

PENENTUAN JENIS KELAMIN BERDASARKAN REAKSI ANTIBODI PADA IKAN TUNA

Gusti Ngurah Permana¹⁾ dan Haryanti²⁾

¹⁾ Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

ABSTRAK

Pada budi daya ikan, identifikasi individu sangat penting untuk diketahui terutama dalam hal mengidentifikasi jenis kelaminnya. Bagaimana membedakan jantan atau betina? Secara sepintas untuk membedakan ikan jantan atau betina memang mudah tetapi pada kenyataannya tidaklah demikian. Reaksi antibodi merupakan salah satu pendekatan yang dapat dipergunakan untuk penentuan jenis kelamin pada ikan yang telah menunjukkan aktivitas hormon dan pembentukan vitelogenin. Hasil dari kajian analisis dengan metode dot blot adalah ekspresi vitelogenin nampak jelas pada individu betina dan efek plasma terlihat transparan dibandingkan pada individu jantan tetapi metode ini sangat memerlukan pengalaman dan keahlian dalam akurasi pembacaan hasil.

KATA KUNCI: antibodi, efek plasma, metode dot blot, vitelogenin

PENDAHULUAN

Dari data yang diperoleh menyatakan bahwa di dunia terdapat 28.400 jenis ikan dan sekitar 25.000 jenis dapat ditemukan di Perairan Indonesia (Fishbase, 2000). Diversitas jenis ikan tersebut jauh lebih banyak jika dibandingkan dengan di perairan negara lain. Dengan besarnya diversitas jenis ikan dan luasnya wilayah laut Indonesia menyebabkan penentuan jenis-jenis ikan berpotensi komersil untuk budi daya, konservasi, dan keberadaan populasi tangkapan tidak dapat dikerjakan dalam waktu singkat.

Dalam rangka mendukung kegiatan budi daya, maka penentuan jenis kelamin ikan menjadi sangat penting. Pada beberapa ikan yang mempunyai sifat hermaphrodit, individu ikan akan berubah jenis kelaminnya pada saat ikan mencapai bobot tertentu. Kondisi ini yang seringkali menyulitkan penentuan secara visual. Beberapa ikan di perairan pantai dapat secara jelas terlihat perbedaan secara

morfologi antara individu jantan dan betina. Tetapi, beberapa spesies tertentu seperti: ikan bandeng (*Chanos chanos*), kelompok ikan kerapu (*Epinephelus* spp.), kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*), kerapu sunu (*Plectrophomus leopardus*), kelompok kakap merah (*Lutjanus* spp.) merupakan jenis ikan sangat sulit diketahui jantan atau betina secara visual. Secara umum untuk membedakan ikan jantan atau betina dapat dilakukan dengan melakukan pemijatan pada bagian perut ikan (*stripping*) atau *kanulasi*.

Namun pada ikan dengan ukuran besar dan pergerakannya cepat, misal pada ikan tuna (*Thunnus* sp.), metode penentuan jenis kelamin seperti tersebut di atas menjadi sulit, sehingga harus diterapkan metode analisis yang mendasarkan pada reaksi antibodi (Kime *et al.*, 1999). Kajian ini sangat penting ke depan diterapkan dalam manajemen *breeding*, sehingga pembudi daya ikan mengetahui bahwa induk ikan yang akan dibenihkan adalah mempunyai perbandingan yang optimum antara jantan dan betina.

METODE PENENTUAN JENIS KELAMIN

Sampel

Sampel yang dipergunakan adalah ikan tuna sirip biru, *Thunnus thynnus*. Morfologi ikan tuna sirip biru seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi ikan tuna sirip biru (*T. thynnus*)

Data lokasi sampel yang dipergunakan untuk analisis dapat dilihat pada Tabel 1.

Antibodi primer untuk dot blot analisis yang digunakan sama dengan anti *blue fin* tuna Zrp (*zona radiata protein*) (Bonn *et al.*, 2002). Metode dot blot mengikuti

Tabel 1. Data dan kode identifikasi sampel ikan tuna sirip biru (*T. thynnus*) yang dipergunakan untuk analisis

Tanggal	Lokasi	Daging (kode analisis)	Gonad (kode analisis)	Sex
09/05/2004	Benoa, Bali	(1A)	(1B)	Female
		(2A)	(2B)	Female
09/07/2004	Benoa, Bali	(6A)	-	Male
09/08/2004	Benoa, Bali	(8A)	-	Male
09/09/2004	Benoa, Bali	(9A)	-	Male
09/09/2004	Benoa, Bali	(10A)	-	Male
09/09/2004	Benoa, Bali	(12A)	(12B)	Female
09/09/2004	Benoa, Bali	(13A)	-	Female
09/09/2004	Benoa, Bali	(14A)	(14B)	Female
09/09/2004	Benoa, Bali	(15A)	(15B)	Female

prosedur yang dikembangkan oleh Susca *et al.* (2001). Antibodi primer digunakan dari *antibody rabbit anti-bluefin tuna Zrp*. Langkah kerja selengkapnya adalah sebagai berikut:

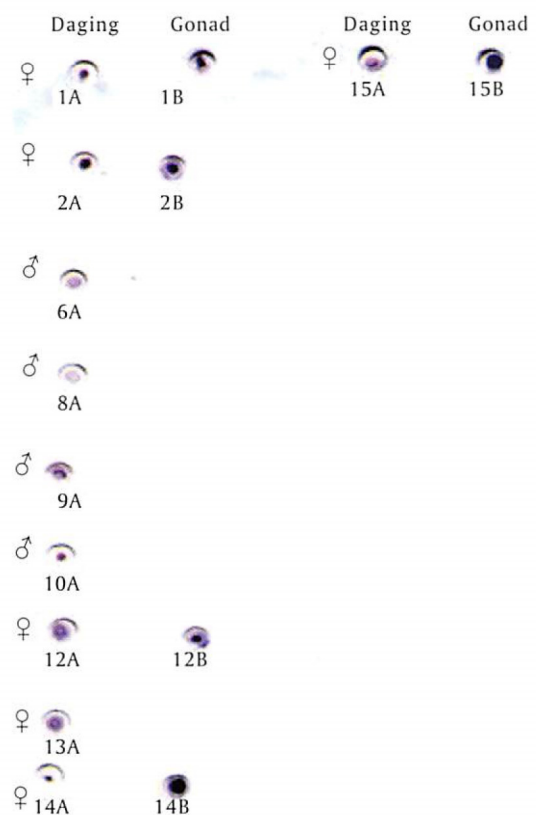
1. Mempersiapkan *ependorf tube* pada tutup bagian dalam telah berisi kertas *Nitrocellulose membrane*
2. Tambahkan 1 mikroliter sampel dalam kertas membran dan dikeringkan selama 15 menit
3. Masukkan 1,5 mL *blocking solution (rotiblock 1:10)* dan diinkubasi selama 30 menit
4. Pipet *blocking solution* dan pipet *antibody solution 1, rabbit anti bluefin tuna Zona radiata protein (Pineda Berlin Jerman)* dan inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang
5. Selanjutnya dipipet antibodi *solution 1* tadi kemudian masukkan *buffer pencuci (washing buffer): tween, triton, dan phosphate buffer saline (PBS, 0,01 M; pH 7,4 dalam 0,15 M NaCl)* selanjutnya diinkubasi selama 5 menit
6. Buang *washing buffer* dan ulangi perlakuan 3 dan 4
7. Masukkan antibodi *solution 2* dan diinkubasi selama 30 menit dalam suhu ruangan dan selanjutnya masukkan *phosphate buffer saline* untuk mencuci dan inkubasi selama 5 menit
8. Selanjutnya buang *phosphate buffer saline* dan masukkan *substrat solution* dan inkubasi selama 30 menit sampai penampakan warna sempurna
9. Negatif kontrol buffer (0,1 M PBS pH 7,4; 0,05% Tween-20, 27 mM KCL) sedangkan positif kontrol dari Vitelogenin standar atau Zrp pada konsentrasi 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$
10. Pembacaan pola gambar hasil staining diinterpretasikan sebagai +++ (sangat jelas/cerah), ++ (jelas), + (kurang jelas), ± (tipis), dan - (tidak aktif)

HASIL DAN BAHASAN

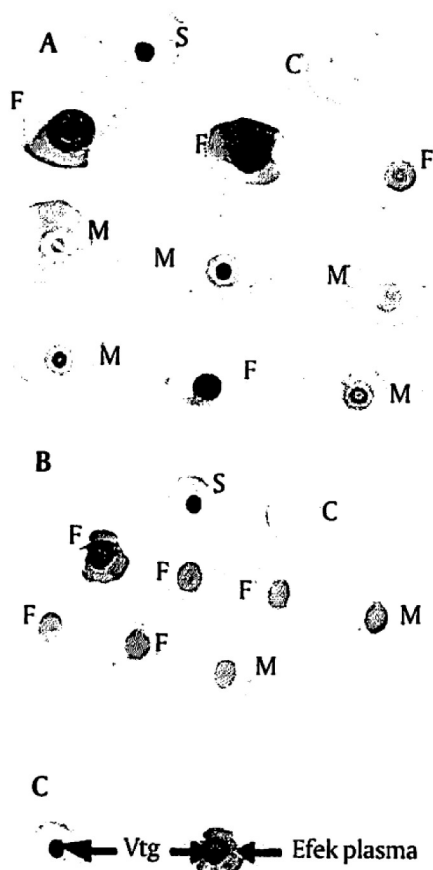
Penentuan jenis kelamin berdasarkan reaksi antibodi ini dapat digunakan pada ikan yang telah menunjukkan aktivitas hormon dan pembentukan vitelogenin (Sauca *et al.*, 2001). Ekspresi vitelogenin akan nampak jelas terekspresi pada individu betina dan efek plasma terlihat transparan jika dibandingkan pada individu jantan. Hasil dari kajian analisis dengan metode dot blot selengkapnya terlihat pada Gambar 2. Metode yang sama juga dilakukan pada ikan swordfish, *Xiphias gladius*

terlihat pada Gambar 3.

Metode ini dapat digunakan untuk membedakan jenis kelamin pada ikan. Keuntungan dari metode ini adalah cepat dan biaya yang relatif lebih murah tetapi akurasi pembacaan hasil sangat memerlukan pengalaman dan keahlian.



Gambar 2. Pola pewarnaan dari dot blot analisis dari plasma vitelogenin ikan tuna sirip biru, bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) dari sampel daging dan gonad



Gambar 3. Pola pewarnaan dari dot blot analisis dari plasma vitelogenin dari Swordfish, *Xiphias gladius L.* (a). Mediterranean sampel (b) Pasifik sampel (c) plasma efek sampel. (Sumber gambar: Desantis *et al.*, 2005)

KESIMPULAN

- Metode penentuan jenis kelamin pada ikan tuna dapat dilakukan dengan metode dot blot yang berdasarkan pada reaksi antibodi.
- Ekspresi vitelogenin nampak jelas pada individu betina dan efek plasma terlihat transparan dibandingkan pada individu jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Boon, J.P., J.J. van Zanden, W.E. Lewis, B.N. Zegers, A. Goksøyr, and A. Arukwe. 2002. The expression of CYP1A, vitellogenin and Zona radiata proteins in Atlantic salmon (*Salmo salar*) after oral dosing with two commercial PBDE flame retardant mixtures: absence of short-term responses. *Mar. Environ. Res.* 54: 719—724.
- Desantis, S., A. Corriero, F. Cirillo, M. Deflorio, R. Brill, M. Griffiths, A.L. Lopata, J.M. de la Serna, C.R. Bridges, D.E. Kime, and G. De Metrio. 2005. Immunohistochemical localization of CYP1A, vitellogenin and Zona radiata proteins in the liver of swordfish (*Xiphias gladius L.*) taken from the Mediterranean Sea, South Atlantic, South Western Indian and Central North Pacific Oceans. *Aquatic toxicology.* 71 (2005), p. 1—12.
- Fishbase. 2000. Fish Stat Plus. Fisheries Data Analysis Software for Windows™. FAO Headquarters FID1, F-201 Viale delle Terme di Caracalla 00100 Rome, Italy.
- Kime, D.E., J.P. Nash, and A.P. Scott. 1999. Vitellogenesis as a biomarker of reproductive disruption by xenobiotics. *Aquaculture*, 177: 345—352.
- Sauca, V., A. Corriero, C.R. Bridges, and G. De Metrio. 2001. Study of the sexual maturity of female bluefin tuna (*Thunnus thynnus*): purification and partial characterization of vitellogenin and its use in an enzymes-linked immunosorbent assay. *J.Fish. Biol.*, 58: 815—831.