

ISBN 978-602-72245-0-6

PROSIDING

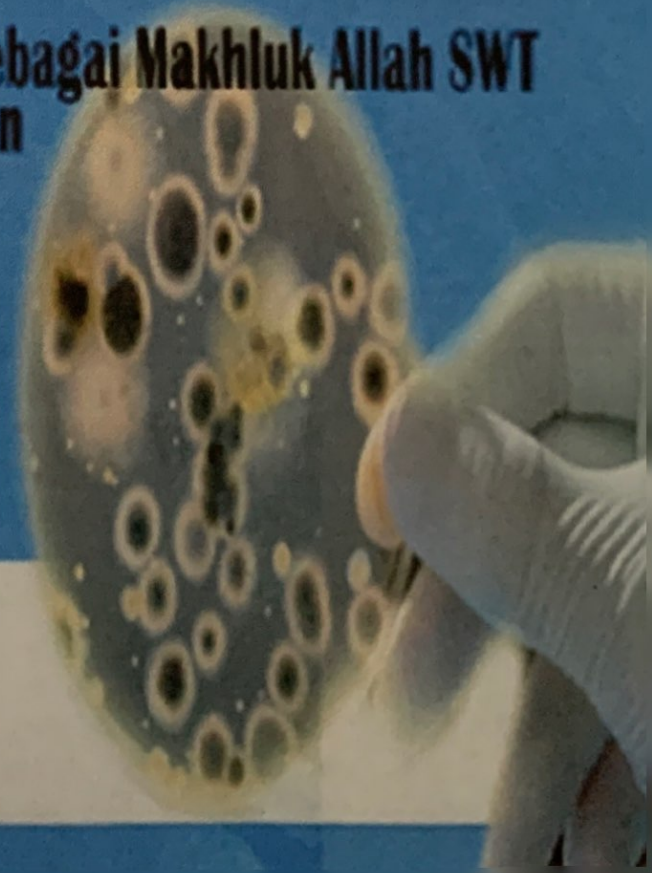


SEMINAR NASIONAL MIKROBIOLOGI KESEHATAN DAN LINGKUNGAN

**Peran Sumber Daya Mikroba Sebagai Makhluk Allah SWT
bagi Kesehatan dan Lingkungan**

Makassar, 29 Januari 2015

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN ALAUDDIN MAKASSAR
www.bio.fst.uin-alauddin.ac.id**



Kajian Variasi Genetik Ikan Beseng-Beseng (*Telmatherina ladigesii*) Dari Sulawesi Selatan Dengan Metode *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD)

JAYADI¹, ANDI TAMSIL², ST HADIJAH³

¹Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Muslim Indonesia

Jl. Urip Sumoharjo Km 5. Makassar, 90231
email: jayadi_fatral@yahoo.com

²Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Muslim Indonesia

Jl. Urip Sumoharjo Km 5. Makassar, 90231
email: a_tamsil@yahoo.com

³Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Muslim Indonesia

Jl. Urip Sumoharjo Km 5. Makassar, 90231
email: siti.hadijah2@umi.ac.id/dija.gowa@yahoo.com

ABSTRAK

Ikan beseng-beseng atau ikan rainbow Sulawesi (*Telmatherina ladigesii*) merupakan ikan hias asli air tawar di Sulawesi Selatan, termasuk ikan endemik dan mempunyai nilai ekonomis penting di Indonesia. Memiliki tingkat eksploitasi yang tinggi menyebabkan ikan ini sudah termasuk dalam kategori terancam punah dalam sejak IUCN 1996. Menurunnya populasi *T. ladigesii* akan menyebabkan variasi genetik akan berubah pada masa selanjutnya yang mengarah terjadinya silang dalam. Untuk mengantisipasi hal tersebut maka perlu dilakukan usaha pengelolaan yang bertanggung jawab seperti restocking, domestikasi, dan pembenihan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi genetik populasi ikan beseng-beseng di Sulawesi Selatan. Pengambilan sampel dilakukan di Kabupaten Maros (Sungai Bantimurung dan S. Abalu), Bone (S. Sawae), Soppeng (S. Asanae) dan Pangkep (S. Gowa Lorong dan S. Jennae). Metode analisis variasi genetik menggunakan *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD). Hasil penelitian yaitu panjang gen ikan beseng-beseng adalah 600 bp. Panjang fragmen mt-DNA primer F berkisar 581 sampai 593 bp, sedangkan primer R berkisar 582 bp sampai 589 bp. Hasil similaritas sekuan gen ikan *Telmatherina ladigesii* lebih dekat dengan *Marosatherina ladigesii* yaitu 99%. Hubungan kekerabatan genetik populasi ikan beseng-beseng di Sulawesi selatan sangat rendah.

Kata Kunci: metode RAPD, *Telmatherina ladigesii*, variasi genetik

PENDAHULUAN

Ikan beseng-beseng atau ikan rainbow Sulawesi (*Telmatherina ladigesii*) dengan nama dagang dikenal *celebes rainbow*, merupakan ikan hias asli air tawar di Sulawesi Selatan, termasuk ikan endemik dan mempunyai nilai ekonomis penting di Indonesia (Kottelat dkk.1993).

Populasi ikan ini terdapat di daerah Sulawesi Selatan meliputi sungai di Kabupaten Maros, Pangkep, Bone, Soppeng dan Gowa (Said dkk. 2005). Khusus ikan jantan yang memiliki penampilan menawan sebagai ikan hias, memiliki permintaan tinggi, menyebabkan penangkapan yang sangat

intensif dan kerusakan kondisi habitat alamnya (Andriani, 2000), sehingga ikan ini termasuk dalam kategori terancam punah dalam sejak IUCN 1996 (Kottelat, 1996, IUCN, 1996). Menurunnya populasi ikan beseng-beseng akan menyebabkan variasi genetik akan berubah pada masa selanjutnya. Kecilnya populasi ikan beseng-beseng yang tersisa akan mengarah terjadinya silang dalam yang berakibat kepada perubahan keragaman genetik. Dunham (2002) menjelaskan bahwa variasi genetik penting untuk kelangsungan hidup jangka panjang suatu species dan juga dapat menjamin fitness suatu spesies atau populasi dengan memberikan spesies atau

populasi tersebut kemampuan untuk beradaptasi pada perubahan lingkungan.

Untuk mengantisipasi hal tersebut maka perlu dilakukan usaha pengelolaan yang bertanggung jawab seperti restocking, domestikasi, dan pembenihan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi genetik populasi ikan beseng-beseng di Sulawesi Selatan dengan menggunakan *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD).

METODE

Sampel ikan beseng-beseng ditangkap dari sungai di Kabupaten Maros (S. Bantimurung dan S. Abalu), Kabupaten Bone (S. Sawae), Kabupaten Soppeng (S. Asanae) dan Kabupaten Pangkep (S. Jenaedan, S. Gowa Lorong).

Kegiatan analisis ekstraksi DNA dan amplikasi DNA dilakukan di laboratorium Bioteknologi, Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau, Kabupaten Maros, provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia, sedangkan sekuensing DNA dianalisis ke First BASE Laboratories, The Gemini Singapore Science Park melalui PT. Genetika Science Indonesia, di Jakarta.

Ekstraksi DNA dilakukan metode Asahida dkk, (1996) dengan mengambil sampel 10-15 gram dimasukkan ke dalam efendorf 1,5 ml lalu ditambahkan 3 ml 1 x buffer TNES-UREA (6 M EDTA pH 7,5) dan 1 % SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) pada pH 7,5. Sebanyak 0,8 mg proteinase K ditambahkan dan di induksi pada suhu 37°C selama 12 jam untuk pemecahan jaringan. Selanjutnya ditambahkan 6 M NaCl sebanyak 1/3 – 1/2 dari volume larutan dan disentrifuse pada kecepatan 3500 rpm selama 2 menit pada suhu kamar. Pengendapan DNA dilakukan dengan memindahkan larutan supernatan yang mengandung DNA ke dalam efendorf baru yang telah berisi 300 µl isopropanol 100 %. Pengadukan dilakukan dengan membolak-balik tabung efendorf sebanyak 50 kali hingga terbentuk benang-benang berwarna putih yang merupakan benang DNA yang terbentuk. Selanjutnya disentrifuse pada 3500 rpm

selama 25 menit dan DNA akan mengendap. Larutan supernatan dibuang dan efendorf diletakkan di atas kertas tissue dengan posisi terbalik hingga kering. Kemudian ditambahkan 300 µl etanol 70 % dan dibolak-balik agar DNA tercuci sempurna. Efendorf disentrifuse kembali dengan kecepatan 14000 rpm selama 1 menit. Larutan supernatan dibuang dan alkohol yang tersisa dihilangkan dengan cara meletakkan efendorf pada posisi terbalik pada suhu ruang. DNA dilarutkan dengan buffer TE (10 mM Tris-HCL pH 8, 0,1 mM EDTA) sebanyak 500 µl. Keberadaan DNA genom, dapat diketahui dengan elektroforesis 3 µl DNA hasil ekstraksi ditambahkan dengan 1 µl loading buffer pada gel agarosa 1%. Keberadaan DNA pada gel dapat dilihat dengan menggunakan ultraviolet illuminator. Gel agarosa 1% dibuat dengan mencampurkan agarosa sebanyak 0,5 g dengan 50 ml larutan tris borat EDTA (TBE 1%). Larutan dipanaskan hingga berwarna bening, selanjutnya dituangkan ke dalam cetakan dan sisir/comb. Gel yang telah membeku dapat langsung digunakan untuk elektroforesis atau di simpan/stok dengan merendam dalam larutan TBE 1%.

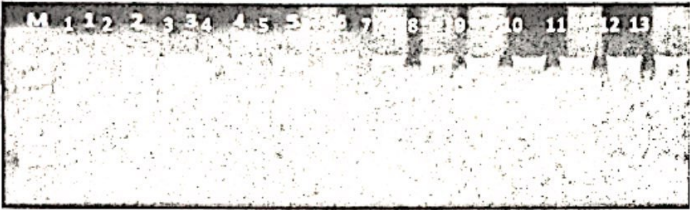
Amplifikasi sampel menggunakan primer mt-DNA forward F (5'CGC CTG TTT AAC AAA AAC AT-3') total length=20 dan reversenya menggunakan primer mt-DRA R (5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ATG T-3) dengan total length =22. Pengamplifikasi dilakukan melalui metode PCR dengan komposisi bahan : 2 µl primer tunggal (OPA kits dari OPERON Technologies), 3 µl DNA dan 18 µl air; dengan total volume 23 µl yang dicampur dalam 1 unit *dry tag*. Sampel dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan *cycle, denaturasi, annealing* dan *elongasi*. Proses terakhir adalah penstabilan suhu *elongasi* hingga mencapai 4°C. Keberadaan hasil PCR dicek pada gel agarosa 2 % yang dielektroforesis dan selanjutnya diamati di ultraviolet illuminator. Analisis profil fragmen RAPD menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool* (Blast-N untuk sekuen nukleotida). Untuk melihat similaritas sekuen menggunakan program GENETYX versi 7.

HASIL

Ekstraksi Genom Ikan beseng-beseng. Hasil ekstraksi DNA genom yang diperoleh memberikan hasil ekstraksi yang dapat diamplifikasi lebih lanjut, karena menghasilkan fragmen tunggal dengan berat molekul sekitar 23.130 bp.

DNA yang terekstraksi pada hasil penelitian ini adalah DNA total/genom dan

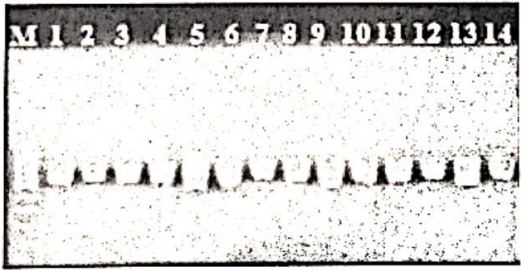
merupakan DNA keseluruhan bagian sel yang ada pada jaringan yang diekstraksi. Marker yang digunakan adalah H Ind III. Keterangan: 1-3 (Sungai Bantimurung), 4-5 (Sungai Aballu), 6-7 (Sungai Goa lorong), 8-9 (Sungai Jenae), 10-11 (Sungai Asanae), dan 12-13 (Sungai Sawae). Hasil ekstraksi genom dapat dilihat pada Gambar 1 dengan standar ukuran molekul 100 bp DNA ladder (M).

Parameter	Hasil Pengujian	Spesifikasi Metode
genom 23.130 bp		Metode fenol kloroform (sampel dipreservasi dalam Buffer TNES-Urea)

Gambar 1. Hasil ekstraksi genom populasi ikan beseng-beseng dengan standar ukuran molekul 100 bp DNA ladder (M).

Amplifikasi mt-DNA Ikan beseng-beseng. Panjang gen ikan beseng-beseng yang berhasil diamplifikasi (PCR) mt-DNA pada penelitian ini adalah 600 bp. Keberhasilan

amplifikasi (PCR) mt-DNA dapat dilihat pada Gambar dibawah ini (Gambar 2) dengan M = Marker 100 bp.

Parameter	Hasil Pengujian	Keterangan
mt-DNA		M = Marker 100 bp

Gambar 2. Fragmen tunggal gen ikan beseng-beseng hasil amplifikasi (PCR) mt-DNA

Hasil Sekuensing mt-DNA ikan Beseng-Beseng. Hasil sekuensing dari Amplifikasi PCR mt-DNA ikan beseng-beseng telah berhasil dilakukan. Hasil sekuen dapat dibaca melalui *software sequencing scanner*. Analisis sekuensing PCR mt-DNA ini dilakukan bolak balik dengan primer mt-DNA R (Tabel 1).

Panjang fragmen DNA ikan Beseng-beseng yang hidup diperairan Sulawesi Selatan yaitu yang disekuensing dengan primer F berkisar 581 bp sampai 593 bp, sedangkan yang disekuensing dengan primer R berkisar 582 bp sampai 589 bp. Total panjang fragmen DNA ikan Beseng-beseng yaitu 1166-1180 bp.



Tabel 1. Panjang fragmen DNA hasil sekuensing dari ikan beseng-beseng dengan menggunakan primer mt-DNA F dan mt-DNA R.

Sampel	Panjang fragmen DNA (bp) Primer mt-DNA F	Panjang fragmen DNA (bp) Primer mt-DNA R
S.Bantimurung	583-585	583-589
S.Abalu	584-593	585-587
S.Gowa Lorong	582-590	582-587
S.Jenae	583-591	585-589
S.Asanae	582-584	586-587
S.Sawae	581-587	587-588

Similiritas sekuen gen ikan beseng-beseng. Analisis BLAST-N gen ikan beseng-beseng terhadap gen ikan yang ada di Bank gen

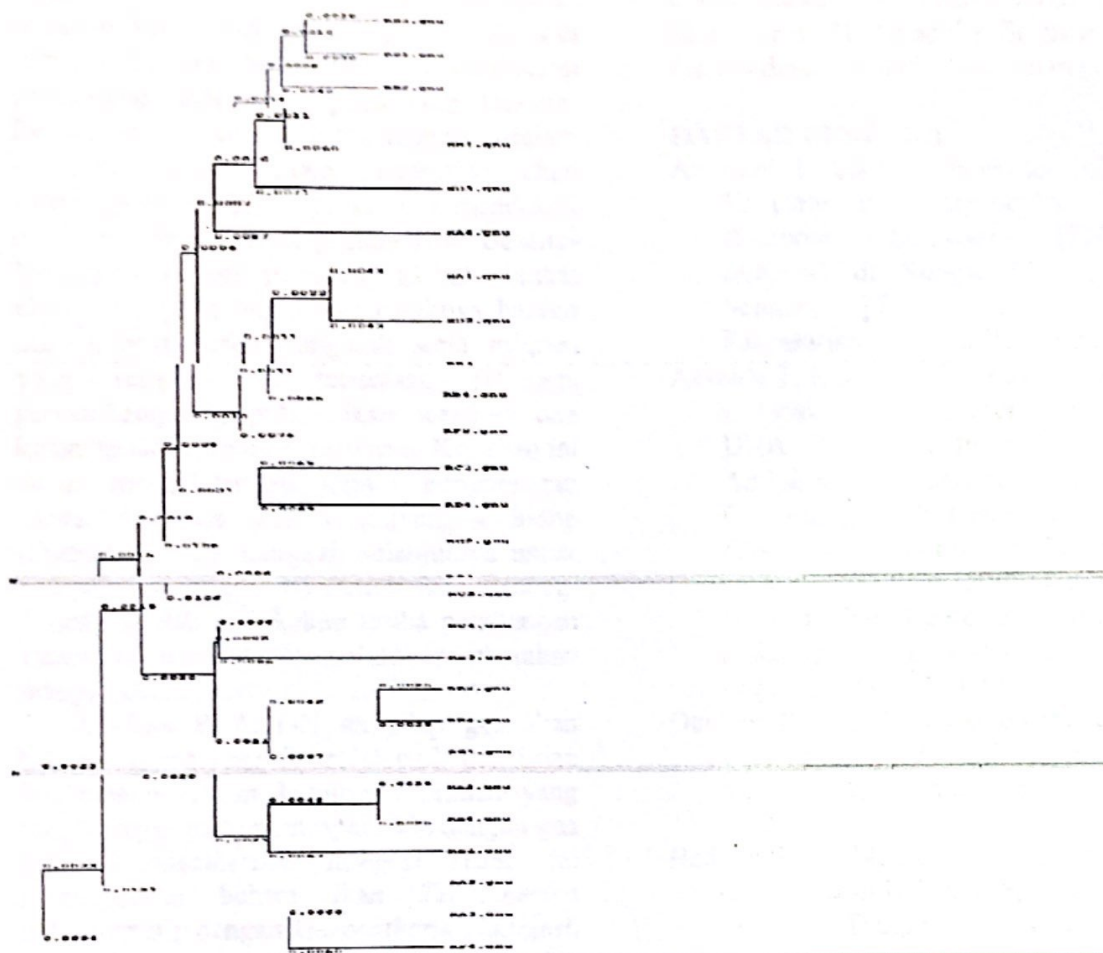
memperlihatkan kemiripan dengan sekian banyak gen ikan yang telah dilaporkan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Similaritas sekuen gen ikan *Telmatherina ladiges* yang terdapat dalam Gen Bank

Description	Score Maximum	Query cover	Similarity max Identity
<i>Marosatherina ladiges</i> 16S ribosoma RNA qene partial sequence, mitochondrial gene for mithochondrial product	994	92%	99%
<i>Oreochromis niloticus</i> strain America mitochondrion, complete qenome	728	97%	90%
<i>Oreochromis niloticus</i> strain Philippines mitochondrion, complete qenome	728	97%	90%
<i>Oreochromis niloticus</i> strain Egypt mitochondrion, complete qenome	728	97%	90%
<i>Iso hawailensis</i> mitochondrial DNA complete qenome	725	97%	89%
<i>Oreochromis sp</i> 'red tilapia' mitochondrion, complete qenome	723	97%	89%
<i>Haplochromis nigripinnis</i> , mitochondrion, complete qenome	723	97%	89%
<i>Capros aper</i> mitochondrial DNA complete and partial sequence	723	97%	90%
<i>Oreochromis sp</i> , KM-2005 mitochondrial DNA complete qenome	723	97%	89%

Filogenetik ikan beseng-beseng. Hasil dari urutan nukleotida yang didapat kedua primer yang digunakan maka diperoleh jarak genetik antara individu ikan beseng-beseng di perairan Sulawesi Selatan dapat dilihat dari Gambar 3. Jarak genetik ikan beseng-beseng dari S. Bantimurung - S. Jenae (0,0022), S.

Abalu - S. Jenae (0,0010), S. Bantimurung - S. Sawae (0,0094), S. Gowa Lorong - S. Sawae (0,0012), S. Gowa Lorong - S. Jenae (0,0031), S. Gowa Lorong-Asanae (0,0086), S. Abalu - S. Jenae (0,0022), S. Abalu - Bantimurung (0,0022).



Gambar 3. Filogenetik gen ikan beseng-beseng di perairan Sulawesi Selatan

PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi DNA genom menunjukkan bahwa dengan menggunakan larutan preservasi telah berhasil dilakukan dengan tingkat kemurnian DNA genom yang tinggi, jelas dan jernih. Indikasi tersebut menunjukkan bahwa preservasi TNES urea dan metode Phenol-Chloroform efektif digunakan untuk isolasi DNA genom ikan beseng-beseng seperti yang dilakukan oleh Asahida *dkk* (1996), Dahlia *dkk* (2009), Parenrengi (2001), dan Hadijah (2014).

Panjang fragmen DNA ikan beseng-beseng yang hidup di perairan Sulawesi Selatan dari Tabel 1 yaitu di perairan (sungai) Kabupaten Maros (Sungai Bantimurung dan Sungai Abalu Bone (Sungai Sawae), Pangkep (Sungai Jenae dan Sungai Gowa Lorong) dan

Soppeng (Sungai Asanae), yang disekuensing dengan primer F berkisar 581 bp sampai 593 bp, sedangkan yang disekuensing dengan primer R berkisar 582 bp sampai 589 bp. Total panjang fragmen DNA ikan Beseng-beseng yaitu 1166-1180 bp. Hasil ini menunjukkan bahwa variasi ukuran fragmen baik antara primer maupun antara populasi adalah sangat kecil, perbedaan ukuran fragmen tersebut juga didapat pada ikan Butini, *Glossogobius matanensis* 200-1450 bp (Hamal, 2006), ikan beloso, *Glossogobius sp* 456-607 bp (Hadijah, 2014).

Hasil dari urutan nukleotida pada filogenetik ikan beseng-beseng dengan menggunakan program *Unweighted Pair Group Arithmetic Average* (UPGMA) menunjukkan rendahnya variasi genetik yang



ISBN 978-602-72245-0-6
Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan
Makassar, 29 Januari 2015



Ekologis Serta Strategi Pengembangan
Ikan Pelangi Sulawesi, *Telmatherina*
ladigesii. Makassar: Konferensi Nasional

Akuakulture (MAI), 23-25 November
2005.