

KARAKTERISASI GENETIKA RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii* YANG DIBUDIDAYAKAN DI SULAWESI SELATAN

Andi Parenrengi, Sulaeman, Emma Suryati, dan Andi Tenriulo

ABSTRAK

Karakterisasi genetika rumput laut *Kappaphycus alvarezii* telah dilakukan dengan menggunakan teknik *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) dengan tujuan untuk mengetahui variasi genetika rumput laut *K. alvarezii* dari beberapa lokasi budi daya di Sulawesi Selatan yakni Polmas, Pinrang, Takalar, dan Bantaeng. Sampel dipreservasi dengan menggunakan larutan TNES-Urea sebelum ekstraksi DNA. Ekstraksi genom DNA dilakukan dengan menggunakan metode konvensional fenol-kloroform. Amplifikasi DNA dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Untuk dokumentasi riset, hasil PCR dielektroforesis pada agarosa gel dengan menggunakan *buffer* TBE. Data dianalisis menggunakan program *Tools for Population Genetic Analyses* (TFPGA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima "primers" (P-40, P-50, DALRP, Ca-01, dan Ca-02) yang digunakan dapat menghasilkan beberapa fragmen spesifik yang mengindikasikan fragmen spesifik spesies dan lokasi budi daya *K. alvarezii*. Keragaman genetika intra dan inter lokasi rumput laut menunjukkan variasi yang relatif kecil yang ditandai dengan rendahnya perbedaan jumlah/ukuran fragmen DNA, polimorfisme, indeks similaritas, dan jarak genetiknya. Total fragmen yang didapatkan dari lima primer adalah 47–55 pada ukuran fragmen 175–2.600 bp, sedangkan polimorfisme dan indeks similaritas masing-masing adalah 3,6%–31,0% dan 0,79%–0,99%. Jarak genetika antar beberapa lokasi *K. alvarezii* berkisar antara 0,1758–0,5689 di mana kekerabatan yang terdekat didapatkan antara Takalar dan Bantaeng.

ABSTRACT: *Genetic variability of farmed seaweed Kappaphycus alvarezii in South Sulawesi. By: Andi Parenrengi, Sulaeman, Emma Suryati, and Andi Tenriulo*

Genetic characterization of seaweed Kappaphycus alvarezii was observed using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) technique to reveal the genetic variability of seaweed from different locations in South Sulawesi. The sample of farmed seaweed K. alvarezii was collected from Polmas, Pinrang, Takalar, and Bantaeng. Genomic DNA was extracted by using the conventional method of phenol-chloroform. Sample was preserved by TNES-Urea buffer prior to DNA extraction. DNA was amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) method. DNA Fragment was documented by gel electrophoresis using TBE buffer. The data was analyzed by computer program called Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA). The results showed that the five primers (P-40, P-50, DALRP, Ca-01, and Ca-02) used, revealed specific fragment for species and location of K. alvarezii. The low genetic variability both intra and inter locations of farmed seaweed was indicated by variation in total and size of DNA fragment, polymorphism and similarity index. The total of fragment generated by the five primers was 47–55 in size range of 175-2,600 bp, while proportion of polymorphism and similarity index were 3.6%–31.0% and 0.79%–0.99%, respectively. Genetic distance between farmed seaweed was 0.1758–0.5689 where the closest genetic distance was found between Takalar and Bantaeng.

KEYWORDS: *genetic, characterization, seaweed, Kappaphycus alvarezii, RAPD*

PENDAHULUAN

Di Indonesia dikenal dua kelompok (*genus*) utama rumput laut yang dibudidayakan yakni *Gracilaria* di tambak dan *Eucheuma* di perairan pantai. Rumput laut dari genus *Eucheuma* seperti *E. cottonii* dan *E. spinosum* yang selama ini dikenal oleh pembudi daya rumput laut adalah merupakan sinonim dari masing-masing *Kappaphycus alvarezii* dan *E. denticulatum* (Doty, 1985). Perubahan nama spesies rumput laut dari *E. cottonii* ke *K. alvarezii* didasarkan atas tipe kandungan kappa-karaginan yang dihasilkannya.

K. alvarezii berasal dari perairan Kalimantan kemudian dikembangkan ke berbagai negara sebagai tanaman budi daya. *K. alvarezii* pertama kali dibudidayakan di Bali dengan menggunakan bibit yang berasal dari Tambalang-Filipina sebagai negara yang pertama kali mengeksport jenis rumput laut ini, kemudian dikembangkan ke daerah-daerah lain di Indonesia. Budi daya rumput laut tersebut secara komersial baru dilakukan di Indonesia pada tahun 1985 jauh setelah teknologi budi daya rumput laut diperkenalkan di Filipina tahun 1971 (Ask & Azanza, 2002).

Budi daya rumput laut *K. alvarezii* khususnya di Sulawesi Selatan telah menjadi perhatian besar dalam dekade terakhir ini mengingat permintaan akan bahan baku karaginan yang semakin tinggi dan didukung oleh ketersediaan pabrik pengolahan rumput laut yang memadai. Dengan melihat potensi budi daya rumput laut yang tinggi, Sulawesi Selatan ditetapkan sebagai sentra produksi rumput laut di Indonesia. Sumber bibit awal rumput laut untuk budi daya di Sulawesi Selatan (tersebar di pantai barat, selatan, dan timur) tidak diketahui secara pasti. Sebagian pembudi daya rumput laut menduga bahwa bibit yang dibudidayakan di Sulawesi Selatan umumnya merupakan bibit introduksi dari luar dan selebihnya adalah bibit yang berasal dari perairan pantai Sulawesi Selatan sendiri. Kegiatan penelitian yang diarahkan pada karakterisasi genetika rumput laut yang dibudidayakan di Sulawesi Selatan merupakan salah satu upaya untuk melihat variasi genetika dan kekerabatan antar beberapa lokasi budi daya. Data yang didapatkan dapat dijadikan sebagai data dasar genetika rumput laut *K. alvarezii* dalam rangka peningkatan mutu genetika dan pelestarian plasma nutfah Indonesia melalui analisis DNA.

Teknik analisis DNA merupakan teknik yang efisien untuk mendeteksi marker genetika DNA yang dapat dimanfaatkan dalam kajian variasi genetika, membedakan stok/populasi serta pengelolaan sumber daya perikanan. *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) merupakan salah satu teknik yang baru dikembangkan untuk mendeteksi keragaman genetika pada organisme. Teknik ini didasarkan pada teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang mengamplifikasi segmen genom secara acak dengan menggunakan pelacak sebuah primer universal (Williams *et al.*, 1990). Teknik ini telah digunakan untuk riset molekuler genetika ikan, tanaman, dan jasad renik. Penggunaan teknik ini telah dilaporkan pada rumput laut *Gelidium sesquipedale* (Alberto *et al.*, 1997), *Gracilaria verrucosa* (Parenrengi *et al.*, 2003), dan beberapa spesies alga merah (Wattier *et al.*, 2000), namun belum diperoleh data penggunaan analisis RAPD pada rumput laut *K. alvarezii*. Kelebihan teknik RAPD ini adalah di samping urutan nukleotida genom DNA sampel tidak diperlukan, juga manipulasi laboratorium mudah dilakukan serta tidak menggunakan pereaksi radioaktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik genetika rumput laut *K. alvarezii* dari beberapa lokasi budi daya di Sulawesi Selatan.

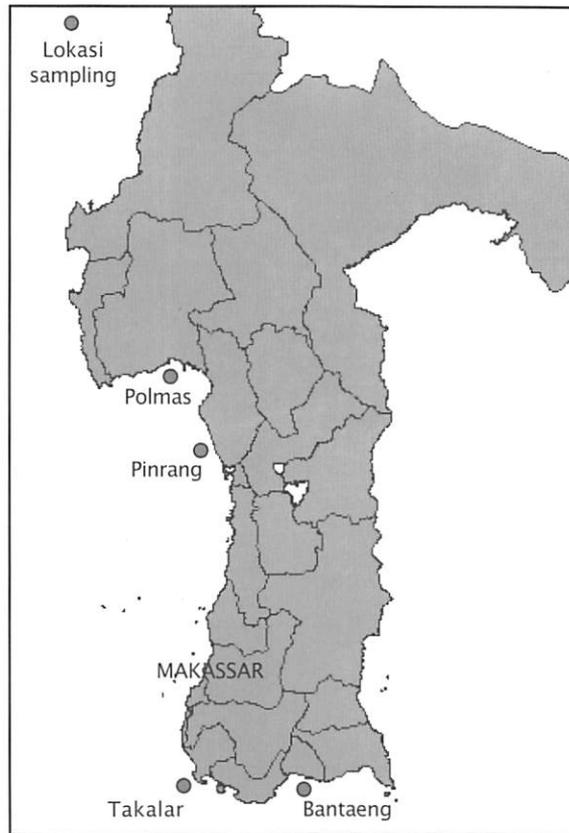
BAHAN DAN METODE

Koleksi Sampel

Rumput laut *K. alvarezii* dikoleksi dari beberapa lokasi budi daya di Sulawesi Selatan yakni Takalar, Bantaeng, Pinrang, dan Polmas (Gambar 1). Identifikasi secara morfologi dilakukan sebagai dasar pengelompokan jenis rumput laut sebelum analisis genetika. Sampel rumput laut dalam bentuk segar (± 50 mg) dipreservasi dengan menggunakan 250 μ L TNES-Urea buffer (Asahida *et al.*, 1996) dalam tabung eppendorf 1,5 mL. Sampel disimpan dalam suhu ruangan sampai dilakukan ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA

Genom DNA rumput laut *K. alvarezii* diekstraksi dengan menggunakan metode konvensional fenol-kloroform yang telah dikembangkan pada ikan kerapu (Parenrengi *et al.*, 2000) dengan sedikit modifikasi. Modifikasi metode dilakukan dengan penambahan kalium asetat 5 M dalam proses ekstraksi. Untuk mengetahui keberhasilan ekstraksi, campuran



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel rumput laut *Kappaphycus alvarezii*
 Figure 1. Sampling locations of seaweed *Kappaphycus alvarezii*

7,5 μL genom dan 2,5 μL *loading dye* dielektroforesis dalam 0,8% (w/v) gel agarose pada larutan *Tris-Boric acid-EDTA* (TBE) dan tegangan 50 volt selama 2 jam. Gel direndam dalam 0,5 $\mu\text{g/mL}$ larutan ethidium bromida agar pita genom dapat terlihat pada cahaya ultra violet dan selanjutnya untuk keperluan dokumentasi secara digital. *Hind III marker* digunakan sebagai standar marker genom yang telah diekstraksi.

Kemurnian genom hasil ekstraksi selain dianalisis secara kualitatif dengan metode elektroforesis juga diukur secara kuantitatif melalui metode UV-spektrofotometer pada rasio absorbansi 260 nm dan 280 nm ($\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$). Sedangkan konsentrasi genom DNA dihitung berdasarkan rumus Linacero *et al.* (1998).

Amplifikasi DNA

Berdasarkan uji pendahuluan skrining primer yang sesuai, lima primer yang memper-

lihatkan amplifikasi DNA yang bersih dipilih untuk digunakan pada semua sampel. Amplifikasi PCR dalam volume reaksi 25 μL *Pure Taq RTG-PCR Beads* (Amersham Biosciences) dengan menggunakan mesin PCR (*Applied Biosciences 7200*) yang diprogram pada suhu denaturasi awal 94°C selama 1 menit 50 detik dan selanjutnya denaturasi 94°C selama 30 detik; annealing 36°C selama 30 detik; ekstensi 72°C selama 30 detik selama 40 siklus dan diakhiri dengan ekstensi akhir 72°C selama 10 menit.

Untuk mengetahui keberhasilan amplifikasi oleh primer yang dicobakan, campuran 10 μL hasil PCR dengan 2,5 μL *loading dye* dielektroforesis pada 2% (w/v) gel agarose pada larutan TBE dan tegangan 50 volt selama 2 jam. Gel direndam dalam 0,5 $\mu\text{g/mL}$ larutan ethidium bromida agar pita genom dapat terlihat pada cahaya ultra violet dan selanjutnya untuk keperluan dokumentasi secara digital. *GeneRuler100bp DNA Ladder Plus* (*fermentasi*)

digunakan sebagai standar untuk menentukan ukuran fragmen (lokus) hasil amplifikasi.

Analisis Data

Skoring fragmen dilakukan berdasarkan marker standar yang telah ditentukan untuk mendapatkan data biner. Kehadiran fragmen dinilai 1 (satu) sedangkan ketidakhadiran fragmen dinilai 2 (dua). Indeks similaritas didasarkan pada rumus $S_{xy} = 2n_{xy}/n_x + n_y$ (Nei & Li, 1979); di mana n_{xy} = jumlah fragmen yang sama antara individu x dan y; n_x dan n_y = jumlah fragmen setiap individu. Indeks similaritas digunakan untuk menentukan jarak genetika/kekerabatan serta untuk membentuk kluster dendrogram antara beberapa lokasi budi daya rumput laut.

Untuk mendapatkan jarak genetika dan kluster UPGMA (*Unweighted Pair Group Method of Arithmetic*) antar beberapa sumber *K. alvarezii*, data biner dianalisis dengan menggunakan program komputer *Tools for Population Genetic Analyses* (TFPGA) (Miller, 2000).

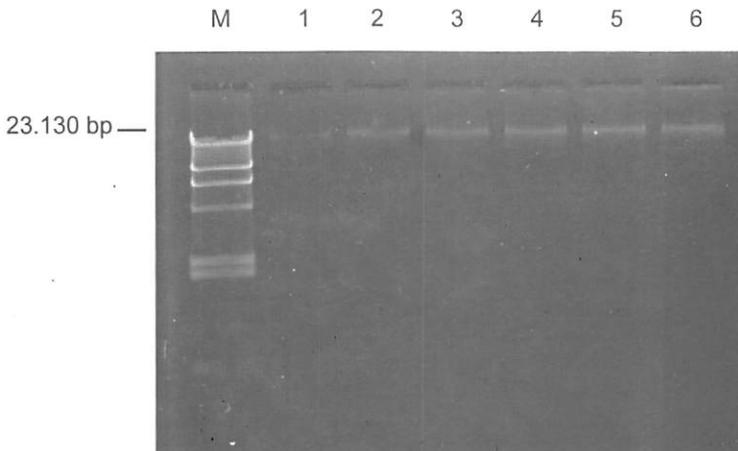
HASIL DAN BAHASAN

Ekstraksi DNA

Genom DNA rumput laut *K. alvarezii* berhasil diisolasi dengan menggunakan metode konvensional fenol-kloroform. Penggunaan metode tersebut dengan sedikit modifikasi penambahan kalium asetat dapat meningkatkan

kemurnian genom yang dihasilkan. Tingkat kemurnian genom melalui penambahan kalium asetat ($1,89 \pm 0,18$) lebih baik dibandingkan dengan tanpa penambahan kalium asetat ($1,43 \pm 0,34$). Linacero *et al.* (1998) telah menyarankan tingkat kemurnian genom DNA yang diisolasi sebaiknya berada dalam kisaran 1,8—2,0. Kisaran tersebut sudah cukup baik untuk keperluan amplifikasi DNA. Variasi konsentrasi genom yang dihasilkan relatif kecil pada metode ekstraksi DNA dengan penambahan kalium asetat ($218,8 \pm 21,37$ ng/ μ L) dibandingkan dengan tanpa penambahan kalium asetat ($321,3 \pm 228,0$ ng/ μ L). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan kalium asetat dapat menanggulangi masalah tingginya kandungan polisakarida pada rumput laut. Sehubungan dengan hal tersebut, Patwary *et al.* (1993) dalam Alberto *et al.* (1997) menggunakan bahan *CsCl gradient* untuk mendapatkan genom DNA yang sesuai untuk amplifikasi PCR.

Uji kualitas DNA memperlihatkan bahwa genom dengan konsentrasi yang lebih tinggi menunjukkan ketebalan pita yang lebih besar dibandingkan dengan konsentarsi yang lebih rendah (Gambar 2). Pada kolom 1 dengan konsentrasi genom sebanyak 510 ng terlihat pita tunggal yang sangat tipis dibandingkan dengan kolom lainnya yakni kolom 2 (1.020 ng), 3 (1.530 ng), 4 (2.040 ng), 5 (2.550 ng), dan 6 (3.060 ng).



Gambar 2. Visualisasi gel-elektroforesis pada konsentrasi genom DNA rumput laut *K. alvarezii* berbeda yang diekstraksi menggunakan metode fenol-kloroform (Hind III marker (M); genom DNA 510 ng (1); 1.020 ng (2); 1.530 ng (3); 2.040 ng (4); 2.550 ng (5); dan 3.060 ng (6)

Figure 2. Gel-electrophoresis visualization at different concentarations of genomic DNA of seaweed *K. alvarezii* extracted by phenol-chloroform method (Hind III marker (M); genomic DNA of 510 ng (1); 1,020 ng (2); 1,530 ng (3); 2,040 ng (4); 2,550 ng (5); dan 3,060 ng (6)

Ekstraksi DNA pada rumput laut *G. verrucosa* juga memperlihatkan pita genom DNA yang lebih bersih dengan menggunakan metode konvensional fenol-kloroform dibandingkan dengan beberapa metode ekstraksi yang dicobakan (Parenrengi *et al.*, 2003). Sejumlah kajian RAPD telah memperlihatkan keberhasilan isolasi DNA menggunakan metode fenol-kloroform pada beberapa jenis ikan. Bardacki & Skibinski (1994), Dinesh *et al.* (1996), Harris *et al.* (1991), dan Mwanja *et al.* (1996) telah merekomendasikan penggunaan metode tersebut dalam ekstraksi DNA ikan tilapia. Sementara itu, ekstraksi DNA menggunakan metode fenol-kloroform pada ikan belacak, *Periophthalmus schlosseri* (Shima, 1999) dan ikan kerapu, *Epinephelus* spp. (Parenrengi *et al.*, 2000) memperlihatkan pita genom DNA yang lebih baik dibandingkan dengan beberapa metode kit yang dicobakan.

Dengan teknik elektroforesis, kontaminasi dan kerusakan genom hasil ekstraksi dapat diketahui. Analisis kemurnian genom secara kualitatif telah dijelaskan oleh Linacero *et al.* (1998) berdasarkan karakteristik pita genom pada gel agarose. Pita genom DNA yang bersih tanpa latar belakang mengindikasikan tingkat kemurnian DNA yang baik (DNA tidak terdegradasi serta terkontaminasi). Kontaminasi protein selain ditandai dengan rendahnya nilai kemurnian DNA (<1,8) atau sebaliknya kontaminasi fenol dan bahan organik lainnya selain ditandai dengan tingginya nilai rasio OD₂₆₀/OD₂₈₀ (>2,0) juga dapat dilihat dengan munculnya latar belakang yang *smear* dise-

panjang jalur pergerakan pita genom DNA. Sedangkan kontaminasi RNA diindikasikan dengan adanya pita yang kabur pada posisi berat molekul yang rendah.

Amplifikasi DNA

Pemilihan primer yang tepat dalam analisis RAPD merupakan langkah awal yang sangat berpengaruh dalam mengungkapkan variasi genetika. Skrining primer menunjukkan bahwa tidak semua primer menghasilkan amplifikasi genom DNA rumput laut *K. alvarezii* yang baik dan bersih. Lima primer (P-40, P-50, DALRP, Ca-01, dan Ca-02) memperlihatkan hasil amplifikasi genom DNA rumput laut *K. alvarezii* diseleksi untuk amplifikasi genom untuk semua sampel. Urutan dan panjang nukleotida kelima primer tersebut disajikan pada Tabel 1.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa variasi hasil amplifikasi genom lebih disebabkan oleh perbedaan urutan nukleotida dibandingkan oleh perbedaan panjang nukleotida primer. Hal yang sama juga telah dilaporkan oleh Dinesh *et al.* (1994) di mana keberhasilan amplifikasi genom sangat dipengaruhi oleh urutan nukleotida primer. Primer yang memiliki kesesuaian urutan nukleotidanya dengan genom akan menghasilkan amplifikasi fragmen DNA dalam jumlah tertentu. Hal yang sama telah dijelaskan oleh Alberto *et al.* (1997) pada rumput laut *Gelidium sesquipedale*. Dari 62 universal primer yang diskriming, hanya 41 di antaranya dapat menghasilkan amplifikasi DNA.

Tabel 1. Primer terpilih untuk amplifikasi genom DNA rumput laut *K. alvarezii*

Table 1. Selected primers for DNA amplification of seaweed *K. alvarezii*

Primer Primer	Urutan nukleotida Nucleotide sequence (5' to 3')	Panjang nukleotida Nucleotide length (mer)
P-40	GTT TTC CCA GTC ACG AGG TTG TA	23
P-50	TTG TGA GCG GAT AAC AAT TTC	21
DALRP	CAC ACA GGA AAC AGC TAT GAC	21
Ca-01	TTT TTT AGC CTT TTT TGA GC	20
Ca-02	AAA TGT TGA GGA AAA AAA GT	20

Keterangan (Notes):

No. 1—3 = Universal primer dari Genosys (*Arbitrary primer from Genosys*)

No. 4—5 = Universal primer dari Gibco-BRL (*Arbitrary primer from Gibco-BRL*)

A = Adenin (*Adenina*), C= Sitosin (*Cytosine*), G= Guanin (*Guanine*), T= Timin (*Thymine*)

Profil RAPD

Lima primer yang digunakan memperlihatkan profil DNA yang bervariasi antar beberapa lokasi budi daya rumput laut *K. alvarezii*. Variasi profil DNA tersebut dapat dilihat dari perbedaan jumlah/ukuran fragmen, polimorfisme, dan indeks similaritas rumput laut antar lokasi. Keragaan genetika rumput laut dari beberapa lokasi budi daya dapat dilihat pada Tabel 2.

Total jumlah fragmen yang dihasilkan dari lima primer memperlihatkan variasi yang relatif kecil yakni 47–58 lokus atau rata-rata 9,4–11,6 fragmen per primer pada ukuran berat molekul 175–2.600 bp. Sejumlah penelitian sebelumnya telah melaporkan keragaan jumlah fragmen DNA yang dihasilkan pada analisis RAPD, misalnya 3–12 fragmen pada rumput laut *G. sesquipedale* (Alberto *et al.*, 1997); dan 6–12 fragmen pada *G. verrucosa* (Parenrengi *et al.*, 2003) serta pada beberapa spesies ikan; misalnya 6–17 fragmen pada ikan tilapia, *Oreochromis* spp. (Bardakci & Skibinski, 1994), dan 5–8 fragmen pada ikan salmon, *Salmo* spp. (Elo *et al.*, 1997). Seperti

halnya dengan jumlah fragmen, ukuran fragmen yang dihasilkan pada analisis RAPD menunjukkan variasi antara beberapa spesies. Pada rumput laut *G. verrucosa* ukuran fragmen yang dihasilkan adalah 300–1.700 bp (Parenrengi *et al.*, 2003), 300–2.500 bp pada ikan sidat, *Anguilla* spp. (Takagi & Taniguchi, 1995), 220–1.270 bp pada ikan salmon, *Salmo* spp. (Elo *et al.*, 1997), dan 200–1.500 bp pada ikan lele, *Ictalurus* spp. (Liu *et al.*, 1999).

Bowditch *et al.* (1993) menjelaskan bahwa polimorfisme dapat menentukan kedekatan suatu spesies/group taxa, analisis asal usul spesies domestikasi/budi daya dengan alam serta estimasi *inbreeding* dan *outbreeding* dalam suatu populasi. Polimorfisme yang didapatkan pada sampel rumput laut dari Takalar dan Bantaeng masing-masing adalah 21,3% dan 31,0% lebih tinggi bila dibandingkan dengan Polmas dan Pinrang (13,2% dan 3,6%). Rendahnya polimorfisme tersebut mengindikasikan terbatasnya sumber bibit awal yang digunakan. Budi daya rumput laut *K. alvarezii* di Pinrang diduga kuat berasal dari perbanyakan bibit melalui stek (vegetatif) dari musim ke musim dari rumpun yang terbatas. Introduksi benih

Tabel 2. Keragaan genetika rumput laut *E. alvarezii* dari beberapa lokasi

Table 2. Summary of genetic variability of seaweed *K. alvarezii* collected from different locations

Uraian (<i>Parameter</i>)	Lokasi (<i>Location</i>)			
	Takalar	Bantaeng	Pinrang	Polmas
Jumlah primer <i>Total of primer</i>	5	5	5	5
Total fragmen <i>Total of fragment</i>	47	58	55	53
Total fragmen per primer <i>Total of fragment per primer</i>	9.4	11.6	11.0	10.6
Fragmen polimorfik <i>Polymorphic fragment</i>	10	18	2	7
Fragmen polimorfik per primer <i>Polymorphic fragment per primer</i>	2.0	3.6	0.4	1.4
Polimorfisme <i>Polymorphism (%)</i>	21.3	31.0	3.6	13.2
Ukuran fragmen <i>Fragment size (bp)</i>	180--2,000	180--2,600	180--2,200	175--2,400
Similaritas <i>Similarity index</i>	0.85	0.79	0.99	0.93

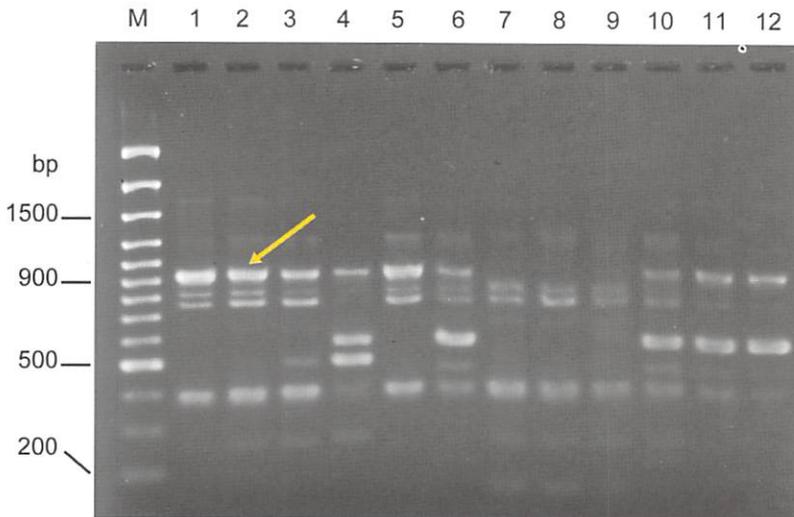
dilakukan dari suatu sumber dalam jumlah yang terbatas dan akhirnya dipertahankan untuk digunakan pada areal budi daya di lokasi tersebut sampai sekarang. Sedangkan pada budi daya rumput laut di Takalar dan Bantaeng yang memiliki poli-morfisme relatif lebih tinggi diduga disebabkan penggunaan benih dari beberapa sumber introduksi bibit dari luar. Kejadian ini dapat mempengaruhi keragaman genetik stok budi daya rumput laut pada lokasi tersebut. Walau-pun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa polimorfisme stok budi daya rumput laut *K. alvarezii* di Sulawesi Selatan relatif rendah akibat penggunaan bibit budi daya melalui propagasi secara vegetatif dari sumber yang terbatas. Perbanyakannya secara vegetatif tidak dapat menyebabkan adanya perubahan genotipe (variasi genetik) kecuali jika terjadi mutasi gen selama pemeliharaan. Keragaman genetik yang didapatkan dalam penelitian ini adalah cerminan dari genetika stok (*genetic-base*) awal benih yang digunakan.

Setiap primer menghasilkan pola fragmen RAPD yang bervariasi antar beberapa lokasi budi daya rumput laut *K. alvarezii*. Beberapa

contoh hasil elektroforesis pola fragmen RAPD yang berbeda antar sumber lokasi yang dihasilkan dari primer P-50; DALRP; dan Ca-02 disajikan pada Gambar 3—5. Beberapa fragmen yang didapatkan mengindikasikan fragmen spesifik spesies *K. alvarezii* di mana fragmen tersebut didapatkan pada semua sampel untuk semua sumber. Selain itu, didapatkan juga fragmen spesifik lokasi yakni fragmen yang hanya didapatkan pada lokasi tertentu. Misalnya fragmen 900 bp dari primer P-50 dan 675 bp dari primer DALRP didapatkan pada semua sumber rumput laut kecuali dari Pinrang. Demikian halnya pada amplifikasi DNA dengan primer P-40 yakni fragmen 180 bp dan Ca-02 yakni fragmen 250 bp didapatkan pada ketiga sumber rumput laut (Takalar, Bantaeng, dan Pinrang) tetapi tidak didapatkan pada rumput laut yang berasal dari Polmas.

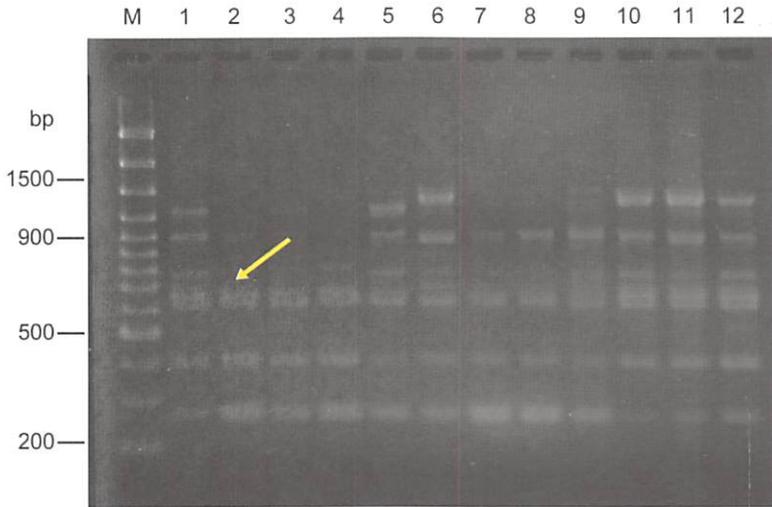
Indeks Similaritas dan Jarak Genetika

Indeks similaritas merupakan suatu proporsi kesamaan profil DNA organisme intra atau inter populasi. Semakin tinggi indeks similaritas semakin kecil variasi genetiknya atau dengan kata lain semakin kecil jarak genetiknya,



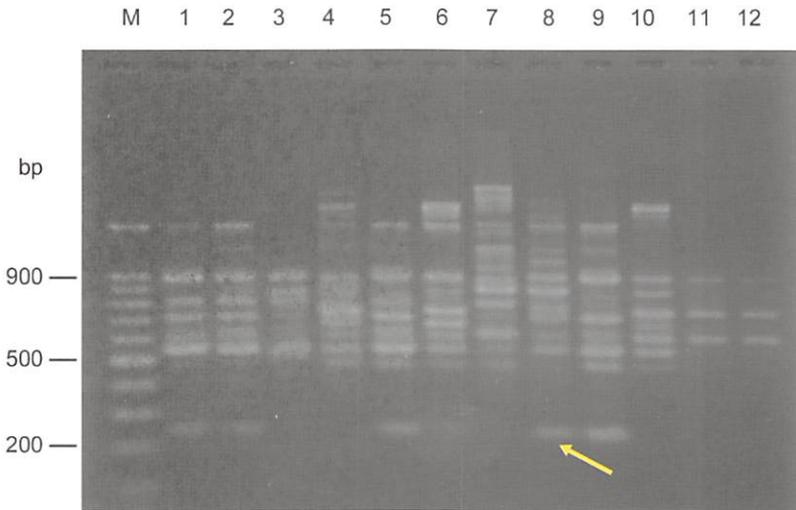
Gambar 3. Pola fragmen RAPD *K. alvarezii* dari beberapa lokasi budi daya yang diamplifikasi menggunakan primer P-50. GeneRuler 100 pb DNA Ladder Plus (M), sampel dari Takalar (1-3), Bantaeng (4-6), Pinrang (7-9), dan Polmas (10-12). Tanda panah menunjukkan spesifik marker DNA (900 bp) untuk lokasi

Figure 3. RAPD banding pattern of *K. alvarezii* collected from different locations generated by primer P-50. GeneRuler 100 pb DNA Ladder Plus (M), sample collected from Takalar (1-3), Bantaeng (4-6), Pinrang (7-9), and Polmas (10-12). The arrow indicated the specific DNA marker (900 bp) for location



Gambar 4. Pola fragmen RAPD *K. alvarezii* dari beberapa lokasi budi daya yang diamplifikasi menggunakan primer DALRP. GeneRuler 100 pb DNA Ladder Plus (M), sampel dari Takalar (1-3), Bantaeng (4-6), Pinrang (7-9), dan Polmas (10-12). Tanda panah menunjukkan spesifik marker DNA (675 bp) untuk lokasi

Figure 4. RAPD banding pattern of *K. alvarezii* collected from different locations generated by primer DALRP. GeneRuler 100 pb DNA Ladder Plus (M), sample collected from Takalar (1-3), Bantaeng (4-6), Pinrang (7-9), and Polmas (10-12). The arrow indicated the specific DNA marker (675 bp) for location



Gambar 5. Pola fragmen RAPD *K. alvarezii* dari beberapa lokasi budi daya yang diamplifikasi menggunakan primer CA-02. GeneRuler 100 pb DNA Ladder Plus (M), sampel dari Takalar (1-3), Bantaeng (4-6), Pinrang (7-9), dan Polmas (10-12). Tanda panah menunjukkan spesifik marker DNA (250 bp) untuk lokasi

Figure 5. RAPD banding pattern of *K. alvarezii* collected from different locations generated by primer Ca-02. GeneRuler 100 pb DNA Ladder Plus (M), sample collected from Takalar (1-3), Bantaeng (4-6), Pinrang (7-9), and Polmas (10-12). The arrow indicated the specific DNA marker (250 bp) for location

merupakan kekerabatan yang dekat dalam suatu populasi tersebut. Indeks similaritas rumput laut *K. alvarezii* yang didapatkan pada penelitian ini adalah 0,79—0,99. Indeks similaritas intra populasi yang sangat tinggi (0,99) didapatkan pada sampel yang berasal dari Pinrang. Hal ini memperkuat dugaan sebelumnya (polimorfisme rendah) bahwa budi daya rumput laut pada lokasi tersebut berasal dari sumber yang terbatas. Penggunaan benih secara vegetatif yang secara terus menerus memungkinkan hal tersebut terjadi. Seperti halnya di Pinrang dan Polmas, budi daya rumput laut *K. alvarezii* di Takalar dan Bantaeng memperlihatkan indeks similaritas yang relatif kecil (0,77 dan 0,85) yang mencerminkan rendahnya keragaman genetik antar lokasi budi daya tersebut. Indeks similaritas yang didapatkan pada rumput laut *G. sesquipedale* yang dikoleksi dari tiga lokasi memperlihatkan nilai yang relatif sama dengan hasil penelitian ini yakni 0,78—0,85 (Alberto *et al.*, 1997). Indeks similaritas yang didapatkan pada rumput laut *G. verrucosa* dari beberapa sumber budi daya menunjukkan nilai yang lebih kecil ($0,64 \pm 0,1$) dengan tingkat polimorfisme yang lebih tinggi yakni 41,7%—66,7% (Parenrengi *et al.*, 2003).

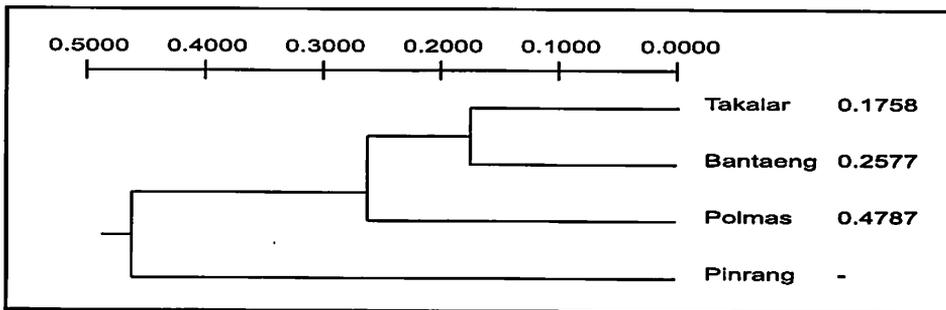
Kekerabatan atau jarak genetik antara beberapa sumber rumput laut *K. alvarezii* yang didapatkan berkisar antara 0,1758—0,5689 (Tabel 3). Jarak genetik yang terkecil didapatkan antara rumput laut asal Takalar dengan Bantaeng. Hal ini diduga akibat adanya penggunaan bibit rumput laut yang berasal dari sumber yang sama pada waktu yang relatif sama atau tingginya pertukaran bibit antar lokasi tersebut. Sedangkan Polmas dan Pinrang memperlihatkan jarak genetik yang tinggi (walaupun secara geografis, lokasi budi daya relatif dekat), hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan penggunaan bibit kedua lokasi budi daya tersebut berasal dari sumber yang berbeda. Analisis UPGMA juga memperlihatkan bahwa rumput laut asal Takalar, Bantaeng, dan Polmas terdapat pada kluster yang sama (Gambar 6).

Jarak genetik yang didapatkan dalam penelitian ini tidak jauh berbeda dengan jarak genetik yang didapatkan pada studi sebelumnya pada rumput laut *G. verrucosa* yakni 0,180—0,429 (Parenrengi *et al.*, 2003). Pada penelitian rumput laut *G. verrucosa* dilaporkan bahwa daerah budi daya yang menggunakan

Tabel 3. Jarak genetik rumput laut *K. alvarezii* dari beberapa lokasi berbeda

Table 3. Genetic distance of seaweed *K. alvarezii* collected from different locations

	Takalar	Bantaeng	Pinrang	Polmas
Takalar	0.0000			
Bantaeng	0.1758	0.0000		
Pinrang	0.4175	0.4497	0.0000	
Polmas	0.3310	0.2043	0.5689	0.0000



Gambar 6. Kluster UPGMA dari beberapa lokasi budi daya rumput laut *K. alvarezii* berdasarkan jarak genetik berdasarkan indeks Nei & Li (1979) dari lima primer

Figure 6. UPGMA clustering of seaweed *K. alvarezii* collected from different locations based on Nei and Li (1979) indexes from five primers

bibit rumput laut dari sumber yang sama memperlihatkan kekerabatan stok yang sangat dekat seperti Belopa dengan Lamasi dan Sinjai dengan Takalar.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelima "primers" yang digunakan dapat menghasilkan fragmen-fragmen spesifik rumput laut yakni fragmen spesifik spesies dan spesifik lokasi. Total fragmen yang didapatkan dari lima "primers" adalah 47—55 pada ukuran fragmen 175—2.600 bp, sedangkan polimorfisme dan indeks similaritas masing-masing adalah 3,6%—31,0% dan 0,79—0,99. Jarak genetica antar beberapa sumber *K. alvarezii* berkisar antara 0,1758—0,5689 di mana kekerabatan yang terdekat didapatkan antara Takalar dan Bantaeng.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberto, F., R. Santos, and J.M. Leita. 1997. DNA extraction and RAPD markers to assess the genetic similarity among *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta) populations. *J. Phycology*, 33: 706—710.
- Asahida, T., T. Kabayashi, K. Saitoh, and I. Nakayama. 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish store at ambient temperature using buffer containing high concentration of urea. *Fisheries Science*, 62(5): 727—730.
- Ask, E.I. and R.V. Azanza, 2002. Advances in cultivation technology of commercial eucheumatoid species: a review with suggestions for future research. *Aquaculture*, 206: 257—277.
- Bardacki, F. and D.O. F. Skibinski. 1994. Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. *Heredity*, 73: 117—123.
- Bowditch, B.M., D.G. Albright, J.G.K. Williams, and M.J. Braun. 1993. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers in comparative genomic studies. *Methods in Enzymology*, 224: 294—309.
- Dinesh, K.R., V.P.E. Phang, T.M. Lim, K.L. Chua, and T.W. Tan. 1994. DNA amplification fingerprinting in the guppy, *Poecilia reticulata*. in Chou, L.M., A. Munro, T.J. Lam, T.W. Chen, L.K.K. Cheong, J.K. Ding, K.K. Hooi, H.W. Khoo, V.P.E. Phang, K.F. Shim, and C.H. Tan (eds.). *The Third Asian Fisheries Forum*, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 504—507.
- Dinesh, K.R., T.M. Lim, W.K. Chan, and V.P.E. Phang. 1996. Genetic variation inferred from RAPD fingerprinting in three species of tilapia. *Aquaculture International*, 4: 19—30.
- Doty, M.S. 1985. Eucheuma species (Solieriaceae, Rhodophyta) that are major sources of carrageenan. In Abbott, I.A., J.N. Norris (Eds.), *Taxonomy of Economic Seaweeds: with Reference to some Pacific and Caribbean Species*, California Sea Grant College Program. California, p. 47—61.
- Elo, K., S. Ivanoff, J.A. Vuorinen, and J. Piironen. 1997. Inheritance of RAPD markers and detection of interspecific hybridization with brown trout and Atlantic salmon. *Aquaculture*, 152: 55—65.
- Harris, A.S., S. Bieger, R.W. Doyle, and J.M. Wright. 1991. DNA fingerprinting of tilapia, *Oreochromis niloticus* and its applications to aquaculture genetics. *Aquaculture*, 92: 157—163.
- Linacero, R., J. Rueda, and A.M. Vazquez. 1998. Quantification of DNA. In Karp, A., P.G. Isaac, and D.S. Ingram (Eds.) *Molecular Tools for Screening Biodiversity: Plants and Animals*. Chapman and Hall. London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.
- Liu, Z.J., P. Li, B.J. Argue, and R.A. Dunham. 1999. Random amplified polymorphic DNA markers: usefulness for gene mapping and analysis of genetic variation of catfish. *Aquaculture*, 174: 59—68.
- Miller, M.P. 2000. *Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA)*. Department of Biological Science Northern Arizona University.
- Mwanja, W., G.C. Booton, L. Kaufman, M. Chandler, and P. Fuerst. 1996. Population and stock characterization of Lake Victoria tilapia fisher based on RAPD markers. *Aqua. Biotech. Symp. Proceeding*, p. 115—123.
- Nei, M. and Li, W., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceeding of the National Academic of Science, USA*, 76: 5,269—5,273.
- Parenrengi, A., L. Shamsusin, P. Ismail, and N.M. Amin. 2000. Preliminary study on DNA level marker of grouper at different buffer preservation and DNA extraction method. In: Saad, M.S., Faridah, Q.Z., Kadir, M.A., Khalid, M.Z.Z., Mohamad, O., Saleh, G.B., and Panandam, J.M. (Eds.). *Genetic Manipulation: Challenges and Advantages. Proceeding of the 4th National Congress on Genetics*,

- 26—28 September 2000, Genting Highlands, Malaysia, p. 194—208.
- Parenrengi, A., Sulaeman, E. Suryati, dan A. Tenri Ulo. 2003. *Karakteristik Genetika beberapa Sumber Rumput Laut, Gracillari verrucosa*. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros, 11 pp.
- Shima, I. 1999. *PCR-RAPD Analysis on DNA of Mudskipper, Periphthalmus schlosseri (Pallas)*. Faculty of Applied Science and Technology, Universiti Putra Malaysia, 62 pp.
- Takagi, M. and N. Taniguchi. 1995. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of three species of *Anguilla*, *A. japonica*, *A. australis*, and *A. bicolor*. *Fisheries Science*, 61(5): 884—885.
- Wattier, R., Paulo A.R, and Cristtine, A.M. 2000. DNA isolation Protocol for red seaweed (Rhodophyta). *Plant Molecular Biology Reporter*, 18: 275—281.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. *Nucleic Acids Research*, 18: 6,531.