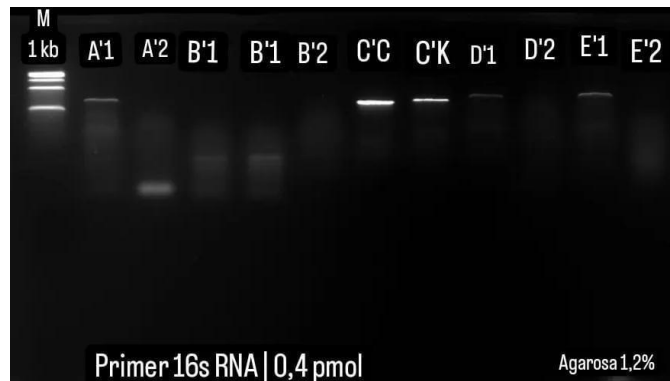
Hasil

Penelitian ini dianalisis secara deskriptif. Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk gambar berupa hasil visualisasi gel elektroforesis menggunakan 51 agarose 1 % dalam buffer TAE dengan kondisi running 110 Voltase selama 30 menit.`



Gambar 2. Hasil Elektroforesis Produk amplifikasi gen primer OPB-12 dan OPC-15.

Gambar 1. menunjukkan bahwa proses amplifikasi gen di dua jalur pertama dengan label OPB-12 dan OPC-15 menunjukkan hasil elektroforesis dari kontrol dengan primer OPB-12 dan OPC-15. Jalur ini seharusnya menunjukkan apakah kontrol berhasil atau tidak. Ada pita yang jelas terlihat di jalur ini, yang menunjukkan adanya amplifikasi DNA.



Gambar 3. Hasil Elektroforesis Produk amplifikasi gen primer universal 16s rRNA

Pembahasan

Primer OPB-12 dan primer OPC-15 adalah jenis primer acak yang digunakan dalam teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Teknik ini digunakan untuk analisis genetik, seperti studi keragaman genetik, pemetaan gen, dan identifikasi varietas tanaman atau hewan, hasil elektroforesis menunjukkan pada Jalur 4-5 hasil amplifikasi dari sample pertama dengan primer OPB-12 dan OPC-15. Pita yang terlihat di jalur ini mengindikasikan keberhasilan amplifikasi DNA. Intensitas dan jumlah pita dapat memberikan informasi tentang variasi genetik dalam sampel tersebut dan pada jalur 6 berisi penanda ukuran DNA (ladder), yang digunakan sebagai referensi untuk menentukan ukuran fragmen DNA yang dihasilkan dalam elektroforesis.

Metode boiling merupakan salah satu metode ekstraksi DNA sederhana dengan memberikan gangguan fisik terhadap sel bakteri berupa pemanasan dengan suhu tinggi (95-100°C). Pemanasan dengan suhu tinggi dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel sehingga mengakibatkan masuknya cairan dan molekul di sekitar sel dan keluarnya materi dari dalam sel. Kemudian DNA dipisahkan untuk selanjutnya digunakan sebagai DNA dalam cetakan proses PCR.

Untuk pengujian ulang menggunakan Primer universal 16s rRNA, dimana primer tersebut dapat mendeteksi DNA dari berbagai individu (bersifat universal). Pengujian dengan primer ini dilakukan untuk memastikan bahwa isolat yang kita peroleh memang benar ada memiliki DNA bakteri di dalamnya. Karena bisa jadi tidak adanya pita yg muncul saat menggunakan Primer RAPD disebabkan oleh primer itu sendiri yang tidak bisa mendeteksi DNA bakteri isolat kita. setelah di uji didapatkan hasil bahwa isolat positif mengandung DNA di dalamnya dengan kode C'C dan C'K, dimana C'C adalah kode isolat bakteri Cream, sedangkan C'K adalah kode untuk isolat bakteri Kuning.

Kegagalan proses PCR dapat dipengaruhi oleh kondisi reaksi PCR. Kegagalan hasil PCR dapat disebabkan kontaminasi reaksi PCR atau RNA yang dapat menutupi DNA target sehingga menghambat proses amplifikasi. Kontaminasi tersebut dapat berasal dari proses pengerjaan yang tidak baik pada tahap isolasi DNA maupun dalam

pembuatan mix PCR. Kegagalan hasil PCR juga dapat dipengaruhi oleh kesesuaian primer yang digunakan dalam proses PCR, dipengaruhi oleh kesesuaian primer yang digunakan dalam proses PCR. Selanjutnya, analisis produk hasil PCR dilakukan dengan teknik elektroforesis menggunakan gel agarose 1% yang dapat memisahkan fragmen DNA yang berukuran 10 - 0.5 kb.

KESIMPULAN

Hasil elektroforesis ini menunjukkan bahwa amplifikasi DNA dengan menggunakan primer OPB-12 dan OPC-15 berhasil baik untuk kontrol maupun untuk dua sampel yang diuji. Pita-pita yang terlihat di setiap jalur mengindikasikan bahwa DNA telah berhasil diamplifikasi dan terpisah berdasarkan ukuran. Penanda ukuran (ladder) membantu dalam menentukan ukuran dari fragmen DNA yang dihasilkan.

REFERENSI

- Afif, R., & Putri, D. H. (2019). 16S rRNA Gene amplification of endophytic bacteria which produces antimicrobial compounds. *Serambi Biologi*, 4
- Agisimanto, D., & Supriyanto, A. (2007). Keragaman genetik pamelon Indonesia berdasarkan primer random amplified polymorphic DNA. *Jurnal Hortikultura*, 17(1).
- Agisimanto, D., Martasari, C., & Supriyanto, A. (2007). Perbedaan primer RAPD dan ISSR dalam identifikasi hubungan kekerabatan genetik jeruk siam (*Citrus suhuniensis* L. Tan) In
- Amelia, R. (2022). Perbandingan Tingkat Polimorfisme Marka Rapd Dan Issr Untuk Seleksi Marka Pada Jambu Mete (*Anacardium occidentale*)= Comparison Of Rapd And Issr Mark Polymorphism Levels For Mark Selection In Cashew (*Anacardium occidentale*) (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin).
- Anggereini, E. (2008). Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), suatu metode analisis DNA dalam menjelaskan berbagai fenomena biologi. *Biospecies*, 1(2).
- Anggraheni, Y. G. D., & Mulyaningsih, E. S. (2018). Evaluasi Keragaman Genetik Sembilan Varietas Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Dengan Marka Rapd- (Evaluation of Nine Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Varieties Genetic Diversity Using Rapd Markers). *Biopropal Industri*, 9(1), 1-8.
- Arif rahmat dan Dwi hilda putri. 2019. "16S rRNA Gene Amplification Of Endophytic Bacteria Which Produces Antimicrobial Compounds. *Bio Sains* Volume 4 Number 1, 2019, 48-53. ISSN: 2534-8731 indonesia. *Jurnal Hortikultura*, 17(2).
- Eriana Adeputri, R., Suryati, D., & Herison, C. Penapisan Tiga Puluh Tujuh Genotipe Tomat dan Seleksi Primer RAPD untuk Toleransi terhadap Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*).
- Handayani, S. O., & Putri, D. H. (2021). Comparison of Fenol-Kloroform Method and Mini-Prep CTAB Method for Chili (*Capsicum annum* L.) Plant DNA Isolation. *Jurnal Serambi Biologi*, 6(2), 37-41

- Indrayati, Y., Pawiyatan Luhur, J. I., & Dhuwur, B. (2021). Politik Hukum Perlindungan Sumber Daya Genetik Untuk Pemanfaatan Obat-Obatan Dalam Sistem Hukum Indonesia J. HUKUM, Polit. DAN KEKUASAAN, 1, 191.
- Kusuma, E. A., Rasyid, R., & Endrinaldi, E. (2015). Identifikasi Bakteri Coliform pada Air Kobokan di Rumah Makan Kelurahan Andalas Kecamatan Padang Timur. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(3).
- Langga, I. F., Restu, M., & Kuswinanti, T. (2012). Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi DNA tanaman bitti (*Vitex cofassus* Reinw) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *J Sains & Teknologi*, 12(3), 265-276.
- Pharmawati, M. (2009). Optimalisasi ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *Grevillea* spp.(Proteaceae). *Jurnal Biologi*, 13(1), 12-16.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Pro-life*, 4(3), 418-429.
- Prayitno, A. (2009). Uji bakteriologi air baku dan air siap konsumsi dari PDAM Surakarta ditinjau dari jumlah bakteri Coliform (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Rahmaningsih, S., Wilis, S., & Mulyana, A. (2017). Bakteri patogen dari perairan pantai dan kawasan tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, 12(1), 1-5.
- Rai, I. N., Wijana, G., & Semarajaya, C. G. A. (2008). Identifikasi Variabilitas Genetik Wani Bali (*Mangifera caesia* Jack.) dengan Analisis Penanda RAPD. *Jurnal Hortikultura*, 18(2).
- Raza, A., Farooq, A. B. U., Khan, W. A., Iqbal, A., Celik, S., Ali, M., & Khan, R. S. A. (2020). Polymorphic information and genetic diversity in *Brassica* species revealed by RAPD markers. *Biocell*, 44(4), 769.
- Sari, R. M., Afifatul A., Ahda, Y., Putri, D.H (2022). *Genotyping of Sumatera local variety of citrus using random amplified polymorphism DNA (RAPD) technique*. *Tropical Genetics*, 2(2), 56-65
- Suarman, D. F., Pramila, C., Oktavira, A. I., Putri, A. A., Ananda, C., Wahyuni, Y., ... & Achyar, A. (2021). Analisis Variasi Genetik Semut Pekerja (*Oecophylla smaragdina*) Menggunakan Teknik RAPD-PCR. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 2, pp. 1131-1138).
- Sukweenadhi, J. (2023). *Pengertian dan Penyusunan Biogenetik Hayati*.
- Supriyanto, A., Agisimanto, D., Purbiati, T., Devy, N. F., & Dwiastuti, M. E. (2006). Analisis Genotip Pohon Induk Jeruk Bebas Penyakit Hasil Perbanyakan Tunas Pucuk dengan Primer RAPD. *Jurnal Hortikultura*, 16(1).
- Tuwo, M., Kuswinanti, T., Nasruddin, A., & Tambaru, E. (2021, November). RAPD primer screening as a preliminary study to analyze the genetic diversity of *Citrus* spp. in South Sulawesi, Indonesia. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 886, No. 1, p. 012017). IOP Publishing.

- Wiguna, I. K. C., & Pharmawati, M. (2021). RAPD Primers Selection for Genetic Variation Analysis of Banana Plant (*Musa spp.*). *Jurnal Biologi UNAND*, 9(2), 47-53.
- Zabur, R. A., Rante, H., Alam, G., & Larekeng, S. H. (2022). KERAGAMAN GENETIK BERDASARKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA DARI *Punica granatum L.* DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 26(2), 63-68.
- Zikra, W., Amir, A., & Putra, A. E. (2018). Identifikasi bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) pada air minum di rumah makan dan cafe di Kelurahan Jati serta Jati Baru Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(2), 212-216.