

KARAKTER GENETIK POPULASI IKAN MAS, *Cyprinus carpio* HASIL PERSILANGAN

Didik Ariyanto^{*)}, Estu Nugroho^{**)}, dan Subagyo^{*)}

ABSTRAK

Evaluasi karakter genetik populasi ikan mas hasil persilangan telah dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis protein secara horisontal. Sampel ikan sebanyak 120 ekor yang mewakili 6 populasi ikan mas adalah hasil persilangan resiprokal antara 3 strain ikan mas unggul yaitu strain majalaya, rajadanu dan sutisna. Bagian tubuh yang diambil untuk pengamatan karakter genetik adalah jaringan otot sedangkan sebagai media elektroforesis digunakan gel pati. Pada penelitian ini digunakan 12 sistem enzim untuk analisis. Hasil analisis menunjukkan bahwa 3 lokus polimorfik dari 7 lokus yang teridentifikasi, yaitu Ldh-1, Mdh-1 dan Me. Heterozigositas rata-rata sebesar 0,23 (kategori rendah). Nilai jarak genetik paling dekat sebesar 0 diperoleh antara populasi rajadanu dengan sutisna dan nilai terjauh sebesar 0,0018 antara populasi rajadanu dan sutisna dengan majalaya. Populasi rajadanu dan sutisna mempunyai pengaruh kuat terhadap struktur genetik populasi keturunan hasil persilangan dibandingkan dengan populasi majalaya.

ABSTRACT: *Genetic characters in the hybrid populations of common carp (Cyprinus carpio). By: Didik Ariyanto, Estu Nugroho, and Subagyo*

Evaluation of genetic characterization of the hybrid populations of common carp using protein electrophoresis method was conducted. The samples of 120 fishes were taken from Research Institute for Fish-breeding and Aquaculture Technology, Sukamandi. The samples has been extracted from muscle and potato starch gel was used to assess the level of genetic characters. Twelve enzymes were examined in this experiment. The result showed that 7 loci were identified that 3 of loci were polymorphs i.e. : Ldh-1, Mdh-1 and Me. An average of heterozigosity : 0.23 (low category). Genetic distance value between rajadanu and sutisna population was 0. Genetic distance value between both of rajadanu and sutisna populations from majalaya population was 0.0018. Rajadanu and sutisna strains have stronger influence to genetic structure of its offspring compared than majalaya strain.

KEYWORDS: *genetic, common carp, electrophoresis protein*

PENDAHULUAN

Budi daya ikan mas di Indonesia telah dimulai sejak akhir abad ke-19 (Anonim, 2000). Hingga sekarang budi daya ikan mas terus berlangsung bahkan semakin berkembang. Pada tahun 1996 produksi ikan mas menduduki peringkat pertama dari total produksi nasional ikan hasil budi daya dengan kontribusi sebesar

54,3% dari jumlah produksi nasional sebesar 328.475 ton atau setara dengan 178.362 ton (Anonim, 1999). Pada beberapa tahun terakhir ini produksi ikan mas semakin menurun. Hal ini disebabkan terjadinya wabah penyakit, adanya komoditas pengganti seperti ikan nila, patin dan lainnya. Selain itu juga karena adanya indikasi penurunan kualitas genetik ikan mas yang mengakibatkan laju pertumbuhan semakin

^{*)} Peneliti pada Loka Riset Pemuliaan dan Teknologi Budidaya Perikanan Air Tawar, Sukamandi

^{**)} Peneliti pada Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor

menurun. Salah satu alternatif terbaik untuk mengatasi permasalahan di atas, khususnya penurunan kualitas genetik, adalah melalui upaya pemuliaan terhadap komoditas ikan mas tersebut (Subagyo *et al.*, 2001).

Upaya pemuliaan melalui program seleksi pada ikan mas dimulai dengan kegiatan koleksi dan evaluasi potensi sifat reproduksi 20 strain ikan mas dari pulau Jawa, Sumatera, dan Bali. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa strain ikan majalaya, sutisna dan rajadanu berpotensi untuk dikembangkan (Nugroho & Wahyudi, 1991; Hardjamulia *et al.*, 1996). Selanjutnya ke-3 strain tersebut digunakan sebagai populasi sintetik dalam rangka pembentukan ikan mas strain unggul. Penelitian tahap karakterisasi merupakan tahap dasar seleksi yang menghasilkan informasi perbedaan morfometrik (Imron *et al.*, 2000) dan karakter genetik (Ariyanto *et al.*, 2003) pada ke-3 strain ikan mas tersebut. Berdasarkan populasi sintetik tersebut, telah dihasilkan populasi dasar ikan mas pembentuk strain unggul generasi pertama (Subagyo *et al.*, 2001).

Berdasarkan hasil-hasil yang telah dicapai, tahapan selanjutnya yang penting dilakukan adalah karakterisasi genetik populasi dasar dan hasil persilangan pada ikan mas pembentuk strain unggul tersebut. Salah satu metode yang paling mudah dilakukan untuk mengidentifikasi karakter genetik suatu populasi adalah dengan menggunakan metode elektroforesis enzim. Metode ini banyak digunakan dalam identifikasi struktur populasi dan strain dari berbagai jenis ikan seperti yang dilakukan Eknath *et al.* (1991) pada ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*), Soewardi (1995) pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dan Taniguchi *et al.* (1990) pada ikan *threespine stickleback* (*Gasterosteus aculeatus*) dari Jepang.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter genetik dan keragaman genetik populasi ikan mas hasil persilangan dua arah (*diallel crossing*) pada ke-3 strain ikan mas di

atas. Sebagai data pendukung juga disajikan hasil penelitian Ariyanto *et al.* (2003) mengenai karakter genetik 3 strain ikan mas yang digunakan sebagai induk dalam persilangan.

MATERI DAN METODE

Ikan uji adalah populasi dasar ikan mas pembentuk strain unggul generasi pertama yaitu 6 persilangan antara strain majalaya, sutisna dan rajadanu ditambah dengan 3 populasi tetua aslinya. Enam populasi yang terbentuk masing-masing dipelihara secara terpisah menggunakan hapa di dalam kolam pendederan selama 2 bulan. Dua puluh ekor ikan diambil secara acak dari setiap populasi sebagai sampel sehingga jumlah total sampel ikan sebanyak 120 ekor. Bobot rata-rata sampel ikan 10 g/ekor. Enam persilangan dua arah antara 3 strain ikan mas tersebut disajikan pada Tabel 1.

Persilangan dilakukan di kolam percobaan Instalasi Riset Plasma Nutfah Perikanan Air Tawar, Cijeruk-Bogor, sedangkan analisis biokimia enzimatik menggunakan metode elektroforesis dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler dan Kesehatan Ikan Pasar Minggu, Jakarta. Metode penelitian yang digunakan adalah metode elektroforesis protein secara horisontal mengikuti Taniguchi dan Sugama (1990). Jaringan yang dipakai sebagai bahan ekstraksi adalah jaringan otot. Sebagai media elektroforesis digunakan gel yang dibuat dari suspensi tepung kentang dengan konsentrasi 12% yang dihidrolisis, sedangkan sebagai larutan penyangga (*buffer*) digunakan *Triss citric acid* pH 6,3 (TC-6,3). *Running* dilakukan pada suhu ± 4°C, selama 3--4 jam dengan arus listrik sebesar 48 mA. Visualisasi pita hasil migrasi elektroforesis dilakukan dengan perwarnaan histokimia dan pewarna protein umum (non spesifik). Dua belas macam sistem enzim dan protein digunakan untuk mengidentifikasi variasi genetik pada masing-masing populasi. Ke-12 macam sistem enzim

Tabel 1. Enam persilangan dua arah antara 3 strain ikan mas
Table 1. Six crossings among 3 strains of common carp

♀ \ ♂	Majalaya	Sutisna	Rajadanu
Majalaya	--	MS	MR
Sutisna	SM	--	SR
Rajadanu	RM	RS	--

dan protein tersebut adalah *Lactate dehydrogenase (Ldh)*, *Superoxide dismutase (Sod)*, *Sorbitol dehydrogenase (Sdh)*, *Malate dehydrogenase (Mdh)*, *Isocitrate dehydrogenase (Idh)*, *Aspartate dehydrogenase (Adh)*, *6-Phosphogluconate dehydrogenase (6-Pgd)*, *Glucose-6-Phosphate dehydrogenase (G-6-Pdh)*, *Protein total (Pt)*, *Maleic enzym (Me)*, *Xanthophil dehydrogenase (Xdh)* dan *b-Galactosidase (b-Gal)*. Selanjutnya gel diinkubasi pada suhu 50°C, hingga pita-pita migrasi protein hasil elektroforesis terlihat jelas. Fiksasi menggunakan larutan campuran antara asam asetik glacial 10% dan gliserine 10%. Penomoran lokus dan allel menggunakan sistem nomenklatur menurut Shaklee *et al.* (1990).

Hasil *running* yang berupa zimogram diinterpretasikan sehingga didapatkan data frekuensi alel. Selanjutnya data tersebut digunakan untuk menghitung beberapa parameter struktur genetik populasi yang meliputi derajat polimorfisme (*degree of polymorphism*) (Leary & Booke, 1990), heterozigositas rata-rata (*average heterozygosity*) dan jarak genetik (*genetic distance*) (Nei, 1972 dalam Takezaki & Nei, 1996). Analisis *cluster* dalam bentuk dendrogram dilakukan untuk mengelompokkan 6 populasi hasil persilangan dan 3 populasi tetua ikan mas berdasarkan nilai jarak genetik dengan menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic averages (UPGMA)* (Sokal & Rohlf, 1981).

HASIL DAN BAHASAN

Hasil analisis elektroforesis dalam bentuk zimogram menunjukkan bahwa dari 12 enzim yang digunakan hanya 4 macam enzim yaitu *Lactate dehydrogenase*, *Malate dehydrogenase*, *Isocitrate dehydrogenase* dan *Maleic enzyme* yang dapat mengekspresikan polimorfik. Dari ke-4 macam enzim tersebut dapat diidentifikasi 7 loci yaitu Ldh-1, Ldh-2, Mdh-1, Mdh-2, Idh-1, Idh-2 dan Me. Tiga loci di antaranya bersifat polimorfik ($P_{0,95}$) yaitu, Ldh-1, Mdh-1 dan Me (Tabel 2).

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa derajat polimorfisme populasi ikan mas sebesar 0,23% sehingga tergolong rendah. Dengan demikian berarti bahwa heterozigositas dan variasi genetik ikan mas juga relatif rendah. Keadaan ini mengindikasikan tingkat keseragaman ikan mas relatif tinggi. Keseragaman adalah salah satu hal yang diperlukan dalam usaha budidaya, tetapi merupakan hal yang harus dihindari dalam kegiatan yang bertujuan untuk konservasi di alam (Nugroho *et al.*, 2001). Rendahnya nilai derajat polimorfisme pada ikan mas ini juga merupakan hal yang banyak ditemui pada beberapa jenis ikan budidaya lainnya. Penyebab rendahnya nilai derajat polimorfisme pada jenis ikan budi daya antara lain karena aktivitas seleksi induk, terjadinya *inbreeding*, *genetic drift* dan fenomena *bottleneck effect*

Tabel 2. Jenis enzim, lokus dan alel yang diidentifikasi, jaringan dan larutan penyangga yang digunakan untuk analisis elektroforesis pada ikan mas
 Table 2. List of enzymes, loci and alleles detected, tissue and buffer tested for electrophoretic analyzed of common carp (*C. carpio*)

Enzim <i>Enzyme</i>	Lokus <i>Loci</i>	Alel <i>Alleles</i>	Jaringan <i>Tissue</i>	Penyangga <i>Buffer</i>
Lactate dehydrogenase	Ldh-1	105	Otot	TC-6.3
		100	<i>Muscle</i>	
Malate dehydrogenase	Mdh-1	90		TC-6.3
		105	Otot	
Isocitrate dehydrogenase	Idh-1	100	Otot	TC-6.3
		100	<i>Muscle</i>	
		80		
Maleic enzym	Me	90	<i>Muscle</i>	TC-6.3
		105	Otot	
		100	<i>Muscle</i>	
		95		

TC-6.3 = Triss-citric acid buffer, pH 6.3

yang merupakan akibat dari tidak terpenuhinya *gene pool* yang tidak lengkap konfigurasi pada populasi budi daya tersebut. Hal ini banyak ditemui pada sistem budi daya ikan/udang di Indonesia yang disebabkan jumlah induk yang digunakan dalam memproduksi benih tidak memenuhi *Ne* (*effective breeding number*) (Soewardi, 1995; Imron *et al.*, 1999; Permana *et al.*, 2001).

Selanjutnya berdasarkan lokus dan alel yang diidentifikasi tersebut dapat dihitung frekuensi alel pada semua lokus, jumlah rata-rata alel per lokus, derajat polimorfisme dan heterozigositas rata-rata pada masing-masing populasi. Hasil analisis lanjutan tersebut disajikan pada Tabel 3. Pada Tabel 3 terlihat bahwa enzim *Lactate dehydrogenase* (*Ldh*) yang terdeteksi pada populasi ikan mas majalaya, sutisna dan rajadanu (Ariyanto *et al.*, 2003) tidak terdeteksi pada 6 populasi ikan mas hasil persilangan. Hal ini perlu dievaluasi lebih lanjut tentang peran enzim tersebut sebagai *marker* atau karena peluang *sampling*. Jika

enzim tersebut merupakan *marker* genetik maka pada populasi majalaya kemungkinan jumlahnya sangat kecil sehingga tidak terdeteksi pada populasi hasil persilangannya.

Dalam Tabel 3 juga terlihat bahwa enzim *Isocitrate dehydrogenase* (*Idh*) terdeteksi pada 7 populasi (populasi rajadanu dan 6 populasi persilangan). Enzim tersebut diduga berpengaruh positif terhadap pertumbuhan ikan mas. Hal ini terlihat pada data yang diperoleh di lapangan, populasi ikan mas yang mengandung enzim *Idh* (populasi rajadanu dan 6 populasi persilangannya) mempunyai laju pertumbuhan relatif lebih cepat daripada populasi yang tidak mengandung enzim tersebut (Subagyo, *personal communication*). Hasil ini juga perlu dievaluasi lebih lanjut melalui penelitian yang lebih efektif tentang pengaruh enzim tersebut terhadap pertumbuhan ikan, khususnya ikan mas.

Berdasarkan Tabel 3, selanjutnya dapat dihitung nilai jarak genetik (D) antar populasi. Jarak genetik adalah suatu parameter untuk

Tabel 3. Frekuensi alel pada masing-masing lokus, derajat polimorfisme dan heterozigositas rata-rata pada 9 populasi ikan mas.

Table 3. Alleles frequency for each locus, degree of polymorphism and average of heterozigosity on 9 populations of common carp

Lokus Loci	Allel Alleles	Populasi (Populations)									
		MM	SS	RR	MS	MR	SM	SR	RM	RS	
		N=20	N=20	N=20	N=20	N=20	N=20	N=20	N=20	N=20	
LDH-1	105	0.05	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	100	0.95	1	1							
LDH-2	90	1	1	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	MDH-1	105	0.15	-	-	-	-	-	-	-	
MDH-1	100	0.85	1	1	1	1	1	0.975	0.15	0.975	
	95	-	-	-	-	-	-	0.025	0.85	0.025	
	MDH-2	80	1	1	1	1	1	0.975	1	0.975	
MDH-2	75	-	-	-	-	-	-	0.025	-	0.025	
	ME	105	0.025	ND	ND	ND	ND	0.05	ND	-	ND
		100	0.875					0.9		0.825	
95		0.1					0.05		0.175		
IDH-1	100	ND	ND	1	1	1	1	1	1	1	
IDH-2	90	ND	ND	1	1	1	1	1	1	1	
Alel/lokus		18	1	1	1	1	14	15	14	15	
Heterozigositas		0.216	0	0	0	0	0.18	0.2	0.19	0.2	
Polimorfisme		0.6	0	0	0	0	0.2	0.5	0.4	0.5	

Keterangan :

- ND (*Not detected* /tidak terdeteksi)
- Data tetua asli (MM, SS, dan RR) dari Ariyanto *et al.* (2003)

Tabel 4. Jarak genetik (D) antar 9 populasi ikan mas.

Table 4. Genetic distance (D) between 9 populations of common carp

	Populasi (Populations)								
	MM	SS	RR	MS	MR	SM	SR	RM	RS
MM	-	0.0018	0.00180	0.00166	0.00176	0.0001	0.0017	0.00068	0.0017
SS		-	0	0.00014	0.00004	0.0009	0.0009	0.00012	0.0009
RR			-	0.00014	0.00004	0.0009	0.0009	0.00012	0.0009
MS				-	0.001	0.00066	0.00004	0.00002	0.00004
MR					-	0.00076	0.00006	0.00008	0.00006
SM						-	0.0007	0.00068	0.0007
SR							-	0.00002	0.00008
RM								-	0.00002
RS									-

menyatakan tingkat perbedaan struktur genetik antar 2 populasi yang berbeda. Nilai jarak genetik antar 9 populasi ikan mas pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa jarak genetik antar 9 populasi ikan mas di atas berkisar antara 0-0,0018 dan memberikan gambaran bahwa hubungan kekerabatan antara ke 9 populasi tersebut relatif dekat. Nilai jarak genetik terdekat terdapat di antara populasi rajadanu dengan sutisna yaitu sebesar 0. Diduga kedua populasi ikan mas tersebut mempunyai struktur genetik yang sama. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Imron *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa secara morfometrik, ikan mas rajadanu dan sutisna mempunyai bentuk tubuh yang hampir sama dan diduga mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat. Sedangkan strain majalaya mempunyai bentuk tubuh yang agak berbeda, dimungkinkan mempunyai struktur genetik yang berbeda serta hubungan kekerabatan yang lebih jauh. Bila dilihat dari asal-usul ikan mas tersebut, ikan mas rajadanu berasal dari daerah Cirebon, sedangkan ikan mas sutisna berasal dari daerah Kuningan dan banyak dikembangkan oleh petani ikan di didaerah tersebut yang secara geografis tidak terlalu jauh dari Cirebon. Jarak genetik terjauh sebesar 0,0018 terdapat antara populasi ikan mas rajadanu dan sutisna dengan populasi majalaya yang berasal dari daerah Majalaya (Bandung).

Berdasarkan nilai jarak genetik, pengelompokan 9 populasi ikan mas dengan struktur genetik yang berbeda disajikan dalam bentuk dendrogram (Gambar 1). Hasil persilangan antara ketiga strain mempunyai struktur genetik yang

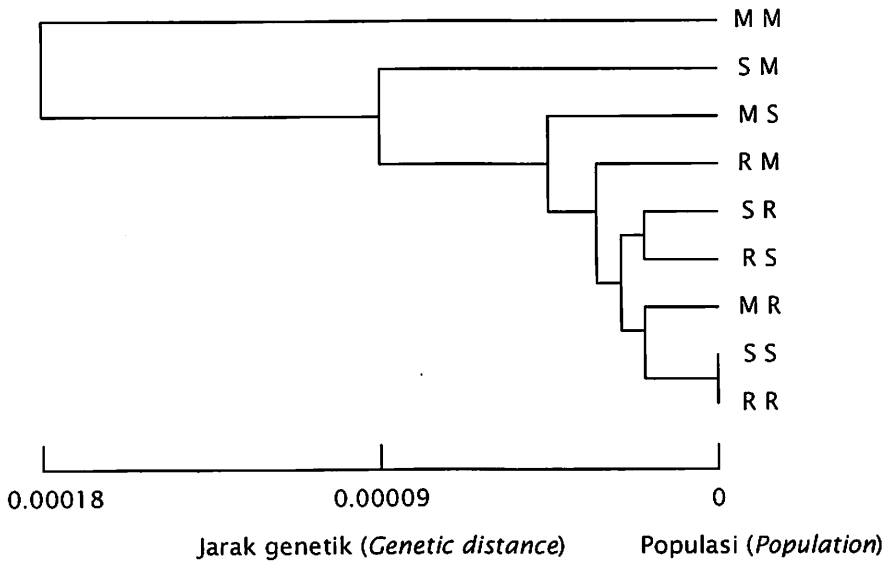
relatif lebih dekat dengan strain rajadanu dan sutisna dibandingkan dengan strain majalaya. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa strain rajadanu dan sutisna mempunyai pengaruh yang kuat terhadap keturunan yang dihasilkan. Untuk membuktikan indikasi tersebut dan kemungkinan adanya pengaruh tetua betina (*maternal effect*) pada persilangan ikan mas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

KESIMPULAN

1. Nilai heterozigositas rata-rata populasi ikan mas sebesar 0,23 dan termasuk dalam kategori rendah.
2. Hasil persilangan antar strain dapat meningkatkan nilai keragaman genetik pada populasi ikan mas.
3. Populasi rajadanu dan sutisna mempunyai pengaruh kuat terhadap struktur genetik keturunan hasil persilangannya dibandingkan dengan populasi majalaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1999. Statistik Perikanan Indonesia 1997. Direktorat Jenderal Perikanan. Jakarta.
- 2000. Hasil utama penelitian perikanan tahun anggaran 1999/2000. Warta Penel. Perik. Indonesia, 6(3-4): 30-33.
- Ariyanto, D., E. Nugroho, dan Subagyo. 2003. Karakterisasi biokimia enzimatis 4 strain ikan mas : majalaya, rajadanu, wildan dan sutisna. J. Pen. Perik. Indonesia. 9(4): 1-6
- Eknath, A.E., J.M. Macaranas, L.Q. Agustin, R.R. Velasco, M.C.A. Ablan, M.J.R. Pante, and R.S.V. Pullin. 1991. Biochemical and morphometric approaches to characterize



Gambar 1. Cluster dendrogram yang menggambarkan jarak genetik antar 9 populasi ikan mas

Figure 1. Cluster dendrogram summarising the genetic distance among 9 populations of the common carp

- farmed tilapias. ICLARM Quarterly Report, Manila, 14(2): 7--9.
- Hardjamulia, A., S. Asih, H. Supriyadi, dan B. Muharam. 1996. Karakterisasi morfologis dan evaluasi beberapa plasma nutfah ikan mas (*Cyprinus carpio*). Bulletin Plasma Nutfah, 11(1): 24--28.
- Imron, K. Sugama, K. Sumantadinata, and K. Soewardi. 1999. Genetic variation in cultured stocks of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Indonesia. Indonesian Fish. Res. J., 5(1):10--18.
- Imron, Subagyo, dan O.Z. Arifin. 2000. Keragaman truss morfometrik ikan mas strain rajadanu, wildan cianjur, sutisna kuning dan majalaya. Prosiding Penelitian Perikanan tahun 1999. Puslitbang Eksplorasi Laut dan Perikanan, p. 188--197.
- Leary, L.F. and H.E. Booke. 1990. Starch gel electrophoresis and species distinction. In : Shreck, C.B. and P.B. Moyle (Eds.). Method for fish biology. Am. Fish. Soc. Bethesda, Maryland, USA, p. 141--170.
- Nugroho, E. and N.A. Wahyudi. 1991. Selection of Several Strains of Common Carp from Various Location in Indonesia by Z. score. Fish. Res. Bull., 10 (2): 9--15.
- Nugroho, E., H. Amarullo, dan F. Sukadi. 2001. Pemuliaan dan prospek pembenihan. Warta Penel. Perik. Indonesia, 7(4): 18--23.
- Permana, I.G.N., S.B. Moria, Haryanti, dan K. Sugama. 2001. Pengaruh domestikasi terhadap variasi genetik pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang dideteksi dengan *allozyme electrophoresis*. J. Penel. Perik. Indonesia, 7(1): 25--30.
- Shaklee, J.B., F.M. Allendorf, D.C. Marizot, and G.S. Whitt. 1990. Genetic nomenclature for protein-coding loci in fish. Trans. Am. Fish. Soc., 119: 2--15.
- Sokal, R.R. and G. Rohlf. 1981. Biometry. Freeman and Co. San Fransisco, Calif, 776 pp.
- Subagyo, S. Asih, B. Muharam, O.Z. Arifin, dan D. Ariyanto. 2001. Pembentukan calon induk ikan mas strain Balitkanwar generasi ke-2. Laporan teknis proyek penguasaan teknologi perikanan air tawar, Sukamandi TA 2001, 7 pp. *Unpublished*.
- Soewardi, K. 1995. Karakterisasi populasi ikan gurame (*Osphronemus gouramy*, Lacepede), dengan metode biokimia. Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia, 3(2): 33--39.

- Takezaki, N. and M. Nei. 1996. Genetic distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetic*, 144: 389-399.
- Taniguchi, N. and K. Sugama. 1990. Genetic population and structure of red sea bream in the coastal waters of Japan in the East China sea. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56: 1,069--1,077.
- Taniguchi, N., Y. Honma, and K. Kawamata. 1990. Genetic differentiation of freshwater and anadromous threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) from northern Japan. *Japanese Journal of Ichthyology*, 37(3): 230--237.