

ANALISIS POLIMORFIK GENETIK DNA IKAN MAS KOKI

GENUS *Carrasius* MENGGUNAKAN METODE RAPD

(Random Amplified Polymorphic DNA)

Nurul Fadhilah*, Zahratul Idami, Sajaratud Dur

Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara
Jl. Lap. Golf No.120, Kp. Tengah, Kec. Pancur Batu, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara
e-mail: nrulfdhilahhrp76@gmail.com

Abstrak

Ikan mas koki (*Carrasius auratus*) adalah ikan memiliki ciri khas yang tersendiri. Keunikan dan keragamannya dapat diukur dari warna yang cemerlang, bentuk dan kelengkapan fisik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui primer yang efektif, polimorfik genetik DNA dan kekerabatan pada *Carrasius auratus* yang terdapat di pembudidayaan ikan hias, Binjai Utara dengan menggunakan metode RAPD dengan enam primer yaitu OPA 13, UBC 101, UBC 456, OPD 20, OPA 02 dan OPC 02. Tahapan yang dilakukan pada penelitian ini diantaranya isolasi DNA menggunakan Kit Favorgen, amplifikasi PCR, dan elektroforesis. Hasil penelitian menunjukkan primer yang teramplifikasi dan menghasilkan pita polimorfik adalah primer OPA 13, OPA 02 dan OPD 20. Jumlah pola pita dari hasil amplifikasi primer tersebut sebanyak 32 pita dengan panjang basa yang berkisar antara 100 bp – 1500 bp. Pita yang muncul kemudian diterjemahkan kedalam data biner dan dianalisis dengan program NTSYS versi 2.02. Menunjukkan bahwa kekerabatan terdekat adalah pada ikan mas koki jenis Ryukin dan Oranda dengan memiliki koefisien 0,74 atau sebesar 74%, sedangkan kekerabatan jauh pada Ikan Mas Koki Rachu dan Teleskop dengan koefisien sebesar 0,75 atau sebesar 75%. Dari data hasil panjang pita 900 bp, 600 bp, 400 bp, 300 bp 200 bp dan 100 bp dari komponen pertama memiliki peran penting dalam pengelompokkan *Carrasius auratus* dalam dendogram.

Kata kunci: *Carrasius auratus*, polimorfik, RAPD

Abstract

This ornamental fish has its own characteristics. Uniqueness and diversity can be measured from brilliant colors, physical shape and completeness, behavior. The aim of this research is to determine effective primers, genetic polymorphic DNA and relationships in *Carrasius auratus* found in ornamental fish cultivation, North Binjai using the RAPD method hearing six primers namely OPA 13, UBC 101, UBC 456, OPD 20, OPA 02 and OPC 02. The stages carried out in this research include DNA isolation using the Favorgen Kit, PCR amplification, and electrophoresis. The research results showed that the primers that were amplified and produced polymorphic bands were primers OPA 13, OPA 02 and OPD 20. The number of band patterns from the results of the primer amplification was 32 bands with base lengths ranging from 100 bp - 1500 bp. The bands that appeared were then translated into binary data and analyzed with the NTSYS version 2.02 program. Shows that the closest relationship is to the Ryukin and Oranda goldfish with a coefficient of 0.74, while the distant relationship is to the Rachu and Telescope goldfish with a coefficient of 0.75 or 75%. From the data, the band lengths of 900 bp, 600 bp, 400 bp, 300 bp, 200 bp and 100 bp of the first component have an important role in grouping *Carrasius auratus* in the dendogram.

Keywords: *Carrasius auratus*, polymorphic, RAPD

1. PENDAHULUAN

Keanekaragaman jenis ikan hias air tawar merupakan salah satu keanekaragaman hayati Indonesia yang patut dibanggakan. Keunikan dan keanekaragaman ikan cantik yang ditemukan di perairan Indonesia begitu besar sehingga negara ini dikenal sebagai "*home for hundred of exotic ornamental fish species*." 226 jenis ikan hias air tawar hidup dan 240 jenis ikan hias laut hidup tersedia. Salah satu produk perikanan yang dapat dihasilkan adalah ikan hias (Khoironi & Saskara, 2017).

Ikan koki *Carrasius* adalah Ikan air tawar cantik yang kini tengah digemari. Ikan yang dipelihara sebagai hiasan memiliki ciri-ciri yang unik. Warna-warna cerah, bentuk, kebugaran fisik, temperamen, dan kesehatan atau daya tahan ikan hias secara keseluruhan dapat digunakan untuk mengukur daya tariknya. Bagi para penggemar, menggunakannya untuk menghias akuarium merupakan bentuk konsumsi seni. Salah satu faktor penentu harga jual ikan hias adalah warnanya. Salah satu jenis ikan yang menarik dengan warna kuning pudar hingga merah adalah ikan mas (*Carassius auratus*).

Namun, saat dipelihara di akuarium, ikan hias biasanya kehilangan warnanya. Stresor lingkungan seperti sinar matahari, kualitas udara, kandungan pigmen pakan, dan pengaturan lain yang berbeda dari habitat asli akuarium merupakan beberapa penyebabnya. Terciptanya warna ikan yang menarik dipengaruhi oleh parameter makanan. Sel pigmen yang disebut kromatofora adalah yang memberi warna pada ikan. Kromatofora dapat ditemukan di bawah, di luar, atau di dalam dermis sisik. Warna yang paling umum untuk ikan hias adalah merah atau kuning. Komponen utama pigmen merah dan kuning adalah pigmen karotenoid. Penanda molekuler berdasarkan analisis DNA polimorfik digunakan dalam penelitian ini untuk mengidentifikasi apakah penanda molekuler terdapat pada ikan (Khairunnisa & Setyono, 2020).

Polimorfik DNA dapat berfungsi sebagai indikator molekuler ikan yang tumbuh cepat. Pendekatan Random Amplification Polymorphic DNA (RAPD) dapat digunakan untuk menjelaskan polimorfisme DNA. Polimorfisme DNA dalam jumlah tinggi dapat ditemukan menggunakan penanda RAPD, yang dapat

menghasilkan penanda genetik berkualitas tinggi. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa populasi ikan gabus (*Channa striata*) *Melanotaenia ajamaruensis* dan *Barbonymus schwanenfeldii* dapat dibedakan satu sama lain menggunakan temuan analisis RAPD. Ikan kerapu macan yang tahan terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* dan yang rentan terhadap salinitas yang bervariasi memiliki pola pita DNA yang berbeda berdasarkan metode RAPD. Penanda genetik untuk ikan lele dan nila juga telah diidentifikasi menggunakan metode ini. Dimungkinkan untuk membedakan antara ikan dengan berbagai ukuran menggunakan polimorfisme DNA. Pendekatan RAPD dapat digunakan untuk menjelaskan polimorfisme DNA. Tiga kelompok ikan besar, sedang, dan kecil dapat diidentifikasi variannya dalam polimorfisme DNA menggunakan pendekatan ini. Oleh karena itu, penanda molekuler untuk ikan dengan ukuran berbeda dapat ditemukan menggunakan metode ini (Utomo et al., 2021).

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah salah satu penanda molekuler yang diyakini mampu mendeteksi kelainan dini. Mengingat tingkat akurasi yang tinggi dan minimnya dampak lingkungan, penggunaan penanda molekuler berbasis DNA untuk mengidentifikasi kelainan pada tahap awal dianggap tepat untuk tujuan ini (Radona et al., 2017). Langkah pertama dalam analisis molekuler menggunakan DNA sebagai objek adalah ekstraksi atau isolasi DNA untuk menghasilkan DNA murni dengan konsentrasi tinggi yang cocok untuk RFLP (*Restriction Fragment Long Polymorphism*) dan RAPD. Primer yang digunakan dalam teknik RAPD adalah oligonukleotida pendek, biasanya 10 bp, yang mengikat daerah (situs) komplementernya. Untuk menemukan polimorfisme DNA yang berfungsi sebagai penanda genetik, pendekatan RAPD digunakan (Fitriya et al., 2015).

Primer adalah rantai asam nukleat yang bertindak sebagai prekursor sintesis DNA, yang diperlukan untuk replikasi DNA karena DNA polimerase adalah enzim yang mengkatalisis proses ini. Tingkat polimorfisme yang tinggi merupakan tujuan seleksi primer. Karena setiap primer memiliki situs pengikatan yang unik, seleksi primer dalam analisis genetik memengaruhi pita polimorfik yang dihasilkan. Setiap primer menghasilkan pita DNA polimorfik yang berbeda, yang bervariasi dalam

jumlah pasangan basa dan pita DNA. Konsentrasi dan kemurnian cetakan DNA, yang mengandung zat-zat seperti polisakarida dan senyawa fenolik, memiliki dampak yang signifikan terhadap kekuatan pita DNA yang diperkuat pada setiap primer. Konsentrasi DNA cetakan yang terlalu rendah sering kali menghasilkan pita DNA yang diperkuat yang redup atau tidak jelas (Gusmiaty et al., 2021).

Penggunaan RAPD adalah teknik untuk analisis DNA sering digunakan karena dapat mengidentifikasi perbedaan dalam urutan DNA tanpa memerlukan pengetahuan sebelumnya dan biasanya lebih cepat dan lebih murah daripada pendekatan alternatif. Merekonstruksi filogeni, menganalisis jarak genetik, dan menggunakan sedikit DNA merupakan manfaat dari metode ini. Beberapa penelitian tersebut belum banyak memberikan Informasi secara DNA Molekuler khususnya pada genus *Carrasius*. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai **“Analisis Polimorfik Genetik DNA Ikan Mas Koki Genus *Carrasius* Menggunakan Metode RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).**

2. METODE PENELITIAN

2.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai November 2024. Sampel ikan Mas Koki yang terdiri dari empat jenis yaitu Oranda, Ryukin, Teleskop dan Ranchu diperoleh dari pembudidayaan ikan hias yang terdapat di Kota Binjai, Sumatera Utara. Pelaksanaan analisis polimorfik genetik DNA menggunakan Metode RAPD dilakukan di Laboratorium Genetika Universitas Islam Negeri Sumatera Utara.

2.2 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian pada sampel ikan mas koki genus *Carrasius* ini diantaranya yaitu : Spatula, Mortar dan Alu, Alat Gel Dokumentasi (BIOSTEP), Mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*), spin column, Autoclave, Vortex (*Biosan Multi-Vortex V-32*), Rak Tube, Kamera Digital, Freezer, Mikro Pipet (Volume 10 µl, 20 µl, 100µl, Dan 1000 µl), Timbangan Analitik, Ice Box, Hotplate (*Benchmark*), Gelas Kimia 1000ml, Sentrifuge (*Eppendorf*), Gelas Ukur 100 ml, dan Labu Erlenmeyer 500 ml.

Bahan yang digunakan yaitu sampel jaringan pada ikan mas koki yang terdapat di kota Binjai, Sumatera Utara, Primer (OPD 20, OPA13, OPA 2, OPC 2, UBC 101 dan UBC 456), Etanol PA 96%, Larutan TBE Buffer, Kit PCR with day, Fluorovuee (Nucleic acid gel stain), Alkohol 70%, Tip Mikro Pipet, Collection Tube, Tube PCR 0,2 ml, Tube 1,5 ml, DNA Extraction Kit (Favorgen), Gloves, Tisu, Ice Gel, Aluminium Foil, *Taq Polymerase*, Spidol permanen, ddh₂O (akuabides), *Nucleace water free*, Agarose Bubuk.

2.3 Prosedur Penelitian

Karakterisasi molekuler Ikan Mas Koki (*Carrasius auratus*). dilakukan beberapa tahapan diantaranya yaitu: Koki pengoleksian specimen atau sampel pada sampel Ikan Mas, isolasi dan ekstraksi DNA, amplifikasi fragmen DNA menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*), memisahkan fragmen DNA menggunakan metode elektroforesi, dan analisis data dari hasil elektroforesis gel, dilakukan dengan pengamatan karakter morfologi yang terlihat dan studi literatur.

1) Koleksi Sampel

Penelitian polimorfik DNA pada *Carrasius*. menggunakan sampel jaringan pada ikan mas koki. yang diambil dari budidaya ikan hias di kota Binjai, Sumatera Utara. Bagian hewan yang digunakan adalah pada bagian ekor atau sirip pada ikan dewasa. Sampel ekor ikan mas koki dipotong menggunakan pisau bedah, sampel kemudian dimasukkan kedalam tabung mikro sentrifugasi 1,5 ml dan diisi dengan etanol 96% sebanyak 1 ml dan diberi label.

2) Isolasi DNA

Proses isolasi DNA ini dilakukan dengan menggunakan DNA *extraction kit* (Favorgen) dengan prosedur standar dari produsen.

3) Amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Tahapan awal amplifikasi sekuens nukleotida dilakukan menggunakan teknik RAPD-PCR dengan menggunakan 6 primer OPD 20, OPA13, OPA 2, OPC 2, UBC 101 dan UBC 456. Amplifikasi dilakukan dengan volume 25 µl yang terdiri atas 2 µl DNA template (sampel) hasil isolasi, 2 µl primer, 8,5 µl *distilled water* dan dicampur 12,5 µl Bioline.

4) Elektroforesis

Satu larutan TBE dan gel agarosa 1,5% digunakan untuk prosedur elektroforesis. 1,2 g bubuk agarosa dicampur dengan 8 mL larutan buffer TBE 10x dan 72 mL larutan air suling untuk membuat gel agarosa. Setelah itu, campuran agarosa dididihkan dalam microwave. Lima mikroliter gel pewarnaan Sybr safe ditambahkan ke gel agarosa, yang telah disimpan pada suhu kamar hingga menjadi hangat. Sisir dibuat dan dimasukkan ke dalam cetakan gel agarosa. Setelah cetakan siap, gel agarosa dimasukkan ke dalam dan dibiarkan mencapai suhu kamar selama sekitar setengah jam. Gel agarosa dimasukkan ke dalam ruang elektroforesis setelah sisir dikeluarkan. Penyangga TBE Permukaan gel agarosa dilapisi dengan larutan 1x. Sumur diisi dengan temuan PCR RAPD. Pada tegangan 125 volt, elektroforesis dilakukan selama 45 menit sementara ruang elektroforesis ditutup. Gel agarosa kemudian diangkat perlahan-lahan. Menggunakan transiluminator UV untuk memvisualisasikan temuan elektroforesis pada gel dokumentasi dan kemudian menyimpan berkas gambar dari komputer merupakan langkah terakhir (Ekasanti et al., 2023).

2.4 Teknik Analisis Data

Analisis data molekuler melibatkan pemeriksaan pita DNA yang dihasilkan oleh temuan elektroforesis gel PCR. Temuan pita DNA terbagi menjadi dua kelompok: pita polimorfisme dan pita monomorfik. Data tentang keberadaan atau ketiadaan pita pada setiap sampel kemudian ditangkap dalam bentuk matriks. Matriks diberi nilai 1 jika pita DNA ada dan 0 jika tidak ada pita. Parameter yang akan dihitung adalah jumlah Persen Lokus Polimorfik (PLP), variasi genetik, jumlah alel per locus (N_a), jumlah alel efektif per locus (N_e), jarak genetik dan aliran gen. Semua aliran tersebut dihitung dengan menggunakan software *Numerical Taxonomy and Multivariate System* (NTSYS) Versi 2.02.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Primer Efektif yang dihasilkan genetika DNA pada Ikan Mas Koki dengan Metode RAPD

Primer pada metode RAPD merupakan urutan pendek dari nukleotida yang

digunakan untuk memulai proses amplifikasi DNA. Primer biasanya terdiri dari sekitar 10-12 pasangan basa dan bersifat acak, artinya tidak dirancang untuk target urutan spesifik pada genom, tetapi untuk menempel pada bagian lokasi di seluruh genom. Primer juga digunakan dalam reaksi PCR untuk memperbanyak fragmen DNA yang terletak di antara dua primer tersebut, menghasilkan pola pita yang dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik. Primer berfungsi sebagai penanda yang spesifik untuk lokasi tertentu pada untai DNA yang akan teramplifikasi. Pada penelitian ini terdapat enam primer yang digunakan di antaranya yaitu OPA 13, OPA 02, UBC 101 UBC 456, OPD 20 dan OPC 02.



Gambar 1 Primer RAPD
 (Sumber: Dokumen pribadi)

Tabel 1 Rincian pada primer RAPD

Kode primer	Sequence	TM	GC Content	MW
UBC 101	5'- GCG CCT GGA G -3'	42.9 °C	80.0%	3,069
UBC 456	5' GCG GAG GTC C -3'	41.6 °C	80.0%	3, 069
OPD 20	5'- ACC CGG TCA C -3'	39.1°C	70.0%	2, 973
OPA 2	5'- TGC CGA GCT -3'	40.7 °C	70.0%	3, 044
OPA 13	5'- CAG CAC CCA C -3'	37.7 °C	70.0%	2,942
OPC 2	5'- GTG AGG CGT -3'	37.6 °C	70.0%	3, 084

Pada primer RAPD squence merujuk pada urutan nukleotida (base) yang membentuk primer tersebut. Primer adalah potongan pendek DNA yang digunakan

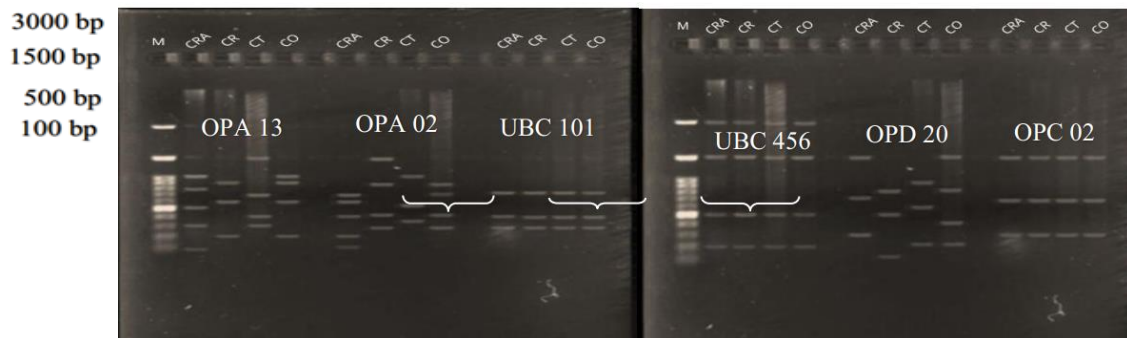
untuk memulai reaksi amplifikasi DNA dalam teknik PCR (Polymerase Chain Reaction). Pada primer RAPD urutan ini bersifat acak, dengan panjang sekitar 10 basa, yang dirancang untuk mengikat diposisi yang tidak diketahui atau acak pada template dna yang berbeda. Tujuan dari urutan primer RAPD adalah untuk menghasilkan produk amplifikasi yang berbeda-beda daro berbagai individu atau sepsis, sehingga menghasilkan polimorfisme. Urutan ini terdiri dari kombinasi basa adenine (A), timin (T), guanine (G), dan sitosin (C). T_m (Temperatur Peleburan) ialah suhu dimana 50% dari untaian DNA yang terduplikasi terpisah menjadi untaian tunggal saat pemanasan, sehingga dapat mengikat dengan efisien ke template DNA selama tahap amplifikasi PCR. Jika terlalu tinggi atau terlalu rendah, efisiensi dan spesifisitas reaksi PCR bias menurun. GC Content pada primer RAPD bertujuan untuk mendesain primer karena mempengaruhi stabilitas dan efisiensi ikatan primer dengan template DNA. GC Content untuk PCR dan RAPD berkisar antara 40-60%. Jika GC Content yang tinggi menghasilkan ikata yang lebih kuat antara primer dan template DNA, karena hidrogen antara G dan C lebih kuat dibandingkan dengan A dan T, GC Content yang rendah $< 40\%$ dapat membuat ikatan primer dengan template DNA menjadi lebih lemah dan kurang stabil, yang bias mempengaruhi efisiensi amplifikasi.

3.2 Seleksi primer

Seleksi primer dilakukan untuk mengetahui primer yang mampu mengamplifikasi pita-pita DNA polimorfik dengan baik dan jelas (Larekeng et al., 2015). Pita-pita DNA yang terbentuk menunjukkan kesesuaian primer dengan DNA sampel menggunakan mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Berdasarkan hasil yang diperoleh dari keenam primer yaitu OPA 13 UBC 101, UBC 456, OPA 02, OPD 20 dan OPC 02 yang digunakan pada RAPD terdapat tiga primer yang dapat mengamplifikasi pita polimorfik pada sampel DNA yang telah diuji. Ketiga primer tersebut adalah OPA 13, OPA 02 dan OPD 20. Pita polimorfik terbentuk karena adanya variasi genetik diantara individu. Tiga primer lainnya juga teramplifikasi DNA, namun pita yang dihasilkan monomorfik. Primer tersebut diantaranya yaitu primer UBC 101, UBC 456 dan OPC 02. Pita monomorfik terbentuk karena kurangnya variasi genetik pada primer, homogenitas genetik pada sampel dan ketidak

efisiensi primer. Hasil amplifikasi DNA yang muncul dapat dilihat pada gambar

2.



Gambar 2 Hasil Amplifikasi DNA oleh OPA 13, OPA 02, UBC 101 UBC 456, OPD 20 dan OPC 02

Pita yang teramplifikasi pada OPA 13 sebanyak 11 pita berkisar antara 100 bp – 1500 bp. OPA 02 pola pita yang teramplifikasi 10 pita dengan 9 berkisar antara 100 – 900 dan satu pita teramplifikasi di 1500 bp pada sampel Ikan Mas Koki jenis teleskop. Pada UBC 101 pola pita yang teramplifikasi sebanyak 3 dengan ukuran 300 bp, 400 bp dan 700 bp. Pada primer UBC 456 pola pita yang teramplifikasi sebanyak 4 dengan ukuran 100 bp, 500 bp, 1500 bp dan 3000 bp. Pada primer OPC 20 pita yang teramplifikasi sebanyak 12 pita dengan ukuran berkisar 100 bp – 1500 bp. Dan pada primer OPC 20 pita yang teramplifikasi sebanyak 3 pola pita dengan ukuran 300 bp, 700 bp dan 1500 bp.

Hasil seleksi dari keenam primer terdapat terdapat tiga primer pita polimorfik dan tiga primer pita monomorfik. Pita polimorfik adalah gambaran pita DNA yang muncul pada ukuran tertentu, tetapi pada sampel lain tidak ditemukan pita DNA pada ukuran tersebut. Pita monomorfik adalah pita yang mempunyai satu bentuk sehingga tidak memiliki variasi (Makmur et al., 2020).

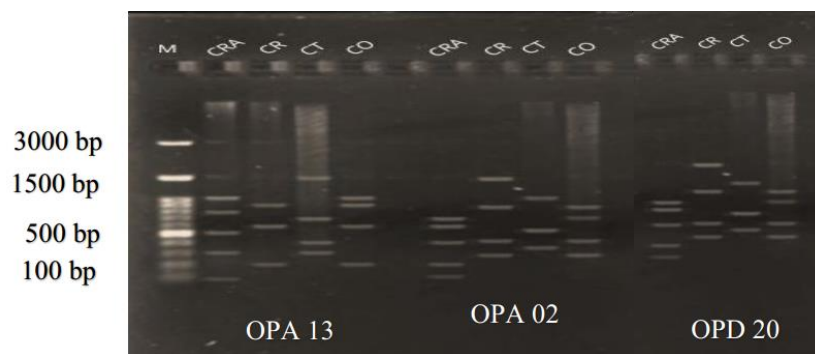
Dari gambar 2 dapat dilihat bahwa dari keenam primer yang berhasil teramplifikasi oleh pola pita DNA dan tidak ada yang gagal. Keberhasilan suatu primer dalam pengamplifikasian DNA cetakan ditentukan oleh ada tidak nya homologi skuen nukleotida primer dengan sekuen nukleotida DNA cetakan. Disamping itu, keberhasilan suatu primer dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas DNA, konsentrasi $MgCl_2$, enzim *Tag* polymerase dan suhu *annealing* primer (Salamena et al., 2018).

3.3 Primer efektif pada DNA Ikan Mas Koki

Primer efektif yang terpilih yang dihasilkan dari keenam primer terdapat pada OPD 20 dengan pola pita polimorfik sebanyak 12 pita yang teramplifikasi dengan penyebaran pita paling banyak pada banyak individu.

3.4 Polimorfik genetik DNA ikan Mas Koki menggunakan Metode RAPD

Terdapat tiga primer yang menghasilkan pita polimorfik pada percobaan dengan menggunakan empat sampel yaitu OPA 13, OPA 02 dan OPD 20. Pita DNA polimorfik OPA 13, OPA 02 dan OPD 20 tersaji pada gambar 3.



Gambar 3 Hasil primer yang teramplifikasi pita polimorfik

Gambar 3 menunjukkan amplifikasi pita-pita DNA polimorfik yang jelas dan terang. Kemunculan pita pada OPA 13 yang teramplifikasi dengan sampel keseluruhan sebanyak 11 dengan ukuran 100 bp – 1500 bp. Pada OPA 02 kemunculan pita dengan sampel keseluruhan sebanyak 11 pita yang teramplifikasi berkisar antara 100 bp- 1500 bp dan pada OPD 20 terdapat 12 pita yang teramplifikasi dengan sampel keseluruhan dengan ukuran 100 bp – 1500 bp. Primer yang menghasilkan pita-pita yang terang, jelas, dan polimorfik cocok untuk pemeriksaan selanjutnya. Dalam analisis polimorfisme genetik, jumlah pita DNA polimorfik setelah amplifikasi PCR menggunakan enam primer RAPD pada empat spesies ikan mas merupakan ukuran tingkat keragaman populasi. Keragaman genetik meningkat seiring dengan jumlah pita polimorfik. Tingkat keragaman yang signifikan di antara keempat spesies ikan yang diteliti dapat disimpulkan dari nilai polimorfisme yang tinggi.

Jumlah dan intensitas pita DNA yang teramplifikasi sangat dipengaruhi kesesuaian dari primer dan sekuen DNA yang digunakan sebagai cetakan (BIMA

AKZAD et al., 2021). Primer primer terpilih ini dapat menjadi rujukan untuk digunakan dalam studi keragaman genetik dan hubungan kekerabatan individu-individu pada Ikan Mas Koki yang berasal dari pembudidayaan ikan hias asal Kabupaten Binjai Utara.

Seleksi primer juga dilakukan untuk menentukan suhu *annealing* yang tepat. Menentukan suhu *annealing* yang tepat sangat berpengaruh terhadap hasil dari amplikasi sampel yang diuji. Hal ini disebabkan karena proses amplikasi seluruh sampel menggunakan suhu yang sama. Primer OPA-13 memiliki suhu *annealing* 40°C, Primer OPA-02 memiliki suhu *annealing* 20°C dan primer OPD-20 memiliki suhu *annealing* sebesar 41°C. Jumlah pita yang teramplifikasi untuk setiap primer terpilih dapat dilihat pada tabel 2.

Table 2 Hasil pita polimorfik yang teramplifikasi

M	OPA 13				OPA 02				OPD 20			
	CRA	CR	CT	CO	CRA	CR	CT	CO	CRA	CR	CT	CO
3000												
1500			+			+			+			+
1000	+			+								
900		+		+			+	+			+	
800	+				+					+		+
700			+		+			+	+			
600		+		+		+					+	
500	+						+		+	+		
400			+		+	+		+				+
350							+					
300	+		+			+		+				
200		+		+	+						+	+
100	+				+				+	+		

Tabel 3 Nama primer dan jumlah sampel yang teramplifikasi polimorfik

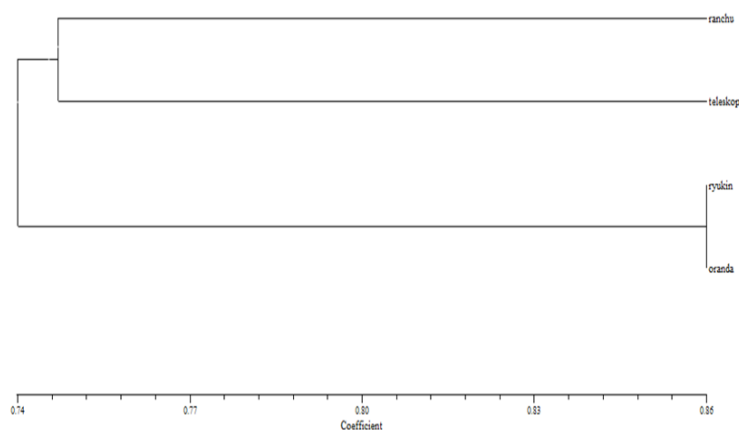
No.	Nama primer	Jumlah sampel yang teramplifikasi	Ukuran Marker (bp)
1.	OPA 13	11	100 - 1500
2.	OPA 02	11	100 -1500
3.	OPD 20	12	100 - 1500

Jumlah keseluruhan pada ketiga primer sebanyak 33 pita yang teramplifikasi dengan ukuran marker 100bp – 1500 bp. Suhu *annealing* selama proses PCR sangat mempengaruhi proses penempelan primer. Setiap satu derajat perubahan suhu dapat menyebabkan kegagalan primer untuk menempel pada DNA cetakan (Gusmiaty et

al., 2017). Suhu annealing yang tepat menentukan kualitas pita. Jika suhu *annealing* terlalu rendah, primer akan menempel pada lokasi yang bukan menjadi target penempelan pada cetakan DNA. Hal ini menyebabkan pita DNA terbentuk tidak spesifik. Namun, jika suhu annealing terlalu tinggi, maka primer tidak dapat menemukan situs penempelan pada cetakan DNA bahkan primer dapat mengalami kerusakan sehingga tidak menghasilkan pita DNA.

3.5 Hubungan kekerabatan pada Ikan Mas Koki genus *Carrasius* dari data RAPD

Hubungan kekerabatan pada sample ikan mas koki genus *Carrasius* dari data RAPD dapat dilihat dendogram yang menggunakan aplikasi NTSYS versi 2.02. Perhitungan koefisien similaritas pada program ini menggunakan metode pengklasteran UPGMA dan similaritas menggunakan simQual. Kelebihan simQual adalah untuk mengukur kesamaan antar elemen dalam data.



Gambar 4. Dendogram hubungan kekerabatan pada sampel *Carrasius*

Gambar 4 menunjukkan hasil analisis kekerabatan keempat sampel ikan mas koki genus (*Carrasius*) oleh tiga primer RAPD dengan nilai koefisien kemiripan antara 0,74-0,86. Keragaman genetik pada taraf tersebut tergolong tinggi, sehingga sifat yang terbentuk lebih dikendalikan oleh faktor genetik. Dendogram yang terbentuk menghasilkan dua kelompok pada nilai koefisien similaritas 0,74 atau 74% yang berarti memiliki perbedaan genetik sebesar 26%. Kelompok pertama menjadi subcluster yang terdiri dari sampel ranchu dan teleskop. Subcluster kedua terdiri dari ryukin dan ranchu. Nilai variasi sampel yang diuji tinggi maka akan semakin rendah presentase kesamaanya, begitu juga sebaliknya.

Semakin tinggi indeks kesamaan berarti semakin kecil variasi genetiknya atau

dengan kata lain jarak genetik yang lebih kecil. Indeks kesamaan yang rendah antar individu menunjukkan keragaman genetik yang tinggi. Sampel ikan mas koki jenis ryukin dan oranda berkerabat jauh dengan kedua jenis ikan mas koki lainnya, hal tersebut menggambarkan bahwa dari keempat sampel ikan mas koki yang diuji kedua sampel tersebut mempunyai variasi genetik tinggi dibandingkan kedua jenis ikan yang lain, sehingga jenis ini berpotensi dikembangkan untuk dijadikan sebagai sumber keragaman genetik. Variasi genetik menggambarkan keragaman dalam suatu spesies (Hanum et al., 2020). (Wardani & Yuniastuti, 2019) melaporkan bahwa variasi genetik yang lebih tinggi diperlukan upaya peningkatan adaptasi spesies terhadap perubahan lingkungan untuk peningkatan produktivitas. Semakin jauh hubungan kekerabatan antar sampel maka keberhasilan persilangan semakin kecil, namun memungkinkan memperoleh genotipe unggul lebih besar jika persilangan berhasil (Sawitri & Yuniastuti, 2019).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Primer yang efektif yang dihasilkan pada penelitian genetik DNA ikan mas koki genus *Carrasius* menggunakan metode RAPD adalah pada primer OPD 20 menghasilkan 12 pita, dikarenakan terdapat penyebaran individu paling banyak sehingga dapat menghasilkan primer yang efektif.
2. Polimorfik genetik DNA ikan mas koki menggunakan RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) memperlihatkan pola pita yang bervariasi, ukuran yang dihasilkan dari amplifikasi dengan primer yaitu OPA 13, OPA 02 dan OPD 20
3. Hubungan kekerabatan pada ikan mas koki Genus *Carrasius* dari data RAPD yaitu dengan koefisien kemiripan antara 0,74 - 0,86. Dendogram yang terbentuk menghasilkan dua kelompok dengan nilai koefisien similaritas 0,74 (74%) pada sampel ikan mas koki jenis Ryukin dan Oranda berkerabat jauh dengan kedua ikan lainnya yaitu Ranchu dan Teleskop, dikarenakan dari keempat sampel

tersebut mempunyai variasi genetik yang tinggi dibandingkan kedua ikan jenis lainnya.

4.2 Saran

Adapun saran pada penelitian ini adalah perlu dilakukan pada penelitian selanjutnya untuk menyeleksi primer-primer RAPD lain, sehingga dapat memperoleh jumlah primer RAPD polimorfik lebih banyak untuk digunakan dalam studi genetik pada Ikan Mas Koki dengan genus *Carrasius auratus* yang terdapat di Sumatera Utara.

5. REFERENSI

- Bima Akzad, M., Nuraeni, S., & Halimah Larekeng, S. (2021). Detecting DNA polymorphism on mulberry (*Morus sp.*) using RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*.
- Ekasanti, A., Syakuri, H., Muslih, M., & Listiowati, E. (2023). Keragaman Genetik Guppy (*Poecilia reticulata*) Menggunakan Metode RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). *Jurnal Perikanan Unram*, 13(4), 1032–1042.
- Fitriya, R. T., Ibrahim, M., & Lisdiana, L. (2015). Keefektifan metode isolasi DNA kit dan CTAB/NaCl yang dimodifikasi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *LenteraBio*, 4(1), 87–92.
- Gusmiaty, G., Restu, M., Asrianny, A., & Larekeng, S. H. (2017). Polimorfisme Penanda RAPD untuk Analisis Keragaman Genetik Pinusmerkusii di Hutan Pendidikan Unhas. *Jurnal Natur Indonesia*, 16(2), 47–53.
- Gusmiaty, G., Sari, N. A., Safira, T. N., Budiman, A., & Larekeng, S. H. (2021). Polimorfisme Penanda Rapd Untuk Analisis Keragaman Genetik Kemiri (*Aleurites Mollucana*) Di Kabupaten Maros. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 6(1), 22–30.
- Hanum, L., Wardana, S. T., Windusari, Y., Aminasih, N., & Patriono, E. (2020). Analysing South Sumatra red rice polymorphism using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Journal of Physics: Conference Series*, 1480(1), 12069.
- Khairunnisa, W. S., & Setyono, B. D. H. (2020). Kandungan Karotenoid Pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) Yang Diberi Tepung Labu Kuning, Tepung Wortel Dan Tepung Spirulina Carotenoid. *J Perikan*, 10(1), 77–83.
- Khoironi, F. E., & Saskara, I. A. N. (2017). Analisis pengaruh kurs dollar, inflasi, dan produksi terhadap ekspor ikan hias di provinsi bali. *E Jurnal EP Universitas Udayana*, 6(3), 336–337.
- Larekeng, S. H., Maskromo, I., Purwito, A., Matjik, N. A., & Sudarsono, S. (2015). Pollen dispersal and pollination patterns studies in Pati kopyor coconut using molecular markers. *Cord*, 31(1), 46–60.
- Makmur, M. F., Larekeng, S. H., & Restu, M. (2020). Genetic diversity of eight types of bamboo based on random amplified polymorphic DNA (rapd) markers. *Plant Arch*, 20(2), 2333–2337.
- Radona, D., Kusmini, I. I., & Ath-thar, M. H. F. (2017). Karakterisasi Meristik Dan Morfometrik Tiga Generasi Ikan Tengadak. *Jurnal Riset Akuakultur*, 12(1), 1–8.

- Salamena, F., Hiariej, A., & Seumahu, C. A. (2018). Genetic Characterization of Galoba Durian (*Amonum spp.*) in Ambon Island Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Agrotech Journal*, 3(1), 27–33.
- Sawitri, A. D., & Yuniastuti, E. (2019). Morphological characterization of local durian as parent tree in Bitingan District, Rembang. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 250(1), 12002.
- Utomo, A. H. P., Pramono, T. B., Soedibya, H. T., Sukardi, P., & Syakuri, H. (2021). Analisis Polimorfisme DNA Ikan Gabus (*Channa striata*) Berbeda Ukuran Menggunakan Teknik RAPD. *Sainteks*, 17(2), 133–143.
- Wardani, N. C., & Yuniastuti, E. (2019). Genetic Identification and Micropropagation of Distributed Persimmons (*Diospyros kaki*) in Indonesia. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 42(4).