

Deteksi dan Analisis Keragaman Genetik Anisakid dengan Metode PCR-RFLP dan Multiplex-PCR

Septianto Wikan Nurhidayat

Intisari

Anisakis merupakan salah satu nematoda yang menginfeksi ikan. Deteksi secara morfologi tidak dapat mengetahui anisakis sampai tingkat spesies. Pendekatan molekuler perlu dilakukan untuk diagnosis secara akurat spesies anisakis yang menginfeksi ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan menganalisis keragaman genetik anisakis yang menginfeksi ikan dengan metode PCR-RFLP dan Multiplex-PCR. Sebanyak satu ekor nematoda anisakis dikoleksi dari Ikan Kuwe (KWE), ikan Layang (LYG), ikan Ekor Merah (EMR), ikan Kembang mata besar (KMB) dan ikan Layur (LYR), masing-masing dilakukan ekstraksi DNA menggunakan metode Fenol Kloroform. Hasil amplifikasi daerah ITS dan gen *cox2* dari masing-masing sampel menunjukkan jenis *Anisakis typica*. Analisis RFLP menggunakan enzim restriksi *HinfI*, *HhaI*, dan *TaqI* juga menunjukkan bahwa semua sampel adalah *A. typica*. Sekuensing dilakukan untuk mengetahui urutan basa dari sampel. Blast-N pada hasil sekuensing daerah ITS dan gen *cox2* menunjukkan kemiripan dengan *A. typica* dengan *identical value* 99-100%. Keragaman genetik *A. typica* berdasarkan gen *cox2* pada pohon filogenetik dapat menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan daerah ITS.

Kata kunci: anisakis, PCR-RFLP, Multiplex-PCR, sekuensing, keragaman genetik

Detection and Genetic Diversity Analysis of Anisakid by PCR-RFLP and Multiplex-PCR Methods

Septianto Wikan Nurhidayat

Abstract

Anisakis is one of the nematodes that infect fish. Morphological identification may not be able to detect anisakis to the species level. Molecular approaches are necessary to diagnose anisakis accurately. This study aims to detect and analyze genetic diversity of anisakis by PCR-RFLP and Multiplex-PCR. Each anisakis nematode sample were collected from Kuwe fish (KWE), Layang fish (LYG), Ekor Merah fish (EMR), Kembung Mata Besar fish (KMB), And Layur fish (LYR), then extracted using phenol chloroform method. The results showed that amplification of ITS region and *cox2* gene from all samples indicate *Anisakis typica*. RFLP analysis using restriction enzyme *HinfI*, *HhaI*, and *TaqI* also indicate that all samples were *A. typica*. Sequencing was performed to determine the base sequence of samples. Blast-N on sequencing of ITS region and *cox2* gene showed similarities with *A. typica* with identical value 99-100%. The genetic diversity of *A. typica* based on *cox2* gene showed better results than ITS region in phylogenetic tree.

Keywords: anisakis, PCR-RFLP, Multiplex-PCR, sequencing, genetic diversity