

KARAKTERISTIK GENETIK INDUK RAJUNGAN, *Portunus pelagicus* DARI BEBERAPA PERAIRAN MELALUI ANALISIS RFLP MT-DNA

Sari Budi Moria, Haryanti, Gusti Ngurah Permana, dan Bambang Susanto

ABSTRAK

Karakteristik genetik induk rajungan yang disampling dari beberapa perairan Cilacap (Jawa Tengah), Situbondo (Jawa Timur), Jembrana (Bali), dan P. Saugi (Sulawesi Selatan) telah diteliti dengan menggunakan metode RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) mitochondria-DNA (mt-DNA). Hasil yang diperoleh dari amplifikasi PCR dengan primer universal menghasilkan pita tunggal dengan berat molekul sebesar 450 bp. Pemotongan dengan enzim restriksi *Sau 3AI* dan *Dra I* menunjukkan bahwa variasi genetik tertinggi terdapat pada populasi dari perairan Cilacap (Jawa Tengah) yaitu sebesar 0,14. Populasi rajungan dari perairan Situbondo (Jawa Timur) dan Jembrana (Bali) mempunyai jarak genetik yang dekat (0,0013), sedangkan populasi rajungan dari perairan P. Saugi (Sulawesi Selatan) mempunyai jarak genetik yang paling jauh (0,002).

ABSTRACT: *Genetic characterization of swimming blue crab broodstock, Portunus pelagicus from different waters through RFLP Mt-DNA analysis. By: Sari Budi Moria, Haryanti, Gusti Ngurah Permana, and Bambang Susanto*

Genetic characterization of swimming blue crab brood stock which was taken from different waters i.e. Cilacap (Central Java), Situbondo (East Java), Jembrana (Bali), and Saugi Island (South Sulawesi) have been analyzed by using RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) mitochondria-DNA (mt-DNA). The result of PCR amplification using universal primer obtained single band with molecule weight of 450 bp. Digestion with Sau 3AI and Dra I restriction enzyme showed that the highest genetic variation was blue swimming crab brood stock population from Cilacap (Central Java) that is 0.14. Genetic distance of brood stocks from East Java and Bali is closed (0.0013) while brood stocks from South Sulawesi have the farthest genetic distance (0.002).

KEYWORDS: *Portunus pelagicus, RFLP Mt-DNA, genetic characterization*

PENDAHULUAN

Satu di antara komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan saat ini sedang dikembangkan adalah rajungan (*Portunus pelagicus*). Permintaan daging rajungan cukup tinggi baik lokal maupun ekspor, sementara potensi rajungan di sebagian perairan Indonesia pada tahun 2000 semakin menurun (Juwana, 2002). Sampai saat ini seluruh ekspor rajungan masih merupakan hasil tangkapan dari alam, yang dikhawatirkan akan mempengaruhi populasi di alam (Supriyatna, 1999). Upaya untuk memenuhi permintaan daging rajungan harus sudah mulai dipenuhi dengan hasil budi daya di tambak yang tentu saja diawali dengan penyediaan benih yang cukup dan berkesinambungan.

Penelitian tentang produksi massal benih rajungan di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali masih relatif baru bila dibandingkan dengan kepiting bakau yang telah lebih lama dilakukan (Rusdi

et al., 1993; Yunus et al., 1996; Rusdi, 1999). Masalah utama dalam budi daya adalah benih yang terbatas baik kuantitas maupun kualitasnya. Keberhasilan pembenihan juga masih bervariasi karena banyak faktor yang berhubungan dengan keadaan ini, di antaranya teknik pembenihan yang belum mantap, kualitas induk secara genetik belum diketahui, serta masalah non teknis lainnya. Agar pembenihan rajungan cepat memberikan keberhasilan, maka perlu dilakukan inventarisasi dan evaluasi karakteristik genetik rajungan dari alam yang digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam pelaksanaan *breeding program*.

Pembenihan dapat menurunkan keragaman genetik pada turunan berikutnya dan indikasi terjadinya penurunan keragaman genetik ditentukan oleh lokus polimorfik, heterosigositas, dan jumlah alel per lokus (Taniguchi et al., 1983; Sugama & Prijono, 1998; Benzie & Williams, 1996). Penurunan keragaman genetik akibat hilangnya alel-alel dari hasil

pembenihan dapat menghambat pertumbuhan, rentan terhadap serangan penyakit, serta perubahan lingkungan (Rayman & Stahl, 1980; Leary *et al.*, 1985). Oleh karena itu, upaya penelusuran dan inventarisasi karakter genetik rajungan pada tingkat molekuler dengan metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) mt-DNA perlu diidentifikasi untuk mendapatkan informasi hubungan dan struktur populasinya di alam. Dengan mengetahui karakter genetik induk rajungan dari alam, dapat menjadi dasar seleksi dalam menentukan sumber induk yang akan digunakan untuk produksi benih.

BAHAN DAN METODE

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam riset ini adalah rajungan (*Portunus pelagicus*) hasil tangkapan di 4 (empat) lokasi perairan yang merupakan sumber induk rajungan yaitu Cilacap (Jawa Tengah), Situbondo (Jawa Timur), Jembrana (Bali), dan P. Saugi (Sulawesi Selatan). Jumlah sampel setiap lokasi perairan sebanyak 20 ekor dengan ukuran panjang karapas, lebar karapas, dan bobot seperti terlihat pada Tabel 1.

Ekstraksi DNA

DNA rajungan diekstraksi dari daging dengan mengikuti modifikasi metode Ovenden (2000). Daging rajungan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 mL yang telah berisi 500 μ L larutan 10% Chelex-100, kemudian ditambahkan 5 mL proteinase kinase (10 mg/mL) dan diinkubasikan pada suhu 55°C dalam *water bath* selama 3 jam. Setelah 3 jam, larutan ini dipanaskan lagi pada suhu 89°C selama 8 menit. Sebelum ditambahkan 55 μ L TE (Tris-EDTA) *buffer* pH 8,0; larutan tersebut terlebih dahulu didinginkan pada suhu kamar. Kemudian genom DNA diperoleh dengan cara *sentrifugasi* selama 5 menit pada kecepatan 13.000 rpm. Larutan pada lapisan atas yang

berwarna jernih merupakan genom DNA, kemudian dipindahkan ke dalam tabung eppendorf baru dan disimpan pada suhu -20°C untuk analisis lebih lanjut.

Amplifikasi PCR genom DNA

Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi *template* mt-DNA sampel rajungan adalah primer 12 Sai (5'-AAACTAGGATTAGATACCCTATTAT-3') dan 12 Sbi (5'-AAGAGCGACGGGCGATGTGT-3'). Amplifikasi *template* menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan komposisi reaksi (Qiagen): Aquadest, 10xPCR buffer; 0.25 mM dNTP mix; Primer (10 mM), Q-solution, Taq polymerase dengan total volume 25 μ L. Siklus PCR yang digunakan dalam amplifikasi adalah 30 siklus penggandaan yang terdiri atas 94°C selama 2 menit, 55°C selama 30 detik, dan 72°C selama 1 menit 30 detik. Selanjutnya satu siklus terakhir 72°C selama 10 menit. Untuk mengetahui pola pita tunggal yang dihasilkan dari amplifikasi mt-DNA, maka digunakan 1% agarose gel dalam 1xTBE (Tris Boric Acid EDTA) *buffer* dengan lama *electrophoresis* 30 menit. Sebagai molekuler *marker* digunakan DNA *ladder* 100 bp, sedangkan untuk pewarnaan digunakan ethidium bromide dengan cara perendaman selama 10 menit. Hasil yang diperoleh diamati di bawah *UV transilluminator* dan didokumentasikan dengan gel kamera.

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Untuk mengetahui polimorfik sampel dan marker enzim restriksi, *template* mt-DNA produk amplifikasi PCR dipotong dengan enzim restriksi Sau 3AI ('GATC'), Dra I (GCG'C), Hinc I (CATG'), dan Ase I (AG'CT). Pemotongan *template* mt-DNA diawali dengan menyiapkan larutan 10 x *buffer*, 100 x BSA, enzim restriksi dan aquades serta *template* mt-DNA produk amplifikasi PCR dengan konsentrasi tertentu. Selanjutnya diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 37°C selama 3—4 jam.

Tabel 1. Rata-rata kisaran bobot (g), panjang karapas (mm), dan lebar karapas (mm) sampel rajungan, *P. pelagicus*

Table 1. The range averages of weight (g), carapace length (mm), and carapace width of swimming blue crab, *P. pelagicus*

| Lokasi <i>Locations</i> | Jumlah sampel <i>Number of samples</i> | Bobot tubuh <i>Body weight</i> (g) \pm SD | Panjang karapas <i>Mean carapace length</i> (mm) \pm SD | Lebar karapas <i>Mean carapace width</i> (mm) \pm SD |
|----------------------------|---|--|--|---|
| Cilacap, Jateng | 20 | 173.58 \pm 61.48 | 59.77 \pm 7.36 | 135.69 \pm 16.44 |
| Situbondo, Jatim | 20 | 75.26 \pm 44.75 | 44.72 \pm 10.74 | 101.32 \pm 20.35 |
| Jembrana, Bali | 20 | 177.58 \pm 71.94 | 58.66 \pm 7.43 | 130.01 \pm 14.96 |
| P. Saugi, Sulsel | 20 | 113.00 \pm 38.75 | 51.44 \pm 5.08 | 119.70 \pm 10.59 |