

**KARAKTERISASI GENETIKA RUMPUT LAUT *EUCHEUMA* spp.
DARI TIGA DAERAH DI INDONESIA
(KEPULAUAN SERIBU, KERUAK, DAN SUMENEP)**

Santi Rukminita Anggraeni¹, Sudarsono² dan Dedi Soedharma³

¹Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan (PKSPL)-IPB

e-mail : *ikhlas_79@yahoo.com*

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB

³Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan,

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB

ABSTRAK

Eucheuma merupakan salah satu spesies alga merah yang tumbuh di Indonesia sebagai penghasil karaginan. Pengenalan taksonomi *Eucheuma* dengan menggunakan karakter morfologi banyak menghasilkan kesalahpahaman penamaan spesies secara ilmiah dan pemberian nama komersil, karena tingginya tingkat plastisitas morfologi yang dimiliki. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi variasi genetik jenis rumput laut *Eucheuma* yang tumbuh liar dan yang dibudidayakan di beberapa perairan Indonesia menggunakan penanda RAPD. Analisa RAPD meliputi isolasi dan purifikasi DNA, amplifikasi PCR dengan primer RAPD dan analisa statistik data molekuler menggunakan program NTSYS dan Minitab 14. Diperoleh sebelas primer RAPD : OPF-15, OPA-3, OPA-4, OPA-15, OPA-17, OPB-3, OPB-6, OPB-18, OPC-8, OPC-10 dan OPC-15 yang dapat mendeteksi variasi dan keragaman genetik yang ada pada 5 jenis rumput laut yang dibudidaya yang diidentifikasi sebagai *Eucheuma cottonii* atau *Kappaphycus alvarezii* dan 3 jenis rumput laut liar yang secara fenotip merupakan *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma spinosum* dan *E. edule*. Hasil analisa similaritas dan gerombol membagi kedelapan jenis rumput laut tersebut terbagi menjadi tiga grup pada tingkat kemiripan genetik 64% dimana grup 1 terdiri dari : Grup 1(P, Kc, Krw); Grup 2 (dua subgrup : subgrup 1(L1 dan M1) dan subgrup 2 (L2 dan L3) dan Grup 3: M2. Spesies *Eucheuma cottonii* liar dengan yang yang dibudidaya memiliki hubungan kekerabatan dan kedekatan genetik. Perbedaan atau jarak genetik yang diperoleh menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan ditentukan oleh jenis spesies, varietas spesies dan asal bibit.

Kata kunci : Rhodophyta, keragaman genetik, RAPD, *Eucheuma* spp.

GENETIC CHARACTERIZATION OF *EUCHEUMA* spp. FROM THREE AREAS IN INDONESIA (KEPULAUAN SERIBU, KERUAK, SUMENEP)

ABSTRACT

Eucheuma is one of red seaweed species grows in Indonesia that produces carrageenan. It is well known for long time that the formal taxonomy of the taxa is confused due to morphological plasticity. The research was conducted to assess genetic variation in some wild and cultivated species of *Eucheuma* live within some areas in Indonesia using RAPD markers. RAPD analysis consisted of isolation and DNA purification, PCR amplification with RAPD primers and data analysis with NTSYS and Minitab 14. Result showed that eleven RAPD primers : (OPF-15, OPA-3, OPA-4, OPA-15, OPA-17, OPB-3, OPB-6, OPB-18, OPC-8, OPC-10 dan OPC-15) were produced. These bands showed genetic variation in 5 cultivated seaweed identified as *Eucheuma cottonii* or *Kappaphycus alvarezii* and 3 wild species morphologically identified as *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma spinosum* dan *E. Edule*. The phenogram that was generated from similarity matrix showed that using similarity coefficient 64%, the accessions were divided into three groups Group 1(P, Kc, Krw); Group 2 (subgroup: subgroup 1(L1 and M1); subgroup 2 (L2 and L3) and Group 3: M2. Using Principal Component Analysis, there were 47 bands involved in the grouping of the accessions. Wild species and cultivated species had genetic relationship and lineage. Between cultivated species, also among wild and cultivated species there are genetic variation detected. This result showed that genetic variation and relationship was determined by type and the source of species.

Keywords: Rhodophyta, genetic variation, RAPD, *Eucheuma* spp.

PENDAHULUAN

Pengenalan taksonomi *Eucheuma* dengan menggunakan karakter morfologi banyak menghasilkan kesalahpahaman penamaan spesies secara ilmiah dan pemberian nama komersil karena tingginya tingkat plastisitas morfologi yang dimiliki (Neish, 2003 dan Zuccarello *et al.*, 2006).

Karakter fenotipe alga, khususnya pada jenis alga merah tidak selalu memiliki batas yang tegas, variasinya terbatas dan dipengaruhi faktor lingkungan. Karakter fenotipe sering disimbolkan sebagai sebuah fungsi dari faktor genotipe individu, faktor lingkungan tempat hidupnya dan interaksi kedua faktor tersebut.

Karakter molekuler dapat dimanfaatkan untuk mendeteksi variasi genotipe atau bahkan gen sehingga antar kultivar dapat dibedakan dengan tegas (Edison *et al.*, 2004). Pendekatan molekuler juga memberi peluang untuk menemukan karakter diagnostik suatu kultivar. Keberadaan satu atau beberapa karakter diagnostik berguna untuk mempertelakan suatu kultivar. Jika informasi batasan

kultivar tersedia maka variasi plasma-nutfah dapat diakses secara lebih efisien dan efektif baik untuk pemuliaan tanaman maupun kegiatan konservasi.

Analisa marka molekuler merupakan salah satu teknik berbasis karakter molekuler yang banyak digunakan bersama dengan teknik seluler (marka morfologis) dan biokimia (marka fisiologis) untuk mengidentifikasi, mengkarakterisasi dan mengevaluasi keragaman yang terdapat dalam pool maupun bank gen, baik untuk tujuan pemuliaan maupun konservasi. Keuntungan penggunaan marka molekuler diantaranya tidak dipengaruhi oleh lingkungan, dapat digunakan untuk deteksi dan seleksi dini, tidak bersifat destruktif terhadap pertumbuhan tanaman, dan dapat digunakan untuk penetapan pautan sifat agronomis.

RAPD adalah salah satu penanda molekuler yang sering digunakan untuk mengakses informasi variasi genetik pada beberapa jenis rumput laut, diantaranya *Laminaria digitata* (Billot *et al.*, 1999), *Mazzaella laminariooides* (Faugeron, *et al.*, 2001), dan *Gigartina skottsbergii* (Faugeron *et al.*, 2004). RAPD adalah primer oligonukleotida acak dengan jumlah pasangan basa pendek (8-12 bp). Polimorfisme pada teknik ini dihasilkan dari perubahan basa pada situs pengikatan primer atau perubahan panjang sekuen yang disebabkan oleh penyisipan, delesi dan penyusunan ulang (Karp, 1997). Marka ini merupakan marka dominan, tidak memerlukan pengetahuan genetik awal tentang organisme, efisien, ekonomis, dan tidak memerlukan radioaktif untuk menentukan hubungan genetik atau konstruksi peta pautan genetik. RAPD juga tidak memerlukan probe atau informasi sekuens seperti analisis dengan RFLP atau mikrosatelit. Marka RAPD menghasilkan polimorfisme tinggi, simpel dan cepat (Dunham, 2004).

Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi variasi genetik jenis rumput laut *Eucheuma* yang tumbuh liar dan yang dibudidayakan di beberapa perairan Indonesia menggunakan penanda RAPD.

BAHAN DAN METODE

Koleksi Sampel

Koleksi sampel dilakukan pada bulan Mei 2006. Sampel yang diteliti terdiri dari *Eucheuma* yang dibudidaya dan yang hidup liar di perairan terumbu karang. Dua jenis rumput laut yang dibudidaya diambil dari Kepulauan Seribu yaitu wilayah perairan Pulau Panggang dan Pulau Karang Congkak; satu jenis rumput laut berasal dari Keruak, Pamongkong Lombok Timur (NTB) dan dua jenis rumput laut yang dibudidaya lainnya berasal dari perairan Kalianget, Kabupaten Sumenep Madura. Tiga jenis rumput laut liar diperoleh dari perairan Karang Congkak Kepulauan Seribu. Sampel berupa talus *Eucheuma* diambil secara acak dari rumpun *Eucheuma* dalam bentuk segar (sampel dari Kepulauan Seribu). Sampel yang berasal dari Keruak dan Madura diperoleh dalam bentuk kering. Semua sampel kemudian dicuci dengan akuades steril dan dikeringangkan pada suhu

ruang selama sehari semalam lalu dimasukkan ke dalam plastik yang telah diberi silika gel. Sampel disimpan dalam suhu ruang hingga dilakukan ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi dan amplifikasi DNA dilakukan pada bulan Juni-Desember 2006 di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Hayati, Institut Pertanian Bogor. Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan metode Doyle dan Doyle (1990). Prosedur ini meliputi tiga tahapan utama: ekstraksi, pemurnian dan presipitasi DNA. Uji kuantitas dan kualitas DNA dilakukan dengan menggunakan elektroforesis. Sebanyak 5 μl DNA genom dan 1 μl *loading dye* dielektroforesis dalam 0,8% (w/v) gel agarose pada larutan Tris-Boric acid-EDTA (TBE) yang mengandung *etidium bromida* dan tegangan 70 volt selama 20 menit. Lamda 10 ng dan 20 ng digunakan sebagai standar marker genom yang telah diekstraksi. Hasil elektroforesis akan menunjukkan tingkat keutuhan genom, tingkat kontaminasi RNA, dan kuantitas DNA.

Amplifikasi DNA

Sebanyak 47 primer diseleksi (Tabel 1.), diperoleh sebelas primer yang memberikan hasil amplifikasi untuk semua sampel. Amplifikasi DNA dengan PCR dalam volume reaksi 12, 5 μl dengan menggunakan *Taq* polimerase dari *Real Biotech Corporation* (RBC) dengan modifikasi suhu pre-denaturasi dan denaturasi yaitu 95°C dan suhu annealing 37°C. Reaksi amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (MJ Research dan *GeneAmp PCR System 2400*, Perkin Elmer) sebanyak 35-40 siklus setelah pra-PCR selama 5 menit 95°C. Masing-masing siklus terdiri dari: 1 menit 95°C untuk denaturasi, 1 menit 37°C untuk penempelan primer pada DNA cetakan, dan 1 menit 72°C untuk pemanjangan fragmen DNA. Reaksi amplifikasi diakhiri dengan pasca-PCR selama 5 menit 72°C.

Untuk mengetahui keberhasilan PCR sebanyak 2 μl campuran hasil PCR dengan 0,4 μl *loading dye* di-elektroforesis dalam 1,2% (w/v) gel agarose pada larutan Tris-Boric acid-EDTA (TBE) yang mengandung *etidium bromida* dan tegangan 70 volt selama 30 menit. Separasi fragmen pita hasil amplifikasi dilakukan dengan elektroforesis horizontal 1,2% gel agarose pada larutan Tris-Boric acid-EDTA (TBE) yang mengandung *etidium bromida* dan tegangan 70 volt selama 145 menit. *Generuler 1 kb ladder* (Fermentas) digunakan sebagai standar untuk menentukan ukuran fragmen pita hasil amplifikasi.

Analisis Data

Profil fragmen RAPD yang tampak sebagai pita-pita DNA pada gel agarose diterjemahkan menjadi data biner berdasarkan ada atau tidak adanya pita DNA amplifikasi dengan memberi nilai satu (1) jika pita ada dan nol (0) jika tidak ada pita.

Kemudian data biner dari keempat primer dimasukkan ke dalam program komputer *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSYS-pc) versi 2.02i (Rohlf, 1993) dan dihitung menggunakan koefisien *Simple Matching* (SM) sehingga dihasilkan matriks kemiripan genetik.

Rumus koefisien kemiripan genetik *Simple Matching* (SM) sebagai berikut:

$$SM = (a+d)/p$$

SM : koefisien kemiripan genetik antar sepasang individu

(a+d) : jumlah pita DNA dengan berat molekul sama yang dijumpai pada individu 1 dan individu 2

p : jumlah total pita DNA yang dijumpai pada seluruh sampel

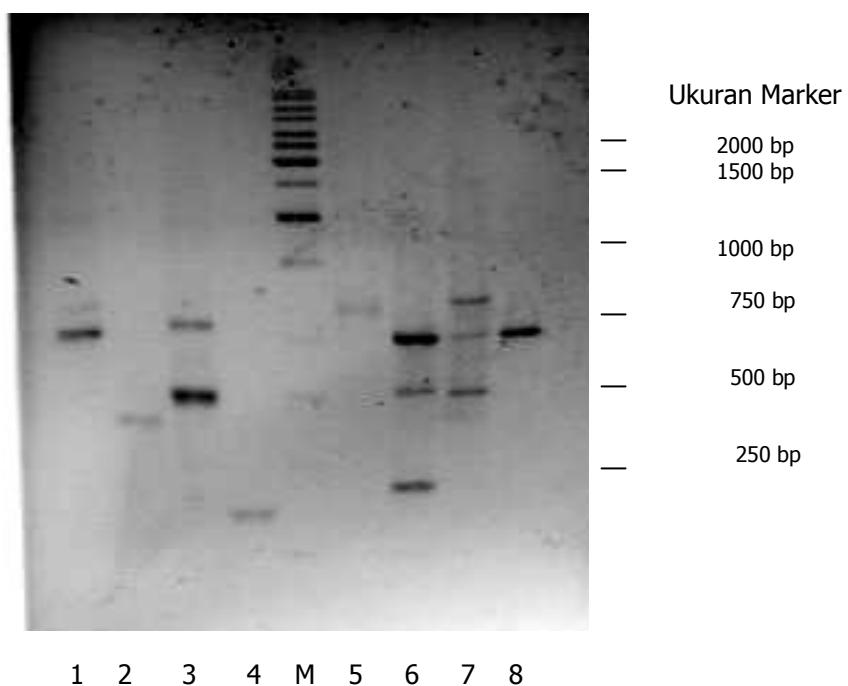
Selanjutnya matriks kemiripan genetik yang diperoleh digunakan sebagai *input* dalam analisis pengelompokan (*SAHN clustering*) dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic* (UPGMA) dan hasil pengelompokan ditampilkan dalam bentuk fenogram, nilai *bootstrap* fenogram dihitung dengan menggunakan program *WinBoot*. Matriks data biner pita RAPD ini dianalisis lebih lanjut dengan Analisis Komponen Utama (AKU) menggunakan program komputer Minitab 14 dan NTSYS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa Molekuler Profil Pita RAPD

Sebanyak 47 primer Operon diseleksi untuk mendapatkan pita polimorfik yang dapat digunakan untuk analisa RAPD *Eucheuma* sp. Diperoleh 11 primer dengan variasi jumlah dan polimorfisme pita yang dihasilkan (Tabel 1.). Intensitas hasil amplifikasi DNA kesebelas primer tidak sama. Perbedaan intensitas amplifikasi DNA dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya pertama adalah kemurnian dan konsentrasi DNA cetakan. Weeden, *et al.* (1992), menyebutkan bahwa polisakarida, senyawa fenolik dan konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau tidak jelas. Pada *Eucheuma* kontaminan terbesar adalah polisakarida, karena tanaman laut ini memiliki kandungan polisakarida yang sangat besar dan sifat fisiknya hampir mirip dengan DNA pada saat isolasi. Kedua adalah perbedaan jumlah sebaran situs penempelan primer pada DNA cetakan. Ketiga, kompetisi tempat penempelan primer pada DNA cetakan yang menyebabkan satu fragmen diamplifikasi dalam jumlah banyak dan fragmen lain sedikit. Amplifikasi mungkin dapat terjadi pada beberapa tempat akan tetapi hanya beberapa set saja yang dapat dideteksi pita sesudah amplifikasi (Grattapaglia *et al.*, 1992; dan Weeden *et al.*, 1992). Alberto *et al.* (1997), menyatakan bahwa urutan nukleotida primer juga sangat menentukan keberhasilan amplifikasi genom. Primer yang memiliki kesamaan

urutan nukleotida dengan genom akan menghasilkan amplifikasi fragmen DNA dalam jumlah tertentu. Contoh amplifikasi polimorfik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pita Amplifikasi Primer OPB-3: (1). P; (2). Kc; (3). Krw; (4). L1; (M). 1 kb ladder (5). L2; (6). L3; (7). M1; (8). M2

Polimorfisme yang dihasilkan dari profil pita adalah sebesar 98,67%. Nilai ini menunjukkan bahwa primer-primer yang digunakan dapat mendeteksi variasi genetik yang ada. Untuk meningkatkan reabilitas hasil RAPD ini, primer-primer tersebut dapat diseleksi kembali berdasarkan keterulangan hasil amplifikasi primer-primer tersebut (Phan, *et al.* 2003).

Karakterisasi Genetika Rumput Laut *Eucheuma* spp. dari Tiga Daerah di Indonesia (Kepulauan Seribu, Keruak, dan Sumenep) (Santi Rukminita Anggraeni dkk.)

Tabel 1. Primer, Jumlah Pita, dan Polimorfisme yang Dihasilkan pada *Eucheuma* sp.

Primer (OP)	Susunan Basa 5'-3' *	Total Pita	Total Pita Polimorfik	Jumlah Pita Polimorfik							
				P	Kc	Krw	L1	L2	L3	M1	M2
A3	AGTCAGCCAC	4	3	2	2	2	1	3	4	2	2
A4	AATCGGGCTC	3	3	2	1	2	2	2	1	2	1
A15	TTCCGAACCC	6	6	3	4	2	1	3	2	3	5
A17	GACCGCTTGT	3	3	3	3	2	1	3	3	2	3
B3	CATCCCCCTG	7	7	3	1	2	1	1	2	3	1
B6	TGCTCTGCC	14	14	5	3	1	4	4	4	3	5
B18	CCACAGCAGT	5	5	3	1	1	1	2	1	0	4
C8	TGGACCCTGT	12	12	3	8	7	2	2	1	1	3
C10	TGTCTGGGTG	7	7	5	2	2	1	2	1	2	2
C15	GACGGATCAG	6	6	1	3	3	1	1	3	1	1
F15	CCAGTACTCC	8	8	7	7	2	7	1	4	1	
Total		75	74	37	35	31	17	30	23	23	28
Polimorfisme (%)			98.67								

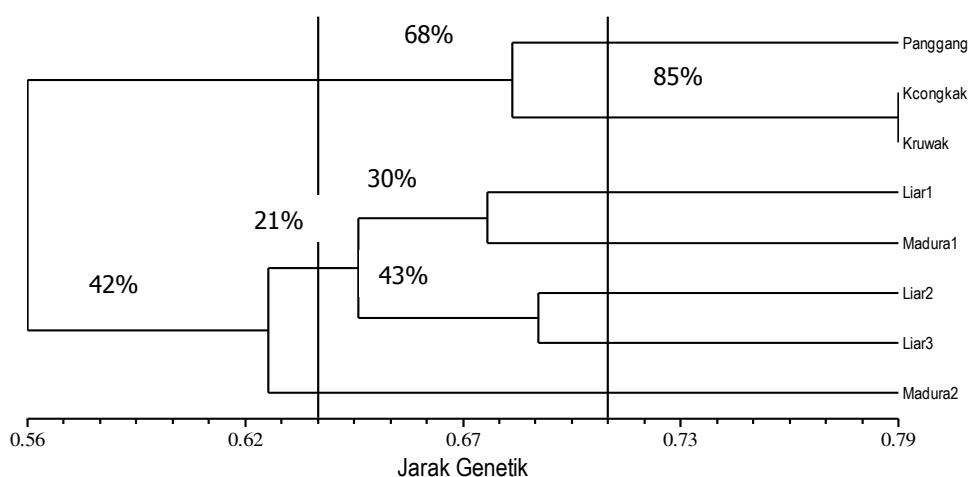
* : Operon Technology Manual Product

Analisa Statistik Keragaman Genetik *Eucheuma* sp.

Jika dibandingkan dengan data visual, untuk setiap jenis rumput laut yang diamati terlihat bahwa antara P, Kc dan Krw tidak memiliki perbedaan morfologi yang menonjol, akan tetapi data genotipe hasil RAPD menunjukkan bahwa Kc lebih memiliki kemiripan dengan Krw (79%) daripada dengan P (69%). M1 juga menunjukkan nilai kemiripan yang cukup besar terhadap Kc (60%) dan Krw (64%). Sementara L1 menunjukkan kemiripan yang cukup besar dengan M1 (68%). Secara visual L1 memiliki kemiripan dengan P, Krw maupun Kc akan tetapi, secara genotip hasil RAPD kemiripannya hanya sebesar 53-56%. Nilai kemiripan genetik antar spesies yang dibudidaya (P, Kc, Krw, M1) dengan spesies liar L1 menunjukkan, bahwa kelima jenis rumput laut tersebut memiliki hubungan kekerabatan genetik dan ditunjang dengan data morfologi/visualnya. Penelitian ini menunjukkan, bahwa antara spesies *Eucheuma cottonii* liar dengan yang dibudidaya memiliki hubungan kekerabatan dan kedekatan genetik. Perbedaan atau jarak genetik yang diperoleh menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan ditentukan oleh jenis spesies, varietas spesies dan asal bibit. Hasil ini mengindikasikan potensi pemanfaatan spesies liar sebagai sumber plasma nutfah yang dapat dimanfaatkan untuk kegiatan pemuliaan dan perbaikan sifat spesies yang dibudidaya.

Tabel 2. Kemiripan Genetik antar Individu *Eucheuma* sp dengan 11 Primer RAPD

	Rata-rata kemiripan genetik (%)							
	P	Kc	Krw	L1	L2	L3	M 1	M 2
P	100							
Kc	69	100						
Krw	68	79	100					
L1	53	51	56	100				
L2	67	57	64	63	100			
L3	52	51	57	64	69	100		
M 1	56	60	64	68	63	69	100	
M 2	59	49	45	63	57	64	65	100

**Gambar 2.** Fenogram Kemiripan Genetik Jenis Rumput Laut Berdasarkan Data 11 Primer RAPD

Hasil analisis gerombol data dengan nilai kesamaan genetik 64% (Gambar 2.) diperoleh tiga grup jenis rumput laut (Grup 1: P, Kc, Krw); (Grup 2: terdiri dari dua subgrup: subgrup 1: L1 dan M1; subgrup 2: L2 dan L3) dan (Grup 3: M2). Hasil analisis kemiripan dan gerombol menunjukkan adanya variasi genetik antar spesies yang dibudidaya yang dianggap sama secara fenotipik yang dikenal dengan nama komersil *Eucheuma cottonii* seperti pada grup 1 dan Grup 2 subgrup 1 yaitu M1. Selain itu, juga terjadi variasi genetik dengan spesies liar L1 yang secara penampakan fenotipik bentuk talus dan percabangan menyerupai spesies komersil *Eucheuma cottonii* atau *Kappaphycus alvarezii*. Variasi ini disebabkan oleh perbedaan varietas dan asal bibit yang digunakan untuk budidaya.

Karakterisasi Genetika Rumput Laut *Eucheuma* spp. dari Tiga Daerah di Indonesia (Kepulauan Seribu, Keruak, dan Sumenep) (Santi Rukminita Anggraeni dkk.)

Data molekuler RAPD ini dikuatkan oleh data molekuler menggunakan cox 2-3 spacer dan RuBisCo spacer yang dihasilkan oleh Zuccarello et al, (2006) dan analisa RAPD (P-40, P-50, DALRP, Ca-01 dan Ca-02) Parenrengi et al., (2006). Data molekuler menggunakan DNA mitokondria dan RAPD menunjukkan adanya variasi genetik intra dan antar populasi pada *Kappaphycus* dan *Eucheuma*.

Hayward et al. (1993) menyebutkan setidaknya ada tiga mekanisme penyebab terjadinya variasi genetik di dalam dan antar suatu populasi yaitu mutasi, rekombinasi pada waktu meiosis dan perkawinan. Variasi genetik yang terjadi pada jenis rumput laut-jenis rumput laut yang diteliti dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, variasi genetik yang muncul karena mutasi titik, pola budidaya rumput laut yang umum diterapkan saat ini, memperkecil peluang terjadinya variasi genetik akibat rekombinasi pada waktu meiosis atau karena perkawinan (Zuccarello et al., 2006). Kedua, karena adanya keunikan pada sistem pertumbuhan dan perkembangan sel. Sementara keragaman genetik yang terjadi pada spesies liar dapat disebabkan oleh ketiga faktor; mutasi, rekombinasi waktu meiosis atau perkawinan.

Data gerombol juga menunjukkan adanya potensi variasi genetik, karena pengaruh geografi (Gambar 2.) dan hasil ini selaras dengan hasil penelitian Parenrengi et al., (2006), akan tetapi hal ini harus dibuktikan dengan menggunakan data molekuler yang lebih banyak dan jumlah jenis rumput laut yang lebih besar dan mewakili daerah penyebaran yang lebih luas yang dilakukan secara kontinyu. Nilai bootstrap yang dihasilkan bernilai positif yang menunjukkan, bahwa pohon yang dihasilkan dapat dipercaya. Walaupun nilai bootstrap yang dihasilkan positif, tetapi nilainya tidak terlalu signifikan karena kurang dari 95-99%. Jumlah sampel yang kecil ($n=8$) dapat menjadi salah satu penyebab rendahnya signifikansi yang dihasilkan.

Analisis Statistik Pita RAPD yang Berperan dalam Penggerombolan

Analisis Komponen Utama (AKU) menggunakan program Minitab 14 dengan matrik peragam (*covariance matrix*) menghasilkan 7 komponen utama dengan nilai akar ciri sebagai berikut:

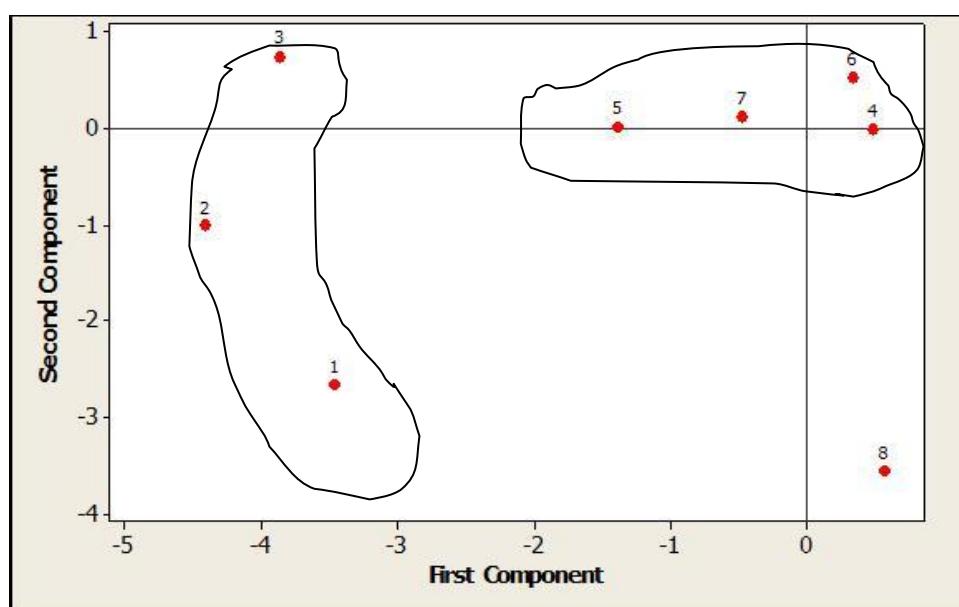
Tabel 3. Nilai Komponen Utama dan Akar Ciri

KU	Akar Ciri	Proporsi (%)	Kumulatif (%)
1	4.350	29.4	29.4
2	2.498	16.9	46.3
3	2.273	15.4	61.6
4	1.990	13.4	75.1
5	1.355	9.2	84.2
6	1.224	8.3	92.5
7	1.115	7.5	100

Dari ketujuh komponen utama tersebut, diambil dua KU yang memiliki nilai proporsi peran keragaman terbesar yaitu KU1 dan KU2. Total nilai keragaman KU1 dan KU2 juga menjelaskan persentase ketidakmiripan pada kedelapan jenis rumput laut yang diamati yaitu sebesar 46%.

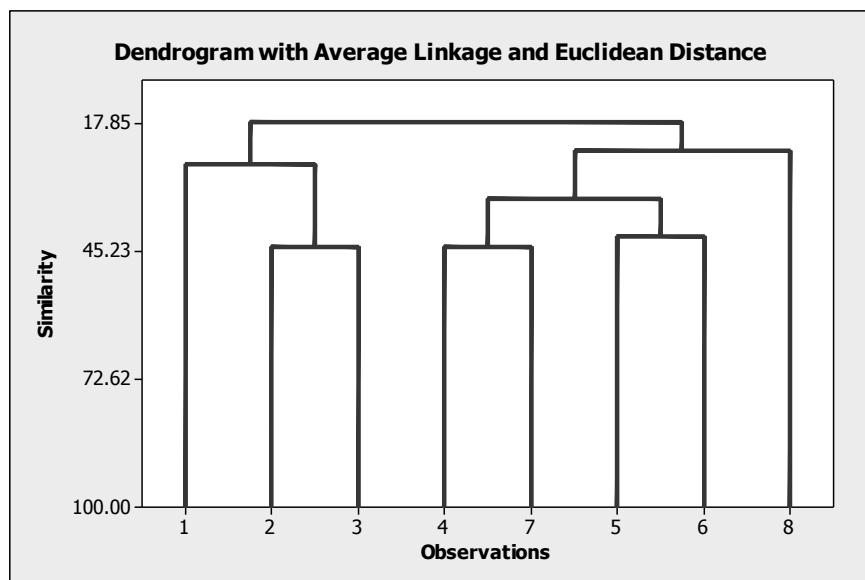
Nilai KU1 berhasil mengidentifikasi 26 buah pita dan nilai KU2 sebanyak 32 buah pita yang berperan dalam pengelompokan kedelapan jenis rumput laut. Sebanyak 11 pita yang diterangkan oleh KU1 dan KU2 tersebut. Terdapat 47 pita yang berperan dalam menentukan keragaman ($OPF15=1-5,7$; $OPA3=2$; $OPA15=1-2,4-6$; $OPA17=2$; $OPA4=1$; $OPB18=1-2,4-5$; $OPB3=5-7$; $OPB6=1-4, 7-10,12-14$; $C10=2-7$; $OPC15=1, 3-5$; $OPC8=2, 4-9, 11-12$). Hasil pemetaan dua dimensi PCA nilai KU1 dan KU2 disajikan pada Gambar 3.

Pita-pita yang berperan menjadi PCA kemudian digunakan untuk melakukan analisis gerombol, untuk mengetahui pengelompokan jenis rumput laut. Gambar 4. merupakan hasil analisis gerombol dengan menggunakan pita-pita PCA.



Gambar 3. Pemetaan KU1 dan KU2 terhadap Delapan Jenis Rumput Laut.

Ket: 1-P; 2-Kc; 3-Krw; 4-L1; 5-L2; 6-L3; 7-M1; 8-M2



Gambar 4. Analisa Gerombol Delapan Jenis Rumput Laut Menggunakan Pia-Pia PCA.

Ket: 1-P; 2-Kc; 3-Krw; 4-L1; 5-L2; 6-L3; 7-M1; 8-M2

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, sebelas primer RAPD yang digunakan : OPF-15, OPA-3, OPA-4, OPA-15, OPA-17, OPB-3, OPB-6, OPB-18, OPC-8, OPC-10 dan OPC-15 dapat mendeteksi variasi dan keragaman genetik yang ada pada 5 akses terbudidaya yang diidentifikasi sebagai *Eucheuma cottonii* atau *Kappaphycus alvarezii* (P, Kc, Krw, dan M1) dan M2 sebagai *Eucheuma spinosum* serta 3 akses liar yang secara fenotip merupakan *Eucheuma cottonii* dan *E. edule*.

Kedelapan akses tersebut terbagi menjadi tiga grup pada tingkat kemiripan genetik 64% dimana grup 1 terdiri dari : Grup 1(P, Kc, Krw); Grup 2 (dua subgrup : subgrup 1 (L1 dan M1) dan subgrup 2 (L2 dan L3) dan Grup 3: M2. Terdapat 47 pita RAPD yang berperan dalam menentukan keragaman (OPF15=1-5,7; OPA3=2; OPA15=1-2,4-6; OPA17=2; OPA4=1; OPB18=1-2,4-5; OPB3=5-7; OPB6=1-4, 7-10,12-14; C10=2-7; OPC15=1, 3-5; OPC8=2, 4-9, 11-12).

Dari hasil analisis similaritas dan gerombol disimpulkan, bahwa antara spesies *Eucheuma cottonii* liar dengan yang terbudidaya memiliki hubungan kekerabatan dan kedekatan genetik. Perbedaan atau jarak genetik yang diperoleh

menunjukkan, bahwa hubungan kekerabatan ditentukan oleh jenis spesies, varietas spesies, dan asal bibit.

SARAN

Studi molekuler dan sitogenetika yang masih terbatas untuk *Eucheuma* sangat diperlukan terutama untuk menunjang kegiatan pemuliaan. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mendapatkan informasi yang lebih komprehensif yang dapat digunakan untuk menganalisis genotipe yang berkorelasi dengan karakter penting baik secara ekonomi maupun ekologi. Adanya kedekatan molekuler antara L1 yang tumbuh liar di Kepulauan Seribu dengan M1 yang merupakan spesies lokal yang dibudidayakan di Perairan Sumenep sangat menarik dan perlu ditelusuri lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh geografi terhadap hubungan kekerabatan genetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberto, F., R. Santos, dan J.M. Leitao. (1997). DNA extraction and RAPD markers to assess the genetic similarity among *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta) populations. *J. Phycology*, 33:706-710.
- Billot, C.S., Boury H, H Benet, B.Kloareg. (1999). Development of RAPD Markers for Parentage Analysis in *Laminaria digitata*. Journal of Walter de Gruyter. Abstract.
- Doyle, J.J.J.L. Doyle. (1990). Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue.Focus 12:13-15.
- Dunham, R.A. (2004). Aquaculture and Fisheries Biotechnology. CABY Publ. UK.
- Edison HS, Agus S, Purnomo S. 2004. Pelacakan genom dan sinonimous pisang pada koleksi plasmanutfah tanaman buah Balitbu. Makalah seminar Peripi Bogor, 5-7 Agustus.
- Faugeron, S., E.A. Martinez., J. A. Correa., L. Cardenas. C. Destombe., M., Valero. (2004). Reduced genetic diversity and increased population differentiation in pheripheral and overharvested populations of *Gigartina*
- Faugeron, S. M. Valero., C. Destombe., E. A. Martinez., J. Acorrea. (2001). Hierarchical spatial structure and Discriminant in the red alga *Mazzaella laminarioides*. (Gigartinales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 37: 705-716.
- Grattapaglia, D., Chapparro J., Wilcox P., McCord S., Werner D., Amerson H., McKeand S., Bridgewater F., Whetten R., O'Malley D., Sederoff R. (1992). Mapping in woody plants with RAPD markers : Application to breeding in forestry and horticulture. Di dalam : Proceedings of the symposium

- applications of RAPD technology to plant breeding. Minneapolis, 1 Nov 1992. hal 37-40.
- Hayward, M.D. N.O. Bosemark. I. Romagosa. (1993). Plant Breeding. Principles and Prospects. Chapman and Hall. UK.
- Karp, A., S. Kresovich., K.V. Bhat., W.G. Ayad., T. Hodgkin. (1997). Molecular tools in plant genetic resources conservation : a guide to the technologies. IPGRI.
- Neish, Iain C. (2003). The ABC of *Eucheuma* seaplant production. www. Surialink.com.
- Parenrengi, Andi. Sulaeman. Emma Suryati. A. Tenriulo. (2006). Karakterisasi genetika rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang dibudidayakan di Sulawesi Selatan. Jurnal Riset Akuakultur Vol 1 No 1. Hal 1-11.
- Phan, A.T., Y.B. fu., S. R. Smith Jr. (2003). RAPD variations in selected and unselected Blue Grama populations. J. Crop Sci. 43:1852-1857.
- Rohlf, F. James. (1993). NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.80. Exeter Software, New York.
- Weeden N.F., Timmerman G.M., Hemmat M., Kneen B.E., Lodhi M.A. (1992). Inheritance and Reability of RAPD Markers dalam: Proceedings of the symposium applications of RAPD technology to plant breeding. Minneapolis, 1 Nov 1992. hal 12-17.
- Zuccarello G. C. A.T. Crichtley. J., Smith., V. Sieber., G.B. Lhonneur., J.A. West. (2006). Systematic and genetic variation in commercial *Kappaphycus* and *Eucheuma* (Solieriaceae, Rhodophyta). J. of Appl. Phycol. DOI:10.1007/s10811-006-9066-2.