

Analisis molekuler Gen 16S rRNA untuk identifikasi *Shigella* sp. pada siput air tawar (*Faunus ater*)

[Molecular analysis of the 16S rRNA Gene for the identification of *Shigella* sp. in freshwater snail (*Faunus ater*)]

Masda Admi^{1*}(iD), Veronika Puja Koswari², Winaruddin³(iD), Wahyu Eka Sari⁴(iD), Teuku Zahrial Helmi⁵(iD), Azhari⁴(iD), Faisal Jamin¹(iD)

¹ Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Kopelma Darussalam, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia

² Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Kopelma Darussalam, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia

³ Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Kopelma Darussalam, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia

⁴ Laboratorium Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Kopelma Darussalam, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia

⁵ Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Kopelma Darussalam, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia

ABSTRACT | Freshwater snails (*Faunus ater*) live in shallow, muddy, and sandy waters and obtain their food through a filter-feeding mechanism. These conditions make freshwater snails potentially exposed to various contaminants within their bodies, such as heavy metals and bacteria. This study aims to identify the presence of *Shigella* sp. in *Faunus ater* using 16S rRNA gene analysis. The research method was conducted through observational and laboratory exploration using a modified Carter method and 16S rRNA gene analysis. Phenotypic observations showed bacterial growth in *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) media, producing clear, round-shaped colonies on *Salmonella Shigella Agar* (SSA) media, and were classified as Gram-negative, short rod-shaped bacteria. The 16S rRNA gene analysis results showed that the isolate had a 98.35% similarity to *Shigella flexneri* strain FDAARGOS_692. It can be concluded that the molecular analysis of the 16S rRNA gene of the bacterial isolate from the freshwater snail indicates that the bacteria belong to the genus *Shigella* and are similar to *Shigella flexneri* strain FDAARGOS_692.

Key words | *Shigella* sp., 16S rRNA gene, *Faunus ater*, molecular

ABSTRAK | Siput air tawar (*Faunus ater*) hidup di perairan dangkal berlumpur dan berpasir serta memperoleh makanan melalui mekanisme *filter feeder*. Kondisi tersebut menyebabkan siput air tawar berpotensi terpapar dengan berbagai macam cemaran dalam tubuhnya, seperti logam berat dan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Shigella* sp. pada *Faunus ater* menggunakan analisis gen 16S rRNA. Metode penelitian dilakukan secara observasi dan eksplorasi laboratorium menggunakan metode Carter yang dimodifikasi dan analisis gen 16S rRNA. Hasil pengamatan secara fenotipik menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) yang menghasilkan koloni berwarna bening dan berbentuk bulat pada media *Salmonella Shigella agar* (SSA), dan termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek. Hasil analisis gen 16S rRNA menunjukkan isolat memiliki kemiripan sebesar 98,35% dengan bakteri *Shigella flexneri* strain FDAARGOS_692. Dapat disimpulkan bahwa hasil analisis molekuler Gen 16S rRNA terhadap isolat bakteri dari siput air tawar menunjukkan bakteri dari genus *Shigella* yang memiliki kemiripan dengan bakteri *Shigella flexneri* strain FDAARGOS_692.

Kata kunci | *Shigella* sp., gen 16S rRNA, *Faunus ater*, molekular

Received | 13 April 2025, Accepted | 24 Mei 2025, Published | 30 Mei 2025

***Corresponding author** Masda Admi, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Kopelma Darussalam, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia. **Alamat Email:** admi.masda@usk.ac.id

Citation Admi, M., Koswari, V. P., Winaruddin, W., Sari, W. E., Helmi, T. Z., Azhari, A., & Jamin, F. (2025). Analisis molekuler Gen 16S rRNA untuk identifikasi *Shigella* sp. pada siput air tawar (*Faunus ater*). *Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan*, 7(1), 90–97.

p-ISSN (Media Cetak): 2657-0254

e-ISSN (Media Online): 2797-3530



© 2025 Oleh authors. [Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan](http://journal.umuslim.ac.id/index.php/jipsbp). Artikel ini bersifat open access yang didistribusikan di bawah syarat dan ketentuan [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki beragam flora dan fauna, salah satunya pada jenis biota bahari. Biota bahari yang terbanyak di wilayah Indo-Pasifik adalah jenis moluska (Baderan *et al.*, 2021). Salah satu moluska yang melimpah, tersebar di perairan maupun daratan adalah *Gastropoda* (Pratama *et al.*, 2023). *Gastropoda* yang dapat menyesuaikan diri di beberapa tempat yaitu keong air tawar (Takdim *et al.*, 2019). Anggota moluska lain dari keong air tawar adalah siput air tawar yang dikenal dengan *Faunus ater* dalam bahasa latin, yang merupakan salah satu

dari anggota filum moluska dan kelas gastropoda, dalam bahasa Aceh siput dikenal dengan sebutan “Cue” dan dalam bahasa Padang disebut “Langkitang” (Hidayat *et al.*, 2020 dan Helmi *et al.*, 2020). Siput air tawar atau langkitang hidup di perairan air tawar dangkal yang tersusun atas substrat lumpur dan berpasir, dan memperoleh makanan (bahan organik) dengan cara menyaring (*Filter feeder*). Substrat lumpur sangat disukai siput karena kandungan organik di dalam endapan partikel lumpur dapat menjadi sumber nutrisi bagi siput (Firmansyah *et al.*, 2023). Proses mendapatkan nutrisi siput air

tawar secara *Filter feeder* memungkinkan tubuh siput terpapar oleh berbagai macam bakteri.

Berdasarkan Hidayat et al. (2020), siput air tawar dilaporkan mengandung cemaran logam dan bakteri seperti *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Vibrio* sp. Laporan lain menyatakan bahwa *Shigella* sp. dapat ditemukan menginfeksi kelas gastropoda yaitu pada siput *Pomacea* sp. dan *Lanistes libycus* (Adebayo-tayo et al., 2011). *Shigella* sp. juga dilaporkan menginfeksi pada jenis siput *Pila ovata* (Ehigiator et al., 2015), siput *Pachymelania byronensis* (Anyiam and Ikpesu, 2018), siput *Pila ampullacea* (Opara and Okpe, 2019).

Siput air tawar yang hidupnya memanfaatkan substrat lumpur sebagai sumber nutrisi diduga telah terpapar dengan *Shigella* sp. selama proses hidupnya. Oleh karena itu, pemanfaatan siput air tawar sebagai bahan pangan di masyarakat perlu menjadi perhatian, khususnya terkait kemungkinan kontaminasi *Shigella* sp. pada daging siput yang dikonsumsi. Bakteri *Shigella* sp. dapat menyebabkan berbagai penyakit, seperti diare pada balita (Aini, 2018), Shigellosis atau disentri basiler (Zaidi et al, 2014), dan diare berair pada sapi akibat pakan dan air yang terkontaminasi (Ardat et al., 2023).

Upaya pengawasan cemaran siput dengan bakteri *Shigella*, perlu dilakukan untuk meminimalkan risiko infeksi pada manusia. Metode analisis gen 16S rRNA dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan membandingkan bakteri, terutama pada lingkungan yang sulit dipelajari atau mikrobioma kompleks. Gen 16S rRNA memiliki daerah konservatif (lestari) yang dimiliki oleh semua organisme secara genetika (Rinanda, 2011), dan daerah hypervariable (unik). Daerah konservatif digunakan untuk mengidentifikasi bakteri secara umum, sementara daerah hypervariable digunakan untuk mengklasifikasikan spesies. Berdasarkan dasar informasi yang telah diuraikan di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan identifikasi bakteri *Shigella* sp. pada siput air tawar menggunakan gen 16S rRNA.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Sungai Kecamatan Leupung dan Lhong Aceh Besar serta Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Teknologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala pada bulan November sampai Desember 2024. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *ice box*, kertas label, palu steril, tisu, *handscoon*, masker, cawan Petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, objek gelas, gelas ukur, penyeka kapas (*cotton swab*), *osse* sengkeli, bunsen, pemantik api, *vortex mixer*, *autoclave*, *hotplate*, *waterbath*, sentrifus, *freezer*, *incubator*, mikropipet, tip mikropipet 1000, 200, dan 10 µL, tip mikropipet 2 ml dan 5 ml, mikroskop dan kamera. Penelitian ini menggunakan bahan aquades, NaCl fisiologis, alkohol, *Nutrient broth* (NB), *Nutrient agar* (NA), *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB), *Salmonella Shigella agar* (SSA), kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin, *Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit* (Geneaid), *GT buffer*, *proteinase K*, *GB buffer*, *elution buffer*, *etanol absolut*, *W1 buffer*, *wash buffer*, *TE buffer*, gel agarosa, *fluorosave DNA stain*, *PCR mix* (primer *forward 27f* dan *reverse 1492r*, *DNA template* dan *ddH₂O*), *Marker 100 base pair* (bp) dan *Marker 1 kb* dengan merek *Promega*.

Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan melalui observasi lapangan dan eksplorasi laboratorium. Pengambilan sampel dilakukan di sungai Leupung dan Lhong Aceh Besar. Isolasi dan identifikasi fenotipik bakteri mengacu pada metode Carter yang dimodifikasi (Admi et al., 2024). Analisis molekuler dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan *sequencing* gen 16S rRNA untuk identifikasi bakteri *Shigella* sp. (Admi et al., 2022)

Cara Pelaksanaan dan Parameter Penelitian

Koleksi sampel

Sebanyak 30 ekor siput *Faunus ater*, masing masing 10 ekor dari sungai di Kecamatan Lhong Aceh Besar yaitu Sungai Gle bruk, Sungai Saney, dan Sungai Leupung di Kecamatan Leupung. Cangkang siput *Faunus ater* dipecahkan dan dagingnya dimasukkan ke dalam media BHIB, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Indikator pertumbuhan bakteri pada media BHIB adalah kekeruhan pada media. Setelah itu, dilakukan penanaman pada media SSA dengan metode *Quadrant streak*. Koloni yang diduga *Shigella* sp. secara fenotipik, kemudian dimurnikan dan digunakan untuk analisis DNA.

Pewarnaan Gram

Satu koloni terpisah pada SSA menggunakan *osse* sengkeli diratakan pada objek glass yang telah ditetesi NaCl Fisiologis, dan difiksasi di atas lampu spiritus. Sediaan kemudian digenangi dengan kristal violet selama 3 menit, dan dicuci dengan air mengalir selama 10 detik. Selanjutnya sediaan digenangi dengan lugol selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 10 detik. Tahap selanjutnya, dilakukan *counterstain* dengan alkohol 96% selama 10 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya sediaan digenangi dengan safranin selama 1 menit dan dibilas dengan air mengalir selama 10 detik. Apabila hasil pewarnaan sudah kering, maka sediaan ditetesi minyak emersial dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengamati secara mikroskopis koloni yang tumbuh terpisah pada media SSA.

Ekstraksi DNA bakteri

Suspensi bakteri di dalam media cair dicuci sebanyak 3 kali dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 16.000 *revolutions per minute* (rpm) selama 1 menit, untuk mendapatkan pellet sel. Pellet sel bakteri kemudian dimasukkan ke dalam *tube* 1,5 ml dan ditambahkan 180 µl *GT buffer* kemudian *tube* dihomogenkan. Sebanyak 20 µl *Proteinase K* selanjutnya dimasukkan ke dalam *tube* dan diinkubasi di dalam *waterbath* selama 10 menit pada suhu 60°C. Sebanyak 200 µl *GB buffer* ditambahkan ke dalam *tube* sampel dan dihomogenkan, kemudian diinkubasi pada suhu 70°C selama 10 menit di dalam *waterbath*.

Pada tahap pengikatan DNA, ke dalam larutan sampel ditambahkan 200 µl *etanol absolut* dan dikocok hingga tidak terlihat endapan pada tabung mikro. Sampel dipindahkan ke dalam kolom GD yang telah dipasangkan dengan tabung kolektif, kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifugator selama 2 menit pada kecepatan 10000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi pada tabung kolektif dibuang. Proses isolasi DNA dilanjutkan dengan tahap pencucian yaitu larutan sampel ditambahkan 400 µl *W1 buffer*, dan dimasukkan ke dalam kolom GD, serta disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 13000 rpm. Supernatan yang terdapat pada tabung kolektif dibuang.

Pellet dicuci dengan 600 µl *wash buffer* dan disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 13000 rpm, kemudian disentrifugasi kembali selama 3 menit. Tahap berikutnya dilakukan elusi DNA, dengan menambahkan 100 µL buffer elusi ke dalam *matriks* kolom, kemudian didiamkan selama 3 menit. Larutan selanjutnya disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 16000 rpm.

Hasil isolasi DNA dielektroforesis pada 1% gel agarosa yang sudah ditambahkan dengan pewarna *fluorosave DNA stain*. Elektroforesis dilakukan selama 45 menit pada 80 V. Pengamatan hasil elektroforesis dilihat di atas paparan sinar UV transilluminator, dan didokumentasi menggunakan *Geldoc 1000* (BIO RAD). Keberhasilan isolasi DNA ditandai dengan adanya pita DNA yang tebal dan utuh (tidak terfragmentasi) dan sejajar dengan *marker* DNA 1 kb.

Amplifikasi gen 16S rRNA bakteri

Identifikasi bakteri asal siput *Faunus ater* secara molekuler dilakukan dengan cara mensekuens gen penyandi 16S rRNA. Amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer universal untuk domain bakteri berupa *forward* primer 27f (5'-AGA GTT TGA TCA TGG CTC AG-3') yang terdiri dari 19 bp, dan *reverse* primer 1492r (5'-GGT TAC CTT ACG ACT T-3') yang memiliki 16 basa (nukleotida) (Muharni et al., 2015). Reaksi PCR mengandung PCR *mix* sebanyak 12.5 µl, primer 27f 1 µl, primer 1492r 1 µl, dan DNA *template* 3 µl, dan ddH₂O 7.5 µl. Kondisi PCR yang digunakan yaitu 1 siklus pre-denaturasi (94°C, 5 menit), denaturasi pada (94°C, 1 menit), annealing (55°C, 1 menit), elongasi (72°C, 1 menit), dan post- elongasi (72°C, 10 menit). Proses PCR denaturasi, annealing dan elongasi dilakukan sebanyak 30 siklus (Santosa et al., 2024).

Elektroforesis hasil amplifikasi DNA

Hasil amplifikasi produk PCR dilakukan visualisasi menggunakan elektroforesis menggunakan *marker* 100 base pair (bp) pada 1% gel agarosa, selama 45 menit pada 80 V. Hasil elektroforesis dilihat di atas paparan sinar UV transilluminator, dan didokumentasi menggunakan *Geldoc 1000* (BIO RAD). Keberhasilan produk PCR ditandai dengan adanya pita tebal dan utuh (tidak terfragmentasi).

Sekuensing gen 16S rRNA

Sekuensing DNA dilakukan di perusahaan jasa sekuensing *First Base Co.* Malaysia, sesuai dengan protokol standar DNA *sekuenser* (ABI PRISM 3100). Hasil sekuens nukleotida dibandingkan dengan *GenBank database* melalui program *Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide* (BLASTN) yang terdapat di NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Hasil perbandingan dianalisis secara deskriptif dengan indikator keberhasilan memiliki kemiripan 97% dan dikatakan satu spesies apabila kemiripan yang diperoleh 99% (Reller et al., 2007; Aris et al., 2013).

Konstruksi Pohon Filogenetik

Data yang digunakan diperoleh dari database GenBank di NCBI yang mencakup sekuens nukleotida 16S rRNA dari genus *Shigella*. Sebagai pembanding (*out-group*), digunakan bakteri Gram positif *Bacillus cereus* untuk membantu identifikasi spesies dan memperkuat analisis hubungan filogenetik. Data sekuens tersebut kemudian dikonversi ke format *FASTA* untuk analisis lebih lanjut.

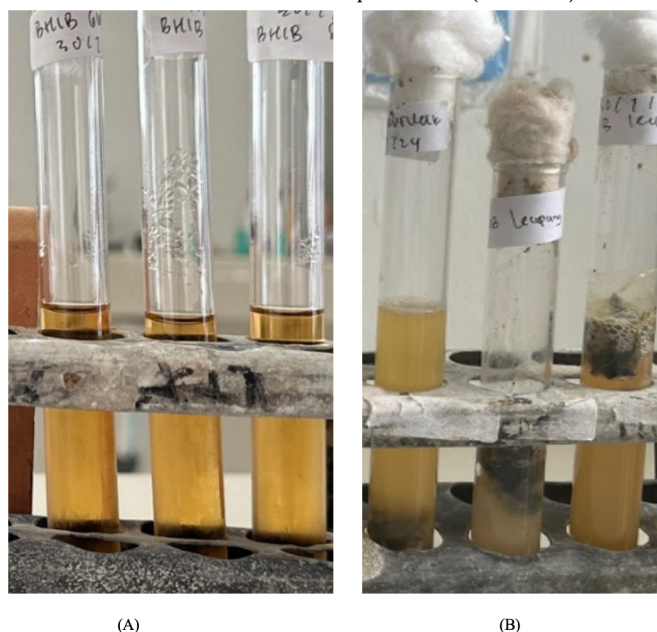
Pensejajaran (*alignment*) dilakukan dengan metode *ClustalW*, memanfaatkan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* versi 10 atau *MEGA X* (Tamura et al., 2007). Untuk menghasilkan pohon filogenetik yang konsisten, ujung-ujung sekuens disesuaikan dan dipangkas (*trimmed*) yang tidak bagus (Oktafia dan Badruzsaufari, 2021).

Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk gambar dan tabel serta dianalisis secara deskriptif.

HASIL

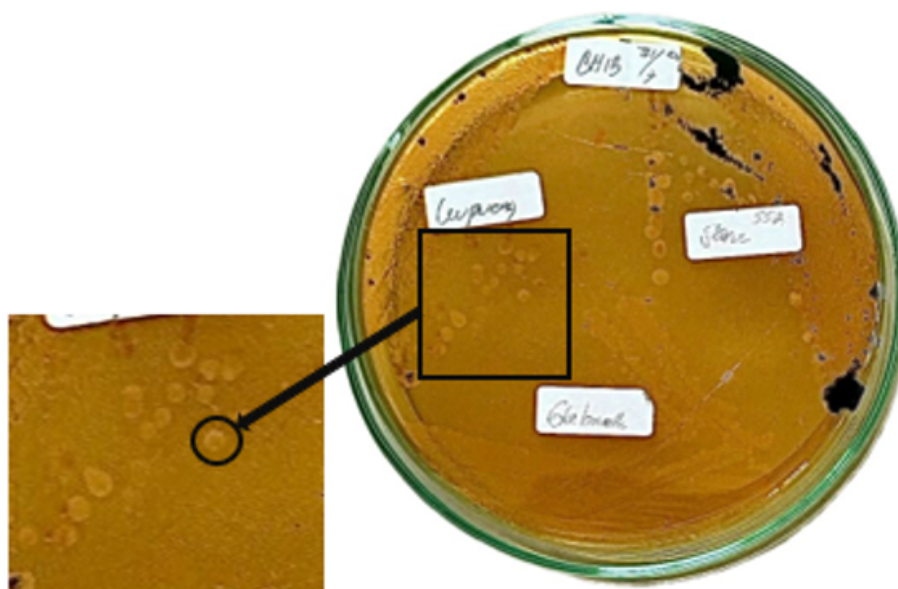
Hasil isolasi 30 ekor siput air tawar menggunakan media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri terhadap semua sampel penelitian yang ditandai dengan kekeruhan pada media (Gambar 1).



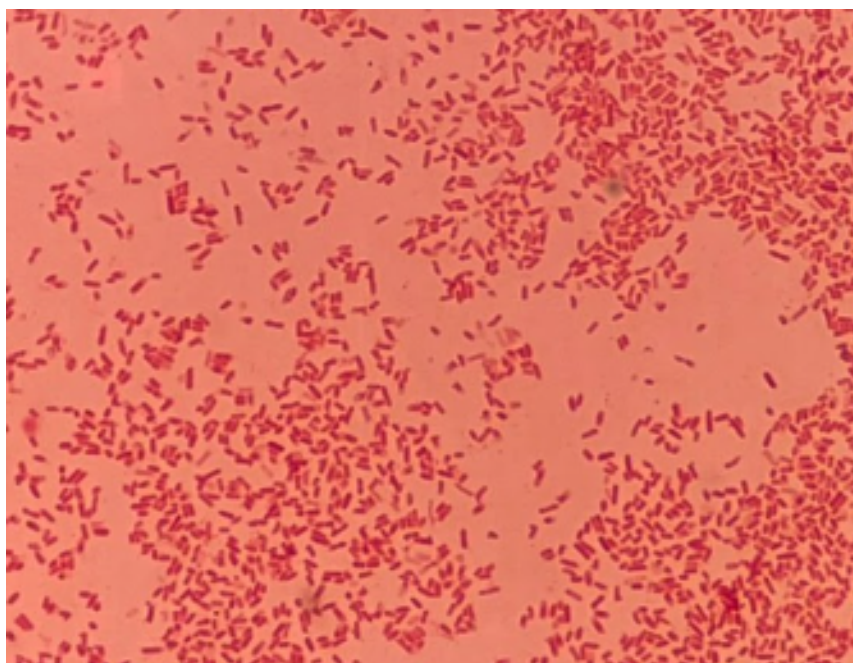
Gambar 1. Perubahan media BHIB dari bening menjadi keruh. Keterangan : A. Sebelum diinokulasi sampel siput air tawar (*Faunus ater*) dan inkubasi 37°C selama 24 jam. B. Setelah diinokulasi sampel siput air tawar (*Faunus ater*) dan inkubasi 37°C selama 24 jam.

Suspensi bakteri yang tumbuh pada media BHIB kemudian dikultur dalam media *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Hasil pertumbuhan pada media SSA menunjukkan koloni yang terpisah berwarna bening,

berbentuk bulat, berukuran kecil dan agak transparan serta tidak menghasilkan H₂S (tidak ada bintik hitam ditengah koloni) (Gambar 2).



Gambar 2. Pertumbuhan koloni bakteri pada media selektif SSA



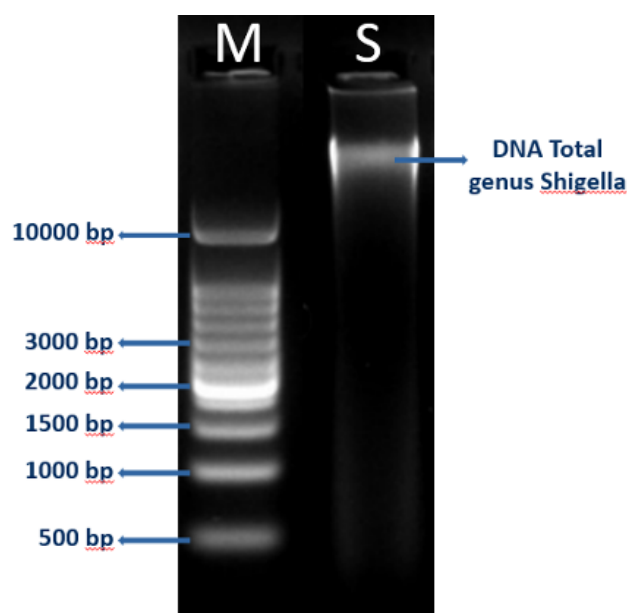
Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram koloni bakteri dari media selektif SSA menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x

Koloni bakteri yang diduga sebagai *Shigella* sp. tersebut dilakukan pewarnaan Gram, untuk mengidentifikasi bakteri secara mikroskopis. Hasil pewarnaan Gram dapat diamati bakteri berbentuk batang pendek dan berwarna merah muda (Gambar 3).

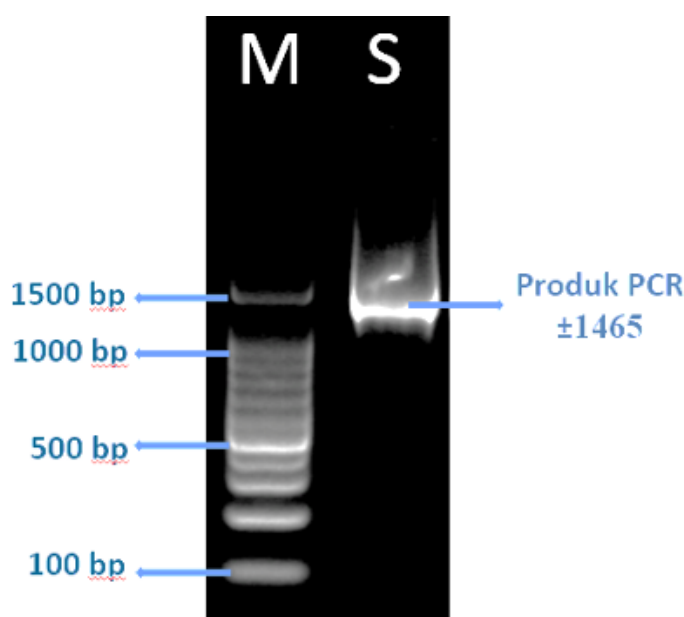
Koloni murni bakteri yang didapatkan dari media SSA dan terlihat seragam secara pewarnaan Gram di stok dalam *Nutrient Agar* (NA) miring yang selanjutnya diisolasi DNA dengan tujuan memperoleh materi genetik murni (DNA) dari sel bakteri yang digunakan dalam proses analisis molekuler.

Hasil isolasi DNA total bakteri di elektroforesis menggunakan *marker* DNA berukuran 1 kb pasang basa atau *base pair* (bp). Hasil elektroforesis koloni bakteri yang teridentifikasi dari media SSA dan Pewarnaan Gram sebagai genus *Shigella* (Gambar 4).

Hasil visualisasi elektroforesis pada Gambar 4, terlihat pita DNA yang tegas, tebal, dan memiliki ukuran lebih dari 1000 bp. Selanjutnya amplifikasi DNA secara PCR memiliki tujuan untuk menggandakan fragmen DNA menggunakan analisis gen 16S rRNA. Hasil elektroforesis gen 16S rRNA isolat bakteri (Gambar 5).



Gambar 4. Hasil Elektroforesis DNA Genom Bakteri Setelah di Isolasi DNA. Keterangan : M = Marker DNA 1 kb dan S : DNA total genus *Shigella*.



Gambar 5. Hasil Elektroforesis dari amplifikasi gen 16S rRNA isolat bakteri *Shigella* sp. dengan ukuran pita DNA ± 1500 bp. Keterangan : M = Marker DNA 100 bp dan S : isolat bakteri *Shigella* sp.

Analisis homologi dilakukan menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide* (BLASTN) dan dibandingkan dengan data base yang tersedia pada GenBank (Tabel 1 dan Gambar 6).

PEMBAHASAN

Pensejajaran sekuen *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) menggunakan salah satu sekuen dari primer, berupa 1492R yang memiliki urutan lebih panjang dibandingkan primer 27F dan menghasilkan sekuen parsial sebesar 822 basa, hasil skuen tersebut didapatkan karena menggunakan primer 27F (*forward primer*) dari satu arah yang secara normal hanya mampu membaca 700-900 basa.

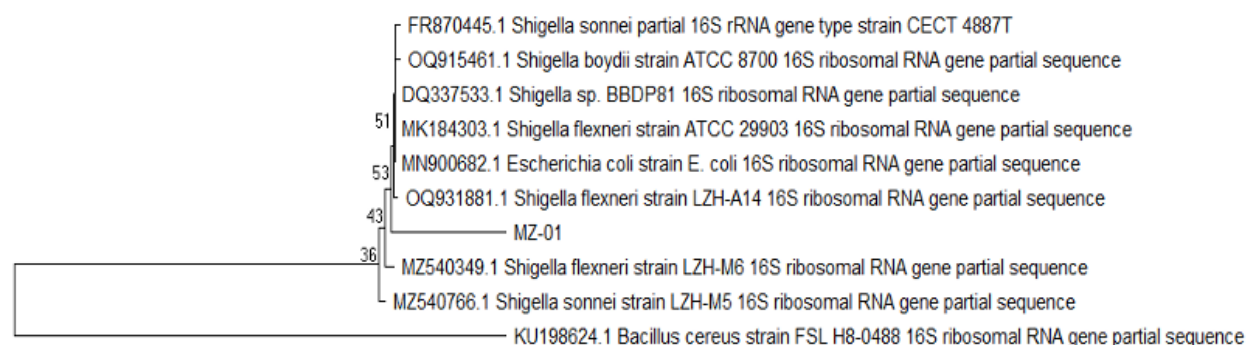
Untuk mendapatkan hasil sekuen secara keseluruhan panjang 1500 bp, biasanya dilakukan sekuensing dua arah (*bidirectional*) dengan primer 27F dan 1492R. Hasil pensejajaran sekuen BLAST dari isolat bakteri MZ01 yang teridentifikasi memiliki kesamaan dengan bakteri *Shigella flexneri* strain FDAARGOS_692 dengan tingkat *Similitary* 98,35% dan nilai *Query Coverage* 97% serta memiliki kesamaan dengan bakteri *Shigella sonnei* strain 19.0821 dengan tingkat *Similitary* 98,35% dan nilai *Query Coverage* 97% yang menunjukkan bahwa isolat bakteri teridentifikasi sebagai bakteri *Shigella* sp. Tingkat kemiripan 98,35% dengan bakteri hasil penelitian membuktikan bahwa bakteri hasil kultur dari media SSA benar tergolong genus *Shigella*.

Konstruksi pohon filogenetik isolat bakteri *Shigella* dari *Faunus ater* menggunakan metode *Kimura 2-parameter* dengan *Bootstrap* 1000x, seperti terlihat pada Gambar 6. Pohon filogenetik ini memperlihatkan hubungan antar strain *Escherichia coli* dan *Shigella* berada di cabang yang sama, sehingga menegaskan kedekatan evolusi antara *Shigella* dan *Escherichia coli*. Hal ini sesuai dengan pernyataan *Biswas* (2019), bahwa antara bakteri *Shigella* dan strain *E. coli* enteroinfeksius yang bereksi silang sulit untuk dibedakan karena keduanya memiliki ciri-ciri biokimiawi yang sama dan dapat menyebabkan disentri dengan cara invasi yang sama. *Bacillus cereus* adalah bagian dari bakteri Gram

positif yang digunakan sebagai outgroup untuk menunjukkan perbedaan dengan kelompok utama seperti *Shigella* sp. Hal ini sesuai dengan pernyataan *Sarastiti et al.* (2019), bahwa semakin tinggi tingkat kesamaan genetik, maka semakin dekat hubungan kekerabatan genetik, persamaan sekuen antara 93-97% dapat mewakili identitas tingkat genus namun pada tingkat spesies berbeda. Berdasarkan laporan penelitian *Stackebrand dan Gobel* (1994), spesies yang berbeda dapat dinyatakan apabila homologi sekuens 16S rRNA $\leq 97,5\%$ dan dikatakan satu spesies jika kemiripannya memiliki 99%.

Tabel 1. Daftar hasil BLAST sekuensing yang menunjukkan kesamaan dengan kelompok *Enterobacteriaceae*.

No	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	Per. Ident	Acc. Len	Accession
1	<i>Shigella dysenteriae</i> strain HDDMN10 16S ribosomal RNA gene, partial squence	<i>Shigella dysenteriae</i>	1064	1064	97%	98,35%	1468	EU881981.1
2	<i>Escherichia coli</i> strain XA42 16S ribosomal RNA gene, partial squence	<i>Escherichia coli</i>	1064	1064	98%	98,35%	1417	KR080752.1
3	Bacterium NLAE-zl-H214 16 S ribosomal RNA gene, partial squence	Bacterium NLAE-zl- H214	1064	1064	98%	98,35%	1416	JX006437.1
4	Uncultured organism clone ELU0067-T443-S-NIPCRAMgAna_000621small subunit ribosomal RNA gene, partial squence	Uncultured organism	1062	1062	97%	98,35%	1457	HQ771289.1
5	<i>Escherichia coli</i> strain Acf_Ec2 16S ribosomal RNA gene, partial squence	<i>Escherichia coli</i>	1062	1062	97%	98,35%	1432	MT845092.1
6	<i>Escherichia coli</i> strain 2 16S ribosomal RNA gene, partial squence	<i>Escherichia coli</i>	1062	1062	97%	98,35%	1457	JQ907528.1
7	<i>Shigella sonnei</i> strain 19.0821.3486 cromosome, complete genom	<i>Shigella sonnei</i>	1062	7261	97%	98,35%	4850874	CP049185.1
8	<i>Escherichia coli</i> isolate SC455 genome assembly. chromosome; omosome1	<i>Escherichia coli</i>	1062	7288	97%	98,35%	4655420	LR778146.1
9	<i>Escherichia coli</i> isolate SC476 genome assembly. chromosome; omosome1	<i>Escherichia coli</i>	1062	7196	97%	98,35%	4747946	LR778151.1
10	<i>Escherichia coli</i> strain 154AHL.1 cromosome	<i>Escherichia coli</i>	1062	7178	97%	98,35%	4722166	CP059988.1
11	<i>Shigella flexneri</i> strain FDAARGOS_689 chromosome	<i>Shigella flexneri</i>	1061	7394	97%	98,35%	4727697	CP054886.1
12	<i>Shigella flexneri</i> strain FDAARGOS_692 chromosome	<i>Shigella flexneri</i>	1061	8444	97%	98,35%	4566993	CP055132.1
13	<i>Shigella flexneri</i> Y strain PE577 chromosome, complete genome	<i>Shigella flexneri</i>	1061	7394	97%	98,35%	4591632	CP042980.1
14	<i>Shigella flexneri</i> strain FDAARGOS_535 chromosome, complete genome	<i>Shigella flexneri</i>	1061	7394	97%	98,35%	4586233	CP034060.1
15	<i>Shigella flexneri</i> 1a strain 0439, complete genome	<i>Shigella flexneri</i>	1061	7394	97%	98,35%	4681581	CP020342.1



Gambar 6. Pohon filogenetik (Kladogram) isolat genom bakteri *Shigella* sp.

Berdasarkan hasil analisis bakteri yang terdapat pada siput air tawar yang diambil dari Sungai Leupung Aceh Besar, secara molekuler menunjukkan adanya bakteri *Shigella* sp. Keberadaan bakteri pada siput tersebut dipengaruhi oleh faktor internal dan faktor eksternal seperti lingkungan, hewan dan manusia. Secara internal, adanya bakteri pada siput diduga karena cara siput memperoleh nutrisi menggunakan mekanisme penyaringan (*filter feeder*), yaitu melakukan penyaringan partikel dan materi organik serta mikroorganisme yang tersuspensi di air. Hal ini sesuai dengan penelitian *Agustina et al.* (2017) bahwa siput air tawar yang hidup di Sungai Reulueng Kecamatan Leupung ditemukan adanya akumulasi

logam di dalam tubuhnya. Penelitian yang sama juga dilaporkan tentang adanya akumulasi logam berat dan bakteri *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan *Vibrio* sp. pada siput air tawar (*Hidayat et al.*, 2020).

Keberadaan bakteri pada siput air tawar secara eksternal disebabkan oleh lingkungan tempat hidup siput air tawar berada di kawasan pemukiman masyarakat. Pemanfaatan sungai oleh masyarakat sebagai tempat pembuangan limbah menyebabkan berbagai agen mikroorganisme dapat ditemukan di dalam sungai. Hal ini sesuai dengan pernyataan *Hidayatillah* (2017), bahwa limbah yang tidak diberi perlakuan sebelum di buang dapat menyebarkan agen

penyakit, terutama pada limbah buangan hasil tambak. Air limbah rumah tangga yang tidak diolah dengan baik dan dibuang langsung ke perairan dapat mengandung bahan kimia berbahaya, logam berat, dan zat-zat organik yang dapat mencemari sumber air (Utami et al., 2023). Pencemaran Sungai tempat hidup siput air tawar juga terjadi melalui pembuangan limbah air sumur yang digunakan oleh Masyarakat. Hal ini pernah dilaporkan Pewo dan Kailola (2018) tentang identifikasi bakteri koliform pada air sumur pemukiman di wilayah Arso IX Distrik Skonto bahwa ditemukan bakteri koliform yang mengkontaminasi air sumur terdiri dari *Shigella* sp, *Klebsiella* sp, *Enterobacter* sp, *Proteus* sp, dan *Escherichia coli*.

Kondisi sungai sebagai habitat siput air tawar yang digunakan untuk lokasi pengembalaan hewan ternak oleh masyarakat juga menjadi faktor eksternal sebagai pememicu terjadinya pencemaran bakteri pada siput. Dampak dari pengembalaan sapi di sekitar Sungai dapat memicu berkembangnya berbagai mikroorganisme pada feses sapi yang berada di dalam sungai, salah satu bakteri yang dapat tumbuh melalui feses sapi adalah bakteri *Shigella* sp. Menurut Ardat et al. (2023) bahwa feses sapi merupakan tempat hidup *Shigella* sp, dengan persentase mencapai 7 %. Interaksi hewan dengan lingkungan yang tercemar dapat menyebabkan infeksi pada hewan, hal ini sesuai dengan pernyataan Qu et al. (2012), bahwa hewan yang hidup di lingkungan dengan sanitasi yang terkontaminasi dapat menyebabkan infeksi penyakit melalui akses air minum dan makanan yang terpapar dengan bakteri *Shigella* sp. dapat menimbulkan penyakit disentri.

Upaya pencegahan atas kontaminasi siput dengan bakteri *Shigella* yang hidup di muara Sungai dapat dilakukan dengan meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap kebersihan lingkungan dan kelestarian sungai dari pengaruh pengembalaan sapi yang lebih tertib. Pemanfaatan siput sebagai sumber bahan baku makanan dapat dilakukan dengan memperhatikan proses pengolahan, terutama dalam proses penyajian sebagai makanan siap saji harus di olah secara higienis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Saputra et al. (2024) bahwa upaya dari masyarakat untuk mencegah penularan penyakit *Shigella* sp. dikaitkan dengan kebersihan makanan, rumah dan lingkungan serta kebersihan perorangan.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa hasil analisis molekuler Gen 16S rRNA terhadap isolat bakteri dari siput air tawar menunjukkan adanya bakteri dari genus *Shigella* yang memiliki kemiripan dengan bakteri *Shigella flexneri* strain FDAARGOS_692. Pemanfaatan siput air tawar yang dinyatakan mengandung bakteri dapat dilakukan dengan memperhatikan cara pengolah dan penyajian siput sebagai bahan makanan secara higienis.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini adalah bentuk hibah yang didanai oleh Universita Syiah Kuala melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) dengan Nomor 334/UN11.2.1/PG.01.03/SPK/PTNBH/2024. Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu selama proses pengumpulan data hingga selesai artikel ini dipublikasi

DAFTAR PUSTAKA

- Adebayo-Tayo, B. C., Onilude, A. A., & Etuk, F. I. (2011). Studies on microbiological, proximate mineral and heavy metal composition of freshwater snails from Niger Delta Creek in Nigeria. *AU Journal of Technology*, 14 (4). 290-298.
- Admi, M., Maulida, R., Helmi, T. Z., Winaruddin, W., & Akmal, Y. (2024). Isolation and identification of *Pseudomonas* sp. on dumbo catfish (*Clarias gariepinus*) in semi-intensive manner. *Arwana: Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan*, 6 (2), 215-221. doi:10.51179/jipsbp.v6i2.2956.
- Admi, M., Darmawi, D., Ferasyi, T. R., & Dasrul, D. (2022). Phylogenetic Tree 16S rRNA Gene of *Acinetobacter soli* Isolated from the Prepuce of Aceh Cattle. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 10(A), 1487-1491. doi: 10.3889/oamjms.2022.10312
- Agustina, R., Ali, S., & Yulianda, F. (2017, January). Akumulasi logam berat pada Siput (*Faunus ater*) dan struktur populasinya di daerah aliran sungai krueng Reuleng, kecamatan Leupung, kabupaten Aceh Besar. In *Prosiding Seminar Nasional Pascasarjana Unsyiah*.
- Aini, F. (2018). Isolasi dan identifikasi *Shigella* sp. penyebab diare pada balita. *BIO-SITE| Biologi Dan Sains Terapan*, 4(1), 07-12. doi: 10.22437/bs.v4i1.5012
- Anyiam, I. V., & Ikpesu, T. O. (2018). Microbiological quality and biochemical composition of water snail (*Pachymelania byronensis*) of lower Niger River basin. *Emergent Life Sciences Research*, 4, 1-10. doi: 10.31783/elrs.2018.420110
- Ardat, D. A. A., Apada, A. M. S., Alwi, M. D., Ismail, I., & Kholilullah, Z. A. (2023). Isolation and Identification of *Shigella* sp. in Cattle Feces in Tamangapa Final Disposal Place, Makassar City. *Jurnal Riset Veteriner Indonesia (Journal of The Indonesian Veterinary Research)*. doi: 10.20956/jrvi.v7i2.26772
- Aris, M., Sukenda, H. E., Fatuhcri, M. S., & Munti, Y. (2013). Identifikasi molekular bakteri patogen dan desain primer PCR. *Jurnal Budidaya Perairan*, 1(3). 43-50. doi: 10.35800/bdp.1.3.2013.2733.
- Baderan, D. W., Hamidun, M. S., & Utina, R. (2021). Keanekaragaman Mollusca (*Bivalvia* Dan *Polyplacophora*) Di Wilayah Pesisir Biluhu Provinsi Gorontalo. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 7(1), 1-11. doi: 10.23917/bioeksperimen.v7i1.13798
- Biswas, S. K. (2019). Isolation and Characterisation of Lytic Bacteriophages Infecting *Shigella* Spp (Doctoral dissertation, University of Malaya (Malaysia)).
- Ehigiator, F. A. R., Akise, O. G., Eyong, M. M., & Jonah, A. A. (2015). Microbial load of freshwater snail (*pila ovata*) from Nembe Creek, Niger delta, Nigeria. *Biological and Environmental Sciences Journal for the Tropics*, 12(2), 802-809.
- Firmansyah, R., Hidayat, Y., & Afza, A. (2023). Karakterisasi Bakteri Pencemar Daging Langkitang (*Faunus ater*). *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 7(3), 21185-21189. doi: 10.31004/jptam.v7i3.9864
- Helmi, T. Z., Winaruddin dan Rusli. (2020). Identifikasi dan karakterisasi siput air tawar berdasarkan analisis dna mitochondria (mtDNA): kaitannya sebagai vector penyakit parasitik pada hewan dan manusia. *Laporan Hasil Penelitian Hibah Lektor, Sumber Dana PNPB Tahun 2020*. Universitas Syiah Kuala.
- Hidayat, Y., Amri, E., & Siska, I. (2020). Deteksi cemaran bakteriologis dan logam berat daging Langkitang (*Faunus ater*) detection of bacteriological contamination and heavy metal in Langkitang (*Faunus ater*) meat. *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 6 (1). 14-20 doi: 10.22202/bc.2020.v6i2.4198
- Hidayatillah, Y. (2017). Dampak Sosial Industrilisasi Tambak Udang Terhadap Lingkungan Di Desa Andulang Kabupaten Sumenep. *Jurnal Teori dan Praksis Pembelajaran IPS*, 2(2), 21-26. doi: 10.17977/um022v2i22017p073
- Muharni, H. Y., & Anggraini, M. (2015). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termo-Lipolitik Dengan Pendekatan Biologi Molekuler Berbasis Gen 16S rRNA. *Semirata* 2015, 4(1).
- Opara, C., & Okpe, C. (2019). Aerobic bacteria flora associated with freshwater apple snail (*Pila ampullacea*) in Kolo creek, Ogbia, Bayelsa State. *Nigerian Journal of Agriculture, Food and Environment* 15(3) 94-100. Oktafia, R. E., & Badruzsaufari, B. (2021). Analisis filogenetik *Garcinia* spp. berdasarkan sekuens gen rRNA. *Ziraa'h Majalah Ilmiah Pertanian*, 46(2), 259-264. doi: 10.31602/zmp.v46i2.4526
- Pewo, L. F., & Kailola, I. N. (2018). Identifikasi Bakteri Koliform Pada Air Sumur Pemukiman di Wilayah Arso IX Distrik Skonto. *Jurnal Kehutanan Papuaasia*, 4(2), 131-138. doi: 10.46703/jurnalpapuasiasia.Vol4.Iss2.173
- Pratama, M. T., Bachtiar, E., Prasetiawan, N. R., & Arief, M. C. W. (2023). Keanekaragaman Gastropoda Pada Berbagai Kondisi Kawasan Ekowisata Mangrove. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 12(3), 790-803. https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i3.54498
- Qu, F., Bao, C., Chen, S., Cui, E., Guo, T., Wang, H., & Mao, Y. (2012). Genotypes and antimicrobial profiles of *Shigella sonnei* isolates from diarrheal patients circulating in Beijing between 2002 and 2007. *Diagnostic*

- microbiology and infectious disease*, 74(2), 166-170. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.026
- Reller, L. B., Weinstein, M. P., & Petti, C. A. (2007). Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. *Clinical infectious diseases*, 44(8), 1108-1114. doi: 10.1086/512818
- Rinanda, T. (2011). Analisis sekuensing 16S rRNA di bidang mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 11(3), 172-177.
- Saputra, I. P. B. A., Arjita, I. P. D., Syuhada, I., & Adnyana, I. G. A. (2024). Hubungan pengelolaan sampah dengan kejadian diare di Desa Pandanan. *Jurnal Ganec Swara* 18(1). 77-84.
- Santosa, A. I., Hilmany, T., Dewi, N. A., Rahmawati, N. E., Putri, E. A., Hafidsya, T., & Widyawan, A. (2024). Cross amplification of 16S rRNA bacterial primer 27F/1492R on horticultural crop chloroplast genome. *Agricultural Science*, 7(2), 172-183. doi: 10.55173/agriscience.v7i2.132
- Sarastiti, S., Suminto, S., & Sarjito, S. (2019). Identifikasi Molekuler Spesies Bakteri Kandidat Probiotik Yang Diisolasi Dari Usus Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Koleksi Dari Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Pasir Laut*, 4(1), 9-15. doi: 10.14710/jpl.2020.30519
- Stackebrandt, E., & Goebel, B. M. (1994). Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 44(4), 846-849. doi: 10.1099/00207713-44-4-846
- Takdim, R. R., & Annawaty, A. (2019). Keanekaragaman Dan Kelimpahan Keong Air Tawar (Mollusca: Gastropoda) Di Sungai Pomua Palandu Dan Sungai Toinasa, Poso, Sulawesi, Indonesia. *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 8(2), 144-152.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular biology and evolution*, 24(8), 1596-1599. doi: 10.1093/molbev/msm092
- Utami, A. P., Pane, N. N. A., & Hasibuan, A. (2023). Analisis dampak limbah/sampah rumah tangga terhadap pencemaran lingkungan hidup. *Cross-border*, 6(2), 1107-1112.
- Zaidi, M. B., & Estrada-García, T. (2014). Shigella: a highly virulent and elusive pathogen. *Current tropical medicine reports*, 1, 81-87. <https://doi.org/10.1007/s40475-014-0019-6>