KARAKTERISASI KROMOSOM SIDAT BICOLOR, *Anguilla bicolor bicolor* McClelland, 1844 DI WAY SEMANGKA, LAMPUNG

CHROMOSOME CHARACTERIZATION OF *Anguilla bicolor bicolor* McClelland 1844 IN WAY SEMANGKA, LAMPUNG

Marlina U. Genisa[1]*, Trijoko[2] dan Niken S.N. Handayani[3]

[1]Mahasiswa Pascasarjana Fakultas Biologi UGM
[2]Laboratorium Taksonomi, Fakultas Biologi UGM
[3]Laboratorium Genetika, Fakultas Biologi UGM
Jl. Teknika Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281
*Penulis untuk korespondensi, E-mail: linagenisa@yahoo.com

Abstract

The eels of genus *Anguilla* are catadromous, their juvenile grow in estuaries, rivers and lakes, and their spawning areas being offshore in the ocean. The eels of *Anguilla* have high economic potency due to good taste and high protein content. Eel *Anguilla bicolor bicolor* has been cultured but the seed was depending on the glass eels availability from nature. However, genetic study for *Anguilla bicolor bicolor* in Indonesia was limited. The aim of this research was to characterize the chromosome of eel *Anguilla bicolor bicolor,* to be used as a basic information for conservation and aquaculture development. Chromosome preparation was done by blood culture splash method. The results revealed that the diploid chromosomes (2n) of *Anguilla bicolor bicolor* was 38, classified as 34 (17 pairs) of metacentric and 4 (2 pairs) of submetacentric chromosomes. Displaying karyotype formula of 2n = 38 = 34m + 4 sm.

Key words: *Anguilla bicolor bicolor*, chromosome, karyotype

Abstrak

Sidat termasuk genus *Anguilla* dan bersifat katadromous, mendiami beberapa kondisi perairan, termasuk perairan tawar, estuari, dan laut. Sidat dikenal sebagai makanan yang memiliki rasa yang enak dan kandungan protein yang tinggi, sehingga merupakan sumberdaya perikanan bernilai ekonomis tinggi untuk dikembangkan. Salah satu jenis sidat yang dibudidayakan di Indonesia untuk usaha ekspor adalah sidat bicolor. Usaha ini masih tergantung pada ketersediaan benih sidat stadia juvenile dari alam, sehingga dapat menyebabkan terjadinya penurunan populasi sidat di alam. Namun demikian, kajian genetik khususnya kromosom sidat bicolor di Indonesia belum pernah diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi karakteristik kromosom sidat bicolor yang berasal dari populasi Way Samangka Lampung. Data karakteristik kromosom diharapkan dapat digunakan sebagai dasar konservasi dan pengembangan budidaya sidat bicolor. Metode preparasi kromosom yang digunakan adalah metode *splash* dengan menggunakan kultur sel darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kromosom sidat bicolor memiliki jumlah kromosom diploid (2n) = 38 yang terdiri dari 34 (17 pasang) kromosom metasentris dan 4 (2 pasang) kromosom submetasentris, sehingga formula *karyotype* sidat bicolor adalah 2n = 38 = 34 m + 4 sm.

Kata kunci: *Anguilla bicolor bicolor,* karakterisasi, *karyotype,* kromosom

Pengantar

Sidat (*Anguilla* spp.) merupakan salah satu komoditas hasil perikanan bernilai ekonomi tinggi yang telah lama dikenal dan dipelihara, terutama di negara yang perikanannya sudah maju. Sidat memiliki karakteristik unik yang mampu mendiami beberapa kondisi perairan, termasuk perairan tawar, estuari, dan laut (Tesch, 1977). Aoyama *et al*. (2000) menjelaskan bahwa sidat merupakan ikan yang bersifat katadromous, yaitu bermigrasi dari perairan tawar ke laut untuk memijah dan bersifat *nocturnal*. Sidat mengalami metamorfosis dari larva ke *elver* pada siklus hidupnya dan selama perkembangannya melalui tahapan dari larva sidat *leptocephalus*, *glass eel*, *elver*, sidat kuning (*yellow eel*) dan sidat perak (*silver eel*). Tahapan ini berlangsung selama bertahun-tahun dan dilalui dalam kondisi lingkungan fisik dan kimiawi perairan yang sangat fluktuatif (Arai *et al.*, 1999).

Sidat dikonsumsi di beberapa negara Asia dan Eropa karena memiliki kandungan nutrisi yang tinggi (16,4%

Copyright©2010. Jurnal Perikanan (*Journal of Fisheries Sciences*) All Right Reserved

protein dan 4700 IU Vitamin A), memiliki daging yang kenyal, serta rasa yang enak. Jepang menguasai lebih dari 50% total produksi sidat di seluruh dunia dan lebih dari 130.000 ton sidat dikonsumsi setiap tahunnya (Tsukamoto, 1999).

Di Indonesia, sidat bicolor (*Anguilla bicolor bicolor*) merupakan salah satu jenis sidat yang dibudidaya untuk ekspor (Sarwono, 2003), namun usaha ini masih tergantung pada ketersediaan benih sidat stadium juvenil (*glass eel*) (Liviawaty & Afrianto, 1998). Eksploitasi yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya penurunan populasi sidat di alam, sehingga akan mengancam kelestarian pada habitat alaminya. Salah satu faktor penting dalam upaya pelestarian dan budidaya sidat yaitu tersedianya informasi genetik termasuk kromosom. Menurut Albert *et al.* (1989), informasi kromosom ini sangat bermanfaat untuk mengetahui keanekaragaman, kekerabatan, dan untuk usaha konservasi suatu spesies.

Sidat bicolor memiliki potensi ilmiah dan komersial yang sangat baik, namun penelitian tentang karakterisasi kromosom pada sidat bicolor belum pernah dilaporkan, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan informasi genetik sidat bicolor. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi genetik sidat bicolor melalui karakterisasi kromosom.

Bahan dan Metode

Sepuluh ekor sidat bicolor (*Anguilla bicolor bicolor*) dewasa yang panjang tubuhnya 31-33 cm diperoleh dari Way Semangka Lampung. Preparasi kromosom dilakukan dengan metode *splash* menggunakan kultur sel darah mengacu pada Amemiya *et al*. (1984) dan Session (1996) dengan dimodifikasi. Darah sidat bicolor diambil sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam *flask* kultur steril yang berisi 7 ml medium kultur (10 ml *Fetal Bouvine Serum* (FBS), 2 ml penicilin streptomicin, 0,5 ml fungizon dan ditambahkan dalam phytohemaglutinin (PHA) sebanyak 87,5 ml media *Dulbecco's Moddified Eagle Medium* (DMEM), pH 7,2-7,4. Medium 0,1 ml ditambahkan pada kultur darah dalam *flask.* Darah yang dikultur diinkubasi pada suhu 37 ± 0,5°C dengan kadar CO_2 5% selama 72 jam.

Sampel darah sidat bicolor yang telah dikultur, dipanen pada hari ke tiga. Dua jam sebelum panen, media kultur ditambahkan 2-3 tetes kolkisin 20%. Setiap 30 menit, media kultur digoyang-goyang agar kolkisin bekerja lebih merata. Suspensi sel yang terbentuk dimasukkan ke dalam botol untuk disentrifugasi dengan kecepatan 750 g selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang dan diganti dengan larutan hipotonik potasium klorida (KCl) 0,56% sebanyak 4 ml dan dibiarkan selama 40 menit serta diaduk setiap 15 menit. Setelah itu, 2 ml larutan Carnoy (methanol: asam asetat glasial = 3 : 1) ditambahkan ke dalam larutan dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama. Sentrifugasi dan pembuangan supernatan diulangi hingga 2 kali.

Pembuatan preparat dan pewarnaan dilakukan dengan cara meneteskan suspensi sel di atas gelas benda bersih dari ketinggian sekitar 15-20 cm. Preparat dibiarkan kering pada suhu kamar. Selanjutnya, preparat diwarnai dengan Giemsa 20% selama 20 menit pada suhu kamar. Pewarnaan dilakukan dengan cara meneteskan Giemsa di atas preparat hingga menutupi seluruh permukaannya. Setelah preparat didiamkan selama 20 menit, preparat dicuci dengan akuades sampai Giemsa terbilas sempurna. Preparat kromosom yang telah dibuat, diamati di bawah mikroskop cahaya (Nikon YS100). Preparat dengan sebaran kromosom yang baik dipotret menggunakan kamera digital (merek Nikon 10 *megapixels*).

Analisis kromosom dilakukan dengan penghitungan jumlah dan pengukuran panjang lengan kromosom. Jumlah kromosom diploid (2n) sidat bicolor dihitung pada saat sel prometafase mitosis. Pengukuran panjang lengan kromosom dilakukan dengan menggunakan program *AutoCad Map* 2000i *for Windows*. Bentuk kromosom ditentukan berdasarkan perhitungan nilai indeks sentromer (IS), yaitu perbandingan antara lengan pendek kromosom (p) terhadap panjang absolut. Bentuk kromosom ditentukan berdasarkan penilaian IS: kromosom metasentris dengan IS 37,50-50,0; Submetasentris dengan IS 25,00-37,49; Akrosentris/ Subtelosentris dengan IS 12,50-24,99; dan Telosentris dengan IS 0,0-12,49 (Levan *et al*., 1964). *Karyotype* dibuat dengan program *Corel PHOTO-PAINT*, dan idiogram dibuat dengan program *CorelDRAW Graphic Suit* X3.

Hasil dan Pembahasan

Jumlah kromosom diploid (2n) sidat bicolor adalah sebanyak 38 ditentukan berdasarkan 9 sel prometafase mitosis terbaik. Hasil pengukuran panjang absolut terpanjang kromosom adalah 2,444±0,199 µm, dan panjang absolut terpendek kromosom 1,091±0,091 µm, panjang lengan pendek terpendek kromosom 0,450±0,113 µm, panjang lengan pendek terpanjang 1,159±0,124 µm, sedangkan panjang lengan panjang terpendek kromosom 0,600±0,057 µm, dan panjang lengan panjang terpanjang kromosom

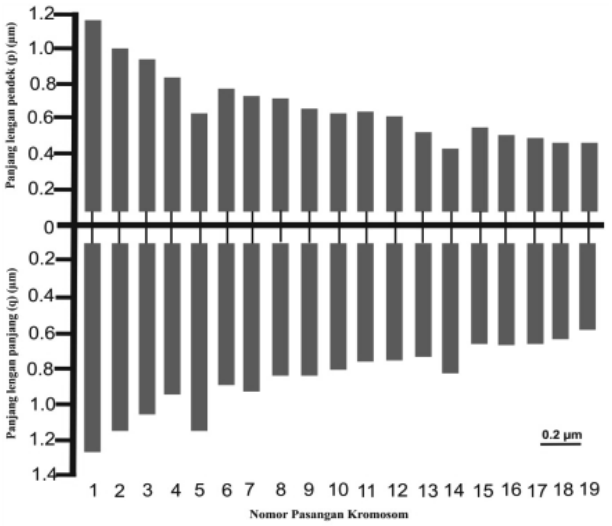
Copyright©2010. Jurnal Perikanan (*Journal of Fisheries Sciences*) All Right Reserved

Tabel 1. Karakter kromosom sidat bicolor dari Way Semangka Lampung.

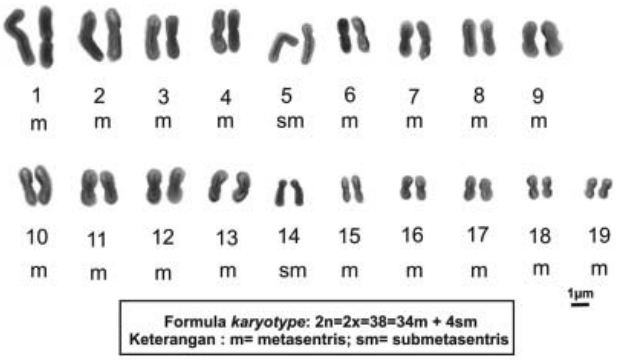
No. Pasangan Kromosom	Ukuran Kromosom (µm)			Indeks Sentromer	Bentuk Kromosom
	Lengan Pendek (p)	Lengan Panjang (q)	Panjang Absolut (p+q)		
1	1,159 ± 0,124	1,285 ± 0,083	2,444 ± 0,199	47,341 ± 1,473	M
2	1,00 ± 0,163	1,167 ± 0,161	2,167 ± 0,32	46,106 ± 1,279	M
3	0,95 ± 0,19	1,077 ± 0,110	2,027 ± 0,30	46,634 ± 2,688	M
4	0,824 ± 0,077	0,981 ± 0,091	1,806 ± 0,165	45,685 ± 0,71	M
5	0,631 ± 0,185	1,168 ± 0,319	1,799 ± 0,501	34,930 ± 1,37	SM
6	0,782 ± 0,077	0,904 ± 0,07	1,686 ± 0,147	46,323 ± 0,589	M
7	0,757 ± 0,084	0,906 ± 0,143	1,663 ± 0,216	45,635 ± 2,436	M
8	0,749 ± 0,069	0,868 ± 0,088	1,618 ± 0,152	46,380 ± 1,125	M
9	0,673 ± 0,059	0,866 ± 0,066	1,540 ± 0,116	43,787 ± 1,528	M
10	0,629 ± 0,105	0,829 ± 0,073	1,457 ± 0,178	42,908 ± 2,063	M
11	0,658 ± 0,074	0,787 ± 0,044	1,445 ± 0,116	45,472 ± 1,642	M
12	0,611 ± 0,071	0,743 ± 0,075	1,353 ± 0,138	45,103 ± 1,682	M
13	0,584 ± 0,159	0,725 ± 0,142	1,309 ± 0,297	44,207 ± 2,746	M
14	0,45 ± 0,113	0,856 ± 0,207	1,306 ± 0,319	34,386 ± 0,909	SM
15	0,595 ± 0,09	0,678 ± 0,079	1,273 ± 0,166	46,725 ± 1,327	M
16	0,547 ± 0,052	0,676 ± 0,125	1,223 ± 0,175	44,905 ± 2,257	M
17	0,546 ± 0,05	0,639 ± 0,059	1,185 ± 0,106	46,124 ± 1,006	M
18	0,477 ± 0,089	0,634 ± 0,153	1,111 ± 0,226	43,148 ± 3,894	M
19	0,491 ± 0,035	0,600 ± 0,057	1,091 ± 0,091	45,165 ± 0,974	M

Keterangan: M = metasentris, SM = submetasentris

adalah 1,285±0,083 µm (Gambar 1 dan Tabel 1). Perbandingan antara pasangan kromosom absolut terpanjang dan terpendek (R) yaitu 2,369. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat variasi ukuran kromosom pada sidat bicolor.



Gambar 1. Idiogram sidat bicolor (Anguilla bicolor bicolor).



Gambar 2. *Karyotype* sidat bicolor (*Anguilla bicolor bicolor*).

Berdasarkan nilai indeks sentromer, yang merupakan perbandingan antara panjang lengan pendek kromosom dengan panjang lengan absolut kromosom, digunakan untuk menentukan bentuk kromosom sidat bicolor, dan diklasifikasikan menurut Levan *et al*. (1964). Bentuk kromosom sidat bicolor populasi Way Semangka Lampung adalah 17 pasang kromosom berbentuk metasentris (indeks sentromer 50-37,5)

Copyright©2010. Jurnal Perikanan (*Journal of Fisheries Sciences*) All Right Reserved

dan 2 pasang kromosom berbentuk submetasentris (indeks sentromer 37,5-25). Selanjutnya berdasarkan *karyotype* (Gambar 2), diperoleh formula *karyotype* sidat bicolor adalah 2n = 2X= 38 = 34m + 4 sm. Jumlah kromosom 2n=38 juga ditemukan pada sidat *Anguilla anguilla*, *Anguilla rostrata* (Ohno *et al*., 1973), dan *Anguilla japonica*, *Anguilla australis* (Lecomte-Finiger, 2003). Data tersebut menunjukkan bahwa Genus *Anguilla* bersifat konservatif (tetap), dan memiliki jumlah kromosom yang sama yaitu 2n = 38.

Kesimpulan

Jumlah kromosom diploid sidat bicolor (*Anguilla bicolor bicolor*) dari Way Semangka Lampung adalah 2n = 38, terdiri dari 34 metasentris dan 4 submetasentris dengan formula *karyotype* 2n=2x=38=34m+4sm.

Daftar Pustaka

Albert, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts & J.D. Watson. 1989. Molecular biology of the cell. Second Edition. Garland Publishing. New York. 1219 p.

Amemiya, C.T., J.W. Bickham & J. Gold. 1984. A cell culture procedure for chromosome preparation in cyprinid fishes. Copeia 1: 232-235.

Aoyama, J., S. Watanabe, S. Ishikawa, Nishida & K. Tsukamoto. 2000. Discrimination of catadromous Eel of genus *Anguilla* using PCR-RFLP analysis of the mitochondrial 16S ribosomal RNA domain. Trans Amer. Fish Soc. 129: 873-878.

Arai, T., J. Aoyama, D. Limbong & K. Tsukamoto. 1999. Metamorphosis and inshore migration of tropical Eels *Anguilla spp*. In the Indo Pacific. Mar. Ecol. Prog. Ser. 182: 283-293.

Liviawaty, E. & E. Afrianto. 1998. Pemeliharaan Sidat. Kanisius. Yogyakarta. 134 hal.

Levan, A., K. Fredga & A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.

Lecomte-Finiger, R. 2003. The Genus *Anguilla* schrank. 1798. Current state of knowledge and questions. Fish Biology and Fisheries 13: 265-279.

Ohno, S., L. Christian, M. Romero, R. Dofuko & C. Ivey. 1973. On the question of American eels versus European eels. Experiential 29: 891-899.

Sarwono, B. 2003. Budidaya Belut dan Sidat. Cetakan XXII. Edisi Revisi. Penebar Swadaya. Jakarta. 96 p.

Session, S.K. 1996. Chromosomes: Molecular cytogenetics. In Hillis, D.M., C. Moritz, and B.K Mable. Molecular Systematics. Second Edition. Sinauer Associates, Inc-Sunderland, Massachusetts. 152 p.

Tesch, F.W. 1977. The Eel: Biology and management of anguillids eels. Chapman and Hall, London. 435 p.

Tsukamoto, K. 1999. The Eel*:* Mystery of the great migration. Keynote speech in the International Ocean Symposium (IOS), July 28 1999: 164-182.

Copyright©2010. Jurnal Perikanan (*Journal of Fisheries Sciences*) All Right Reserved