



Keragaman genetik simbion alga Zooxanthellae pada anemone laut *Stichodactyla gigantea* (Forsskal 1775) hasil reproduksi aseksual

M. AHSIN RIFA'I

Rifa'i MA. 2012. *Genetic diversity of alga Zooxanthellae symbiont in the giant carpet anemone (Stichodactyla gigantea, Forsskal 1775) from asexual reproduction. Bioteknologi 9: 49-56.* The aim of the study was to discover the genetic diversity of the algae symbiont of zooxanthellae that have the symbiosis with the giant carpet anemone (*Stichodactyla gigantea*, Forskal 1775) which is resulted from asexual reproduction with the technique of fragmentation. The study was conducted for ten months, from October 2011 to July 2012 in The Hatchery of University of Hasanuddin's Marine Station in Barrang Lompo Island and coral reefs area of Barrang Lompo Island. The series of study was started with parental collection and acclimatization of anemones, fragmentation of the body, culturing anemones in the coral reefs area and collection of algae zooxanthellae for PCR-ISSR analysis. Genetic diversity was analyzed using cluster analysis and making a family tree dendrogram using UPGMA method through NTSYS program. The result showed that all primer produce polymorphic bands with a range of 16.67%-66.67%. The results of the genetic variation of zooxanthellae indicate that polymorphism by 37.93%. Whereas, based on the analysis of genetic distance indicate was not similar by 19% from two groups of the primary anemones, that were result of four-fragmentation anemones (AF4) compared to natural anemones (AA) and two-fragmentation anemones (AF2).

Alamat korespondensi:

Program Studi Ilmu Kelautan
Fakultas Perikanan dan Ilmu
Kelautan, Universitas Lambung
Mangkurat.
Jl. A. Yani Km 36 Banjarbaru 70713
Tel. +62-511-4772124.
email: muh_ahsin@yahoo.com

Manuskrip diterima: 7 Oktober 2012.
Revisi disetujui: 1 November 2012.

Keywords: sea anemone, asexual reproduction, genetic diversity, and *Stichodactyla gigantea*.

Rifa'i MA. 2012. *Keragaman genetik simbion alga Zooxanthellae pada anemone laut Stichodactyla gigantea (Forsskal 1775) hasil reproduksi aseksual. Bioteknologi 9: 49-56.* Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik simbion alga zooxanthellae yang bersimbiosis dengan anemon laut *Stichodactyla gigantea* hasil reproduksi aseksual dengan teknik fragmentasi. Penelitian dilaksanakan selama 10 bulan, mulai Oktober 2011 - Juli 2012, bertempat di kolam pembibitan Universitas Hasanuddin di Pulau Barrang Lompo dan kawasan terumbu karang Pulau Barrang Lompo. Rangkaian penelitian meliputi koleksi induk anemon laut, aklimatisasi, fragmentasi tubuh, dan kultur anemon di kawasan terumbu karang, serta koleksi alga zooxanthellae untuk analisis PCR-ISSR. Keragaman genetik dianalisis menggunakan analisis pengelompokan data matriks (cluster analysis) dan pembuatan dendrogram pohon kekerabatan menggunakan metode UPGMA melalui program NTSYS. Hasilnya menunjukkan bahwa seluruh primer menghasilkan pita polimorfis antara 16,67%-66,67%. Hasil analisis variasi genetik terhadap zooxanthellae yang ditemukan pada anemon uji menunjukkan polimorfisme sebesar 37,93%. Sedangkan berdasarkan analisis jarak genetik ditemukan tingkat ketidakmiripan sebesar 19% yang bersumber dari 2 kelompok anemon utama yaitu kelompok anemon hasil fragmentasi 4 bagian (AF4) yang terpisah dengan kelompok anemon alami (AA) dan anemon hasil fragmentasi 2 bagian (AF2).

Kata kunci: anemon laut, reproduksi aseksual, keragaman genetik, dan *Stichodactyla gigantea*.

PENDAHULUAN

Zooxanthellae adalah alga uniseluler yang ditemukan melimpah dalam sel-sel endodermis cnidaria tropis seperti anemon laut, karang, dan ubur-ubur sebagai simbiosis intraseluler. Alga ini memiliki kemampuan untuk mentranslokasi produk fotosintesis ke inangnya dan pada gilirannya mereka menerima nutrisi anorganik seperti CO₂ dan NH⁺ (Rinkevick 1989; Muscatine dan Wels 1992; Fautin dan Allen 1997; Randall and Fautin 2002). Translokasi karbon merupakan sumber energi utama untuk inang (Streamer et al. 1993) dan selanjutnya digunakan untuk membentuk glukosa, gliserol, asam amino dan lemak (Muscatine et al. 1981; Muscatine et al. 1984; Sutton dan Hoegh-Guldberg 1990). Alga zooxanthellae inilah yang diduga memberikan kontribusi terhadap *fitness* inang-inangnya dan memberikan kontribusi berupa produktivitas primer terhadap komunitas disekitarnya.

Mengantisipasi penurunan populasi anemon laut akibat tingginya intensitas penangkapan di alam, telah dikembangkan teknologi perbanyak benih secara aseksual dengan teknik fragmentasi terhadap anemon laut *Stichodactyla gigantea* (Rifa'i dan Kudsiyah 2007, 2011). Teknik ini mampu menghasilkan benih-benih anemon dengan cepat dan sintasan yang tinggi ketika dipelihara di perairan alam. Hanya saja efek fragmentasi tubuh yang menyebabkan stress masih memerlukan kajian yang lebih mendalam. Kajian stress ini menjadi penting mengingat terkait langsung dengan kehadiran simbiosis alga zooxanthellae. Menurut Steen dan Muscatine (1987), berbagai perubahan kondisi lingkungan menyebabkan inang stress dan berpotensi terjadi kehilangan simbiosis alga zooxanthellae. Stress dapat mengakibatkan warna tubuh anemon mengalami keputihan yang dikenal dengan istilah "*bleaching*". *Bleaching* disebabkan adanya reduksi densitas populasi zooxanthellae (Hoegh-Guldberg dan Smith 1989a,b; Suharsono 1990), reduksi pigmen-pigmen fotosintesis (Coles dan Jokiel 1977), atau kombinasi keduanya (Glynn dan D'Croz 1990; Lesser et al. 1990). Ruiz-Zarate et al. (2000) melaporkan bahwa reduksi alga zooxanthellae terjadi pada koloni karang *Manicina areolata* yang mengalami stress akibat dipindahkan ke area dengan densitas lamun *Thalassia testudinum* yang tinggi.

Pengembangan teknologi pembenihan anemon harus didukung pula oleh manajemen pengelolaan yang benar agar dapat sesegera

mungkin menanggulangi permasalahan yang mungkin timbul. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah monitoring dan evaluasi terhadap variasi genetik atau polimorfisme pada tingkat pengguna. Menurut Ferguson et al. (1995), polimorfisme merupakan informasi penting yang dapat digunakan untuk mengevaluasi fitness individu dalam jangka pendek dan sintasan dari populasi untuk jangka panjang. ISSR merupakan marker yang berkembang lebih akhir dibanding RAPD dan RFLP yang dapat digunakan untuk mempelajari polimorfisme pada tanaman ataupun hewan. ISSR/SSRs dikenal juga dengan istilah microsatellite yaitu berupa pengulangan mono, di, atau trinucleotida yang biasanya terdiri atas 4-10 unit pengulangan, membentang pada utas DNA. Susunan basa yang demikian merupakan karakteristik dari nukleus genom dan bervariasi antar spesies atau populasi. Pada ISSR pendeteksian genetik polimorfisme tanpa perlu lebih dahulu mengetahui susunan basa (*sequence*) dari genomik tanaman atau hewan diantara susunan basa yang berulang, asal susunan basa berulang tersebut mewakili secara luas dan menyebar di seluruh genom.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek fragmentasi tubuh anemon *Stichodactyla gigantea* (Foskal 1775) terhadap keragaman genetik simbiosis alga zooxanthellae yang dipelihara pada kawasan terumbu karang. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengembangan teknologi pembenihan anemon laut untuk kepentingan konservasi dan budidaya komersial.

BAHAN DAN METODE

Koleksi dan pemeliharaan inang

Inang yang digunakan dalam penelitian ini adalah anemon laut *Stichodactyla gigantea* (Foskal, 1775) (Gambar 1) yang dikumpulkan selama bulan Juli-September 2011 di sekitar kawasan terumbu karang beberapa pulau, seperti Pulau Barrang Lompo, Barrang Caddi, Bone Tambung, Bone Batang, dan Kodengareng Keke (Gambar 2). Anemon uji dibawa ke mini hetchary untuk diaklimatisasi dalam akuarium-akuarium kaca berkapasitas 500 liter air selama 1 minggu sebelum dilakukan proses reproduksi aseksual. Selama proses aklimatisasi ini air akuarium diberi aerase dan anemon diberi pakan tambahan berupa naupli *Artemia* dan *Tetraselmis* sp.



Gambar 1. Anemon laut *Stichodactyla gigantea* (Forsskal 1775)

Fragmentasi tubuh anemon

Setelah anemon nampak sehat maka dilakukan proses reproduksi aseksual dengan teknik fragmentasi. Teknik fragmentasi tubuh dilakukan dengan membelah tubuh anemon uji secara longitudinal menjadi 2 dan 4 fragment

Kultur anemon di perairan alam

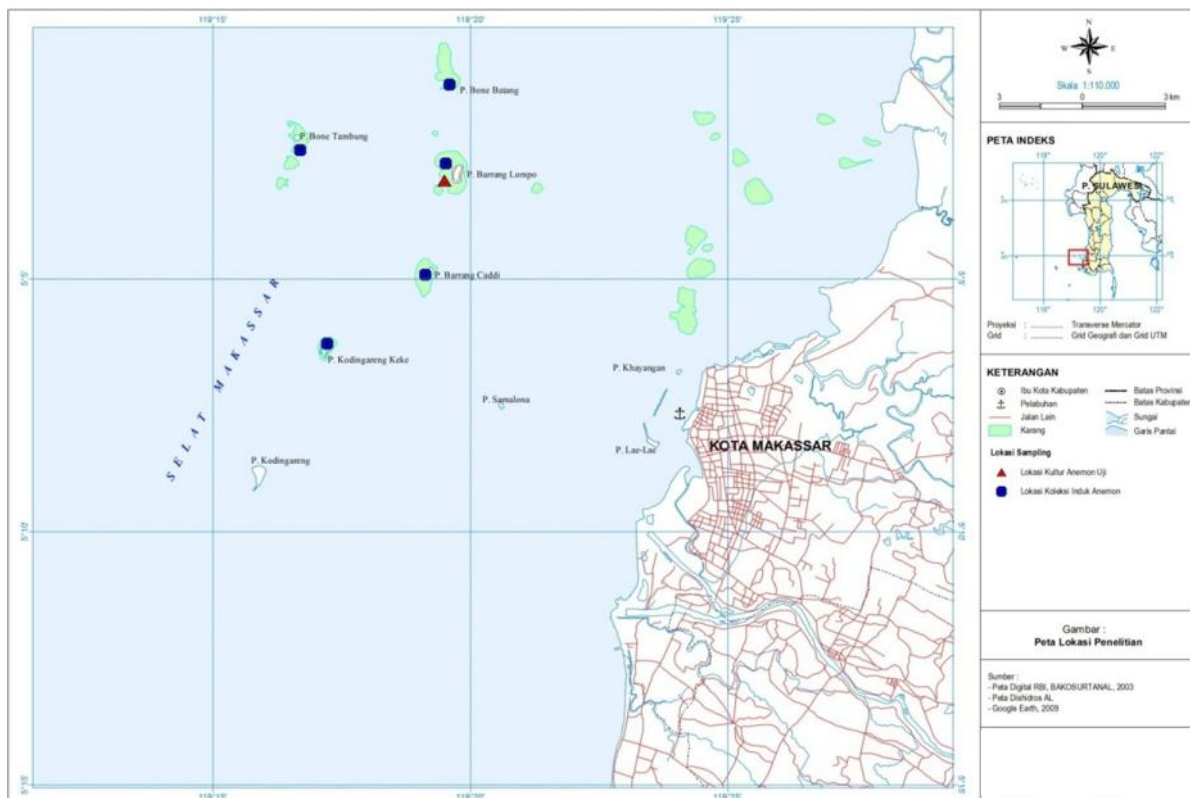
Fragmen-fragmen tubuh yang dihasilkan, kemudian dimasukkan dalam kurungan dasar dengan kepadatan 30 ekor. Kurungan berukuran 3x2x0,75 m dengan desain terbuka pada bagian atas. sedangkan pada bagian dasar diletakkan

pecahan karang mati secara merata. Penempatan pecahan karang mati dimaksudkan sebagai substrat untuk melengketkan kaki jalannya setelah anemon uji dimasukkan ke dalam kurungan. Selanjutnya kurungan tersebut ditempatkan pada kawasan turumbu karang *reef flat* yang dominan rusak (KR) dan kawasan turumbu karang *slope* yang dominan baik (KB). Kedalaman lokasi KR berkisar 1-2,5 m dan lokasi KB berkisar 2-5 m.

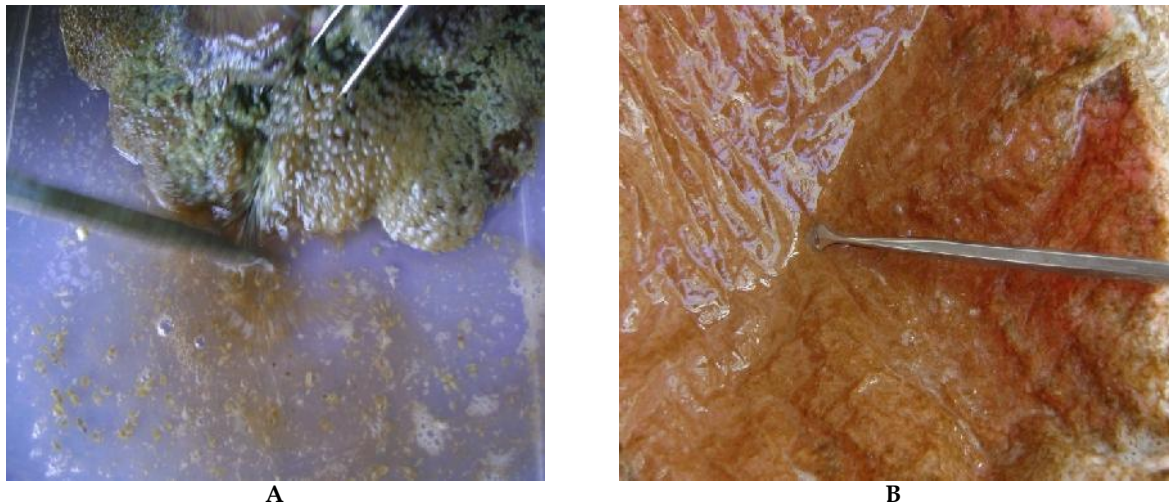
Kriteria pemilihan kawasan turumbu karang dominan rusak (KR) dan kawasan turumbu karang yang dominan baik (KB) berdasarkan nilai persentase tutupan karang hidup menurut UPMSC (1979 dalam Brown and Scofiin 1986), seperti pada Tabel 1. Lama pemeliharaan anemon ini diperairan alam adalah 10 bulan, yaitu mulai bulan Oktober 2011 sampai Juli 2012.

Tabel 1. Kondisi Terumbu Karang Berdasarkan Nilai Persentase Tutupan Karang Hidup

Kondisi terumbu karang	Persentase tutupan karang hidup (%)
Sangat baik	75-100
Baik	50-74,9
Sedang	25-49,9
Buruk	0-24,9



Gambar 2. Lokasi penelitian dan lokasi koleksi induk anemon *Stichodactyla gigantea* (Fosskal 1775)



Gambar 3. A. Pengambilan sampel zooxanthellae pada anemon laut dengan cara dikeruk menggunakan scapel, B. Alga zooxanthellae hasil penyaringan.

Koleksi sampel zooxanthellae

Pengambilan sampel zooxanthellae dilakukan pada bulan ke-10 pemeliharaan (Juli 2012). Sampel zooxanthellae dipisahkan dengan inangnya dengan cara dikeruk menggunakan *scalpel*, selanjutnya disuspensikan dengan air laut bersih. Untuk memisahkan zooxanthellae dengan kotoran maka dilakukan penyaringan bertingkat mulai saringan ukuran 250, 175 dan 50 μm (Gambar 3).

Ekstraksi dan isolasi DNA

Ekstraksi DNA mengikuti prosedur CTAB oleh Doyle and Doyle (1987) dengan beberapa modifikasi dengan metode minipreparation. Setiap sampel dimasukkan ke dalam tabung ependorf 1,5 ml lalu ditambah larutan buffer ekstrak sebanyak 0,5 ml (CTAB 10%, EDTA 0,5 M pH 8,0, Tris-HCL 1 M pH 8,0, NaCl 5 M, Mercaptoethanol 1%, aquades steril) yang sudah dipanaskan pada suhu 65°C dan ditambah 0,02 gram PVPP. Sampel digerus dengan penggerus yang terbuat dari kaca sampai halus dan diinkubasikan selama 1 jam pada suhu 65°C. Setelah diangkat, campuran ditambah 1 ml kloroform isoamil alkohol (24:1) dan dibolak-balik selama 20 menit. Disentrifugasi dengan kecepatan 11000 rpm selama 5 menit dan supernatan (suspensi larutan DNA) dipindah ke tabung baru. Langkah ke 4 diulangi sekali lagi dan ditambah 1 volume isopropanol dingin kemudian disimpan di freezer (suhu -20°C) selama 12 jam. Larutan DNA disentrifugasi dengan kecepatan 11000 rpm selama 5 menit kemudian cairan dibuang, pellet DNA dicuci

dengan 1 ml 70% dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 11.000 rpm selama 5 menit. Cairan di buang, pellet DNA dikeringanginkan selama 2 jam. Pelet dilarutkan dengan 50-100 μl air bebas ion dan disimpan sebagai stok DNA.

Pemurnian DNA

Pemurnian DNA dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: Menghilangkan RNA dengan menambahkan 40 μl RNase 10mg/ml (dalam buffer TE) setelah larutan stok DNA ditambah air bebas ion hingga 500 μl . Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 jam untuk menghilangkan RNA dari preparasi. Ditambah 1 ml kloroform isoamil alkohol (24:1) dan dibolak-balik selama 20 menit. Disentrifugasi dengan kecepatan 11000 rpm selama 5 menit dan supernatan dipindah ke tabung baru. Ditambah 10% NA asetat pH 5,2 dan 1 ml etanol dingin absolut, dibolak-balik perlahan dan disimpan di freezer selama 1 jam. DNA diendapkan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 11000 rpm selama 5 menit. Cairan dibuang dan pellet DNA dikeringanginkan selama 2 jam. Pelet dilarutkan 50-100 dengan air bebas ion.

PCR-ISSR

Untuk mendapatkan data variasi genetik dilakukan analisa PCR- ISSR. Komposisi reaksi PCR terdiri dari 1X larutan penyangga (50mM KCL, 10 mM Tris-HCL pH 9, 0,01% Tripton X-100), 2,5 mM MgCl₂, 200 μM dNTP, 0,4 mM primer, 1 unit Taq polimerase DNA dan 5-20 ng DNA genom dengan volume akhir reaksi 25 μl . Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR

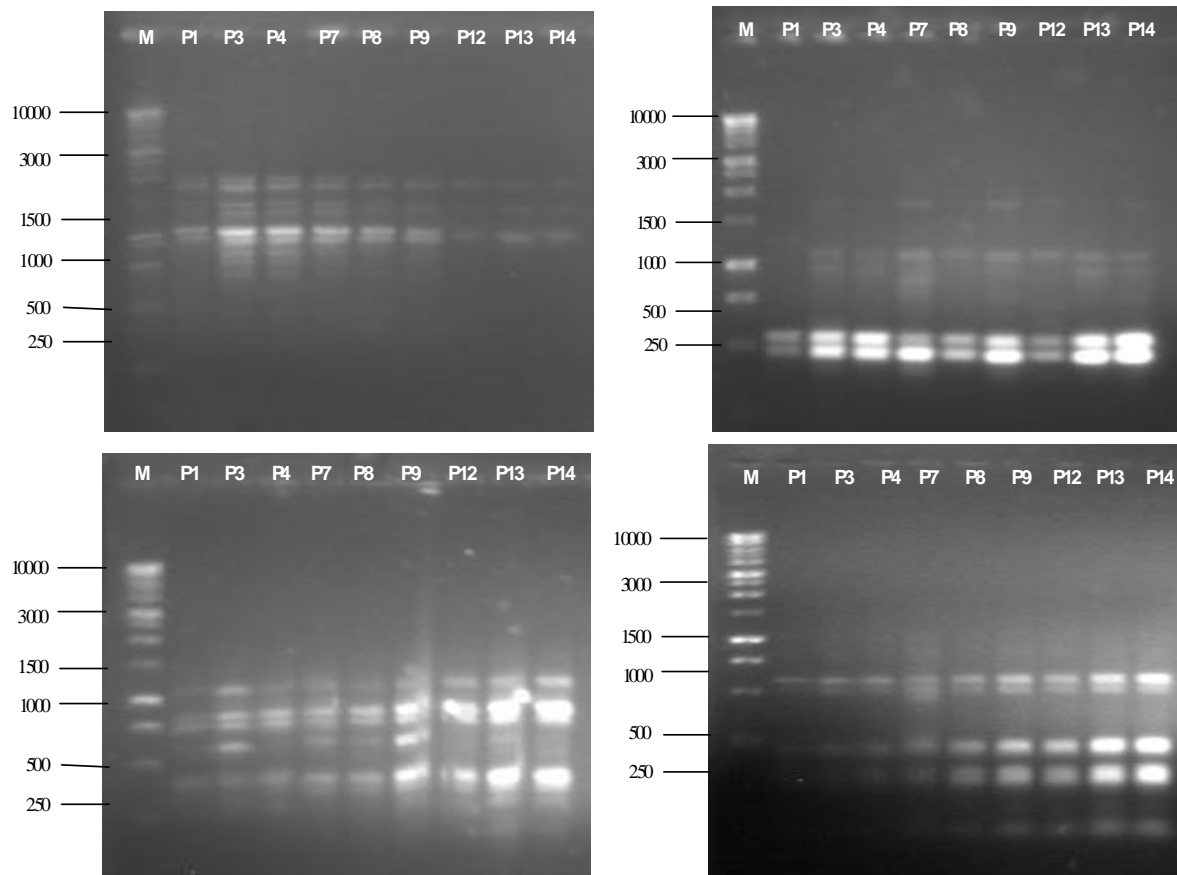
(GeneAmp PCR sistem 2400 Perkin Elmer), sebanyak 35 siklus setelah pra PCR selama 5 menit 94°C. Setiap siklus terdiri dari 30 detik 94°C untuk denaturasi, 30 detik 37°C untuk penempelan primer, 1 menit 72°C untuk pemanjangan fragmen DNA dan selanjutnya ekstensi 5 menit 72°C.

Fragmen DNA hasil amplifikasi dielektroforesis bersama DNA standar 1 KB DNA ladder (promega) pada gel agarose 1.2% dalam larutan. Elektroforesis dilakukan selama 120 menit pada tegangan 60 volt, suhu ruang. Pengamatan pita hasil amplifikasi dilakukan menggunakan alat dokumentasi gel dan direkam. Data yang diperoleh dari teknik ISSR diolah dengan analisis kluster untuk melihat kemiripan genetik semua aksesori (populasi zooxanthellae). Kemunculan pita diterjemahkan menjadi data biner. Setiap pita mewakili satu karakter dan diberi nilai berdasarkan ada tidaknya pita, nilai 1 bila ada pita dan 0 bila tidak ada pita. Pita polimorfik merupakan pita yang tidak dimiliki oleh individu yang lain pada

ukuran yang sama. Data biner yang diperoleh digunakan untuk menyusun matriks kesamaan genetik berdasarkan rumus Nei dan Li (1979). Untuk mengetahui adanya perbedaan variasi genetik zooxanthellae dilakukan analisis nilai kesamaan genetik dari hasil PCR-ISSR dengan melakukan analisis pengelompokan data matriks (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram pohon kekerabatan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Arithmetic Average*) melalui program NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*) versi 2.01 (Rohlf 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Empat primer yang digunakan dalam analisis PCR-ISSR ini yaitu *Primer-2*, *Primer-3*, *Primer-4*, dan *Primer-2-4* (Amersham Pharmacia Biotech Inc). Hasil analisis menunjukkan bahwa ke-4 primer tersebut telah mampu menghasilkan produk amplifikasi, seperti pada Gambar 4.



Gambar 5. Pola fragmen DNA genom zooxanthellae anemon laut yang diamplifikasi dengan *primer-2* (A), *primer-2* (B), *primer-3* (C), *primer-2-4* (D). P1, P3, P4 = zooxanthellae dari anemon hasil fragmentasi 2 bagian, P7, P8, P9 = zooxanthellae dari anemon alam, P12, P13, P14 = zooxanthellae dari anemon fragmentasi 4 bagian.

Berdasarkan Gambar 4, selanjutnya dilakukan penilaian terhadap kemunculan pita tebal-tipis, dengan ketentuan skor 1 bila ada dan skor 0 bila tidak ada. Hasil skoring disajikan dalam bentuk data biner. Berdasarkan kemunculan pita pada data biner maka diketahui profil DNA seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah profil DNA hasil analisis ISSR menggunakan 4 primer

Primer	Ukuran Pita (bp)	Jumlah Pita	Jumlah profil DNA			
			Monomorfik		Polimorfik	
			Jumlah	%	Jumlah	%
2	750-2500	9	3	33,33	6	66,67
3	200-2000	7	5	71,43	2	28,57
4	150-1500	7	5	71,43	2	28,57
2-4	250-1500	6	5	83,33	1	16,67
Jumlah		29	18	62,07	11	37,93

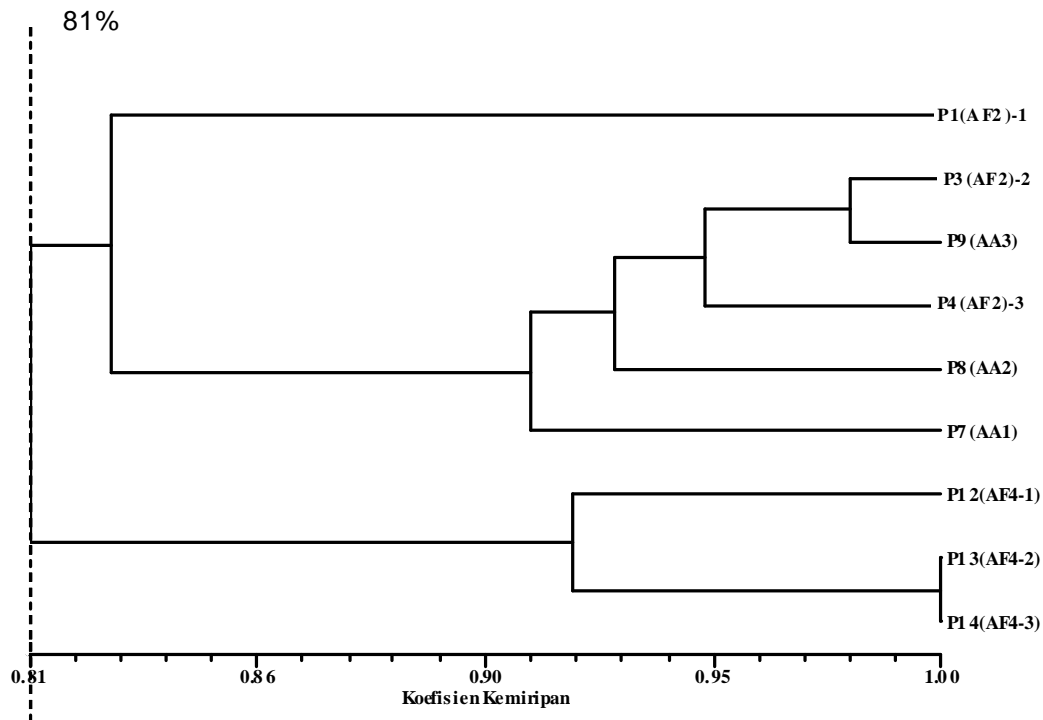
Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil amplifikasi DNA yang dilakukan terhadap 9 populasi zooxanthellae menggunakan 4 primer (Primer-2, Primer-3, Primer-4, Primer 2-4) menghasilkan 29 pola pita dengan kisaran 6-9 buah dan ukuran fragmen DNA 150 bp-2500 bp. Secara umum tampak semua primer menghasilkan pita polimorfik dengan kisaran 16,67%-66,67%. Persentase pita polimorfik tertinggi dihasilkan oleh primer-2 sebesar 66,67% (6 pola pita), disusul primer-3 dan primer-4 masing-masing 28,57% (2 pola pita). Persentase polimorfik terendah dihasilkan oleh kombinasi primer 2-4 sebesar 16,67% (1 pola pita).

Pita DNA yang dihasilkan terbagi dalam dua kelompok yakni pita yang menunjukkan monomorfik sebesar 62,07% dengan kisaran 33,33-83,33% dan polimorfik sebesar 37,93% dengan kisaran 16,67-66,67%. Secara umum hasil amplifikasi menggunakan 4 primer memperlihatkan polimorfisme DNA. Primer yang menghasilkan jumlah pita terbesar adalah *Primer-2* yakni 9 pola pita dan terendah *Primer-2-4* yakni 6 pola pita. McGregor et al. (2000) menyatakan bahwa polimorfisme merupakan gambaran amplifikasi yang diperoleh dari perbedaan fragmen DNA yang terobservasi.

Tingkat polimorfisme yang didapatkan dalam penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Wahyuni, et al. (2004) terhadap tanaman jahe dengan menggunakan penanda ISSR yang memperoleh pita polimorfik berkisar 7,14-30,77% dari 28 primer yang digunakan.

Namun jika dibandingkan dengan penelitian ISSR lainnya hasil penelitian ini jauh lebih rendah seperti pada *Botrychium pumicula* (*Ophioglossaceae*) dari 6 primer terpilih rata-rata polimorfisme sebesar 51,72% dan tertinggi adalah 73,33% (Camacho dan Liston 2001), pada barley dari 13 primer yang digunakan dihasilkan 70 pola pita yang 100% polimorfik (Russel et al. 1997), sementara pada teh pola pita polimorfik sebesar 84% (Mondal 2002). Hasil penelitian Irmawati (2007) dengan menggunakan penanda RAPD memperoleh 96,71% pita polimorfik dari 152 pita yang dihasilkan dari 8 populasi kepiting *Scylla olivacea* alami di Indonesia. Hasil penelitian Nasution (2008) dengan penanda RAPD memperoleh 96,19% pita polimorfik dari 105 pita yang dihasilkan dari 30 tanaman nenas hibrida. Selanjutnya hasil penelitian Parenrengi et al. (2002) terhadap ikan Kakap *Epinephelus areolatus* menggunakan penanda RAPD yang memperoleh 50%-63% pita polimorfik dari 46 pita yang dihasilkan. Begitu pula menurut Mwanja et al. (1996), kisaran polimorfisme ikan *Oreochromis niloticus* berkisar 49%-81%, *O. esculentus* berkisar 64%-78%, *O. leocostictus* 70%, dan *Tilapia zilli* berkisar 55%-75%.

Hasil analisis kemiripan dengan dendrogram pohon kekerabatan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average*) melalui program NTSYS (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*) versi 2.01 (Rohlf 1998) seperti Gambar 5. Berdasarkan Gambar 5 tampak hasil analisis kluster terhadap 29 pola pita DNA menghasilkan dendrogram dengan koefisien kemiripan berkisar 81%-100%. Pada koefisien kemiripan genetik (KKG) 81% terbentuk dua kelompok besar. Kelompok pertama terdapat 3 populasi zooxanthellae yang berasal inang anemon hasil pembelahan 4 bagian (AF4), sedangkan kelompok kedua terdapat 6 populasi zooxanthellae yang berasal dari inang anemon alam (AA) dan anemon hasil pembelahan 2 bagian (AF2). Dengan demikian secara genetik populasi zooxanthellae yang ditemukan pada anemon hasil fragmentasi 4 bagian (AF4), 2 bagian (AF2) dan anemon alami (AA) hanya memiliki perbedaan atau jarak genetik sebesar 19%. Meskipun persentase perbedaan ini sangat kecil namun reproduksi aseksual dengan teknik fragmentasi tubuh telah mampu menyebabkan terjadinya perubahan genetik pada simbiosis zooxanthellae.



Gambar 5. Dendrogram 9 populasi zooxanthellae berdasarkan penanda ISSR menggunakan 4 primer

Terjadinya perbedaan genetik ini diduga alga zooxanthella yang tinggal dan menetap pada inang anemon laut ini telah berubah komposisi spesiesnya sebagai bentuk adaptasi zooxanthellae terhadap perubahan fisiologi dan morfologi tubuh anemon akibat fragmentasi terutama fragmentasi menjadi 4 bagian (AF4). Beberapa penelitian menunjukkan dalam setiap spesies inang avertebrata air seperti anemon dan kima dihuni oleh beberapa spesies alga zooxanthellae. Hasil penelitian Carlos et al. (2000) menunjukkan 1 ekor kima secara genetik memiliki 2 atau lebih alga zooxanthellae yang berbeda. Selanjutnya dijelaskan kima tridacnid dan cardiid dihuni oleh alga zooxanthellae yang heterogen.

Dengan demikian maka perbedaan genetik yang ditemukan dalam penelitian ini diduga pada anemon alam dan anemon hasil fragmentasi ditemukan spesies alga zooxanthellae yang berbeda meskipun perbedaan tersebut secara polimorfisme dan jarak genetik hanya 37,93% dan 19%. Spesies alga zooxanthellae yang ditemukan pada anemon hasil fragmentasi tubuh 4 bagian memiliki perbedaan dibandingkan dengan anemon alam dan anemon hasil fragmentasi 2 bagian. Hasil analisis jarak genetik menunjukkan alga zooxanthellae yang ditemukan pada anemon hasil fragmentasi 4

bagian memiliki kelompok sendiri yang terpisah dengan anemon alam dan anemon hasil fragmentasi 4 bagian.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil analisis PCR-ISSR, alga zooxanthellae antar anemon memiliki polimorfisme 37,93%. Hasil analisis jarak genetik ditemukan tingkat ketidakmiripan 19% yang bersumber dari 2 kelompok utama yaitu kelompok anemon hasil fragmentasi 4 bagian yang terpisah dengan kelompok anemon alami dan anemon hasil fragmentasi 2 bagian. Mengingat penelitian ini belum terungkap spesies alga zooxanthellae-nya, maka disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan terhadap dinamika spesies alga zooxanthellae pada anemon laut hasil reproduksi aseksual melalui identifikasi spesies secara genetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Camacho FJ, Liston A. 2001. Population Structure and Genetic Diversity of *Botrychium pumicula* (*Ophioglossaceae*) based on Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). *Am J Bot* 88 (6): 1065-1070.
- Carlos AA, Baillie BK, Maruyama T. 2000. Diversity of Dinoflagellata Symbionts (Zooxanthellae) in a Host Individual. *Mar Ecol Prog Ser* 195: 93-100.

- Coles SL, Jokiel PL. 1977. Effects of the Temperature on Photosynthesis and Respiration in the Hermatitypic Corals. *Mar Biol* 49: 209-216.
- Fautin DG, Allen. 1997. Field Guide to Anemone Fishes and Their Host Sea Anemones. 2nd ed. Western Australian Museum, Perth Australia.
- Ferguson AJ, Taggart AJ, Prodohl PA, Mcmeel O, Thompson C, Stone C, McGinnity P, Hynes RA. 1995. The Application of Molekuler Markers to Study and Conservation of Populations, with Special Reference to *Salmo*. *J Biol* 47:103-126.
- Glynn PW, D'Croz, L. 1990. Experimental Evidence for High Temperature Stress as the Cause of El Nino-Coincident Coral Mortality. *Coral Reefs* 8: 181-191
- Hoegh-Guldberg O, Smith GJ. 1989a. The Effect of Sudden Changes in Temperature, Light and Salinity on the Population Density and Export of Zooxanthellae from the Reef Corals *Stylophora pistillata* Esper and *Seriatopora hystrix* Dana. *J Exp Mar Biol ecol* 129: 279-303
- Hoegh-Guldberg O, Smith GJ. 1989b. Influence of the Population Density of Zooxanthellae and Supply of Ammonium on the Biomass and Metabolic Characteristics of the Reef Corals *Seriatopora hystrix* and *Stylophora pistillata*. *Marine Ecology Progress Series* 57: 173-186
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptis altivelis*) Generasi Pertama pada Stok Hatchery. Tesis. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Lesser M P, Stochaj WR, Tapley DW, Shick JM. 1990. Bleaching in Coral Reef Anthozoans: Effects of Irradiance, Ultraviolet Radiation, and Temperature on the Activities of Protective Enzymes Against Active Oxygen. *Coral Reefs* 8: 225-232
- McGregor CE, Lambert CA, Gryling MM, Louw JM, Warnich L. 2000. A Comparison Assesment of DNA Finger Printing Technique (RAPD, ISSR, AFLP, and SSR) in Tetraploid Potato (*Solanium tuberosum* L.) germplasm. *Uphytica* (113): 135-144.
- Mondal, TK. 2002. Assessment of Genetic Diversity of Tea (*Camelia sinensis* (L.) by Intersequence Repeate Polymerase Reaction. *Euphytica* 128: 307-315.
- Muscatine L, McCloskey LR, Marian RE. 1981. Estimating the Daily Contribution of Carbon from Zooxanthellae to Coral Animal Respiration. *Limnol Oceanograph* 26: 601-611
- Muscatine L, Falkowski PG, Porter JW, Dubinsky Z. 1984. Fate of Photosynthetic Fixed Carbon in Light and Shade Adapted Colonies of the Symbiotic Coral *Stylophora pistillata*. *Proc R Soc London. B, Biol Sci* 222: 181-202
- Muscatine L, Wels V. 1992. Productivity of Zooxanthellae and Biogeochemical Cycles. In: Falkowski PG, Woodhead AD (eds). *Primary Productivity and Biogeochemical Cycles*. Plenum, New York.
- Mwanja W, Booton G.C, Kaufman L, Chandler M, Fuerst P. 1996. Population and Stock Characterization of Lake Victoria Tilapia Fisher Base On RAPD Marker. *Aqua. Biotech. Symp. Proceeding*, p.115-123.
- Nasution MA. 2008. Analisis Paramater Genetik dan Pengembangan Kriteria Seleksi Bagi Pemuliaan Nenas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) di Indonesia. Disertasi Sekolah Pasca Sarjanan, IPB Bogor.
- Parenrengi, Shamsudin L, Ismail P, Amin NM. 2002. A Study on DNA Fingerprinting of Areolated Grouper (*Epinephelus areolatus*) Using RAPD Analysis. *Indon Fish Res J* 8 (1): 11-17.
- Randall JE, Fautin DG. 2002. Fishes other than anemonefishes that associate with sea anemones. *Coral Reefs* 21, 188- 190.
- Rifai MA, Kudsiah, H. 2007. Reproduksi Aseksual Anemon Laut *Stichodactyla gigantea* (Forsskal, 1775) dengan Teknik Fragmentasi dan Habitat Penumbuhan Berbeda. *J Sains & Teknol* 7(2): 65-76.
- Rifai MA, Kudsiah H. 2011. Sintasan Benih Anemon Laut *Stichodactyla gigantea* (Forsskal, 1775) Hasil Reproduksi Aseksual Berdasarkan Waktu Pemindehan ke Perairan Alami Pasca Fragmentasi Longitudinal. *J Seri Hayati* 11(2): 93-102.
- Rinkevich B. 1989. The Contribution of Photosynthetic Product to Coral Reproduction. *Mar Biol* 101: 259-263
- Rohlf. 1998. NTSYS-pe: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.01. User Guide, Exeeter Software. New York.
- Russel JR, Fuller JD, Macaulay M, Hatz BG, Jahoor A, Powell A, Waugh R. 1997. Direct Comparison of Levels of Genetic Variation Among Barley Accessions Detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. *Theor Appl Genet* 95: 714-722.
- Ruiz-Zarate MA, Espinoza-Avalos J, Carricart-Ganivet JP, Fragoso D. 2000. Relationships between *Manicina areolata* (Cnida-ria: Scleractinia), *Thalassia testudinum* (Anthophyta), and *Neogoniolithon* sp. (Rhodophyta). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 206: 135-146.
- Steen RG, Muscatine L. 1987. Low Temperatur Evokes Rapid Exocytosis of Symbiotic Algae by a Sea Anemone. *Biol Bull* 172: 246-263.
- Suharsono. 1990. Ecological and Physiological Implication of Coral Bleaching at Pari Island. Thousand Island, Indonesia. A Disertation Submitted for the Degree of Doctor of Philosophy to the University of New Castle Upon Tyne. United Kingdom.
- Sutton DC, Hoegh-Guldberg O. 1990. Host-Zooxanthellae Interactions in Four Temperate Marine Invertebrate Symbioses: Assessment of Effect of Host Extracts on Symbionts. *Biol Bull* 178: 175-186
- Wahyuni S, Xu DH, Bermawie N, Tsunematsu H, Ban T. 2004. Skrining ISSR Primer Studi Pendahuluan Kekerabatan Antar Jahe Merah Jahe Emprix dan Jahe Besar. *Buletin TRO* 15(1): 33-42