

**JUMLAH KROMOSOM DAN ANAK INTI
IKAN TAWES DIPLOID (*Puntius gonionotus* Blkr.)**

Sukaya Sastrawibawa
Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran
Jatinangor – Bandung 40600

ABSTRAK

Penentuan jumlah kromosom ikan tawes diploid dilakukan dengan metode jaringan padat, sedangkan prosedur untuk mempersiapkan sediaan anak inti hampir sama dengan metode tersebut, kecuali pewarnaannya menggunakan Perak Nitrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah kromosom ikan tawes diploid adalah 50, dan jumlah maksimum anak inti tiap selnya adalah enam, dengan frekuensi 20,88%.

Kata Kunci : Kromosom, anak inti, Ikan Tawes

**THE NUMBER OF CHROMOSOME AND NUCLEOLI OF DIPLOID JAVA
CARP (*Puntius gonionotus* Blkr.)**

ABSTRACT

Determination of chromosome number of diploid Java Carp (*Puntius gonionotus* Blkr) had been carried out by solid tissue method. Procedure of nucleoli preparation was similar to the aforementioned method, except for its stained using Silver Nitrate. The results of the experiment indicated that the number of diploid Java Carp chromosome was 50, and maximum number of nucleoli per cell was six with the frequency of 20.88%.

Keywords : Chromosome, nucleoli, Java Carp

PENDAHULUAN

Latar belakang

Ikan tawes (*Puntius gonionotus* Blkr.) merupakan salah satu jenis ikan konsumsi yang telah dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan gizi masyarakat Indonesia. Sejalan dengan berkembangnya teknologi budidaya ikan, diperlukan pula benih-benih ikan yang berkualitas baik. Perbaikan sifat-sifat keturunan pada tumbuhan maupun hewan telah banyak dilakukan oleh manusia agar dapat mengambil manfaat yang maksimal daripadanya. Salah satu cara perbaikan sifat-sifat keturunan yang dapat diterapkan pada ikan adalah melalui manipulasi

genetik, yaitu antara lain melalui rekayasa kromosom, seperti poliploidisasi dan hibridisasi. Poliploidisasi adalah proses terbentuknya individu dengan somatik selnya memiliki tiga (triploid), empat (tetraploid), lima (pentaploid) atau lebih set kromosom.

Ikan tawes diploid ($2n$) adalah ikan yang biasa terdapat di perairan umum dan sudah dibudidayakan oleh para petani ikan di Indonesia. Namun apabila jenis ikan ini akan dikembangkan menjadi ikan tawes triploid atau dihibridkan dengan jenis ikan lainnya maka karakter biologisnya antara lain jumlah kromosom dan jumlah maksimum anak intinya per sel harus diketahui terlebih dahulu. Menurut Phillips *et al.*, (1986) serta Carman (1990), jumlah set kromosom, ukuran sel darah merah, dan jumlah maksimum anak inti per sel dapat digunakan untuk menunjukkan perbedaan antara ikan diploid dan triploid.

Anak inti merupakan struktur menonjol yang terdapat dalam tiap sel eukariot. Menurut Subowo (1979) dengan mikroskop cahaya dalam sebuah inti terlihat sebuah atau lebih bangunan basofil yang ukurannya lebih besar daripada butir-butir atau gumpalan kromatin. Seringkali anak inti menempel pada selubung inti. Di sekitar anak inti terdapat kromatin yang berbentuk benang-benang halus setebal 10 nm. Adanya kromatin yang mengelilingi anak inti menyebabkan warna basofil dalam pengamatan dengan mikroskop cahaya. Menurut Gardner dan Snustad (1984) keberadaan anak inti telah diketahui sejak tahun 1774, tetapi baru pada tahun 1960-an disadari pentingnya struktur ini sebagai pembuat ribosom yang terdapat dalam sitoplasma. Subowo (1979) menyatakan bahwa ribosom diperlukan dalam sintesis protein, oleh karena itu dalam sel yang sedang aktif membuat protein, dalam sitoplasmanya akan memiliki anak inti (*nucleolus*) yang membesar. Menurut Carman (1990) dari beberapa ikan mas diploid dan triploid yang diteliti menunjukkan adanya satu atau dua buah anak inti per sel pada individu diploid, sedangkan pada individu triploidnya terdapat satu, dua, atau tiga anak inti per sel.

Pada individu ikan tawes diploid belum diketahui jumlah maksimum anak inti per selnya maupun jumlah kromosomnya, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menentukannya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai jumlah kromosom dan jumlah maksimum anak inti per sel ikan tawes diploid sehingga dapat digunakan untuk menguji tingkat keberhasilan poliploidisasi pada ikan tawes.

METODE PENELITIAN

Ikan tawes yang digunakan sebagai bahan penelitian berasal dari hasil perkawinan secara buatan dengan menggunakan metode *hipofisasi*. Induk ikan tawes, baik jantan maupun betina berasal dari Balai Benih Ikan Cikoneng, Ciparay, Kabupaten Bandung. Tiga buah akuarium yang masing-masing berukuran 30 cm X 30 cm X 60 cm digunakan sebagai wadah pemeliharaan ikan tawes uji. Setiap akuarium dilengkapi dengan alat aerasi, alat pemanas air

(*electrical water heater*), dan termometer air raksa sebagai alat pengukur suhu air. Masing-masing akuarium diisi 60 ekor larva ikan tawes. Selama 14 hari pertama, larva ikan diberi makanan nauplii *Artemia* sp., selanjutnya ikan diberi cacing rambut (*Tubifex* sp.) dan pellet komersial secara *ad libitum*. Setiap hari, sisa makanan disifon dan volume air di dalam akuarium dipertahankan dengan jalan menambah air secukupnya.

Prosedur pembuatan sediaan kromosom

Pembuatan sediaan dan pengambilan jaringan mengikuti metode teknik jaringan padat yang dikembangkan oleh Kligerman dan Bloom (1977). Ikan tawes contoh yang telah berumur dua bulan diambil masing-masing tiga ekor dari setiap akuarium secara acak. Masing-masing ikan contoh disuntik dengan kolkisin 0,05% dalam NaCl 0,85% dengan dosis 1 mL per 100 g berat badan. Ikan yang telah disuntik ditempatkan dalam akuarium dengan sirkulasi udara yang baik selama 5 – 6 jam. Selanjutnya ikan dibius dengan FA-100 dan dibedah untuk diambil jaringan insang dan ginjalnya. Kemudian jaringan direndam dalam larutan hipotonik berupa larutan KCl 0,075 M selama 40 – 60 menit. Volume KCl dan jaringan perbandingannya dibuat 10 : 1. Larutan hipotonik kemudian diganti dengan larutan Carnoy dua kali masing-masing 40 menit. Larutan Carnoy dibuat dengan cara mencampurkan asam asetat glacial dan etanol dengan perbandingan 3 : 1. Sampai dengan tahap ini pemrosesan dapat ditunda dan jaringan disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 4 °C. Selanjutnya, sisa larutan fiksatif pada jaringan diupayakan hilang dengan cara meletakkannya di atas kertas tisu. Jaringan tersebut ditempatkan ke dalam gelas obyek cekung, kemudian ditambahkan 3-4 tetes asam asetat 50%. Secara perlahan-lahan jaringan dipotong-potong atau digoyang-goyang sehingga terbentuk suspensi sel. Suspensi sel disedot dengan menggunakan pipet tetes yang selanjutnya diteteskan pada gelas obyek yang telah hangat di atas *hot plate* (suhu sekitar 45° – 50° C) dan segera diisap kembali hingga terbentuk beberapa cincin yang berdiameter 1 – 1,5 cm, kemudian dibiarkan kering udara.

Pewarnaan dilakukan dengan larutan Giemsa 10% selama 20 menit pada suhu kamar atau dengan perak nitrat (AgNO_3) pada suhu 35° – 40°C. Sediaan dibilas dengan akuades dan setelah kering udara siap untuk diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 X dan 1000 X.

Prosedur pembuatan sediaan anak inti

Sediaan anak inti dipersiapkan dengan metode yang dikembangkan oleh Tsukamoto (1987) dalam Azwar (1994). Jaringan yang digunakan adalah sirip. Proses selanjutnya sama dengan proses pembuatan sediaan kromosom, namun tidak menggunakan perlakuan kolkisin dan pada pewarnaan digunakan perak nitrat.

Pewarnaan dimulai dengan menaruh sediaan pada kotak pewarna (*staining box*) yang suhunya dipertahankan antara 35⁰ – 45⁰ C. Di atas gelas obyek ditetaskan larutan A sebanyak 2 tetes. Larutan A dibuat dengan melarutkan 10 g AgNO₃ dalam 20 mL akuades. Selanjutnya ditetaskan pula larutan B lalu dicampur dan disebar ke seluruh permukaan sediaan dengan menggunakan tusuk gigi. Larutan B dibuat dengan melarutkan 2 g gelatin dalam 50 mL gliserin sambil diaduk hingga jernih. Larutan disimpan dalam *freezer* dan bila digunakan dapat dicairkan dalam air hangat kemudian ditambahkan 2 tetes asam formiat per 10 mL larutan sambil digoyang-goyang. Kotak pewarna ditutup selama 20 menit. Penutupnya dilapisi kain dan busa agar uap air tidak jatuh mengenai gelas obyek. Setelah itu, sediaan dibilas dengan akuades. Sediaan yang telah kering diamati di bawah mikroskop cahaya dan dilakukan pengambilan gambarnya pada pembesaran 400 X dan 1000 X.

HASIL DAN PEMBAHASAN

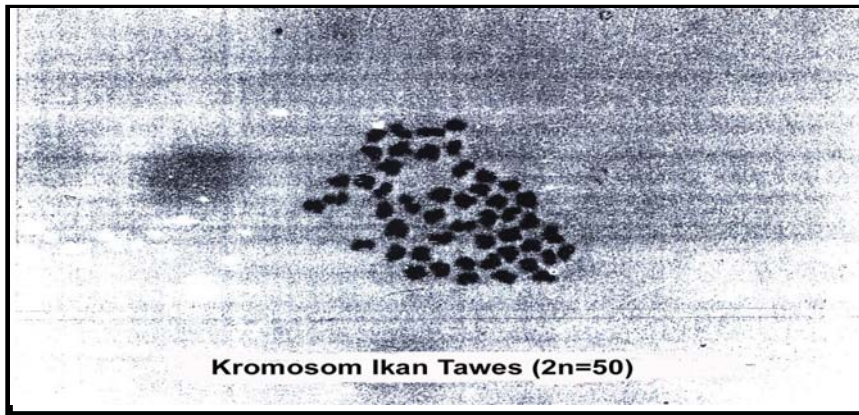
Kromosom ikan tawes

Hasil pengamatan jumlah kromosom dari 9 ekor ikan tawes contoh disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Distribusi kromosom ikan tawes diploid normal

No Ikan	Jumlah Plates	Jumlah Kromosom			
		48	49	50	51
1	9	0	1	8	0
2	15	0	2	12	0
3	14	0	1	13	0
4	18	1	0	16	1
5	7	0	1	5	1
6	21	0	2	19	0
7	23	3	1	19	0
8	16	1	1	14	0
9	19	2	1	16	0
Total	142	8	10	122	2
%	100	5,6	7,0	86,0	1,4

**Jumlah Kromosom dan Anak Inti Ikan Tawes Diploid (*Puntius gonionotus* Blkr.)
(Sukaya Sastrawibawa)**



Gambar 1. Kromosom ikan tawes diploid normal ($2n = 50$)

Dari Tabel 1 dan Gambar 1 terungkap bahwa jumlah kromosom ikan tawes diploid normal dengan frekuensi tertinggi adalah 50 (86,0%). Adanya jumlah kromosom yang kurang atau lebih dari 50 diduga akibat bertumpuknya kromosom atau penambahan kromosom dari inti sel lain karena proses pemotongan atau penggoyangan jaringan pada pembuatan sediaan kromosom.

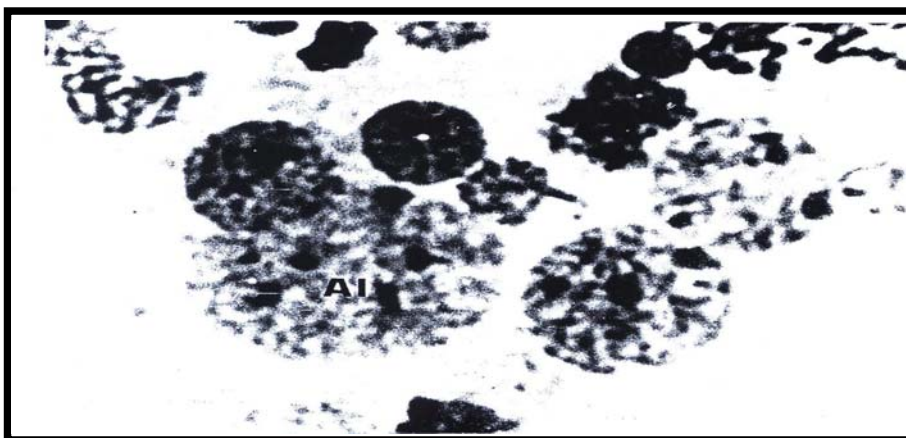
Anak inti

Dari hasil pengamatan sediaan anak inti (*nucleolus*), pada tiap sel semua individu contoh ikan tawes diploid normal ditemukan satu, dua, tiga, empat, lima, dan enam anak inti (Tabel 2).

Tabel 2. Distribusi jumlah anak inti tiap sel ikan tawes diploid ($2n$)

No. Ikan	Jml Sel	Jumlah dan persentase anak inti tiap sel											
		1		2		3		4		5		6	
		Jml	(%)	Jml	(%)	Jml	(%)	Jml	(%)	Jml	(%)	Jml	(%)
1	216	35	16,20	26	12,04	2	0,93	35	16,20	31	14,35	87	40,28
2	210	30	14,29	42	20,00	13	6,19	41	19,52	22	10,48	62	29,52
3	237	26	10,97	25	10,55	19	8,02	75	31,64	42	17,72	50	21,10
4	228	24	10,53	27	11,84	29	12,72	57	25,00	45	19,74	46	20,17
5	211	19	9,00	29	13,74	40	18,96	37	17,54	56	26,54	30	14,22
6	232	27	11,64	21	9,05	24	10,34	78	33,62	53	22,85	29	12,50
7	188	23	12,23	22	11,70	14	7,45	49	26,06	46	24,47	34	18,09
8	189	28	14,82	17	8,99	21	11,11	52	27,51	44	23,28	27	14,29
9	203	18	8,87	15	7,39	15	7,39	61	30,05	58	28,57	36	17,73
Rata-rata (%)		12,06		11,70		9,23		25,24		20,89		20,88	

Dari Tabel 2 terungkap pula bahwa tiap sel ikan tawes diploid mempunyai rata-rata anak inti satu (12,06%), dua (11,70%), tiga (9,23%), empat (25,24%), lima (20,89%) dan enam (20,88%). Dengan demikian , jumlah maksimum anak inti ikan tawes diploid normal adalah enam (Gambar 2).



Gambar 2. Anak inti sel ikan tawes diploid (2n)

Keterangan: AI = anak inti sel (nucleolus)

Sebagai bahan perbandingan, Santosa (1991) telah melakukan penelitian jumlah inti per sel ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) diploid dan triploid. Hasilnya terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase jumlah anak inti per sel ikan mas diploid dan triploid

Ploidi	Jumlah Ikan	Jumlah anak inti per sel		
		1	2	3
Diploid	30	57,0	43,0	0
Triploid	30	33,0	46,0	21,0

Sumber: Santosa, 1991

Pada Tabel 3 terlihat bahwa ikan mas diploid mempunyai jumlah maksimum anak inti adalah dua (43%), sedangkan ikan mas triploid mempunyai jumlah maksimum anak inti per selnya adalah tiga (21%).

Phillips *et al.*, (1986) telah melakukan pengamatan jumlah anak inti per sel pada embrio ikan trout pelangi (*Salmo gairdneri*) triploid dan menemukan 3 anak inti per sel dengan persentase sekitar 75%. Pada ikan trout triploid yang berumur 6 bulan, persentase terdapatnya 3 anak inti per selnya adalah 43%. Terdapatnya 3 anak inti per sel pada individu ikan salmon yang berumur 1-2 tahun adalah 36%. Dengan demikian diketahui bahwa pada jaringan embrio yang aktif membelah, persentase terdapatnya jumlah maksimum anak inti pada ikan triploid cukup tinggi. Persentase tersebut akan menurun sejalan dengan bertambahnya umur ikan. Menurut Gardner dan Snustad (1984) anak inti berfungsi sebagai pabrik ribosom dari sel yang berperan dalam sintesis protein. Peningkatan jumlah anak inti pada individu triploid kemungkinan besar merupakan konsekuensi dari bertambahnya kebutuhan sel yang secara fisik membesar.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Jumlah kromosom ikan tawes diploid normal adalah 50, sedangkan jumlah maksimum anak inti tiap selnya adalah enam, dengan frekuensi 20,88%.

Saran

Perlu diungkapkan pada penelitian berikutnya mengenai jumlah maksimum anak inti tiap sel ikan tawes diploid dan triploid pada setiap kelas umur yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwar. 1994. *Pengaruh triploidisasi dan hibridisasi terhadap karakter fenotipe ikan mas (Cyprinus carpio L.)*. Tesis S-2. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 78 hal. (Tidak dipublikasi).
- Carman, O. 1990. *Ploidy manipulation in some warm water fish*. Thesis. Tokyo University. Japan. 90 hal. (Tidak dipublikasi).
- Gardner, E.J., and D.P. Snustad. 1984. *Principles of genetics*. John Wiley and Sons. New York, USA.
- Kligerman, A.D., dan S.E. Bloom. 1977. Rapid chromosome preparation from solid tissues of fishes. *J. Fish. Res. Board Can.* 34: 266-269.
- Phillips, R.B., K.D. Zajicek, P.E. Ihsen, dan C. Johnson. 1986. Application of silver staining to the identification of triploid fish cell. *Aquaculture*, 54: 313-319.

- Santosa, R. 1991. *Keberhasilan triploidisasi pada hibrid ikan mas (Cyprinus carpio L.) betina dengan ikan tawes (Puntius javanicus Blkr.) jantan pada Kejutan panas 2, 3, 4 menit setelah pembuahan*. Skripsi. Fak. Perikanan IPB (Tidak dipublikasi).
- Subowo. 1979. *Biologi sel*. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung. 83 hal.