

Kariotipe *Rana chalconota* Kompleks yang Terdapat di Sumatera Barat

Karyotype of *Rana chalconota* Complex in West Sumatera

Djong Hon TJONG^{1*}, SYAIFULLAH¹, Silvia INDRA¹, Arie AMELIA¹

¹) Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat 251611,
Email: tjong20@yahoo.com

ABSTRACT. Study of the karyotype *Rana chalconota* complex in West Sumatra has been carried out from April to August 2010. Samples were collected from HPPB and then analyzed at the Laboratory of Genetics and Cytology Biology Department of FMIPA Andalas University Padang. The purpose of this study is determine the karyotype of the frog species previously classified as *R. chalconota* then described as *Rana rufipes* and *Rana parvaccola* in West Sumatra. The object was prepared by using air drying method. The data was analyzed by the statistical test Mann-Whitney U test and Wilcoxon U-Statistics. The results showed that the *Rana rufipes* has 13 pairs of the chromosomes consisting of one pair of the submetacentric chromosomes and 12 pairs of the metacentric chromosomes. *Rana parvaccola* also has 13 pairs of chromosomes consisting of three pairs of the submetacentric chromosomes and 10 pairs of the metacentric chromosomes. The second type has 6 pairs of large classes and 7 pairs of small groups.

Keywords: *Rana chalconota* complex, *Rana rufipes*, *Rana parvaccola*, karyotype

ABSTRAK. Penelitian mengenai Kariotipe *Rana chalconota* kompleks yang terdapat di Sumatera Barat telah dilaksanakan pada bulan April–Agustus 2010. Pengambilan sampel dilakukan di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi kemudian dilanjutkan dengan pembuatan preparat di Laboratorium Genetika dan Sitologi Jurusan Biologi FMIPA UNAND Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kariotipe dari dua jenis baru katak yang semula dikelompokkan *R. chalconota* tetapi, sekarang dideskripsikan sebagai *R. parvaccola* dan *R. rufipes* yang terdapat di Sumatera Barat. Pembuatan preparat dilakukan dengan metode kering udara dan analisis data dilakukan dengan uji statistik Mann-Whitney U Test dan Wilcoxon U Statistik. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa *Rana rufipes* memiliki 13 pasang kromosom yang terdiri dari satu pasang kromosom submetasentrik dan 12 pasang kromosom metasentrik. *Rana parvaccola* juga memiliki 13 pasang kromosom yang terdiri dari tiga pasang kromosom submetasentrik dan 10 pasang kromosom metasentrik. Kedua jenis ini memiliki 6 pasang golongan besar dan 7 pasang golongan kecil.

Kata Kunci: *Rana chalconota* kompleks, *Rana rufipes*, *Rana parvaccola*, kariotipe

PENDAHULUAN

Katak *R. Chalconota* merupakan spesies yang tersebar luas di Asia Tenggara, walaupun beberapa peneliti telah merekomendasikan untuk dibagi menjadi beberapa subspecies. Pada saat ini *R. chalconota* di Sumatera Barat telah direvisi dan dideskripsikan menjadi *Rana rufipes* dan *Rana parvaccola*, sedangkan *Rana chalconota* hanya tersebar di Pulau Jawa (Inger dkk., 2009).

R. rufipes merupakan *R. chalconota* yang berukuran besar, selaput renang bagian bawah berwarna merah, ukuran *timpanum* sama dengan diameter mata pada betina dan sedikit lebih besar pada jantan dengan bagian dalam sedikit tertekan. Katak ini memiliki jari yang panjang dengan panjang jari ketiga sama dengan jarak dari belakang mata ke lubang hidung. *R. parvaccola* merupakan *R. chalconota* yang berukuran kecil, selaput renang berwarna hitam, ukuran *timpanum* sekitar dua pertiga diameter mata pada betina dan lebih besar pada jantan. Katak ini juga

memiliki jari panjang, dengan panjang jari ketiga kurang dari jarak belakang mata ke lubang hidung (Inger dkk., 2009). Informasi biologi kedua spesies tersebut belum banyak diketahui, salah satunya mengenai kariotipe.

Kariotipe adalah fenotip dari kromosom yang meliputi gambaran struktural kromosom, antara lain jumlah, bentuk, posisi sentromer, penyebaran eukromatin dan heterokromatin serta ukuran satelit. Kromosom tersebut kemudian disusun berdasarkan pasangan kromosom yang homolog dan diurut berdasarkan ukuran kromosom dan posisi sentromernya dari yang paling panjang sampai yang paling pendek (Dyer, 1979).

Penelitian mengenai kariotipe famili Ranidae telah dilakukan oleh Dwiyantri (2004) terhadap empat spesies dari famili Ranidae yaitu: *Limnonectes kadarsani*, *Rana everetti*, *Rana celebensis*, dan *Rana macrops*. Kariotipe *L. kadarsani*, *R. everetti*, dan *R. celebensis* mempunyai jumlah kromosom yang sama yaitu, $2n=26$ yang terdiri dari lima pasang kromosom besar dan delapan pasang kromosom kecil. *R. macrops* mempunyai jumlah kromosom $2n=32$, dengan dua pasang kromosom besar, dua pasang kromosom sedang dan 12 pasang kromosom kecil. *R. macrops* merupakan katak pertama di dunia yang mempunyai kariotipe dengan jumlah kromosom $2n=32$. Djamhuriyah (2000) menyatakan bahwa *R. chalconota* memiliki 13 pasang kromosom yang terbagi dalam dua golongan yaitu, lima pasang kromosom golongan besar dan delapan pasang kromosom golongan kecil. Kromosom-kromosom tersebut bertipe metasentrik atau submetasentrik.

Walaupun informasi mengenai kariotipe *R. chalconota* telah diketahui dan dinyatakan bahwa jumlah kromosom spesies ini adalah $2n=26$, tetapi informasi mengenai dua jenis baru katak yang semula dikelompokkan sebagai *R. chalconota* tetapi sekarang telah dideskripsikan sebagai *R. rufipes* dan *R. parvaccola* di Sumatera Barat belum diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kariotipe jenis katak tersebut.

BAHAN DAN METODE

Pengoleksian sampel dilakukan di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas. Kemudian dilanjutkan pembuatan preparat kromosom menggunakan metode Tsurusaki (1986) yang dimodifikasi. *R. chalconota* jantan di suntik dengan larutan kolkisin 0,05% sebanyak 2ml/100 gr berat tubuh. Sampel dibiarkan selama 2-3 jam kemudian dibunuh dan diambil testisnya. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam larutan KCl 0,075M selama

satu jam. Setelah satu jam, testis tadi dimasukkan ke dalam larutan fiksatif (3 bagian metanol absolut:1 bagian asam asetat glasial) dan dibiarkan selama satu jam. Ganti dengan larutan fiksatif baru dan sediaan preparat disimpan hingga digunakan. Sepotong kecil testis ditempatkan di kaca arloji dan ditetesi dengan Lacto acetic acid (6 asam asetat glasial:1 aquadest:1 asam laktat) satu atau dua tetes kemudian dicacah dengan jarum pencacah hingga hubungannya intraseluler terlepas. Objek dipipetkan ke kaca objek. Sebelum objek kering tambahkan satu atau dua tetes larutan fiksatif dan biarkan sampai semalaman. Setelah objek kering diwarnai dengan *Giemsa* selama 30 menit. Kelebihan zat warna dihilangkan dengan air mengalir selama 1-3 detik kemudian kering anginkan.

Penghitungan jumlah kromosom dilakukan pada gambar hasil pemetretan kromosom metafase yang tersebar dengan baik. Pemetretan dilakukan menggunakan fotomikroskop CX 41, kamera Olympus DP12. Bentuk dan ukuran kromosom dapat diketahui dari pengukuran panjang lengan panjang dan panjang lengan pendek kromosom. Pengukuran kromosom dilakukan menggunakan program komputer Mikromeasure versi 3.3. Berdasarkan hasil pengukuran kromosom ditentukan Panjang Relatif Kromosom (PRK), Indeks Sentromer (IS) dan Ratio Lengan (RL). IS dan RL digunakan untuk menentukan tipe kromosom dengan mengacu pada tipe kromosom yang digunakan oleh Levan dkk. (1964). Foto kromosom yang dihasilkan dari pemetretan preparat kromosom dipotong-potong, kemudian dipasangkan dengan pasangan homolognya. Setelah itu foto kromosom disusun berdasarkan yang terpanjang ke yang terpendek dan diamati tipe kromosom serta karakteristik kromosomnya. Proses ini dilakukan menggunakan program adobe photoshop CS4 dan adobe illustrator 9.0.

Perbedaan panjang relatif kromosom, rasio lengan dan indeks sentromer pada kariotipe yang berbeda dari kedua spesies dilakukan uji statistik Mann-Whitney U Test dan Wilcoxon U Statistik (Zar, 1974). Uji statistik ini menggunakan program SPSS 15.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil preparat kromosom dibuat dari sampel testis masing-masing 5 ekor *R. rufipes* dan *R. parvaccola* jantan dan dilanjutkan dengan pemetretan kromosom. Kromosom *diploid* pada fase metafase dari *R. rufipes* dapat dilihat pada Gambar 1, dan *R. parvaccola* pada Gambar 2. Penghitungan jumlah kromosom dilakukan pada sel-sel yang ada pada fase metafase dengan sebaran kromosom yang baik.



Gambar 1. Kromosom metafase *R. Rufipes*



Gambar 2. Kromosom metafase *R. parvaccola*

Berdasarkan penghitungan masing-masing 10 sel metafase diketahui bahwa *R. rufipes* dan *R. Parvaccola*, yang merupakan *R. chalconota* kompleks memiliki jumlah kromosom yang sama yaitu $2n = 26$. Kuramoto (1990) menyatakan bahwa genus *Rana* pada umumnya memiliki jumlah kromosom $2n = 26$, demikian juga dengan *R. Chalconota*. Ing (2005) yang meneliti perbandingan kariotipe *Rana nicobariensis* dan *R. Chalconota*, melaporkan kromosom diploid *R. chalconota* adalah 13 pasang. Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah kromosom diploid dari *R. rufipes* dan *R. parvaccola* adalah $2n = 26$.

Hasil pengukuran Panjang Relatif Kromosom (PRK) *R. rufipes* dan *R. parvaccola* diperlihatkan pada Tabel 2. Panjang relatif kromosom (PRK) yang diperlihatkan pada Tabel 2 untuk masing-masing nomor kromosom yang sama tidak persis sama untuk kedua populasi *R. rufipes* dan *R. parvaccola*. Pada *R. rufipes*, panjang relatif kromosom yang paling besar adalah 6.906 ± 0.785 dan yang paling kecil adalah 1.992 ± 0.244 , sedangkan pada *R. parvaccola* panjang relatif kromosom yang paling besar adalah 7.273 ± 0.776 dan yang paling kecil adalah 2.093 ± 0.224 .

Berdasarkan pengukuran nilai PRK tersebut dapat diketahui bahwa kromosom nomor satu sampai dengan kromosom nomor enam mempunyai nilai PRK lebih dari setengah PRK terpanjang yang disebut dengan golongan besar, sedangkan kromosom nomor tujuh sampai dengan kromosom nomor 13

mempunyai PRK kurang dari setengah PRK terpanjang yang disebut dengan golongan kecil. Temuan ini sejalan Blommers-Schlösser (1976) yang menyatakan bahwa jika suatu kromosom memiliki panjang relatif kromosom kurang dari setengah panjang relatif kromosom terpanjang merupakan kromosom golongan kecil, sedangkan jika suatu kromosom memiliki panjang relatif kromosom lebih dari setengah panjang relatif kromosom terpanjang merupakan kromosom golongan besar. Berdasarkan hasil pengukuran panjang relatif kromosom pada Tabel 2, maka *R. rufipes* dan *R. parvaccola* mempunyai enam pasang kromosom golongan besar dan tujuh pasang kromosom golongan kecil. Hasil ini berbeda dengan penelitian Nasaruddin *et al.*, (2009) yang menyatakan bahwa kromosom *R. chalconota* terdiri atas lima pasang kelompok kromosom besar dan delapan pasang kelompok kromosom kecil. Iskandar (1998) juga meyakini bahwa jumlah kromosom *R. chalconota* yang ditemukan di pulau Jawa adalah $2n = 26$, terdiri dari lima pasang golongan besar dan delapan pasang golongan kecil.

Berdasarkan nilai pengukuran panjang relatif kromosom *R. rufipes* dan *R. parvaccola* (Tabel 2), maka dapat dibuat kariotipenya seperti pada Gambar 3 dan 4. Perbandingan masing-masing kariotipe dari kedua jenis tersebut secara langsung dapat dilihat dengan cara membuat suatu idiogram yaitu penyusunan masing-masing kromosom yang digambarkan tanpa homolognya (Gambar 5).

Hasil analisis Mann-Whitney U Test dan Wilcoxon U terhadap panjang relatif kromosom pada setiap nomor kromosom yang sama dan kariotipe berbeda, tidak memberikan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang berarti antara panjang relatif kromosom *R. rufipes* dan *R. parvaccola*.

Penentuan tipe-tipe kromosom didasarkan pada nilai Indeks Sentromer dan Ratio Lengan Kromosom seperti yang dimuat pada Tabel 2. Tabel tersebut memperlihatkan nilai IS *R. rufipes* terbesar adalah 45.057 ± 3.325 dan terkecil adalah 33.471 ± 2.693 . Nilai RL terbesar 2.001 ± 0.244 dan yang terkecil adalah 1.235 ± 0.170 . Nilai IS *R. parvaccola* terbesar adalah 45.490 ± 3.378 dan terkecil adalah 31.416 ± 2.776 . Nilai RL terbesar 2.208 ± 0.275 dan yang terkecil adalah 1.210 ± 0.170 .

Tabel 2 memperlihatkan bahwa *R. rufipes* dan *R. parvaccola* memiliki kromosom tipe metasentrik dan submetasentrik. Pada *R. rufipes* terdapat 12 kromosom bertipe metasentrik dan satu kromosom bertipe submetasentrik yaitu pada kromosom nomor empat. Pada *R. parvaccola* terdapat sepuluh kromosom bertipe metasentrik dan tiga kromosom

bertipe submetasentrik yaitu pada kromosom nomor empat, delapan dan dua belas.

Perbandingan IS dan RL masing-masing kromosom antara *R. rufipes* dan *R. parvaccola* tidak berbeda nyata kecuali pada kromosom nomor tiga, delapan dan dua belas ($P < 0,005$ untuk IS 0.007, 0.047, dan 0.000 serta RL 0.005, 0.000 dan 0.005). Hasil ini memperlihatkan adanya perbedaan antara IS dan RL pada *R. rufipes* dan *R. parvaccola* pada kromosom nomor tiga, delapan dan dua belas. Terdapatnya perbedaan IS dan RL pada kedua jenis tersebut diduga telah terjadi inversi perisentrik pada kedua jenis ini. Dugaan tersebut didasarkan pada nilai panjang relatif kromosomnya yang tidak berbeda nyata, tetapi nilai perhitungan indeks sentromer dan rasio lengannya berubah. Pada *R. rufipes* kromosom nomor delapan dan dua belas bertipe metasentrik. Sedangkan pada *R. parvaccola* kromosom nomor delapan dan dua belas bertipe submetasentrik. Menurut Suryo (1995), *inversi perisentris* adalah inversi yang terjadi sedemikian rupa sehingga sentromer terdapat di dalam lengkung inversi. Inversi perisentris terjadi karena kromosom normal putus di dua tempat dan kedua tempat yang putus itu terletak masing-masing di sebelah kiri dan kanan dari sentromer. Oleh karena pada inversi perisentris sentromer terletak di dalam lengkung inversi, maka inversi perisentris dapat menyebabkan terjadinya perubahan morfologis pada kromosom.

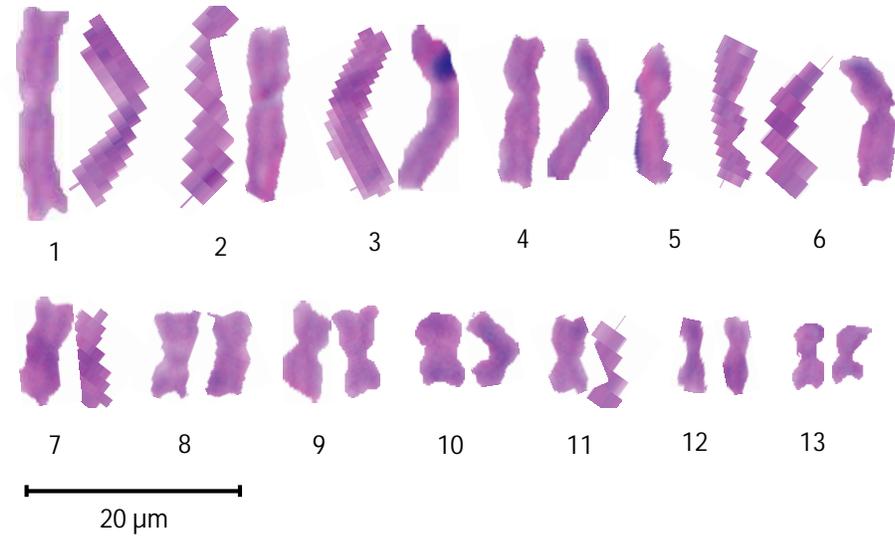
KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian kariotipe terhadap dua jenis baru katak yang semula dikelompokkan sebagai *R. chalconota* tetapi, sekarang dideskripsikan sebagai *R. rufipes* dan *R. parvaccola* dapat diketahui perbedaannya yaitu, *R. rufipes* memiliki satu pasang kromosom submetasentrik (pada kromosom nomor 4) dan 12 pasang kromosom metasentrik. Sedangkan *R. parvaccola* memiliki tiga pasang kromosom submetasentrik (pada kromosom nomor 4, 8 dan dua belas) dan 10 pasang kromosom metasentrik.

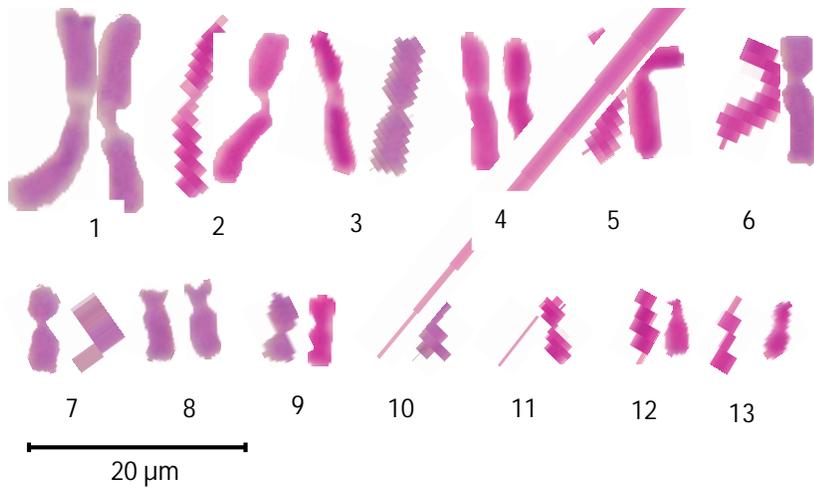
DAFTAR PUSTAKA

- Blommers & Schlosser RMA.** 1976. Chromosomal Analysis of Twelve Species of Microhylidae (Anura) from Madagascar. *Genetica*. **40**: 195-210.
- Djamhuriyah S.** 2000. *Perbandingan kariotipe Rana erythraea dan Rana chalconota*. Puslitbang Biologi. LIPI.

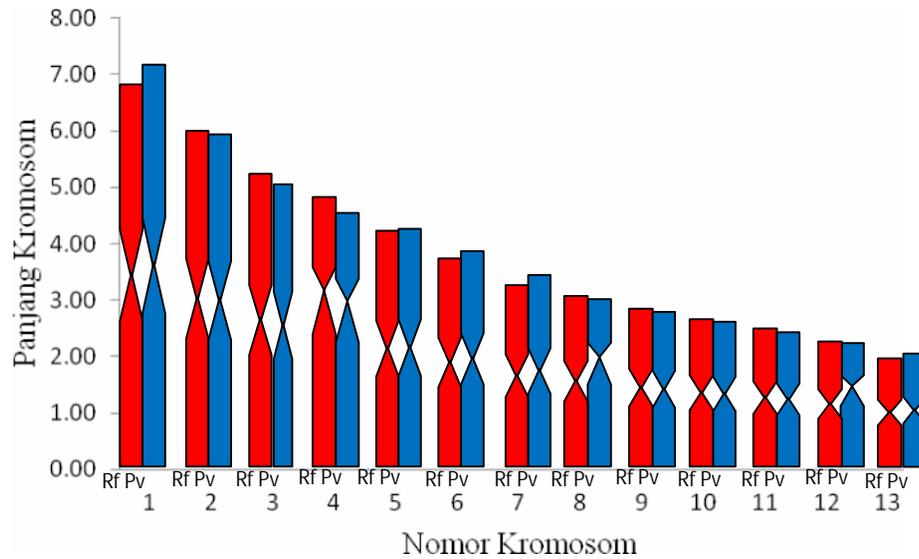
- Dwiyanti IE.** 2004. *Analisis kariotipe dari empat spesies Ranidae, Rana everetti, R. celebensis, R. macrops dan Limnonectes kadarsani*. <http://digilib.sith.itb.ac.id/go.php?id=jbptitbbi-gdl-s1-2004-imeldaemel-2>. 3 Februari 2010.
- Dyer AF.** 1979. *Investigating Chromosomes*. Edward Arnold Publishers Limited. London.
- Esterina R.** 2002. *Morfologi dan Kariotipe dua Spesies Katak Asal Irian Jaya*. Sripsi Sarjana Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ing.** 2005. *Pembandingan Kariotipe Rana nicobariensis dan Rana chalconota*. Puslitbang Biologi. LIPI.
- Inger RF, Stuart BL, Iskandar DT.** 2009. Systematics of a widespread Southeast Asian frog, *Rana chalconota* (Amphibia: Anura: Ranidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **155**: 123–147.
- Iskandar DT.** 1998. *Amfibi Jawa and Bali*. Seri Panduan Lapangan. Puslitbang Biologi. LIPI.
- Kuramoto.** 1990. *A list of Chromosome Numbers of Anuran Amphibians*. Bulletin of Fakuoka University of Education. **39**:83-127
- Levan A, Fredga K, Sanberg A.** 1964. *Nomenclature for Centomeric Position on Chromosomes Heryditas*, **52**: 201-220.
- Nasaruddin et al.** 2009. Kariotip Tujuh Spesies Amfibi (Ordo Anura) dari Sulawesi Tenggara. *Jurnal Veteriner* **10** (2) : 77-86.
- Suryo.** 1995. *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Suryo.** 1998. *Genetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tsurusaki N.** 1986. *Chromosome of Harvestman (apilliones : Arachnidae) review of on Going Research and Methods of Chromosome Observation*. Seibutsi Kyozaei 23.
- Zar JH.** 1974. *Biostatistical Analysis*. Third Edition. Prentice Hall International, INC. United State of America



Gambar 3. Kariotipe *R. rufipes*



Gambar 4. Kariotipe *R. parvaccola*



Gambar 5. Idiogram Perbandingan Kariotipe *R. rufipes* dan *R. parvaccola*
Keterangan: Rf : *R. rufipes*, Pv : *R. parvaccola*

Tabel 1. Nilai PRK *R. rufipes* dan *R. Parvaccola*

No. Kromosom	PRK <i>R. rufipes</i>	PRK <i>R. parvaccola</i>	Uji Statistik taraf 5%	
			Mann Whitney U Test	Wilcoxon U Statistik
1	6.906 ± 0.785	7.273 ± 0.776	0.290	0.333
2	6.043 ± 0.620	6.005 ± 0.588	0.821	0.878
3	5.313 ± 0.432	5.107 ± 0.369	0.226	0.333
4	4.852 ± 0.276	4.606 ± 0.514	0.406	0.169
5	4.289 ± 0.338	4.290 ± 0.470	0.650	0.721
6	3.774 ± 0.412	3.888 ± 0.426	0.762	0.386
7	3.323 ± 0.371	3.451 ± 0.319	0.450	0.333
8	3.093 ± 0.357	3.050 ± 0.302	0.821	0.959
9	2.884 ± 0.268	2.842 ± 0.313	0.650	0.799
10	2.691 ± 0.197	2.664 ± 0.318	0.650	0.721
11	2.520 ± 0.167	2.460 ± 0.226	0.406	0.386
12	2.319 ± 0.212	2.271 ± 0.195	0.597	0.508
13	1.992 ± 0.244	2.093 ± 0.224	0.257	0.203

Keterangan : Diukur dan dihitung dari 10 sel metafase

Tabel 2. Nilai Indeks Sentromer (IS) dan Rasio Lengan (RL) *R. rufipes* dan *R. Parvaccola*

No. Kromosom	IS/RL	<i>Rana rufipes</i>	Tipe	<i>Rana parvaccola</i>	Tipe	Uji statistik taraf 5%	
						Mann Whitney	Wilcoxon
1	IS	43.139±3.201	M	44.115±3.027	M	0.545	0.386
2		44.324±3.214	M	44.551±3.370	M	0.762	0.799
3		41.561±3.333	M	45.490±3.378	M	0.007*	0.047*
4		33.471±2.693	SM	33.020±2.793	SM	0.545	0.575
5		43.880±3.775	M	43.878±4.069	M	0.880	0.799
6		44.837±3.724	M	42.979±3.380	M	0.082	0.114
7		44.083±3.573	M	44.478±3.600	M	0.496	0.799
8		44.935±3.254	M	31.416±2.776	SM	0.000*	0.005*
9		45.057±3.325	M	44.140±3.904	M	0.364	0.508
10		43.270±2.744	M	44.447±2.730	M	0.199	0.333
11		43.568±3.575	M	43.924±3.158	M	0.705	0.646
12		44.289±3.257	M	33.377±2.254	SM	0.000*	0.005*
13		44.100±3.831	M	45.268±2.980	M	0.406	0.386
1	RL	1.326±0.194	M	1.278±0.168	M	0.650	0.575
2		1.267±0.166	M	1.257±0.180	M	0.762	0.878
3		1.422±0.184	M	1.210±0.170	M	0.007*	0.047*
4		2.001±0.244	SM	2.068±0.289	SM	0.364	0.508
5		1.299±0.206	M	1.300±0.217	M	0.940	0.721
6		1.248±0.198	M	1.344±0.185	M	0.070	0.241
7		1.281±0.196	M	1.264±0.195	M	0.597	0.878
8		1.236±0.167	M	2.208±0.275	SM	0.000*	0.005*
9		1.235±0.170	M	1.282±0.208	M	0.364	0.541
10		1.325±0.146	M	1.253±0.139	M	0.112	0.203
11		1.315±0.190	M	1.290±0.173	M	0.650	0.646
12		1.265±0.163	M	2.019±0.220	SM	0.000*	0.005*
13		1.283±0.203	M	1.218±0.152	M	0.384	0.445

Keterangan : Diukur dan dihitung dari 10 metafase
 * = berbeda nyata pada taraf 5%
 M = Metasentrik
 SM = Submetasentrik