

DETEKSI KERAGAMAN GENOTIP HIBRID IKAN LELE SANGKURIANG, MUTIARA TRANSGENIK DAN MUTIARA NON TRANSGENIK PADA KETURUNAN PERTAMA

Asri Ulfah Lathifah*, Ibnu Dwi Buwono**, Ujang Subhan**

*) Alumni Program Studi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad

Email : lathifahasri@gmail.com

***) Staff Pengajar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad

Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21 Jatinangor, Sumedang

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendeteksi keragaman genotip dari lele sangkuriang, mutiara transgenik, mutiara non transgenik dan hibridnya dengan marka RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) menggunakan 6 macam primer (OPA-03 OPA-07, OPA-09, OPA-11, OPA-16 dan OPA-06). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental secara eksploratif dengan analisis deskriptif kualitatif. Hasil amplifikasi menunjukkan primer OPA-03 (5'-AGTCAGCCAC-3') merupakan primer terbaik yang memvisualisasikan fragmen (polimorfik dan monomorfik) pada seluruh sampel. Isolasi DNA genom ikan uji menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega). Hubungan kekerabatan dari ikan uji ditunjukkan dalam bentuk fenogram menggunakan program NTSYSpc. Hasil analisis dari fenogram OPA-03 menunjukkan keturunan pertama hasil persilangan lele jantan mutiara transgenik dan betina sangkuriang memiliki keragaman genotip dibanding persilangan lainnya. Keturunan pertama dari hasil persilangan induk dari strain yang sama (sangkuriang dan sangkuriang) memiliki kekerabatan sebesar 70% (keragaman genotip 30 %), hasil persilangan antara mutiara non transgenik dengan sangkuriang memiliki kesamaan genetik 79%. Indeks kesamaan genetik tertinggi (82%) diperoleh dari keturunan pertama hasil persilangan mutiara transgenik dengan sangkuriang.

Kata Kunci : *keragaman, hibrid, lele mutiara, lele sangkuriang, transgenik, keturunan pertama.*

ABSTRACT

This research was conducted to detect genotype diversity of sangkuriang catfish, transgenic mutiara catfish, non transgenic mutiara catfish, and their hybrid by RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) markers using 6 primer (OPA-03, OPA-07, OPA-09, OPA-16, and OPA-06). The method used in this research was explorative experimental method by using qualitative descriptive analysis. The amplification result showed that OPA-03 (5'-AGTCAGCCAC-3') primer is the best primer which visualize fragment (polymorphic and monomorphic) of all sample. Isolation of fish genomic DNA used *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega). Genetic relationship of fish showed in phenogram using NTSYSpc program. The result of analysis of OPA-03 phenogram showed that first generation of hybrid of transgenic male mutiara catfish and female sangkuriang catfish has the highest genotype diversity. First generation of crossing of parent with same strain (sangkuriang and sangkuriang) has close genetic relationship about 85,5% (genotype diversity 14,5%). The opposite, the result of hybrid of transgenic mutiara and sangkuriang has genetic diversity about 38% (genetic similarity 62%). The highest genetic diversity (72%) was obtained in first generation of hybrid of non transgenic mutiara and sangkuriang (genetic similarity index 28%).

Keywords: *diversity, hybrid, mutiara catfish, sangkuriang catfish, transgenic, first generation*

PENDAHULUAN

Dewasa ini, ikan lele sebagai komoditas perikanan budidaya air tawar yang semakin pesat perkembangannya telah menarik perhatian para pembudidaya untuk memenuhi konsumsi pasar dalam negeri. Kecenderungan di tahun-tahun mendatang, tidak menutup kemungkinan bisnis budidaya lele menjadi suatu industri perikanan yang mampu menggerakkan perekonomian di pedesaan. Tingginya minat para pembudidaya untuk terus melakukan kegiatan budidaya ikan lele ini memacu Balai Penelitian Pemuliaan

Ikan Sukamandi untuk mengembangkan komoditas lele unggulan, sehingga dihasilkan ikan lele strain Mutiara yang sudah ditetapkan melalui SK Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 77 Tahun 2015. Karakter unggul dari ikan lele strain ini dicirikan dengan laju pertumbuhan yang cepat serta konversi pakan yang rendah (mendekati 1.0).

Seiring berkembangnya bioteknologi dalam budidaya perikanan khususnya perbaikan genetika pertumbuhan ikan, penggunaan teknologi transgenesis (transfer

gen penyandi hormon pertumbuhan) pada ikan sekerabat memungkinkan menghasilkan pertumbuhan ikan berlipat (Alimuddin dkk. 2003). Produksi ikan lele transgenik (pembawa gen hormon pertumbuhan patin siam) telah dihasilkan oleh Marnis dkk. (2015) menunjukkan peningkatan pertumbuhan 2 - 3 kali lipat dibanding ikan lele normal. Perakitan ikan lele mutiara transgenik yang telah dihasilkan dari penelitian Buwono dkk. (2015), merupakan ikan lele mutiara yang mengandung sisipan gen hormon pertumbuhan ikan lele dumbo (*Clarias sp.*).

Upaya lain yang umum dilakukan oleh para pembudidaya untuk meningkatkan kualitas genetik ikan salah satunya adalah dengan teknik hibridisasi. Hibridisasi pada ikan dapat dilakukan antara strain dalam satu spesies, antara strain dalam satu genus, antara genus dalam strain satu famili atau berbeda famili (Hicking 1971 dalam Syamsiah 2001).

Kualitas genetik dapat dilihat dari keragaman genetiknya, ikan dengan kualitas genetik yang rendah akan mengalami pertumbuhan yang lambat, tingkat kematian tinggi dan matang kelamin dini (Arifin *et al.* 2007). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menghindari penurunan kualitas genetik yaitu dengan melihat data mengenai keragaman genetik, sehingga dapat menjadi acuan dalam menetapkan langkah-langkah yang akan diambil selanjutnya. Keragaman genetik yang tinggi pada F1 akan dipengaruhi oleh hasil persilangan tetua-tetua yang memiliki genotip berbeda (Sa'diyah *et al.* 2013). Pembuktian ikan hasil hibrid secara genetik dilihat melalui deteksi keragaman genetik ikannya dengan menggunakan uji molekuler pada tingkat DNA. Deteksi keragaman genetik dapat dilakukan menggunakan teknik molekuler dengan metode RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Mei 2016. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksploratif tanpa menggunakan rancangan percobaan dan

dianalisis secara deskriptif kualitatif. Ikan uji merupakan ikan indukan lele sangkuriang, mutiara transgenik, mutiara non transgenik dan ikan hibridnya. Data yang diperoleh dari penelitian ini melalui metode RAPD berupa fragmen pita polimorfis yang akan diolah menggunakan program NTSYS.

DNA genom diisolasi dengan *Wizard® Genomic Purification Kit* (Promega). Amplifikasi dengan marka RAPD menggunakan 6 primer arbitari yaitu OPA-03 AGT CAG CCAC (Diani 2013), OPA-07 GAA ACG GGTG, OPA-09 GGG TAA CGCC, OPA-11 CAA TCG CCGT (Muneer *et al.* 2009 dalam Nuryanto dkk. 2012), OPA-16 AGC CAG CGAA (Beheary *et al.* 2015) dan OPA-06 GGT CCC TGAC (Sathik *et al.* 2016).

Komponen larutan yang digunakan untuk reaksi PCR yaitu GoTaq® *master mix 2G fast* 12,5 µl, *Nuclease Free Water (NFW)* 9,5 µl, Primer RAPD 1,0 µl (OPA-04 dan OPA-06), DNA template ikan uji 2,0 µl. Seluruh bahan dimasukkan kedalam tabung *microtube* steril berukuran 50 µl. Reaksi PCR dilakukan menggunakan *thermal cycler* sebanyak 45 siklus. Setiap siklus terdiri dari denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 36°C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72°C selama 2 menit. Setelah 45 siklus tersebut diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk amplifikasi ini kemudian di elektroforesis selama 65 menit pada tegangan 75V pada gel agarose 1,4%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi DNA Genom

Hasil isolasi DNA genom dapat diketahui keberadaan dan kualitasnya dengan dilakukan uji kualitatif serta uji kuantitatif. Hasil yang diperoleh dari sampel uji ikan lele sangkuriang, mutiara transgenik, mutiara non transgenik serta hasil hibridnya (Tabel 1.) menunjukkan nilai kemurnian yang berbeda-beda. Tingkat kemurnian isolat DNA murni memiliki nilai yang berkisar antara 1,8-2,0.

Tabel 1. Nilai Kemurnian Isolat DNA Sampel Ikan Lele dan Hibridnya

No	Sampel	Abs260	Abs280	Ratio	Konsentrasi (ng/µl)
1	F0 Betina Sangkuriang1	0,042	0,022	1,909	100.60
2	F0 Jantan Mutiara Non Transgenik	0,133	0,064	2,078	125.70
3	F0 Jantan Mutiara Transgenik	0,473	0,301	1,571	283.35
4	F0 Betina Sangkuriang2	0,024	0,013	1,846	16.300
5	F0 Jantan Sangkuriang	0,046	0,025	1,840	170.97
6	F0 Betina Sangkuriang3	0,037	0,022	1,682	104.70
7	F1 JMNTxBS	0,130	0,089	1,461	546.45
8	F1 JMTxBS	0,164	0,093	1,763	430.30
9	F1 JSxBS	0,075	0,045	1,667	854.50
10	F1 JMNTxBS (duplo)	0,128	0,065	1,969	583.20
11	F1 JMTxBS (duplo)	0,115	0,060	1,917	130.45
12	F1 JSxBS (duplo)	0,044	0,024	1,833	155.45

Keterangan:

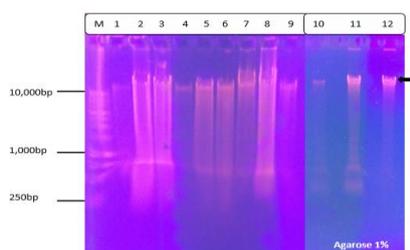
- F0 = *Founder*/ tetua
- F1 = Keturunan pertama (generasi 1)
- JMNTxBS = Hasil persilangan jantan mutiara non transgenik dengan betina sangkuriang
- JMTxBS = Hasil persilangan jantan mutiara transgenik dengan betina sangkuriang
- JSxBS = Hasil persilangan jantan sangkuriang dengan betina sangkuriang

Nilai kemurnian DNA tersebut masih layak untuk dapat dilanjutkan ke tahapan selanjutnya yaitu amplifikasi, karena nilai yang diperoleh masih berkisar 1,5 – 1,8 yang mendekati nilai minimal (1,8) (Awaliyah 2015). Kemurnian DNA dan keutuhannya memiliki pengaruh yang sangat penting terhadap keberhasilan proses amplifikasi PCR khususnya RAPD-PCR (Triana dkk. (2010)), apabila kemurniannya rendah maka akan mempengaruhi penempelan primer pada situs yang komplementer dari DNA genom.

Konsentrasi DNA yang diperoleh dari pengukuran nanofotometer menunjukkan nilai yang berbeda pada masing-masing sampel. Hasil ekstraksi DNA genom pada penelitian ini memberikan nilai konsentrasi antara 16,3 – 854,5 ng/µl atau setara dengan 0,016 – 0,85 µg/ml. Nilai konsentrasi DNA genom pada sampel yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa sampel masih bisa

digunakan dalam proses amplifikasi untuk menghasilkan produk/amplikon yang baik. Gray *et al.* (2002) menggunakan DNA template dengan konsentrasi 150 ng/µl atau setara dengan 0,15 µg/ml. konsentrasi DNA yang tepat akan menghasilkan produk amplifikasi yang baik.

Uji kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui keberadaan dan kualitas DNA genom hasil isolasi yaitu dengan menggunakan elektroforesis. Gel agarose hasil elektroforesis kemudian direndam pada suatu wadah yang berisi larutan *etidium bromida* (EtBr) 0,5% selama kurang lebih dua puluh sampai tiga puluh menit. DNA akan tervisualisasi dari hasil elektroforesis dan perendaman dengan menggunakan sinar UV, berikut hasil isolasi DNA genom induk ikan lele serta hibridnya dapat dilihat pada (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Elektroforesis DNA Genom Ikan Lele

Keterangan :

- = DNA Genom
 M = Marker DNA Ladder 1kb
 1 = F0 Betina Sangkuriang1
 2 = F0 Jantan Mutiara Non Transgenik
 3 = F0 Jantan Mutiara Transgenik
 4 = F0 Betina Sangkuriang2
 5 = F0 Jantan Sangkuriang
 6 = F0 Betina Sangkuriang3
 7 = F1 Jantan Mutiara Non Transgenik x Betina Sangkuriang (JMNTxBS)
 8 = F1 Jantan Mutiara Transgenik x Betina Sangkuriang (JMTxBS)
 9 = F1 Jantan Sangkuriang x Betina Sangkuriang (JSxBS)
 10 = F1 Jantan Mutiara Non Transgenik x Betina Sangkuriang (JMNTxBS) (duplo)
 11 = F1 Jantan Mutiara Transgenik x Betina Sangkuriang (JMTxBS) (duplo)
 12 = F1 Jantan Sangkuriang x Betina Sangkuriang (JSxBS) (duplo)

Berdasarkan hasil elektroforesis pada Gambar 1 masih terdapat *smear* (kontaminasi DNA hasil isolasi oleh sisa hasil ekstraksi DNA) pada sumur ke 2, 3, 8 dan 5, hal ini

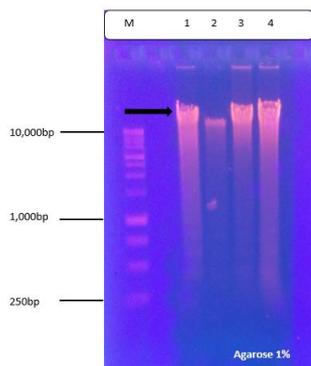
dikarenakan proses ekstraksi DNA masih didapatkan kontaminan. Menurut Fatchiyah dkk. (2011), adanya *smear* pada isolat DNA genom dapat menghambat proses amplifikasi (PCR). Berdasarkan hal ini, maka diperlukan isolasi ulang pada beberapa sampel khususnya pada sampel yang menghasilkan *smear*. Menurut Sambrook dan Russel (2001) *smear* dapat disebabkan masih terdapatnya protein dan RNA. Selain itu menurut Horison dkk. (2003) dalam Purwanto (2011), *smear* tersebut bisa merupakan molekul-molekul dengan ukuran bervariasi yang dapat berasal dari DNA yang terdegradasi ataupun materi ikutan lain yang tidak diketahui. Sampel yang terlihat memiliki *smear* yang relatif banyak yaitu F0 Jantan Mutiara Non Transgenik, F0 Jantan Mutiara Transgenik, F0 Jantan Sangkuriang dan F1 Jantan Mutiara Transgenik x Betina Sangkuriang. Pada sampel yang diisolasi ulang juga dilakukan pengujian keberadaan dan kualitas DNA genom secara kuantitatif dan juga kualitatif. Berikut hasil pengukuran spektrofotometer pada hasil isolasi ulang DNA genom dari beberapa sampel ikan lele dan hibridnya (Tabel 2).

Tabel 2. Nilai Kemurnian Isolat DNA Sampel Ikan Lele dan Hibridnya (ulangan)

No	Sampel	Abs260	Abs280	Ratio	Konsentrasi (ng/μl)
1	F0 Jantan Mutiara Non Transgenik	6,826	3,865	1,778	338.25
2	F0 Jantan Mutiara Transgenik	2,981	1,734	1,720	148.95
3	F0 Jantan Sangkuriang	4,751	2,780	1,716	236.20
4	F1 JMT x BS	8,318	4,945	1,709	406.60

Sampel F0 jantan mutiara non transgenik, F0 jantan mutiara transgenik, F0 jantan sangkuriang dan F1 jantan mutiara transgenik x betina sangkuriang memiliki nilai kemurnian masing-masing sebesar 1,778 ; 1,720 ; 1,716 dan 1,709. Nilai tersebut masih layak untuk dapat dilanjutkan ke tahapan selanjutnya yaitu amplifikasi, karena nilai yang diperoleh masih berkisar 1,5 – 1,8 yang mendekati nilai minimal (1,8) kemurnian DNA (Awaliyah 2015). Adapun uji kualitatif hasil isolasi DNA genom ulangan ini dengan menggunakan elektroforesis gel agarose dapat dilihat pada Gambar 2.

DNA genom hasil elektroforesis diatas telah tervisualisasikan dan jelas terlihat perbedaan sampel yang diisolasi ulang sebelumnya memiliki *smear* yang cukup tebal, namun pada isolasi berikutnya tidak terlalu banyak *smear*, hal ini menunjukkan bahwa DNA genom sampel hasil isolasi ulangan memiliki kualitas yang lebih baik dari sebelumnya dan memenuhi syarat untuk digunakan sebagai templet dalam proses PCR.



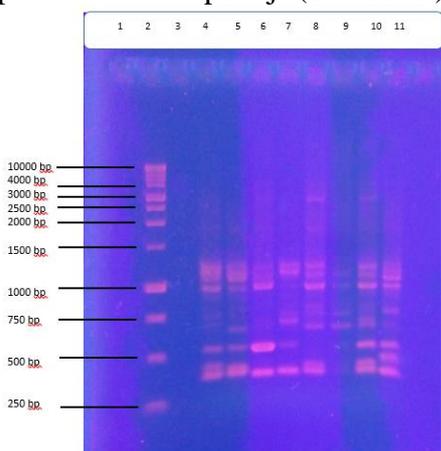
Gambar 2. Hasil Elektrofores DNA Genom Ikan Lele (ulangan)

Keterangan :

- ➔ = DNA Genom
- M = Marker DNA Ladder 1kb
- 1 = F0 Jantan Mutiara Non Transgenik
- 2 = F0 Jantan Mutiara Transgenik
- 3 = F0 Jantan Sangkuriang
- 4 = F1 Jantan Mutiara Transgenik x Betina Sangkuriang JMT x BS

Deteksi Keragaman Genetik

Beberapa sampel yang digunakan dalam amplifikasi ulang ini diganti dengan sampel hasil isolasi ulangan (Gambar 2). Berdasarkan hasil optimasi tersebut, primer OPA-03 dapat mengkopi fragmen-fragmen DNA pada semua sampel uji (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil Amplifikasi dengan Primer OPA-03

Keterangan :

- 2 = Marker DNA Ladder 1 kb
- 4 = F0 Jantan Mutiara Non Transgenik
- 5 = F0 Jantan Mutiara Transgenik
- 6 = F0 Jantan Sangkuriang
- 7 = F0 Betina Sangkuriang1
- 8 = F1 JMT X BS
- 9 = F1 JMNT X BS
- 10 = F1 JMT X BS'
- 11 = F1 JS X BS

Terdapat beberapa sampel hasil isolasi yang tidak digunakan dalam amplifikasi, diantaranya adalah F0 betina sangkuriang2, F0 betina sangkuriang3 dan sampel duplo dari F1 JMNT x BS serta F1 JS x BS. F0 betina sangkuriang2 dan F0 betina sangkuriang3 tidak digunakan karena F0 betina sangkuriang1 sudah cukup mewakili untuk mendeteksi kekerabatan hasil hibrid dengan induknya. Sedangkan F1 JMT x BS duplo digunakan untuk melihat apakah terdapat perbedaan antara sampel yang digunakan dengan duplonya.

Fragmen pita dalam RAPD dapat dikelompokkan menjadi dua kategori yaitu pita polimorfik dan pita monomorfik. Williams dan Ronald (1990) mengemukakan bahwa pita polimorfik adalah gambaran pita DNA yang muncul pada ukuran tertentu, tetapi pada ikan uji lain tidak ditemukan pita DNA pada ukuran tersebut. Fragmen monomorfik adalah fragmen yang terdapat pada seluruh sampel ikan uji pada ukuran yang sama (1204 bp) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Keberadaan fragmen inilah yang dijadikan dasar untuk menarik garis kekerabatan pada sampel uji lele F0 dengan keturunan hibrid F1. Pada primer OPA-03 menunjukkan hasil sekuen yang komplementer dengan ikan lele serta hibridnya pada posisi 396 bp dan diakhiri pada sekuen yang komplementer pada posisi 2811 bp. Kemunculan pita tersebut dapat ditampilkan pada (Tabel 3).

Tabel 3. Pita Polimorfik dan Monomorfik Lele dari OPA-03

Jarak Fragmen dari Sumur (bp)	F0JMNT	F0JMT	F0JS	F0BS	F1JMT BS	F1JMNT BS	F1JMT BS'	F1JS BISA
2811					--		--	
1965					--*			
1274	--	--	--	--	--		--	--
1204	--**	--**	--**	--**	--**	--**	--**	--**
1127	--	--	--					--
997	--	--	--		--		--	--
766				--	--			--
710				--			--	
646					--	--	--	
516	--	--	--	--			--	--
448					--		--	--
396	--	--	--	--	--		--	--

Keterangan: -- pita yang muncul pada gel agarose
 --* pita polimorfik
 --** pita monomorfik

Pita polimorfik yang muncul pada sampel yang telah diamplifikasi menunjukkan adanya variasi genetik, hal tersebut dibuktikan pada sampel F1 jantan mutiara transgenik x betina sangkuriang terdapat satu variasi pita DNA yang teramplifikasi oleh primer OPA-03. Ukuran pita tersebut berada pada posisi 1965 bp. Pada sampel keturunan pertama dari persilangan yang sama yaitu jantan mutiara transgenik x betina sangkuriang (duplo), pita polimorfik ini tidak muncul, perbedaan inilah yang dapat dideteksi oleh program NTSYS untuk mengetahui perbedaan genetik pada tingkat individu. Sampel lele hasil hibrid antara jantan mutiara transgenik dan betina sangkuriang memiliki warna yang lebih cerah (abu-abu kemerahan) dengan ukuran yang lebih besar (Gambar 4a), sedangkan warna pada duplo cenderung lebih gelap dan ukuran tubuhnya lebih kecil (Gambar 4b). Pita polimorfik (Tabel 3, ukuran fragmen 1965 bp pada sampel F1 JMTBS) tersebut mungkin dapat mengekspresikan sifat fenotip yang berbeda dengan sampel F1 JMTBS duplo yang tidak muncul pita polimorfik (Tabel 3).

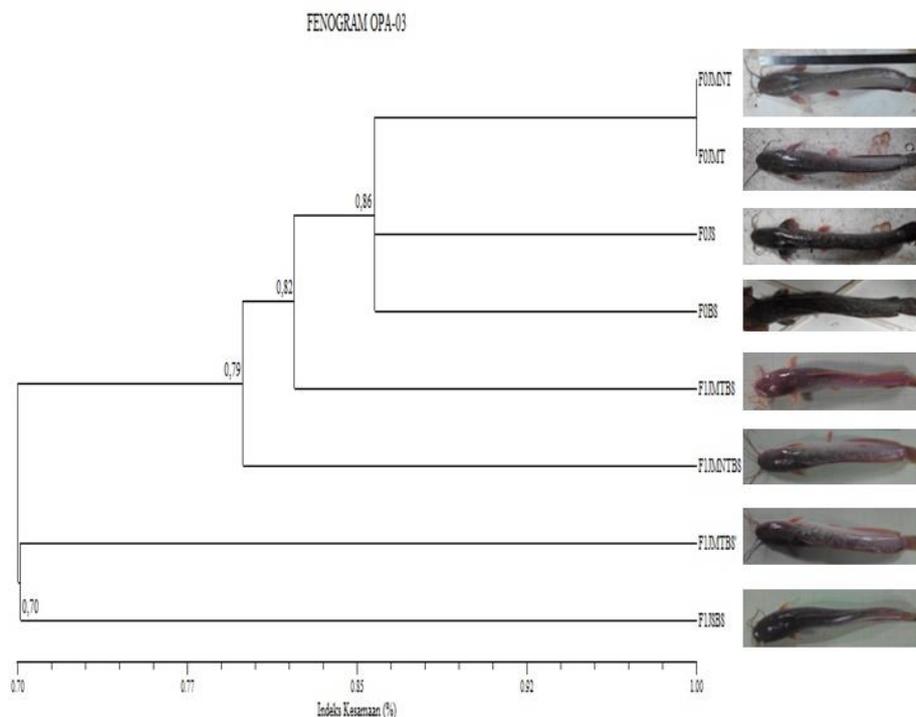


Gambar 4. Gambar (a) F1 JMTBS ; (b) F1 JMTBS'

Terdapat juga pita monomorfik yang muncul yaitu pada ukuran 1204 bp. Pita monomorfik tersebut menunjukkan adanya kekerabatan antara sampel ikan uji. Trijoko dkk.. (2013) mengatakan bahwa sekuens nukleotida yang monomorfik ini kemungkinan mengekspresikan kemiripan fenotip pada populasi tersebut, kemungkinan fenotip yang sama ini dapat diketahui dari segi morfologis, anatomis, maupun fisiologis.

Analisis Kekerabatan Genetik Induk Ikan Lele dan Hibridnya

Pohon kekerabatan (fenogram) diperoleh berdasarkan pita-pita teramplifikasi (polimorfik dan monomorfik) menggunakan primer OPA-03, berikut hasil amplifikasi sampel yang sudah digambarkan melalui pohon kekerabatan (fenogram) (Gambar 5).



Gambar 5. Fenogram Kekerabatan Genetik Menggunakan OPA-03

Keterangan :

- F0 JMNT = Induk Jantan Mutiara Non Transgenik
- F0 JMT = Induk Jantan Mutiara Transgenik
- F0 JS = Induk Jantan Sangkuriang
- F0 BS = Induk Betina Sangkuriang
- F1 JMTBS = Jantan Mutiara Transgenik x Betina Sangkuriang
- F1 JMNTBS = Jantan Mutiara Non Transgenik x Betina Sangkuriang
- F1 JMTBS' = Jantan Mutiara Transgenik x Betina Sangkuriang (duplo)
- F1 JSBS = Jantan Sangkuriang x Betina Sangkuriang

Berdasarkan pohon kekerabatan (fenogram) hasil analisis UPGMA pada Gambar 5 dengan menggunakan OPA-03, dari delapan isolat DNA genom diperoleh 3 kelompok besar. Kelompok pertama terdiri dari induk jantan mutiara non transgenik, induk jantan mutiara transgenik, induk jantan sangkuriang dan induk betina sangkuriang dengan nilai indeks kesamaan sebesar 0,86. Nilai koefisien ini menunjukkan bahwa keempat sampel ini memiliki 86% kesamaan genetik, dengan demikian keempat sampel ini memiliki tingkat kekerabatan yang dekat.

Kelompok kedua yaitu keturunan pertama dari hasil persilangan jantan mutiara transgenik dengan betina sangkuriang dan hasil persilangan jantan mutiara non transgenik dengan betina sangkuriang. Nilai koefisien dari kelompok kedua ini adalah 0,79

yang artinya sampel tersebut memiliki kesamaan genetik sebesar 79%, hal tersebut menunjukkan kekerabatan yang masih dekat. Secara fenotip, F1 jantan mutiara transgenik x betina sangkuriang dan F1 jantan mutiara non transgenik x betina sangkuriang memiliki banyak kesamaan seperti warna tubuh abu corak putih dan sirip pektoral meruncing.

Kelompok ketiga adalah hibrid jantan mutiara transgenik x betina sangkuriang (F1JMTBS) duplo dan hasil persilangan dari jantan sangkuriang dengan betina sangkuriang. Nilai indeks kesamaan dari kelompok ini yaitu sebesar 0,70 yang artinya nilai koefisien tersebut menunjukkan bahwa kelompok ketiga memiliki 70% kesamaan genetik dengan kelompok pertama dan kelompok kedua.

Karakteristik Morfologi Induk Ikan Lele dan Hibridnya

Ikan lele merupakan spesies ikan yang memiliki keragaman performa pertumbuhan dalam suatu populasi. Perbedaan fenotip atau dalam satu populasi pada ikan hasil hibrid

antara jantan sangkuriang x betina sangkuriang, jantan mutiara non transgenik x betina sangkuriang serta jantan mutiara transgenik x betina sangkuriang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbedaan Fenotip Pada Populasi Lele Hasil Hibrid

Hasil Hibrid		JMNT x BS	JMT x BS	JS x BS
Fenotip				
Ukuran	Besar	1 dari 28 ekor (3,57%)	17 dari 46 ekor (36,96%)	1 dari 24 ekor (4,17%)
	Sedang	22 dari 28 ekor (78,57%)	26 dari 46 ekor (56,52%)	8 dari 24 ekor (33,33%)
	Kecil	5 dari 28 ekor (17,86%)	3 dari 46 ekor (6,52%)	15 dari 24 ekor (62,50%)
Warna	Abu Kehitaman	17 dari 64 ekor (26,56%)	4 dari 33 ekor (12,12%)	6 dari 30 ekor (20%)
	Abu Corak Putih	43 dari 64 ekor (67,19%)	28 dari 33 ekor (84,85%)	16 dari 30 ekor (53,33%)
	Abu Polos	4 dari 64 ekor (6,25%)	1 dari 33 ekor (3,03%)	8 dari 30 ekor (26,67%)
Sirip Pektoral	Membulat	6 dari 64 ekor (9,38%)	4 dari 33 ekor (12,12%)	15 dari 30 ekor (50%)
	Meruncing	58 dari 64 ekor (90,63%)	29 dari 33 ekor (87,88%)	15 dari 30 ekor (50%)

Variasi ukuran dalam populasi hasil hibrid antara lele sangkuriang, mutiara transgenik dan mutiara non transgenik menunjukkan bahwa hasil hibrid jantan mutiara transgenik dengan betina sangkuriang memiliki ukuran besar terbanyak dalam satu populasi. Berdasarkan deteksi keragaman genetik, pita polimorfisme juga hanya muncul pada ikan hasil hibrid jantan mutiara transgenik dengan betina sangkuriang. Hal tersebut menunjukkan bahwa keturunan pertama yang terbaik terdapat dalam populasi hasil persilangan jantan mutiara transgenik dengan betina sangkuriang.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Keragaman genotip tertinggi dimiliki oleh sampel ikan hasil persilangan jantan mutiara transgenik dan betina sangkuriang dengan munculnya pita polimorfik menggunakan primer OPA-03.

2. Indeks kesamaan genetik hasil persilangan jantan sangkuriang dengan betina sangkuriang (70%), jantan mutiara transgenik dengan betina sangkuriang (82%) dan jantan mutiara non transgenik dengan betina sangkuriang (79%).
3. Primer OPA-03 dapat mendeteksi hubungan kekerabatan antara induk ikan lele sangkuriang, mutiara transgenik, mutiara non transgenik (F0) dan hibridnya (F1) dengan munculnya pita monomorfik pada ukuran 1204 bp.

SARAN

Mengacu dari pembahasan dan kesimpulan, maka disarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mencari tahu keragaman genetik pada keturunan berikutnya khususnya generasi F1 ke F2.

DAFTAR PUSTAKA

Alimuddin., G. Yoshizaki., O. Carman dan K. Sumantadinata. 2003. *Aplikasi Transfer Gen Dalam Akuakultur*.

- Jurnal Akuakultur Indonesia 2(1) : 41-50.
- Arifin, O.Z., Nugroho, E. dan Gustiano, R. *Keragaman Genetik Populasi Ikan Nila (Oreochromis niloticus) dalam Program Seleksi Berdasarkan RAPD*. 2007. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Bogor
- Awaliyah, F. 2015. *Variasi Genetik Hibrid Ikan Koi Butterfly (Cyprinus carpio) dan Ikan Komet (Carassius auratus) Menggunakan Analisis Polimorfisme*. Skripsi. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Buwono, I.D., Iskandar, Agung, M.U.K. dan Subhan, U. 2015. *Aplikasi Elektroforasi Sperma untuk Produksi Ikan Lele Mutiara (Clarias sp.) Transgenik*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Beheary, M.S., Abu-Almaaty, A.H., and El-matary, F.A. *Genetic Polymorphism and Changes in the Concentration of Heavy Metals in Catfish Clarias gariepinus from Different Sites as a Result of Environmental Contamination*. 2015. AENSI Journal 9(18): 20-32.
- Diani AF. 2013. *Analisis Kekerbatan Strain Lele (Clarias Spp.) Menggunakan Penanda Genetik Berbasis RAPD-PCR*. Skripsi. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Fatchiyah, A.E.L., Widyarti, dan Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekular. Prinsip Dasar Analisis* Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Gray, W.L., L. Mullis, S.E. LaPatra, J.M. Groff, and A. Goodwin. 2002. *Detection of Koi Herpes Virus DNA in Tissue of Infected Fish*. Journal of Fish Disease, (25) : 171 – 178.
- Marnis, Huria. Bambang Iswanto, Rommy Suprpto, Imron dan Raden Roro Sri Pudji Sinarni Dewi. 2015. *Pertumbuhan dan Sigositas Ikan Lele Afrika (Clarias gariepinus) Transgenik F-2 Yang Membawa Gen Hormon Pertumbuhan Ikan Patin Siam (Pangasianodon Hypophthalmus)*. Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Sukamandi, Subang.
- Nuryanto, A., Rahayu, D.R.U., and Sukmaningrum, S. 2012. *Molecular Identification and Phylogenetic Relationship Among Local, Sangkuriang and African Catfish Based on RAPD Marker*. BIOTROPIA Vol 19 (1): 42 – 50.
- Keputusan Menteri Kelautan Dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 77/Kepmen-Kp/2015 Tentang Pelepasan Ikan Lele Mutiara Dengan Rahmat Tuhan Yang Maha Esa Menteri Kelautan Dan Perikanan Republik Indonesia
- Purwanto, A. 2011. *Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) Pada Ikan Mas (Cyprinus carpio L.)*. Skripsi. Program Studi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Sambrook, J., D.W. Russell. 2001. *Molecular Cloning : A Laboratory Manual 3rd edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York.
- Sathik, S.J., M.A. Haniffa, Y.A. Kumar, and D. Manikandaraja. 2016. *A Molecular Approach To Detect The Genetic Variation of Induced Bred Intraspecific Hybrids of Channa striatus by Using RAPD Markers*. J.Bio.Innov 5(2), pp: 206 – 216.
- Sa'diyah, Nyimas., Maylinda W., dan Ardian. 2013. *Keragaan, Keragaman dan Heritabilitas Karakter Argonomi Kacang Panjang (Vigna Unguiculata) Generasi F1 Hasil Persilangan Tiga Genotipe*. Jurnal Agrotek Tropika Vol 1 (1): 32 – 37.
- Syamsiah, H. 2001. *Karakteristik Morfometrik dan Meristik Benih Ikan Hibrida Antara Ikan Mas (Cyprinus carpio L.) Betina dan Ikan Nilem (Osteochilus hasselti C.V.) Jantan*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Triana, S.H., M.S. Gani., A.C. Malina dan Hamka. 2010. *Analisis Keragaman*

Genetik dalam Seleksi Mendapatkan Induk Kerapu Macan (Ephinephelus fuscoguttatus) yang Tahan Bakteri Vibrio parahaemolyticus dan Toleran Salinitas Rendah serta Salinitas Tinggi. Lembaga Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya, Universitas Muslim Indonesia, Makassar.

ics Markers. Nuclei Acids Res 18, 6531- 6535.

Trijoko, N.S.N., Handayani, dan A. Feranisa. 2013. *Karakterisasi Morfologi dan Diversitas Genetik Hasil Persilangan Macrobrachium rosebergii (De Man, 1879) Populasi Samas, Bone dan Sintesis.* Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Williams, J.G and Ronald, I.A. 1990. *DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers Are Useful as Genet*