

**PEMBESARAN DAN EVALUASI CALON INDUK IKAN KERAPU BEBEK
Cromileptes altivelis TURUNAN PERTAMA (F1)**

***GROW OUT AND EVALUATION OF FIRST GENERATION (F1) OF PROSPECTIVE
HUMPBACK GROUPEL Cromileptes altivelis BROODSTOCK***

Tridjoko^{1*}, Ida Komang Wardana¹, dan Ahmad Muzaki¹

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, Gondol Bali

*E-mail: tridjoko_gondol@yahoo.co.id

ABSTRACT

During this time the humpback grouper broodstock spawning that comes from nature. Efforts to provide humpback grouper fish from cultured (F1) has been conducted and it has been spawn. The purpose of this study was to determine the quality of broodstock first generation (F1) with a good maintenance management and monitoring evaluation of character growth, gonad development, and genetic characteristics through microsatelite marker. Broodstock reared in concrete tank volume of 75 m³ with three different of hormonal implantation treatments: (1) estradiol, (2) 17 α -methyltestosterone (MT), (3) a mixture of 17 α -Methyl-testosterone by aromatase inhibitors, and control. The observed parameters were growth, gonad development, reproductive hormones in the blood composition and the performance of genetic through microsatellite analysis. The results showed that the humpback grouper F1 implantation treatment by methyl testosterone and estradiol showed good growth with an average body weight at the end of the observed ranged from 680 \pm 60.5 to 820 \pm 76,5g with an average body length of 34 -36 cm. In individual control growth better because during the maintenance of the population is not implanted. Analyses of testosterone and estradiol in the blood plasma showed that 40% of individuals in the population were males. Microsatellite analysis showed that F1 fish had good genetic variation (0.778-1.000) so that it can be used as broodstock candidate.

Keywords: *evaluation of broodstock candidate (F1), humpback grouper, grow out*

ABSTRAK

Selama ini induk ikan kerapu bebek yang dipijahkan berasal dari alam. Usaha-usaha untuk menyediakan induk ikan kerapu bebek dari hasil budidaya (F1) sudah dilakukan dan ternyata sudah berhasil memijah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas calon induk ikan kerapu bebek turunan pertama (F1) dengan manajemen pemeliharaan yang baik dan evaluasi pemantauan karakter pertumbuhan, perkembangan gonad, dan karakter genetik melalui penanda mikrosatelit. Calon induk dipelihara pada bak beton volume 75 m³ dengan 3 perlakuan yang berbeda yaitu: (1) implant hormone estradiol, (2) 17 α -methyl testosterone, dan (3) campuran 17 α -Methyltestosterone dengan aromatase inhibitor. Parameter yang diamati meliputi pertumbuhan, tingkat kematangan gonad, komposisi hormon reproduksi dalam darah, dan keragaman genetik melalui analisa mikrosatelit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa calon induk ikan kerapu bebek F1 pada perlakuan implantasi methyl testosterone dan estradiol menunjukkan pertumbuhan yang baik dengan rata-rata bobot tubuh pada akhir penelitian berkisar antara 680 \pm 60,5 – 820 \pm 76,5g dengan rata-rata panjang tubuh 34-36 cm. Pada individu kontrol ternyata memberikan pertumbuhan lebih baik karena selama pemeliharaan populasi tersebut tidak mengalami proses implantasi. Komposisi hormon testosterone dan estradiol pada plasma darah menunjukkan bahwa 40% individu dalam populasi tersebut memiliki gonad jantan. Keragaman genetik calon induk kerapu bebek, dari hasil analisa mikrosatelit, memberikan nilai yang cukup baik (0,778-1,000) sehingga dapat digunakan sebagai indukan hasil budidaya.

Kata kunci: evaluasi calon induk (F1), kerapu bebek, pembesaran

I. PENDAHULUAN

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut Gondol, sudah berhasil mengembangkan pembenihan ikan kerapu bebek sampai menghasilkan benih sesuai dengan ukuran yang diinginkan meskipun kelangsungan hidupnya masih bervariasi. Kualitas benih sangat berhubungan dengan faktor genetik, dimana bila terjadi penurunan kualitas genetik benih akan berpengaruh terhadap faktor pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan (Tridjoko *et al.*, 2006). Berdasarkan beberapa hasil penelitian, faktor genetik sangat berpengaruh terhadap kualitas larva dan pertumbuhan. Oleh karena itu peranan faktor genetik dalam *breeding* sangat penting untuk memperoleh induk dan benih yang unggul (Benzie *et al.*, 1996).

Terlaksananya penelitian evaluasi dan pembesaran benih ikan kerapu bebek F1 sebagai kandidat calon induk, secara tidak langsung dapat mengetahui data dan informasi mengenai kualitas morfologi, reproduksi dan genetik yang akan dijadikan sebagai pedoman dalam pemilihan atau produksi calon induk dari hasil kegiatan budidaya. Induk hasil budidaya turunan pertama (F-1) yang dijadikan induk untuk pembenihan sudah berhasil dengan baik yang telah menghasilkan benih F-2 (Tridjoko *et al.*, 2006; Tridjoko, 2007). Hal ini berkaitan dengan upaya yang telah dilakukan selektif *breeding* secara bertahap yang dimulai tahun 2008. Beberapa tahapan tersebut ternyata gonad induk kerapu bebek turunan ke-2 (F-2) sudah berkembang dengan baik dan bisa dilakukan kawin silang (*backcross*) (Tridjoko *et al.*, 2014). Akan tetapi pemantauan terfokus terhadap sifat biologi pada generasi/anakan kerapu bebek belum terdata dengan baik. Dengan demikian evaluasi pembesaran dan pemeliharaan benih turunan pertama (F1) untuk calon induk penting dilakukan untuk mengetahui kualitas secara morfologi, reproduktif dan genetik sebelum digunakan sebagai indukan. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat ditemukan suatu tehnik peme-

liharaan/pembesaran benih yang dijadikan calon induk berkualitas dari hasil budidaya. Sehingga pada masa yang akan datang, dapat mendukung program pemuliaan ikan kerapu khususnya dalam produksi induk kerapu bebek yang siap untuk dipijahkan.

Ada beberapa macam *breeding* program yang dapat digunakan untuk mengeksploitasi faktor genetik (*genotype*) yang menguntungkan diantaranya yaitu *selective breeding* dan *cross breeding* (Tave, 1993). *Selective breeding program* telah digunakan secara luas untuk menyeleksi sifat-sifat tertentu pada berbagai spesies ikan di seluruh dunia, baik pada ikan air tawar maupun air laut. Seperti yang terjadi pada *catfish* (*Ictalurus punctatus*), dilakukan seleksi individu yang tujuannya untuk meningkatkan laju pertumbuhan selama 2 generasi (Tave, 1993). Kenaikan variasi genetik yang signifikan juga diperoleh pada *rainbow trout* (*Onchorhynchus* sp), setelah diseleksi selama 6 generasi melalui seleksi famili (Kincaid, 1983). Selanjutnya keragaman genetik ikan perlu dipertahankan dalam proses penggunaan induk dalam perbenihan, karena terjadinya reduksi gen akan mengakibatkan hilangnya sebagian karakter genetik benih turunannya (Gondie *et al.*, 1995; Benzie dan William, 1996; Sugama *et al.*, 1999). Tingginya keragaman genetik ini juga banyak dipengaruhi oleh jumlah induk dalam suatu populasi pembenihan dan juga jumlah induk yang efektif dalam suatu proses pemijahan (Subaidah *et al.*, 2001). Dari hasil penelitian, menyatakan bahwa kerapu bebek memiliki sifat *protogenous hermaphrodit* yang didahului dengan terbentuknya gonad betina, sehingga dalam proses pembesarannya perlu diinisiasi pemantauan terhadap perkembangan gonad (Tridjoko *et al.*, 2006).

Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas calon induk ikan kerapu bebek turunan pertama (F1) dengan manajemen pemeliharaan yang baik dan evaluasi pemantauan karakter pertumbuhan, perkembangan

gonad dan karakter genetik melalui penanda *microsatelite*.

II. METODE PENELITIAN

Calon induk ikan kerapu bebek turunan pertama (F1) dari hasil pemijahan induk alam, diseleksi berdasarkan kaidah-kaidah pemuliaan dan protokol (SOP) yang telah ada. Standar operasional protokol tersebut meliputi pemeliharaan larva, seleksi, *cut off*, dan terbebas dari *deformity*. Calon induk dengan ukuran bobot 380-525g/ekor dipelihara pada bak beton volume 75 m³ secara terkontrol. Pada tahap pembesaran calon induk tersebut dilakukan juga observasi terhadap perkembangan gonad, sehingga pemeliharaan berlangsung pada 2 bak yang berbeda (bak A dan bak B). Pada bak A diisi 75 ekor calon induk ikan kerapu bebek F1 sebagai kontrol (K). Sementara pada bak B, diberikan 3 (tiga) perlakuan estradiol, 17 α -Mt, dan 17 α -Mt+AI dan masing-masing individu diberi tanda (*tagging* berupa *microchip*) (Tabel 1).

Selanjutnya ikan kerapu diimplantasi dengan 3 jenis hormon reproduksi, yaitu estradiol (Es) 25 ekor, 17 alpha methyl-testosteron (MT) (memacu perkembangan gonad jantan) sebanyak 25 ekor dan campuran antara hormon MT dan Aromatase

Inhibitor (AI) 25 ekor (membantu menstabilkan gonad jantan yang sudah terbentuk). Dosis hormon yang di-*implant* untuk setiap perlakuan 50 μ g/kg dan dilakukan pengulangan setiap bulan selama 3 bulan. Setiap 2 bulan sekali diambil sampel darah dari setiap perlakuan masing-masing sebanyak 5 ekor dan diupayakan individu-individu tersebut sampai akhir pengamatan tetap hidup. Pada bak pemeliharaan dilengkapi dengan aerasi sebagai sumber oksigen. Pergantian air pada media pemeliharaan >200%/hari dengan cara air mengalir. Pakan yang diberikan meliputi: ikan rucah, cumi-cumi, dan ditambahkan vitamin C dan vitamin E (0,5g/kg) sebanyak 5% dari biomass.

Analisa keragaan genetik, jaringan berupa sirip ekor ikan uji (masing masing 10 ekor diambil secara acak dari masing masing perlakuan sesuai dengan kode *tagging* yang sudah ditentukan. Jaringan ikan uji yang sudah dikoleksi, selanjutnya diekstraksi menggunakan Qiamp DNA mini kit (Qiagen) berdasarkan metode dari Li *et al.* (2007). Hasil ekstraksi dilihat konsentrasi DNA-nya dengan menggunakan mesin *Genequant*. Genom DNA dari masing-masing sampel disimpan pada *freezer* -20°C sebelum digunakan untuk analisa berikutnya. Amplifikasi dengan menggunakan primer *microsatelit* kerapu bebek berdasarkan hasil optimasi

Tabel 1. Kode *tagging* individu ikan kerapu bebek F1 (sampel yang di *sampling*) pada masing-masing perlakuan.

Individu	Kode <i>Tagging</i>			
	Estradiol	17 α -Mt	17 α -Mt+AI	Kontrol
1	180819801	180819828	180819743	180819762
2	180819802	180819829	180819746	180819768
3	180819807	180819830	180819747	180819769
4	180819809	180819831	180819749	180819770
5	180819814	180819832	180819751	180819773
6	180819815	180819833	180819753	180819774
7	180819818	180819837	180819754	180819775
8	180819819	180819839	180819758	180819778
9	180819820	180819840	180819760	180819779
10	180819821	180819842	180819772	180819800

Keterangan: Mt = metyl testosteron, AI = aromatase inhibitor.

primer pada penelitian sebelumnya (Tridjoko *et al.*, 2014) dan mengacu pada hasil penelitian Nakorn *et al.* (2010). Nama primer, urutan basa, dan label yang digunakan disajikan pada Tabel 2.

Reaksi PCR, total volume yang digunakan sebesar 25 μ l, yang terdiri dari 10 x PCR *buffer*, 2,5 mM dNTP, 10 pmol *forward* dan *reverse primer*, 1,25 U *Tag polymerase* dan 50 ng *template DNA*. *Thermal cycle* PCR yang digunakan adalah 94°C selama 1 menit untuk pre denaturasi, 94°C 30 detik denaturasi, 57°C-60°C selama 30 detik untuk pelekatan primer, 72°C selama 1 menit pemanjangan primer dan 90°C selama 30 detik sebagai proses ekstensi akhir. Produk amplifikasi dielektroforesis menggunakan gel agarose 1,5% dalam 1x *buffer* TBE, divisualisasikan menggunakan *UV transilluminator* dan didokumentasikan dengan *Biodoc gel camera*. Sampel yang sudah teramplifikasi dengan sempurna dan menunjukkan hasil yang stabil, diamplifikasi kembali dengan primer yang sudah dilabel. *Labeling* yang digunakan adalah primer label FAM (*Applied Biosystems*) untuk CAL 02, label TAMRA untuk CAL 09 dan CAL 13 dilabel dengan HEX. PCR produk dari hasil amplifikasi dengan primer yang dilabel dielektroforesis menggunakan agarose gel 1,5% dalam 1 x TBE *buffer* selama 30 menit dan didokumentasi pada *Biodoc gel camera* dengan bantuan UV transilluminator. Selain dielektroforesis dengan metode konvensional, frag-

men DNA juga dipisahkan secara otomatis menggunakan mesin *sequencer*. Elektroforesis secara otomatis ini dilakukan analisa mikrosatelit di Genetika science. Pembacaan hasil grafik fragmen mikrosatelit DNA dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak GenMapper Versi 4.0. Analisis SSR, hasil interpretasi fragmen-fragmen yang muncul dapat dikatakan sebagai alel dan alel tersebut dapat dianalisis menggunakan analisis molecular varians (AMOVA) dengan *software* NTSys, sementara tingkat heterosigositas ditentukan menggunakan *software* TFPGA. Dari hasil analisa variasi genetik dengan nilai < 0,100 menunjukkan tingkat variasi yang rendah.

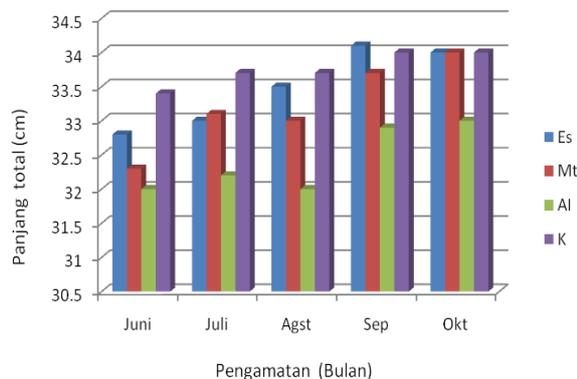
Akhir pemeliharaan, calon induk dari masing masing perlakuan yang digunakan sebagai ulangan individu, dimatikan untuk mengambil sampel gonad dan hati untuk mengetahui kondisi serta tingkat kematangan gonad dari masing masing individu tersebut. Parameter yang diamati diantaranya: pertumbuhan setiap bulan (panjang dan bobot tubuh), tingkat perkembangan gonad yaitu dengan cara histologi (metode pewarnaan dengan haematosiline eosin dengan tahapan *fiksasi, dehidrasi, clearing, embedding, sectioning, staining* sebagai proses akhir dari pengecekan (Anonymous, 1996) dan ELISA (Kusabio kit), keragaman genetik dengan penanda mikrosatelit (Nakorn *et al.*, 2010). Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif.

Tabel 2. Data primer mikrosatelit yang digunakan dalam analisa keragaan genetik calon induk kerapu bebek turunan pertama (F1).

No	Nama Primer	Urutan basa/ <i>Sequence</i>	Target produk (bp)	Label
1	CAL 02	F:GTCGC CTGAG ACAAG GACTC. R:GGACA GAGCG AGCTG GTAAC.	238 - 242	FAM
2	CAL 09	F:GATCC TTTGC TGCCA CCTT R:TCGCC ACTGA TGAAG CTATG	182 - 226	TAMRA
3	CAL 13	F:CGAAA AGAGC AAAGC CATGT R:GCCAG GTGAC AACAG TGAAG	205 - 227	HEX

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

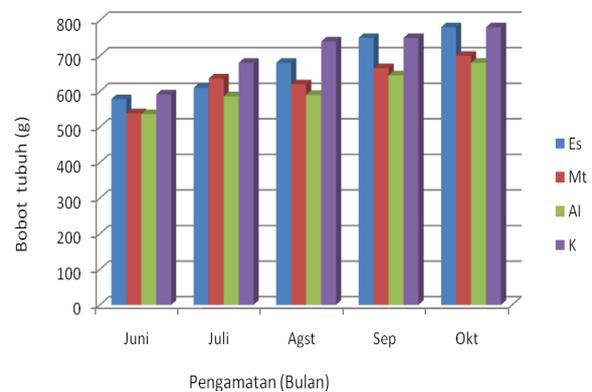
Pertumbuhan panjang rata-rata ikan kerapu bebek pada bulan Juni mempunyai kisaran antara 32,0 – 33,5 cm. Pertumbuhan panjang terendah yaitu pada perlakuan yang diimplan dengan campuran hormon 17 alpha methyltestoterone dan aromatase inhibitor. Sedangkan yang tertinggi pertumbuhan panjang rata-rata ikan kerapu bebek pada bulan Juni tersebut pada kontrol. Demikian juga pada bulan Juli, nampaknya. Pertumbuhan panjang terendah yaitu pada perlakuan yang diimplan dengan campuran hormon 17 alpha methyltestoterone dan aromatase inhibitor yaitu 32,3 cm dan yang tertinggi pada kontrol yaitu 33,7 cm. Kisaran pertumbuhan panjang rata-rata ikan kerapu bebek pada bulan Agustus antara 32,0 – 33,8 cm. Kisaran pertumbuhan panjang rata-rata ikan Kerapu Bebek sampai dengan bulan September adalah 33,0 – 34,0 (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil pengamatan pertumbuhan panjang rata-rata ikan kerapu bebek F1 pada masing-masing perlakuan. (Es: estradiol, Mt: Methyltestoterone, AI: Aromatase inhibitor, K: Kontrol).

Pertumbuhan panjang rata-rata ikan kerapu bebek selama penelitian berlangsung pada individu kontrol dan perlakuan Mt serta estradiol mengalami kenaikan. Sementara pada perlakuan AI pada bulan Agustus mengalami penurunan, hal tersebut kemungkinan

disebabkan karena ikan pada populasi tersebut nafsu makannya berkurang sehingga berpengaruh terhadap pola pertumbuhannya. Apabila dilihat pada Gambar 2, menunjukkan bahwa rata-rata bobot tubuh populasi pada perlakuan AI berada pada posisi *stagnan*. Pertumbuhan individu kontrol nampak lebih baik dibandingkan dengan perlakuan yang lain, hal-hal tersebut kemungkinan disebabkan selama penelitian berlangsung populasi kontrol tidak/lebih jarang tersentuh karena tidak mengalami proses implantasi, sehingga pertumbuhannya lebih optimal.



Gambar 2. Hasil pengamatan pertumbuhan bobot rata-rata ikan kerapu bebek F1 pada masing-masing perlakuan. (Es: estradiol, Mt: Methyltestoterone, AI: Aromatase inhibitor, K: Kontrol).

Pertumbuhan panjang rata-rata ikan kerapu bebek selama penelitian berlangsung mengalami kenaikan. Beberapa hasil penelitian mengenai pakan dan lingkungan pemeliharaan ikan sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan. Seperti halnya ikan Kerapu Bebek ataupun juga jenis ikan laut lainnya bahwa faktor kondisi pada lingkungan pemeliharaan disamping faktor pakan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan. Hal-hal tersebut dipertegas pernyataan Brett dan Groves (1979), bahwa kelangsungan hidup tinggi, pertumbuhan normal, reproduksi akan lebih cepat apabila kualitas air untuk media pemeliharaan optimal.

Hasil pengamatan pertumbuhan berat dan panjang ikan kerapu bebek, maka terlihat jelas bahwa dengan bertambahnya waktu pemeliharaan maka bertambah pula pertumbuhan berat dan panjang total ikan Kerapu Bebek masing-masing perlakuan (Gambar 1 dan 2). Oleh karena itu selama perlakuan pemberian hormon reproduksi maupun yang kontrol terlihat adanya pertumbuhan bobot dan panjang calon induk ikan kerapu bebek yang dipelihara di bak secara terkontrol.

Kandungan nutrisi yang memenuhi syarat maupun komposisi kimia pakan yang memadai merupakan faktor penting untuk pertumbuhan dan perkembangan gonad (Marzuqi *et al.*, 2002). Hasil analisis protein terhadap cumi-cumi menunjukkan kandungan proteinnya cukup tinggi yaitu 63,77%. Tersedianya kandungan protein yang cukup tinggi memungkinkan tersedianya asam amino yang mencukupi. Keunggulan komposisi kimia cumi-cumi adalah mengandung asam lemak esensial yang lebih tinggi sehingga dapat mempercepat perkembangan gonad. Asam lemak esensial tersebut adalah escosapentaenoic acid (20:5w3) dan decosahexaenoic acid (22:6w3) (Tacon, 1985). Oleh karena itu, kualitas dan kuantitas pakan untuk calon induk ikan Kerapu Bebek selama proses pertumbuhan maupun kematangan gonad berperan penting untuk reproduksi dan menjaga kualitas telur yang dihasilkan (Tridjoko, 2003).

Disamping kualitas pakan, pemberian hormone reproduksi seperti: estradiol, inhibitor aromatase dan 17 α Methyltestosteron juga berpengaruh terhadap pertumbuhan pada ikan. Hal ini sesuai dengan penelitian Kuwaye *et al.* (1993) yang menyatakan bahwa pemberian hormone 17 α Methyltestosteron dapat meningkatkan pertumbuhan pada ikan nila (*Oreochromis mossambicus*) yang dipelihara di air tawar ataupun air laut. Sembiring *et al.* (2012) menyatakan bahwa implantasi 17 α Methyltestosteron berpengaruh baik terhadap pertumbuhan pada ikan kerapu sunu *Plectropomus leopardus*.

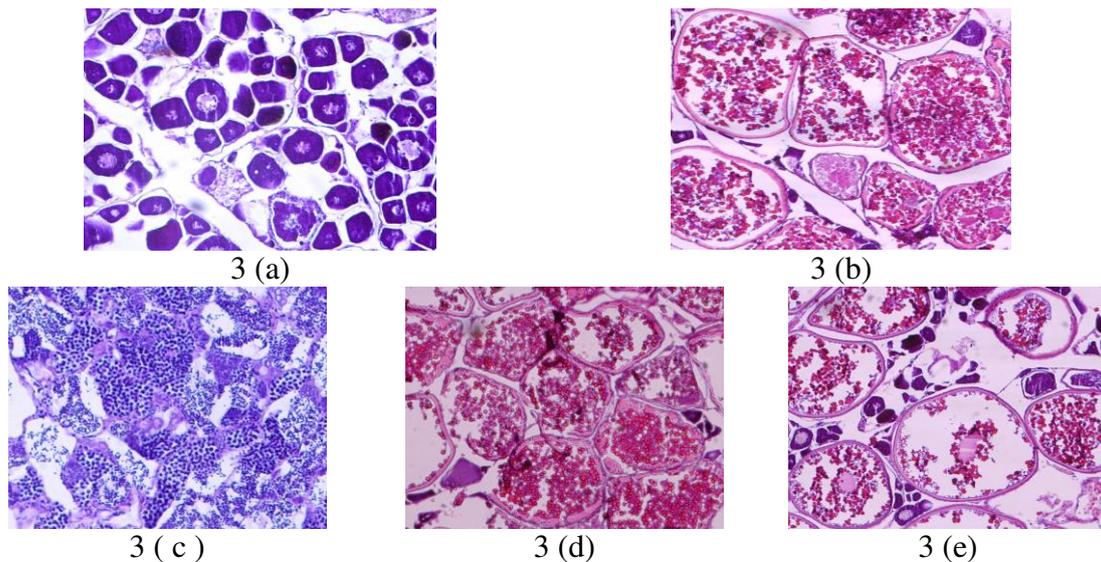
Hasil histologi telah diperoleh informasi bahwa calon induk ikan kerapu bebek sudah menunjukkan perkembangan gonad baik betina maupun jantan. Pada (Gambar 3) terlihat tingkat kematangan gonad yang bervariasi dengan tahapan *stage* 1 (3a), *stage* II (3b), *stage* III (3c, 3d) dan Gambar 3d dan 3e sudah menggambarkan adanya perkembangan gonad jantan.

Sampel yang dibedah, ikan ukuran bobot tubuh 1000 g dan panjang total 32.0 cm yang diimplan hormon estradiol adalah induk betina yang telah matang gonad dan berat gonad mencapai 5.5 g, berat hati 13.5 g (Tabel 3). Sedangkan pada perlakuan Mt, Mt + AI calon induk dengan kisaran bobot tubuh 500-700 g menunjukkan kondisi bobot hati lebih ringan dibandingkan dengan bobot gonad. Hal tersebut menunjukkan gonad baru dalam tahap perkembangan dan belum siap memijah.

Perlakuan implan hormon 17 α Methyltestosteron dan implan campuran hormone 17 α Methyltestosteron ditambah hormone aromatase inhibitor mempunyai diameter oosit antara 300 – 400 μ m (Gambar 3b, 3c dan 3d) dengan didominasi tahapan PVO (*previtelogenesis*) dan VO (*vitelogenic oocyte*). Bahkan telah ditemukan juga induk jantan yang mempunyai ukuran panjang total 34.0 cm dan bobot tubuh 850 g (Tabel 3; Gambar 3e). Hasil pengamatan perkembangan oosit ikan kerapu bebek F1 dari masing-masing perlakuan, nampaknya diameter oosit semakin besar seiring dengan bertambahnya umur ikan. Beberapa hasil penelitian menyebutkan bahwa perkembangan gonad ikan dipercepat dengan rekayasa: lingkungan, pakan dan hormonal. Hal tersebut terbukti dari hasil-hasil penelitian yang berkaitan dengan perkembangan gonad ikan, seperti pakan adalah merupakan faktor yang sangat penting (Halver, 1976; Watanabe, 1984). Kecukupan vitamin dapat mempercepat proses vitellogenesis (Waagbo *et al.*, 1989)).

Tabel 3. Pengamatan perkembangan gonad dari hasil pembedahan ikan kerapu bebek turunan pertama (F1).

Perlakuan	Nomor tagging	Panjang Total (cm)	Bobot Tubuh (g)	Bobot Gonad (g)	Berat Hati (g)
Estradiol	180819807	32.0	1000	5.5	13.5
17 α -Mt	180819842	32.0	700	33.1	6.2
17 α -Mt + AI	180819771	35.5	500	17.8	5.8
Kontrol	180819779	34.0	850	23.3	18.9



Gambar 3. Pengamatan secara histologi oosit ikan kerapu bebek F1.

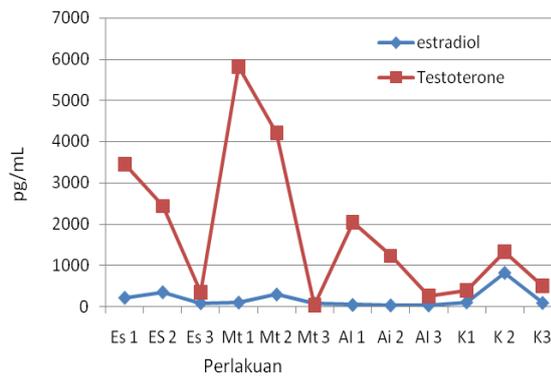
Rekayasa hormonal yang dapat mempercepat proses kematangan gonad LHRHa dan 17 α methyltestoteron telah berhasil dilakukan terhadap beberapa jenis ikan seperti: ikan Bandeng (Tamaru *et al.*, 1987; Tamaru, 1990), juga terhadap Kerapu Macan *Epinephelus fuscoguttatus*, kerapu Lumpur *Epinephelus coioides* dan kerapu bebek (Tridjoko *et al.*, 1997).

Nampaknya pemberian hormon 17 α Methyltestosterone secara oral juga dapat memacu pembentukan sel spermatozoa dan tidak berkembangnya oosit sehingga dapat mempercepat perubahan kelamin dari betina ke jantan tanpa melewati fase betina fungsional. Demikian juga hormon estradiol dan aromatase inhibitor sering kali digunakan untuk ikan-ikan air tawar, seperti misalnya

ikan mas *Cyprinus carpio* L. (Komen *et al.*, 1989).

Hasil pengamatan dari performansi komposisi hormone testosterone dan estradiol setelah di-*treatment* hormon reproduksi terlihat bahwa apabila kandungan hormon testosterone di atas 500 pg/ml (Glamuzina *et al.*, 2001) menunjukkan individu berkelamin jantan, sedangkan dibawah 500 pg/ml menunjukkan individu berkelamin betina pada (Gambar 4). Pemberian hormon estradiol dapat mempercepat kematangan gonad dan meningkatkan kualitas induk betina ikan Kerapu Bebek.

Pemberian hormon estradiol diharapkan calon induk ikan Kerapu Bebek tetap dapat memijah menghasilkan telur yang berkualitas dan kuantitasnya cukup baik, sehingga didapatkan benih turunan ke dua (F2).



Gambar 4. Performansi komposisi hormon testoterone dan estradiol setelah *treatment* hormon reproduksi selama 105 hari.

Usaha pembenihan untuk keberhasilan pemijahan sangat ditentukan oleh kualitas induk, antara lain: jumlah induk, umur induk, kesehatan induk ikan, ukuran induk dan lain-lain. Sedangkan mutu telur dan sperma dapat juga dipengaruhi oleh jenis dan mutu pakan yang diberikan. Di dalam proses reproduksi, sebelum terjadi pemijahan sebagian besar hasil metabolisme bertujuan untuk perkembangan gonad. Bobot gonad bertambah sejalan dengan meningkatnya diameter telur dimana bobot maksimum dicapai saat ikan memijah, kemudian bobot gonad akan menurun dengan cepat selama pemijahan berlangsung sampai selesai (Effendie, 1979). Kualitas telur merupakan refleksi dari komposisi kimia kuning telur yang dipengaruhi oleh keadaan nutrisi pakan dan kondisi induk. Purdon (1979) dalam Hardjamulia (1988) mengemukakan bahwa ukuran telur dapat bersifat genetik yang ditunjukkan oleh kecilnya variasi ukuran telur atau sebagai akibat dari pengaruh makanan dan lingkungan.

Hasil pengamatan analisa keragaan genetik berdasarkan dari hasil optimasi primer mikrosatelit dengan menggunakan 3 lokus primer yang berbeda yaitu CAL 02, 09 dan CAL 13 (Nakorn *et al.*, 2010). Tampaknya penggunaan lokus tersebut memberikan hasil amplifikasi yang paling stabil diantara 8 primer mikrosatelit yang direkomendasikan.

Hasil amplifikasi primer mikrosatelit tersebut, dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 dapat dilihat bahwa semua sampel yang digunakan dapat teramplifikasi dengan sempurna sesuai dengan target amplifikasi. Lokus CAL 02 target amplifikasinya berkisar antara 238-242 bp, CAL 09 kisaran 184-226 bp dan 197-227bp merupakan target dari lokus CAL 13. Dari ketiga lokus primer mikrosatelit yang digunakan masing-masing dilabel berdasarkan dari tipe pewarnaan dan berat molekul dari primer-primer tersebut. Lokus CAL 02 dilabel dengan FAM, CAL 09 dengan TAMRA dan label HEX digunakan untuk lokus CAL 13.

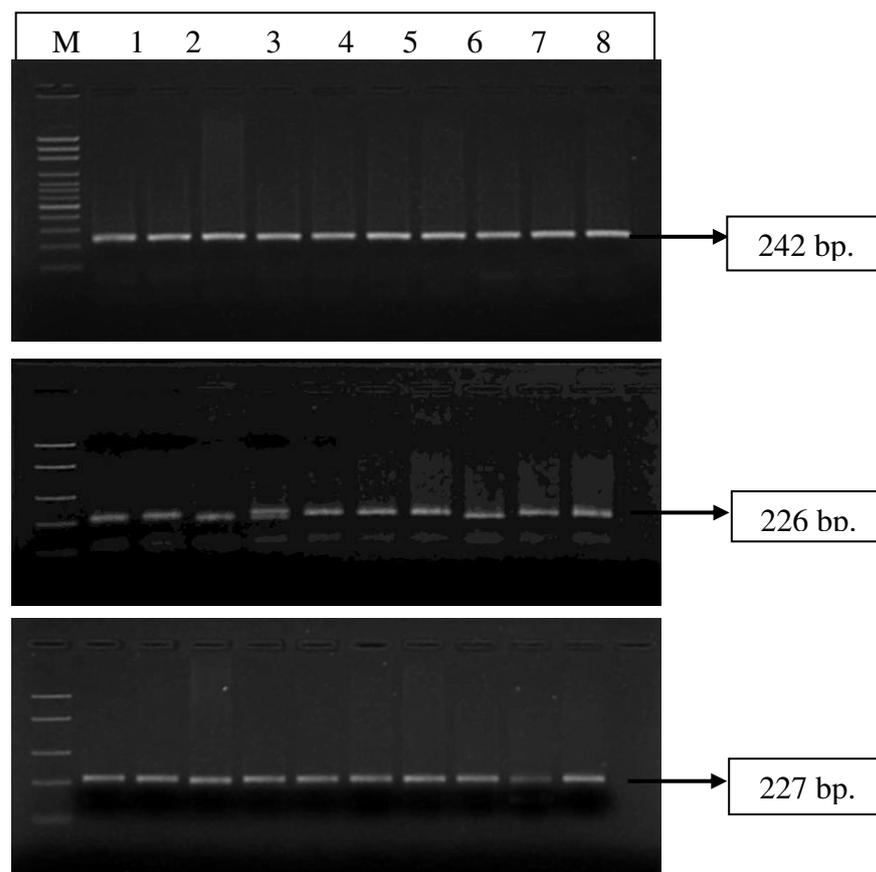
Hasil separasi PCR produk yang sudah dilabel menunjukkan bahwa penggunaan lokus CAL 02 memberikan jumlah alel yang paling sedikit (3 yaitu (238,240 dan 242) dibandingkan dengan 2 lokus lainnya (8 CAL 09 dan 14 CAL 13). Dari data tersebut terlihat bahwa lokus CAL 13 merupakan lokus yang paling baik digunakan untuk mendeteksi tingkat keragaan genetik ikan kerapu bebek (Tabel 4).

Hasil perhitungan analisa tersebut tampak bahwa induk alam (F0) yang digunakan mempunyai tingkat variasi genetik yang baik jika dibandingkan dengan induk hasil budidaya (Sembiring *et al.*, 2013). Berdasarkan dari hasil sekuensing, jumlah alel yang terbaca dari 3 lokus primer yang digunakan, menunjukkan bahwa lokus CAL 13 yang memberikan jumlah alel terbanyak dari dua lokus lainnya (CAL 02 dan CAL 09). (Tabel 4, Tabel 5). Nilai variasi calon induk kerapu bebek turunan pertama (F1) dengan menggunakan 3 primer mikrosatelit memberikan kisaran 0,778-0,978 dengan tingkat polimorfisme berkisar antara 0,758-0,891 yang artinya calon induk kerapu bebek F1 tersebut masih memiliki tingkat variasi yang cukup baik dan memenuhi syarat untuk dijadikan sebagai induk hasil budidaya.

Evaluasi terhadap pembesaran calon induk ikan kerapu bebek turunan pertama (F1) merupakan salah satu dari kegiatan *selective breeding*. Hal ini merupakan

program pemuliaan yang digunakan untuk meningkatkan *breeding value* dan perbaikan mutu genetik dari populasi dengan cara seleksi. Apabila hal ini dilakukan maka generasi berikutnya akan lebih bernilai karena dapat tumbuh lebih cepat dan hasilnya akan lebih meningkat sehingga pemeliharannya menjadi lebih efisien dan murah. Selanjutnya keragaman genetik ikan perlu dipertahankan dalam proses penggunaan induk dalam perbenihan, karena terjadinya reduksi gen akan mengakibatkan hilangnya sebagian karakter genetik benih turunannya (Goundie *et al.*, 1995; Benzie dan William, 1996; Sugama *et al.*, 1999). Tingginya keragaman genetik ini juga banyak dipengaruhi oleh jumlah induk dalam suatu populasi pembenihan dan juga jumlah induk yang efektif dalam suatu

pemijahan (Subaidah *et al.*, 2001). Terjadinya penurunan keragaman genetik ditentukan oleh polimorfik lokus, heterosigositas dan jumlah alel per lokus yang disebabkan oleh penggunaan jumlah induk yang sedikit dalam pembenihan (Sugama *et al.*, 1999). Tahap penelitian ini diketahui bahwa calon induk kerapu bebek turunan F1 memiliki kualitas yang baik (Tridjoko *et al.*, 2006). Fokus penelitian implantasi hormon kepada individu calon induk kerapu bebek sebagai pembandingan dengan komoditas ikan laut yang lain secara bertahap masih terus dilakukan (Tridjoko *et al.*, 2014). Perlakuan dengan beberapa implantasi hormon reproduksi cukup memberikan tambahan informasi untuk bisa diterapkan oleh para pembudidaya.



Gambar 5. Hasil amplifikasi primer mikrosatelit dengan 3 lokus yang berbeda CAL 02 (a), CAL 09 (b) dan CAL 13 (c).

Tabel 4. Data hasil *scoring* analisa mikrosatelit.

Perlakuan/ kode sampel	Locus					
	CAL 02 (FAM)		CAL 09 (TAMRA)		CAL 13 (HEX)	
	Alel 1	Alel 2	Alel 1	Alel 2	Alel 1	Alel 2
Es 1	238	242	197	215	198	214
Es 2	242	242	197	215	198	214
Es 3	242	242	184	193	184	208
Es 4	242	242	185	215	184	214
Es 5	242	242	201	201	200	214
Mt 1	242	242	201	201	202	214
Mt 2	242	242	197	197	198	214
Mt 3	242	242	184	184	184	214
Mt 4	240	242	197	197	206	210
Mt 5	242	242	193	193	194	214
Mt + AI 1	242	242	185	219	184	218
Mt + AI 2	238	242	197	215	214	214
Mt + AI 3	242	242	216	216	214	214
Mt + AI 4	238	242	185	216	184	214
Mt + AI 5	242	242	197	197	201	214
K 1	242	242	201	216	202	208
K 2	242	242	201	201	206	210
K 3	242	242	184	193	184	214
K 4	242	242	193	215	194	214
K 5	242	242	197	197	199	208

Tabel 5. Nilai keragaan genetik calon induk kerapu bebek F1 berdasarkan analisa mikrosatelit.

Label Primer	Perlakuan	Heterozygositas	PIC	Probability 1	Probability 2
FAM	Estradiol	0.867	0.758	0.418	0.601
	17 α -Mt	0.867	0.758	0.418	0.601
	17 α -Mt + AI	0.911	0.798	0.474	0.649
	Kontrol	0.778	0.673	0.311	0.499
HEX	Estradiol	0.956	0.844	0.556	0.718
	17 α -Mt	1.000	0.891	0.657	0.795
	17 α -Mt + AI	0.778	0.673	0.311	0.499
	Kontrol	1.000	0.891	0.657	0.795
TAMRA	Estradiol	0.978	0.868	0.606	0.757
	17 α -Mt	0.978	0.868	0.606	0.757
	17 α -Mt + AI	0.956	0.844	0.556	0.718
	Kontrol	0.978	0.868	0.606	0.757

IV. KESIMPULAN

Calon induk ikan kerapu bebek (*C. altivelis*) dengan perlakuan estradiol dan Mt testosteron menunjukkan pertumbuhan yang baik, dengan kisaran bobot tubuh pada akhir penelitian antara $680 \pm 60,5 - 820 \pm 76,5$ dengan rata-rata panjang tubuh 34-36 cm.

Pengaruh pemberian hormon reproduksi secara implantasi cukup signifikan karena dapat mempercepat proses perkembangan gonad baik gonad betina maupun gonad jantan.

Observasi terhadap komposisi hormon testosteron dan estradiol pada plasma darah melalui analisa ELISA pada akhir pengamatan, menunjukkan bahwa 40% individu dalam populasi tersebut memiliki gonad jantan, hal tersebut disebabkan karena pengaruh dari implantasi hormon yang dilakukan selama penelitian.

Keragaman genetik calon induk kerapu bebek, berdasarkan dari hasil analisa mikrosatelit dengan menggunakan 3 lokus primer yang berbeda, memberikan informasi bahwa calon induk tersebut masih memiliki nilai keragaman yang cukup baik (0,778-1,000) sehingga dapat digunakan sebagai indukan hasil budidaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1996. Manual of histological staining method. CSRO Marine Research Laboratory, Cleaveland Australia. 1p.
- Benzie, J.A.H. and S.T.W. Williams. 1996. Limitation of the genetic variation of hatchery produced batches of Giant Clam, *Tridacna gigas*. *Aquaculture* 139:225-241.
- Brett, J.R. and T.D. Groves. 1979. Experimental factor and growth. In *Fish physiology*, 3th ed. Academic Press Inc, New York. 620-645pp.
- Effendie, M.I. 1979. Metodologi biologi perikanan. Cetakan pertama. Yayasan Dewi Sri, Bogor. 112hlm.
- Glamuzina, B., N. Glavic, B. Skaramuca, V. Kozul, and P. Tutman. 2001. Early development of the hybrid *Epinephelus costae* x *E. marginatus*. *Aquaculture*, 198:55-61.
- Goundie, C.A., Q. Liu, B.A. Simeo, and K.B. Davis. 1995. Genetic relationship of growth sex and glucose phosphate isomerase-B in channel cat fish. *Aquaculture*, 138:119-124.
- Halver, J.E. 1976. Fish nutrition. Academic Press. London and New York. 713p.
- Hardjamulia, A. 1988. Penyediaan induk untuk usaha pembenihan ikan air tawar. Seminar pembenihan ikan dan udang. Bandung. 26hlm.
- Kincaid, H.L. 1983. Results from six generation of selection for accelerated growth rate in a rainbow trout population. Abstract. Fish Culture Selection of the American Fisheries Society. 26-27pp.
- Komen, J., P.A.J. Lodder, F. Huskensi, C.J.J. Richter, and E.A. Huisman. 1989. Effects of Oral Administration of 17 α -Methyltestosterone and 17 β -Estradiol on Gonadal Development in Common Carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture*, 78:349-363.
- Kuwaye, T.T., K. Darren, Okimoto, K. Steven, Shimoda, D. Robert, Hower-ton, Hao-Ren Linb, Peter K.T. Pang, and E. Gordon Grau. 1993. Effect of 17 α -methyltestosterone on the growth of the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, in fresh water and in sea water. *Aquaculture*, 113:137-152.
- Marzuqi, M., N.A. Giri, K. suwiry, dan I. Rustini. 2002. Pengaruh fosfolipid dalam pakan terhadap pertumbuhan juvenil kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *Aquaculture Indonesia*, 2 (2):99-102.
- Nakorn, U.N., R. Yashiro, A. Wachirachai-karn, W. Prakoon and N. Pansaen. 2010. Novel microsatellites for multi-plex PCRs in the Humpback grooper,

- Cromileptes altivelis (*Valenciennes*, 1828) and applications for broodstock management. *Aquaculture*, 306:57-62.
- Sembiring, S.B.M., I.K. Wardana, J.H. Hutapea, A. Muzaki, dan Mastuti. 2012. Produksi jantan fungsional pada ikan kerapu sunu, *Plectropomus leopardus* menggunakan hormon 17 α -Methyl testosterone. Laporan Akhir Program Insentif Riset Sinas. Kementerian Riset dan Teknologi. 111lm.
- Sembiring, S.B.M., Tridjoko dan Haryanti. 2013. Keragaman genetik ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) generasi F-1 dan F-3. ISOI dan Dept. Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fak. Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB Bogor. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5(1):103-111.
- Subaidah, S., M.A. Rahman dan B. Hanggono. 2001. Produksi massal calon induk kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) sebagai upaya memenuhi kebutuhan induk di masa mendatang. Lokakarya Nasional "Pengembangan Agribisnis Kerapu, Jakarta. Hlm.:71-79.
- Sugama, K., Tridjoko, Haryanti, S.B. Moria dan F. Cholik. 1999. *Genetic variation and population structure in the Humpback grouper, Cromileptes altivelis throughout its range in Indonesian waters. Indonesian Fisheries Research J.*, 5(1):32-38.
- Tacon, A.G. and C.B. Cowey. 1985. Protein and amino acid requirement. In: Tytler, P. and Calow, P. (ed) *Fish Energetics and new perspectives*. Croom Helm, London. 155-183p.
- Tamaru, C.S. 1990. Studies on the use of chronic and acute LHRH-a treatments on controlling maturation and spawning in the milkfish (*Chanos-chanos* Forskal). In A Thesis Submitted to the Graduate Division of the University of Tokyo, Faculty of Agriculture. 158pp.
- Tamaru, C.S., C.S. Lee, C.D. Kelly, and J.E. Banno. 1987. Effectiveness of chronic LHRH-a and 17 α MT therapy, administered at different times prior to the spawning season, on the maturation of milkfish (*Chanos-chanos*). Thesis. Submitted the Graduate Division of the University of Tokyo. Faculty of Agriculture. 44p.
- Tamaru, C.S. 1990. Studies on the use of chronic and acute LHRH-a treatments on controlling maturation and spawning in the milkfish (*Chanos-chanos* Forskal). Thesis. Graduate Division of the University of Tokyo. Faculty of Agriculture. 158pp.
- Tave, D. 1993. Genetic for Fish Hatchery Managers. 2nd ed. The AV1 Publ. Co.Inc. New York. 418 p.
- Tridjoko, B. Slamet, dan D. Makatutu. 1997. Pematangan induk kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) dengan rangsangan suntikan hormon LHRHa 17- α metyltestosteron. *J. Penelitian Perikanan Indonesia*, 3(4):30-34.
- Tridjoko, Haryanti, I.G.N. Permana, dan S. Ismi. 2006. Evaluasi kualitas induk Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis* hasil budidaya (F-1). *Aquacultura Indonesiana*, 7(1):45-52.
- Tridjoko, Haryanti, S.B. Moria, A. Muzaki dan I.K Wardana. 2014. Performansi kematangan gonad dan pemijahan induk ikan kerapu bebek hasil perkawinan silang antara F-2 dan F-0. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 6(1):41-51.
- Tridjoko. 2007. Penggunaan ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* hasil budidaya (F1) sebagai salah satu alternatif sumber induk. Prosiding Seminar Nasional Kelautan III, Pembangunan Kelautan Berbasis Iptek Dalam Rangka Peningkatan Kesejahteraan Masyarakat Pesisir. Universitas Hang Tuah, Surabaya. Hlm.: 1-6.

Waagboo, R., T. Thorson, and K. Sandnes. 1989. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout. *Aquaculture*, 80:301-314. *Diterima* : 3 Februari 2016
Direview : 3 Maret 2016
Disetujui : 21 Desember 2016

