

KAJIAN GENETIKA KETAM KENARI (*Birgus latro*) DI KABUPATEN HALMAHERA BARAT DAN PULAU TERNATE, PROVINSI MALUKU UTARA

Rugaya H. Serosero¹, Suryani², Rina¹

¹Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Khairun. Ternate

²Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Khairun. Ternate

email : Algaternate@gmail.com

ABSTRAK

Maluku Utara merupakan salah satu wilayah distribusi ketam kenari (*Birgus latro*) di Indonesia. Keberadaannya tidak pada semua daerah di Maluku Utara namun hanya pada beberapa daerah tertentu. Penelitian tentang ketam kenari di Maluku Utara masih jarang dilakukan. Beberapa tahun terakhir ini baru dilakukan penelitian di Kabupaten Halmahera Tengah khususnya di Pulau-Pulau Patani, Yoi, oleh beberapa peneliti namun keberadaan ketam kenari di daerah lainnya di Maluku Utara belum diteliti dan dikaji secara detil. Ketam kenari merupakan salah satu sumberdaya perikanan yang tergolong langka dan dilindungi serta tergolong sebagai sumberdaya yang kekurangan data. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengungkapkan informasi tentang ketam kenari di Maluku Utara khususnya di Kabupaten Halmahera Barat dan Pulau Ternate yang meliputi kajian ekologi dan biologi serta genetiknya sehingga dapat dijadikan sebagai informasi dalam kegiatan domestikasinya.

Hasil kajian di lokasi studi terlihat bahwa ketam kenari sebagai salah satu sumberdaya yang dilindungi memiliki potensi yang cukup besar di Desa Idamdehe Kabupaten Halmahera Barat dan Kelurahan Takome Pulau Ternate Provinsi Maluku Utara. Secara ekologi, karakteristik habitat di kedua lokasi berbeda tetapi memiliki vegetasi yang sama. Pengamatan parameter biologi yaitu tingkah laku makan dengan kamera CCTV menunjukkan bahwa ketam kenari lebih menyukai kelapa disbanding makanan lainnya namun makanan yang lain tetap dimakan meskipun jumlahnya tidak banyak. Hasil pengamatan juga terlihat bahwa aktivitas ketam kenari aktif di atas jam 18.00 sedangkan di siang hari ketam terlihat beristirahat. Berdasarkan pengamatan isi lambung terlihat bahwa kelapa memiliki frekuensi kejadian 100%. Kelangsungan hidup ketam kenari selama pengamatan adalah 100%. Berdasarkan hasil analisis matriks jarak dan konstruksi pohon filogenetik terlihat bahwa kepiting kelapa antara Desa Idamdehe Kecamatan Jailolo Kabupaten Halmahera Barat dan Desa Takome Pulau Ternate memiliki hubungan kekerabatan yang erat di dalam spesies yang sama.

Kata kunci: Ketam kenari, ekologi, biologi, genetika, Idamdehe, Takome

PENDAHULUAN

Ketam kenari (*Birgus latro* L.) adalah salah satu sumberdaya perikanan yang paling mampu beradaptasi dengan lingkungan daratan, karena mampu bernapas di udara terbuka dengan alat pernapasan tambahan. Distribusi ketam kenari di Indonesia sangat terbatas dan hanya ditemukan di beberapa daerah di Indonesia bagian timur yaitu di Sulawesi, Irian Jaya, Nusa Tenggara, Maluku dan Maluku Utara.

Potensi ketam kenari di alam terus mengalami penurunan disebabkan oleh penangkapan yang berlebihan untuk dikonsumsi dan pembukaan hutan pesisir untuk berbagai kepentingan. Pembukaan hutan mengakibatkan sumber makanan alami di habitatnya berkurang. Rondo dan

Limbong (1990) berpendapat bahwa dengan kurangnya rekrutmen generasi baru dalam struktur populasi, dikuatirkan ketam kenari akan punah dalam waktu yang tidak terlalu lama. Menurut International Union For Conservation of The Nature (IUCN), ketam kenari dikategorikan sebagai spesies yang kekurangan data dan terancam punah. Di Indonesia, ketam kenari dilindungi oleh pemerintah melalui surat keputusan Menteri Kehutanan dengan nomor 12/KPTS-II/Um/1987.

Maluku Utara merupakan salah satu daerah penyebaran ketam kenari di Indonesia. Namun demikian informasi tentang ekologi ketam kenari masih sangat kurang, beberapa penelitian sebelumnya masih terpusat di kabupaten Halmahera Tengah yaitu Sulistiono, *dkk*, (2008) tentang kajian awal penangkaran ketam kelapa (*Birgus latro*) dan Abubakar (2009) tentang studi biologi reproduksi sebagai dasar pengelolaan ketam kelapa (*Birgus latro*) di Pulau Yoi Kecamatan Pulau Gebe, Maluku Utara. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan informasi tentang karakteristik habitat ketam kenari di Kabupaten Halmahera Barat dan Pulau Ternate, Provinsi Maluku Utara. Umumnya populasi ditentukan oleh stok yang berbeda yang dicirikan oleh perbedaan morfologi, habitat dan daur hidup baik inter maupun intra populasi. Koefisien perbedaan yang tinggi dari karakter morfometrik menunjukkan variasi antara individu di dalam populasi yang sama (Suwardi, 2007). Keanekaragaman genetik dapat terjadi karena adanya perubahan nukleotida penyusun DNA. Perubahan ini mungkin dapat mempengaruhi fenotipe suatu organisme yang dapat dipantau dengan mata telanjang atau mempengaruhi reaksi individu terhadap lingkungan tertentu.

Secara umum keanekaragaman genetik dari suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi, atau migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain. Keragaman genetik turut menentukan keberhasilan konservasi populasi. Oleh karena itu, kajian ini dilakukan untuk mengungkapkan keragaman genetic antara dua lokasi yaitu Pulau Ternate dan Jailolo, Kabupaten Halmahera Barat.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Sampel ketam kenari diperoleh dari hasil tangkapan nelayan di Desa Idamdehe Kecamatan Jailolo Kabupaten Halmahera Barat dan Takome di Pulau Ternate Provinsi Maluku Utara. Analisis genetika ketam kenari dilakukan di laboratorium biomelekuler aquatik Departemen MSP IPB. Waktu pengambilan sampel penelitian pada bulan Mei-Juni 2014 dan analisis genetika dilaksanakan pada bulan Juni sampai selesai.

Metode Pengambilan Data

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif yaitu metode penelitian yang berusaha menggambarkan dan menginterpretasi objek sesuai dengan apa adanya (Best, 1982). Objek dalam penelitian ini adalah ketam kenari (*Birgus latro*) dan variable yang diamati adalah genetika *B. latro* dari dua lokasi yang berbeda. Metode penentuan genetika kepiting kelapa dengan tahapan berikut :

Isolasi dan Ekstraksi DNA

Isolasi dan ekstraksi DNA menggunakan kit komersial Gene Aid. Sampel jaringan yang digunakan sebagai sumber DNA adalah daging ketam kelapa pada bagian capit. Proses pencucian alkohol pengawet dilakukan dengan cara merendam sekitar 60 mg potongan jaringan otot dalam aquades steril yang divortex dan dilakukan proses pengulangan sebanyak tujuh kali. Selanjutnya prosedur ekstraksi ini mengikuti manual kit Gene Aid hingga didapatkan DNA yang telah berhasil diekstraksi.

Amplifikasi mtDNA dengan PCR

DNA yang telah diisolasi diamplifikasi dengan analisis PCR. Reaksi PCR dilakukan dengan mencampurkan beberapa perangkat komersil yang siap pakai yaitu PCR bead (Taq Polymerase, dNTP dan buffer Mg²⁺) primer dan penambahan air milipore untuk mendapatkan volume dan konsentrasi yang diinginkan. Komposisi bahan yang digunakan adalah air 4,5 µl, Tag (PCR kit) 12,5 µl, Primer Forward 1,5 µl dan primer reverse 1,5 µl dan DNA murni 5 µl. Primer yang digunakan mengidentifikasi sel ketam kenari adalah primer yang digunakan oleh Simon *et al* (1994). Primer 18S rRNA terdiri dari sepasang primer yaitu forward primer (5'-CTGGTTGATCCTGCCAGT-3') dan reverse primer (5'-TAATGATCCTCCGCAGGTT -3'). PCR dengan primer 18S rRNA dengan suhu 94°C selama 5 menit untuk denaturasi awal, selanjutnya denaturasi selama 30 detik pada 94°C, annealing primer 45 detik pada suhu 50°C, selanjutnya 2 menit 30 detik pada suhu 72°C untuk elongasi, ketiga tahap terakhir dilakukan sebanyak 35 kali siklus. Dilanjutkan pada tahap elongasi akhir selama 5 menit pada 72°C. Hasil dari amplifikasi tersebut kemudian dipisahkan menggunakan elektroforesis gel agarose dan divisualisasi dengan menggunakan sinar UV.

Sekuensing hasil PCR ketam kenari

Sampel hasil PCR ketam kenari dikirim ke PT genetika sains, Jakarta. Selanjutnya sampel tersebut dikirim ke jasa sekuensing yaitu first Base-Asia di Malaysia untuk dilakukan sekuensing. Semua urutan basa nukleotida yang diperoleh akan dicocokkan di Gen Bank.

Teknik Analisis Data

Analisis data menggunakan perangkat lunak Mega versi 5.05 (Tamura *et al.* 2011).

HASIL PENELITIAN**Sekuensing DNA dan Pensejajaran Sekuen Nukleotida Gen 18S rRNA**

Sekuen nukleotida gen diunggah pada BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool-nucleotide*) di situs NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) untuk memastikan kebenarannya dan mengetahui kedekatannya dengan spesies lain. Hasil BLASTn pada situs NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) disajikan pada table 1

Tabel 1. Hasil *BLAST-n* pada situs NCBI

No	Kode Sampel	Description	Ident	Accession
1	J2	<i>Birgus latro</i> voucher KC6694 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	KF182470.1
2	J3	<i>Birgus latro</i> voucher KC6694 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	99%	KF182470.1
3	T3	<i>Birgus latro</i> voucher KC6694 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	KF182470.1

Sampel *Birgus latro* dengan kode sampel J2, J3, dan T1 memiliki kedekatan dengan *Birgus latro* (*GenBank*: KF182470.1) sebesar 99-100%. Sampel *Birgus latro* dengan kode sampel J3 memiliki kedekatan dengan *Birgus latro* (*GenBank*: KF182470.1) sebesar 99%. Sampel *Birgus latro* dengan kode sampel J2 dan T3 memiliki kedekatan dengan *Birgus latro*

(GenBank: KF182470.1) sebesar 100%. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel dengankode J2, J3, dan T3 merupakan spesies *Birgus latro* (GenBank: KF182470.1) yang merupakan hasil penelitian dari Bracken-Grissom *et al.* (2013).

Identifikasi molekuler dari *Birgus latro* dengan menggunakan sekuen gen 18S rRNA telah dipastikan kebenaran dan kedekatannya dengan spesies lain berdasarkan pengunggahan pada BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool-nucleotide*) pada situs NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Tiga sampel *Birgus latro* memiliki kedekatan dengan *Birgus latro* sebesar 99-100%. Perbedaan jarak genetik antara *Birgus latro* dengan spesies lainnya yang diperoleh dari GenBank kurang dari 3% menunjukkan bahwa secara molekuler dipastikan merupakan spesies yang sama dengan spesies yang ada di GenBank (Herbert *et al.* 2003). Hasil yang didapatkan menunjukkan kedekatan yang sangat tinggi yaitu sebesar 99-100%, sehingga dapat dipastikan kebenarannya bahwa terdapat 1 spesies yaitu *Birgus latro*.

Komposisi urutan basa nukleotida gen 18S rRNA dari tiga sampel *Birgus latro* dianalisis menggunakan software MEGA 5.02. Persentase tiap jenis basa nukleotida (adenin, timin, sitosin, guanin) yang menyusun gen 18S rRNA dari tiga sampel dapat diketahui. Komposisi rata-rata basa nukleotida gen 18S rRNA terdiri dari 26,9% basa timin (T), 24,4% basa sitosin (C), 22,0% basa adenin (A), dan 26,8% basa guanin (G). Berdasarkan komposisi basa nukleotida, basa nukleotida *Birgus latro* didominasi oleh ikatan basa sitosin (C) dan basa guanin (G) sehingga gen 18S rRNA dikategorikan sebagai kelompok kaya G-C (*G-C rich*). Ikatan hidrogen G-C yang memiliki 3 ikatan hydrogen yang bersifat lebih kuat dibandingkan dengan ikatan hidrogen A-T yang terdiri dari 2 ikatan hydrogen (Jusuf 2001). Komposisi basa nukleotida kedua spesies tersebut menunjukkan bahwa ikatan tersebut sulit terpisah sehingga kemungkinan terjadinya mutasi pada kedua spesies lebih rendah. Pensejajaran sekuen nukleotida gen 18S rRNA *Birgus latro* antara 3 sampel tersebut menghasilkan nilai *conserved*, *variabel*, dan *singleton*, masing-masing sebesar 42,16% (242/574), 43,90% (252/574), dan 43,90% (252/574). Pensejajaran sekuen nukleotida gen 18S rRNA dengan spesies lain dari GenBank menghasilkan nilai *conserved*, *variabel*, dan *singleton*, masing-masing sebesar 8,71% (50/574), 89,02% (511/574), dan 36,41% (209/574). Nilai variabel menunjukkan bahwa terdapat variasi basa nukleotida antara *Birgus latro* dengan spesies *outgroup* yang merupakan karakteristik pembeda dari masing-masing spesies.

Nukleotida Spesifik Gen 18S rRNA *Birgo latro*

Pensejajaran sekuen nukleotida gen 18S rRNA sampel penelitian ini dengan spesies kepiting konsumsi lain yaitu *Scylla serrata* (AY181979.1) dan *Ranina ranina* (DQ925824.1). Didapatkan situs spesifik antara *ingroup* pada sampel *Birgus latro* dan *outgroup* hasil perbandingan (Lampiran 1 dan Lampiran 2). Situs spesifik tersebut merupakan basa nukleotida spesifik dari *Birgus latro* sebagai penciri yang dapat membedakan dengan spesies lain. Terdapat 252 situs nukleotida yang spesifik dari spesies *Birgus latro* yang menunjukkan adanya evolusi spesifik didalam spesies tersebut. Selain itu terdapat 511 situs nukleotida yang spesifik dari spesies yang menunjukkan adanya evolusi spesifik pada *Birgus latro* terhadap spesies lain.

Analisis Filogeni Gen18S rRNA *Birgus latro*

Jarak genetik fragmen gen 18S rRNA antara *Birgus latro* pada penelitian ini dengan spesies lain dari GenBank, didapatkan jarak genetik dengan spesies lain antara 0,004-0,655 (Tabel 2). Jarak genetik menggambarkan hubungan kekerabatan antar spesies.

Tabel 2. Matriks jarak genetik fragmen gen 18S rRNA pada *Birgus latro* dengan *Scylla serrata*, *Ranina ranina*, *Panulirus argus*, *Coenobita perlatus*, *C. compressus*, *Procambarus clarkii* berdasarkan metode *pairwise distance*

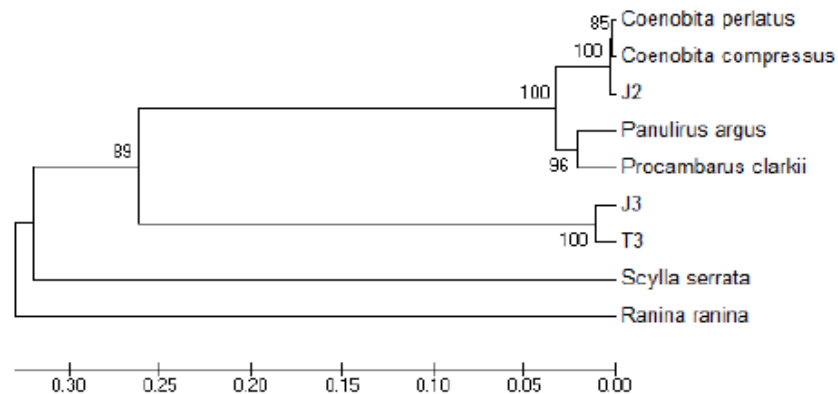
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
T3									
J3	0,021								
J2	0,519	0,521							
<i>Ranina ranina</i>	0,643	0,641	0,655						
<i>Scylla serrata</i>	0,637	0,639	0,637	0,708					
<i>Panulirus argus</i>	0,527	0,529	0,071	0,651	0,641				
<i>Coenobita perlatus</i>	0,517	0,519	0,004	0,655	0,639	0,069			
<i>Coenobita compressus</i>	0,519	0,521	0,006	0,655	0,637	0,071	0,002		
<i>Procambarus clarkii</i>	0,525	0,527	0,057	0,653	0,634	0,042	0,057	0,059	

Keterangan: 1 = T3; 2 = J3; 3 = J2; 4 = *Ranina ranina*; 5 = *Scylla serrata*; 6 = ; 7 = *Panulirus argus*; 8 = *Coenobita compressus* ; 9 = *Procambarus clarkii*;

Analisis Filogeni Gen18S rRNA *Birgus latro*

Jarak genetik fragmen gen 18S rRNA antara *Birgus latro* pada penelitian ini dengan spesies lain dari GenBank, didapatkan jarak genetik dengan spesies lain antara 0,004-0,655 (Tabel 2). Jarak genetik menggambarkan hubungan kekerabatan antar spesies Tabel 2. Matriks jarak genetik fragmen gen 18S rRNA pada *Birgus latro* dengan *Scylla serrata*, *Ranina ranina*, *Panulirus argus*, *Coenobita perlatus*, *C. compressus*, *Procambarus clarkii* berdasarkan metode *pairwise distance*

Perbandingan antara *B. latro* dengan spesies *outgroup*, didapatkan nilai jarak genetik terendah antara *B. latro* (J2) dengan *Coenobita perlatus* yaitu sebesar 0,004. Jarak genetik tertinggi antara *B. latro* (J2) dengan *Ranina ranina* sebesar 0,655. Data dari matriks jarak genetik digunakan untuk analisis hubungan kekerabatan berdasarkan pohon filogeni. Pohon *Birgus latro*, *Scylla serrata*, *Ranina ranina*, *Panulirus argus*, *Coenobita perlatus*, *C. compressus*, *Procambarus clarkii* dikonstruksi berdasarkan jarak genetik *pairwise distance* dari basa-basa nukleotida 18S rRNA yang menunjukkan hubungan kekerabatan antar spesies (Gambar 3).



Gambar 3. Konstruksi pohon filogeni berdasarkan gen 18S rRNA pada *Birgus latro*, *Scylla serrata*, *Ranina ranina*, *Panulirus argus*, *Coenobita perlatus*, *C. compressus*, dan *Procambarus clarkia*

Intra spesies *Birgus latro* memiliki hubungan yang erat, dimana cabang pohon filogeni tersebut menunjukkan hubungan kekerabatan yang erat di dalam spesies yang sama. Konstruksi pohon filogeni ini menunjukkan bahwa spesies *Birgus latro* terpisah nyata dari spesies *Scylla serrata* dan *Ranina ranina* dengan nilai jarak genetik sebesar 0,655.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis matriks jarak dan konstruksi pohon filogenetik terlihat bahwa kepiting kelapa antara Desa Idam dehe Kecamatan Jailolo Kabupaten Halmahera Barat dan Desa Takome Pulau Ternate memiliki hubungan kekerabatan yang erat di dalam spesies dan kepiting kelapa di kedua lokasi ini merupakan satu populasi.

Daftar Pustaka

- Abubakar Y. 2009. Studi biologi reproduksi sebagai dasar pengelolaan ketam kelapa (*Birgus latro*) di Pulau Yoi Kec. P. Gebe, Maluku Utara. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Best, John W., *Metodologi Penelitian Pendidikan*, disunting oleh Drs. Mulyadi Guntur Waseso dan Drs. Sanafiah Faisal, Usaha Nasional, Surabaya, 1982.
- Bracken-Grissom HD, Cannon ME, Cabezas P, Feldmann RM, Schweitzer CE, Ahyong ST, Felder DL, Lemaitre RL, Crandall KA. 2013. A comprehensive and integrative reconstruction of evolutionary history for Anomura (Crustacea: Decapoda). *BMC Evolutionary Biology*. 13:128
- Hebert PDN, Ratnasingham S, De Waard JR. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc R Soc*. 270:96– 99.
- International Union Conservation Nature. 1996. Red list of threatened animals. Gland Switzerland
- Jusuf M. 2001. *Genetika I: Struktur dan Ekspresi Gen*. Jakarta (ID): Sagung Seto.