

HUBUNGAN KEKERABATAN BEBERAPA POPULASI KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DI INDONESIA BERDASARKAN SEKUEN CYTROCROME B mtDNA

Achmad Sudradjat^{*)} dan Eni Kusrini^{)}**

^{*)} Pusat Riset Perikanan Budidaya
Jl. Ragunan 20, Pasar Minggu, Jakarta Selatan 12540
E-mail: sudradjat_1946@yahoo.com

<sup>**) Balai Riset Budidaya Ikan Hias
Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok</sup>

(Naskah diterima: 8 Maret 2010; Disetujui publikasi: 16 April 2010)

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan stok kerang hijau (*Perna viridis*) di beberapa perairan Indonesia sebagai informasi dasar bagi program pemuliaan. Sampel kerang hijau yang berasal dari populasi alam perairan Tanjung Kait, Kamal, Panimbang, Cirebon, Pasuruan, Kenjeran, dan Pangkep diambil secara acak. Amplifikasi PCR dan sekvensing mitokondria daerah cytochrome B adalah HCO (F): 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3' (26 bp) dan LCO (R): 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' (25 bp). Sekuen DNA yang diperoleh digunakan untuk analisis homologi, analisis *genetic distance* dan analisis kekerabatan. Hasil analisis homologi susunan nukleotida berdasarkan BLAST-N terhadap sekuen mtDNA *Perna viridis* yang tersimpan di Genebank menunjukkan similaritas 97%. Hasil analisis didapatkan jarak genetik yang terdekat adalah populasi Tanjung Kait dengan Kenjeran sedangkan jarak genetik terjauh adalah populasi Cirebon dengan Kamal. Hubungan kekerabatan yang ditunjukkan dengan dendrogram diperoleh 2 kelompok yaitu 6 populasi membentuk satu kelompok dan populasi Cirebon membentuk kluster tersendiri. Sekuens tersebut mungkin dapat digunakan sebagai penanda dalam program breeding kerang hijau di Indonesia.

KATA KUNCI: kerang hijau, kekerabatan, populasi, sekuen, jarak genetik

ABSTRACT: *Phylogenetic relationship among Perna viridis populations in Indonesia based on cytochrome B mtDNA sequences. By: Achmad Sudradjat and Eni Kusrini*

*The experiment was conducted to study the phylogenetic relationship among *Perna viridis* populations in Indonesia to provide a baseline information for its breeding program. *Perna viridis* samples were randomly obtained from Tanjung Kait, Kamal, Panimbang, Cirebon, Pasuruan, Kenjeran, and Pangkep. PCR amplification and sequencing of cytochrome B mtDNA are HCO (F): 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3' (26 bp) and LCO (R): 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' (25 bp). The mtDNA sequences were used for the analyses of homology, genetic distance and phylogenetic relationships. Analysis of sequence homology against mtDNA *Perna viridis* preserved in the Genebank based on BLAST-N showed 97% similarity. Based on the genetic distance analysis, Tanjung Kait and Kenjeran populations were the closest relatives in term of genetic and Cirebon and Kamal populations were the farthest. Phylogenetic relationships analysis clustered populations into 2 groups, i.e. 6 populations form one group and Cirebon population forms single group. Those sequences may be able to be used as a marker in the breeding program of *Perna viridis* in Indonesia.*

KEYWORDS: *Perna viridis population, phylogenetic, sequense, genetic distance*

PENDAHULUAN

Budidaya kekerangan di Indonesia khususnya kerang hijau belum berkembang dengan baik dengan berbagai alasan, jika dibandingkan dengan negara-negara lain di Asia Tenggara dan Asia Timur. Negara penghasil kerang dari dua genus utama, *Mytilus* dan *Perna* yaitu Cina, Spanyol, Italia, Thailand, Selandia Baru, Perancis, Irlandia, Belanda, Amerika Serikat, Korea, dan Jepang (FAO, 2006), sedangkan negara pengimpor terbanyak produk bivalvia adalah Jepang, Amerika Serikat, dan Perancis.

Kerang hijau (*Perna viridis*) merupakan salah satu spesies kekerangan yang termasuk family Mytilidae. Siddall (1980) mengemukakan bahwa genus *Perna* terdiri atas 3 spesies, yaitu *Perna perna* (Linnaeus, 1758), *Perna viridis* (Linnaeus, 1758), dan *Perna canaliculus* (Linnaeus, 1758). Vakily (1989) secara menyeluruh telah melaporkan tentang aspek biologi dan budidaya kerang hijau. Penyebaran kerang hijau terutama di perairan Indonesia bagian barat, Thailand, Myanmar, India, sampai Teluk Persia dan perairan Filipina. Penyebaran secara vertikal kerang hijau dilaporkan oleh Tan (1975) yaitu berdasarkan penyebaran penempelan spat antara 1,5 m dan 11,7 m di bawah garis pasang air tertinggi.

Kerang hijau merupakan salah satu komoditas yang memenuhi syarat untuk dibudidayakan di perairan pantai. Sebagai hewan pemakan plankton, kerang hijau menempati posisi di bawah dalam rantai makanan, mampu memanfaatkan secara efisien produksi primer yang ada di perairan pantai. Kerang hijau mengandung protein cukup tinggi, rata-rata mencapai 67 g/100 g bobot kering (Cheong, 1982). Nilai ini sangat menguntungkan dibandingkan dengan jenis makanan tradisional lainnya dari hewan tingkat tinggi (Sudradjat, 2004).

Budi-daya kerang hijau telah banyak dilakukan oleh masyarakat di perairan alami pada lokasi tertentu dan terdiri atas dua tahapan, yaitu pengumpulan benih (spat) menggunakan kolektor jenis bahan tertentu dan selanjutnya pembesaran pada lokasi yang sama pada saat pengumpulan benih. Kegiatan pemuliaan dan usaha budidaya kerang hijau di masa datang sangat didukung

oleh faktor-faktor seperti induk matang gonad siap dipijahkan dan diperoleh dari induk yang sudah diketahui kualitasnya. Pemeliharaan larvanya relatif mudah dengan laju pertumbuhan yang cepat, toleran pada kisaran salinitas serta temperatur yang lebar, tingkat variabilitas ukuran rendah, dan kebutuhan pasar stabil. Teknik pemberian kerang hijau perlu segera direalisasikan mengingat kerang hijau tersebut mempunyai kesempatan untuk dibenihkan di hatchery. Kerang hijau dapat menjadi kandidat spesies dalam program pemuliaan melalui seleksi (*selective breeding*) dan hibridisasi untuk memproduksi benih yang memiliki pertumbuhan cepat dan meningkatkan biodiversitas spesies budidaya sehingga lebih memantapkan produksi kekerangan secara industrial. Analisis keragaman genetik berdasarkan DNA mitokondria kerang hijau merupakan salah satu metode untuk menentukan potensi genetik populasi kerang hijau.

Beberapa hasil penelitian yang terkait dengan genetik kekerangan di Asia Tenggara dan sekitarnya antara lain tentang populasi tiram mutiara *P. maxima* (Benzie *et al.*, 2003; Lind *et al.*, 2007; Widowati *et al.*, 2007; Sudradjat *et al.*, 2009) populasi *P. margaritifera* (Susilowati *et al.*, 2009), taksonomi tiram (Sudradjat *et al.*, 1995), dan populasi kerang hijau di India (Divya *et al.*, 2009).

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi dasar mengenai jarak genetik dan hubungan kekerabatan di antara populasi kerang hijau yang ada di Indonesia. Dengan informasi dasar ini, diharapkan perbaikan mutu benih secara genetik dan program konservasi dapat berjalan efektif dan terarah.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel masing-masing jenis kekerangan dari populasi alam dari perairan Panimbang (Pandeglang), Tanjung Kait (Tangerang), Kamal (DKI), Cirebon, Kenjeran (Surabaya), Pasuruan, dan Pangkep (Sulawesi Selatan) dilakukan secara acak. Sampel diawetkan dengan alkohol 70% sampai dilakukan analisis selanjutnya di Laboratorium Genetika Balai Riset Budidaya Laut dan BPPT Puspitek Serpong. Sampel masing-masing lokasi diambil secara acak sebanyak 50 ekor.

Ekstraksi untuk mendapatkan genom dilakukan berdasarkan modifikasi metode Ovenden (2000). Jaringan daging kerang hijau diambil 0,5 mg, dihancurkan dalam tabung Eppendorf yang telah diisi larutan 10% chelex-100 sebanyak 250 µL. Sebelum diinkubasi dalam *thermoblock* selama 3-4 jam dengan suhu 55°C ditambahkan 5 µL proteinase-K (10 mg/mL). Inkubasi dilanjutkan selama 8 menit pada suhu 89°C, didinginkan pada suhu kamar, dan ditambahkan 55 µL TE (Tris-EDTA) buffer dengan pH 8,0 serta disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Lapisan paling atas diambil dan dipindahkan pada tabung baru dan disimpan dalam suhu -20°C sebelum dilakukan proses lebih lanjut.

Purifikasi genom kerang hijau menggunakan kit QIAGEN QIAquick Purification. Genom sebanyak 100 µL dipindahkan ke tabung baru dan ditambahkan *binding buffer* 5 kali genom, *di-flushing* dengan minisentrifus dan dipindahkan ke dalam kolom filter (*spin column*) dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. *Binding buffer* dibuang, *wash buffer* 740 µL ditambahkan. Sebelum dan sesudah *wash buffer* dibuang, disentrifugasi selama 1 menit kecepatan 13.000 rpm. Penambahan *EB elution* 30 µL setelah diangin-anginkan selama 2 menit dan disentrifugasi dan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Tahap terakhir purifikasi, *column spin* dibuang, yang tertinggal berupa genom mtDNA murni.

Primer yang digunakan untuk amplifikasi sekuen mitokondria daerah cytochrome B adalah HCO (F): 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3' (26 bp) dan LCO (R): 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' (25 bp). Tabung yang berisi contoh dimasukkan ke dalam mesin PCR yang telah diprogram untuk tahap pertama yaitu proses denaturasi awal pada suhu 94°C selama 3 menit. Tahap kedua sebanyak 30 siklus mulai dari proses denaturasi 94°C selama 1 menit. Proses annealing (penempelan primer) pada suhu 45°C selama 2 menit. Proses ekstensi awal (elongasi) pada suhu 72°C selama 45 detik, selanjutnya proses ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit dan 4°C selama 59 detik. Hasil PCR dianalisis dengan elektroforesis untuk mengetahui pola pita tunggal yang dihasilkan dari amplifikasi mtDNA cytochrome B.

Bahan-bahan yang digunakan dalam proses elektroforesis adalah bubuk agarose

0,5 g; tris borate EDTA (TBE) 30 mL, dipanaskan hingga berwarna bening, dituang ke dalam cetakan gel dengan ketebalan 3-5 mm dan sisir dipasang untuk membentuk lubang (*well*). Gel yang telah membeku dapat langsung digunakan untuk elektroforesis direndam dalam larutan TBE.

Tahap berikutnya contoh DNA dicampur dengan gel *loading buffer* dan dimasukkan ke dalam *well-well* yang terdapat dalam gel dengan menggunakan mikropipet termasuk marka molekuler DNA ladder 100 bp. Bak elektroforesis ditutup dan listrik dialirkan dengan tegangan 250 volt dan kuat arus 100 mA selama 30 menit. Sebagai pewarnaan digunakan etidium bromida dengan cara perendaman selama 10 menit dan pencucian air juga selama 10 menit. Gel diangkat dan dilepaskan dari cetakan, keberadaan DNA dilihat dengan UV iluminator dan dokumentasikan dengan gel kamera.

Produk PCR hasil amplifikasi dipurifikasi dengan menggunakan kit QIAGEN QIAquick Purification. Konsentrasi DNA diukur dengan menggunakan Spektrofotometer (Bio-Spectro Shimazu). PCR untuk sekuening menggunakan primer HCO dan LCO dan reagent khusus untuk sekuen DNA; Big Dye (ABI Prism, Foster City, USA). Proses PCR seperti pada amplifikasi, hanya dengan ditambahkan pewarnaan Big Dye. Volume PCR 10 µL terdiri atas 1-1,5 µL DNA, 2 µL Big Dye, 6 µL H₂O, dan 1 µL primer. Siklus PCR terdiri atas 3 tahap yaitu 95°C selama 15 menit, 43°C selama 15 menit, dan 60°C selama 240 menit. Sebelum dilakukan sekuening dengan alat otomatis ABI Prism versi 3103-*Avant Genetic Analyzer* (USA) hasil PCR dipurifikasi dan didenaturasi. Hasil sekuening dapat dilihat secara manual dengan program *sequence navigator* (Applied Biosystem).

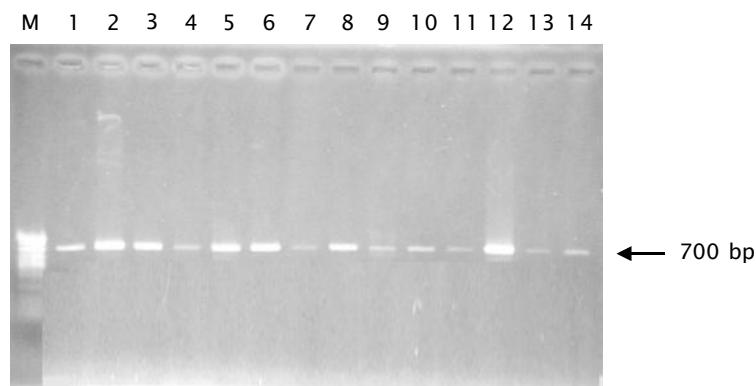
Data sekuening nukleotida sebagian sekuen cytochrome B mtDNA dedit dengan bantuan *software* BIO dan dilakukan *multiple alignment* (pensejajaran berganda) dengan bantuan *software* Clustal W. Sedangkan analisis *phylogenetic* dilakukan dengan bantuan program GENETYX versi 7 dengan metode UPGMA. *Multiple alignment* (pensejajaran berganda) dengan penelitian sekuening sebelumnya yang tersedia pada Bank Gen dengan NCBI BLASTN pada level nukleotida (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>, 2010).

HASIL DAN BAHASAN

Kerang hijau yang diperoleh dari beberapa populasi, diisolasi daerah cytochrome B mtDNA dengan primer HCO (F) dan LCO (R) dengan teknik PCR. Pemisahan fragmen dengan elektroforesis memperlihatkan pita tunggal pada posisi sekitar 700 bp. Panjang

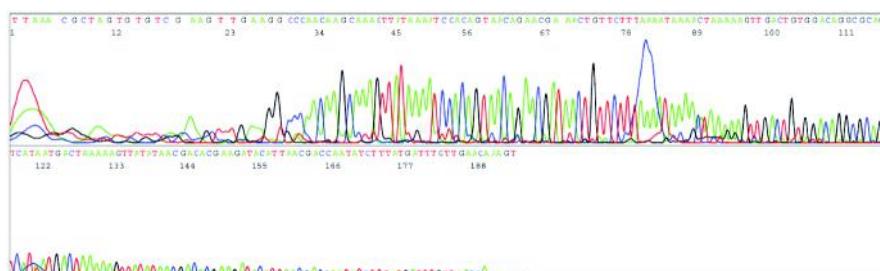
fragmen hasil isolasi cytochrome B mtDNA tersebut disajikan pada Gambar 1. Fragmen yang telah berhasil dimurnikan tersebut dijadikan sampel bahan untuk keperluan sekruensi.

Pengambilan contoh kerang hijau dari beberapa daerah perairan Indonesia digunakan



Gambar 1. Fragmen tunggal yang diisolasi dari cytochrome B mtDNA kerang hijau (*Perna viridis*). Tanda panah menunjukkan fragmen DNA pada posisi sekitar 700 bp; M = Marker DNA, 1-14 = fragmen DNA hasil PCR

Figure 1. Single fragment of cytochrome B mtDNA isolated from *Perna viridis*. Arrow indicated the fragment of DNA located approximately 700 bp in lenght; M= DNA marker, 1-14= DNA fragment od PCR product



TTAACGCTAGTGTGTCGAAGTTGAAGGCCAACAAAGCAAAGTTATAAAATC
CACAGTAACAGAACGAAACTGTTCTTAAAATAAAACTAAAAAGTTGACTGTGGAC
AGGCGCAGTCATAATGACTAAAAAGTTATATAACGACACGAAGATACTTAACGAC
CAATATCTTATGATTGTTGAACAAAGT

Gambar 2. Kromatografi (atas) dan pembacaan (bawah) sekruensi fragmen cytochrome B mtDNA kerang hijau

Figure 2. Chromatography (upper) and sequencing product (lower) of cytochrome B mtDNA fragment of *Perna viridis*

Tabel 1. Similaritas sekuen cytochrome B mtDNA yang diisolasi dari jaringan kerang hijau dengan yang terdapat di GeneBank

Table 1. Similarity index of cytochrome B mtDNA sequens isolated from *Perna viridis* tissue compared to the accessed at Gene Bank

Pencapaian <i>Accession</i>	Deskripsi <i>Description</i>	Jumlah skor <i>Total score</i>	Similaritas <i>Max identity</i>
GQ497835.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 2 pop-variant Trinidad (TS) cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497834.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 2 pop-variant Trinidad (TI) cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497833.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 12 pop-variant Trinidad cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497832.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 12 pop-variant St. Augustine cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497831.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 12 pop-variant Jamaica cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497830.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 12 pop-variant Tampa Bay cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497829.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 12 pop-variant Hong Kong cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497828.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 8 pop-variant Trinidad (TS) cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497827.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 8 pop-variant Trinidad (TI) cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497826.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 8 pop-variant St. Augustine cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497825.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 8 pop-variant Jamaica cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497824.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 8 pop-variant Tampa Bay cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%

Tabel 1. Lanjutan

Table 1. Continued

Pencapaian <i>Accession</i>	Deskripsi <i>Description</i>	Jumlah skor <i>Total score</i>	Similaritas <i>Max identity</i>
GQ497823.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 8 pop-variant Hong Kong cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497821.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 2 pop-variant St. Augustine cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497820.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 2 pop-variant Jamaica cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497819.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 2 pop-variant Tampa Bay cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%
GQ497818.1	<i>Perna viridis</i> haplotype 2 pop-variant Hong Kong cytochrome oxidase subunit 1 gene, partial cds; mitochondrial	244	97%

untuk mengetahui hubungan kekerabatan dan jarak genetiknya. Fragmen cytochrome B yang diisolasi dari jaringan daging kerang hijau melalui teknik PCR diperlihatkan pada posisi sekitar 700 bp. Primer yang sama digunakan untuk sekruensi dan salah satu contoh hasil kromatografi fragmen cytochrome B mtDNA ditampilkan pada Gambar 2.

Analisis homologi berdasarkan BLAST-N terhadap cytochrome B mtDNA kerang hijau yang didapatkan menunjukkan kemiripan sekuen yang hampir identik (97%) dengan gen bank (Tabel 1). Hasil analisis BLAST-N ini menunjukkan bahwa cytochrome B mtDNA yang diisolasi dari jaringan kerang hijau adalah cytochrome B mtDNA kerang hijau walaupun similaritasnya tidak 100% dan memberikan sedikit perbedaan susunan asam basa kerang hijau hasil penelitian. Hal ini dimungkinkan karena kerang hijau di perairan Indonesia sebagian besar telah mengalami perubahan yang disebabkan oleh banyak faktor antara lain dari faktor lingkungan. Hal tersebut juga identik dengan hasil-hasil penelitian tentang kondisi kerang hijau di perairan Indonesia yang telah banyak mengalami pencemaran dengan banyaknya kandungan zat kimia maupun logam berat (Sudaryanto *et al.*, 2005). Keadaan yang demikian dan telah berlangsung terus-menerus mengakibatkan terjadinya

genetic drift, mutasi gen, delesi, maupun insersi gen pada individu kerang hijau tersebut. Habitat kerang hijau yang hidupnya menempel, gen-gen tertentu akan berusaha mempertahankan *fitness* untuk dapat bertahan hidup pada perubahan lingkungan tertentu. Distribusi genotipe pada tujuh populasi kerang hijau tersebut diduga dipengaruhi juga oleh aliran arus yang terjadi di Selat Makassar, Laut Flores, Laut Jawa, dan Laut Cina Selatan. Massa air oseanik masuk secara tetap ke laut Jawa melalui Selat Makassar yang berasal dari Samudera Pasifik dan ke Laut Flores yang berasal dari Samudera Hindia (Wyrtki, 1961; Rusman, 2003). Menurut Stenzel (1971), organisme kekerangan yang hidup di laut, ketika masa planktonik dapat secara mudah terdispersi oleh arus sampai 1.000–1.300 km pada kecepatan arus 2 m/detik. Aliran gen dapat terjadi selama siklus stadia planktonis yang berlangsung selama 20–22 hari (Haws & Ellis, 2000).

Panjang sekruensi yang terbaca dari hasil sekruensi adalah 188 nukleotida, kemudian dilakukan pensejajaran berganda (*multiple alignment*) dengan data sekruensi untuk masing-masing populasi (Gambar 3).

Pensejajaran berganda nukleotida daerah cytochrome B mtDNA kerang hijau sepanjang

Hubungan kekerabatan beberapa populasi (Achmad Sudradjat)

GQ497835.txt	1:-----CAGAACTGGCAGTTAATAATTAAAAGAACCCGGTACG-GTAA 44
Pangkep_HCO.txt	58:TAACAGAACGA-AACTGTTCTTAAATAAAAACTAAAAAGTTGACTGTGGACAGGCGCAG 116
Pasuruan_HCO.txt	58:TAACAGAACGATAACTGTTCTTAAATGCAACTAACGAGTTGACTGCCTCAGGCGCAG 117
Tanjung Kait_HCO.txt	61:AGGAATCCCACCGGCCAGAACTGGCACAGAAATAATTAAAAGAACCCGGTTATG-GTAA 119
.....*....*....*....*....*....*....*....*....*....*	
GQ497829.txt	45:TCCTCCACAAATACAACCTCAGATTTCTCACCTTATTTTATTGGAGGCATATTCTTAT 104
GQ497830.txt	45:TCCTCCACAAATACAACCTCAGATTTCTCACCTTATTTTATTGGAGGCATATTCTTAT 104
GQ497831.txt	45:TCCTCCACAAATACAACCTCAGATTTCTCACCTTATTTTATTGGAGGCATATTCTTAT 104
GQ497832.txt	45:TCCTCCACAAATACAACCTCAGATTTCTCACCTTATTTTATTGGAGGCATATTCTTAT 104
GQ497833.txt	45:TCCTCCACAAATACAACCTCAGATTTCTCACCTTATTTTATTGGAGGCATATTCTTAT 104
GQ497834.txt	45:TCCTCCACAAATACAACCTCAGATTTCTCACCTTATTTTATTGGAGGCATATTCTTAT 104
GQ497835.txt	45:TCCTCCACAAATACAACCTCAGATTTCTCACCTTATTTTATTGGAGGCATATTCTTAT 104
Pangkep_HCO.txt	117:TCATAATGACTAAAAAGTTATATAACGACAGAACATTAACGACCAATATCTTAT 176
Pasuruan_HCO.txt	118:TCATGATGACTAAAAAGTCATATAAAGACACGGAGATTGTACCCAACCATTCTGAGT 177
Tanjung Kait_HCO.txt	120:TCCTT-CAAATACAACCTCAAATTCTCAACC GTTATGTAAATTGTAGGCATATTCTTAT 178
.....*....*....*....*....*....*....*....*....*	
GQ497829.txt	105:TAGTCC--TCACAAAATTAATCGAACCTAATAAGAACCTAA----- 144
GQ497830.txt	105:TAGTCC--TCACAAAATTAATCGAACCTAATAAGAACCTAA----- 144
GQ497831.txt	105:TAGTCC--TCACAAAATTAATCGAACCTAATAAGAACCTAA----- 144
GQ497832.txt	105:TAGTCC--TCACAAAATTAATCGAACCTAATAAGAACCTAA----- 144
GQ497833.txt	105:TAGTCC--TCACAAAATTAATCGAACCTAATAAGAACCTAA----- 144
GQ497834.txt	105:TAGTCC--TCACAAAATTAATCGAACCTAATAAGAACCTAA----- 144
GQ497835.txt	105:TAGTCC--TCACAAAATTAATCGAACCTAATAAGAACCTAAATCAAATCGAACCTAATAAGA 162
Pangkep_HCO.txt	177:GATTGTTGAACAAAGT----- 193
Pasuruan_HCO.txt	178:GAGTTGATTCCAATCGTCACGATAACGTTGATCGCGCCATAATGGAGCTGATCCCCAT 237
Tanjung Kait_HCO.txt	179:TAGGCC--TCG-AAAATTA----- 194

Gambar 3. Pensejajaran berganda sekuen cytochrome B mtDNA kerang hijau hasil penelitian dengan sekuen yang lain dari Bank Gen (Titik-titik menandakan nukleotida tersebut identik dengan sekuen di atasnya sepanjang 188 bp dan titik-titik menandakan nukleotida tersebut identik dengan sekuen genetik di atasnya)

*Figure 3. Multiple alignments of 188 bp from cytochrome B mtDNA of *Perna viridis* extracted from the experiment and stored Gen Bank. Dot is as identical with upper nucleotide sequence*

188 bp memberikan persamaan yang tinggi yaitu sepanjang 144 bp, dengan sekuen daerah yang sama pada Gen Bank. Dengan demikian homologi sampel yang dianalisis cukup tinggi, dan daerah yang disekuen adalah benar cytochrome B mtDNA kerang hijau. Beberapa sekuen mengalami delesi maupun insersi. Hal tersebut menyebabkan jauhnya hubungan kekerabatan dalam suatu populasi. Penyebab jauhnya jarak genetik tersebut

mungkin disebabkan terjadi mutasi, *genetic drift* atau karena pengaruh lingkungan yang sangat berbeda. Dari sekuen yang diperoleh jarak genetik antar beberapa populasi kerang hijau tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, terlihat bahwa jarak genetik tertinggi adalah populasi Cirebon dengan populasi Kamal yaitu 5,141; sedangkan untuk jarak genetik terkecil adalah populasi Tanjung Kait dengan populasi Kenjeran (0,065).

Tabel 2. Jarak genetik kerang hijau (*Perna viridis*) dari beberapa perairan di Indonesia

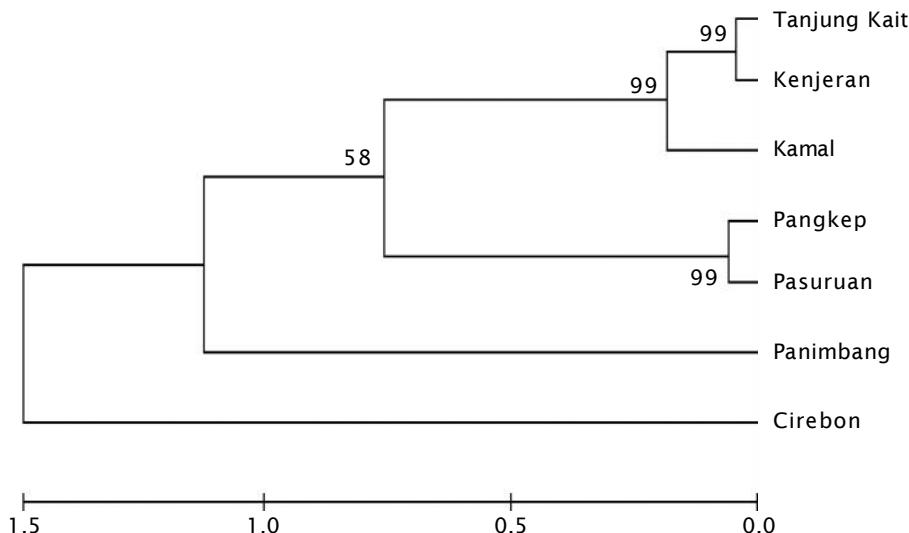
Table 2. Genetic distance among *Perna viridis* populations collected from Indonesia waters

Populasi <i>Population</i>	Pangkep	Pasuruan	Panimbang	Kamal	Tanjung Kait	Kenjeran	Cirebon
Pangkep	0.000						
Pasuruan	0.124	0.000					
Panimbang	1.647	1.728	0.000				
Kamal	1.484	1.675	2.860	0.000			
Tanjung Kait	1.419	1.707	2.722	0.360	0.000		
Kenjeran	1.357	1.547	2.838	2.276	0.065	0.000	
Cirebon	2.817	3.433	3.437	5.141	1.937	2.006	0.000

Matrik jarak genetik tersebut diperkuat dengan analisis dendrogram antar populasi (Gambar 4). Berdasarkan hasil analisis hubungan kekerabatan yang ditunjukkan dalam bentuk dendrogram, menghasilkan 2 kluster (kelompok) besar yaitu kluster tunggal dari populasi Cirebon dan kluster yang lainnya terdiri atas 6 populasi, Tanjung Kait, Kenjeran, Kamal, Pangkep, Pasuruan, dan Panimbang.

Parameter jarak genetik dapat digunakan sebagai acuan dalam program pemuliaan. Perkawinan antara populasi yang memiliki kekerabatan yang jauh akan menghasilkan benih dengan keragaman (heterosis) yang lebih

tinggi dibandingkan dengan benih yang diperoleh dari induk yang kekerabatannya dekat (Suparyanto *et al.*, 1999). Berdasarkan hasil analisis UPGMA, diduga bahwa perkawinan antara kerang hijau asal Cirebon dan Kamal akan menghasilkan benih dengan keragaman paling tinggi dibandingkan dengan kombinasi perkawinan yang lain. Pola jarak genetik yang terbentuk diduga juga disebabkan adanya jarak geografi, yang mempunyai pola arus yang berbeda. Persamaan atau perbedaan pola arus juga berpengaruh dengan jarak genetik atau karakterisasi suatu individu.



Gambar 4. Dendrogram populasi kerang hijau (*Perna viridis*) untuk beberapa populasi

Figure 4. Dendrogram population of *Perna viridis* populations

Penerapan studi genetik dalam permasalahan pemuliaan dan konservasi didasari oleh teori genetika populasi, yang mempelajari faktor-faktor yang menentukan komposisi genetik suatu populasi dan bagaimana faktor-faktor tersebut berperan dalam proses evolusi (Halliburton, 2004 *dalam* Suzzana, 2007). Beberapa faktor yang sangat berperan dalam kejadian evolusi pada suatu populasi adalah seperti mutasi, rekombinasi, seleksi alam, *genetic drift*, *gene flow*, dan perkawinan yang tidak acak. Faktor-faktor tersebut akan memunculkan keragaman genetik pada suatu populasi, dan hal tersebut dapat memberikan informasi yang berguna untuk memahami kekuatan-kekuatan yang menyebabkan evolusi (Cavalli-Sforza, 1998). Keragaman genetik yang tinggi akan sangat membantu suatu populasi beradaptasi terhadap perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan sekitarnya (Halliburton, 2004 *dalam* Suzzana, 2007).

Data penyebaran dan kondisi stok populasi di alam merupakan informasi dasar yang dibutuhkan dalam upaya pemuliaan dan pelestarian plasma nutfah. Beberapa ahli genetik mengungkapkan bahwa usaha untuk menyelamatkan individu cukup efektif hanya dengan mempertahankan keragaman genetik (Lande, 1988 *dalam* Suzzana, 2007). Dalam hal ini data dasar mengenai keragaman genetik mutlak diperlukan untuk memulai program pemuliaan atau domestikasi suatu spesies. Penelitian ini telah menyediakan informasi dasar dalam hal kekerabatan stok kerang hijau yang ada di Indonesia, khususnya pada ketujuh lokasi uji.

KESIMPULAN

Analisis sekuen nukleotida cytochrome B mtDNA mengelompokkan kerang hijau dari 7 populasi ke dalam 2 kelompok utama, yaitu kelompok tunggal Cirebon dan kelompok yang terdiri atas 6 populasi. Hasil analisis jarak genetik mendapatkan jarak genetik tertinggi adalah populasi Cirebon dengan populasi Kamal yaitu 5,141; sedangkan untuk jarak genetik terkecil adalah populasi Tanjung Kait dengan populasi Kenjeran (0,065).

Populasi Cirebon dapat digunakan sebagai bahan untuk *selective breeding* dengan populasi daerah lainnya untuk meningkatkan keragaman genetik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan selesainya makalah ini, kami menyampaikan terima kasih kepada Ir. Ongko Praseno, Dra. Suwidah, M.S., Ir. Rusmaedi, dan Rasidi, S.Si. yang telah membantu pengambilan sampel kerang hijau, juga ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Haryanti dan Ir. Sari Budi Moria Sembiring, M.Si. yang membantu analisis sampel kekerangan dan Dr. Imron yang telah memberikan saran-saran dalam perbaikan penyusunan makalah ini.

DAFTAR ACUAN

- Benzie, John, A.H., Smith, C., & Sugama, K. 2003. Mitochondrial DNA reveals genetic differentiation between Australian and Indonesian pearl oyster *Pinctada maxima* (Jameson 1901) populations. *Journal of Shellfish Research*, 22(3): 781-787.
- Cavalli-Sforza, L.L. 1998. The DNA revolution in population genetics. *TIG*, 14(2): 60-65.
- Cheong, L. 1982. Country report, Singapore In Davy, F.B. and M. Graham (Eds.) Bivalve culture in Asia and the Pacific. *Proceedings of a Workshop Held in Singapore 16-19 February 1982*. International Development Research Centre, Ottawa, Canada, p. 69-71.
- Divya, P.R., Gopalakrishnan, A., John, L., Thomas, P.C., & Lakra, W.S. 2009. Mitochondrial DNA (Cytochrome c oxidase I) sequencing of Indian marine mussels. *Indian J. Fish.*, 56(3): 223-226.
- FAO. 2006. State of world aquaculture : 2006. *FAO Fisheries Technical Paper 500*. Rome, 134 pp.
- Haws, M. & Ellis, S. 2000. Aquafarmer Information Sheet: Collecting Black-lip Pearl Oyster Spat. *CTSA Publication No. 144*.
- Lind, Curtis, E., Evans, B.S., Joseph, J.U., Taylor, & Jerry, D.R. 2007. Population genetics of a marine bivalve, *Pinctada maxima*, throughout the Indo-Australian Archipelago shows differentiation and decreased diversity at range limits. *Molecular Ecology*, 16: 1-11.
- Ovenden, J.R. 2000. Development of restriction enzyme markers for red snapper (*Lutjanus erythropterus* and *Lutjanus malabaricus*) stock discrimination using genetic variation in Mitochondrial DNA. *Molecular Fisheries Laboratory, Southern Fisheries Center*, 18 pp.

- Rusman. 2003. *Kajian biofisik perairan pesisir Sulawesi Selatan untuk budidaya laut sistem karamba jaring apung di Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan*. Thesis, Program Pasca sarjana, Institut Pertanian Bogor, 161 hlm.
- Stenzel, H.B. 1971. Oysters. Dalam Moore K.C. (Ed.). *Treatise on invertebrate paleontology part 3 : Mollusca*. Geol.Soc. Amer and Univ. Kansas, p. 935-1,224.
- Sudaryanto, A., Muchtar, M., Razak, H., & Tanabe, S. 2005. Kontaminasi organoklorin persisten dalam kerang hijau (*Perna viridis*) di perairan Indonesia. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 37: 1-12.
- Sudradjat, A., Yankson, K., Moyse, J., & Skibinski, D.O.F. 1995. Genetic approach to taxonomy of oysters, *Ostrea*, *Crassostrea*, and *Saccostrea*. In Kuo, Ching-Ming, J.L. Wu, P.P. Hwang (Eds.). Proc. The International Symposium on Biotechnology Applications in Aquaculture. *Asian Fisheries Society Special Publication No. 10*. Asian Fisheries Society, Manila, p. 239-252.
- Sudradjat, A. 2004. Kekerangan (bivalvia) sebagai sumber daya hayati laut dalam perspektif marikultur. *Orasi Pengukuhan APU*. Departemen Kelautan dan Perikanan, 47 hlm.
- Sudradjat, A., Susilowati, R., & Imron. 2009. Assessment of genetic variation of pearl oyster, *Pinctada maxima*, based on the analysis of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene. *Indonesian Aquaculture Journal*, 4(1): 19-24.
- Suparyanto, A., Purwadaria, T., & Subandriyo. 1999. Pendugaan jarak genetik dan faktor peubah pembeda bangsa dan kelompok domba di Indonesia melalui pendekatan analisis morfologi. *J. Ilmu Ternak dan Veteriner*, 4: 80-87.
- Susilowati, R., Sumantadinata, K., Soelistiyowati, D.T., & Sudradjat, A. 2009. Karakteristik genetik populasi tiram mutiara (*Pinctada margaritifera*) terkait dengan distribusi geografisnya di perairan Indonesia. *J. Ris. Akuakultur*, 4(1): 47-54.
- Suzzana, E. 2007. *Analisis hubungan kekerabatan berdasarkan morfologi, aktivitas harian, gambaran darah, dan karakter DNA mitokondrion beberapa subspecies burung beo (*Gracula religiosa Linnaeus 1758*)*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor, 157 hlm.
- Vakily, J.M. 1989. The biology and culture of mussels of the genus *Perna*. *ICLARM Studies and Reviews* 17, International Center for Living Aquatic Resources management, Manila, 63 pp.
- Widowati, I., Supriyanto, J., Permana, G.N., & Dwiono, S.A.P. 2007. Karakteristik genetik kerang mutiara *Pinctada maxima* dari Pulau Lombok dan Pulau Sumbawa: suatu studi pendahuluan. *Dalam Pringgenis, D., A. Sudradjat, I. Insan, R. Hartati, dan Widianingsih (Eds.) Prosiding seminar nasional moluska dalam penelitian, konservasi dan ekonomi*. Semarang, 17 Juli 2007, hlm. 246-256.
- Wyrtki, K. 1961. Physical Oceanography of the Southeast Asian Waters. Naga Report Vol. 2. The University of California, Scripps Institution of Oceanography LaJolla. California, p. 91-101.