

KERAGAMAN GENETIK BENIH IKAN KERAPU SUNU, *Plectrophomus leopardus* TURUNAN PERTAMA (F1) DENGAN ANALISIS RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP) MT-DNA

Gusti Ngurah Permana^{*)}, Sari Budi Moria Sembiring^{*)}, Ahmad Muzaki^{*)}, dan Haryanti^{*)}

ABSTRAK

Tingginya variabilitas ukuran benih merupakan salah satu kendala yang dihadapi pada perbenihan ikan kerapu sunu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi keragaman genetik benih ikan kerapu sunu yang terekspressi pada benih ukuran besar, sedang, dan kecil dan untuk mengetahui adanya perbedaan genetik dari masing-masing ukuran tersebut. Amplifikasi pita tunggal menggunakan primer 16 SrDNA (F) 5'CGCCTGTTTAACAAAAACAT-3' dan (R): 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCATGT-3'. Hasil penelitian ini diketahui panjang pita mt-DNA sekitar 625 bp. Endonuklease restriksi menggunakan enzim Mnl I menghasilkan pita yang polimorfik pada benih ukuran besar, sedangkan ukuran sedang dan kecil monomorfik. Dua komposit haplotipe 16SrDNA ditemukan pada benih yang berukuran besar yaitu ABABB dan ABAAB. Kedua tipe komposit haplotipe hanya dimiliki oleh ikan yang mempunyai ukuran besar sedangkan ikan yang mempunyai ukuran sedang dan kecil hanya memiliki komposit genotip ABABB. Nilai heterosigositas untuk benih dari Bali yang mempunyai ukuran besar (0,480), sedang (0,000), dan kecil (0,000). Heterosigositas benih dari Jawa Timur yang mempunyai ukuran besar (0,211), sedang (0,000), dan kecil (0,000). Sedangkan sampel dari Lampung untuk semua ukuran monomorfik (0,000).

ABSTRACT: *Genetic variability of coral trout fry, Plectrophomus leopardus fillial-1 by Restriction Fragment Length Polymorphism mitochondrial-DNA analysis. By: Gusti Ngurah Permana, Sari Budi Moria Sembiring, Ahmad Muzaki, and Haryanti.*

The variability of differences size was occurred on every culture period of coral trout. The aimed of this study was to know genetics variability and evaluated of which are expressed on large, medium, and small size fry on total of length sizes and different weight. Amplification of single fragment using set primer 16 SrDNA (F)5'CGCCTGTTTAACAAAAACAT-3' and reverse (R): 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCATGT-3'. Result showed that PCR amplification of mt-DNA was 625 bp. Restriction digestion processed with Mnl I enzyme showed that polymorphism in large size and monomorphic in both medium and small sizes. Two types of haplotype were found in large size (ABABB and ABAAB) while one haplotype observed in medium and small sizes ABABB. The heterozygosities value of large, medium and small sizes from Bali location were 0.480, 0.000, and 0.000 respectively. Heterozygosities value of samples from East Java were 0.211, 0.000, and 0.000 respectively. Samples from Lampung were monomorphic (0.000).

KEYWORDS: *amplification, coral trout, genetic variability, PCR, polymorphism*

^{*)} Peneliti pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

PENDAHULUAN

Pembenihan secara terkontrol untuk mengantisipasi kebutuhan benih ikan telah dilakukan di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol. Namun demikian, masih ditemukan beberapa kendala seperti rendahnya sintasan dan keragaman ukuran. Dalam teknik pembenihan secara terkontrol kendala tersebut sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (suhu, salinitas, variasi pakan) dan faktor genetik yang berbeda, sehingga akan menghasilkan turunan berikutnya dengan kualitas yang berbeda pula. Lebih lanjut Goudie *et al.* (1995) dan Chervassus & Drahuschack (1990) menyatakan bahwa terjadi hubungan yang sangat erat antara faktor genetik dengan pertumbuhan.

Beberapa faktor yang terkait dengan keberhasilan pembenihan kerapu sunu adalah manajemen induk seperti penanganan induk, kualitas induk baik genotip maupun fenotip, manajemen pakan dan lingkungan yang terkontrol. Adanya penurunan variasi genetik akibat hilangnya alel-alel pada benih hasil pembenihan dapat menghambat pertumbuhan, rentan terhadap serangan penyakit, dan perubahan lingkungan (Leary *et al.*, 1985). Upaya pemecahan masalah tersebut dapat dilakukan dengan mengevaluasi sumber-sumber genetik dan karakterisasi variasi genetik ikan kerapu sunu di alam untuk dipergunakan dalam pembenihan. Hal ini terbukti dengan terjadinya perbedaan variasi genetik dan keragaman pertumbuhan (*phenotype*) bagi turunan induk yang secara geografis berbeda (Garcia & Benzie, 1995; Hedgecock *et al.*, 1982; Benzie *et al.*, 2002; Taniguchi *et al.*, 1996). Hasil penelitian karakteristik genetik ikan kerapu sunu dari alam pada beberapa perairan menunjukkan bahwa keragaman genetik ikan kerapu sunu dari perairan Kepulauan Riau dan Sulawesi Selatan mempunyai nilai yang relatif tinggi (0,08–0,09).

Upaya pemantauan karakter genetik terhadap benih yang dihasilkan sangat berpengaruh terhadap keberlangsungan budi daya, apalagi bila turunan ikan tersebut akan digunakan sebagai calon induk. Oleh karena itu, evaluasi turunan dan induk yang telah mengalami pemijahan perlu mendapat perhatian. Kualitas calon induk dalam pembenihan di hatchery perlu dipertahankan karena terjadinya reduksi gen akan menyebabkan hilangnya sebagian karakter

genetik pada benih ikan kerapu sunu. Dengan demikian diharapkan dapat diperoleh calon induk turunan F_1 yang berkualitas baik secara genotip maupun fenotip. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi keragaman karakter genetik ikan kerapu sunu turunan pertama (F_1) dalam upaya mempersiapkan benih berkualitas dan dapat dijadikan calon induk untuk kepentingan selektif *breeding*.

BAHAN DAN METODE

Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan untuk analisis mt-DNA adalah ikan kerapu sunu turunan pertama (F_1) dengan ukuran 2,4–7,4 cm yang dihasilkan dari satu pemijahan yang sama dengan teknik pemeliharaan yang sama. Setelah mencapai ukuran yang sesuai ikan dikoleksi dan diambil secara acak dari tiga lokasi yaitu Bali, Jawa Timur, dan Lampung. Pengambilan sampel masing-masing ukuran berjumlah 25 ekor.

Data panjang total dan bobot ikan kemudian diuji secara statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan di antara ukuran benih yang diseleksi. Data benih ikan yang digunakan seperti dilihat pada Tabel 1.

Perbandingan secara morfologi benih ikan kerapu sunu yang mempunyai ukuran berbeda berdasarkan panjang total dan bobot ikan yang digunakan sebagai bahan penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

Identifikasi morfologi benih ikan kerapu sunu secara umum dapat dikemukakan bahwa sampel dari ketiga lot merupakan populasi spesies yang heterogen dalam ukuran baik panjang maupun bobot, walaupun dalam pemeliharannya dilakukan dalam satu bak untuk masing-masing lot dengan kondisi yang homogen.

Ekstraksi Genome DNA

Ekstraksi genome mt-DNA dilakukan mengikuti modifikasi metode Ovenden (2000). Jaringan daging dihancurkan dalam 500 mL larutan 10% Chelex-100 yang dimasukkan dalam *ependorf tube* dan ditambahkan 5 mL proteinase kinase (20 mg/mL) dan dipanaskan 55°C dalam *waterbath* selama 3–4 jam. Selanjutnya larutan ini dipanaskan lagi pada suhu 89°C selama 8 menit, dan didinginkan pada suhu kamar hingga dingin sebelum ditambahkan 55 mL TE buffer (10 mM Tris pH-8;

Tabel 1. Ukuran rata-rata benih ikan kerapu sunu pada tiga lokasi pengambilan sampel
 Table 1. The average size of coral trout fry from three sampling locations

Lokasi Locality	Ukuran benih Sizes	Jumlah benih (ekor) Numbers of fry	Panjang total (cm) Total length \pm SD	Bobot (g) Weight \pm SD
Lot 1 Bali	Besar (Large)	25	3.85 \pm 0.27	0.80 \pm 0.165
	Sedang (Medium)	25	3.06 \pm 0.20	0.40 \pm 0.092
	Kecil (Small)	25	2.43 \pm 0.28	0.20 \pm 0.085
Lot 2 Jawa Timur East Java	Besar (Large)	25	4.85 \pm 0.29	1.40 \pm 0.350
	Sedang (Medium)	25	3.82 \pm 0.24	0.77 \pm 0.166
	Kecil (Small)	25	2.92 \pm 0.25	0.276 \pm 0.072
Lot 3 Lampung	Besar (Large)	25	7.48 \pm 0.36	7.216 \pm 0.963
	Sedang (Medium)	25	6.92 \pm 0.40	5.328 \pm 0.887
	Kecil (Small)	25	5.32 \pm 0.25	3.016 \pm 0.360



Gambar 1. Sampel benih ikan kerapu sunu, *P. leopardus* yang mempunyai ukuran berbeda
 Figure 1. Samples of different growth size of coral trout fry, *P. leopardus*

1 mM EDTA). Genome mt-DNA dapat diperoleh dengan cara sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Larutan pada lapisan atas dan berwarna jernih merupakan genom DNA dan dipindahkan kedalam *eppendorf tube* baru dan disimpan pada suhu -20°C untuk analisis lebih lanjut.

Amplifikasi PCR genome mt-DNA

Genome DNA diamplifikasi menggunakan primer 16Sr-DNA1 dan 16Sr-DNA2 untuk memperoleh hasil DNA dengan pita tunggal.

Amplifikasi dilakukan menggunakan beberapa larutan pereaksi dengan total volume 25 μ L yang terdiri atas: *double distilled H₂O* = 14,75 μ L; 2,5 mM dNTP = 2,5 μ L; 10 X PCR *buffer* = 2,5 μ L; primer 1 (*forward*) 16SrDNA1 = 1,25 μ L; primer 2 (*reverse*) 16SrDNA2 = 1,25 μ L; taq DNA polymerase = 0,25 μ L; *template* DNA = 2,5 μ L. Amplifikasi mt-DNA menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan susunan *thermal cycler* DNA selengkapnya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Program thermal cycler amplifikasi PCR mt-DNA ikan kerapu sunu
 Table 2. Thermal cycler program for mt-DNA PCR amplification of coral trout

Reaksi Reaction	Siklus Cycles	Suhu Temperature	Lama reaksi Duration
Initial Denaturation	1	93°C	02:00 menit
Denaturation		93°C	00:30 detik
Annealing	30	50°C	00:30 detik
Extention		72°C	00:45 detik
Final extention	1	72°C	05:00 menit
Preservation		4°C	-

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Pemotongan *template* DNA produk amplifikasi PCR menggunakan enzim restriksi Taq I (GAT⁺ATC), Hae III (GG⁺CC), Hinf I (G⁺ANTC) Nla III (CATG⁺), dan Mnl I (GGAG⁺) diawali dengan menyiapkan larutan 10 x buffer, 100 x BSA, enzim restriksi, dan akuades serta *template* mt-DNA produk amplifikasi PCR dengan konsentrasi tertentu (Tabel 3). Selanjutnya diinkubasi dalam *water bath* dengan suhu 37°C selama 2,5—3 jam. Elektroforesis menggunakan 1,5% agarose gel dalam 1 x TBE bufer dan di *running* selama 30—35 menit, pewarnaan dengan *ethidium bromide* selama 10 menit, maka akan diperoleh panjang pita dari masing-masing *template* DNA. Sebagai molekuler marker digunakan DNA *ladder* 100 bp, sedangkan untuk kontrol digunakan *template* DNA yang tidak mengalami pemotongan. Hasil

yang diperoleh diamati di bawah UV transilluminator pada panjang gelombang 320 nm dan didokumentasikan dengan gel camera.

Analisis data

Keragaman DNA antar populasi, susunan haplotipe untuk masing-masing enzim restriksi dikumpulkan sebagai komposit haplotipe selanjutnya dianalisis menggunakan analisis molekuler TFPGA (*tools for population genetic analysis*) version 1.3 (Miller, 1997). Untuk menguji hubungan antara perbedaan genetik dalam populasi menggunakan *Mantel test* dalam *software* TFPGA.

HASIL DAN BAHASAN

Amplifikasi Pita Tunggal mt-DNA

DNA mitokondria memberikan hasil yang lebih kuat dan akurat dibandingkan dengan

Tabel 3. Bahan kimia yang digunakan untuk pemotongan dengan beberapa enzim restriksi
 Table 3. Combination of restriction endonuclease mixture for several restriction enzymes

Jenis bahan Mixture	Enzim restriksi Restriction enzymes				
	Nla III (µL)	Taq I (µL)	Hae III (µL)	Hinf I (µL)	Mnl I (µL)
ddH ₂ O	0.43	0.80	0.60	1.25	0.80
Buffer 10 x (NE.2).	1.20	0.12	1.20	0.50	0.21
Bomine serum albumin (BSA)	1.20	-	-	-	-
Restriction enzyme	0.25	0.05	0.20	0.25	0.05
PCR product	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00

analisis protein, karena analisis mt-DNA dapat mendeteksi semua keragaman genetik yang lebih bernilai untuk identifikasi stok. Posisi pada mt-DNA telah terpetakan yaitu pada daerah 12s rRNA, 16s rRNA, ND 1, ND 2, CO I, ATPase, Co III, ND 3, ND 4, ND 5, ND 6, Cyt b, dan *D-loop* (*displacement loop*) yang terkait dalam proses replikasi. Posisi yang berbeda berevolusi dengan kecepatan berbeda, sehingga daerah tertentu dan mt-DNA menjadi target untuk dikenali. Panjang pita mt-DNA *D-loop* ikan kerapu sunu hasil amplifikasi mempunyai panjang 625 bp Gambar 2.

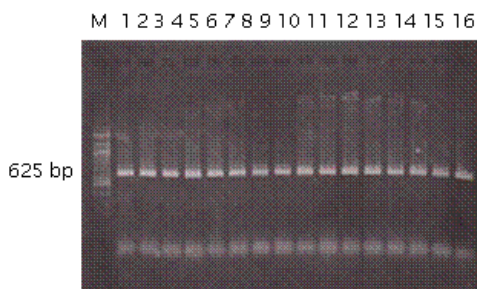
Alel/lokus mt-DNA Benih (*F₁*) dengan ukuran berbeda

Polimorfisme panjang pita restriksi diamati dengan enzim Hae III, Hinf I, Nla III, Mnl I, dan

Taq I yang masing-masing dapat memotong 4, 5, dan 6 basa endonucleosis. Profil pemotongan dengan 5 enzim restriksi Hae III, Nla III, Hinf I, Mnl I, dan Taq I disajikan pada Gambar 3.

Profil pemotongan enzim Nla III

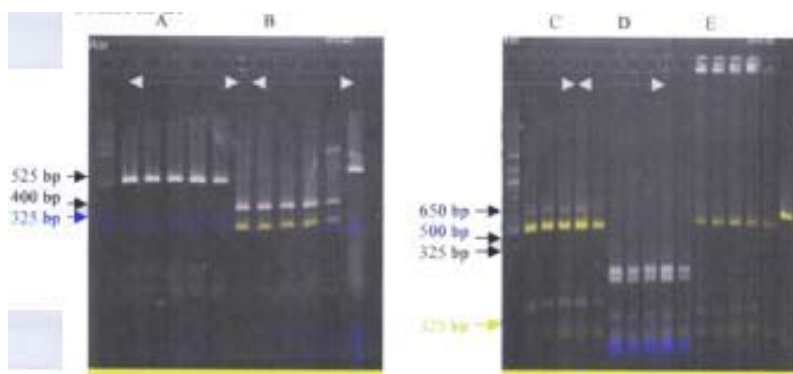
Profil pemotongan mt-DNA benih ikan kerapu sunu dengan menggunakan enzim Nla III menghasilkan 2 pola pita dengan panjang pita adalah 350 bp dan 200 bp. Jarak migrasi hampir sama untuk semua ukuran benih ikan yang dianalisis. Pita yang dihasilkan dengan enzim restriksi yang mempunyai perbedaan ukuran memperlihatkan tidak ada perbedaan pola pemotongan antara benih yang mempunyai ukuran besar dengan ukuran sedang dan kecil.



Keterangan:
M : Marker DNA ladder
 100 bp: Biolab
 1-16 : Sampel benih ikan kerapu sunu

Gambar 2. Pita tunggal mt-DNA hasil amplifikasi PCR dari ikan kerapu sunu, *P. leopardus* dengan bobot molekul 625 bp

Figure 2. Single *t* amplification of mt-DNA of coral trout, *P. leopardus* with molecule weight 625 bp



Gambar 3. Pola pita dari hasil pemotongan mt-DNA dengan menggunakan 5 enzim restriksi (A) Hae III, (B) Nla III, (C) Hinf I, (D) Mnl I, (E) Taq I dan marker 100 bp

Figure 3. mt-DNA pattern of of coral trout, *P. leopardus* digested by 5 restriction enzymes (A) Hae III, (B) Nla III, (C) Hinf I, (D) Mnl I, (E) Taq I, and 100 bp DNA ladder

Profil pemotongan enzim Hae III

Hasil pemotongan dengan Hae III juga memberikan gambaran 2 pita yang berbeda yang memiliki jarak migrasi berbeda yaitu pita pertama sebesar 550 bp dan pita kedua 75 bp. Pemotongan dengan enzim ini juga tidak dapat membedakan antara kelompok ikan ukuran besar, sedang dan kecil karena panjang pita DNA dari benih ikan tidak berbeda.

Profil pemotongan enzim Hinf I

Pemotongan dengan enzim ini juga tidak dapat membedakan antara kelompok ikan ukuran besar, sedang, dan kecil. Pita yang dihasilkan memberikan gambaran 2 pita yaitu pita pertama sebesar 320 bp dan pita kedua 260 bp.

Profil pemotongan enzim Taq I

Hasil pemotongan dengan Taq I juga memberikan gambaran 2 pita yang berbeda yang memiliki jarak migrasi berbeda yaitu pita pertama sebesar 500 bp dan 125 bp. Pemotongan dengan enzim ini juga tidak dapat membedakan antara kelompok ikan ukuran besar, sedang, dan kecil karena panjang pita DNA dari benih ikan tidak berbeda.

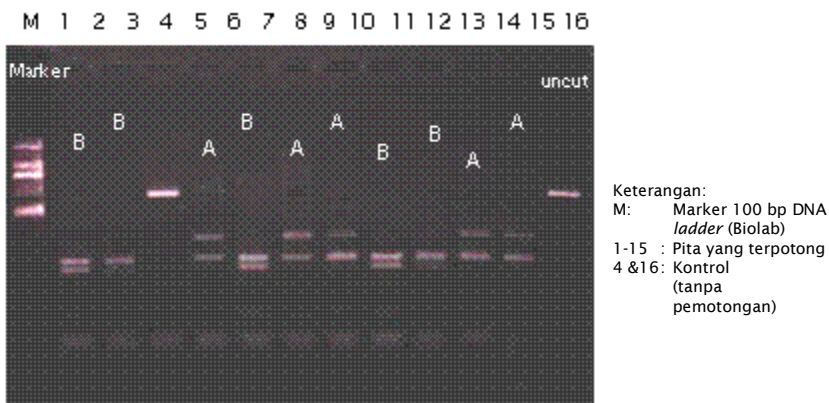
Profil pemotongan enzim Mnl I

Pemotongan dengan menggunakan enzim restriksi Mnl I, menghasilkan 2 pola pita yang memiliki jarak migrasi yang berbeda antar ukuran benih ikan yang dianalisis. Polimorfisme pola pemotongan mt-DNA yang dipotong enzim Mnl I, yang tersaji pada Gambar 4.

Pemotongan dengan enzim restriksi Mnl I menunjukkan bahwa enzim restriksi Mnl I ditemukan polimorfis pada individu yang mempunyai ukuran besar. Perbedaan genetik antar ikan yang mempunyai perbedaan ukuran dapat diketahui dari ada atau tidaknya polimorfisme pada enzim restriksi ini sehingga enzim ini dapat digunakan sebagai salah satu marker atau indikator gen pengontrol pertumbuhan. Pengembangan jumlah marker pada tingkat molekuler akan sangat membantu dalam seleksi genetik. Untuk itu dalam perbenihan ikan kiranya perlu dilakukan pengamatan perubahan genetik atau variasi genetik ikan hasil pijahan hatcheri, sehingga dapat dijadikan dasar untuk manajemen induk dalam usaha menghindari terjadinya *inbreeding* pada turunan berikutnya.

Keragaman Genetik Benih

Hasil pemotongan dengan menggunakan 5 enzim restriksi yaitu Hae III, Nla III, Hinf I, Mnl I, dan Taq I mempunyai ukuran dari masing-masing ukuran sampel dan lokasi pengambilan sampel selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4. Frekuensi alel dan heterogenitas yang dihitung dari lokus polimorfik hasil pemotongan mt-DNA terhadap benih ikan kerapu sunu ukuran kecil, sedang, dan besar menunjukkan bahwa ada genetik diferensiasi antar individu yang berbeda pada ukuran besar. Hasil pemotongan produk PCR dengan menggunakan 5 enzim menghasilkan 2 macam komposit haplotipe 16SrDNA yaitu ABAB dan ABAAB. Kedua tipe komposit haplotipe hanya dimiliki oleh ikan yang mempunyai ukuran



Gambar 4. Polimorfisme mt-DNA dari ikan kerapu sunu, *P. leopardus*

Figure 4. Pattern of polymorphic mt DNA of of coral trout, *P. leopardus*

Tabel 4. Sisi pemotongan dan ukuran pita mt-DNA dari ikan kerapu sunu yang dipotong dengan 5 enzim restriksi
 Table 4. Cleaved sites and fragment size of mt-DNA of coral trout digested by 5 restriction enzymes

Enzim restriksi <i>Restriction enzyme</i>	Lot sampel <i>Sample lot</i> (ind.)	Ukuran sampel <i>Sample size</i>	Pita (<i>Fragment</i>)	
			1	2
<i>Hae</i> III	Lot 1 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	550	75
		Sedang (<i>Medium</i>)	550	75
		Besar (<i>Large</i>)	550	75
	Lot 2 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	550	75
		Sedang (<i>Medium</i>)	550	75
		Besar (<i>Large</i>)	550	75
	Lot 3 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	550	75
		Sedang (<i>Medium</i>)	550	75
		Besar (<i>Large</i>)	550	75
<i>Nla</i> III	Lot 1 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	350	200
		Sedang (<i>Medium</i>)	350	200
		Besar (<i>Large</i>)	350	200
	Lot 2 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	350	200
		Sedang (<i>Medium</i>)	350	200
		Besar (<i>Large</i>)	350	200
	Lot 3 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	350	200
		Sedang (<i>Medium</i>)	350	200
		Besar (<i>Large</i>)	500	125
<i>Hinf</i> III	Lot 1 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	500	125
		Sedang (<i>Medium</i>)	500	125
		Besar (<i>Large</i>)	500	125
	Lot 2 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	500	125
		Sedang (<i>Medium</i>)	500	125
		Besar (<i>Large</i>)	500	125
	Lot 3 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	500	125
		Sedang (<i>Medium</i>)	500	125
		Besar (<i>Large</i>)	500	125
<i>Mnl</i> III	Lot 1 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	225	200
		Sedang (<i>Medium</i>)	225	200
		Besar (<i>Large</i>)	325	200
	Lot 2 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	225	200
		Sedang (<i>Medium</i>)	225	200
		Besar (<i>Large</i>)	325	200
	Lot 3 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	225	200
		Sedang (<i>Medium</i>)	225	200
		Besar (<i>Large</i>)	225	200

Tabel 4 lanjutan (Table 4 continued)

Enzim restriksi <i>Restriction enzyme</i>	Lot sampel <i>Sample lot</i> (ind.)	Ukuran sampel <i>Sample size</i>	Pita (<i>Fragment</i>)	
			1	2
<i>Taq III</i>	Lot 1 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	500	125
		Sedang (<i>Medium</i>)	500	125
		Besar (<i>Large</i>)	500	125
	Lot 2 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	500	125
		Sedang (<i>Medium</i>)	500	125
		Besar (<i>Large</i>)	500	125
	Lot 3 (25)	Kecil (<i>Small</i>)	500	125
		Sedang (<i>Medium</i>)	500	125
		Besar (<i>Large</i>)	500	125

besar sedangkan ikan yang mempunyai ukuran sedang badan kecil hanya memiliki komposit genotip ABABB, selengkapnya seperti yang disaji pada Tabel 5.

Keragaman genetik benih ikan kerapu sunu dipengaruhi oleh asal koleksi benih dalam hal ini adalah asal induk yang dipergunakan dalam pembenihan. *Level*/variasi genetik ditunjukkan dari jumlah haplotipe maupun diversitas haplotipe (Tabel 5).

Keragaman genetik benih ikan kerapu sunu, *P. leopardus* yang diperoleh dari 3 lokasi dengan 3 ukuran dikelompokkan berdasarkan ukuran dan lokasi pengambilan sampel. Hasil perhitungan berat molekul mt-DNA. Benih ikan yang berukuran besar memiliki keragaman genetik yang berbeda dengan benih ikan yang berukuran sedang dan berukuran kecil. Frekuensi haplotipe dari mt-DNA benih ikan kerapu sunu dengan menggunakan 5 enzim restriksi dilihat pada Tabel 6.

Tabel 5. Keragaman haplotipe ikan kerapu sunu yang mempunyai ukuran kecil, sedang, dan besar dari tiga lokasi

Table 5. Haplotipe of coral trout with different size, small, medium, and large from three locations

Lokasi <i>Locality</i>	Sampel <i>Samples</i>	Enzim restriksi <i>Restriction enzymes</i>					Jumlah sampel <i>Total samples</i>
		<i>Hae III</i>	<i>Nla III</i>	<i>Hinf I</i>	<i>Mnl I</i>	<i>Taq I</i>	
Lot 1 (Bali)	Besar (<i>Large</i>)	A	B	A	B	B	15
		A	B	A	A	B	10
	Sedang (<i>Medium</i>)	A	B	A	B	B	25
	Kecil (<i>Small</i>)	A	B	A	B	B	25
Lot 3 (Jatim/ East Java)	Besar (<i>Large</i>)	A	B	A	B	B	22
		A	B	A	A	B	3
	Sedang (<i>Medium</i>)	A	B	A	B	B	25
	Kecil (<i>Small</i>)	A	B	A	B	B	25
Lot 2 (Lampung)	Besar (<i>Large</i>)	A	B	A	B	B	25
	Sedang (<i>Medium</i>)	A	B	A	B	B	25
	Kecil (<i>Small</i>)	A	B	A	B	B	25

Tabel 6. Frekuensi haplotipe dari mt-DNA benih ikan kerapu sunu (*F.*) dengan menggunakan 5 enzim restriksi *Hae*III, *Nla*III, *Hinf*I, *Mnl*I, dan *Taq*I

Table 6. Haplotype frequency of mt-DNA of coral trout fry (*F.*) generated by 5 endonucleases restriction, *Hae* III, *Nla* III, *Hinf* I, *Mnl* I, and *Taq* I

Haplotype	Lot-1			Lot-2			Lot-3		
	Besar Large	Sedang Medium	Kecil Small	Besar Large	Sedang Medium	Kecil Small	Besar Large	Sedang Medium	Kecil Small
ABABB	0.400	1.000	1.000	0.120	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
ABAAB	0.666	0.000	0.000	0.880	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N-sampel (N-sample)	25	25	25	25	25	25	25	25	25
<i>N-ale</i> I (<i>N-allele</i>)	2	1	1	2	1	1	1	1	1
Diversitas haplotipe Haplotype diversity	0.480	0.000	0.000	0.211	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Benih besar mempunyai nilai heterosigositas rata-rata dari ketiga populasi: 0,160 sedangkan benih ukuran sedang dan benih kecil 0,000 (homozigot). Hal ini mengindikasikan bahwa benih ikan kerapu sunu produk hatcheri yang berukuran besar memiliki karakter genetik tersendiri yang berbeda dengan benih yang berukuran sedang dan kecil. Perbedaan karakter dari benih ini diduga karena adanya penurunan keragaman genetik dari sumber induk yang menghasilkan telur yang akan mengakibatkan benih pada keturunan pertama (F_1) memiliki keragaman yang lebih rendah.

Benih ikan hasil hatcheri secara genetik akan cenderung mempunyai mutu yang lebih rendah dibandingkan benih yang berasal dari alam, karena terjadi penurunan keragaman genetik yang dipengaruhi oleh *inbreeding*, *genetic drift*, atau penggunaan jumlah induk yang terlalu sedikit yang menyebabkan hilangnya beberapa alel langka (Tave, 1983). Terjadinya *inbreeding* karena populasi induk yang sangat sedikit akan berdampak buruk terhadap gen pengontrol pertumbuhan, ketahanan penyakit, dan pengontrol aktivitas kehidupan lainnya yang mengakibatkan penurunan kualitas benih pada keturunan berikutnya (Sugama, 1988; Fujii & Nishida, 1997).

Keragaman Genetik Benih Antar Lokasi

Keragaman genetik benih yang berasal dari tiga lokasi pemeliharaan yang berbeda yaitu Lot 1 dan Lot 2 (Bali dan Jatim) memiliki variasi genetik lebih tinggi jika dibandingkan dengan Lot 3 (Lampung). Hal ini terjadi karena Lot 1 dan 2 menggunakan induk dengan asal yang sama yaitu Sulawesi Selatan, hal ini mengacu kepada hasil penelitian karakteristik genetik ikan kerapu sunu dari tangkapan di alam pada beberapa perairan menunjukkan bahwa keragaman genetik ikan kerapu sunu dari perairan kepulauan Riau dan Sulawesi Selatan mempunyai nilai heterosigositas yang relatif tinggi (0,08—0,09) pada *level* protein enzim (Permana *et al.*, 2006). Lot 3 menggunakan induk dari perairan Lampung dan sekitarnya yang mempunyai keragaman genetik dari induk alam relatif lebih rendah jika dibandingkan dengan kepulauan Riau dan Sulawesi Selatan.

KESIMPULAN

Adanya keragaman genetik yang ditunjukkan dari nilai heterosigositas benih

ikan kerapu sunu Lot 1 yang mempunyai ukuran besar (0,480), sedang (0,000), dan kecil (0,000), benih ikan kerapu sunu Lot 2 yang mempunyai ukuran besar (0,211), sedang (0,000), dan kecil (0,000), sedangkan Lot 3 pada semua ukuran monomorfik dengan heterosigositas (0,000). Pemotongan pada enzim *MnlI* menghasilkan pita yang polimorfik dan dapat digunakan sebagai marker keragaman genetik untuk variabilitas pertumbuhan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Rudy Teng (Cobra), Lampung atas bantuannya dalam persiapan dan seluruh staf Laboratorium Bioteknologi, Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol atas segala masukan dan bantuan selama penelitian ini dilakukan. Penelitian ini dibiayai dari anggaran APBN Tahun 2006.

DAFTAR PUSTAKA

- Benzie, J.A.H., L. Ballment, A.T. Forbes, N.T. Demetriades, K. Sugama, Haryanti, and S. Moria. 2002. Mitochondrial DNA variation in Indo-Pacific populations of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Molecular Ecology*. 11: 2,553—2,569.
- Garcia, D.K. and J.A.H. Benzie. 1995. RAPD marker of potential use in penaeid prawn (*Penacus monodon*) breeding program. *Aquaculture*. 130: 137—144.
- Chervassus, B. and M. Drahuschack. 1990. Genetic resistance to disease in fishes *Aquaculture*. 85: 83—107.
- Fujii, T. and M. Nishida. 1997. Hight Sequence Variability in The Mitochondrial DNA Control Region Of the Japan Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal Fisheries Science*. 63(6): 906—910.
- Goudie, C.A., Q. Liu, B.A. Simco, and K.B. Davis. 1995. Genetic relationship of growth, sex and Glucose phosphate Isomerase-B phenotypes in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*. 138: 119—124.
- Hedgecock, D., M.L. Tracey, and K. Nelson. 1982. Genetics In D.E. Bliss (Ed.). *The biology of Crustacea*, Academic Press New York. N.Y. p. 283—403.
- Leary, R.F., F.W. Allendorf, and K.L. Knudsen. 1985. Development instability as an indicator of reduced genetic variation in hatchery trout. *Tran.Am.Fish.Soc.* 114: 230—235.
- Miller, M.P. 1997. Tools for Population Genetic

- Analyses. A windows® program for the analysis of allozymes and molecular population genetic data. Department of biological science. Northern Arizona University. 29 pp.
- Ovenden, J. 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 Centre. 36 pp.
- Permana, G.N., J.H. Hutapea, and K. Sugama. 2006. Genetic Population Structure of Coral Trout, *Plectrophomus leopardus* from Indonesia Coastal Waters. Inpress. 12 pp.
- Sugama, K. 1988. Population Genetics Analysis of Red Sea Bream, *Pagrus major*. Master Thesis. Kochi University of Japan. 81 pp.
- Taniguchi, N., M. Yamasaki, M. Takagi, and A. Tsujimura. 1996. Genetic and environmental variance in body size and morphological traits in clonal line of Ayu. *Aquaculture*. 140: 333—341.
- Tave, D. 1983. Genetic for Fish Hatchery Managers. Second Edition. An AVI book. Published by Van Nostrand Reinhold. New-York. 415 pp.