

Full Paper

EVALUASI VARIASI GENETIK RAS-RAS IKAN GURAME DENGAN MENGGUNAKAN MARKER DNA

EVALUATION OF GENETIC VARIATION OF GIANT GOURAMY STRAINS REVEALED BY DNA MARKER

Estu Nugroho

Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya
Jl. Ragunan No. 20, Jakarta Selatan 12540
E-mail: engroho@yahoo.com

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati variasi genetik strain Bastar, Paris dan Bluesafir dengan menggunakan penanda RAPD. DNA ikan gurame diekstraksi dari sirip, dan diamplifikasi secara random dengan menggunakan primer OPA 1-20. Tidak terdapat perbedaan secara genetik antara tiga strain yang diuji. Berdasarkan dua primer RAPD (OPA 4 dan 7), variabilitas tertinggi diamati pada Bluesafir dengan nilai heterogenitas 0,3050 diikuti dengan Paris dengan nilai 0,2832 dan Bastar dengan nilai 0,2360. Jarak rata Nei genetik adalah 0,118, dengan terendah yang teramati antara Paris dan Bluesafir.

Kata kunci: gurami, RAPD, variasi genetik

Abstract

This research was conducted to observe genetic variation of giant gouramy strains i.e. Bastar, Paris and Bluesafir using RAPD marker. Whole DNA was extracted from giant gouramy finclip and randomly amplified using OPA 1-20 primer. There was no significant differences genetically among three races of giant gouramy analyzed. Based on two primers of RAPD (OPA 4 and 7), the highest variability is observed in Bluesafir with heterogeneity value of 0.3050 followed by Paris and Bastar, with value 0.2832 and 0.2360 respectively. The average Nei genetic distance is 0.118, with the lowest observed between Paris and Bluesafir.

Key words: genetic variation, giant gouramy, RAPD

Pengantar

Beberapa strain ikan gurame yang ada di Indonesia adalah Soang, Jepang, Paris, Bastard dan Porselen telah banyak digunakan dalam kegiatan budidaya (Suseno *et al.*, 1983; Sudarto, 1989). Identifikasi strain gurame menggunakan analisis morfometrik dan biokimia telah dilakukan oleh peneliti-peneliti terdahulu (Soewardi *et al.*, 1995; Soewardi, 1995; Kusmini *et al.*, 2000; Suseno *et al.*, 2000). Analisis tiga strain ikan gurame dengan truss morfometrik baru dilakukan oleh Setijaningsih *et al.* (2007).

Menurut Nugroho *et al.* (1993) terdapat perbedaan morfologi dan potensi pertumbuhan beberapa strain ikan gurame. Selanjutnya Nugroho & Kusmini (2007) mengemukakan bahwa pada pengujian variasi genetik strain Bastar, Bule dan Bluesafir yang dikoleksi dari daerah Parung, Jawa Barat dengan isozyme menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata diantara ketiga strain tersebut.

Analisa variasi genetik dengan menggunakan marker DNA yang mempunyai sensitifitas lebih

besar dibanding isozyme diperlukan untuk mengetahui potensi-potensi genetik yang mungkin dapat dimanfaatkan dalam pembuatan jenis ras unggul ikan gurame. Penelahaan data dasar genetik ini 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 pemuliaan yang tepat dalam tahapan berikutnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi secara genetis tiga ras ikan gurame Bastar, Paris dan Bluesafir dengan menggunakan marker RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*).

Bahan dan Metode

Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan gurame yang berasal dari daerah Parung-Bogor. Adapun ras-ras ikan gurame yang digunakan adalah

Bastar (A), Paris (B) dan Bluesafir (C). Jumlah total sampel yang digunakan adalah 24 ekor.

Ekstraksi DNA

DNA ikan diekstraksi dari potongan sirip dengan menggunakan metode phenol-chloroform (Nugroho, 1997), sebagai berikut: 5-10 mg potongan sirip ikan dimasukkan kedalam tabung 1,5 ml yang telah berisi 500 µl larutan TNES Urea, kemudian ditambahkan 10 µg/ml Proteinase K dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 12 jam. Sebanyak 500 µl larutan Phenol-Chloroform ditambahkan kedalam tabung di atas untuk selanjutnya di vortex selama 1 menit dan disentrifus pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit. Lapisan supernatan diambil dan dimasukkan kedalam tabung baru dan ditambahkan 600 µl larutan propanol dan divortex sampai terlihat endapan putih. DNA diendapkan dengan cara mensentrifus campuran tersebut pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit, kemudian larutan diatasnya dibuang dan DNA dikeringkan pada suhu ruangan. DNA yang didapat kemudian dilarutkan kembali dalam 50-100 µl Tris-EDTA (TE) buffer dan disimpan dalam 4°C. Penambahan Rnase dilakukan kedalam tube berisi DNA dan dinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C untuk membersihkan sisa-sisa protein yang masih ada dan dilakukan pengendapan DNA kembali seperti proses diatas (Lia, 2006)

RAPD

Penyeleksian terhadap 20 primer (OPA1-20) dilakukan untuk mendapatkan primer yang mempunyai produk amplifikasi yang sesuai dengan DNA ikan gurame. Pengamplifikasian dilakukan menggunakan metode Polymerase Chain Reaction PCR) dengan komposisi

reaksi yang terdiri: 10 pmol setiap primer dan "pure taq DNA" (Promega) dengan total volume keseluruhannya 25 µl. Siklus PCR yang digunakan dalam amplifikasi adalah satu siklus denaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, 45 siklus penggandaan yang terdiri dari 94°C selama 1 menit, 36°C selama 1 menit dan 72°C selama 2,5 menit, dilanjutkan satu siklus terakhir pada suhu 72°C selama 10 menit.

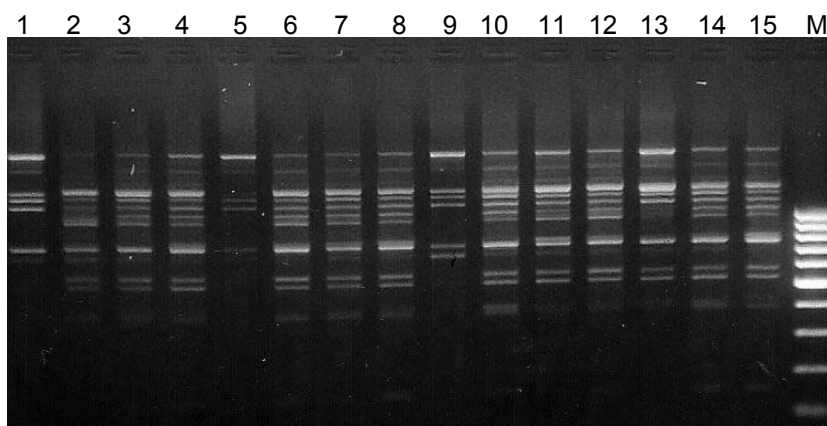
Hasil amplifikasi kemudian dipisahkan secara elektroforesis dengan menggunakan gel agarose 2-3% dalam Tris-Boric-EDTA (TBE) buffer dan diamati dengan illuminator (UV) serta di cetak gambarnya dengan polaroid.

Analisa Data

Untuk mengevaluasi variasi DNA antar ras ikan gurame dilakukan dengan menggunakan analisa molekuler varians (AMOVA) dan Fst dalam program TFGA (Miller, 1997). Kekerabatan antar ras dianalisa dengan menggunakan Jarak Genetik (Nei, 1972).

Hasil dan Pembahasan

Tujuh dari 20 primer mempunyai hasil amplifikasi. Empat primer berupa monomorf sedangkan tiga primer mempunyai polimorf. Tiga primer yang mempunyai hasil ampifikasi yang cukup baik yaitu OPA 4, 6 dan 7. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian (Lia, 2006). Namun demikian hanya dua primer yaitu OPA 4 dan 7 mempunyai fragmen yang dapat digunakan sebagai penganalisa antar tiga ras ikan gurame, sedangkan satu primer lainnya (OPA 6) tidak mendapatkan hasil produk yang konsisten. Jumlah total pita yang diamati dari dau



Keterangan: Lajur 1-5= Bastar, 6-10=Paris, 11-15=Blusafir, M=marker 100bp ladder

Gambar 1. Fragmen hasil amplifikasi RAPD dengan menggunakan primer OPA 4.

primer tersebut adalah 28 buah dengan panjang mulai 300 bp hingga 2000 bp. Salah satu hasil amplifikasi dengan primer OPA 4 terlihat pada Gambar 1.

Tingkat variasi heterozygositas dipengaruhi oleh jenis ras ikan gurame. Secara umum ras ikan gurame yang diteliti mempunyai tingkat keragaman yang tinggi dengan nilai heterozygositas rata-rata 0,2747, dengan nilai tertinggi terdapat pada ras Bluesafir (0,3050) kemudian diikuti oleh ras Paris (0,2832) dan Bastar (0,2360) (Tabel 1). Nilai ini setara dengan hasil dari Lia (2006) yang mendapatkan keragaman rata-rata ikan gurame ras Bluesafir sebesar 0,31. Heterosigositas ikan gurame yang diuji jauh lebih tinggi dibandingkan pada ikan air tawar lainnya. Umumnya, variasi genetik pada ikan air tawar tergolong cukup rendah sebagai akibat keterbatasan migrasi secara alami, seperti misalnya pada ikan kancra (Nugroho *et al.*, 2006). Fenomena ini dimungkinkan karena komoditas gurame masih bersifat lokal dalam taraf pembudidayaannya (belum banyak dikembangkan secara luas) sehingga menurunnya tingkat keragaman genetik akibat "*inbreeding depression*" yang umumnya terjadi pada ikan air tawar masih relatif lebih rendah dibandingkan dengan komoditas yang sudah berkembang secara luas dan lama, dimana peluang untuk "*genetic introgression*" menjadi lebih besar. Relatif tingginya variasi genetik ini juga menunjukkan bahwa komoditas ini masih potensial dimanfaatkan sebagai ikan budidaya.

Lebih jauh, rendahnya tingkat keragaman ras Bastar dibandingkan dua ras gurame lainnya dapat dipahami, hal ini sebagai akibat dari preferensi masyarakat yang lebih tinggi dalam penggunaan ras Bastar sebagai komoditas budidaya. Kemungkinan terjadinya silang dalam (umumnya terjadi di tingkat petani) adalah

Tabel 1. Variasi genetik pada ikan gurame berdasarkan fragmen RAPD dengan primer OPA 4 dan 7.

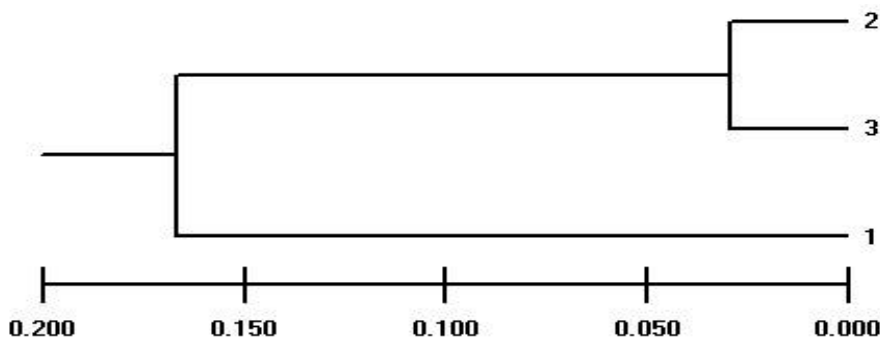
	Bastar	Paris	Bluesafir
Jumlah sampel	6	10	8
Heterozigositas	0,2360	0,2832	0,3050
Polymorphic locin (%)	70,37	74,07	74,07

lebih besar dibandingkan dua ras lainnya yang jarang digunakan didalam budidaya. Berdasarkan pengamatan dilapangan, hampir seluruh kegiatan budidaya ikan gurame menggunakan ras Bastar ini, walaupun dengan penamaan yang berbeda di setiap daerahnya.

Secara statistik dengan menggunakan AMOVA (*Analysis Molecular Variance*) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata secara genetik antara ras ikan gurame yang diuji ($P > 0,05$) berdasarkan fragmen dari dua primer (Tabel 2). Hasil yang sama juga diperoleh dengan menggunakan metoda isozyme terhadap ikan gurame ras Bastar, Bule dan Bluesafir (Nugroho & Kusmini, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan ketiga ras tersebut berasal dari nenek moyang populasi yang sama. Perbedaan yang ada secara fenotif yaitu berupa warna dan ukuran sisik kemungkinan adalah pengaruh lingkungan. Namun demikian fenomena ini masih memerlukan kajian lebih lanjut.

Tabel 2. Hasil Uji Fst Berpasangan.

	Bastar	Paris	Bluesafir
Bastar	XXXX	0,4929 ^{ns}	0,4902 ^{ns}
Paris		XXXX	1,0 ^{ns}
Bluesafir			XXXX



Gambar 2. Dendrogram Jarak Genetik Nei (1972) dari Gurame ras Bastar, Paris dan Bluesafir berdasarkan RAPD menggunakan primer OP A4 dan OP A7.

Keadaan ini akan terlihat lebih jelas pada hasil penghitungan jarak genetik berdasarkan fragmen dari dua primer. Jarak genetik yang dihitung menurut Nei (1972) tertera pada Tabel 3. Jarak genetik rata-rata antara ras ikan gurame adalah sekitar 0,118. Nilai jarak genetik pada ikan gurame ini relatif lebih setara dibandingkan jarak genetik antara ikan dari populasi yang sama, seperti pada ikan kancra (Nugroho *et al.*, 2006).

Tabel 3. Jarak Genetik Nei (1972)

	Bastar	Paris	Bluesafir
Bastar	XXXX	0.1587	0.1675
Paris		XXXX	0.0282
Bluesafir			XXXX

Dendrogram yang dibentuk berdasarkan jarak genetik tersebut menunjukkan bahwa ras Bluesafir mempunyai jarak lebih dekat dengan Paris dibandingkan dengan Bluesafir. Berdasarkan hasil pengamatan di lapangan, ikan gurame ras Paris dan Bluesafir mempunyai corak yang serupa, dan yang membedakannya hanya dari warna sisiknya. Bluesafir mempunyai warna lebih biru, sedangkan Paris dengan warna sisik lebih keabuan. Hasil ini menunjukkan bahwa kemungkinan kawin silang antar ras yang mempunyai peluang terbaik untuk menghasilkan benih unggul untuk kegiatan budidaya adalah antara Bastar dengan Bluesafir atau Bastar dengan Paris.

Kesimpulan

Hasil Uji Fst berpasangan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar tiga strain yang diuji. Terdapat variasi genetik pada tingkat keragaman dari tiga strain ikan gurame. Keragaman tertinggi dimiliki ikan gurame ras Bluesafir (heterozygositas=0,3050), diikuti ras Paris (H= 0,2832) dan Bastar (H= 0,2360).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Negara Riset dan Teknologi serta Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar Bogor atas terlaksananya kegiatan ini dan dukungan dana melalui program Hibah Riset tahun anggaran 2010. Terima Kasih juga disampaikan kepada Sri Sundari (Pelitkayasa-BRPBAT) atas bantuan dalam pelaksanaan analisa laboratorium.

Daftar Pustaka

- Ferguson, A.J., B. Taggart, P.A. Prodohl, O. Mc. Meel, C. Thompson, C. Stone, P. McGinnity & R.A. Hynes. 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish population, with special reference to *Salmo*. *J. Fish Biol.* 47: 103-126.
- Kusmini, I.I., L.E. Hadie, W. Hadie & A.H. Kristanto. 2000. Karakterisasi dalam karakter fenotip beberapa ras ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) yang berpotensi dalam budidaya dengan analisis truss morfometrik. Prosiding Simposium Nasional Pengelolaan Plasma Nutfah. Bogor. P: 614-620.
- Lia, E. 2006. Analisa keanekaragaman genetik ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac) varietas Bluesafir dengan menggunakan metode RAPD. Skripsi S1, Jurusan Pendidikan Biologi. Universitas Pendidikan Indonesia (UPI) Bandung. 95 hal.
- Miller, M.P. 1997. Tools For Population Genetic Analysis (TFPGA) version 1.3. Departement of Biological Science. Northern Arizona University, Arizona, USA.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Nature.* 106:283-292.
- Nugroho, E., D. Satyani & Rusmaedi. 1993. Evaluasi potensi genetik dari beberapa ras gurame. *Bulletin Penelitian Perikanan Darat* 12(1): 30-36.
- Nugroho, E. 1997. Practical manual on detection of DNA Polymorphism in fish population study. *Bull. Mar. Sci. Fish.* 17:109-129.
- Nugroho, E & I.I. Kusmini. 2007. Evaluasi variasi genetik tiga ras ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dengan metode isozyme. *Jurnal Riset Akuakultur* 2: 51-57.
- Nugroho, E., J. Subagja., S. Asih & T. Kurniasih. Evaluasi keragaman genetik ikan kancra dengan menggunakan marker mtDNA D-loop dan Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD). 2006. *Jurnal Riset Akuakultur* volume 1, 2: 211-217.
- Setijaningsih, L., O.Z. Arifin & R. Gustiano. 2007. Karakterisasi tiga strain ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) berdasarkan metode truss morfometrik. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 7(1): 23-30.

- Soewardi, K. 1995. Karakterisasi popuasi ikan gurame *Osphorenemus gouramy lac* dengan metode biokimia. *Jurnal Ilmu Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia* 3(2): 23-31.
- Soewardi, K., R. Rachmawati, R. Affandi dan D.G. Bengen. 1995. Penelusuran varietas ikan gurame *Osphoronemus gouramy Lac* berdasarkan penampilan karakter luar. *Jurnal Ilmu Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia* 3(2): 31.
- Sudarto, 1989. Porselin, Blue Safir dan Paris yang bertelur. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 11(2): 1-2.
- Suseno, D., Rusmaedi, I. Iriana, L. Dharma & O.Z. Arifin. 2000. Karakterisasi morfologi ikan gurame strain Soang dan Paris. *Simposium Nasional Pengelolaan Pemuliaan dan Plasma Nutfah*. Bogor. P: 589-595.