

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Kuantitas DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Hasil Tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah dengan Spektrofotometer

Hasil pengujian kualitas DNA udang jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Kemurnian DNA dapat dilihat dari rasio absorbansi DNA ($A_{260} : A_{280}$). Hasil rata-rata kemurnian (R) DNA yang diperoleh dari hasil penelitian ini berkisar antara 1,64-2,29 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Nilai kuantitas DNA total udang jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Hasil Tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah dengan Spektrofotometer.

Sampel	$A_{260}:A_{280}$ ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Keterangan
1	1,72	Kontaminasi fenol dan DNA terlalu sedikit
2	2,03	DNA murni
3	1,92	DNA murni
4	1,89	DNA murni
5	2,02	DNA murni
6	1,64	Kontaminasi fenol dan DNA terlalu sedikit
7	2,29	Kontaminasi protein, fenol atau senyawa lain

Berdasarkan hasil pengukuran kuantitas DNA pada **Tabel 4.1** di atas menunjukkan bahwa dari 7 sampel yang diuji, terdapat 4 sampel yang menghasilkan DNA murni dengan nilai rasio $A_{260/280}$ berkisar antara 1,82 – 2,03 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan 3 sampel menghasilkan DNA yang masih mengandung kontaminan. Sampel-sampel yang menghasilkan DNA murni yakni pada sampel 2 (2,03 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), sampel 3 (1,92 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), sampel 4 (1,89 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), dan sampel 5 (2,02 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Sedangkan sampel-sampel yang masih mengandung kontaminan yakni pada sampel 1 (1,72 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), sampel 6 (1,64 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), sampel 7 (2,29 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Sampel 1 dan 6 memiliki nilai rasio $A_{260/280}$ lebih kecil dari 1,8 yang mengindikasikan sampel telah terkontaminasi dengan fenol dan memiliki DNA yang terlalu sedikit. Sedangkan pada sampel 7 nilai rasio $A_{260/280}$ lebih dari 2,0 yang mengindikasikan sampel telah terkontaminasi dengan protein, fenol atau senyawa lain.

Sambrook dan Ruslle (2001) mengatakan bahwa hasil isolasi DNA dikatakan murni jika nilai rasio $A_{260/280}$ antara 1,8 hingga 2,0. Jika nilai rasio $A_{260/280}$ melebihi 2,0 maka larutan yang diuji masih mengandung kontaminan dari protein membran atau senyawa lainnya dan kadar DNA yang didapat belum murni. Sedangkan, jika nilai rasio $A_{260/280}$ kurang dari 1,8 maka larutan yang diuji masih mengandung kontaminan phenol dan pelarut yang digunakan terlalu banyak sedangkan DNA yang diambil terlalu sedikit.

Pemurnian DNA yang dilakukan dengan penambahan fenol : kloroform : isoamil alkohol (P:C:I) berfungsi untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang dapat mengkontaminasi DNA. Eknath *et al.*, (1991) dalam Wahyudi (2001) menjelaskan bahwa campuran fenol-kloroform akan mendenaturasi protein tanpa mengikutsertakan asam nukleat. Fenol menyebabkan protein kehilangan

kelarutannya dan mengalami presipitasi yang selanjutnya dapat dipisahkan dari DNA melalui sentrifugasi. Proses sentrifugasi akan membentuk 2 fase yang terpisah yakni fase organik pada lapisan bawah dan fase aquoeus (air) pada lapisan atas. Sedangkan DNA dan RNA akan berada pada fase aquoeus setelah sentrifugasi, protein yang terdenaturasi akan berada pada interfase dan lipid akan berada pada fase organik. Untuk memurnikan DNA dalam jumlah yang murni diperlukan ketelitian dalam penggunaan fenol. Hal ini dikarenakan tidak terpisahnya fase organik dan fase aquoeus saat penambahan fenol dalam pemurnian DNA akan menyebabkan DNA menjadi terkontaminasi. Oleh karena itu, pada sampel 1,6 dan 7 karena terkontaminasi oleh fenol dan protein menyebabkan nilai kuantitas DNA genom rendah.

Ketelitian dalam sebuah penelitian, mengingatkan kita dalam salah satu surat Al Qur'an yang berhubungan dengan proses berpikir manusia. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al-Imron (3):191,

وَالْأَرْضِ السَّمَوَاتِ خَلَقَ فِي وَتَتَفَكَّرُونَ جُنُوبِهِمْ وَعَلَىٰ وَقُعُودًا قِيَمًا اللَّهُ يَذْكُرُونَ الَّذِينَ
 ۞ النَّارِ عَذَابٍ فَفَقِنَا سُبْحَانَكَ بِطِلَافًا هَذَا خَلَقْتَ مَا رَبَّنَا

Artinya: “ (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Berdasarkan ayat tersebut, kata “يتفكرون” (memikirkan) memiliki arti bahwa manusia sebagai makhluk ciptaan Allah SWT yang diberikan akal dan fikiran hendaknya selalu berpikir dan memahami hikmah yang terkandung di dalamnya yang menunjukkan kebesaran Penciptanya, pengetahuan-Nya dan

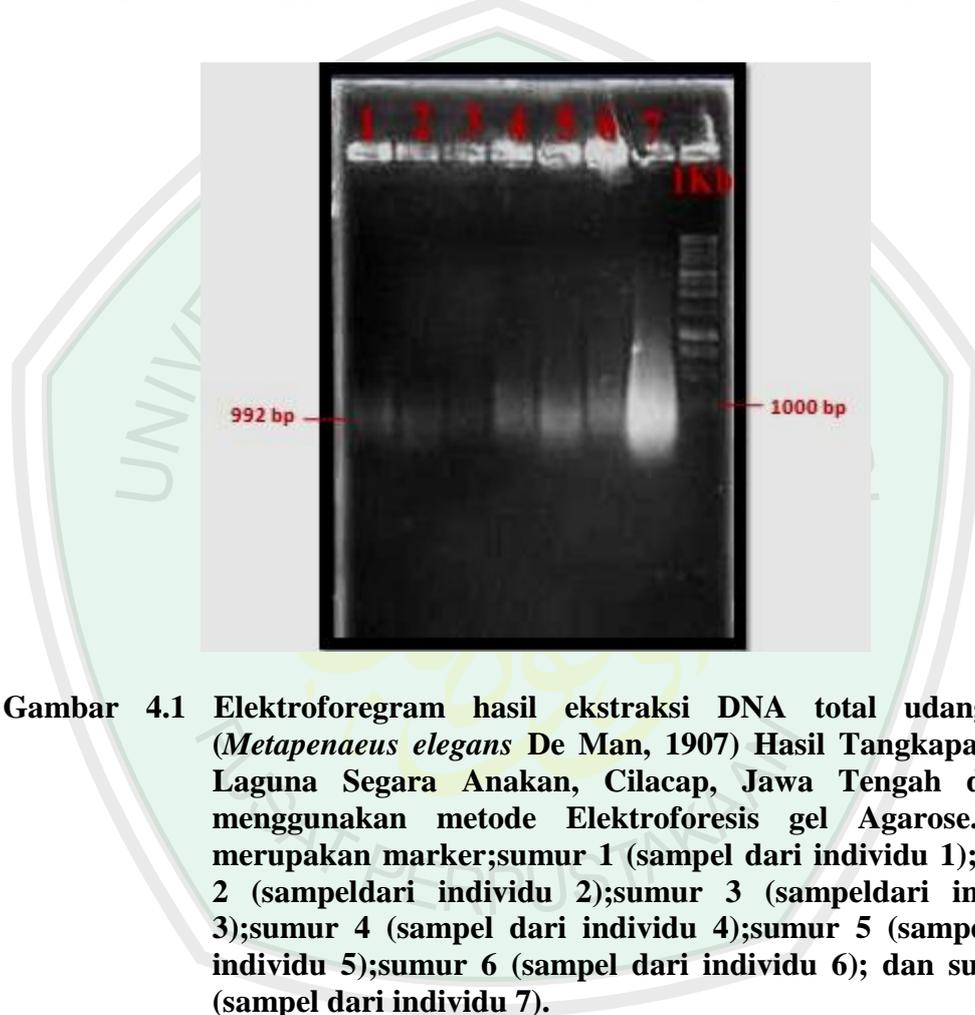
Hikmah-Nya (al Qurthubi, 2009). Oleh karena itu, proses berpikir manusia sangat diperlukan dalam memahami setiap kejadian yang terjadi di bumi ini. Proses berpikir tersebut juga sangat diperlukan dalam sebuah penelitian. Sebuah penelitian memerlukan ketelitian dan pemahaman yang tajam dan akurat, sehingga akan mendapatkan hasil yang maksimal.

Salah satu penyebab sedikitnya DNA yang terekstraksi dan kemurnian yang tidak mendekati 100% diduga adalah dari aspek teknis pelaksanaan dari setiap tahap yang dilakukan seperti halnya dalam pemisahan supernatan dengan endapannya pada tahap penghilangan sisa protein dan bahan lain dalam sel yang kemungkinan terlalu sedikit yang terambil sehingga DNA berbobot berat tidak terambil dan jumlah DNA yang terambil pun menjadi sedikit. Pengeringan alkohol yang kurang sempurna juga memungkinkan terjadinya kontaminasi yang dapat memberikan efek pada penghitungan DNA dengan spektrofotometer (Fatchiyah *et al.*, 2011). Nilai kuantitas DNA total yang tidak merata ini diduga karena perlakuan sampel organ kaki jalan dan ekor yang kurang optimal selama penyimpanan dan pada saat proses ekstraksi. Hal ini dapat memberikan pengaruh terhadap keberhasilan amplifikasi.

4.2 Karakterisasi Genetik Udang Jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Hasil Tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah

Karakter genetik merupakan karakter yang disimpan sebagai informasi genetik dalam gen-gen yang secara molekular tersusun atas asam nukleat DNA. DNA tersusun atas urutan basa nukleotida yakni adenin, timin, sitosin dan guanin (Fatchiyah *et al.*, 2011). Hasil isolasi sampel DNA Udang Jari (*Metapenaeus*

elegans De Man, 1907) hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah pada penelitian ini telah dikonfirmasi menggunakan metode elektroforesis gel agarose dengan konsentrasi gel 0,8%. Penggunaan konsentrasi 0,8% menggunakan acuan penelitian terdahulu, yakni Mandayasa (2007). Hasil karakter genetik udang jari (*Metapenaeus elegans*) dapat dilihat pada **gambar 4.1**.



Gambar 4.1 Elektroforegram hasil ekstraksi DNA total udang jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Hasil Tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah dengan menggunakan metode Elektroforesis gel Agarose. 1Kb merupakan marker;sumur 1 (sampel dari individu 1);sumur 2 (sampeldari individu 2);sumur 3 (sampeldari individu 3);sumur 4 (sampel dari individu 4);sumur 5 (sampel dari individu 5);sumur 6 (sampel dari individu 6); dan sumur 7 (sampel dari individu 7).

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada ekstraksi 7 sampel kaki jalan dan ekor udang jari (*Metapenaeus elegans*) hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah menggunakan metode elektroforesis gel Agarose 0,8% **gambar 4.1**, menunjukkan ukuran yang sama (992 bp) dengan

ketebalan pita DNA yang berbeda antar sampel. Ketebalan pita DNA yang terbentuk akan menunjukkan kualitas karakter genetik dari sampel yang dianalisa.

Pada sumur 1 (sampel dari individu 1) dan sumur 2 (sampel dari individu 2) terlihat pita DNA yang terbentuk tipis dan mengumpul (tidak menyebar), sumur 3 (sampel dari individu 3) terlihat pita DNA yang terbentuk sangat tipis dan mengumpul (tidak menyebar), sumur 4 (sampel dari individu 4) terlihat pita DNA yang terbentuk tebal dan mengumpul (tidak menyebar), sumur 5 (sampel dari individu 5) dan sumur 6 (sampel dari individu 6) terlihat pita DNA yang terbentuk tebal dan mengumpul (tidak menyebar) namun diikuti dengan adanya *smear* yang tipis, dan sumur 7 (sampel dari individu 7) terlihat pita DNA yang terbentuk sangat tebal dan mengumpul (tidak menyebar) namun diikuti oleh DNA non target yang tidak diinginkan yang ditunjukkan oleh *smear* yang terbentuk.

DNA non target dapat terbentuk akibat kemurnian atau proses ekstraksi yang kurang tepat pada sampel yang diamati, sehingga menyebabkan sampel tersebut tidak memiliki kualitas karakter genetik yang bagus. Karakter genetik DNA total udang jari yang paling bagus terdapat pada sampel 4. Sedangkan karakter genetik DNA total udang jari yang tidak bagus terdapat pada sampel 7. Kualitas karakter genetik DNA total akan sangat berpengaruh terhadap analisa karakter genetik selanjutnya.

Pada penelitian ini proses ekstraksi dilakukan melibatkan senyawa-senyawa kimia yang dapat membantu proses pemisahan DNA dari berbagai komponen sel lain. Lysis solution digunakan untuk mempercepat penghancuran organ kaki jalan dan ekor. Sedangkan PCI digunakan untuk memaksimalkan hasil isolat DNA. Menurut Fatchiyah *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa proses

pengeluaran DNA dari nukleus maupun mitokondria dengan cara diekstraksi atau dilisiskan, biasanya dilakukan dengan homogenisasi penambahan buffer lisis untuk membantu mencegah DNA rusak dan proteinase K untuk pemurnian DNA dari kontaminan protein.

Menurut Irmawati (2003) mengatakan bahwa pita DNA yang tebal dan mengumpul (tidak menyebar) menunjukkan konsentrasi yang tinggi dan DNA total yang diekstrak dalam kondisi utuh. Sedangkan, pita DNA yang terlihat menyebar menunjukkan adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung, sehingga genom DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil. Terputusnya ikatan antar molekul tersebut dapat disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan yang dapat terjadi dalam proses pemipetan, pada saat dibolak-balik dalam *ependorf*, disentrifus, atau bahkan karena temperatur yang terlalu tinggi dan karena aktivitas bahan-bahan kimia tertentu.

Ukuran panjang basa pada udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang didapatkan dari hasil penelitian ini sesungguhnya telah dijelaskan dalam surat al-Hijr (15): 21,

﴿مَعْلُومٍ بِقَدَرٍ إِلَّا نُزِّلَهُ دَوْمًا حَزَّآبِيْنَهُ عِنْدَنَا لِأَشْيَاءٍ مِّنْ وَآِنٍ﴾

Artinya: “Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya, dan kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu.”

Kata *مَعْلُومٍ بِقَدَرٍ* (dengan ukuran yang tertentu) pada ayat diatas memiliki arti bahwa segala sesuatu itu sumbernya dari Allah SWT dan dengan ukuran yang tertentu pula (Shihab, 2002). Begitu pula dengan ukuran panjang basa yang dimiliki udang jari (*Metapenaeus elegans*), Allah SWT telah menciptakan udang

jari (*Metapenaeus elegans*) dengan panjang basa tertentu. Pada penelitian ini diketahui ukuran panjang basa yang dimiliki udang jari (*Metapenaeus elegans*) sebesar 992 bp dan memiliki kualitas karakter genetik yang berbeda pada setiap sampelnya.

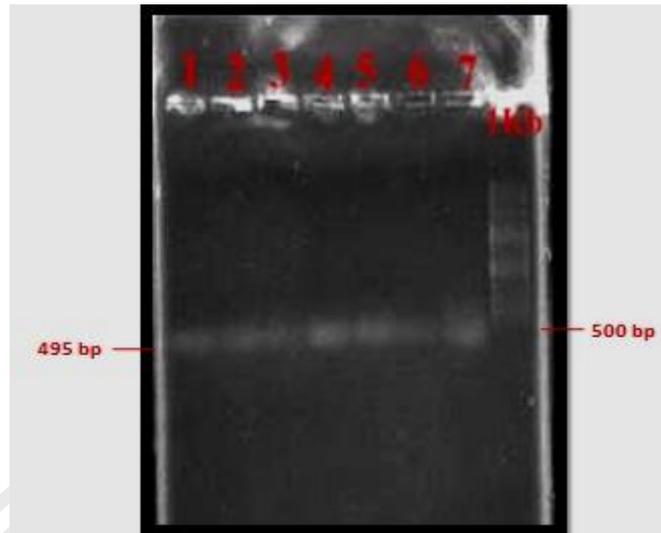
DNA total udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang berukuran 992 bp menunjukkan materi genetik (DNA inti dan DNA mitokondria) yang terdapat di dalam udang jari (*Metapenaeus elegans*). DNA inti (nukleus) berperan sebagai materi genetik yang diwariskan dari kedua orang tua dan mengatur segala sel. Sedangkan DNA mitokondria berperan menyandi kompleks protein tertentu yang sangat diperlukan untuk produksi ATP dalam tubuh (Susminarsih, 2010). Ukuran DNA total pada udang jari (*Metapenaeus elegans*) lebih rendah dibandingkan dengan ukuran DNA total pada udang yang lain, seperti udang galah dan udang vanname. Pada udang galah (*Marchobranchium rosenbergii*) memiliki DNA total dengan ukuran lebih dari 15.000 bp (Mandayasa, 2007), udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) memiliki DNA total dengan ukuran 10.000-12.000 bp (Annisa, 2008).

4.3 Amplifikasi PCR daerah kontrol DNA mitokondria udang jari (*Metapenaeus elegans*) hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah menggunakan primer COIL dan COIH.

Karakter genetik DNA mitokondria dapat diketahui melalui amplifikasi PCR. PCR atau reaksi polimerase berantai merupakan cara untuk mengamplifikasi (melipatgandakan) suatu fragmen DNA secara *in vitro* dengan menggunakan suatu primer tertentu (Taylor *et al.*, 1995). Produk PCR yang akan diamplifikasi berasal dari hasil ekstraksi DNA total dan telah memiliki nilai kuantitas DNA

total yang berasal dari pengamatan spektrofotometer. Pada penelitian ini amplifikasi PCR mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) menggunakan primer COIL (5'-TCG AGG TAT TCC ATT AAG TA-3') dan COIH (5'-ATA TTA GCC ATT GGT GTC TTA-3'). Hasil amplifikasi PCR mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) dapat dilihat pada **gambar 4.2**.

Berdasarkan amplifikasi PCR mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) seperti yang terlihat pada **gambar 4.2**, menunjukkan amplifikasi PCR mtDNA menggunakan primer COIL dan COIH menghasilkan pita tunggal mtDNA yang terletak pada 495 bp. Dari 7 sampel DNA total udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang berhasil diekstraksi dan dispektrofotometer, semua sampel menghasilkan produk PCR dengan ketebalan pita yang berbeda-beda. Berdasarkan ketebalan pita yang terbentuk, terlihat bahwa sampel 4, 5 dan 7 memiliki ketebalan pita yang lebih tebal dibandingkan dengan sampel yang lain. Ketebalan pita yang sama menunjukkan bahwa kehomogenan DNA yang terbentuk relatif sama. Pada sampel 7 ketebalan pita terlihat tebal tetapi masih terbentuk *smear*. Hal ini menunjukkan bahwa proses amplifikasi masih bisa berlangsung baik, namun diikuti dengan terbentuknya DNA non target yang tidak diinginkan yang ditunjukkan oleh *smear* yang terbentuk (Wahyudi, 2001).



Gambar 4.2 Elektroforegram hasil PCR dari ekstraksi DNA genom udang jari (*Metapenaeus elegans*) dengan Primer COIL dan COIH. 1Kb merupakan marker; sumur 1 (sampel dari individu 1); sumur 2 (sampel dari individu 2); sumur 3 (sampel dari individu 3); sumur 4 (sampel dari individu 4); sumur 5 (sampel dari individu 5); sumur 6 (sampel dari individu 6); dan sumur 7 (sampel dari individu 7).

Irmawati (2003) menjelaskan bahwa keberhasilan penggandaan DNA tergantung pada konsentrasi dan kemurnian sampel DNA, *Taq polimerase*, ukuran panjang primer, komposisi primer dan tingkat homologi primer dengan DNA target, sehingga faktor-faktor tersebut harus dikontrol secara hati-hati. Fatchiyah *et al.*, (2011) menambahkan bahwa kemurnian DNA target sangat penting karena ketidakmurnian suspensi DNA dapat mempengaruhi reaksi amplifikasi dan dapat menghambat kerja enzim DNA polimerase. Meskipun demikian, pada kondisi tertentu, amplifikasi PCR masih dapat bekerja dalam suspensi kasar.

Panjang genom mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang teramplifikasi menghasilkan pita tunggal daerah kontrol (D-loop) mtDNA dengan ukuran 495 bp. Ukuran tersebut jauh lebih pendek dibandingkan dengan ukuran daerah kontrol (D-loop) mtDNA pada jenis udang yang lain. Amplifikasi pada

udang Vanname berukuran 600 bp (Annisa, 2008) dan udang galah memiliki panjang susunan basa antara 700-1500 bp (Mandayasa, 2007). Hal ini sesuai dengan ukuran daerah kontrol (D-loop) mtDNA pada udang dengan genus *Metapenaeus*, yakni berkisar antara 200 – 1.900 bp (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/2013). Hal ini menunjukkan bahwa tingkat keberhasilan amplifikasi dengan menggunakan primer COIL dan COIH berhasil mengamplifikasi daerah kontrol (D-loop) pada udang jari (*Metapenaeus elegans*).

D-loop merupakan daerah mtDNA yang memiliki peranan penting dalam replikasi mtDNA dengan variasi sekuens tinggi. D-loop juga memiliki tingkat mutasi dan polimorfisme yang paling tinggi dibandingkan dengan daerah lain pada mtDNA. Daerah Hipervariabel 1 pada D-loop mtDNA bersifat sangat variabel dan mempunyai laju evolusi yang cepat. Oleh karena sifatnya tersebut, daerah ini sangat beragam antar individu tetapi sama untuk kerabat yang satu garis keturunan ibu. Laju mutasi sejauh ini diketahui 1:33 generasi, sehingga perubahan urutan nukleotida hanya akan terjadi setiap 33 generasi (Passarge, 2007).

Proses PCR merupakan proses siklus berulang meliputi denaturasi, annealing dan ekstensi. Reaksi amplifikasi PCR berlangsung sebanyak 35 siklus dengan suhu annealing 48°C. Annealing adalah langkah pengenalan primer ke pita DNA yang sesuai. Pada suhu ini terlihat bahwa beberapa sampel memiliki ketebalan pita yang beda dari sampel yang lainnya. Hal ini dapat disebabkan oleh panjangnya primer yang diberikan. Primer COIL mempunyai 20 panjang basa, sedangkan primer COIH mempunyai 21 panjang basa (Williams dan Benzie, 1997). Primer COI (Cytochrome *c* oxydase subunit I) merupakan primer universal yang digunakan untuk amplifikasi fragmen gen mitokondria pada daerah sitokrom

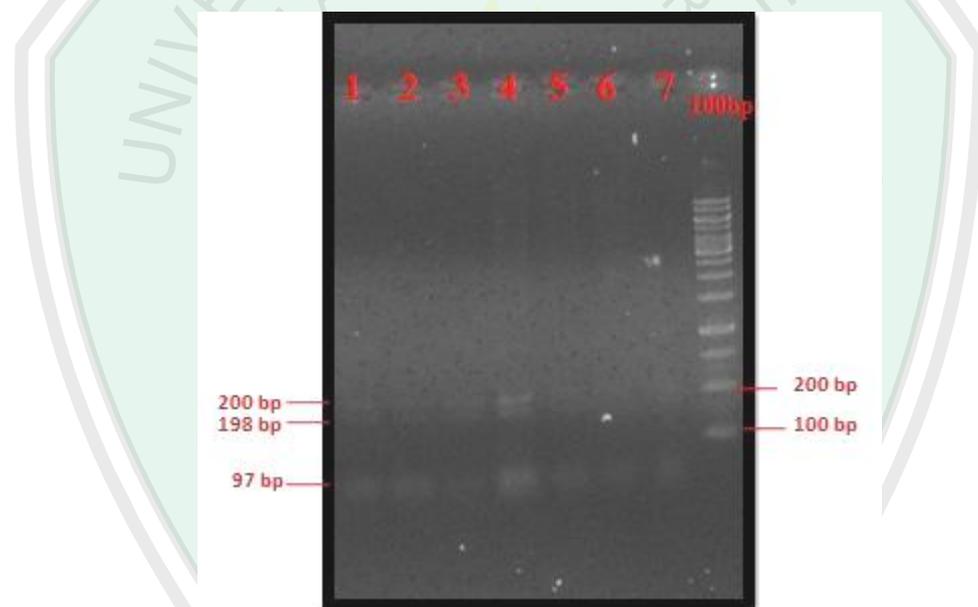
c oksidase yang berperan sebagai gen penyandi protein dalam genom mitokondria hewan (Folmer *et al.*, 1994). Wahyudi (2001) menyatakan bahwa untuk mengatasi masalah adanya DNA non target yang terbentuk dapat dilakukan dengan meningkatkan suhu annealing atau menggunakan primer yang lebih panjang sehingga dengan panjangnya primer maka spesifitasnya cukup baik.

4.4 Karakterisasi Genetik Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah berdasarkan Haplotipe DNA Mitokondria dengan Metode RFLP.

Metode RFLP merupakan metode yang digunakan untuk melihat polimorfisme genom organisme dengan cara menggunakan enzim pemotong tertentu (*restriction enzymes*) (Sudarmono, 2006). Enzim restriksi memiliki sifat yang spesifik, yakni akan memotong situs tertentu dengan cara memecah ikatan fosfodiester penghubung satu nukleotida dengan nukleotida lain suatu molekul DNA. Molekul DNA yang akan dipotong dengan enzim restriksi merupakan molekul DNA *single strand* atau merupakan hasil produk amplifikasi PCR. Produk PCR mtDNA genom udang jari (*Metapenaeus elegans*) hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah dipotong dengan menggunakan enzim *Nla*III. Hasil elektroforegram dari pemotongan sampel udang jari (*Metapenaeus elegans*) dengan enzim restriksi *Nla* III disajikan pada **gambar 4.3**.

Berdasarkan hasil pemotongan D-loop mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) dengan menggunakan enzim *Nla* III, menunjukkan bahwa dari 7 sampel DNA total udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang berhasil di amplifikasi, hanya 5 sampel yang berhasil dipotong dengan menggunakan enzim *Nla* III dan menghasilkan 3 pola pemotongan (haplotipe). Lima sampel yang berhasil

dipotong yakni, sampel pada sumur 1 menghasilkan 2 pola pemotongan (198 bp dan 200 bp), sampel pada sumur 2 menghasilkan 1 pola pemotongan (97 bp), sampel pada sumur 3 menghasilkan 2 pola pemotongan (198 bp dan 200 bp), sampel pada sumur 4 menghasilkan 3 pola pemotongan (97 bp, 198 bp, dan 200 bp), dan sampel pada sumur 5 menghasilkan 1 pola pemotongan (97 bp). Sedangkan pada sampel pada sumur 6 dan 7 tidak menghasilkan pola pemotongan. Hasil pemotongan D-loop mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang dikonfirmasi dengan elektroforesis gel agarose dengan konsentrasi 2% dapat dilihat pada **gambar 4.3**.



Gambar 4.3 Elektroforegram hasil pemotongan D-loop mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) dengan enzim *Nla* III. 100 bp merupakan marker; sumur 1 (sampel dari individu 1); sumur 2 (sampel dari individu 2); sumur 3 (sampel dari individu 3); sumur 4 (sampel dari individu 4); sumur 5 (sampel dari individu 5); sumur 6 (sampel dari individu 6); dan sumur 7 (sampel dari individu 7).

Pola pemotongan D-loop mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang didapatkan dari hasil pemotongan dengan enzim restriksi *Nla* III (**gambar 4.3**) dapat membentuk tipe haplotipe D-loop mtDNA udang jari (*Metapenaeus*

elegans). Tipe haplotipe A terbentuk jika sampel memiliki 1 pola pemotongan, tipe haplotipe B terbentuk jika sampel memiliki 2 pola pemotongan dan tipe haplotipe C terbentuk jika sampel memiliki lebih dari 2 pola pemotongan. Enzim *Nla* III yang mengenali situs pemotongan 4 pasang basa ('CATG) (Irawan, 2008). Tipe haplotipe yang terbentuk dari pemotongan D-Loop mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) disajikan pada **tabel 4.2**.

Tabel 4.2 Pola pemotongan (haplotipe) D-loop mtDNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah dengan menggunakan enzim restriksi *Nla* III.

Sampel	Ukuran Haplotipe	Tipe Haplotipe
2 dan 5	97 bp	A
1 dan 3	198 bp + 200 bp	B
4	97 bp + 198 bp + 200 bp	C

Berdasarkan **gambar 4.3** maka hasil analisis pemotongan enzim restriksi *Nla* III terhadap D-loop mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) memberikan 3 tipe komposit haplotipe (**tabel 4.2**). Haplotipe tipe A (97 bp) ditemukan pada sampel 2 dan 5, haplotipe tipe B (198 bp dan 200 bp) ditemukan pada sampel 1 dan 3, dan haplotipe C (97 bp, 198 bp dan 200 bp) ditemukan pada sampel 4. Sampel-sampel yang memiliki tipe haplotipe sama mengindikasikan bahwa sampel tersebut berasal dari sumber genetik yang sama atau berasal dari keturunan maternal yang sama. Hal ini terjadi karena mtDNA diwariskan secara maternal. Hal ini sesuai dengan penelitian Annisa (2008) yang menjelaskan bahwa pada keturunan maternal yang sama akan menghasilkan pola pemotongan (haplotipe)

yang sama pula. Sedangkan pola pemotongan (haplotipe) yang berbeda mengindikasikan bahwa sampel tersebut berasal dari sumber genetik yang berbeda atau dari keturunan maternal yang berbeda.

Lewis (2005) menjelaskan bahwa mtDNA diwariskan secara maternal. Hal ini terjadi karena pada proses pembuahan sel telur bagian ekor sperma yang mengandung mitokondria akan dilepaskan sehingga tidak ada mtDNA dari induk jantan yang masuk ke dalam sel telur. DNA mitokondria (mtDNA) memiliki laju mutasi yang sangat tinggi 10-17 kali dari DNA inti, hal ini dikarenakan mtDNA memiliki DNA polimerase yang mempunyai aktivitas *proofreading* dalam replikasi DNA. Selain itu, analisis mtDNA akan membentuk komposit haplotipe seperti yang dijelaskan oleh *Zhao et al.*, (2003) yakni haplotipe merupakan sekelompok gen dalam organisme yang diwariskan dari salah satu orang tua. Pada antar individu dengan sumber genetik yang berbeda, haplotipe akan menunjukkan urutan DNA yang bervariasi.

Berdasarkan penjelasan di atas, sampel-sampel yang memiliki tipe haplotipe yang sama merupakan sampel dengan sumber genetik atau berasal dari keturunan yang sama. Karakter genetik mtDNA diwariskan secara maternal. Dalam hadist, Rasulullah saw berkata:

عَسَىٰ أَنْ يَكُونَ نَزْعُهُ عِرْقٌ

Artinya : “Barangkali ini (kulit hitam anakmu) juga dipengaruhi gen (moyang kamu)”

Hadist ini dikatakan oleh Rasulullah saw. pada saat seorang laki-laki dari Bani Fazarah datang menghadap Rasulullah saw. dan bertanya tentang keraguan untuk mengakui anaknya yang berkulit hitam yang berbeda dengan kulit laki-laki

dari Bani Fazarah tersebut. Hadist ini menunjukkan bahwa disiplin ilmu genetika modern yang ada saat ini, telah berkembang sejak zaman oleh Rasulullah saw. Dalam disiplin ilmu genetika modern menegaskan bahwa kemiripan antara anak dan induknya bisa jadi tidak terlihat secara langsung. Hal ini dikarenakan ada karakter-karakter dominan (yang terekspresikan) dan ada pula karakter-karakter resesif (tidak terekspresikan) dalam setiap individu. Individu yang memiliki karakter genetik yang sama dengan individu lainnya dapat dikatakan bahwa kedua individu tersebut berasal dari keturunan yang sama (An-Najjar, 2006).

Hal ini juga terjadi pada udang jari (*Metapenaeus elegans*), dimana pada sampel 2 dan 5 memiliki karakter genetik yang dominan sehingga antara sampel 2 (sampel dari individu 2) dengan sampel 5 (sampel dari individu 5) berasal dari keturunan maternal yang sama. Begitu pula dengan sampel 3 (sampel dari individu 3) dan sampel 1 (sampel dari individu 1) yang memiliki karakter dominan. Sedangkan sampel 4 (sampel dari individu 4) memiliki karakter dominan yang berbeda dengan sampel lainnya. Artinya pada sampel 4 (sampel dari individu 4) memiliki karakter genetik yang berbeda dan berasal dari keturunan yang berbeda pula dari sampel yang lainnya.

Pola pemotongan (haplotipe) yang berbeda pada setiap individu dalam suatu populasi maupun antar populasi dapat disebabkan karena terjadinya pergantian, penambahan atau hilangnya basa tertentu pada urutan pasang basa D-loop mtDNA yang dianalisa sehingga enzim tertentu tidak dapat memotong pada situs yang sama. Hal ini mengakibatkan terjadinya pergeseran situs pemotongan (Irmawati, 2003). Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa pada penelitian ini terdapat perbedaan urutan pasang basa pada individu yang mempunyai tipe

pemotongan basa yang berbeda. Hal ini mengindikasikan adanya keragaman genetik (polimorfisme) dalam populasi yang dianalisa. Penelitian serupa dilakukan oleh Mandayasa (2007), yang membuktikan bahwa polimorfisme merupakan refleksi alel-alel yang berbeda dalam suatu gen atau dalam DNA. Perubahan yang terjadi dalam sekuens DNA sering memunculkan situs baru atau menghilangkan situs lama bagi suatu enzim restriksi, sehingga apabila sekuens tersebut dipotong dengan enzim restriksi akan menghasilkan fragmen-fragmen DNA yang berbeda panjangnya.

Karakter genetik yang dihasilkan dari pemotongan enzim restriksi *Nla* III terhadap mtDNA udang jari (*Metapenaeus elegans*) yakni pola haplotipe monomorfik ditunjukkan pada tipe A dan B, serta pola haplotipe polimorfik ditunjukkan pada tipe C (tabel 4.2). Pola haplotipe monomorfik ialah pola yang terjadi jika situs restriksi menghasilkan posisi sekuens yang sama, dalam penelitian ini pola haplotipe monomorfik menghasilkan 2 posisi sekuens yang sama yakni posisi sekuens pada tipe A (97 bp) yang terdapat sampel 2 dan 5, serta posisi sekuens pada tipe B (198 bp dan 200 bp) yang terdapat sampel 1 dan 3. Pola haplotipe monomorfik mengindikasikan tingkat karakter genetik yang rendah yang dapat dicirikan dengan sifat heterozigositas yang rendah. Suatu organisme yang memiliki karakter genetik yang rendah maka memiliki peluang hidup yang kurang baik untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungannya (Toha, 2001).

Pola haplotipe polimorfik ialah pola yang terjadi dimana pola situs restriksi menghasilkan posisi sekuens yang berbeda yakni posisi sekuens pada tipe C (97 bp, 198 bp dan 200 bp) yang terdapat pada sampel 4. Pola haplotipe polimorfik mengindikasikan tingkat karakter genetik yang tinggi yang dapat

dicirikan dengan sifat heterozigositasnya yang tinggi. Suatu organisme yang memiliki karakter genetik yang tinggi maka memiliki peluang hidup yang lebih baik untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan. Heteroziositas yang tinggi memungkinkan perbaikan mutu genetik populasi dan mengeksploitasi gen-gen yang menguntungkan (Toha, 2001).

Heterozigositas pada suatu individu dapat muncul karena adanya mutasi, seleksi alam, pengaruh lingkungan dan perkawinan (Sofro, 1994). Pada Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) yang ada di alam salah satu penyebab heterozigositas dimungkinkan karena adanya persebaran populasi. Persebaran udang jari (*Metapenaeus elegans*) meliputi perairan indo-pasific, yakni Thailand, Malaysia, Borneo, Indonesia, Papua New Guinea, Dan Srilanka (Holthuis, 1980), sehingga Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) hanya dapat ditemukan ditempat tertentu. Kondisi perairan Segara Anakan yang mengalami penurunan ekosistem menyebabkan udang jari (*Metapenaeus elegans*) di Segara Anakan tidak dapat beradaptasidengan perubahan lingkungannya. Hal ini mempengaruhi proses adaptasi dan peluang hidup udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang berakibat pada penurunan populasi dan volume produksi (*Metapenaeus elegans*) mengalami penurunan. Oleh karena itu, diperlukan suatu pengembangan usaha budidaya udang jari (*Metapenaeus elegans*) dengan memilih udang jari (*Metapenaeus elegans*) yang memiliki karakter genetik yang dapat tumbuh dan beradaptasi dengan perubahan lingkungannya seperti karakter genetik yang dimiliki oleh sampel 4 (sampel dari individu 4).

Pada budidaya udang diperlukan usaha untuk meningkatkan dan memperbaiki mutu baik kualitas maupun kuantitas hasil produksi. Menurut Elliot

(2000) terdapat empat manajemen input dalam usaha aquakultur yang dapat meningkatkan hasil produksi, yaitu ukuran lahan, sarana dan prasarana, pakan dan genetik. Faktor genetik berkaitan dengan potensi biologi dari spesies untuk memberdayakan lingkungan habitatnya. Perbaikan genetik dapat dilakukan melalui beberapa metode, salah satunya adalah manajemen stok induk dengan seleksi *breeding* atau perkawian silang. Seleksi dan *breeding* udang untuk manajemen stok diperlukan informasi dasar mengenai keragaman genetik yang didapatkan dari jarak genetik dan keragaman haplotipenya. Diharapkan dengan perbaikan genetik pada stok induk udang dapat menghasilkan benih unggul yang terkait dengan pola adaptasi, kelangsungan hidup, dan pertumbuhan.

