

AMPLIFIKASI GEN COI (*Cytochrome C Oxidase Subunit I*) PADA HOLOTHUROIDEA YANG DIKOLEKSI DARI KEPULAUAN RAJA AMPAT

Ninda Sahriyani¹, Widodo¹, Abdul Hamid A. Toha²

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang

² Jurusan Perikanan, Fakultas Peternakan, Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Negeri Papua, Manokwari, Papua Barat

Ninda Sahriyani : ninda.sahriyani@gmail.com

ABSTRAK

Kepulauan Raja Ampat mempunyai keanekaragaman hewan laut yang tinggi, salah satunya Timun Laut (Holothuroidea). Tujuan dilaksanakan penelitian ini, yakni mengamplifikasi gen COI pada Holothuroidea yang dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat. Metode yang digunakan pada penelitian ini yakni total DNA diisolasi dari jaringan menggunakan gSYNC™ DNA Extraction Kit GS100 (Gene Aid), kemudian DNA spesimen UNP 106 diamplifikasi berdasarkan gen COI menggunakan susunan sekuen *forward* COI yakni 5'-GGCATCCAGAAGTTTACATCCT-3' dan sekuen *reverse* yakni 5'-TTGGAGATAGGCTTCTGTGGA-3'. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesimen UNP 106 berhasil diamplifikasi dengan ukuran ampikon sebesar 600-700 bp.

Kata kunci : Amplifikasi, COI, Timun Laut, UNP 106

ABSTRACT

Raja Ampat Islands have highly diversity of marine animals, such as Sea Cucumbers (Holothuroidea). The aim of this study is amplification based on COI gene markers of Holothuroidea which collected from the Raja Ampat Islands. DNA total was isolated from the tissue using gSYNC™ DNA Extraction Kit GS100 (Gene Aid), DNA UNP 106 specimen was amplified based on COI gene using primer *forward* COI : 5'-GGCATCCAGAAGTTTACATCCT-3' and *reverse* COI : 5'-TTGGAGATAGGCTTCTGTGGA-3'. The results showed that UNP 106 specimen has successfully amplified with size of ampikon is 600-700 bp.

Keywords: Amplified, COI, Sea cucumber, UNP 106

PENDAHULUAN

Kepulauan Raja Ampat merupakan wilayah di Provinsi Papua Barat yang mempunyai keanekaragaman hewan laut dan terumbu karang yang tinggi [1;2]. Salah satu hewan laut yang mempunyai keberagaman tinggi, yakni, Timun Laut (Holothuroidea) [3]. Timun Laut mempunyai karakter morfologi berupa tubuh yang berbentuk silinder menyerupai mentimun, berukuran 10-30 cm, kulit bertekstur kasar, mempunyai tentakel dan papila [4]. Namun, karakter tersebut tidak memudahkan bagi peneliti dalam melakukan identifikasi jenis karena banyak anggota dari ordo-ordo Timun Laut yang mempunyai kesamaan (*cryptic species*) ketika didasarkan pada puluhan karakter morfologi, misalnya

bentuk tentakel dan keberadaan *internal respiratory tree* [5].

Maka dari itu, dibutuhkan teknik identifikasi secara molekuler, salah satu tahapannya yakni amplifikasi. Amplifikasi adalah peningkatan jumlah urutan DNA target sebanyak ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah DNA semula [6]. Tujuan dari penelitian ini yakni mengamplifikasi gen COI pada spesimen Holothuroidea yang dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat.

METODE PENELITIAN

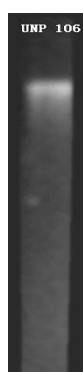
Koleksi Spesimen. Spesimen dikoleksi dari White Arrow, Aljui Bay, Pulau Waigeo, Kepulauan Raja Ampat pada 4 Juni 2013. Digunakan satu spesimen dalam penelitian ini, yakni spesimen UNP 106.

Isolasi Total DNA dan Amplifikasi DNA Spesimen UNP 106. Total DNA spesimen UNP 106 diisolasi melalui jaringan menggunakan gSYNC™ DNA Extraction Kit GS100 (Gene Aid) dengan prosedur isolasi mengikuti protokol dari pabrik. Amplifikasi DNA spesimen UNP 106 menggunakan primer yang dirancang oleh [7] dengan susunan sekuen *forward* COI yakni 5'-GGCATCCAGAAGTTTACATCCT-3'. Sekuen *reverse* COI yakni 5'-TTGGAGATAGGCTTCTGTGGA-3'. Racikan PCR yang digunakan, yaitu 10 µL Kapa Taq Extra HotStart ReadyMix PCR kit, 10 µL BSA (*Bovine Serum Albumin*), masing-masing primer *forward* dan *reverse* sebanyak 1 µL, 3 µL DNA spesimen UNP 106. Program PCR yang digunakan, yaitu *hot start* (95°C, 3 menit), *denaturasi* (95°C, 30 detik), *annealing* (50°C, 30 detik), *ekstensi* (72°C, 1 menit), *ekstensi akhir* (72°C, 1 menit) dengan setiap tahapan menggunakan siklus sebanyak 30 siklus. Hasil PCR disimpan pada suhu -20°C.

Uji Kualitatif Hasil Isolasi Total DNA dan Amplifikasi DNA Spesimen UNP 106. Gel agarosa dimasukkan ke dalam *chamber* Biorad yang berisi 350 ml TBE 1x pH 8. *Loading dye* sebanyak 2 µL diletakkan di *aluminium foil* dan DNA sebanyak 2 µL dipipeting bersamaan dengan *loading dye* yang telah disiapkan, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran. Besaran *voltage* diatur pada 100 Volt, *Chamber* elektroforesis dinyalakan selama lebih kurang 30-45 menit hingga nampak pita mendekati 2 garis penanda terbawah. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV transluminator dan kemudian didokumentasikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi Total DNA Spesimen UNP 106. Hasil isolasi total DNA diketahui melalui uji kualitatif elektroforesis gel agarosa 1%.



Keterangan :

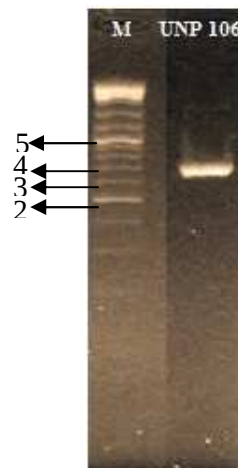
1. DNA

→ 1

Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif Isolasi Total DNA Spesimen UNP 106.

Berdasarkan hasil elektroforesis gel agarosa menunjukkan bahwa total DNA spesimen UNP 106 berhasil diisolasi.

Hasil Amplifikasi DNA Spesimen UNP 106 Berdasarkan Gen COI. Hasil uji kualitatif melalui elektroforesis gel agarosa 2% menunjukkan bahwa DNA dari spesimen UNP 106 berhasil diamplifikasi berdasarkan gen COI ditunjukkan dengan adanya pita yang cukup tebal.



Keterangan :

1. Amplikon UNP 106
2. 500 bp
3. 600 bp
4. 700 bp
5. 1000 bp

5←
4←
3←
2←

→

Gambar 2. Hasil Uji Kualitatif Amplifikasi Spesimen UNP 106 Berdasarkan Gen COI.

Spesimen UNP 106 mempunyai ukuran amplikon COI sebesar 600-700 bp. Gen COI mempunyai panjang sekuen sekitar 650bp [8]. Hal ini menunjukkan bahwa spesimen UNP 106 telah diamplifikasi sesuai target. COI merupakan salah satu gen yang ada di Mt-DNA yang sering digunakan untuk proses identifikasi jenis organisme secara molekuler. Kelebihan yang dimiliki gen COI yakni spesifik dalam mengidentifikasi suatu jenis organisme hingga tingkat spesies [9] dan gen tersebut mempunyai sekuen gen yang terkonservasi dengan baik [10].

KESIMPULAN

Spesimen UNP 106 yang tergolong dalam kelompok Holothuroidea berhasil diamplifikasi berdasarkan gen COI. Amplikon COI dari spesimen UNP 106 mempunyai ukuran 600-700 bp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada USAID yang telah mendanai proyek penelitian *Marine Biodiversity of Raja Ampat Islands (MB-RAI)*. Bapak Abdul Hamid A. Toha, M.Si sebagai Ketua Proyek dan Bapak Widodo, S.Si., M.Si., PhD.Med.Sc yang telah mendanai dan memberikan bimbingan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Veron, J.E.N., L.M. Devantier, E.Turak, A.L.Green, S.Kininmonth, M.S.Smith & N.Petersoon. 2009. Delineating The Coral Triangle.Galaxea. *Journal of Coral Reef Studies*.
- (2) Sala, R., Y. Kabera & V.Rumereb. 2011. Destructive Fishing In Coremap II Area Raja Ampat. *Journal of Indonesia Coral Reefs 1*.
- (3) Kerr, A.M & Junhyong, K. 2001. Phylogeny of Holothuroidea (Echinodermata) inferred from morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 133: 63–81.
- (4) Bordbar, S., Anwar, F & Saari, N. 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods – A review. *Marine Drugs*. 9, 1761–1805.
- (5) Arndt, A., C. Marques., P. Lambert & M.J.Smith. 1996. Molecular Phylogeny of Eastern Pacific Sea Cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) Based on Mitochondrial DNA Sequence. *Molecular Phylogenetics And Evolution*. Vol. 6, No. 3.
- (6) Fatchiyah, E.L.Arummyngtyas, S.Widyarti dan S. Rahayu. 2011. **Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis**. Erlangga. Jakarta
- (7) SiGang, F.A.N., H.U. ChaoQun., W. Jing & Z. LvPing. 2011. Characterization of mitochondrial genome of sea cucumber *Stichopus horrens*: A novel gene arrangement in Holothuroidea. *Life Sciences*. doi: 10.1007/s11427-011-4168-8.
- (8) Ahmed, M.I. 2006. Morphological, Ecological and Molecular examination of the Sea cucumber species along the Red Sea Coast of Egypt and Gulf of Aqaba, with the investigation of the possibility of using DNA barcoding technique as a standard method for Sea cucumber ID. Thesis. Marine Biology. University of Hull.
- (9) Galtier, N., B. Nabholz., S. Glemin & G.D.D. Hurst. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology* 18, 4541-4550.
- (10) Kamarudin, K.R. A. M. Rehan, R. Hashim, G.USUP, H. F. Ahmad, M. H. Anua & M. Y. IDRIS. 2011. Molecular Phylogeny of *Holothuria (Mertensiothuria) leucospilota* (Brandt 1835) as Inferred from Cytochrome C Oxidase I Mitochondrial DNA Gene Sequences. *Sains Malaysiana* 40(2): 125–133.