

**ISOLASI DNA DAN AMPLIFIKASI FRAGMEN *D-LOOP*
MITOKONDRIAL PADA IKAN *Ompok hypophthalmus* (Bleeker, 1846)
DARI SUNGAI KAMPAR PROVINSI RIAU**

Della Rinarta, Roza Elvyra, Dewi Indriyani Roslim

**Mahasiswa Program S1 Biologi
Bidang Zoologi Genetika Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia
*della.rinarta@yahoo.com***

ABSTRACT

Total DNA molecule and fragment of the mitochondrial *D-loop* region is needed to determine the nucleotides sequence of mitochondrial *D-loop* region from *lais danau* fish (*Ompok hypophthalmus*). Therefore, this study aimed to isolate and amplify mitochondrial *D-loop* region that can be used as genetic information resources of *O. hypophthalmus*. The samples of *O. hypophthalmus* were taken from flood plain river in Riau, Kampar River. Tail muscle of *O. hypophthalmus* was used for DNA isolation. DNA molecules were amplified using PCR machine with L15926 and H00651 primers. The total DNA of *O. hypophthalmus* was obtained in this study. The amplification process produced 153 bp fragment mitochondrial *D-loop* region of *O. hypophthalmus*.

Keywords: *D-loop*, Kampar river, *Ompok hypophthalmus*.

ABSTRAK

Molekul DNA total dan fragmen *D-loop* mitokondrial diperlukan untuk menentukan urutan nukleotida fragmen *D-loop* mitokondrial ikan *lais danau Ompok hypophthalmus*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi DNA dan mengamplifikasi fragmen *D-loop* mitokondrial yang dapat dijadikan sebagai sumber informasi genetik *O. hypophthalmus*. Sampel *O. hypophthalmus* yang diambil berasal dari sungai paparan banjir Riau, yakni Sungai Kampar. Otot bagian ekor dari *O. hypophthalmus* kemudian digunakan untuk isolasi DNA. Molekul DNA kemudian diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer L15926 dan H00651. Hasil penelitian menunjukkan DNA total sudah berhasil diperoleh. Proses amplifikasi menghasilkan fragmen *D-loop* mitokondrial ikan *O. hypophthalmus* berukuran 153 pb.

Kata kunci: *D-Loop*, *Ompok hypophthalmus*, Sungai Kampar.

PENDAHULUAN

Salah satu ciri khas sungai yang ada di provinsi Riau adalah adanya sungai paparan banjir (Elvyra 2009). Salah satu sungai paparan banjir yang ada di Provinsi Riau adalah Sungai Kampar. Adanya kekhasan dalam habitatnya, membuat beberapa jenis ikan yang dapat hidup dan bertahan di sungai ini memiliki keistimewaan karena hanya dapat ditemukan di sungai paparan banjir. Salah satu jenis ikan pada sungai paparan banjir dikenal oleh masyarakat Riau sebagai ikan lais danau (*Ompok hypophthalmus*). Meskipun ikan ini memiliki nilai komersil yang tinggi (Pulungan *et al.* 1985), data mengenai genom inti dan mitokondrialnya sangatlah terbatas. Mengingat potensinya yang tinggi, maka perlu dilakukan eksplorasi informasi genetik yang mendalam mengenai ikan ini guna menunjang usaha konservasi dan perlindungan sumber daya genetik fauna paparan banjir ini.

Pesatnya kemajuan teknologi saat ini semakin meningkatkan perkembangan teknik molekuler yang dapat digunakan guna memperoleh informasi genetik. Data yang ada di *GenBank* (2004), hanya memiliki informasi genetik mengenai gen sitokrom b utuh ikan lais dari jenis *Kryptopterus minor*. Data lengkap mengenai informasi genetik ikan lais dari spesies lain belum banyak tersedia saat ini. Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi dan amplifikasi fragmen *D-loop* mitokondrial untuk memperoleh fragmen *D-loop* yang dapat dijadikan sebagai sumber informasi genetik *O.hypophthalmus*.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kit isolasi dan purifikasi DNA Dneasy *Blood and Tissue Kit* dari Qiagen, tabung mikro, tip mikro, *waterbath*, mesin sentrifus, mesin vorteks, mesin PCR, mesin elektroforesis horizontal, *UV transluminator*, serta mesin pengurutan DNA.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan *O. hypophthalmus*, PCR Kit TopTaq PCR dari Qiagen, Primer L15926 (5'TCA AAG CTT ACA CCA GTC TTG TAA ACC3') dan Primer H00651(5'TAA CTG CAG AAG GCT AGG ACC AAA CCT3'), buffer TBE, Buffer TE, *Loading Dye*, *DNA Ladder*, etidium bromida, dan agarose.

b. Isolasi dan Purifikasi DNA Total *O. hypophthalmus*

Proses isolasi dan purifikasi dilakukan dengan menggunakan Kit isolasi dan purifikasi DNA Dneasy *Blood and Tissue Kit* dari Qiagen. Proses diawali dengan pencacahan sampel otot ikan *O. hypophthalmus*, kemudian sampel ditambahkan 180 µl Buffer ATL, 20 µl Proteinase K, 200 µl etanol absolut untuk melisis sel. Selanjutnya sampel mengalami proses *washing* dengan menambahkan 500 µl Buffer AW 1 dan 500 µl Buffer AW 2. Tahap selanjutnya adalah proses elusi untuk memperoleh DNA total sebagai stok dengan cara menambahkan 200 µl Buffer AE kedalam sampel. Stok DNA

total yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu 4°C.

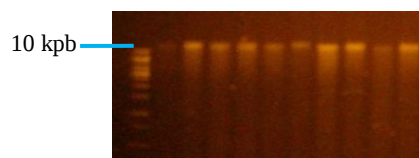
c. Amplifikasi Fragmen D-loop Mitokondrial dengan Teknik PCR

Molekul DNA total *O. hypophthalmus* dibutuhkan sebagai cetakan pada proses PCR. Proses PCR dilakukan dengan menggunakan PCR Kit TopTaq PCR dari Qiagen, primer L15926 dan primer H00651 dengan kondisi PCR menurut Elvyra dan Duryadi (2007) dengan beberapa modifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Molekul DNA Total *O. hypophthalmus*

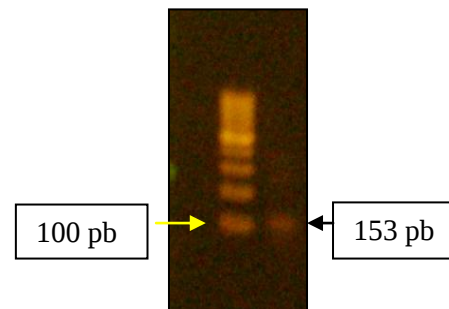
Molekul DNA total diperoleh dari hasil isolasi dan purifikasi DNA *O. hypophthalmus* yang berasal dari sungai paparan banjir Riau yaitu Sungai Kampar. Sepuluh DNA total *O. hypophthalmus* yang berasal dari Sungai Kampar dipilih untuk dijadikan cetakan untuk proses amplifikasi fragmen *D-loop* DNA mitokondria. Berdasarkan hasil elektroforesis, DNA total sampel ikan yang berasal dari Sungai Kampar memiliki kondisi pita DNA yang tebal (Gambar 1).



Gambar 1. Profil DNA total *Ompok hypophthalmus* dari Sungai Kampar menggunakan gel agarose 1%

b. Fragmen D-loop Mitokondrial *O. hypophthalmus*

Proses PCR dilakukan untuk mengamplifikasi fragmen *D-loop* dari DNA mitokondria *O. hypophthalmus*. Proses amplifikasi menghasilkan fragmen *D-loop* berukuran 153 pb. Profil DNA hasil amplifikasi disajikan pada Gambar 2.



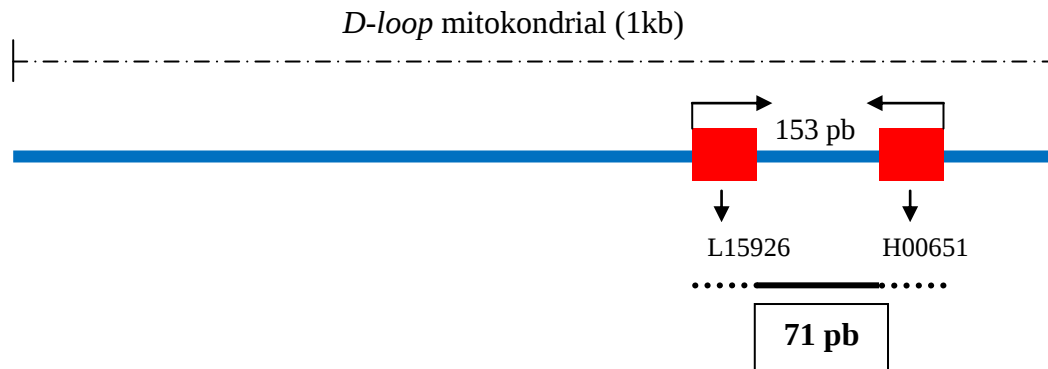
Gambar 2. Profil DNA ikan *Ompok hypophthalmus* dari Sungai Kampar hasil amplifikasi menggunakan primer L15926 dan H00651 pada gel agarose 1%.

Jumlah fragmen *D-loop* yang diperoleh jauh lebih pendek bila dibandingkan dengan hasil penelitian Kocher *et al.* (1989) yang menyatakan bahwa panjang fragmen *D-loop* yang dihasilkan setelah proses amplifikasi menggunakan Primer L15926 dan H00651 adalah sekitar 1 kb pada sebagian besar mamalia dan ikan. Menurut Kocher *et al.* (1989), primer L15926 akan menempel di daerah terkonservasi pada gen Cytochrome b dan primer H00651 akan menempel di daerah terkonservasi pada fragmen *D-loop* sehingga total fragmen hasil amplifikasi yang dihasilkan akan

berukuran sekitar 1 kb. Skema penempelan pasangan primer L15926 dan H00651 disajikan pada Gambar 3.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DIKTI DP2M yang telah



Gambar 3. Skema penempelan posisi primer L15926 dan H00651 pada framen *D-loop* mitokondrial *Ompok hypophthalmus* (153 pb). Urutan hasil pensejajaran berganda (71 pb).

Minimnya ukuran fragmen *D-loop* yang telah teramplifikasi bisa saja diakibatkan karena jumlah DNA mitokondria yang ada pada DNA total sangat sedikit atau bila ada, telah mengalami fragmentasi sehingga tidak utuh lagi. Hal ini terkait dengan proses isolasi DNA, karena meskipun hasil uji keutuhan DNA total dengan menggunakan mesin elektroforesis telah menunjukkan pita yang tebal, DNA mitokondria yang terkandung dalam DNA total tersebut belum tentu banyak dan utuh karena DNA total tidak hanya mengandung DNA mitokondria saja tetapi juga DNA inti.

KESIMPULAN

Molekul DNA total *O. hypophthalmus* sudah berhasil diperoleh. Proses amplifikasi menghasilkan fragmen *D-loop* mitokondrial ikan *O. hypophthalmus* berukuran 153 pb.

membiayai penelitian ini melalui Hibah Kompetensi tahun anggaran 2013-2014 a/n Dr. Roza Elvyra, M.Si dan Dr. Dewi Indriyani Rolim, M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

- Elvyra R, Duryadi D. 2007. Kajian penanda genetik gen sitokrom b DNA mitokondria ikan lais dari sungai Kampar Riau. *J Natur Ind* 10:6-12.
- Elvyra R. 2009. Kajian keragaman genetic dan biologi reproduksi ikan lais di sungai Kampar Kiri Riau [disertasi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- GenBank. 2004. *Kryptopterus minor* cytochrome b (cyt b) gene, complete cd; and tRNA-Pro gene, partial sequence; mitochondrial. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucco>

re/AY458895.1. [Diakses pada 4 Oktober 2013]

Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Paabo S. 1989. Dynamics evolution of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad USA* 86.

Pulungan CP, Ahmad , Siregar YI, Ma'amoen A, Alawi H. 1985. Morfometrik ikan lais Siluroidea dari perairan kecamatan Kampar Kiri kabupaten Kampar Riau. Pekanbaru: Pusat Penelitian Universitas Riau.