



ANALISIS KERAGAMAN GENETIK TIKUS HUTAN EKOR PUTIH (*Maxomys hellwandii*) BERBASIS RAPD

Revelson A. Mege, Christny F. E. Rompas dan Wulandari
Prodi Biologi FMIPA Universitas Negeri Manado
wulandariwulandari0709@gmail.com

ABSTRAK. Tikus hutan ekor putih (*maxomys hellwandii*) adalah hewan endemik Sulawesi. Penelitian ini telah dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik tikus hutan ekor putih (*maxomys hellwandii*) berbasis RAPD. Analisis keragaman tikus hutan ekor putih dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi dan purifikasi DNA, amplifikasi gen target menggunakan metode PCR, dan yang terakhir visualisasi hasil amplifikasi dengan elektroforesis gel agarose 0,8%. Analisis data menggunakan program SPSS IBM Ver. 20. Hasil penelitian menggunakan primer OPA-3 dari empat sampel lokasi yang berbeda menunjukkan tingkat kemiripan sebanyak 1% antara sampel Likupang 1 dan Minahasa Selatan, dan tingkat kemiripan sebanyak 25% antara sampel Likupang 2 dan Minahasa Tenggara. Sedangkan pada primer OPA-2 menunjukkan tingkat kemiripan sebanyak 8% antara sampel desa Likupang 1, Likupang 2 dan Minahasa Selatan dan tingkat kemiripan sebanyak 25% sampel dari Minahasa Tenggara. Berdasarkan pengelompokan dendrogram dari empat sampel yang berbeda menunjukkan adanya keragaman genetik.

ABSTRACT. White-tailed forest rats (*maxomys hellwandii*) are endemic to the Sulawesi. Research has been carried out to determine the genetic diversity of white rat rats (*maxomys hellwandii*) based on RAPD. The analysis of the diversity of white-tailed forest mice was carried out in several stages, namely the extraction and purification of DNA, the amplification of the target gene using the PCR method, and finally the visualization of the amplification results with 0.8% agarose gel electrophoresis. Data analysis with SPSS IBM Ver. The results of the study using OPA-3 primers from four different localization samples showed a level of similarity of 1% between the samples of Likupang 1 and South Minahasa and a similarity rate of 25% between the samples of Likupang 2 and Southeast Minahasa. Whereas the OPA-2 primers showed a level of similarity of 8% between the villages in the sample of Likupang 1, Likupang 2 and South Minahasa and a similarity rate of 25% in the sample of Southeast Minahasa. On the basis of the dendrogram grouping of four different samples, he showed genetic diversity.

Kata Kunci: analisis Keragaman Genetik, Tikus Hutan Ekor Putih (*Maxomys hellwandii*) RAPD

Keyword: Analysis of genetic diversity, white-tailed mouse (*Maxomys hellwandii*) RAPD

PENDALUHUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan jenis flora dan fauna yang sangat tinggi (*mega biodiversity*). Flora dan fauna yang ada merupakan sumber pemenuhan berbagai kebutuhan manusia seperti sandang, pangan, obat-obatan, dan lain-lain. (Primack, dkk., 1998).

Sulawesi merupakan salah satu pulau terbesar yang terletak di tengah-tengah kawasan garis Wallacea. garis Wallacea adalah garis yang memisahkan Indonesia bagian Tengah dan Indonesia bagian Timur. Garis ini diberi nama sesuai dengan penemunya yakni Alfred Russel Wallace, yang menyadari adanya perbedaan diantara flora dan fauna di daerah tersebut. Keanekaragaman satwa tersebut adalah keanekaragaman satwa dengan tingkat endemitas yang sangat tinggi di Indonesia bahkan di dunia. Keanekaragaman satwa tersebut antara lain anoa, tarsius, burung maleo, babi, kuskus beruang Sulawesi, dan tikus ekor putih (*maxomys hellwandii*) merupakan salah satunya (Wahyuni, 2005).

Tikus hutan ekor putih (*maxomys hellwandii*) adalah hewan endemik Sulawesi. Menurut IUCN (*The International Union For The Conservation of Nature and Natural Resources*) status konservasinya yaitu "least concern" yaitu spesies yang termasuk kedalam spesies terancam punah. Masyarakat di Sulawesi Utara, menyebut tikus ekor putih karena sebagian ujung ekornya berwarna putih. Di Minahasa Tengah tikus jenis ini disebut *turean* sedangkan di Minahasa Tenggara disebut *kawok*. Tikus ini mempunyai ukuran tubuh yang relatif kecil, dan mencari makan di atas pohon pada malam hari dan berliang di tanah pada siang hari, atau pada lubang-lubang yang ada di pohon. Tikus ini hanya terdapat di hutan-hutan pulau Sulawesi (Saroyo dkk., 2012).

Salah satu metode yang digunakan untuk menentukan keragaman genetik tikus adalah *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Teknik RAPD memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan teknik molekuler lainnya, seperti restriction

fragment length polymorphism (RFLP), degradative gradien gel electrophoresis (DGGE) dan macrorestricted fragment length polymorphism (MFLP). Teknik ini mampu menghasilkan jumlah karakter yang relatif tidak terbatas, sehingga sangat membantu untuk keperluan analisis keanekaragaman organisme yang tidak diketahui latar belakang genomnya.

Analisis keragaman genetik berbagai jenis hewan dengan menggunakan metode RAPD telah banyak dilakukan, namun sampai saat ini belum ada data dan informasi tentang analisis keragaman genetik tikus hutan ekor putih (*maxomys hellwandii*) berbasis RAPD. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui keragaman genetik pada tikus hutan ekor putih (*maxomys hellwandii*) berbasis RAPD.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan laboratorium Bioaktifa dan Biomolekuler Jurusan Biologi FMIPA UNIMA. Penelitian ini berlangsung dari bulan Februari sampai Oktober 2019.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tips, mikropipet series, thermostat, centrifuse, cutter, gunting, cawan petri, gelas beker, Rotor-Gene Q-Qiagen, UV-Cleaner, Spektrofotometer, tube sampel jaringan tikus hutan ekor putih bagian paha dan ekor, *ddh2o*, kit ekstraksi menggunakan *zyzo research quick-dna miniprep plus kit* yaitu: *genomic binding buffer*, *solid tissue buffer (blue)*, *g-DNA wash buffer*, *proteinase k*, *DNA pre-wash buffer*, *DNA elution buffer*. kit PCR yaitu: *my taq hs red mix bioline*, DNA template, primer RAPD : OPA-2 dan OPA-3.

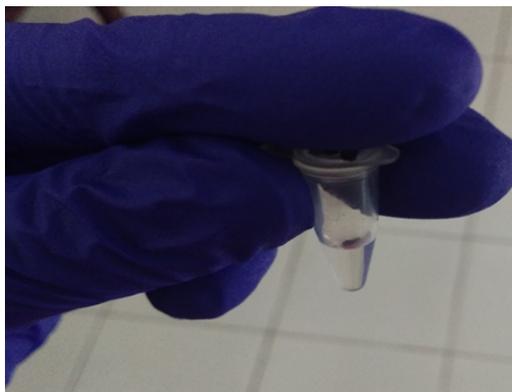
Prosedur Penelitian

Tahapan yang dilakukan dalam penelitian adalah ekstraksi dan purifikasi DNA total, amplifikasi DNA menggunakan primer OPA-3 dan primer OPA-2 dengan

metode PCR, visualisasi hasil amplifikasi dengan elektroforesis gel agarose

HASIL DAN PEMBAHASAN
Ekstraksi dan Purifikasi DNA

Ekstraksi dan purifikasi DNA dilaksanakan berdasarkan protokol *zyo research quick-dna miniprep plus kit*. Hasil akhir didapatkan berupa DNA total sampel dari jaringan tikus. Hasil ekstraksi dan purifikasi DNA dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil ekstraksi dan purifikasi DNA

Uji konsentrasi dan kemurnian DNA

Komposisi larutan uji konsentrasi dan kemurnian DNA yaitu 5µl sampel dan 995µl DdH₂O. Nilai kemurniannya diukur pada absorbansi 260nm dan 280nm. Hasil pengukuran kemurnian DNA dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Konsentrasi dan Kemurnian DNA

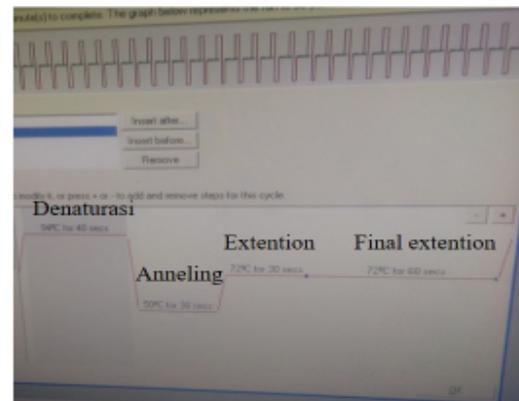
No	Sampel	Konsentrasi		Kemurnian
		A260	A280	
1.	Sampel LK1	0,187	0,196	0,954
2.	Sampel LK2	0,071	0,099	0,717
3.	Sampel MS	0,064	0,111	0,576
4.	Sampel MT	0.362	0,100	3,62

Hasil pengukuran kemurnian DNA tikus pada sampel Likupang 1(LK1) menunjukkan 0,954, sampel Likupang 2 (LK2) 0,717, sampel Minahasa Selatan (MS) 0,576 dan sampel dari Minahasa Tenggara (MT) menunjukkan 3,62. Rasio kemurnian DNA di atas dua menunjukkan

masih adanya sisa buffer yang terbawa selama proses isolasi (Sambrook, dkk., 1989).

Amplifikasi Sekuens Target dengan metode PCR

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan alat *rotor gene q qiagen*. Dengan primer OPA-2 dan OPA-3. Setiap tabung PCR berisi 50µl dengan komposisi volume PCR yakni 50µl terdiri atas 2µl primer, 2µl sampel, 25µl 2x my taq hs red mix bioline dan 21µl DdH₂O. Proses amplifikasi gen target dan hasil amplifikasi DNA dapat dilihat pada gambar 2.



(a)



(b)

Gambar 2. a) Proses Amplifikasi Gen Target Dengan Metode PCR, b) Hasil amplifikasi DNA

Visualisasi Hasil Amplifikasi dengan Elektroforesis Gel Agarose

Penelitian ini menggunakan dua primer RAPD yaitu primer OPA-3, dan primer OPA-2. Kedua primer yang digunakan dalam penelitian ini mampu memberikan hasil dari produk amplifikasi PCR

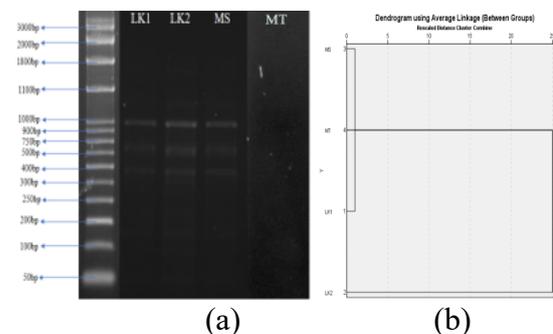
(*polymerase chain reaction*) dibuktikan lewat hasil elektroforesis menggunakan gel agarose 0.8% dan 3µl produk PCR . Dari proses amplifikasi gen primer OPA-3 menghasilkan sebanyak 10 pita DNA yang masing-masing pita berukuran antara 1000,750 dan 400 bp untuk sampel likupang 1(LK1) dan sampel minahasa selatan (MS), 1000, 750, 400 dan 300 bp untuk sampel likupang 2 (LK2), dan sampel minahasa tenggara (MT) tidak menghasilkan alel. Hasil elektroforesis pada sampel tikus hutan ekor putih pada primer OPA-3 dapat dilihat pada gambar 3a.

Hasil analisis pengelompokan dendrogram sampel tikus hutan ekor putih pada primer OPA-3 menunjukkan dua *cluster* berbeda dimana *cluster* pertama yang terbentuk pada sampel tikus dari desa likupang 1 (LK1) dan sampel dari desa minahasa selatan (MS) menunjukkan kemiripan genetik dengan membentuk *cluster* dengan indeks kemiripan 1%, sedangkan untuk *cluster* kedua sampel dari desa likupang 2 (LK2) dan sampel dari desa minahasa tenggara (MT) menunjukkan kemiripan genetik dengan indeks kemiripan 25%. Hasil dendrogram dapat dilihat pada gambar 3b.

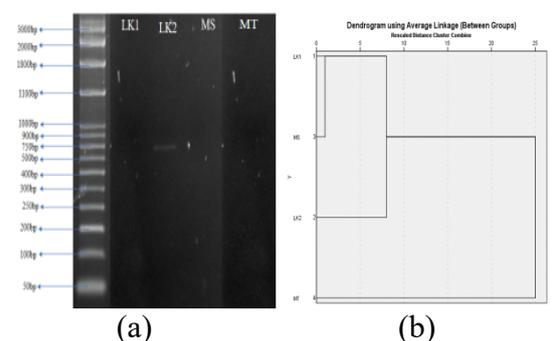
Hasil yang berbeda ditunjukkan pada sampel Likupang 1 (LK1), Likupang 2 (LK2), Minahasa Selatan (MS), dan Minahasa Tenggara (MT) dengan menggunakan primer OPA-2 yang hanya menghasilkan 1 alel yaitu pada sampel Likupang 2 (LK2) pada kisaran ukuran 750bp, dan tiga sampel lainnya tidak menghasilkan alel. Hasil elektroforesis pada sampel tikus hutan ekor putih pada primer OPA-2 dapat dilihat pada gambar 4a.

Hasil analisis pengelompokan dendrogram sampel tikus hutan ekor putih pada primer OPA-2 menunjukkan dua *cluster* dimana *cluster* pertama yang terbentuk pada sampel tikus dari desa likupang 1 (LK1), sampel dari desa likupang 2(LK2), dan sampel dari desa minahasa selatan (MS) menunjukkan

kemiripan genetik dengan membentuk *cluster* dengan indeks kemiripan 8%, sedangkan sampel dari desa minahasa tenggara (MT) membentuk *cluster* sendiri dengan indeks kemiripan 25%. Hasil pengelompokan dendrogram dapat dilihat pada gambar 4b.



Gambar 3. (a) Hasil elektroforesis pada sampel tikus hutan ekor putih dari desa likupang (LK1, LK2), minsel (MS) dan mitra (MT) pada primer OPA-3, (b) Hasil dendrogram yang menunjukkan hubungan similaritas dari empat sampel tikus menggunakan primer OPA-3.



Gambar 4. (a) Hasil Elektroforesis pada Tikus Hutan Ekor Putih dari Desa Likupang (LK1, LK2) Minsel (MS), dan Mitra (MT) Pada Primer OPA-2, (b) Hasil dendrogram yang menunjukkan hubungan similaritas dari empat sampel tikus menggunakan primer OPA-2.

Kesimpulan

Penggunaan penanda molekuler RAPD primer OPA-3 dan OPA- 2 menunjukkan bahwa populasi tikus hutan ekor putih yang diambil dari empat lokasi berbeda di Sulawesi Utara yaitu likupang 1 dan 2, minahasa tenggara dan minahasa selatan menunjukkan adanya keragaman genetik ini dibuktikan dengan adanya pita polimorfis.

DAFTAR PUSTAKA

- Primack, R. B., Supriatna J., Indrawan M., & Kramadibrata, P. (1998). *Biologi Konservasi*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Sambrook J, & Russel D. W. (1989). *Molecular cloning A Laboratory Manual. Edisi Ketiga*. Cold-Spring Harbot Laboratory Pr. New York
- Saroyo., Simbala E. I. H., Koneri, R., Siahaan R, & Siahaan P. (2012). *Biologi konservasi. Skripsi*. Bandung.
- Wahyuni, I. (2005). Tingkah laku Reproduksi dan Karakteristik Tikus Ekor Putih (*Maxomys hellwandii*). *Disertasi*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yusuf, Z. K. (2010). Polymerase Chain Reaction (PCR). *Skripsi*. UNG;Gorontalo.