

MARKA GENETIK UNTUK VARIABILITAS PERTUMBUHAN UDANG WINDU, *Penaeus monodon* DARI SUMBER INDUK BERBEDA MELALUI ANALISIS MT-DNA-RFLP

Sari Budi Moria¹⁾, Haryanti²⁾, I Gusti Ngurah Permana³⁾, dan Ketut Sugama⁴⁾

ABSTRAK

Dalam rangka perbaikan mutu genetik udang, diperlukan informasi marka genetik untuk mengetahui variabilitas pertumbuhan sebagai salah satu dasar seleksi individu. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh marka genetik dari variabilitas pertumbuhan udang windu yang nantinya dapat digunakan sebagai indikator dalam seleksi induk. Penelitian ini menggunakan udang windu yang berasal dari tambak dengan perbedaan variabilitas pertumbuhan (ukuran kecil, sedang, dan besar) dari masing-masing sumber induk yang berbeda (Aceh, Sumbawa, dan Jawa Timur). Masing-masing kelompok ukuran udang tersebut dikoleksi sebanyak 50 ekor dan tiap individu dianggap sebagai ulangan. Amplifikasi PCR (Polymerase Chain Reaction) menggunakan universal primer menghasilkan pita tunggal DNA dengan berat molekul 650 bp. Hasil pemotongan dengan enzim restriksi EcoR V dan Hae III menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan genetik antar pertumbuhan cepat dan lambat. Enzim restriksi Hae III merupakan marker restriksi untuk pertumbuhan. Heterosigositas udang tambak yang berasal dari sumber induk Aceh mempunyai nilai 0,450–0,608. Nilai ini lebih tinggi daripada udang tambak yang menggunakan induk dari Sumbawa dan Jawa Timur.

ABSTRACT: *Genetic marker for growth variability of black tiger shrimp Penaeus monodon analysed by RFLP- Mt-DNA. By: Sari Budi Moria, Haryanti, I Gusti Ngurah Permana, dan Ketut Sugama*

To improve genetic quality of shrimp, genetic marker information is needed in other to know growth variability as one basic for individual selection. The objective of study was to find out gene marker of growth variability as indicator for shrimp broodstock selection. The experiment was conducted by using tiger prawn pond reared with different growth variability (small, medium, large size), each different sources of broodstocks (Aceh, Sumbawa and East Java). Each group size was collected as much as 50 shrimps and each individual used producing was treated as a replication. Universal PCR (Polymerase Chain Reaction) amplification was a single band with molecular weight of 650 bp. Fragments were cut by enzyme restriction of EcoR V and Hae III. Both enzymes showed no significant differences between shrimps with high and low growth rates. Hae III enzym restriction was shown as marker for growth. The heterozygosity of pond shrimps which broodstocks originally from Aceh were 0.450-0.608. These values were higher than those from Sumbawa and East Java.

KEYWORDS: *black tiger shrimp, genetic marker, Mt-DNA*

PENDAHULUAN

Udang windu, *Penaeus monodon* merupakan komoditas andalan sebagai sumber devisa negara dari sektor perikanan. Produksi udang tiga tahun terakhir ini menunjukkan kecenderungan menurun sangat tajam dengan nilai ekspor hanya sebesar 399 juta US \$ per tahun. Hal ini disebabkan oleh kegagalan produksi benih ataupun budi daya udang di tambak, terutama oleh adanya serangan penyakit. Kendala lain adalah bervariasinya mutu genetik induk udang yang digunakan untuk produksi benih udang di hatcheri, mengingat hingga kini semua hatcheri udang menggunakan induk alam bagi kebutuhan pembenihan.

Dalam rangka mencegah eksploitasi yang berlebihan terhadap induk udang windu, upaya domestikasi spesies tersebut sebenarnya sudah dirintis, namun belum dilakukan secara terprogram dan berkesinambungan. Beberapa penelitian telah dilakukan Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol meliputi aspek pematangan dan pemijahan induk udang asal tambak, ukuran biologis minimum induk, keragaan reproduksi (mutu telur, fekunditas, daya tetas telur), dan kebutuhan nutria pakan untuk induk (Tridjoko *et al.*, 1993; Jufri *et al.*, 1993, Sugama *et al.*, 1993), walaupun dengan hasil yang bervariasi. Keadaan ini disinyalir adanya pengurangan jumlah alel per lokus pada benih udang hasil hatcheri.

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol
²⁾ Pusat Riset Perikanan Budidaya

Dari hasil penelitian yang telah diperoleh dari analisis mt-DNA induk-induk udang windu yang berbeda asal geografisnya menunjukkan adanya perbedaan variasi genetik antar populasi. Induk udang yang berasal dari perairan di Aceh dan Sumbawa mempunyai variasi gen yang lebih tinggi, diindikasikan dari tingkat heterosigositas dan jumlah alel per lokus jika dibandingkan dengan induk udang yang berasal dari perairan Jawa Timur dan Sulawesi Selatan (Moria *et al.*, 2002).

Beberapa ahli telah menekankan betapa pentingnya variasi genetik ikan/udang yang ada di alam dan harus dipertahankan bila akan digunakan untuk pembenihan di hatcheri (Goundie *et al.*, 1995; Benzie & Williams, 1996). Menurunnya variasi genetik pada ikan/udang budi daya yang benihnya berasal dari hatcheri akan mengakibatkan menurunnya keragaan ikan/udang di antaranya sintasan, pertumbuhan, kemampuan mengkonversi pakan (FCR), ketahanan terhadap goncangan lingkungan termasuk penyakit, dan abnormalitas (Ferguson & Drahuschak, 1990; Sugama *et al.*, 1992; Leary *et al.*, 1995).

Dari kenyataan yang sering dihadapi petani dalam penebaran benih udang di tambak terlihat adanya variabilitas pertumbuhan udang walaupun periode dan teknik pemeliharaannya sama. Ukuran udang menjadi

BAHAN DAN METODE

Sampel udang windu *P. monodon*

Dalam penelitian ini, sampel yang akan digunakan sebagai hewan uji diambil dan dikumpulkan dari tambak-tambak udang dengan memilih ukuran dan asal induk udang windu *P. monodon* yang berbeda. Perbedaan ukuran udang berdasarkan pada ukuran kecil, sedang dan besar, sedangkan untuk asal induk udang dibedakan berdasarkan pada sumber induk dari perairan Aceh, Sumbawa, dan Jawa Timur. Masing-masing kelompok sampel udang dikumpulkan sebanyak 50 ekor. Ukuran panjang dan bobot masing-masing sampel udang disajikan pada Tabel 1.

Ekstraksi dan purifikasi mt-DNA

Untuk mendapatkan genom mt-DNA dilakukan ekstraksi dengan mengikuti modifikasi metode Ovenden (2000). Kaki renang atau daging dihancurkan dalam 500 ml larutan 10% Chelex-100 yang dimasukkan dalam *ependorf tube* dan ditambahkan 5 mL proteinase kinase (10 mg/mL) dan dipanaskan 55°C dalam *water bath* selama 3-4 jam. Selanjutnya larutan ini dipanaskan lagi pada suhu 89°C selama 8 menit, dan didinginkan pada suhu kamar hingga dingin

Tabel 1. Panjang total (cm) dan bobot rata-rata (g) udang windu, *P. monodon* asal tambak dengan ukuran dan sumber induk yang berbeda melalui analisis mt-DNA

Table 1. Mean of total length (cm) and body weight (g) of pond reared black tiger shrimp from different size and broodstock sources analysed by mt-DNA

Sumber induk <i>Broodstock Source</i>	Panjang total rata-rata (cm) <i>Average of total length (cm)</i>			Bobot rata-rata (g) <i>Average of body weight (g)</i>		
	Kecil	Sedang	Besar	Kecil	Sedang	Besar
	<i>Small</i> (50 ind.)	<i>Medium</i> (50 ind.)	<i>Large</i> (50 ind.)	<i>Small</i> (50 ind.)	<i>Medium</i> (50 ind.)	<i>Large</i> (50 ind.)
Aceh	23.9±0.4	21.7±0.5	22.8±1.2	70.5±0.3	104.4±0.7	129.7±1.4
Sumbawa	21.3±0.5	23.0±0.6	25.3±1.0	79.5±0.4	107.5±0.6	127.5±1.3
Jawa Timur	22.5±0.4	21.5±0.6	24.3±1.0	75.0±0.4	100.5±0.6	125.6±1.3

bervariasi dari sangat kecil, sedang, hingga besar, dan variabilitas pertumbuhan ini seringkali menjadi masalah dalam pemasarannya. Dengan mengetahui genetik marker pada udang yang mempunyai variabilitas pertumbuhan lambat, normal, dan cepat dari induk-induk yang secara geografis berbeda diharapkan dapat dijadikan indikator untuk seleksi dalam rangka perbaikan mutu genetik udang windu. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi *gen marker* dan mengevaluasi variasi mt-DNA pada udang windu yang dipelihara di tambak dengan variabilitas pertumbuhan berbeda dalam rangka menunjang perbaikan mutu genetik induk udang.

sebelum ditambahkan 55 mL TE (Tris-EDTA) buffer pH 8,0. Genom mt-DNA dapat diperoleh dengan cara *mensentrifuge* selama 5 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Larutan pada lapisan atas dan berwarna jernih merupakan genom DNA dipindahkan ke dalam *ependorf tube* baru dan disimpan pada suhu -20°C untuk analisis lebih lanjut.

Amplifikasi PCR genom mt-DNA

Amplifikasi PCR terhadap genom mt-DNA sampel udang dari masing-masing perlakuan diawali dengan mencampurkan beberapa *reagent* PCR Kit (Qiagent)

yang terdiri atas 10xPCR buffer; 2,5 mM DNTP mix; Primer OPA 4; 0,5 U Taq polymerase; aquadest dan genom mt-DNA dalam PCR tuber 0,2 mL dan diinkubasi dalam mesin PCR (Corbert Research PC-960) dengan 38 cycle. Dalam amplifikasi ini digunakan suhu denaturasi awal 94°C selama 4 menit dan suhu denaturasi akhir 94°C selama 1 menit. Untuk suhu *annealing* digunakan 36°C selama 1 menit dan dilanjutkan dengan suhu ekstensi awal 72°C selama 2 menit serta suhu ekstensi akhir 72°C selama 5 menit.

Universal primer OPA 4 yang digunakan dalam amplifikasi mt-DNA udang mempunyai sequence 5'-AATCGGGCTG-3'. Untuk mengetahui pola pita tunggal yang dihasilkan dari amplifikasi mt-DNA, maka digunakan 1% agarose gel dalam 1xTBE (Tris Boric Acid EDTA) buffer dengan lama electrophoresis 25-30 menit. Sebagai molekuler marker digunakan DNA ladder 100 bp, sedangkan untuk pewarnaan digunakan *ethidium bromide* dengan cara perendaman selama 10 menit dan pencucian dengan air selama 10 menit. Hasil yang diperoleh diamati di bawah UV transilluminator dan didokumentasikan dengan gel camera.

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

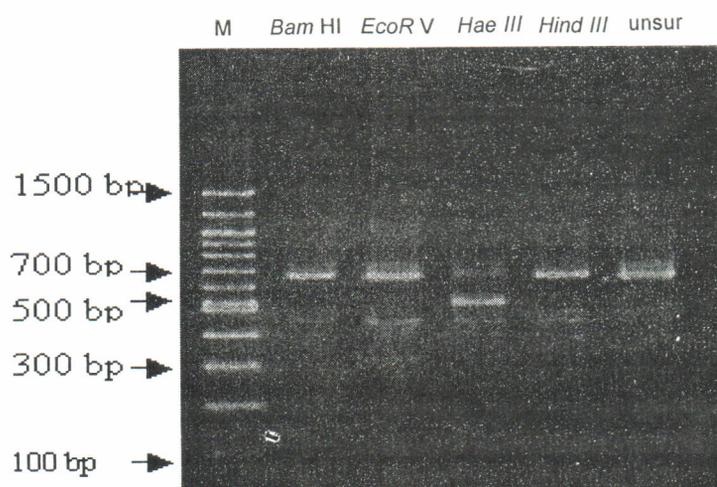
Untuk mengetahui polimorfisme dan marker enzim restriksi, *template* mt-DNA produk amplifikasi PCR dipotong dengan enzim restriksi *Hind* III (A'AGCTT); *Bam* HI (G'GATCC); *EcoR* V (GAT'ATC) dan *Hae* III (GG'CC). Pemotongan *template* mt-DNA diawali dengan menyiapkan larutan 10 x buffer, 100 x BSA, enzim restriksi dan aquadest serta *template* mt-DNA produk amplifikasi PCR dengan konsentrasi tertentu. Selanjutnya diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 37°C selama 2,5-3 jam.

Dengan menggunakan 1,5% agarose gel dalam 1xTBE buffer dan proses elektroforesis selama 30-35 menit serta pewarnaan dengan *ethidium bromide* selama 10 menit, maka akan diperoleh potongan fragmen dari masing-masing *template* mt-DNA. Sebagai molekuler marker digunakan DNA ladder 100 bp, sedangkan untuk kontrol digunakan *template* mt-DNA yang tidak mengalami pemotongan. Hasil yang diperoleh diamati di bawah UV transilluminator pada 320 nm dan didokumentasikan dengan gel kamera. Untuk mengkonfirmasi genotip frekuensi dilakukan analisis Chi-square dari hukum Hardy-Weinberg dengan menggunakan *software* GEN-POP Program. Parameter yang diukur meliputi panjang dan bobot total udang, susunan bobot molekul DNA, heterosigositas, genotip, dan frekuensi alel.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil amplifikasi PCR dari genom mt-DNA udang windu pada masing-masing perlakuan dengan suhu *annealing* 36°C dapat membentuk ikatan antara *template* DNA udang dengan primer OPA 4, dan bobot molekul untai DNA udang windu adalah 650 bp. *Template* mt-DNA yang dihasilkan dari produk amplifikasi PCR setelah dilakukan pemotongan dengan 4 (empat) enzim restriksi, ternyata hanya ada 2 (dua) enzim yang dapat memotong fragmen DNA udang windu secara sempurna (Gambar 1).

Dari Gambar 1 terlihat bahwa dengan restriksi enzim *EcoRV* dan *Hae* III dapat memotong *template* mt-DNA menjadi 2 sisi pemotongan. Ukuran fragmen 2 sisi pemotongan bervariasi, dari 225 dan 425 bp untuk pemotongan dengan enzim *EcoRV*, sedangkan pemotongan dengan enzim restriksi *Hae* III, ukuran fragmen yang dihasilkan juga ada 2 sisi yaitu



Gambar 1. Pemotongan *template* mt-DNA dengan enzim restriksi *Bam* HI, *EcoR* V, *Hae* III, dan *Hind* III dari udang windu, *P. monodon* tambak yang berbeda ukuran dan sumber induk

Figure 1. *Template* mt-DNA digested with **Bam** HI, **EcoR** V, **Hae** III, and **Hind** III restriction enzyme of pond reared black tiger shrimp from different size and broodstock sources

berukuran 150 dan 500 bp. Pemotongan dengan restriksi enzim *Bam* HI dan *Hind* III, menunjukkan bahwa *template* mt-DNA tidak mengalami pemotongan. Nampaknya penggunaan restriksi enzim *Bam* HI dan *Hind* III menghasilkan pemotongan parsial pada *template* mt-DNA udang windu, yaitu ditandai dengan adanya bayangan pita tipis pada agarose gel setelah mengalami pewarnaan.

sempurna, sehingga diperoleh pita tunggal. Dari hasil amplifikasi ini selanjutnya masing-masing pita dipotong dengan restriksi enzim *EcoRV* dan *Hae* III.

Pada benih yang dipelihara dari induk asal Aceh menunjukkan adanya keragaman fragmen DNA yang bervariasi setelah dilakukan pemotongan dengan enzim restriksi *Hae* III dan *EcoRV*. Pada Tabel 2 terlihat bahwa restriksi enzim *EcoRV* hanya memberikan satu

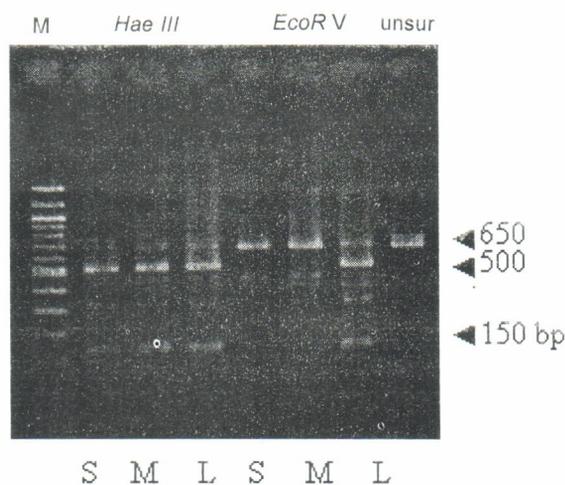
Tabel 2. Ukuran fragmen (*base pairs*) dan sisi pemotongan enzim restriksi *EcoRV* dan *Hae* III untuk bobot molekul 650 bp pada sampel *P. monodon* dengan ukuran yang berbeda dari induk asal Aceh

Table 2. *Fragment size (base pairs) and restriction sites of the EcoR V and Hae III restriction enzymes digested at 650 bp of pond reared black tiger shrimp at different size of Aceh broodstock*

Enzim restriksi <i>Restriction enzyme</i>	Lokasi/ukuran (ekor) <i>Location/size (ind.)</i>	Sisi pemotongan <i>Restriction Site</i>		Ukuran fragmen <i>Fragment size</i>		
		1	2	1	2	3
<i>EcoR V</i>	Aceh					
	Kecil (<i>small</i>) (10)	350	0	300	350	0
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	350	0	300	350	0
	Besar (<i>large</i>) (10)	150	500	150	200	350
<i>Hae</i> III	Aceh					
	Kecil (<i>small</i>) (10)	150	350	150	200	300
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	150	300	150	200	300
	Besar (<i>large</i>) (10)	150	350	150	200	300

Jumlah sisi pemotongan dan ukuran fragmen mt-DNA dari sampel udang windu yang berbeda ukuran dan sumber induk disajikan pada Tabel 2,3,4 dan Gambar 2,3,4. Hasil yang diperoleh dari amplifikasi mt-DNA dengan primer OPA-4 menunjukkan bahwa universal primer yang digunakan dapat mengamplifikasi target region (16 s r DNA) secara

sisi pemotongan pada *template* mt-DNA udang berukuran kecil dan sedang yaitu pada 350 bp, sedangkan pada udang berukuran besar terjadi 2 sisi pemotongan sebesar 150 dan 500 bp. Nampaknya, multiplikasi fragmen DNA pada udang yang tumbuh cepat (ukuran besar) lebih panjang bila dibandingkan dengan yang berukuran sedang atau kecil. Lain halnya



Gambar 2. Pemotongan template DNA dengan enzim restriksi *EcoR V* dan *Hae* III pada udang windu, *P. monodon* tambak yang berbeda ukuran dari sumber induk Aceh

Figure 2. *Template DNA digested with EcoR V and Hae III restriction enzyme of pond reared black tiger shrimp at different size from Aceh broodstock*

pada enzim restriksi *Hae* III memberikan 2 sisi pemotongan, baik pada udang ukuran kecil, sedang, atau besar. Dari hasil ini menunjukkan bahwa enzim *Hae* III yang mempunyai sequence 5'GGCC 3' dapat

EcoR V dan *Hae* III tidak menunjukkan perbedaan, baik pada udang berukuran kecil, sedang maupun besar yaitu dengan bobot molekul 150 dan 500 bp. Dari hasil ini terlihat bahwa haplotipe pada benih udang

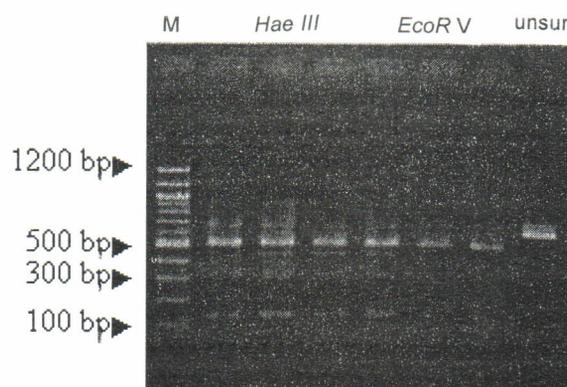
Tabel 3. Ukuran fragment (*base pairs*) dan sisi pemotongan enzim restriksi *EcoR* V dan *Hae* III untuk bobot molekul 650 bp dari sampel *P. monodon* tambak asal Sumbawa dengan ukuran yang berbeda
 Table 3. *Fragment size (base pairs) and restriction sites of the EcoR V and Hae III restriction enzymes digested at 650 bp of pond reared black tiger shrimp at different size of Sumbawa broodstock*

Enzim restriksi <i>Restriction enzym</i>	Lokasi/ukuran (ekor) <i>Location/size (ind.)</i>	Sisi pemotongan <i>Restriction Site</i>	
		1	2
<i>EcoR</i> V	Sumbawa		
	Kecil (small) (10)	150	500
	Sedang (medium) (10)	150	500
	Besar (large) (10)	150	500
<i>Hae</i> III	Sumbawa		
	Kecil (small) (10)	150	500
	Sedang (medium) (10)	150	500
	Besar (large) (10)	150	500

memotong *sequence* basa mt-DNA udang dengan sempurna. Berat molekul masing-masing fragment DNA yang mengalami pemotongan dengan enzim *Hae* III menunjukkan bobot yang sama pada udang yang mempunyai variabilitas pertumbuhan berbeda, yaitu 150, 200, dan 300 bp (Tabel 2 dan Gambar 2).

asal Sumbawa relatif lebih rendah (Gambar 3) bila dibandingkan dengan benih yang berasal dari Aceh.

Hasil analisis dengan menggunakan enzim restriksi *EcoR* V terhadap mt-DNA produk amplifikasi udang yang mempunyai variabilitas pertumbuhan dari induk asal Jawa Timur, menghasilkan potongan fragmen DNA yang sama untuk ukuran udang kecil dan sedang



Gambar 3. Pemotongan template DNA dengan enzim restriksi *EcoR* V dan *Hae* III dari udang windu, *P. monodon* asal tambak yang berbeda ukuran dari sumber induk Sumbawa

Figure 3. *Template DNA digested with EcoR V and Hae III restriction enzyme of pond reared black tiger shrimp at different size from Sumbawa broodstock*

Bila dilihat dari benih udang yang dihasilkan dari induk asal Sumbawa (Tabel 3), pemotongan template DNA dengan restriksi enzim *EcoR* V dan *Hae* III hanya terjadi 1 sisi pemotongan yaitu pada 150 bp, sedangkan ukuran fragmen hasil pemotongan dengan

yaitu 200 dan 450 bp (Tabel 4) dan 1 sisi pemotongan (200 bp), sedangkan pada udang ukuran besar, fragmen DNA terlihat lebih bervariasi.

Pada pemotongan mt-DNA dengan enzim restriksi *Hae* III menghasilkan potongan fragmen DNA yang

Tabel 4. Ukuran fragmen (*base pairs*) dan sisi pemotongan enzim restriksi *EcoR V* dan *Hae III* untuk berat molekul 650 bp dari sampel *P. monodon* tambak asal Jawa Timur dengan ukuran yang berbeda
 Table 4. *Fragment size (base pairs) and restriction sites of the EcoR V and Hae III restriction enzymes digested at 650 bp of pond reared black tiger shrimp at different size of East Java broodstock*

Enzim restriksi <i>Restriction enzyme</i>	Lokasi/ukuran (ekor) <i>Location/size (ind.)</i>	Sisi pemotongan <i>Restriction Site</i>		Ukuran fragmen <i>Fragment size</i>		
		1	2	1	2	3
<i>EcoR V</i>	Jawa Timur (<i>East Java</i>)					
	Kecil (small) (10)	200	0	200	450	0
	Sedang (medium) (10)	200	0	250	400	0
	Besar (large) (10)	200	300	150	250	350
<i>Hae III</i>	Jawa Timur (<i>East Java</i>)					
	Kecil (small) (10)	200	0	150	450	0
	Sedang (medium) (10)	200	300	150	200	300
	Besar (large) (10)	200	350	150	200	300

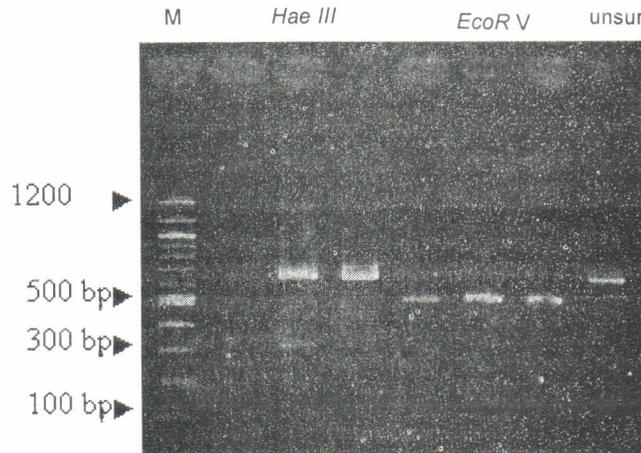
berbeda untuk ukuran udang yang berbeda. Pada udang berukuran kecil, fragmen DNA dapat terpotong sebanyak 2 potongan fragmen, sedangkan pada udang ukuran besar terpotong 3 fragmen. Hal ini dimungkinkan bahwa udang yang tumbuh cepat nampaknya mempunyai lokus pertumbuhan yang secara genetis tidak dipunyai oleh udang yang tumbuh lambat atau sedang.

Dari Gambar 4 terlihat bahwa fragmen mt-DNA setelah mengalami pemotongan dengan *EcoR V* dan *Hae III* memberikan pola pita dengan jarak migrasi yang berbeda untuk ukuran udang yang berbeda. Nampaknya, enzim restriksi *Hae III* dapat lebih menunjukkan kemampuan pemotongan ikatan nukleotida mt-DNA udang pada daerah target tertentu.

Penggunaan mt-DNA untuk penentuan gen marker pada penelitian ini diasumsikan oleh karena mt-DNA

mempunyai variabilitas yang lebih tinggi 5-10 kali dari pada kopi tunggal gen kromosom dan lebih jelas membedakan gen yang bersifat fungsional. Pemotongan *genome* mt-DNA udang windu yang berbeda ukurannya dengan beberapa enzim restriksi ternyata seringkali terlihat hasil pemotongan fragmen yang tidak sempurna (*partial digest*) maupun pemotongan fragmen secara sempurna (*complete digest*). Pemotongan secara tidak sempurna ini mungkin disebabkan kurang lamanya waktu inkubasi (37°C) pada saat pemotongan.

Hasil perhitungan frekuensi aiel dan heterosigositas dari lokus yang polimorfik melalui pemotongan mt-DNA terhadap udang windu ukuran kecil, sedang, dan besar menunjukkan bahwa udang yang mempunyai ukuran besar tidak selalu mempunyai pertumbuhan yang lebih cepat. Pada



Gambar 4. Pemotongan *template* mt-DNA dengan enzim restriksi *EcoR V* dan *Hae III* pada udang windu, *P. monodon* asal tambak yang berbeda ukuran dari sumber induk Jawa Timur
 Figure 4. *Template DNA digested with EcoR V and Hae III restriction enzyme of pond reared black tiger shrimp at different size from East Java broodstock*

Tabel 5 terlihat bahwa alel frekuensi dan variasi genetik masing-masing ukuran dengan kedua enzim restriksi menunjukkan perbedaan, yaitu penggunaan Hae III memberikan tingkat variasi yang lebih tinggi, sebesar 0,78; sedangkan pemotongan dengan enzim restriksi *EcoR V* menunjukkan keanekaragaman genetik sebesar 0,48.

Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa heterosigositas udang tambak yang berasal dari sumber induk Aceh ternyata mempunyai tingkat heterosigositas yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan induk dari Sumbawa dan Jatim. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Mo-

ria *et al.* (2002) dengan menggunakan teknik RAPD dan Sugama *et al.* (1996) dengan teknik *isozyme electrophoresis* menunjukkan bahwa variasi genetik induk asal Aceh jauh lebih tinggi dari sumber induk daerah lain. Menurut Garcia & Benzie (1995) teknik RAPD *marker* juga sangat potensial untuk digunakan pada udang penaeid. Dari Tabel 5 menunjukkan bahwa proporsi genotip berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg ($P < 0,05$). Hal ini berarti bahwa cara pembacaan genotip adalah benar adanya.

Analisis melalui mt-DNA telah banyak digunakan sebagai *marker* dalam penelitian populasi, namun

Tabel 5. Alel frekuensi dan heterosigositas udang windu tambak dengan ukuran dan sumber induk yang berbeda

Table 5. Frequency allele and heterozygosity of pond reared black tiger shrimp from different sizes and broodstock sources

Lokus <i>Locus</i>	Lokasi/ukuran (ekor) <i>Location/size (ind.)</i>	Alel frekuensi <i>Frequency allele</i>				X^2	He	Ho
		A	B	C	D		<i>Expected</i>	<i>Observed</i>
EcoR V	Sumbawa							
	Kecil (<i>small</i>) (10)	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	0.750	0.050	0.200	0.000	0.020	0.395	0.500
	Besar (<i>large</i>) (10)	0.700	0.300	0.000	0.000	0.070	0.420	0.600
	Aceh							
	Kecil (<i>small</i>) (10)	0.550	0.050	0.100	0.300	0.150	0.595	0.900
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	0.750	0.250	0.000	0.000	0.040	0.375	0.500
	Besar (<i>large</i>) (10)	0.750	0.250	0.000	0.000	0.040	0.375	0.500
	Jawa Timur (<i>East Java</i>)							
	Kecil (<i>small</i>) (10)	0.750	0.150	0.050	0.050	0.017	0.410	0.500
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	0.800	0.000	0.150	0.050	0.012	0.335	0.400
	Besar (<i>large</i>) (10)	0.750	0.250	0.000	0.000	0.040	0.375	0.500
	Rata-rata Average Ho							0.480
Hae III	Sumbawa							
	Kecil (<i>small</i>) (10)	0.600	0.250	0.150	0.000	0.108	0.555	0.800
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	0.950	0.050	0.000	0.000	0.000	0.095	0.100
	Besar (<i>large</i>) (10)	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	Aceh							
	Kecil (<i>small</i>) (10)	0.500	0.300	0.200	0.000	0.200	0.620	1.000
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	0.550	0.100	0.050	0.300	0.156	0.595	0.900
	Besar (<i>large</i>) (10)	0.650	0.350	0.000	0.000	0.130	0.455	0.700
	Jawa Timur (<i>East Java</i>)							
	Kecil (<i>small</i>) (10)	0.500	0.300	0.200	0.000	0.230	0.620	1.000
	Sedang (<i>medium</i>) (10)	0.500	0.200	0.300	0.000	0.230	0.620	1.000
	Besar (<i>large</i>) (10)	0.650	0.350	0.000	0.000	0.139	0.455	0.700
	Rata-rata Average Ho							0.780

masih sedikit digunakan sebagai *genetic marker* untuk pertumbuhan krustase. Dari penelitian sebelumnya telah menguji variasi *allozyme* dan menghasilkan tingkat subdivisi populasi udang penaeid yang sangat rendah (Mulley & Latter, 1980; Benzie *et al.*, 1992; Sodsuk *et al.*, 1992). Penelitian Sunden & Davis (1991) mendapatkan tingkat heterosigositas yang lebih rendah dan hilangnya alel langka dari populasi budi daya *P. vannamei*. Hal ini dikhawatirkan akan berpengaruh terhadap turunan individu berikutnya.

Kedua enzim restriksi yang digunakan ternyata *Hae III* dapat memberikan jumlah sisi pemotongan (*site restriction*) yang lebih banyak dibandingkan dengan *EcoR V*. Hal ini dimungkinkan karena *sequence* dari *Hae III* yang lebih pendek yaitu *4 base cutter* (GG'CC) dibandingkan dengan *EcoR V* yang mempunyai *6 base cutter* (GAT'ATC). Oleh karena itu untuk saat ini enzim restriksi *Hae III* dapat digunakan sebagai *marker* mt-DNA untuk indikator seleksi induk yang dianggap unggul (mempunyai keragaan dan tumbuh cepat).

Teknik elektroforesis untuk pemisahan protein telah memungkinkan para ahli genetik untuk mensurvei populasi alami dari krustase. Data dari 97 spesies krustase yang ada menunjukkan bahwa level polimorfisme kelompok ini relatif rendah (Hedgecock *et al.*, 1982) bila dibandingkan dengan kelompok ikan dengan heterosigositas rata-rata 0,073. Sementara itu menurut Ovenden (1990), spesies laut diketahui mempunyai diversitas intraspesifik mt-DNA *sequence* yang lebih rendah (kurang dari 1,0%) dibandingkan dengan spesies darat atau air tawar dan hasil survey pada variasi mitokondria strain *P. monodon* menunjukkan perbedaan genetik yang nyata (*divergence* ~ 1,7%) antara populasi Fiji dengan Malaysia dan Australia.

Dengan kenyataan bahwa udang mempunyai tingkat heterogenitas yang rendah dan adanya korelasi positif terhadap pertumbuhan, maka penentuan *genetic marker* sangat diperlukan. Dari hasil penelitian ini terlihat nyata bahwa pendeteksian polimorfisme terbaik untuk membedakan variabilitas pertumbuhan udang adalah dengan enzim restriksi *Hae III*.

KESIMPULAN

Enzim restriksi *Hae III* yang mempunyai *4-base cutter* memberikan jumlah polimorfisme yang lebih tinggi dan dapat digunakan sebagai *marker variabilitas* pertumbuhan udang.

SARAN

Untuk menentukan secara genotip benih udang yang cepat tumbuh, perlu dicari lokus gen yang bertanggung jawab pada proses regulasi pertumbuhan. Di samping itu juga perlu dilakukan analisis lebih

lanjut dengan menggunakan primer yang dapat mengamplifikasi gen spesifik untuk pertumbuhan, sehingga didapatkan *marker* gen pertumbuhan yang akurat dan dapat digunakan sebagai dasar seleksi induk udang yang unggul secara fenotip atau genotip.

DAFTAR PUSTAKA

- Benzie, J.A.H., S. Frusher, and E. Ballment. 1992. Geographical variation in allozyme frequencies of *Penaeus monodon* (Crustacea : Decapoda) populations in Australia. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 43:715--725.
- Benzie, J.A.H. and S.T.W. Williams. 1996. Limitation of the genetic variation of hatchery produced batches of Giant Clam, *Tridacna gigas*. *Aquaculture*. 139: 225--241.
- Ferguson, M.M. and L.R. Drahushchak. 1990. Diseases resistance and enzyme heterozygosity in rainbow trout. *Heredity*. 64: 413--417.
- Garcia, D.K. and J.A.H. Benzie. 1995. RAPD marker of potential use in penaeid prawn (*Penaeus monodon*) breeding program. *Aquaculture*. 130: 137--144.
- Goundie, C.A., Q. Liu, B.A. Simeo, and K.B. Davis. 1995. Genetic relationship of growth, sex and Glucose Phosphatase Isomerase-B in Channel cat fish. *Aquaculture*. 138: 119--124
- Hedgecock, D., M.L. Tracey, and K. Nelson. 1982. *The Biology of Crustacea*. Vol. 2. *Embryology, Morphology, and Genetic*. Academic Press, New York, Ny. pp.283--402.
- Jufri, M. Marzuqi, N.A. Giri, dan C. Kuma. 1993. Pengaruh penambahan vitamin E terhadap perkembangan gonad udang windu *Penaeus monodon* asal tambak. *Jurnal Penelitian Budidaya Pantai*, Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai Terbitan Khusus. p.117-126.
- Leary, R.F., F.W. Allendorf, and K.L. Knudsen. 1995. Development instability as an indicator of reduced genetic variation in hatchery trout. *Tran.Am.Fish.Soc.* 114: 230--235.
- Mulley, J.C. and Latter, B.D.H. 1980. Genetic variation and evolutionary relationship within a group of thirteen species of penaeid prawns. *Evolution*. 904--916.
- Moria, S.B., Haryanti, K. Sugama, dan G.N. Permana. 2002. Variasi genetik induk udang windu, *P. monodon* melalui analisa RAPD (Random Amplification Polymorphism DNA). *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*. IX(1): 29--33.
- Ovenden, J.R., 1990. Mitochondrial DNA and marine stock assessment : A Review. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 41:835--853.
- Ovenden, J.R. 2000. *Development of Restriction Enzyme Markers for Red Snapper (Lutjanus erythropterus and Lutjanus malabaricus) Stock Discrimination using Genetic Variation in Mitochondria DNA*. Molecular Fisheries Laboratory, Southern Fisheries Center. 18 pp.

- Sodsuk, S., McAndrew, B.J. and Penman, D.J. 1992. Genetic population structure of the giant tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricus, 1978) in the gulf of Thailand and the Andaman sea. In : D. Penman, N. Roongratri and B. McAndrew (Eds.), *AADCP Workshop Proceedings*. p.161--165.
- Sugama, K., N. Taniguchi, and S. Seki. 1992. Survival growth and gonad development of diploid and triploid. Use allozyme for ploidy and family identification. *Aquaculture Fish Manag.* 23: 149--159.
- Sugama, K., Haryanti, S. Tsumura, dan N. Tamaguchi. 1996. Genetic variation and population structure of *Penaeus monodon* in Indonesia. *SEAFDEC. Simp.* 16 pp.
- Sugama, K., Haryanti, dan S. Ismi. 1993. Keragaaan reproduksi induk udang windu *Penaeus monodon* asal Sumbawa, Madura dan hibridanya. *Jurnal Penelitian Budidaya Pantai Terbitan Khusus*. p. 133-138.
- Sunden, S.L.F and Davis, S.K. 1991. Evaluation of genetic variation in a domestic population of *Penaeus vannamei* (Boone): a comparison with three natural population. *Aquaculture*. 97: 131--142.
- Trijoko, T. Sutarmat, T.Rochimat, dan S. Lante. 1993. Pengaruh jenis pakan segar terhadap perkembangan gonad udang windu *Penaeus monodon*. *Jurnal Penelitian Budidaya Pantai Terbitan Khusus*. p. 23--30.