

TEKNIK ISOLASI DAN ELEKTROFORESIS DNA TOTAL PADA *Kryptopterus apogon* (Bleeker 1851) DARI SUNGAI KAMPAR KIRI DAN TAPUNG HILIR KABUPATEN KAMPAR PROVINSI RIAU

Dede Aryani Novitasari¹, Roza Elvyra², Dewi Indriyani Roslim²

¹Mahasiswa Program S1 Biologi

²Dosen Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia

dedearyani.da@gmail.com

ABSTRACT

Kryptopterus apogon is one of freshwater fish species that was only found in floodplain river in Riau Province. Many species of lais fish are found in Riau Province rivers and morphologically has the same shape therefore it is necessary to find alternative markers to distinguish the species. The important step in genetic analysis is DNA isolation. This study aimed to isolate the total DNA from *Kryptopterus apogon*. The fish samples were taken from the Kampar Kiri and Tapung Hilir rivers. Isolation of total DNA was done by taking the muscle tissue from the fish tail (1 mm x 1 mm in size). Isolation of total DNA was done using DNA isolation kit (QIAGEN DNeasy Blood & Tissue). After that, the total DNA was checked on 1% agarose gel to estimate the quantity and quality of total DNA. Total isolated DNA of *Kryptopterus apogon* from two rivers had various quality and quantity. The total quantity of DNA molecules ranged from to 100-200 ng/μl, while the total quality was good enough or not fragmented. The DNA was clear, thick, and no smear.

Keywords: DNA bands, Electrophoresis, Isolation, *Kryptopterus apogon*

ABSTRAK

Kryptopterus apogon termasuk salah satu jenis ikan air tawar yang hanya terdapat di sungai paparan banjir di Provinsi Riau. Banyak jenis ikan lais yang terdapat di sungai-sungai di Provinsi Riau dan jika dilihat secara kasat mata mempunyai bentuk yang sama, sehingga perlu dicarikan penanda sebagai pembeda dengan ikan jenis lainnya. Tahapan penting untuk analisis penanda genetik adalah isolasi DNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi DNA total dari ikan *Kryptopterus apogon*. Ikan diambil dari Sungai Kampar Kiri dan Tapung Hilir. Isolasi DNA total dilakukan dengan mengambil jaringan otot pada bagian ekor ikan dengan ukuran 1 mm x 1 mm. Isolasi DNA total menggunakan kit isolasi DNA (*QIAGEN DNeasy Blood & Tissue*). Setelah itu, DNA total dimigrasikan pada 1% gel agarose untuk memperkirakan kuantitas dan kualitas DNA total. Hasil isolasi DNA total *Kryptopterus apogon* dari kedua sungai mempunyai kualitas dan kuantitas yang berbeda-beda. Kuantitas molekul DNA total berkisar antara 100-200 ng/μl, sementara total kualitasnya cukup baik yaitu tidak terfragmentasi. DNA yang utuh ditandai pita terlihat tebal, jelas, dan tidak *smear*.

Kata kunci: Elektroforesis, Isolasi, *Kryptopterus apogon*, Pita DNA

PENDAHULUAN

Ikan lais merupakan kelompok dari genus *Kryptopterus* dan *Ompok* yang termasuk famili Siluridae. Ikan lais termasuk jenis ikan air tawar yang hidup di sungai paparan banjir dan mempunyai nilai ekonomis tinggi. Salah satu jenis ikan lais adalah *Kryptopterus apogon*. Ikan ini sangat penting untuk dilestarikan jika melihat lokasi persebarannya yang hanya terdapat di beberapa daerah paparan banjiran dan memiliki kelimpahan yang tidak luas (Elvyra, 2009).

Provinsi Riau merupakan salah satu wilayah yang memiliki potensi sumber daya perairan yang melimpah dan memiliki ekosistem sungai paparan banjir. Ekosistem pada sungai paparan banjir memegang peranan penting dalam produksi perikanan perairan air tawar. Sungai paparan banjir dicirikan dengan warna perairannya coklat sampai kehitaman yang disebabkan oleh adanya asam humat, pH relatif lebih rendah, tidak keruh atau transparansinya tinggi (Hartoto *et al.*, 1998).

Ikan lais dapat ditemukan di perairan sungai Kampar, dan Tapung, Provinsi Riau (Pulungan *et al.*, 1985). Banyak jenis ikan lais yang terdapat di sungai Provinsi Riau dan jika dilihat secara kasat mata mempunyai morfologi yang sama. Kesamaan morfologi menimbulkan kesulitan untuk menentukan nama spesies berbagai ikan lais yang ada di sungai Provinsi Riau. Melihat kekhasan jenis ikan ini, sangat diperlukan informasi yang mendalam mengenai ikan lais secara rinci, terutama dengan menggunakan teknik molekular sebagai penanda genetik

yang dapat membedakan ikan lais sampai tingkat spesies. Tahapan penting sebelum melakukan analisis penanda genetik adalah melakukan isolasi DNA total. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengisolasi DNA total dari ikan *Kryptopterus apogon*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2013–Mei 2014 di Laboratorium Zoologi dan Genetika Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau. Sampel *K. apogon* diambil dari dua sungai, yaitu Sungai Kampar Kiri, Desa Mentulik dan Sungai Tapung Hilir, Desa Flamboyan, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau. Alat yang digunakan adalah gunting, tabung mikro 0.2 ml dan 1.5 ml, pestel kaca, rak tabung mikro, mesin sentrifus, vortex, pipet mikro 20 µl, 200 µl, 1000 µl; tip mikro, inkubator, pinset, mesin sentrifus, mesin elektroforesis horizontal, sisir, cetakan agarose, gelas ukur, timbangan analitis, *hot plate*, stirrer, UV transluminator, dan kamera. Bahan yang digunakan adalah kit isolasi DNA (*QIAGEN DNeasy Blood & Tissue*) yang terdiri dari buffer ATL, AL, AW1, AW2, dan AE; dan proteinase K; larutan etanol absolut; 70% alkohol; *loading dye*; DNA ladder 1X; TE [1 mM EDTA pH 8.0, 10 mM Tris-HCL pH 8.0, 40 mg/ml RNase]; akuabidestilata, 1x buffer TBE [Tris base, asam asetat glasial, 0.5 M EDTA pH 8.0]; etidium bromida; dan agarose.

Pengambilan Sampel

Ikan yang diperoleh dari hasil tangkapan nelayan, kemudian diidentifikasi secara morfologi menggunakan kunci identifikasi Kottelat *et al.*, (1993). Sampel otot ikan berukuran 1 mm x 1 mm diambil dari bagian ekor ikan, kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro 1.5 ml yang sudah berisi etanol absolut.

Penanganan Sampel dari Lapangan

Sampel otot ikan yang sudah disimpan dalam etanol absolut di tabung mikro 1.5 ml dikeluarkan secukupnya. Setelah sampel cukup kering, sampel ditimbang seberat 2 gr lalu sampel otot ikan tersebut dimasukkan ke dalam tabung mikro 1.5 ml yang baru, kemudian sampel dicuci dengan larutan IX TE 150 µl lalu di vortek selama 15 detik, lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 2 menit. Larutan IX TE dikeluarkan dengan menggunakan pipet mikro. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali. Setelah itu, sampel diletakkan di atas tisu sambil dikeringanginkan supaya alkohol yang masih ada menguap, kemudian dilanjutkan ke proses isolasi.

Isolasi DNA Total

Isolasi DNA total dilakukan menggunakan kit isolasi DNA (*QIAGEN DNeasy Blood & Tissue*). Metode isolasi DNA yang dipakai mengikuti standar protokol yang dianjurkan kit isolasi *QIAGEN* dengan sedikit modifikasi pada kecepatan sentrifus. Sampel otot ikan yang sudah dicuci dengan IX TE dimasukkan ke dalam tabung mikro 1.5 ml baru, kemudian untuk proses lisis

ditambahkan dengan 180 µl buffer ATL, lalu di vortek selama 15 detik, selanjutnya ditambahkan dengan 20 µl proteinase K dan di vortek kembali selama 15 detik. Sampel diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 56°C selama 1-3 jam (sampai sampel otot lisis secara sempurna), sesekali di vortek selama 15 detik, kemudian ditambahkan dengan 200 µl buffer AL, lalu di vortek selama 15 detik, selanjutnya ditambahkan dengan 200 µl etanol absolut, lalu di vortek selama 15 detik, setelah itu dipindahkan semua larutan ke SC (*spin column*), lalu disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 2 menit, selanjutnya buang larutan di CT (*collection tube*), lalu dipindahkan SC ke dalam CT yang baru, kemudian untuk proses pencucian ditambahkan dengan 500 µl buffer AW1, setelah itu disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 2 menit, selanjutnya buang larutan di CT lalu dipindahkan SC ke dalam CT yang baru, kemudian ditambahkan dengan 500 µl buffer AW2, setelah itu disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit, selanjutnya buang larutan di CT, lalu dipindahkan SC ke dalam tabung mikro 1.5 ml baru, kemudian untuk proses elusi DNA ditambahkan dengan 200 µl buffer AE untuk mengelusi DNA pada SC, setelah itu disentrifus pada kecepatan 4000 rpm selama 2 menit sebagai stok DNA 1. Ulangi elusi, dipindahkan SC ke tabung mikro 1.5 ml baru, lalu ditambahkan dengan 200 µl buffer AE, kemudian disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 2 menit (ulangi dua kali) sebagai stok DNA 2. Molekul DNA yang diperoleh disimpan dalam *freezer*.

Elektroforesis DNA Total

Elektroforesis adalah suatu proses yang dapat memisahkan atau memigrasikan fragmen DNA pada matriks berpori di bawah pengaruh medan listrik. Elektroforesis dilakukan untuk menentukan keutuhan DNA total. Elektroforesis dilakukan menggunakan 1% gel agarose dalam 1xTBE (*Tris base-Boric acid-EDTA*) pada mesin Fison Mode FEC 360, *Large Horyzontal Gel System*. Gel hasil elektroforesis diwarnai dengan larutan 2 μ l etidium bromida lalu divisualisasikan dengan bantuan UV transluminator ($\lambda = 320$ nm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Molekul DNA Total

Molekul DNA total telah diisolasi dari duapuluh sampel ikan *K. apogon* yang berasal dari Sungai Kampar Kiri dan Tapung Hilir. Molekul DNA yang telah diisolasi diuji kualitas dan kuantitasnya melalui elektroforesis. Sebelum proses elektroforesis, suspensi DNA dicampur dengan peyangga muatan berwarna (*loading dye*). Penambahan warna ini berfungsi untuk menambah densitas sehingga DNA berada di bagian bawah sumur, selain itu pewarna ini digunakan untuk memudahkan meletakkan DNA ke dalam sumur dan menandai migrasi DNA.

Hasil pengecekan kualitas dan kuantitas dari sampel *K. apogon* cukup baik. Kuantitas DNA mempunyai kisaran antara 100-200 ng/ μ l, sementara hasil pengecekan kualitas DNA dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1% juga menunjukkan hasil yang cukup memuaskan dimana DNA terlihat utuh.

DNA yang utuh ditandai dengan tidak adanya *smear* DNA yang dielektroforesis, pita terlihat tebal dan jelas.

DNA yang diisolasi menggunakan kit isolasi tidak selalu menjamin mendapatkan molekul DNA total dengan kualitas dan kuantitas yang sama. Molekul DNA total yang diperoleh dari Sungai Kampar Kiri dan Tapung Hilir memiliki kualitas dan kuantitas yang berbeda-beda (Gambar 1).



Keterangan : 1. DNA total *K. apogon* (Sungai Kampar Kiri), *L. Ladder* 10 kb



Keterangan : 2. DNA total *K. apogon* (Sungai Tapung Hilir), *L. Ladder* 10 kb

Gambar 4.1 Profil molekul DNA total *K. apogon* menggunakan 1% gel agarose.

Hasil elektroforesis DNA total menunjukkan adanya pita-pita DNA yang diisolasi dari *K. apogon*. Elektroforesis memisahkan DNA berdasarkan bobot molekul dan muatannya dengan menggunakan media pemisah. Kecepatan pergerakan ini tergantung pada ukuran molekul DNA, kerapatan media gel yang dilalui DNA, serta arus listrik yang diberikan untuk bermigrasi molekul DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA total yang diisolasi mempunyai

keutuhan yang tinggi. Akan tetapi pada beberapa sampel *K. apogon* yang berasal dari Sungai Tapung Hilir tidak semua pita DNA yang diperoleh utuh. Kejadian ini dapat terjadi karena kesalahan teknis saat pengambilan sampel dari sungai. Sampel diperoleh dari nelayan dalam keadaan sudah tidak segar lagi, sehingga akan mempengaruhi hasil dari isolasi DNA total. Bisa jadi DNA yang diperoleh rusak atau sudah terfragmentasi, sehingga pita DNA total tampak *smear*, tipis dan tidak jelas.

KESIMPULAN

Sebanyak duapuluh sampel *K. apogon* telah berhasil diisolasi dari sungai Kampar Kiri dan Tapung Hilir, Provinsi Riau. Hasil pengecekan kualitas dan kuantitas dari sampel *K. apogon* cukup baik. Kuantitas DNA berkisar antara 100-200 ng/ μ l, DNA tampak utuh. DNA yang utuh ditandai dengan tidak adanya *smear* DNA yang dielektroforesis, pita terlihat tebal dan jelas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DP2M DIKTI tahun 2013-2014 yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Kompetensi atas nama Ibu Dr. Roza Elvyra, M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

Elvyra R. 2009. Kajian Keragaman Genetik dan Biologi Reproduksi Ikan Lais di Sungai Kampar Kiri Riau [disertasi]. Sekolah Pasca

Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Hartoto DI, Sarnita AS, Sjaferi DS, Satya A, Syawal Y, Sulastri, Kamal MM, dan Siddik Y. 1998. Kriteria evaluasi suaka perikanan perairan darat. Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi LIPI. Cibinong.

Kottelat M, Whitten AJ, Kartikasari SN, Wirdjoatmodjo S. 1993. *Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi*. Jakarta: Periplus edition (HK) in collaboration with the environment Rep. of Indonesia.

Pulungan CP, Ahmad M, Siregar YI, Ma'amoen A, Alawi H. 1985. Morfometrik ikan selais Siluroidea dari perairan Kecamatan Kampar Kiri Kabupaten Kampar Riau. Pekanbaru: Pusat Penelitian Universitas Riau.