

## EVALUASI VARIASI GENETIK TIGA RAS IKAN GURAME (*Osphronemus gouramy*) DENGAN MENGGUNAKAN ISOZYME

Estu Nugroho<sup>\*)</sup> dan Irin Iriana Kusmini<sup>\*)</sup>

### ABSTRAK

Evaluasi variasi genetik tiga ras ikan gurame dilakukan sebagai tahap awal dalam mengatasi masalah budi daya ikan gurame yaitu tumbuh lambat. Variasi genetik ras ikan gurame yaitu bastar, bule, dan blusafir yang dikoleksi dari daerah Parung-Bogor, Jawa Barat telah dievaluasi dengan menggunakan isozyme. Tidak terdapat perbedaan yang nyata di antara tiga ras ikan gurame yang diuji. Jumlah alel per lokus dan alel polimorfik berturut-turut berkisar 1,25—1,375 dan 25%--37,5%; sedangkan heterosigositas berkisar 0,125--0,137. Jarak genetik antara ras blusafir dengan bastar atau bule adalah lebih besar dibandingkan jarak genetik antara ras bastar dengan bule. Jarak genetik rata-rata di antara ketiga ras ikan gurame adalah 0,0003.

**ABSTRACT:** *Evaluation of genetic variability of three giant gouramy races using isozyme. By: Estu Nugroho and Irin Iriana Kusmini*

*Evaluation of genetic variability of three giant gouramy races is an initial effort to solve the problem in culturing giant gouramy i.e. low growth. Genetic variability of three giant gouramy races, i.e. bastar, bule, and blusafir collected from Parung-Bogor, West Java is evaluated using isozyme. There is no significant difference among three giant gouramy races. Number of allele per locus and polymorphism allele were ranged 1.25--1.375 and 25.0%--37.5% respectively, while heterozygosity was ranged 0.125--0.137. Genetic distance between blusafir and bastar or bule is farthest than genetic distance between bastar and bule. The average genetic distance among giant gouramy races is 0.0003.*

**KEYWORDS:** *genetic variability, giant gouramy, isozyme*

### PENDAHULUAN

Budi daya ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) telah banyak dilakukan oleh petani di beberapa daerah di Indonesia, khususnya daerah Jawa Barat dan Sumatera Barat (Ditjen Perikanan, 1989). Beberapa ras ikan gurame yang umumnya digunakan dalam budi daya yaitu soang, blusafir, paris, dan porselin (Sudarto, 1989). Terdapat perbedaan morfologi dan potensi pertumbuhan dari beberapa ras-ras ikan gurame tersebut (Nugroho *et al.*, 1993).

Beberapa permasalahan utama yang dihadapi oleh petani dalam usaha pengembangan budi daya ikan gurame adalah pertumbuhan yang lambat (Hatimah, 1991).

Pertumbuhan yang lambat ini dimungkinkan oleh beberapa faktor antara lain penggunaan benih yang kurang baik mutunya, cara pemeliharaan yang sekedarnya, termasuk pemberian pakan yang kurang baik. Tercatat produksi ikan gurame yang diberi pakan hijauan (daun) baru mencapai 1.000--2.000 ekor/pasang induk, dengan mortalitas 40%--60% sampai mencapai ukuran dederan. Sedangkan produksi ikan gurame yang diberi pakan komersial dikombinasikan dengan daun talas hanya mempunyai kemampuan produksi yang rendah sampai mencapai ukuran 0,5 g; yaitu antara 1.000--3.000 ekor per tahun, dengan produksi telur 5.000--7.000 butir. Produktivitas yang rendah ini juga terjadi pada ukuran konsumsi, untuk menghasilkan ukuran

<sup>\*)</sup> Peneliti pada Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor

500--600 g dari benih dengan bobot rata-rata 20 g, diperlukan waktu pemeliharaan sampai 9 bulan (Bittner *et al.*, 1989).

Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah pertumbuhan yang lambat adalah dengan memperbaiki mutu genetik ikan gurame, dengan penyediaan benih yang berkualitas (Royce, 1983). Langkah awal yang perlu dilakukan adalah mengkarakterisasi secara genetik jenis-jenis ras ikan gurame. Penelaahan data dasar genetik dari suatu spesies merupakan persyaratan awal yang diperlukan untuk menentukan variasi genetik atau kekerabatan yang dimiliki. Variasi genetik merupakan suatu informasi penting yang dapat digunakan untuk mengevaluasi fitness individu jangka pendek dan sintasan suatu populasi untuk jangka panjang (Ferguson *et al.*, 1995). Dengan diketahuinya variasi genetik masing-masing ras ikan gurame akan membantu untuk menentukan program *breeding* yang tepat dalam tahapan berikutnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi secara genetik tiga ras ikan gurame dengan menggunakan analisis isozyme.

## BAHAN DAN METODE

### Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan gurame ras bastar, bule, dan blusafir yang berasal dari daerah Parung-Bogor, Jawa Barat dengan ukuran panjang 5--10 cm. Jumlah ikan yang diuji masing-masing ras adalah 20 ekor.

### Isozyme

Identifikasi dan karakterisasi secara genetik ras-ras ikan gurame dilakukan dengan menggunakan metode isozyme. Tahapan pelaksanaan analisis isozyme terdiri atas persiapan sampel atau ekstraksi protein, elektroforesis, dan pewarnaan dengan menggunakan berbagai jenis enzim.

### Ekstraksi Protein

Sampel berupa daging atau organ ikan lainnya sebanyak 1--3 g dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan "homogenize". Sampel dihancurkan dengan "grinder", dan disentrifuse pada kecepatan 9.000 rpm selama 30 menit. Larutan supernatan diambil untuk dianalisis dengan elektroforesis, dan dapat disimpan pada suhu 4°C jika tidak langsung digunakan.

### Elektroforesis

Dua macam *buffer* digunakan dalam elektroforesis untuk penelitian ini yaitu TC (0,388 g tris; dan 0,252 g asam sitrat; 400 mL akuades; pH 6,7) dan LiOH (1,52 g LiOH; 11,1 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 600 mL akuades; pH 8,3). Gel yang digunakan untuk analisis isozyme disesuaikan dengan larutan *buffer* yang digunakan. Metode elektroforesis protein dilakukan sesuai dengan metode Pasteur *et al.* (1986).

### Pewarnaan atau Staining

Dua belas jenis enzim digunakan dalam proses *staining* gel hasil elektroforesis. Secara lengkap enzim serta *buffer* yang digunakan tertera pada Tabel 1.

### Analisis Data

Beberapa parameter yang diukur adalah heterozigositas (h), polimorfisme (F(p)), dan jarak genetik (Nei, 1987). Untuk mengevaluasi variasi protein-DNA antar ras ikan gurame, data frekuensi allel dianalisis dengan menggunakan analisis molekuler varians (AMOVA) dan Fst dalam program ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 1996). Kekerabatan antara ras ditunjukkan sebagai Jarak Genetik Standar, *Ds*, dari Nei (1972) dan dilukiskan dengan UPGMA dendrogram dalam program PHYLIP (Felstein, 1993).

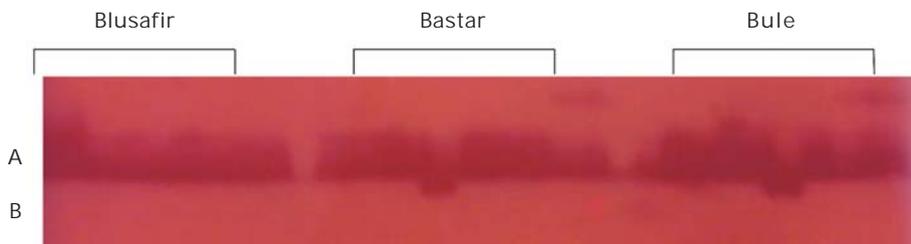
## HASIL DAN BAHASAN

Enam dari 12 enzim dan protein yang diuji dapat digunakan dalam analisis isozyme ikan gurame dengan menghasilkan 8 lokus yaitu, 6Pgd, Ldh, Mdh-1, Mdh-2, Pt-1, Pt-2, Gpi, dan aGpdh. Dua sistem *buffer* yang diuji adalah Tris-Citrate pH 6,7 (TC 6,7) dan Tris-Lithium-Citrate-Borate pH 8,3 (LiOH 8,3). Namun dari dua *buffer* tersebut, hanya *buffer* TC yang menunjukkan hasil yang baik, sedangkan dengan *buffer* LiOH tidak ada lokus yang teridentifikasi (Tabel 1). Jadi sistem *buffer* LiOH tidak dapat digunakan dalam identifikasi keragaman dan kekerabatan ikan gurame. Salah satu contoh pola isozyme pada ikan gurame tercantum pada Gambar 1.

Jumlah alel per lokus rata-rata yang teramati adalah 1,375 masing-masing pada ras bastar dan bule dan 1,25 pada ras blusafir. Sedangkan polimorfisme untuk setiap ras adalah 37,5% (bastar dan bule) dan 25% (blusafir). Nilai heterozygositas yang teramati pada ras-ras ikan gurame adalah 0,125 untuk ras blusafir

Tabel 1. Jenis enzim, protein, *buffer* yang digunakan dan lokus yang teridentifikasi  
 Table 1. *Types of enzyme, protein, buffer, and locus identified in giant gouramy*

Jenis enzim <i>Type of enzyme</i>	Nomor E. C.	Bufen <i>Buffer</i>	Lokus <i>Locus</i>
Alkohol dehidrogenase (ADH)	1.1.1.1	TC 6.7 LiOH 8.3	- -
Fumarase (FUM)	4.2.1.2	TC 6.7 LiOH 8.3	- -
6-Phosphoglukonat dehidrogenase (6PGDH)	1.1.1.44	TC 6.7	6Pgd
L-Laktat dehidrogenase (LDH)	1.1.1.27	TC 6.7 LiOH 8.3	Ldh -
Malate dehidrogenase (MDH)	1.1.1.37	TC 6.7 LiOH 8.3	Mdh-1 Mdh-2 -
Protein total (Pt)	-	TC 6.7 LiOH 8.3	Pt-1 Pt-2 -
Glukosa-phosphat-isomerase (GPI)	5.3.1.9	TC 6.7	Gpi
Alpha gliserolphosphate dehydrogenase ( $\alpha$ GPDH)		TC 6.7 LiOH 8.3	aGpdh -
Fructose biphosphatase (FBP)	3.1.3.11	TC 6.7	-
Isocitrate dehidrogenase (IDHP)	1.1.1.42	TC 6.7	-
Mannose phosphate isomerase (MPI)	5.3.1.8	TC 6.7	-
Phosphoglucomutae (PGM)	5.4.2.2	TC 6.7	-



Gambar 1. Pola isozyme pada lokus Gpi dari tiga ras ikan gurame  
 Figure 1. *Isozyme pattern of three giant gouramy races at locus Gpi*

dan masing-masing 0,137 untuk ras bastar dan bule (Tabel 2). Variabilitas genetik dari ketiga ras ikan gurame yang diamati pada penelitian ini tergolong sangat rendah. Rendahnya variabilitas ikan gurame merupakan kondisi yang umumnya juga dijumpai pada ikan air tawar lainnya seperti misalnya ikan *threespine stickleback* (Taniguchi *et al.*, 1990) dan ikan belida (Nugroho *et al.*, 2001).

Penyebab utama dari fenomena ini diduga adalah terisolirnya atau terbatasnya kemampuan migrasi dari ikan-ikan air tawar, sehingga menurunkan kemungkinan bercampurnya dengan ikan-ikan dari populasi lainnya. Keadaan ini diperparah dengan adanya preferensi masyarakat untuk memelihara jenis tertentu dari ikan gurame, sehingga jenis ras ikan yang kurang disukai semakin sukar

Tabel 2. Frekuensi alel pada 8 lokus isozyme ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) ras bastar, blusafir, dan bule  
 Table 2. Allele frequency of three giant gouramy (*Osphronemus gouramy* Lac.) races at eight loci

Lokus <i>Locus</i>	Alel <i>Allele</i>	Bastar (N=20)	Blusafir (N=20)	Bule (N=20)
Mdh-1	A	0.5	0.5	0.5
	B	0.5	0.5	0.5
	H	0.5	0.5	0.5
Mdh-2	A	1	1	1
	H	0	0	0
Ldh	A	1	1	1
	H	0	0	0
6Pgd	A	1	1	1
	H	0	0	0
Gpi	A	0.95	1	0.95
	B	0.05	0	0.05
	H	0.095	0	0.095
Pt-1	A	0.5	0.5	0.5
	B	0.5	0.5	0.5
	H	0.5	0.5	0.5
Pt-2	A	1	1	1
	H	0	0	0
aGpdh	A	1	1	1
	H	0	0	0
Derajat polimorfisme <i>Polymorphic degree</i>		37.50%	25%	37.50%
Jumlah alel per lokus <i>Number of allele per locus</i>		1.375	1.25	1.375
Heterozigositas total <i>Total heterozygosity</i>		0.137	0.125	0.137

didapatkan terlihat dari nilai heterozygositas gurame ras blusafir yang lebih rendah dibandingkan dua ras lainnya yang lebih populer.

Hasil analisis sidik ragam dengan menggunakan AMOVA menunjukkan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan yang nyata pada variasi frekuensi alel antara ras-ras ikan gurame yang diuji, dengan nilai  $F_{st}=0,02$  pada taraf  $P>0,01$ . Ras-ras ikan gurame memiliki major alel (alel dengan frekuensi  $>0,01$ ) yang sama hampir pada setiap lokus, perbedaan hanya terdapat pada lokus Gpi, namun

perbedaan ini tidak tercermin secara nyata. Sehingga dapat dikatakan bahwa faktor yang bertanggung jawab pada perbedaan warna atau ekspresi fenotip pada ketiga ras ikan gurame belum dapat diketahui dengan tepat.

Secara morfometrik (Kusmini *et al.*, 2000) juga mendapatkan hasil yang serupa, bahwa secara umum, tidak terdapat perbedaan yang nyata pada bentuk tubuh ikan gurame dari ketiga ras tersebut. Ikan gurame diduga mempunyai bentuk dasar bastar, dan hanya bagian-bagian bentuk tubuh tertentu yang membedakan antar ras-ras tersebut.

Mengingat hal di atas maka masih diperlukan analisis lain dengan menggunakan metode yang lebih sensitif misalnya mikrosatelit. Perbedaan frekuensi yang terjadi pada lokus Gpi-B ini perlu diteliti lebih lanjut, apakah lokus Gpi memang dapat digunakan sebagai pembeda atau *marker*. Menurut Haris *et al.* (1976), bahwa lokus 6-Pgd dan Gpi diperlukan dalam reaksi metabolisme karbohidrat terutama pada jalan pentosa fosfat (heksosa monofosfat shunt). Goundie *et al.* (1995) mengemukakan bahwa pertumbuhan ikan *catfish* sangat dipengaruhi oleh genotip, yaitu genotip GPI-B yang dipergunakan sebagai *marker* gen.

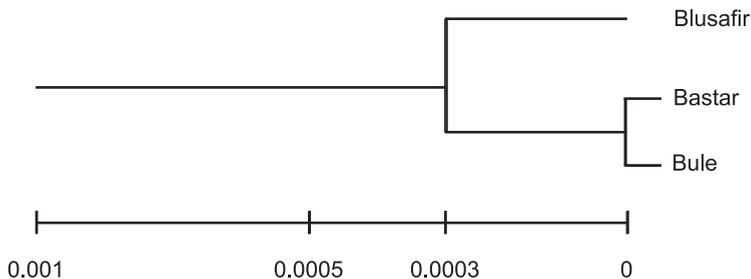
Lebih jauh, ras blusafir memiliki lebih banyak alel tunggal dibandingkan dengan dua ras lainnya yaitu bastar dan bule. Hal ini menandakan bahwa ukuran populasi ras blusafir relatif lebih kecil dibandingkan ras bastar dan bule. Keadaan ini ditandai dengan semakin sedikitnya ras blusafir yang ada di masyarakat. Fenomena ini perlu penanganan yang serius, karena jika dibiarkan berlangsung suatu saat akan terjadi kehilangan salah satu sumber genetik ikan gurame yang cukup baik. Secara umum, ikan gurame mempunyai tingkat heterozigositas yang rendah. Heterozigositas yang rendah ini diduga merupakan penyebab

lambatnya pertumbuhan ikan gurame. Agnese *et al.* (1995) dan Kincaid (1983) menerangkan bahwa penurunan variasi gen berakibat hilangnya alel yang mengontrol pertumbuhan, ketahanan terhadap penyakit sehingga berakibat fatal bagi turunan berikutnya. Populasi dengan keragaman genotip yang lebih besar akan memiliki keragaman fenotipik yang lebih besar pula (Mitton, 1987). Lebih jauh, Permana *et al.* (2000) berpendapat bahwa semakin banyak lokus yang polimorfik ukuran rata-rata bobot ikan semakin besar. Jumlah polimorfik lokus heterozigot dalam satu individu akan mempengaruhi pertumbuhan ikan. Semakin banyak lokus yang heterozigot dalam satu individu akan semakin cepat pertumbuhannya.

Jarak genetik yang dihitung menurut Nei (1987), berdasarkan frekuensi alel isozyme antara tiga ras ikan gurame tertera pada Tabel 3. Jarak genetik rata-rata antara ras ikan gurame adalah sekitar 0,0003. Dendrogram yang dibentuk berdasarkan jarak genetik tersebut menunjukkan bahwa ikan gurame ras bule mempunyai jarak lebih dekat dengan ras bastar dibandingkan dengan jarak blusafir dengan bule atau blusafir dengan bastar (Gambar 2). Nilai kekerabatan ini kemungkinan dipengaruhi

Tabel 3. Jarak genetik standar Nei ikan gurame ras bastar, bule, dan blusafir  
 Table 3. *Nei's genetic distance of giant gouramy (O. gouramy) races, bastar, bule, and blusafir*

Ras ( <i>Race</i> )	Bastar	Blusafir	Bule
Bastar	-		
Blusafir	0.0003	-	
Bule	0	0.0003	-



Gambar 2. Dendrogram jarak genetik 3 ras ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.)

Figure 2. *Dendrogram of genetic distance of three races giant gouramy (Osphronemus gouramy Lac.)*

keadaan stok yang ada di masyarakat. Mengingat ras bastar dan bule lebih banyak dipelihara, maka kemungkinan adanya percampuran antara kedua ras menjadi lebih besar dibandingkan persilangan antara ras blusafir dengan salah satu dari kedua ras lainnya.

#### KESIMPULAN

- ♦ Tidak terdapat perbedaan yang nyata antara ke tiga ras ikan gurame bule, bastar, dan blusafir.
- ♦ Jumlah alel per lokus berkisar antara 1,25 dan 1,375; dengan heterozygositas berkisar 0,125--0,137. Sedangkan persentase alel yang polimorfik yang teramati adalah 25,0%—37,5%.
- ♦ Ikan gurame ras blusafir mempunyai jarak genetik yang lebih jauh dengan kedua ras lainnya dibandingkan jarak genetik antara ras bule dan bastar. Jarak genetik rata-rata antara ras ikan gurame tercatat 0,0003.

#### DAFTAR PUSTAKA

Agnese, J.F., Z.J. Oteme, and S. Gilles. 1995. Effect of domestication on genetic variability, fertility, survival and growth rate in tropical siluriform (*Heterobranchus longifilis*, Valenciennes 1840). *Aquaculture*. 131: 197--204.

Bittner, A., R. Kepler, P. Geisler, dan S. Patanakanjoin. 1989. *Usaha Peningkatan Potensi Budi Daya, Produktivitas dan Pertumbuhan Ikan Gurame (Osphrenomus gouramy Anabantoidae) di Asia Tenggara dalam Budi Daya Air*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta. p. 151--174.

Direktorat Jenderal Perikanan. 1989. *Statistik Perikanan Indonesia 1987*. Jakarta. 136 pp.

Ferguson, A.J., B. Taggart, P.A. Prodohl, O. Mc.Meel, C. Thompson, C. Stone, P. McGinnity, and R.A. Hynes. 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations, with special reference to *Salmo*. *Journal of Fish Biology*. 47: 103--126.

Felstein, J. 1993. *PHYLIP (PHYLogeny Interference Package)*, ver. 3.5c. Univ. of Washington, Seattle. 163 pp.

Goundie, C., Liu, B.A. Simco, and K.B. Davis. 1995. Genetic relationship of growth, sex and glucophosphate isomerase-B phenotype in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*. 3: 9--24.

Haris, H. and D.A. Hopkinson. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human ge-

netics. MRC. *Human Biochemical Genetics Unit*. Galton Laboratory University London. North-Holland Publishing Company.

Hatimah, S. 1991. Pengaruh padat penebaran terhadap pertumbuhan ikan gurame (*Osphrenomus gouramy*) di kolam. Buletin Penelitian Perikanan Darat, Balitkankar Bogor. 10(1): 64--69.

Kincaid, H.L. 1983. Inbreeding in fish population used for aquaculture. *Aquaculture*. 33: 215--227.

Kusmini, I.I., L.E. Hadie, W. Hadie, dan A.H. Kristanto. 2000. Karakterisasi dalam variasi fenotip beberapa ras ikan gurame (*Ospronemus gouramy*) yang berpotensi dalam budidaya dengan analisis trustmorpometrik. *Prosiding Simposium Nasional Pengelolaan Pemuliaan dan Plasma Nutfah Menuju Ketahanan Nasional*. 7 pp.

Mitton, J.B. 1987. Relationship between heterozygosity for enzyme loci and variation of morphological characters in natural populations. *Nature*. 273: 661--662.

Nugroho, E., D. Satyani, S. Hatimahm, dan Rusmaedi. 1993. Evaluasi potensi genetic dari beberapa ras ikan gurame. *Bulletin Penelitian Perikanan Darat*. 12(1): 30--36.

Nugroho, E., A. Hardjamulia, T. Kadarini, W. Hadie, Sudarto, E.S. Girsang, S. Mardlijah, J. Widodo, Yosmaniar, Mursidin, I. Khasani, L. Setyaningsih, dan A.H. Kristanto. 2001. Keragaman genetik beberapa plasma nutfah Indonesia. *Laporan Teknis Penelitian Pusat Riset Perikanan Budidaya*. 38 pp.

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Nature*. 106: 283--292.

Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York. 512 pp.

Pasteur, N., G. Pasteur, F. Bonhomme, J. Catalan, and J.B. Davidian. 1986. *Manual technique de Genetique par Electrophorese des proteins*. Tec & Doc, Paris.

Permana, G..N., K. Sugama, S.B. Moria, dan Haryanti. 2000. Pengaruh domestikasi terhadap variasi genetik dan pertumbuhan ikan bandeng dengan analisis allozyme electrophoresis. *Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia*. Puslitbang Eksplorasi Laut dan Perikanan. 18(1): 149--158.

Royce, W.F. 1983. Introduction to the practice of fishery science. Academic Press Inc. Orlando, San Diego, New York, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. 428pp.

- Sudarto. 1989. Porselin, blusafir dan paris yang bertelur. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 11(2): 1--2.
- Schneider, S., J.M. Kueffer, D. Roessli, and L. Excoffier. 1996. Arlequin: *A Software Package for Population Genetics*. Univ. of Geneva, Geneva, Switzerland. 173 pp.
- Taniguchi, N., Y. Honma, and K. Kawamata. 1990. Genetic differentiation of freshwater and anadromous threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) from Northern Japan. *Japan J. Ichthyol.* 37(3): 230--238.