

## **Variasi Genetik Ikan Anggoli (*Pristipomoides multidens*) berdasarkan Pola Pita Allozim**

### **Genetic variation of Anggoli fish (*Pristipomoides multidens*) based on allozyme patterns**

**ENDANG WIGATI<sup>1</sup>, SUTARNO<sup>1</sup>, HARYANTI<sup>2</sup>**

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126  
Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol, Bali

Diterima: 15 April 2002. Disetujui: 20 Juni 2003

#### **ABSTRACT**

The objectives of the research were to study the genetic variation and allozyme band pattern of *Pristipomoides multidens* from several locations of Indonesian sea based on the pattern of allozyme. Samples of the fish were collected from three geographically different water areas of Bali, Sumbawa and Moluccas. Ten different enzymes, ADH, MDH, LDH,  $\alpha$ -GPD, PGM, GPI, IDH, ME, EST and SP were used in this study. Polymorphic loci of genetic variation were in line with the Hardy-Weinberg's equilibrium. The genetic variation was calculated based on the proportion of polymorphic loci, frequency of allele, amount of allele per locus, and heterozygosity. The results of this research indicate that from the 10 different enzymes, 16 loci were detected, and 3 of them were polymorphic (PGM-1, GPI-1 and EST). Population of Moluccas has 2 polymorphic loci (PGM-1 and GPI-1) by proportion of 13%, however, population from Bali and Sumbawa has only 1 polymorphic locus (EST-1) with the value of 6%. The allelic number per locus was 1.06 – 1.125, while the observed heterozygosity (D) of the populations was 0.005. The fish population of Moluccas is having better genetic variation than that of population from Bali and Sumbawa. The genetic distance between populations was between 0.002 – 0.005. The closest genetic distance is between Bali and Sumbawa (D = 0.002), while the longest genetic distance was resulted between populations of Sumbawa and Moluccas (D = 0.005). Based on the UPGMA cluster analysis for the genetic distances, indicated that there was 2 main geographic groups, (1) Moluccas, and (2) Bali and Sumbawa as single population.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

**Key words:** allozyme, genetic variation, *Pristipomoides multidens*.

#### **PENDAHULUAN**

Ikan *Pristipomoides multidens* merupakan salah satu jenis ikan kakap. Ikan ini hidup di batuan karang dengan kedalaman 60-180 m (Ovenden *et al.*, 1996). *P. multidens* bersifat karnivora, jenis makanannya ikan, udang, kepiting, lobster, cumi-cumi, dan gastropoda (Allen, 1985). Penangkapan ikan ini mengalami peningkatan, pada periode 1990-1997 penangkapan *P. multidens* di Australia Barat meningkat dari 9 ton menjadi 329 ton (Ovenden *et al.*, 1996). Apabila hal ini dilakukan secara terus menerus selain dapat merusak lingkungan juga akan menurunkan populasi dan variasi genetik ikan. Penurunan variasi genetik ditentukan oleh lokus polimorfik, heterozigositas dan jumlah alel per lokus (Permana *et al.*, 2001).

Variasi genetik dapat dianalisis menggunakan elektroforesis allozim. Prinsipnya, apabila suatu molekul biologi berada dalam suatu medan listrik, maka molekul-molekul akan ditarik berlawanan dengan medan listrik, sehingga molekul-molekul yang

bermuatan positif akan bermigrasi ke elektroda negatif dan molekul-molekul yang bermuatan negatif akan bermigrasi ke elektroda positif (Macaranas, 1991). Isozim atau allozim adalah suatu enzim yang mempunyai bentuk molekul yang berbeda-beda tetapi mempunyai aktifitas katalitik yang sama dari suatu jaringan atau organ (Suranto, 2000). Isozim biasa ditemukan di dalam serum dan jaringan vertebrata, insekta, tumbuhan, dan organisme uniseluler. Jaringan yang berbeda dapat mengandung isozim yang berbeda dengan aktivitas pada substrat yang berbeda-beda pula (Murray *et al.*, 1996).

Variasi protein dan enzim dapat digunakan sebagai *marker* untuk mengidentifikasi perbedaan genetik antar populasi dalam pengembangan budidaya ikan (Sugama *et al.*, 1998). Pola pita allozim atau isozim dapat pula digunakan untuk mengetahui adanya *inbreeding* (perkawinan sekerabat), *gen flow* (pertukaran gen) antar populasi, dan memperbaiki mutu genetik. Metode ini telah banyak digunakan untuk mengetahui variasi genetik dan telah dicobakan pada



**Gambar 1.** a. Peta lokasi penelitian, (1) Bali, (2) Sumbawa, dan (3) Maluku. b. Ikan Anggoli (*P. multidentus*).

beberapa jenis ikan antara lain ikan bandeng (Sugama dan Priyono, 1998), *Penaeus monodon* (Sugama et al., 1996, 2002; Imron et al., 1999) dan *Lutjanus malabaricus* (Elliott, 1996). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman pola pita allozim dan variasi genetik ikan *P. multidentus* dari perairan Bali, Sumbawa, dan Maluku.

## BAHAN DAN METODE

### Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali, pada bulan Juni s.d. Oktober 2002.

### Bahan dan Alat

Sampel ikan yang digunakan dalam penelitian ini ditangkap dari perairan Bali, Sumbawa, dan Maluku. Jaringan yang dipergunakan adalah daging dan hati. Ekstraksi jaringan dan *starch gel electrophoresis* yang digunakan mengikuti metode Sugama et al. (1996). Bahan kimia yang digunakan adalah: *Potatoes Starch*, *Hydrolysed Potato Starch* (*Starch Art Corporation*),  $\text{MgCl}_2$  1M, KCN 0,1 N, *buffer Citric Acid Aminopropylmorpholine* (CAMP) pH 6, asam sitrat 7%, gliserine, *Fast Blue Marker*, dan larutan pewarna. Diperlukan pula akuades, kertas saring, plastik wrap dan es batu. Alat-alat yang digunakan adalah cetakan gel, neraca digital, *sample plate*, *freezer*, *refrigerator*, *power supply*, mistar, pinset, skalpel, erlenmeyer, pemanas, sarung tangan, gelas ukur, gergaji dengan senar gitar, inkubator, aspirator, lempeng plastik tebal 1 mm, dan seperangkat peralatan elektroforesis.

Enzim yang diamati sebanyak 10 enzim yaitu ADH (*Alcohol Dehydrogenase*), MDH (*Malate Dehydrogenase*), LDH (*Lactate Dehydrogenase*),  $\alpha$ -GPD ( $\alpha$ -

*Glycerophosphate Dehydrogenase*), PGM (*Phosphoglucomutase*), GPI (*Glucose Phosphate Isomerase*), IDH (*Isocitrate Dehydrogenase*), ME (*Malic Enzyme*), SP (*Sarcoplasmic Protein*) dan EST (*Esterase*). Prosedur pewarnaan mengikuti metode dari Shaw dan Prasad (1970).

### Cara Kerja

Metode yang digunakan adalah elektroforesis allozim dengan teknik pemotongan gel horizontal, meliputi preparasi *buffer*, preparasi *starch gel* (gel pati), preparasi jaringan, *running* elektroforesis, pengirisan gel, pewarnaan gel, interpretasi pita hasil elektroforesis dan analisis hasil.

### Prosedur mendapatkan sampel

Sampel ikan *P. multidentus* diperoleh dengan penangkapan di tiga lokasi, yakni Bali, Sumbawa, dan Maluku, masing-masing sebanyak 43, 40, dan 41 ekor dengan ukuran seragam. Ikan yang didapatkan dari alam selanjutnya dibungkus dengan plastik satu persatu dan dimasukkan langsung ke dalam termos es. Setelah sampai di laboratorium dipindahkan dalam *freezer* bersuhu  $-20^\circ\text{C}$ .

**Preparasi *buffer* elektroforesis.** *Buffer* elektroforesis dibuat berdasarkan metode Sugama et al., (1996), dengan cara sebagai berikut *amino propylmorpholine* sebanyak 4 ml dicampur dengan 15 g asam sitrat dalam *erlenmeyer* 1000 ml, selanjutnya ditambahkan aquadest hingga volume larutan mencapai 1000 ml, larutan dihomogenkan dengan mengunkan *stirrer*.

**Preparasi gel pati.** Gel dibuat dengan cara menimbang 20 g *potato starch* dan 28 g *hydrolyzed potato starch*, dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 1000 ml. Dibagian lain dimasukkan 2 ml  $\text{MgCl}_2$ , 10 ml KCN dan 8 ml *buffer* CAMP pH 6 ke dalam gelas ukur 1000 ml, dikocok dan ditambahkan aquadest hingga

volume mencapai 400 ml, larutan tersebut dituang ke dalam *erlenmeyer* yang berisi *potato starch* dan dikocok hingga larut. Kemudian dipanaskan di atas pemanas sambil dikocok sampai muncul gelembung-gelembung halus. Gelembung-gelembung halus tersebut dikeluarkan dengan aspirator, dan gel pati dituang ke dalam cetakan ukuran 20x12x1cm. Setelah dingin dan memadat gel ditutup dengan plastik *wrap* untuk menghindari gelembung udara dan selanjutnya disimpan dalam ruangan bersuhu 20-25°C selama 20 jam atau sampai digunakan.

**Tabel 1.** Enzim yang termasuk kelompok NAD (+) dan komposisi larutan pewarna yang digunakan dalam elektroforesis.

No	Enzim	Larutan Pewarna	Buffer (10 ml) 0,2 M Tris-HCl
1	<i>Alcohol Dehydrogenase</i> (ADH)	<i>Ethanol</i> (95%) 0,5 ml Lar. NAD (+) 10 ml	pH 8,7
2	<i>Malate Dehydrogenase</i> (MDH)	Lar. NAD (+) 10 ml <i>DL-Malate 2 Na</i> 100 mg	pH 8,7
3	<i>Lactate Dehydrogenase</i> (LDH)	Lar. NAD (+) 10 ml 50% <i>Na-Lactate</i> 0,5 ml	pH 8,7
4	$\alpha$ - <i>Glycerophosphate Dehydrogenase</i> ( $\alpha$ – GPD)	Lar. NAD (+) 10 ml <i>Na<math>\alpha</math>-Glycerophosphate</i> 50 mg EDTA 25 mg	pH 8,7 (7,1)

Keterangan: Larutan NAD (+) terdiri dari: NAD (+) = 6 mg; PMS = 1 mg; DW = 8 ml; NBT (0,1%) = 2 ml.

**Tabel 2.** Enzim yang termasuk kelompok NADP dan komposisi larutan pewarna yang digunakan dalam elektroforesis.

No	Enzim	Larutan Pewarna	Buffer (10 ml) 0,2 M Tris-HCl
1	<i>Posphoglucomutase</i> (PGM)	Lar. NADP 10 ml <i>Na<sub>2</sub>glucose 1-phosphate</i> 50 mg <i>MgCl<sub>2</sub></i> 1 ml <i>G6PDH</i> 30 $\mu$ l	pH 8,0
2	<i>Glucose Phosphate Isomerase</i> (GPI)	Lar. NADP 10 ml <i>Fructose 6-phosphate</i> 60 mg <i>G6PDH</i> 15 $\mu$ l	pH 8,0
3	<i>Isocitrate Dehydrogenase</i> (IDH)	Lar. NADP 10 ml <i>Na<sub>3</sub> Isocitrate</i> 6 ml <i>MnCl<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O</i> 4 ml	pH 8,0
4	<i>Malic Enzyme</i> (ME)	Lar. NADP 10 ml <i>BL-Malate 2 Na</i> 100 mg	pH 8,0

Keterangan: Larutan NADP terdiri dari : NADP = 6 mg; PMS = 1 mg; DW = 8 ml; NBT (0,1%) = 2 ml.

**Tabel 3.** Enzim yang tidak termasuk kelompok NAD (+) dan NADP serta komposisi larutan pewarna yang digunakan dalam elektroforesis.

No	Enzim	Larutan Pewarna	Buffer (10 ml) 0,2 M Tris-HCl
1	<i>Sarcoplasmic protein</i>	0.1% <i>Amido Black 10 B</i> 20 ml ( <i>Acetic Acid</i> 7%)	
2	<i>Esterase</i>	$\alpha$ - <i>Naphthyl Acetat</i> 10 mg <i>Fast Blue RR</i> 20mg	Aseton 1 ml pH 7.0

**Preparasi jaringan.** Jaringan yang banyak digunakan untuk melihat struktur enzim dengan menggunakan elektroforesis pada beberapa jenis ikan secara umum adalah hati dan daging. Jaringan diambil dengan pisau skalpel dan pinset, diletakkan dalam *sample plate*, ditutup dengan plastik *wrap* dan selanjutnya disimpan dalam *freezer* bersuhu –20°C. Pada saat akan dilakukan analisis, sampel dikeluarkan dari *freezer* dan dikeringanginkan dalam suhu ruangan sehingga enzim dalam jaringan akan keluar. Potongan kertas saring ukuran 5x10 mm ditempelkan pada sayatan jaringan dan dibiarkan beberapa saat. Setelah tampak basah karena menyerap enzim yang keluar dari jaringan, potongan kertas saring siap diaplikasikan pada gel.

**Running elektroforesis.** Gel yang telah membeku dilepas dari cetakan dan tinggal menempel pada lempeng kaca, kemudian dibelah menjadi dua bagian, sisi kanan untuk elektroda positif dan sisi kiri untuk elektroda negatif. Gel yang telah dibelah diregangkan, di bawah lempeng kaca, tepat di bawah celah antara dua belahan gel diletakkan mistar yang telah ditandai oleh skala jarak ( $\pm$  0,5 cm) antara satu sampel dengan sampel yang lainnya pada gel. Kertas saring yang telah menyerap enzim dari jaringan diletakkan berurutan diantara belahan gel. Setiap satu gel dapat digunakan untuk 20-24 sampel. Pada kedua ujung dan bagian tengah belahan gel ditempelkan *marker* dari kertas saring yang telah direndam dalam *Fast Blue Marker* untuk mengetahui gerakan molekul enzim. Selanjutnya kedua belahan gel tersebut disatukan kembali, bingkai cetakan dipasang kembali lalu ditutup dengan plastik *wrap*.

Selanjutnya gel diletakkan di atas nampan elektroforesis, yang telah dituangi larutan *buffer* CAMP pH 6. Kedua sisi gel dihubungkan dengan larutan CAMP pH 6 pada nampan elektroforesis menggunakan selembur kain elektroda. Bagian atas gel ditaruh kotak yang berisi air dan es batu untuk menghindari gel terlalu panas. *Running* dilakukan dalam *refrigerator* (4°C) dengan arus konstan 80 mA/cm<sup>2</sup>, voltase 110 volt, selama 240 menit (4 jam).

**Pengirisan gel.** Gel hasil *running* diangkat, kertas saring bekas penanda dan ekstrak jaringan diambil dari gel. Ukuran gel diperkecil dengan memotong 1 cm semua sisi.

Pemotongan dilakukan dengan tidak melampaui batas penanda dan bekas ekstrak jaringan. Bingkai dilepas dan sisa potongan gel dibuang, lempengan kaca tempat gel menempel dibersihkan dan permukaan gel dikeringkan menggunakan kertas penyerap (tisu). Lempengan plastik (195X125X1mm) diletakkan pada permukaan bagian atas gel. Gel akan melekat kuat pada lempeng plastik tersebut, bingkai dipasang kembali. Di atas lempeng plastik diletakkan lempengan kaca kemudian gel dibalik ke kiri sehingga bagian atas berada di bawah, di atas gel diletakkan lempeng kaca. Gel dipotong tipis setebal 1 mm dengan menggunakan senar gitar. Setiap selesai satu irisan, ditambahkan lempeng plastik 1 mm pada bagian bawah sebagai alas, demikian seterusnya sampai gel teriris semua. Dengan memutar ke arah kiri, gel dibalik lagi sehingga posisi seperti semula. Kaca dan lempeng plastik paling atas dilepaskan. Pojok kanan atas dipotong sedikit untuk menandai nomor sampel. Gel dipotong dua bagian tepat pada penanda batas (di tengah). Setiap irisan diambil secara hati-hati selanjutnya gel ditempatkan di dalam wadah kotak *polyethylene* untuk pewarnaan.

**Pewarnaan.** Pewarnaan yang dilakukan tergantung dari jenis enzim yang akan dianalisis. Dalam penelitian ini digunakan kelompok enzim yang memerlukan koenzim *Nicotinamida Adenine Dinucleotida* (NAD<sup>+</sup>) yaitu ADH, MDH, LDH dan  $\alpha$ -GPD. Untuk kelompok enzim *Nicotinamida Adenine Dinucleotida Phosphate* (NADP) yaitu PGM, GPI, IDH dan ME. Koenzim NAD<sup>+</sup> dan NADP berperan dalam pemindahan hidrogen dan ion H<sup>+</sup>. Enzim EST dan SP merupakan jenis enzim yang hanya memerlukan substrat dan pewarna. Selain itu reagen lain yang digunakan adalah PMS (*Phenazine methosulfat*) dan NBT (garam *Nitroblue Tetrazolium*). PMS berperan sebagai pengemban elektron antara NADH atau NADPH dan zat warna, yang menyebabkan warna NBT tereduksi dari tidak berwarna menjadi berwarna biru. Enzim dan komposisi larutan pewarna merupakan yang digunakan dalam elektroforesis merupakan metode yang sehari-hari digunakan di Laboratorium Bioteknologi Perikanan Pantai Gondol, Bali (Tabel 1, 2, dan 3).

Gel yang telah diiris-iris kemudian disiram dengan larutan pewarna sesuai dengan jenis enzim yang akan dianalisis, kemudian diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 50°C. Setelah pita yang muncul tampak jelas, inkubasi segera dihentikan dengan membuang larutan pewarna dan menggantinya dengan *acetic acid* sebagai larutan *stopper*. Dua puluh jam kemudian larutan *stopper* diganti gliserin 10%.

**Interpretasi pita.** Di dalam menginterpretasikan pita, penamaan lokus dan alel mengikuti metode Allendorf dan Utter (1979) dalam Sugama *et al.* (1996). Lokus dikatakan monomorfik apabila setiap lokus hanya terdiri dari satu pita, sedangkan polimorfik apabila terdiri lebih dari satu pita tergantung jenis enzimnya, monomer, dimer, tetramer dan seterusnya.

#### Analisis Data

Uji *Chi-square* digunakan untuk menentukan keabsahan genotip yang teramati yang diduga dengan hukum kesetimbangan Hardy-Weinberg. Lokus dianggap polimorfik jika apabila alel frekuensinya dibawah 0.99 (Permana *et al.*, 2001). Heterozigositas teramati (Ho) diketahui dengan menghitung genotip yang teramati, dengan menjumlah individu yang heterosigot dengan jumlah individu yang dianalisis. Jarak genetik antar populasi dihitung menggunakan software GENEPOP. Cluster dari sampel didasarkan pada matrik jarak genetik yang ditampilkan dalam bentuk dendrogram dengan menggunakan metode *Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Averages* (UPGMA).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Jaringan spesifik dan buffer

Hasil analisis spesifik jaringan dan *buffer* yang digunakan untuk analisis allozim pada ikan *P. multidens* selengkapnya disajikan pada tabel 4. Dari Tabel 4 tampak bahwa kedua jaringan (hati dan otot) memberi hasil penampakan pita enzim yang jelas, kecuali pada jaringan otot enzim yang tidak muncul

**Tabel 4.** Enzim yang diuji, lokus teramati, jaringan dan system *buffer* yang digunakan, mobilitas dan polymorfisme pada ikan *P. multidens*.

Enzim	Lokus	Buffer CAM P-6	Jaringan		Mobili tas	Polimor- fisme
			Otot	Hati		
<i>Alcohol Dehydrogenase</i>	ADH	+++	-	+++	(-)	M
<i>Lactate Dehydrogenase</i>	LDH	++	+++	-	(+)	M
<i>Glucose Phosphate</i>	GPI-1	+++	++	+++	(+)	P
<i>Isomerase</i>	GPI-2		++	+++	(+)	M
<i><math>\alpha</math>-Glycerolphosphate</i>	$\alpha$ -GPD	+++	+++	++	(+)	M
<i>Dehydrogenase</i>						
<i>Phosphoglucumutase</i>	PGM-1	+++	++	+++	(+)	P
	PGM-2		++	+++	(+)	M
<i>Esterase</i>	EST	+++	-	+++	(+)	P
<i>Isocitrat Dehydrogenase</i>	IDH	+++	-	+++	(+)	M
<i>Malate Dehidrogenase</i>	MDH-1	+++	+++	-	(+)	M
	MDH-2		+++	-	(+)	M
	MDH-3		+++	-	(+)	M
<i>Malic Enzyme</i>	ME-1	+++	+++	++	(+)	M
	ME-2		+++	++	(+)	M
<i>Sarcoplasmic Protein</i>	SP-1	+++	++	+++	(+)	M
	SP-2		++	+++	(+)	M

Keterangan: M: monomorfik; ++: pita kurang jelas; (+): kutub positif; P: polimorfik; -: pita tidak muncul; (-): kutub negatif; +++: pita tampak jelas.

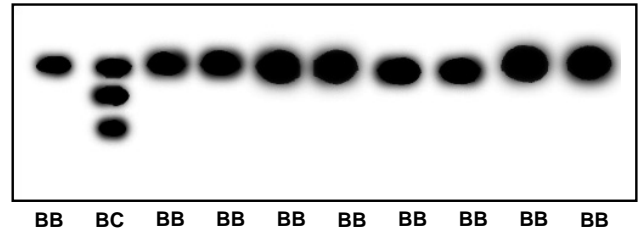
adalah ADH, EST, dan IDH. Pada jaringan hati yaitu enzim Ldh dan Mdh. Ketidak munculan ini mungkin disebabkan oleh sifat enzim yang khas yaitu enzim memiliki aktivitas spesifik sebagai katalisator pada jaringan tertentu, disintesis pada jaringan tertentu sesuai dengan fungsinya dan bekerja pada jenis *buffer* tertentu pula (Sarjoko, 1991). Selain itu aktivitas enzim pada tubuh ikan sangat dipengaruhi oleh ukuran atau umur ikan selama fase pertumbuhan dan organ spesifik pada tubuh seperti daging (otot), mata, jantung dan hati. Digunakannya kedua jaringan tersebut karena hasil penelitian terdahulu menyebutkan bahwa jaringan otot dan hati memberi hasil yang baik. Misal penelitian yang dilakukan Soewardi (1995) pada ikan Gurame serta Sugama dan Prijono (1998) pada ikan bandeng.

Menurut Hara dan Na-Nakorn (1996) penampakan pita enzim dipengaruhi oleh kondisi *buffer* seperti komposisi kimianya, pH dan konsentrasi larutan. Larutan penyangga (*buffer*) berfungsi untuk menyangga terjadinya perubahan pH selama proses elektroforesis berlangsung, yaitu sebagai asam pada kutub positif (anoda) dan basa pada kutub negatif (katoda) (Harris dan Hopkinson, 1976).

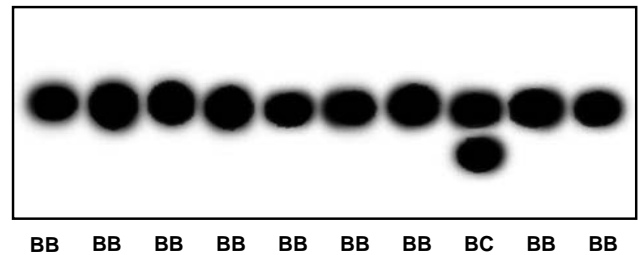
Mobilitas enzim dipengaruhi oleh muatan listrik yang dimiliki protein yang ditentukan oleh komposisi asam amino dan pH medium. Dalam suatu medium listrik dengan konsentrasi gel dan garam-garam tertentu, protein akan bergerak ke arah kutub yang memiliki muatan berlawanan dengan laju yang proposional terhadap muatan dan konformasinya. Selanjutnya muatan bersih setiap protein bergantung kepada pH lingkungan (pH *buffer* dan gel). Pada kondisi pH tinggi, gugus karboksil akan bermuatan positif, sedangkan pada pH rendah gugus aminonya akan bermuatan positif (Murphy *et al.*, 1990).

#### Variasi genetik

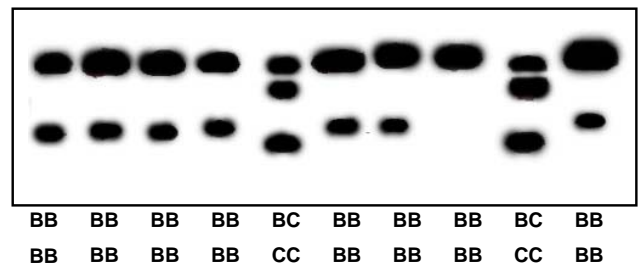
Hasil analisis elektroforesis pada 10 enzim yang digunakan terdeteksi 16 lokus dan 3 diantaranya bersifat polimorfik yaitu GPI, PGM, EST (Gambar 1, 2 dan 3). Berdasarkan data zimogram tersebut dapat dihitung jumlah genotip yang teramati, frekuensi alel 3 lokus polimorfik dan nilai harapan Hardy-Weinberg (Tabel 5). Frekuensi genotip ketiga lokus polimorfik pada ketiga populasi menunjukkan proporsi genotip berada dalam kesetimbangan Hardy-Weinberg



Gambar 1. Pola pita enzim GPI pada ikan *P. multidens*.



Gambar 2. Pola pita enzim PGM pada ikan *P. multidens*.



Gambar 3. Pola pita enzim EST pada ikan *P. multidens*.

dengan uji *Chi-Square* ( $\chi^2$ ). Suatu kondisi dikatakan setimbang jika nilai  $\chi^2$  dari semua lokus lebih kecil dari nilai  $\chi^2$  tabel (0.05)= 3,84 (Sugama *et al.*, 1988 dalam Wibowo, 2001).

Dari Tabel 5 terlihat bahwa nilai  $\chi^2$  ketiga lokus polimorfik berkisar antara 0,007 sampai 0,417. Hal ini berarti populasi ikan *P. multidens* berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg. Sedang suatu lokus dianggap polimorfik bila frekuensi dari alel yang paling sering muncul sama atau kurang dari 0,99 (Sugama dan Priyono, 1998; Permana dkk., 2001;

Tabel 5. Genotip teramati, frekuensi alel pada lokus polimorfik dan harapan Hardy-Weinberg ( $\chi^2$ ) pada ikan *P. multidens*.

Lokasi	N	Lokus	Obs/ Exp	Genotip						Frekuensi alel			$\chi^2$
				AA	AB	AC	BB	BC	CC	A	B	C	
Bali	43	EST	Obs	-	-	-	39	2	2	-	0.930	0.070	0.417
			Exp	-	-	-	37.191	5.599	0.211	-			
Sumbawa	40	EST	Obs	-	-	-	36	4	-	-	0.950	0.050	0.11
			Exp	-	-	-	36.1	3.8	0.1	-			
Maluku	41	GPI	Obs	-	-	-	40	1	-	-	0.989	0.012	0.007
			Exp	-	-	-	40.103	0.973	0.006	-			
		PGM	Obs	-	-	-	39	2	-	-	0.976	0.024	0.027
			Exp	-	-	-	39.056	1.921	0.024	-			

Murphy *et al.*, 1990). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa frekuensi alel ketiga lokus polimorfik kurang dari 0,99.

Variasi ikan di alam maupun budidaya dapat dilihat dari proporsi lokus polimorfik, jumlah alel per lokus dan heterozigositas. Hasil perhitungan ketiga parameter tersebut disajikan pada Tabel 6. Pada Tabel 6 terlihat bahwa jumlah lokus polimorfik dari ketiga populasi berkisar antar 1 hingga 2 dan proporsi lokus polimorfiknya antara 0.06 (6%) sampai 0.13 (13%). Populasi Maluku mempunyai jumlah lokus polimorfik dan alel perlokus tertinggi yaitu 2 lokus dengan proporsi 13% dan jumlah alel perlokus sebesar 1.125, sedang Bali dan Sumbawa hanya 1 lokus dengan proporsi 6% dan jumlah alel perlokus sebesar 1.06. Untuk nilai heterosigozitas teramati ( $H_o$ ) yaitu 0.003 (Bali), 0.006 (Sumbawa) dan 0.005 (Maluku) dengan rata-rata 0.005. Heterozigositas harapan ( $H_e$ ) yaitu 0.008 (Bali), 0.006 (Sumbawa) dan 0.004 (Maluku). Nilai perbandingan  $H_o/H_e$  berkisar antara 0.375 hingga 1.25.

**Tabel 6.** Ringkasan variasi genetik ikan *P. multidens* dari tiga populasi berdasarkan 16 lokus enzim hasil elektroforesis.

Parameter	Populasi		
	Bali	Sum-bawa	Maluku
Jumlah sampel	43	40	41
Jumlah lokus	16	16	16
Jumlah lokus polimorfik	1	1	2
Proporsi lokus polimorfik	0.06 6%	0.06 6%	0.13 13%
Jumlah alel perlokus	1.06	1.06	1.125
Heterozigositasteramati ( $H_o$ )	0.003	0.006	0.005
Heterozigositasharapan ( $H_e$ )	0.008	0.006	0.004
$H_o / H_e$	0.375	1	1.25

Menurut Allendorf dan Utter (1979) dalam Sugama dan Priyono (1998) menjelaskan bahwa penilaian variasi genetik di alam yang terbaik dengan melihat nilai rata-rata heterozigositas teramati. Bila dilihat nilai heterozigositas rata-ratanya, maka ketiga populasi ikan *P. multidens* mempunyai nilai sebesar 0,005. Nilai ini masih lebih rendah dibandingkan ikan laut lainnya. Sugama dan Priyono (1998) mendapatkan nilai heterozigositas rata-rata untuk ikan bandeng (*Chanos chanos*) adalah 0.068, Imron *et al.*, (1999) mendapatkan nilai 0.036 untuk udang (*Penaueus monodon*), dan Wibowo (2001) mendapatkan nilai 0.012 untuk ikan Napoleon Wrasse.

Rendahnya variasi genetik ikan tersebut kemungkinan diakibatkan oleh adanya perkawinan acak yang sangat sedikit, sehingga terjadi pembatasan pertukaran gen dari beberapa pasangan yang

melakukan perkawinan. Hal ini akan menyebabkan terjadinya perkawinan sekerabat (*inbreeding*) yang tinggi. Apabila *inbreeding* dibiarkan terjadi secara berulang-ulang maka peluang munculnya individu homozigot akan lebih tinggi. Jika suatu populasi nilai homozigositasnya tinggi maka akan muncul kemungkinan rentan terhadap perubahan lingkungan dan serangan penyakit, sehingga peluang dan daya kelulushidupan rendah. Sebaliknya suatu populasi dengan nilai heterozigositas semakin tinggi, maka variasi genetiknya juga tinggi. Populasi dengan variasi genetik tinggi memiliki peluang hidup yang lebih baik untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan (Harlt, 1980 dalam Imron, 1998).

Berdasarkan nilai keragaman genetik yang diperoleh (Tabel 6) dapat dikatakan bahwa populasi ikan *P. multidens* yang berasal dari perairan Maluku memiliki tingkat variasi genetik lebih tinggi dibandingkan dengan populasi Bali dan Sumbawa. Kecilnya variasi genetik antara Bali dan Sumbawa menunjukkan adanya aliran gen yang bebas dari kedua populasi sebagai akibat berdekatan jarak geografisnya.

Selain itu rendahnya nilai variasi genetik ikan *P. multidens* karena ikan ini termasuk jenis ikan karang dan tidak mempunyai sifat migrasi atau hanya bermigrasi jarak pendek, sehingga tidak ada pertukaran gen dengan populasi ikan tersebut. Pemakaian jumlah sampel yang digunakan untuk analisis juga berpengaruh. Semakin sedikit sampel yang digunakan peluang untuk mendapatkan lokus polimorfik akan sedikit sehingga nilai heterozigositasnya juga sedikit. Jika sampel yang digunakan jumlahnya banyak maka peluang mendapatkan lokus polimorfik semakin banyak.

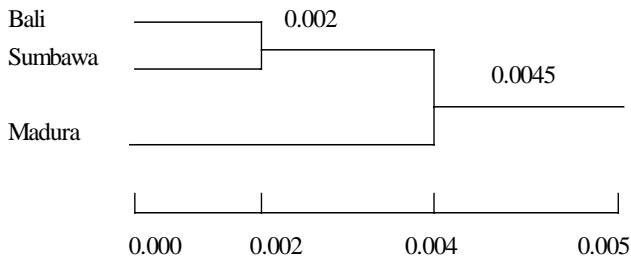
Menurut Grant *et al.* (1987) dalam Sugama dan Priyono (1998) mengatakan bahwa perbedaan frekuensi alel diantara populasi ikan laut berasal dari tiga tekanan yaitu migrasi, *random genetic drift* (penyimpangan genetik secara acak) dan seleksi alam. Dikatakan pula sedikit atau tidak adanya perbedaan genetik diantara populasi ikan laut dikarenakan besarnya potensi *gen flow* (pertukaran gen) diantara populasi, berkurangnya penyimpangan genetik dalam populasi yang sangat besar atau kombinasi dari mekanisme ini.

#### Jarak genetik

Jarak genetik populasi ikan *P. multidens* ditampilkan dalam bentuk dendrogram dengan menggunakan metode *Unweighted Pairs Group Method With Arithmetic Averages* (UPGMA) (Gambar 4). Berdasarkan tabel matrik jarak genetik (Tabel 7) dan dendrogram jarak genetik (Gambar 4) dapat dijelaskan bahwa populasi ikan *P. multidens* dari perairan Bali dengan Sumbawa memiliki jarak genetik atau hubungan kekerabatan yang paling dekat, dengan nilai  $D = 0.002$ , sedang populasi Maluku mempunyai jarak genetik (hubungan kekerabatan) terjauh dengan nilai  $D = 0.005$ .

**Tabel 7.** Matrik jarak genetik untuk ketiga populasi ikan *P. multidens* berdasarkan pada lokus polimorfik.

Populasi	Bali	Sumbawa	Maluku
<b>Bali</b>	-		
<b>Sumbawa</b>	0.002	-	
<b>Maluku</b>	0.004	0.005	-

**Gambar 4.** Dendrogram jarak genetik ikan *P. multidens*.

Mengacu pada nilai jarak genetik dan perbedaan dalam frekuensi alel diantara pasangan populasi, bisa dinyatakan bahwa populasi Maluku cukup bebas dari populasi yang lain. Untuk populasi Bali dan Sumbawa bisa dianggap sebagai populasi tunggal. Sebab dilihat dari segi geografis Kepulauan Maluku mempunyai lokasi lebih jauh dari populasi yang lain, sedangkan Bali dan Sumbawa mempunyai jarak yang dekat.

Adanya perbedaan frekuensi alel antar populasi memberikan gambaran bahwa ketiga populasi bukan berasal dari gen pool tunggal yang homogen. Hal ini diduga karena adanya barrier geografis dalam reproduksi, dimana individu-individu cenderung bereproduksi dengan individu dari posisi geografis yang sama. Selain itu variasi frekuensi alel juga berhubungan dengan pola adaptasi terhadap lingkungan. Sedang menurut Carvalho (1993, dalam Wijana, 1999) dijelaskan bahwa populasi yang mendiami habitat yang sama atau berkesinambungan akan menampakkan banyak kesamaan baik fenotip maupun genetik dan diantara populasi yang saling berjauhan pada habitat yang berbeda akan banyak menampakkan perbedaan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa: (i) Dari 10 macam enzim yang digunakan terdeteksi 16 lokus, 3 diantaranya polimorfik yaitu EST-1, PGM-1, dan GPI-1, (ii) Berdasarkan jumlah lokus polimorfik, jumlah alel per lokus dan heterosigositas, populasi Maluku memiliki variasi genetik lebih tinggi dibanding populasi Bali dan Sumbawa, (iii) Jarak genetik (D) terdekat diperoleh pada pasangan Bali dan Sumbawa  $D =$

0.002, sedang jarak terjauh diperoleh populasi Maluku sebesar  $D = 0.005$ .

## DAFTAR PUSTAKA

- Allen, G.R. 1985. *Pristipomoides multidens* in Jordan Goldbanded Jobfish. [www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.cfm?Genusname=Pristipomoides&Speciesname=multidens](http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.cfm?Genusname=Pristipomoides&Speciesname=multidens) [1 Agustus 2002].
- Elliott, N.G. 1996. Allozyme and mitochondrial DNA analysis of the tropical saddle-tail Sea Perch, *Lutjanus malabaricus* (Schneider), from Australia waters. *Marine and Freshwater Research* 47: 869-875.
- Hara, M. and U. Na-Nakorn. 1996. *Development of Sustainable Aquaculture Technology in Southeast Asia*. Japan and Thailand: International Research Center for Agricultural Sciences and the Faculty of Fisheries, Kasetsart University
- Harris, H. and D.A. Hopkinson. 1976. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. New York: North-Holland Publishing Company.
- Imron, K. Sugama, K. Sumantadinata, and K. Soewardi. 1999. Genetic variation in cultured stocks of Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in Indonesia. *IFR Journal* 5 (1): 10-18.
- Macaranas, J. M. 1991. A practical laboratory guide to the techniques and methodology of electrophoresis and its application to fisheries management. *Fisheries Technology Manual* 11: 21-24.
- Murphy, R.W., J.W. Sites Jr, D.G. Buth, and C.H. Haufler. 1990. *Protein I: Isozyme electrophoresis*. In *Molecular Systematic*. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, dan V.W. Rodwell. 1996. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ovenden, J., J. Liloyd, S. Newmans, and C. Keenam. 1996. *Stock Structure of Pristipomoides multidens Resources Across Northern Australia*. Darwin: FRDC.
- Permana, G.N., S.B. Moria, Haryanti, dan K. Sugama. 2001. Pengaruh domestifikasi terhadap variasi genetik pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang dideteksi dengan allozyme electrophoresis. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 7 (1): 25-29.
- Sarjoko. 1991. *Bioteknologi, Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Shaw, C.R. and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes a compilation of recipes. *Biochemistry and Genetics* 4: 297-321.
- Soewardi, K. 1995. Karakterisasi populasi ikan gurame, *Osphronemus goramy* Lacepede dengan metode biokimia. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia* 3 (2): 33-39.
- Sugama, K., Haryanti, and F. Cholik. 1996. Biochemical genetik of Tiger Shrimp *Penaeus monodon*, description of electrophoretic detectable loci. *IFR Journal* 2 (1): 19-28.
- Sugama, K., and A. Priyono. 1998. Biochemical genetic differentiation among wild populations of milkfish, *Chanos chanos* in Indonesia. *IFR Journal* 4 (1): 11-18.
- Sugama, K., Haryanti, J.A.H. Benzie, and E. Ballment, 2002. Genetic variation and population structure of the Giant Tiger Prawn, *Penaeus monodon*, in Indonesia. *Aquaculture* 205: 37-48.
- Suranto. 2000. *Bioteknologi Molekuler di Bidang Pertanian*. Surakarta: PSLH Lembaga Penelitian UNS.
- Wibowo, A.H. 2001. *Analisis Variasi dan Struktur Populasi Genetik Ikan Napoleon wrasse (Cheilinus undulatus Ruppell)*. [Tesis]. Malang: Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya.
- Wijana, I.M.S. 1999. *Keragaman Enzim dan Morfologi Belut, Monopterus albus Zuiew (Synbranchidae Synbranchidae)*. [Tesis]. Bogor: Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.