

**ANALISIS KERAGAMAN GENETIK PADA IKAN KERAPU
MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*) YANG TAHAN TERHADAP PENYAKIT YANG
DISEBABKAN BAKTERI *Vibrio alginolyticus***

*Analysis of Genetic Diversity from the Resistant Tiger Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) to the
Bacterial *Vibrio alginolyticus**

St. Hidayah Triana*, Mahir S. Gani dan Asmi Citra Malina

Diterima : 4 Juni 2014; Disetujui : 23 Juli 2014

ABSTRACT

*The research was purposed to analyse genetic similarity of tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) in order to select grouper that was resistant to *Vibrio alginolyticus*. In this study, fish were challenged with *Vibrio alginolyticus* and genetic similarity was examined by a PCR-RAPD method. Eight RAPD primers were used for PCR-RAPD analysis. The results showed that only three primers of RAPD primer (YNZ-22, UBC-456, dan UBC-457) generated high number of RAPD fragments. The resistant group of tiger groupers generated higher polymorph RAPD fragments than the susceptible groups. RAPD primer YNZ-22 and UBC-457 generated 82 % and 71 % of RAPD polymorph fragments from resistant group of fish and 71% and 60 % from susceptible groups, respectively. Primer YNZ-22 is a best genetic marker to analyse genetic similarity of tiger groupers produced specific marker ranging from 1,2-2,0 kb. Genetic distances between the population of resistant fish and population of susceptible fish was 0.5091 and between individual of the resistant fish and susceptible fish was 0.7032.*

*Keywords: Genetik diversity, *Epinephelus fuscoguttatus*, *V. alginolyticus*, PCR, RAPD.*

PENDAHULUAN

Ikan kerapu macan merupakan salah satu spesies kerapu yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan sebagai ikan budidaya karena mempunyai harga jual yang cukup tinggi. Selain merupakan komoditas perikanan laut yang bernilai tinggi dan menjadi salah satu komoditas unggulan di Indonesia, juga mempunyai pertumbuhan yang cepat.

Usaha budidaya ikan kerapu memiliki prospek yang cerah, karena didukung adanya teknologi pembenihan yang kini telah mulai dikuasai oleh para petani ikan ataupun nelayan. Akan tetapi budidaya ikan kerapu terkendala adanya keterbatasan benih baik dalam kualitas, kuantitas maupun kontinuitas. Rendahnya sintasan (*survival rate*) pada pembenihan karena adanya infeksi bakteri patogen yang pada kondisi puncak wabah dapat menyebabkan mortalitas sampai 100% (Murdjani, 1997).

Bakteri yang mampu menyebabkan penyakit pada ikan (patogen) terdiri dari *Vibrio anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. marinus*. Sedangkan menurut Khasonchandra (1999) bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. alginolyticus* adalah yang berperan sebagai penyebab kematian pada ikan laut hingga mencapai 80 - 90% (Wijayati dan Hamid, 1997).

Usaha pengendalian penyakit bakterial pada kegiatan budidaya ikan kerapu dapat dilakukan dengan menggunakan obat-obatan atau antibiotik, pemberian vaksin (Kamiso *et.al*, 2005) dan imunostimulan (Alifuddin, 1999), juga dengan menghasilkan strain ikan kerapu yang tahan terhadap serangan penyakit seperti bakteri dalam hal ini *Vibrio alginolyticus* (Triana *et al.*, 2006).

*** Korespondensi:**

Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Muslim Indonesia
Kampus II Jalan Urip Sumohardjo Km 5 Makassar.
Telp. (0411) 454550. E-mail: hidayah_triana@yahoo.co.id

Untuk mendapatkan ikan kerapu macan yang tahan *Vibrio* maka telah dilakukan penelitian tentang profil DNA ikan kerapu macan yang tahan dan rentan terhadap *Vibrio alginolyticus* (Triana *et al.*, 2007), yang akan dilanjutkan dengan pengamatan tentang keragaman genetik jenis ikan kerapu macan. Hasil yang diharapkan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui keragaman genetik ikan kerapu macan dalam rangka proses seleksi induk ikan kerapu macan unggul (tahan terhadap serangan penyakit yang disebabkan bakteri *Vibrio alginolyticus*).

METODE PENELITIAN

1. Tempat dan Waktu

Pemeliharaan ikan kerapu dilaksanakan di Balai Riset Budidaya Air Payau Takalar (Sul-Sel) mulai dari Mei hingga Agustus 2008 sedangkan ekstraksi dan isolasi DNA, penggandaan DNA, pemotongan DNA dan elektroforesis dilakukan di Laboratorium Genetika Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB Bogor mulai dari September hingga Nopember 2008. .

2. Bahan dan Alat

2.1. Ikan Uji

Ikan yang digunakan adalah ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang diperoleh dari Balai Besar Riset Perikanan Pantai Gondol (Bali). Benih ikan dengan ukuran antara 6-8 cm terlebih dahulu diadaptasikan selama satu bulan.

2.2. Pakan

Pakan yang digunakan adalah pellet ikan yang diberikan secara *ad libitum*, frekuensi pemberian pakan dilakukan tiga kali sehari.

2.3. Bakteri

Bakteri yang digunakan untuk ujiantang dalam penelitian ini adalah bakteri yang diperoleh dari Balai Riset Budidaya Air Payau Takalar. Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan metode cawan tuang dan dinyatakan sebagai *Coloni Forming Unit* (CFU), sedangkan antigen bakteri untuk ujiantang disiapkan dengan biakan bakteri umur 24 jam.

2.4. Wadah Percobaan

Wadah yang digunakan dalam percobaan ini adalah ember plastik berkapasitas 80 liter sebanyak 12 buah yang dilengkapi dengan peralatan aerasi. Setiap wadah diisi sebanyak 10 ekor. Sebelum digunakan wadah tersebut terlebih dahulu disucihamakan.

3. Perlakuan

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu tahap pertama adalah uji pendahuluan mencari lethal dosis 50 untuk mendapatkan ikan tahan dan rentan terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* dan tahap kedua adalah uji utama untuk kajian keragaman genetik.

Tahap pertama meliputi uji pendahuluan yang terdiri konsentrasi bakteri 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 dan 10^6 CFU/ml. Dari ke lima konsentrasi tersebut akan diambil tiga lethal konsentrasi, untuk selanjutnya akan dicari nilai LC_{50} sebagai uji akhir untuk mendapatkan ikan yang tahan dan rentan terhadap bakteri *V. alginolyticus*.

Penelitian utama terdiri dari dua perlakuan yaitu ikan yang tahan (hidup) dan rentan (mati) terhadap serangan bakteri *Vibrio alginolyticus*, setelah terlebih dahulu diinfeksi dengan dosis LC_{50} dengan cara perendaman.

4. Pemeriksaan Parameter

Parameter yang diamati meliputi ekstraksi dan pengukuran konsentrasi DNA, analisa PCR-RAPD dan elektroforesis.

4.1. Ekstraksi dan pengukuran konsentrasi DNA genom

Sirip ekor dari masing-masing 7 ekor ikan yang hidup dan yang mati setelah diuji tantang dengan bakteri patogen *Vibrio alginolyticus* dipotong untuk ekstraksi DNA genom, menggunakan Kit (Puregene, Minneapolis, USA) sesuai dengan prosedur yang ada (metode modifikasi yang dilakukan oleh Laboratorium Genetika Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. Konsentrasi DNA diukur menggunakan mesin kuantifikasi DNA/RNA. Sebanyak 1 µl hasil reaksi dielektroforesis menggunakan gel agarose 0,7%, DNA divisualisasi dengan etidium bromida yang disinari dengan UV.

4.2. Analisa PCR-RAPD

Pada tahap awal, 8 jenis primer diuji dalam proses PCR untuk mengetahui primer yang bisa digunakan untuk mengamplifikasi DNA ikan kerapu macan, terdiri dari primer -A, -B, dan -C, YNZ-22, UBC-122, -158, -456, dan -457. Tahap selanjutnya dipilih tiga primer yang menghasilkan pola pita terbaik dan paling jelas yaitu **YNZ-22, UBC-456 dan UBC-457**. Amplifikasi PCR dilakukan dengan volume reaksi 15 µl yang mengandung 1x *Ex Taq* Buffer, 200µM dNTP mix, *Ex Taq* polymerase (Takara Bio, Shiga, Japan) 0,125U, 1 µl DNA dan 1,5 µl primer. Hasil amplifikasi kemudian dielektroforesis menggunakan gel agarose 0,7%, DNA divisualisasi dengan etidium bromida yang disinari dengan UV.

5. Analisis Data

Perhitungan penentuan Lethal Dosis (LC50) menggunakan analisis probit berdasarkan Bushine-Nash (Koestoni,1985). Ukuran penanda spesifik diduga berdasarkan pada ukuran penanda DNA (1 kb DNA Ladder) (Hannum *et al.*, 2003). Untuk analisis polimorfisme DNA dilakukan dengan analisis rata-rata dari masing-masing kelompok ikan yang tahan (T) dan yang rentan (M). Penentuan pola pita RAPD sebagai polimorfik atau monomorfik berdasarkan Purba dan Martanti (2008). Analisis keragaman genetik menggunakan program *Tools for Population Genetic Analysis* (TFPGA) versi 1.3. (Miller, 2000) Jarak genetik disajikan dalam bentuk dendrogram dengan analisis *Unweighted Pair Group Method of Arithmetic* (UPGMA). Adapun analisis kualitas airnya dilakukan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

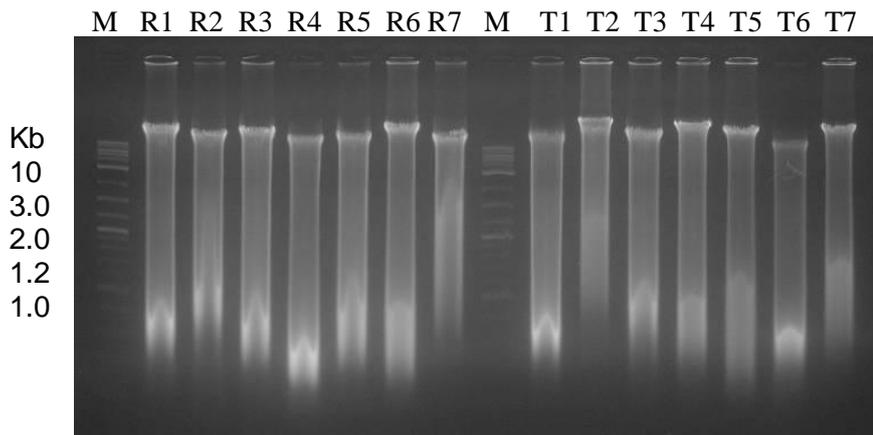
1. Penentuan Lethal Concentration 50 (LC₅₀)

Uji pendahuluan untuk mendapatkan LC₅₀ digunakan konsentrasi 10², 10³, 10⁴, 10⁵ dan 10⁶ CFU/ml. Dari uji pendahuluan ini didapatkan tiga konsentrasi bakteri *V.alginolyticus* yang menyebabkan kematian mendekati 50 % yaitu 10³, 10⁴ dan 10⁵ CFU/ml. Selanjutnya dari hasil uji ke tiga konsentrasi diperoleh data pada Tabel 1. Hasil analisis probit dari data tersebut diperoleh nilai LC₅₀ adalah 3,5 x 10⁴ CFU/ml.

Tabel 1. Rata-rata Respon Ikan Kerapu Macan yang Tahan (Hidup) dan Rentan (Mati)

Kepadatan Bakteri (CFU/ml)	Respon		Ratio	% Kematian
	Mati	Hidup		
10 ⁵	4	2	4/6	66,67
10 ⁴	2	4	2/6	33,33
10 ³	1	5	1/6	16,67

2. Keanekaragaman Genetik



Gambar 1. Elektroforesis DNA yang diekstraksi dari sirip ekor ikan kerapu macan yang rentan (R1-R7) dan yang tahan (T1-T7). M : penanda dengan panjang DNA ditunjukkan di sebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb).

Hasil ekstraksi DNA ikan kerapu macan yang tahan dan yang rentan setelah uji tantangan masing – masing 7 ekor, ditunjukkan pada Gambar 1. Visualisasi DNA pada gel agarose memperlihatkan bentuk dan ukuran DNA pada perlakuan ikan yang tahan (kolom T1-T7) dan rentan (kolom R1-R7) hampir sama.

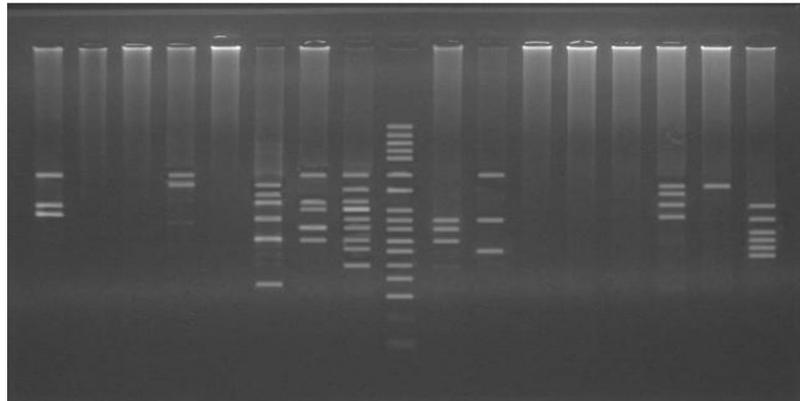
Pada tahap awal, sampel DNA ikan kerapu yang tahan (hidup) dan rentan (mati) diuji dengan menggunakan 8 jenis primer yang terdiri dari primer A, B, C, UBC-122, 158, 456, 457, dan YNZ-22 untuk mengetahui jenis primer yang menghasilkan jumlah fragmen DNA yang banyak dan jelas terlihat (Gambar 2). Seperti ditunjukkan pada Gambar 2 bahwa tidak semua primer tersebut dapat melekat atau *annealing* ke DNA genom sehingga tidak semua proses PCR menghasilkan fragmen DNA. Hal ini dapat disebabkan karena antara primer-primer tersebut dengan DNA cetakan (template DNA) tidak terdapat kesamaan urutan basa diantara keduanya, karena apabila terdapat kesamaan urutan basa diantara ke duanya maka primer akan menempel pada ke dua utas DNA cetakan di dua situs (sites) yang berbeda. Kalau ke dua situs penempelan primer berada dalam jarak yang dapat diamplifikasi maka akan diperoleh produk PCR berupa fragmen DNA (Tingey *et al.*, 1992; Sambrook *et al.*, 1989). Didukung oleh pernyataan Tingey *et al.* (1992) bahwa keberhasilan suatu primer mengamplifikasi DNA cetakan ditentukan oleh ada tidaknya homologi sekuens nukleotida primer dengan DNA cetakan. Selain itu, pada kolom yang memiliki fragmen DNA yang jelas terlihat menunjukkan pola yang bervariasi antar primer, mengindikasikan spesifitas sekuen DNA tempat masing-masing primer tersebut melekat. Adapun sekuen daripada primer-primer tersebut dan jumlah fragmennya masing-masing dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada proses PCR selanjutnya untuk semua sampel digunakan primer YNZ-22, UBC-456 dan UBC-457 karena ke tiga primer inilah yang menghasilkan pola fragmen yang sangat jelas dan paling banyak. Pada primer YNZ-22, untuk ikan yang tahan mempunyai 6 fragmen dan rentan 9 fragmen, primer UBC-456 untuk ikan yang tahan 4 fragmen dan rentan 6 fragmen sedangkan primer UBC-457 untuk ikan yang tahan 1 fragmen dan rentan 5 fragmen, ditunjukkan pada Gambar 2.

Tabel 2. Sekuen DNA Primer yang Menghasilkan Pola Fragmen DNA

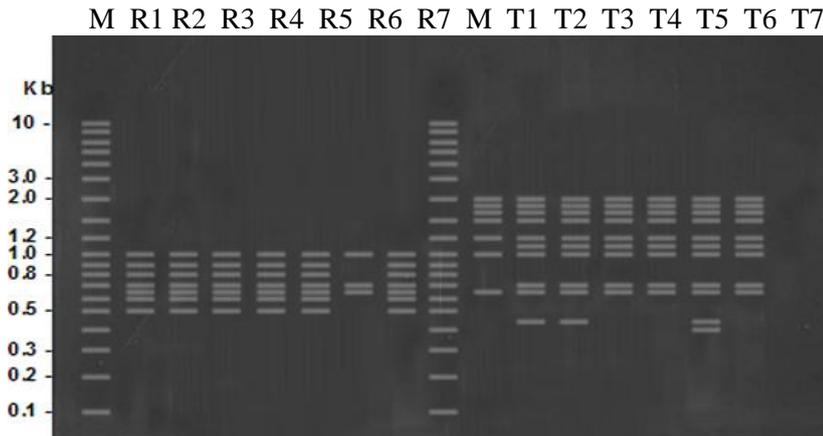
Jenis Primer	Sekuen DNA	Sumber Pustaka	Jumlah Fragmen yang Dihasilkan	
			T	R
A	TG(C/T)AA(G/A)GT(A/C/G/T)TT(C/T)AA	T. Knittel dan D. Picard (2008)	3	3
B	(T/C)TG(G/A)TA(G/A)AA(T/G/C/A)C(G/T)(T/C)TGCCA	T. Knittel dan D. Picard (2008)	3	-
UBC-122	GTA GAC GAG C	Khetpu <i>et al.</i> , (2005)	-	2
UBC-456	GCG GAG GTC C	Diaz <i>et al.</i> , (2007)	4	6
UBC-457	CGA CGC CCT G	Diaz <i>et al.</i> , (2007)	1	5
YNZ-22	CTC TGG GTG TCG TGC	Diaz <i>et al.</i> , (2007)	6	9

1 2 3 4 5 6 7 8 M 9 10 11 12 13 14 15 16

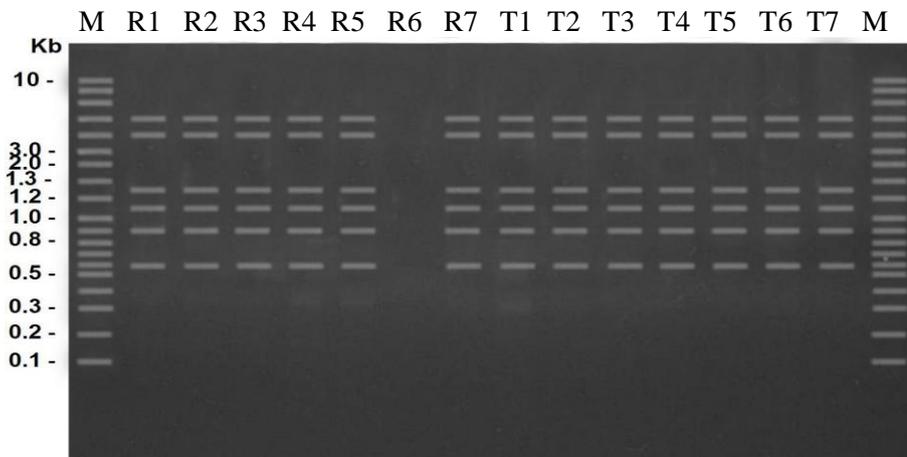


Gambar 2. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD ikan kerapu macan yang rentan (1-8) dan yang tahan (9-16) dengan 8 jenis primer berbeda (primer A, B, C, UBC-122, UBC-1-58, UBC-456, UBC457, YNZ-22)

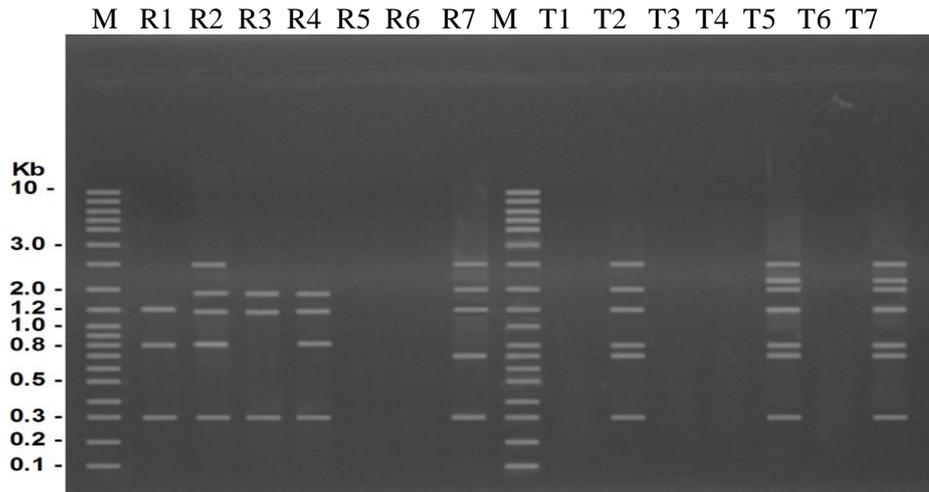
Hasil elektroforesis produk PCR menggunakan primer YNZ-22, UBC-456 dan UBC-457 untuk semua sampel ditunjukkan pada Gambar 3, 4, dan 5. Dari ke tiga primer yang digunakan terlihat bahwa primer YNZ-22 memiliki jumlah fragmen yang lebih beragam (Gambar 3) dibandingkan dengan ke dua primer lainnya UBC-456 (Gambar 4) dan UBC-457 (Gambar 5). Hal ini terbukti dengan rata-rata jumlah fragmen YNZ-22 untuk ikan yang tahan lebih banyak (9,3 buah fragmen) dibandingkan dengan UBC-456 (6 buah fragmen) dan UBC-457 (6,7 buah fragmen) (Tabel 3). Sedangkan untuk ikan yang rentan dengan menggunakan primer YNZ-22 menghasilkan (6,4 buah fragmen), primer UBC-456 (6 buah fragmen) dan primer UBC-457 (4 buah fragmen). Hasil ini menunjukkan bahwa primer YNZ-22 merupakan *genetic marker* yang terbaik untuk menganalisa keragaman genetik ikan kerapu macan, karena primer inilah yang dapat membedakan antara ikan yang tahan dan rentan dan diperoleh marker spesifik untuk ikan tahan yaitu pada ukuran 1,2 - 2,0 kb.



Gambar 3. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD ikan kerapu macan yang rentan (R1-R7) dan yang tahan (T1-T7) dengan menggunakan primer YNZ-22. M : penanda dengan panjang fragmen DNA ditunjukkan di sebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb)



Gambar 4. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD ikan kerapu macan yang rentan (R1-R7) dan yang tahan (T1-T7) dengan menggunakan primer UBC-456. M : penanda dengan panjang fragmen DNA ditunjukkan di sebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb)



Gambar 5. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD ikan kerapu macan yang rentan (R1-R7) dan yang tahan (T1-T7) dengan menggunakan primer UBC-457 M : penanda dengan panjang fragmen DNA ditunjukkan disebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb).

Jumlah fragmen DNA ikan kerapu macan yang tahan dan rentan dapat dilihat pada Tabel 4. Dari tabel tersebut terlihat bahwa rata-rata jumlah fragmen DNA ikan yang tahan lebih besar (9,3 buah fragmen) dibandingkan dengan ikan yang rentan (6,4 buah fragmen) yang menggunakan primer YNZ-22. demikian pula dengan primer UBC-457, menghasilkan rata-rata jumlah fragmen yang lebih banyak (6,7 buah fragmen) daripada yang rentan (4 buah fragmen). Sementara pada primer UBC-456 menghasilkan rata-rata jumlah fragmen yang sama antara ikan yang tahan dan rentan (6 buah fragmen). Secara umum, hasil ini menunjukkan bahwa ikan kerapu macan yang tahan memiliki pola fragmen yang lebih beragam (polimorfik) dibandingkan dengan ikan yang rentan. Hal ini dikarenakan ikan yang tahan memiliki polimorfisme yang tinggi sehingga akan memiliki peluang hidup yang semakin tinggi untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan, terutama terhadap serangan penyakit dibandingkan dengan ikan yang rentan. Menurut Warr (2003), bahwa semakin besar polimorfisme suatu karakter individu atau populasi maka hal tersebut semakin baik (menguntungkan).

Tabel 4. Jumlah dan Rata-rata Fragmen DNA Ikan Kerapu Macan yang Tahan (T) dan Rentan (R)

Sampel	Primer		
	YNZ-22	UBC-456	UBC-457
T1	7	6	-
T2	10	6	6
T3	10	6	-
T4	9	6	-
T5	9	6	7
T6	11	6	-
T7	9	6	7
Jumlah	65	42	20
Rata-rata	9,3	6	6,7
R1	7	6	3
R2	7	6	5
R3	7	6	3
R4	7	6	4
R5	7	6	-
R6	3	-	-
R7	7	6	5

4. Analisis Keragaman Genetik

Keragaman genetik ikan kerapu macan yang tahan dan rentan terhadap serangan bakteri *V. alginolyticus* dapat dilihat dari perbedaan jumlah total fragmen, jumlah fragmen polimorfik, persentase fragmen polimorfisme dan ukuran fragmen serta jarak genetik ikan tersebut. Perbedaan keragaman genetik (variasi profil DNA) dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari tabel tersebut terlihat bahwa jumlah total fragmen yang dihasilkan dari dua primer yang digunakan memperlihatkan variasi jumlah fragmen antara populasi ikan kerapu macan yang tahan dan rentan. Pada populasi ikan kerapu yang tahan, jumlah fragmen yang terdapat pada kedua jenis primer berkisar antara 7 – 11 (Tabel 5) sedangkan jumlah fragmen pada populasi ikan yang rentan berkisar antara 5 – 7 fragmen. DNA hasil amplifikasi berukuran antara 0,3 – 2,5 kb.

Tabel 5. Jumlah Fragmen Monomorfik, Polimorfik, Total Fragmen, Persentase Polimorfisme dan Kisaran Ukuran Fragmen dari Populasi Ikan Kerapu Macan yang Tahan (T) dan Rentan (R) Terhadap Bakteri *V. alginolyticus*

Primer	Jumlah Fragmen Monomorfik		Jumlah Fragmen Polimorfik		Jumlah Total Fragmen		Persentase Polimorfisme (%)		Kisaran Ukuran Fragmen
	T	R	T	R	T	R	T	R	
YNZ-22	2	2	9	5	11	7	82	71	0,4 – 2,0
UBC-457	2	2	5	3	7	5	71	60	0,3 – 2,5

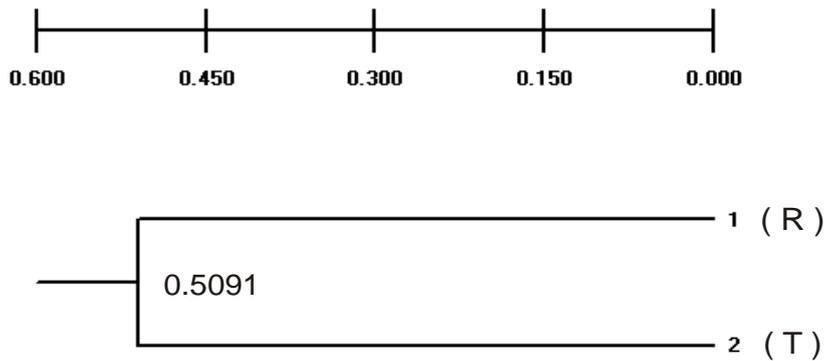
Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 5, maka dapat diketahui bahwa dengan menggunakan primer YNZ-22, jumlah fragmen polimorfik yang muncul sebanyak 9 buah fragmen pada ikan yang tahan dan rentan 5 buah. Jumlah fragmen monomorfik berjumlah 2 buah dengan ukuran masing-masing fragmen adalah 0,7 kb dan 1,0 kb (Gambar 3). Persentase polimorfisme pada ikan yang tahan sebesar 82 % dan pada ikan yang rentan 71 %.

Untuk primer UBC-457 diperoleh hasil jumlah fragmen polimorfik pada sampel ikan yang tahan yaitu 5 buah fragmen dan jumlah fragmen polimorfik pada ikan yang rentan 3 buah. Jumlah fragmen monomorfik pada sampel ikan yang tahan adalah 2 buah yang berukuran masing-masing 0,3 kb dan 1,2 kb (Gambar 5). Adapun persentase polimorfisme pada ikan yang tahan sebesar 71 % dan pada ikan yang rentan 60 %. Dengan demikian persentase polimorfisme tertinggi dimiliki oleh populasi ikan kerapu macan yang tahan.

Sejumlah penelitian sebelumnya mengemukakan, polimorfisme jumlah fragmen DNA yang dihasilkan pada analisis RAPD pada beberapa spesies ikan berbeda-beda, yaitu pada spesies *Haplostententhus atlanticus* memiliki 1-6 fragmen DNA dengan ukuran fragmen 600–2800 bp (Smith *et al.*, 1997) dalam Tingey *et al.*, (1992) dan *Ictalurus* memiliki 1–10 fragmen dengan ukuran fragmen 200–1500 bp. Menurut Soewardi (2007) untuk keperluan analisis, semakin tinggi fragmen yang dihasilkan suatu primer maka semakin baik untuk direkomendasikan dalam keperluan analisis.

Hasil PCR-RAPD menunjukkan adanya fragmen-fragmen spesifik yang dapat menjadi penanda (marker) pada populasi ikan kerapu macan yang tahan terhadap bakteri *V. alginolyticus* yaitu pada ukuran fragmen 1,2 – 2,0 kb dimana fragmen-fragmen ini tidak ditemukan pada populasi ikan kerapu macan yang rentan dengan menggunakan primer YNZ-22. Pemilihan primer pada analisis RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme fragmen yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri, akibatnya fragmen DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda, baik dalam ukuran maupun jumlah fragmen DNA (Poerba dan Martanti, 2008).

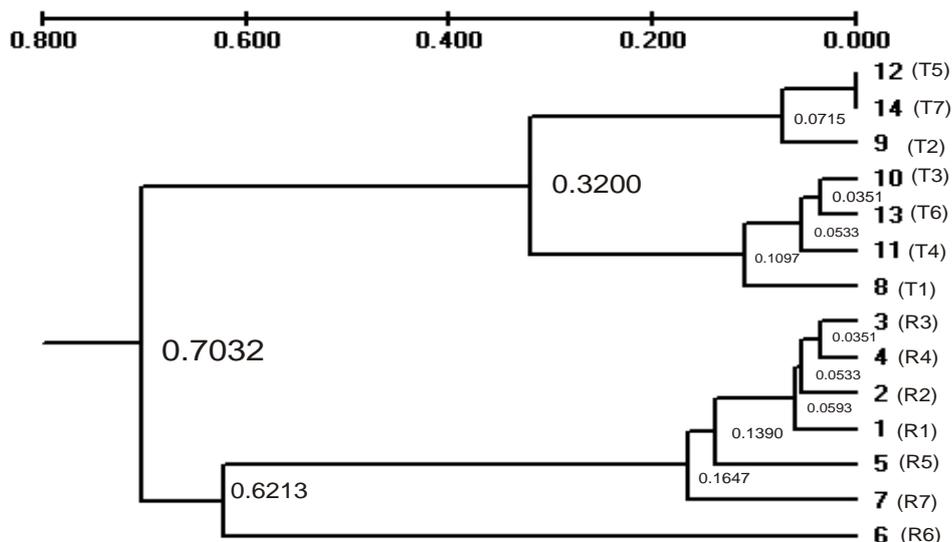
Hasil analisis UPGMA dengan menggunakan perangkat lunak TFPGA versi 1.3 memperlihatkan keragaman genetik antara ikan kerapu macan yang tahan dan rentan sebesar 0,5091 atau 50,91 % (Gambar 6). Hal ini menunjukkan bahwa antara ikan kerapu macan yang tahan dan rentan hubungannya dari segi genetik sudah agak jauh. Menurut Khaeruni (2005) bahwa semakin jauh jarak pada dendrogram hubungan secara genetik antar populasi makin jauh.



Gambar 6 : Dendrogram populasi ikan kerapu macan yang rentan (1) dan tahan (2) terhadap *V. alginolyticus*, hasil amplifikasi menggunakan 3 primer

Adapun hasil analisis pengelompokan antar individu populasi ikan kerapu macan yang tahan dan rentan dapat dilihat dari dendrogram pada Gambar 7. Dari gambar tersebut terlihat bahwa antar individu populasi ikan kerapu macan yang tahan dan rentan dihasilkan koefisien kekerabatan 0,7032 atau terdapat keragaman antar individu populasi sebesar 70,32 %. Jarak genetik antar individu dalam populasi ikan yang tahan adalah sebesar 0,32 atau keragaman antar individu sebesar 32 %. Secara umum bahwa ikan kerapu macan yang tahan memiliki keragaman genetik lebih besar dibandingkan dengan ikan kerapu macan yang rentan.

Pada kelompok populasi ikan kerapu macan yang tahan antara individu T5 dan T7 tidak berbeda, akan tetapi berbeda sebesar 0,0715 dengan T2 dan membentuk kelompok tersendiri. Antara T3 dan T6 jarak genetiknya sebesar 0,0351, selanjutnya antara T4 dengan T3 dan T6 jarak genetiknya sebesar 0,0533, lalu antara T1 dengan T4, T3 dan T6 jarak genetiknya sebesar 0,1097, dan individu tersebut membentuk kelompok tersendiri (Gambar 7).



Gambar 7 : Dendrogram individu ikan kerapu macan yang rentan (1,2,3,4,5,6,7) dan tahan (8,9,10,11,12,13,14) terhadap *V. alginolyticus*, hasil amplifikasi menggunakan 3 primer

Pada kelompok ikan yang rentan terlihat bahwa jarak genetik antara individu R3 dan R4 sebesar 0,0351, antara individu R2 dengan R3 dan R4 sebesar 0,0533, antara R1 dengan R2, R3 dan R4 sebesar 0,1390, antara R7 dengan R5, R1, R2, R3 dan R4 sebesar 0,1647. Jarak genetik antara kelompok ini cukup dekat. Akan tetapi, jarak genetik antara R6 dengan R7, R5, R1, R2, R3 dan R4 cukup jauh yaitu sebesar 0,6213.

4. Kualitas Air

Rataan kualitas air yang diperoleh selama penelitian tertera pada Tabel 6. Secara umum kualitas air yang diperoleh masih berada dalam kisaran yang dapat ditolerir oleh ikan kerapu macan karena menurut Subyakto (2003), kisaran kualitas air yang layak untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan kerapu seperti suhu 28–32 °C, salinitas 28–35 ppt, amoniak < 0,01 ppm dan oksigen terlarut > 3 ppm. Dengan demikian berdasarkan hasil pengukuran kualitas air, kisaran yang didapat masih layak untuk sintasan dan pertumbuhan ikan kerapu.

Tabel 6. Rataan Kualitas Air Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Selama Penelitian

Perlakuan	Parameter (Satuan)				
	Suhu (°C)	Salinitas (‰)	NH ₃ (ppm)	DO (ppm)	pH
Tahan	28	31	0	3,06	8
Rentan	28	31	0	3,06	8

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan beberapa hal diantaranya konsentrasi bakteri *V.alginolyticus* yang mematikan sebanyak 50 % (LC⁵⁰) ikan kerapu macan ukuran 6-8 cm adalah 3,5 x 10⁴. Ikan kerapu macan yang tahan memiliki pola pita yang lebih beragam (polimorfik) dibandingkan dengan ikan yang rentan (mati). Jumlah rata-rata pita DNA hasil amplifikasi PCR untuk ikan yang hidup lebih tinggi dibandingkan pada ikan yang rentan. Ukuran penanda spesifik ikan kerapu macan tahan yang menggunakan primer UBC-122 adalah 1,5-2,0 kb dan 0,75-0,95 pada UBC-456. Ikan yang hidup mempunyai prosentase pola pita polimorfik 100 % sedangkan yang mati 25 % (monomorfiknya 75 %). UBC-122 merupakan genetik marker terbaik untuk menganalisa keragaman genetik pada ikan kerapu macan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DP2M Dikti yang telah membiayai penelitian ini, kami juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Takalar dan Kepala Laboratorium Kesehatan Ikan BBAP Takalar (Sul-Sel) serta Kepala Laboratorium Reproduksi dan Genetika Organisme Akuatik, FPIK IPB Bogor atas fasilitas sarana dan prasarana yang diberikan untuk digunakan selama penelitian.

Daftar Pustaka

- Alifuddin, M. 1999. **Peran Imunostimulan (Lipopolisakarida, *Saccharomyces cereviceae* dan Levamisol) pada Gambaran respon Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus* Fowler)**. Program Studi Ilmu Perairan. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor. 52 hal
- Kamiso. H. N., A. Isnansetyo, Triyanto, M. Murdjani dan Murwantoko. 2005. **Produksi Vaksin *Vibrio* untuk Mengatasi Penyakit Ikan Kerapu**. Makalah disampaikan pada seminar Riset Unggulan Strategis Nasional (RUSNAS) Kerapu. 12 Agustus 2005. Jakarta. 16 hal.
- Khasonchandra. J., 1999. **Major Viral Bacterial Diseases of Marine Fishes with Emphasions Seabass and Grooper**. Paper Contributed to the Fourth Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. Cebu International Convention Centre, Water front Cebu city Hotel, Cebu City. Philipines.
- Khaeruni, A. 2005). **Keragaman Genetik dan Pengembangan Metode Deteksi Cepat Penyebab Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *Glycines*) pada Kedelai**. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor. 99 hal'

- Khetpu, K., S. Wongphayak, S. Klinbunga dan P. Menasveta. 2005. **Genetic Diversity and Species – Specific Markers of the Blue Swimming Crab *Portunus Pelagicus***. In : 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology. 7 pp
- Murdjani. M., 1997. **Pembenihan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dalam Bak Terkendali di Loka BBAP Situbondo**. Ditjen Perikanan, Deptan. 9 hal.
- Poerba, Y.S., dan D. Martanti. 2008. **Keragaman Genetik berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA pada *Amorphophallus muelleri* Blume di Jawa**. Biodiversitas vol. 9 (4) : 245-249
- Sambrook, J.E., F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. **Molecular Cloning : A Laboratory Manual**. CSH-New York : Cold Spring Harbour Laboratory.
- Soewardi. 2007. **Pengelolaan Keragaman Genetika Sumberdaya Perikanan dan Kelautan**. Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. Bogor.
- Subyakto, S., dan S. Cahyaningsih, 2003. **Pembenihan Kerapu Skala Rumah Tangga**. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Tingey SV, JA. Rafalski, dan JGK. Williams, 1992. **Genetic analysis with RAPD markers**. Dalam : Proceedings of the Symposium Applications of RAPD Technology to Plant Breeding. Minneapolis, 1 Nov 1992. Hal 3 - 8.
- Triana, S.H., Ilmiah, O. Carman, dan Asmi C.M. 2006. **Analisis Profil DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) kan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Diberi Imunostimulan *Saccharomyces cerevisiae* dan Vaksin *Vibrio alginolyticus***. Laporan Penelitian Hibah Pekerti IV/1. DP2M-DIKTI.
- Triana, S.H., O. Carman, A.C. Malina, Alimuddin, Ilmiah dan M.S. Gani. 2007. **Analisis Profil DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) kan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Tahan dan Rentan Terhadap Serangan Bakteri *Vibrio alginolyticus***. Laporan Penelitian Hibah Pekerti IV/2. DP2M-DIKTI.
- Wijayati, A., dan N. Hamid. 1997. **Identifikasi Bakteri pada Pembenuhan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)**. Dirjen Perikanan. Deptan.