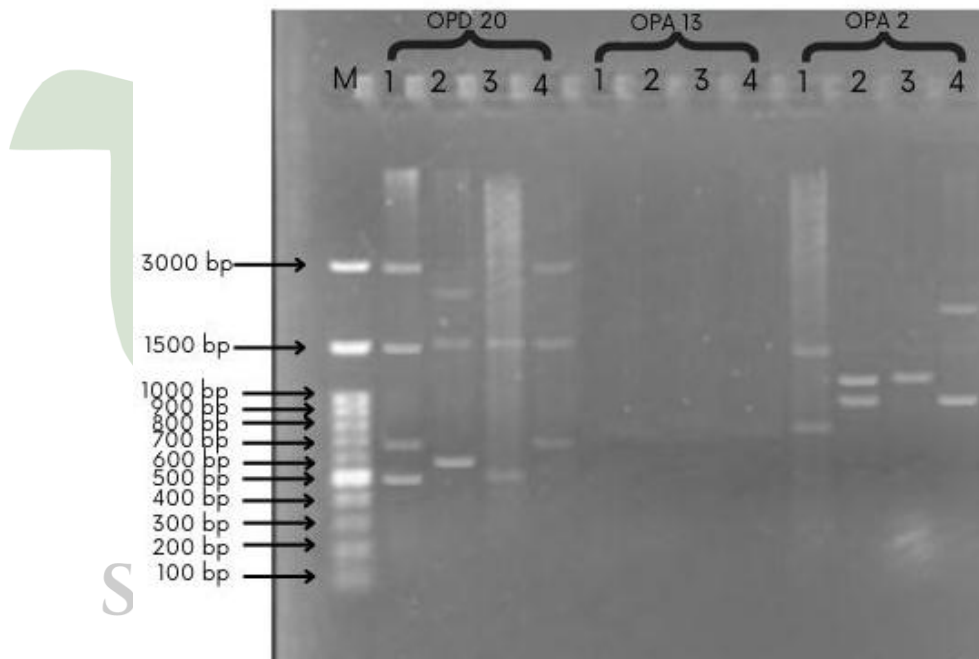


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

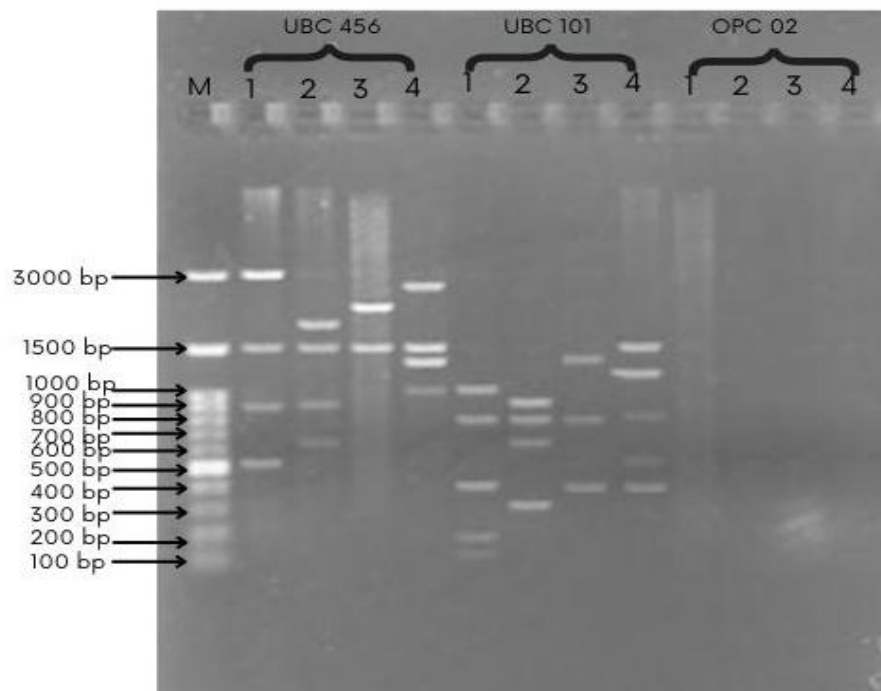
4.1 Variasi Keragaman Genetik Udang Genus *Penaeus* Dengan Teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*)

Pada penelitian amplifikasi PCR RAPD keragaman genetik pada udang genus *Penaeus* menggunakan primer 6 yaitu OPD 20, OPC 2, OPA 13, OPA 2, UBC456, DAN UBC 101. Primer ini akan menginisiasi proses amplifikasi daerah-daerah DNA genom tertentu secara random (Anggereini,2008) Hasil analisis elektroforesis gel RAPD menunjukkan bahwa dari ke 6 primer yang telah di uji dalam amplifikasi PCR udang genus *Penaeus*, hanya beberapa primer yang berhasil mengamplifikasi DNA dari sampel kaki renang udang genus *Penaeus* yang ditandai dengan adanya tampilan pita DNA.



Gambar 4.1 Elektroforesis Amplifikasi DNA udang Genus *Penaeus* menggunakan primer OPD 20, OPA 13, OPA 2

Deskripsi : M= Marker, 1= *Penaeus monodon*, 2= *Penaeus vannamei* , 3= *Penaeus mergueinsis*, 4= *Penaeus sp.*



Gambar 4.2 Elektroforesis Amplifikasi DNA udang Genus *Penaeus* menggunakan primer UBC 456, UBC 101, OPC 2

Deskripsi : M= Marker, 1= *Penaeus monodon*, 2= *Penaeus vannamei*, 3= *Penaeus merguensis*, 4= *Penaeus sp.*

Berdasarkan data gambar 4.1 dan 4.2 hasil dari amplifikasi DNA dengan teknik RAPD menghasilkan pola pita yang berbeda-beda yaitu polimorfis dan monomorfis, tergantung pada urutan DNA yang diamplifikasi oleh primer. Pola pita yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan genetik antar individu atau populasi. Pita polimorfik yang muncul menunjukkan variasi genetik, sedangkan pita monomorfik menunjukkan kesamaan urutan DNA. Primer hanya dapat menempel pada bagian DNA single strand yang komplementer dengan urutan basanya. DNA yang ditemplei primer akan menjadi DNA template dan berlipat jumlahnya sesuai banyak siklus yang dilakukan (amplifikasi) (Adeputri & Suryati, 2016). Amplifikasi menggunakan primer-primer tertentu, seperti OPD 20, OPA 02, UBC 456, dan UBC 101, menghasilkan pita DNA yang teramplifikasi dengan jumlah yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan dalam pola genetik yang dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik di antara spesies dalam genus *Penaeus*. Primer OPD 20 menghasilkan 6 pita DNA teramplifikasi, Primer OPA 02 menghasilkan 5 pita, UBC 456 menghasilkan 9 pita DNA teramplifikasi dan UBC 101 menghasilkan

11 pita DNA teramplifikasi, yang menandakan tingkat variasi yang berbeda. Sedangkan pada primer OPA 13 DAN OPC 2 diketahui tidak teramplifikasi sama sekali.

Faktor penyebab kegagalan dalam amplifikasi DNA dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu : DNA yang terisolasi dalam jumlah kecil, terdegradasi, atau tercemar dapat menghambat proses amplifikasi. Degradasi DNA dapat disebabkan oleh penggunaan teknik ekstraksi yang tidak tepat atau pengolahan sampel yang tidak hati-hati. DNA berkualitas rendah atau terdegradasi tidak dapat di-amplifikasi secara efisien.(Adebayo.2017), Kontaminasi sampel DNA dengan bahan kimia seperti fenol, etanol, atau material yang bersifat inhibitor PCR seperti protein atau polisakarida dapat menghambat aktivitas enzim polimerase, menyebabkan kegagalan amplifikasi, ini dapat mengganggu proses amplifikasi dengan cara mengurangi efisiensi atau bahkan menghentikan PCR. (Mathur.2020). Selain itu, juga dapat disebabkan karena menempelnya primer acak yang digunakan pada dua situs DNA cetakan, jaraknya cukup jauh sehingga enzim Taq DNA Polimerase tidak mampu mengamplifikasinya. (Nuryanto, dkk,. 2023).

Tabel 4.1 Hasil polimorfik dan monomorfik Amplifikasi

Primer	Pola Pita Polimorfik				Pola Pita Monomorfik				Total Pita				Ukuran Fragmen DNA (bp)
	Pmn	Pv	Pms	Psp	Pmn	Pv	Pms	Psp	Pmn	Pv	Pms	Psp	
OPD 20	3	2	1	2	1	1	1	1	4	3	2	3	500,600,700, 1500,2500, 3000 bp
OPA 02	2	2	1	2	0	0	0	0	2	2	1	2	700,900,1200, 1500,2000 bp
UBC 456	3	3	1	2	1	1	1	1	4	4	2	3	500,600,900, 1400, 1500, 2000, 2500 2900,3000 bp
UBC 101	4	3	2	4	1	1	1	1	5	4	3	5	100,200,300, 400,500,600, 800,900,1000, 1400,1500 bp

Tabel 4.1 memperlihatkan hasil pemotongan dengan teknik RAPD pada udang genus *Penaeus* terlihat dengan primer OPD 20 sampel yang teramplifikasi menunjukkan adanya pola pita polimorfis sebanyak 8 pita DNA sedangkan pola pita monomorfis sebanyak 4 pita DNA yang terdapat di ukuran fragmen 500, 600

700, 1500, 2500, dan 3000bp, pada primer OPA 2 pola pita yang teramplifikasi diketahui pola pita polimorfis sebanyak 7 pita DNA yang terdapat di ukuran fragmen 700, 900, 1200, 1500, dan 2000bp sedangkan pola pita monomorfis tidak ada ditemukan pita DNA. Pada primer UBC 456 sampel yang berhasil teramplifikasi menunjukkan adanya pola pita polimorfis sebanyak 9 pita DNA sedangkan pola pita monomorfis sebanyak 4 pita DNA yang terdapat di ukuran fragmen 500, 600, 900, 1400, 1500, 2000, 2500, 2900, dan 3000bp dan pada primer UBC 101 sampel yang berhasil teramplifikasi menunjukkan adanya pola pita polimorfis sebanyak 13 pita DNA dan ditemukan pola pita monomorfik sebanyak 4 pita DNA yang terdapat di ukuran fragmen. 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 900, 1000, 1400, dan 1500bp.

Hasil keragaman genetik yang diperoleh dari amplifikasi PCR (Polymerase Chain Reaction) menggunakan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) yang berupa pola pita yang menggambarkan adanya variasi genetik antara individu, Setiap pita mewakili fragmen DNA yang berhasil teramplifikasi. Pita yang muncul dapat berbeda antara individu yang satu dengan yang lainnya, menunjukkan adanya perbedaan dalam urutan DNA yang dikandung oleh masing-masing individu. Jumlah dan intensitas pita DNA yang teramplifikasi sangat dipengaruhi kesesuaian dari primer dan sekuen DNA yang digunakan sebagai cetakan, Di samping itu, keberhasilan suatu primer dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas DNA, konsentrasi $MgCl_2$, enzim Tag DNA polimerase, dan suhu annealing primer (Sembiring, dkk., 2015).

Dalam pelaksanaan amplifikasi RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) pada udang genus *Penaeus*, sangat penting untuk memastikan bahwa DNA yang digunakan memiliki kualitas yang baik. DNA yang berkualitas dapat memastikan bahwa hasil amplifikasi akan menghasilkan data yang akurat dan dapat diandalkan. (Ali, dkk., 2018). Adapun dalam pelaksanaan amplifikasi PCR pada penelitian ini lakukan dengan beberapa tahapan yaitu denaturasi, annealing dan extension.

Tabel 4.2 Hasil Uji Kuantitas Sampel DNA Murni

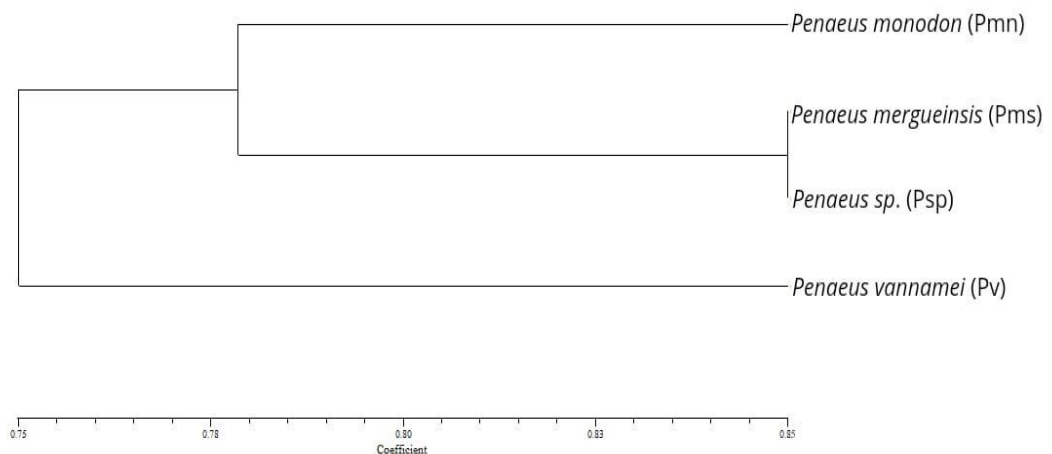
Hasil Uji Kuantitas Sampel DNA Udang Genus <i>Penaeus</i>
--

No	Nama Sampel	Rasio A260/A280	Konsentrasi DNA µg/ml
1.	<i>Penaeus monodon</i>	1,8	-24.719 µg/ml
2.	<i>Penaeus sp.</i>	1,5	51.523 µg/ml
3.	<i>Penaeus mergueinsis</i>	1,7	-31.867 µg/ml
4.	<i>Penaeus vannamei</i>	1,6	7.371 µg/ml

Variasi keragaman genetik pada genus *Penaeus* menunjukkan adanya perbedaan dalam komposisi DNA antar spesies. Berdasarkan hasil penelitian, isolasi DNA dari berbagai spesies *Penaeus* seperti *Penaeus monodon*, *Penaeus sp.*, *Penaeus mergueinsis*, dan *Penaeus vannamei* menunjukkan nilai konsentrasi DNA yang bervariasi, yang mencerminkan tingkat keragaman genetik masing-masing spesies. DNA dengan rasio A260/A280 di bawah 1,8 mengindikasikan adanya kontaminasi yang dapat mengganggu kualitas amplifikasi RAPD, menyebabkan pita yang kabur atau tidak terbaca dengan jelas pada gel elektroforesis (Cui, dkk., 2018). Dimana dalam pelaksanaan isolasi DNA harus dilakukan dengan menggunakan sampel hewan yang segar dan alat-alat yang harus di sterilkan terlebih dahulu untuk menghindari DNA murni dari kontaminan, selain itu pelaksanaan isolasi DNA juga harus dilakukan dengan teliti. Kontaminasi sampel dengan DNA dari sumber lain dapat mengarah pada amplifikasi produk yang tidak diinginkan, mengganggu interpretasi hasil PCR. Ini bisa terjadi karena penggunaan peralatan yang terkontaminasi atau teknik yang kurang steril. Kualitas DNA akan terlihat dari pita DNA yang muncul pada proses visualisasi yang ditandai dengan pita yang terang, tebal dan membentuk garis yang tegas (Muhajirah dkk., 2020). DNA yang baik tidak hanya bebas dari protein atau RNA, tetapi juga bebas dari bahan kimia seperti fenol atau etanol yang dapat mengganggu reaksi PCR (Wilfinger, 2017).

4.2 Kekerabatan Antar Udang Genus *Penaeus* Menurut Data RAPD

Pada penelitian ini, kekerabatan genetik antar populasi udang genus *Penaeus* dianalisis dengan menggunakan metode Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) dan proses analisis data menggunakan perangkat lunak NTSYS memungkinkan pengelompokan individu-individu berdasarkan kemiripan atau perbedaan pola pita yang dihasilkan dari hasil data amplifikasi DNA.



Gambar 4.3 Hasil dendrogram udang genus *Penaeus*.

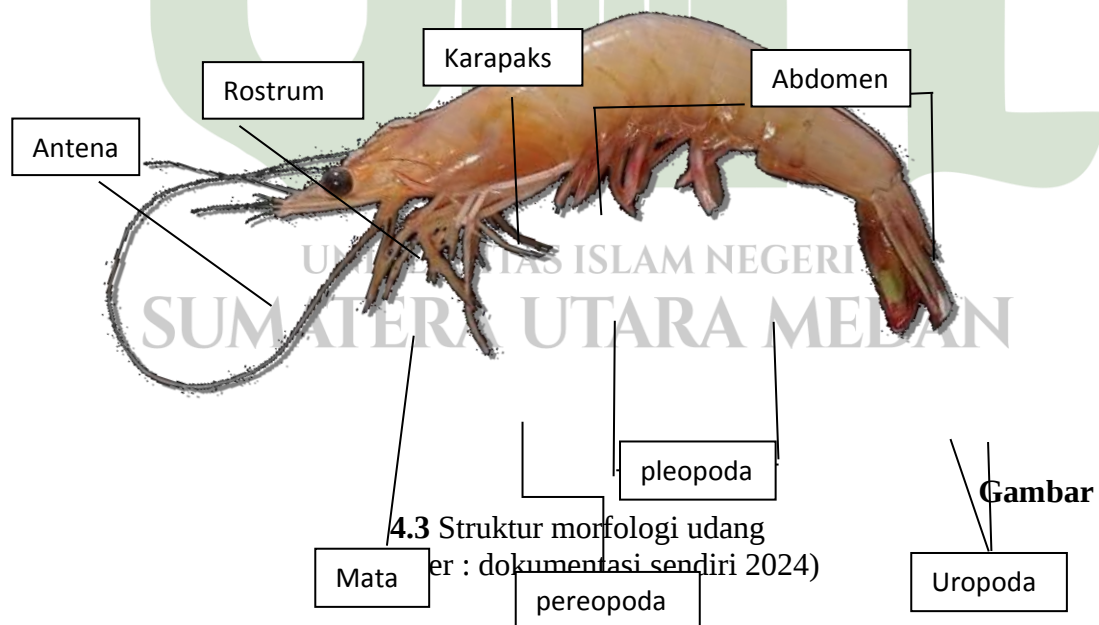
Proses Dendrogram yang dihasilkan dengan menggunakan UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) mengelompokkan setiap spesies udang genus *Penaeus*. Setiap spesies yang sama mengelompokkan diri pada percabangan yang sama, Berdasarkan jenis nya. Berdasarkan hasil analisis kekerabatan genetik, *Penaeus monodon*, *Penaeus mergueinsis*, dan *Penaeus sp.* membentuk satu kelompok atau cluster yang menunjukkan hubungan genetik yang lebih dekat antara ketiga spesies tersebut. Hal ini mengindikasikan bahwa ketiganya memiliki kesamaan dalam struktur genetik yang lebih tinggi dibandingkan dengan spesies lainnya. Di sisi lain, *Penaeus vannamei* berada di luar cluster tersebut, yang menunjukkan bahwa jarak genetiknya lebih jauh dari ketiga spesies di dalam cluster.

Hasanuddin dan Fitriana (2014) menyatakan bahwa penentuan keterkaitan suatu hewan atau tumbuhan dapat dilakukan dengan menghitung indeks kemiripan atau kemiripan (IS) dengan cara membagi jumlah sifat yang sama pada dua individu yang dibandingkan dengan hasil total yang saya jelaskan bahwa ini dilakukan dengan mengukur. Banyaknya ciri-ciri spesies A dan banyaknya ciri-ciri spesies B.” Jika nilainya lebih besar dari 0,75 maka syarat indeks kemiripannya(similaritas) sangat dekat satu sama lain. Jika nilainya antara 0,51 dan 0,75 maka indeks kemiripan dikatakan mendekati. Jika nilainya berada pada rentang indeks kemiripan 0,26 hingga 0,50 maka indeks kemiripan dikatakan tidak mendekati. Jika nilainya $\leq 0,25$ maka dikatakan sangat dekat.

Lebih lanjut, hasil ini juga menunjukkan bahwa *Penaeus merguensis* memiliki kekerabatan yang sangat dekat dengan *Penaeus* sp. menunjukkan nilai indeks kemiripan 0,85, yang mengarah pada kemungkinan adanya hubungan yang lebih erat antara keduanya. Sementara itu, *Penaeus monodon* memiliki kekerabatan yang sangat dekat menunjukkan nilai indeks kemiripan 0,78, meskipun masih tergolong dalam satu cluster bersama kedua spesies tersebut. Hubungan genetik yang mendekati ditemukan pada *Penaeus vannamei* menunjukkan nilai indeks kemiripan 0,75, yang menunjukkan bahwa spesies ini memiliki perbedaan genetik yang cukup signifikan dibandingkan dengan spesies *Penaeus* lainnya dalam analisis ini.

4.3 Identifikasi karakter morfologis Genus *Penaeus*

Berdasarkan hasil identifikasi dari keempat jenis udang merupakan phylum arthropoda karena memiliki tubuh yang tersegmentasi dengan berbagai bentuk. Yang di terlihat pada gambar 4.1 yaitu Spesimen udang terdiri dari kepala (Cephalothorax), perut (abdomen), rostrum, karapaks, uropoda, pleopoda, pereopoda dan mempunyai dua pasang antena.



Selanjutnya dalam menentukan suatu karakter morfologi signifikan yang digunakan untuk identifikasi spesies yaitu dengan melihat dari corak warna pada tubuh

udang, terutama dalam genus *Penaeus*. Warna tubuh udang bisa sangat bervariasi antar spesies, dan sering kali dipengaruhi oleh faktor-faktor genetik, lingkungan, dan fisiologis.



Gambar 4.4 Morfologi udang genus *Penaeus*

(a. *Penaeus monodon* ; b. *Penaeus* sp. ; c. *Penaeus merguensis* ; d. *Penaeus vannamei*)

Berdasarkan gambar 4.2 udang *Penaeus* yang di dapat dari perairan Tanjung Leidong dapat dilihat (a) *Penaeus monodon* dikenal memiliki warna tubuh yang cukup khas, dengan kombinasi warna gelap dan terang. Umumnya, tubuhnya memiliki warna coklat kehitaman atau abu-abu kebiruan dengan garis-garis vertikal terang pada bagian sisi tubuh, Spesies ini umumnya ditemukan di perairan dengan kedalaman hingga 110 meter, dengan substrat berlumpur atau berbatu. Juvenil biasanya hidup di estuari berpasir dan hutan bakau, kemudian bermigrasi ke perairan yang lebih dalam saat dewasa. (b) *Penaeus* sp. memiliki ciri ciri

berwarna hijau dengan garis-garis melintang kuning dan putih pada bagian atas memiliki warna kuning dengan garis melintang coklat.(c) *Penaeus merguensis* cenderung memiliki warna dasar yang transparan atau kekuningan dengan rona keabu-abuan, Spesies ini lebih menyukai substrat berlumpur di perairan estuari dan muara sungai. Larva dari spesies ini dianggap lebih lemah dibandingkan dengan spesies lain, dan juvenil atau dewasa tidak tahan terhadap penanganan kasar. Meskipun demikian, jumlah benih yang besar dapat diperoleh dari alam, dan laju pertumbuhannya relatif cepat. (d) *Penaeus vannamei* memiliki warna tubuh yang lebih terang. Umumnya tubuhnya berwarna putih kekuningan, merah muda, atau abu-abu terang dengan sedikit garis transversal yang lebih gelap di bagian punggung atau samping tubuh, Spesies ini hidup di perairan dengan suhu di atas 20°C sepanjang tahun. Individu dewasa ditemukan di laut pada kedalaman hingga 72 meter, sementara juvenil hidup di estuari.

Tabel 4.3. Karakter meristik udang genus *Penaeus*

Karakteristik meristik	<i>Penaeus monodon</i>	<i>Penaeus sp.</i>	<i>Penaeus merguensis</i>	<i>Penaeus vannamei</i>
Jumlah gerigi rostrum atas	7-8	7-9	7	7-9
Jumlah gerigi rostrum bawah	3	2-3	3-5	2-3

Selain dilihat dari corak warna selanjutnya spesimen udang digolongkan dalam genus *Penaeus* karena memiliki gerigi rostrum dibagian atas maupun bawah. Morfologi masing-masing spesies udang *Penaeus* berbeda dalam ukuran tubuh, warna, dan struktur tubuh seperti duri pada kepala dan punggung. *Penaeus monodon* dikenal dengan ukurannya yang besar dan warna gelap, sementara *Penaeus vannamei* lebih kecil dengan warna lebih cerah. *Penaeus merguensis* memiliki ukuran tubuh yang relatif kecil dan warna transparan, sedangkan spesies *Penaeus sp.* mencakup berbagai variasi morfologi dalam genus ini.