

PENELUSURAN GENOTIPE IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L.) STRAIN PUNTEN GYNOGENETIK¹

(Gynotype Investigation of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Punten Gynogenetic Strain

Asri Pudjirahaju², Rustidja³, dan Sutiman B. Sumitro⁴

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui 1) pola elektroferogram, 2) homosigositas dan heterosigositas ikan mas strain Punten gynogenetik dan 3) mengevaluasi metode gynogenesis yang telah dilakukan serta 4) untuk mengetahui jumlah kromosom. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Benih Ikan (BBI), Punten - Batu Malang, dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang. Materi penelitian yang digunakan adalah ikan mas strain Punten (parent, F1, dan F2 gynogenetik) masing-masing 3 (tiga) ekor. Metode penelitian secara deskriptif dengan digambarkan melalui tabel dan gambar berupa foto-foto. Hasil analisis SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfat Polyacrylamide Gel Elektroforesis) menunjukkan ada 4 (empat) pita protein pada parent dan 2 (dua) pita protein untuk F1 gynogenetik yang berbeda, dimana pita protein 37 kD hanya ditemukan pada F1.3. Pada F2 gynogenetik juga ditemukan 3 (tiga) pita protein yang berbeda. Sedangkan antara F1 dan F2 gynogenetik ditemukan 4 (empat) pita protein yang sama. Selain itu juga ditemukan 3 (tiga) pita protein yang sama pada ketiga macam contoh yang diuji, yaitu 122 kD, 108 kD dan 91 kD. Berdasarkan pola elektroferogram tersebut ternyata populasi parent adalah heterosigot, sedangkan untuk F1 dan F2 gynogenetik telah homosigot. Hal ini menunjukkan bahwa metode gynogenesis yang telah dilakukan di Balai Benih Ikan (BBI) Punten Batu Malang sudah tepat. Jumlah kromosom dari ketiga macam contoh yang diuji adalah sama $2N = 100$.

Kata kunci: ikan mas Punten, elektroferogram, homozygositas, heterozygositas, gynogenesis.

ABSTRACT

The aims of this study are to know 1) the pattern of electropherrogram, 2) homozygosity and heterozygosity of common carp normal, gynogenetic F1 and gynogenetic F2, 3) to evaluate the gynogenetic method applied, and 4) this study for the number chromosomes. The normal fish (parent), F1, and F2 gynogenetics, three of each, of the Punten Strain common carp investigated. The research methods is descriptive by using tables and pictures. The results of SDS-PAGE analysis indicate that 4 protein bands parent and 2 protein bands at different F1 gynogenetics are evident. The 37 kD protein band is only present at F1.3. Three different protein bands are also found at the F2 gynogenetics. And four protein bands are evident at the F1 and F2 gynogenetics. The three bands available at all the three samples are 122 kD, 108 kD and 91 kD. The result of electropherographic examinations provide that parents was heterozygote, meanwhile, F1 and F2 gynogenetic were homozygote entirely. Furthermore, gynogenetic method which applied at the Fish Seedling Centre (BBI), Punten - Batu Malang is good enough. The number of all samples stands at $2N = 100$.

Keywords: Punten of common carp, electropherrogram, homozygosity, heterozygosity, gynogenetic.

PENDAHULUAN

Ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) pada saat ini merupakan ikan air tawar yang paling tinggi produksinya dan sudah dibudidayakan di seluruh propinsi di Indonesia. Di Indonesia terdapat beberapa macam strain ikan mas, yaitu Sinyonya, Punten, Kumpay, Majalaya, Kancra Domas, Taiwan dan Merah. Salah satu dari ketujuh strain yang ada di Indonesia tersebut ada-

lah ikan mas strain Punten yang berasal dari daerah Punten Batu Malang.

Adapun ciri-ciri morfologi ikan mas strain Punten adalah sebagai berikut: (1) warna sisik hijau kehitaman dengan bagian perut berwarna putih, (2) mata agak menonjol, (3) gerakan lamban dan jinak, (4) badan relatif paling pendek dari ras strain yang lain dengan punggung tinggi (Schuster, 1950 *in* Anonymous, 1988). Berdasarkan laporan kerja Balai Benih Ikan (BBI) Punten Batu Malang tahun 1994 sifat-sifat yang dimiliki oleh ikan mas Punten antara lain: (1) pertumbuhan cepat, sehingga masa pemeliharaan ikan mas Punten ini dapat diper-

¹ Diterima 28 Maret 2007 / Disetujui 4 April 2008.

² Fakultas Pertanian Universitas Palangka Raya.

³ Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya, Malang.

⁴ Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

cepat, (2) daging tebal dan disukai oleh konsumen, (3) adaptasi terhadap lingkungan tinggi, sehingga dapat dipelihara baik di dataran rendah maupun dataran tinggi, (4) tahan terhadap hama penyakit.

Menurut Sumantadinata (1991) ikan mas strain Punten yang ada sekarang ini diduga memiliki tingkat kemurnian yang masih rendah dan ada indikasi turunnya sifat-sifat ikan mas strain Punten tersebut.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka timbullah suatu gagasan untuk memurnikan ikan mas strain Punten dengan menggunakan metode gynogenesis. Dengan dilakukannya kegiatan gynogenesis tersebut diharapkan dapat mempercepat proses pemurnian ikan mas strain Punten yang ada sekarang.

Pelaksanaan kegiatan gynogenesis tersebut diharapkan dapat diperoleh ikan mas strain Punten murni dengan cepat. Adapun maksud dari ikan mas strain Punten murni disini adalah yang mempunyai sifat homosigositas pada keturunannya. Namun berdasarkan hasil di lapangan menunjukkan bahwa kualitas warna dan keseragaman ikan mas strain Punten ini sangat bervariasi.

Oleh karena itu dengan adanya permasalahan tersebut di atas, maka peneliti ingin melihat dan menguji ikan mas gynogenetik yang telah dihasilkan. Hal ini berkaitan dengan evaluasi morfologi, terutama pada warna sisik yang dihasilkan menjadi bermacam-macam. Dengan bervariasinya warna sisik tersebut apakah juga mempunyai genetik yang berbeda atau sebaliknya.

Adapun metode yang digunakan untuk mengetahui hal tersebut dengan elektroforesis. Karena dengan elektroforesis tersebut diharapkan akan diperoleh pita/band protein yang berbeda atau sama antara contoh-contoh yang diuji. Sehingga dari pita/band protein tersebut, maka akan terlihat apakah ikan mas strain Punten gynogenetik masih heterosigot atau telah homosigot.

Gynogenesis

Gynogenesis buatan adalah salah satu metode manipulasi kromosom. Gynogenesis adalah perkembangan sebuah ovum setelah ditembus oleh sperma tanpa peleburan dari ga-

met-gametnya. Dengan kata lain telur yang matang ditembus oleh sebuah sperma, dimana nukleus sperma tidak ikut masuk ke dalam nukleus telur, meskipun demikian telur dirangsang untuk tumbuh (Stickney, 1979). Definisi lain menurut Gervai *et al.*, (1979), gynogenesis adalah suatu cara pemurnian untuk menghasilkan sifat homosigot dengan cepat, karena nukleus sperma yang masuk ke dalam telur dalam keadaan tidak aktif, sehingga perkembangan telur hanya dikontrol oleh sifat betina saja.

Material genetik pada spermatozoa dapat dinonaktifkan dengan menggunakan sinar Gamma, X dan Ultra Violet (UV) (Purdom, 1983). Radiasi dengan sinar UV lebih mudah dan tidak terlalu berbahaya dibandingkan dengan sinar X. Selain itu harga alat tersebut tidak terlalu mahal dan pemasangannya di laboratorium mudah dan praktis (Rustidja, 1991).

Pada gynogenesis buatan ini cara yang dapat dilakukan untuk merangsang perkembangan embrio dari nukleus telur dengan menggunakan sperma yang telah dirusak kromosomnya, yaitu dengan diploidisasi kromosom betina dengan kejutan suhu (Stickney, 1979).

Gynogenesis yang biasa dilakukan adalah gynogenesis meiosis dan gynogenesis mitosis. Menurut Rustidja (1991) gynogenesis meiosis apabila telur yang normal dibuahi dengan sperma yang telah diradiasi, maka jumlah kromosom di dalam telur akan tetap 2 N (kromosom sperma mati). Pada proses selanjutnya saat telur mengalami meiosis kedua dan sebelum terjadi peloncatan polar body kedua, dilakukan kejutan suhu untuk menahan loncatnya polar body kedua dengan demikian, maka jumlah kromosom di dalam telur akan tetap 2 N. Selanjutnya telur akan mengalami mitosis dan kemudian berkembang dan menetas menjadi ikan yang mempunyai 2 N kromosom. Gynogenesis yang diperoleh dengan cara menahan polar body kedua disebut heterosigot gynogenesis (HetG).

Sedangkan pada gynogenesis mitosis apabila telur normal dibuahi oleh sperma yang diradiasi, maka di dalam telur akan terdapat 2 N kromosom yang berasal dari sel telur. Kemudian telur akan mengalami peloncatan polar body kedua, sehingga di dalam telur tinggal 1 N kromosom. Proses selanjutnya pada saat telur akan mengalami mitosis dilakukan kejutan suhu, maka pembelahan hanya terjadi pada kromosom-

nya saja selnya tetap, sehingga di dalam sel terdapat 2 N kromosom yang bersifat homosigot (HomG).

Gynogenesis mitosis mempunyai tingkat keberhasilan yang lebih rendah dibandingkan gynogenesis meiosis, tetapi menurut Sumantadinata (1991), homosigositas larva hasil gynogenesis mitosis jauh lebih tinggi dibandingkan dengan gynogenesis meiosis.

Elektroforesis

Elektroforesis adalah pergerakan molekul-molekul yang bermuatan listrik oleh medan listrik yang diperlukannya. Selain itu elektroforesis merupakan metode penting untuk pemisahan molekul-molekul secara biologis. Karena hal itu biasanya tidak mempengaruhi struktur asli biopolimer dan juga memiliki kesensitifan yang tinggi terhadap perbedaan kecil isi dan massanya (Robyt and White, 1987).

Menurut Clark and Switzer (1977) sistem gel elektroforesis memiliki beberapa keuntungan tersendiri, yaitu: (1) mempunyai daya pemisahan yang lebih besar, (2) besarnya pori dapat diatur dengan menggunakan kadar bis akrilamid, (3) dapat digunakan untuk preparatif protein. Aspek ini merupakan bagian penting, sebab gel dapat mempertinggi fraksi yang mengatur pergerakan elektroforesis.

Akhir-akhir ini elektroforesis banyak digunakan untuk analisis protein. Keberhasilan pemisahan elektroforesis sangat ditentukan oleh medium penyangganya. Medium yang stabil dapat mengurangi terjadinya konveksi dan bersifat tidak bereaksi dengan contoh atau menghambat pergerakan sebagai akibat terjadinya antara contoh dan matrik.

Teknik elektroforesis yang lazim digunakan untuk maksud di atas adalah dengan gel polyacrylamide yang secara kimiawi bersifat lembam. Pada pembuatan polyacrylamide yang perlu diperhatikan adalah digunakan senyawa inisiator amonium persulfat, agar supaya reaksi polimerisasi akrilamid dapat berlangsung. Kemudian dengan penambahan metilen bis akrilamid akan terjadi ikatan silang antara rantai polyacrylamide yang berpori. Bahan ini lebih menguntungkan dari pada gel pati, karena dengan jalan merubah kadar polyacrylamide penyusun gel dapat diperoleh porositas gel yang berbeda (Wongsosupatio, 1992).

Menurut Robyt dan White (1987) selain pemisahan berdasarkan muatan, protein juga akan mengalami pemisahan dengan penyaringan molekul. Gel polyacrylamide ini stabil dan mempunyai afinitas yang besar terhadap air, sehingga cocok sekali untuk medium elektroforesis.

Kromosom

Kromosom merupakan struktur halus yang mengandung untaian kromatin yang sangat padat selama pembentukan sel (Kirpichnikov, 1981). Kromosom terletak di dalam sel yang di dalamnya terdapat gen-gen yang mengontrol sifat-sifat induk yang akan diturunkan pada anaknya. Jumlah kromosom mungkin sama pada beberapa spesies tetapi kromosom yang satu berbeda bentuk, ukuran dan komposisi gennya dengan kromosom yang lain, dengan kata lain bahwa setiap spesies mempunyai jumlah kromosom yang sama.

Penelitian ini dilakukan di Balai Benih Ikan (BBI) Punten Batu Malang dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang.

Materi penelitian meliputi bahan-bahan dan alat-alat yang digunakan dalam penelitian. Adapun bahan-bahan yang digunakan meliputi ikan mas Strain Punten (Parent, F1 dan F2 gynogenetik) masing-masing 3 ekor dan semua bahan-bahan untuk analisa elektroforesis dan kromosom.

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif. Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif yang disusun dalam bentuk Tabel dan Gambar berupa foto-foto. Dari hasil elektroforesis masing-masing contoh yang diuji mempunyai spesifikasi tersendiri, sehingga perbedaan diantara contoh dapat terlihat dengan jelas.

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah: (1) pola elektroferogram dari masing-masing contoh yang diuji (Parent, F1 dan F2), (2) analisa jumlah kromosom dan (3) kualitas air sebagai penunjang (suhu, pH dan DO).

Sedangkan untuk analisa kromosom ditunjukkan dengan foto yang menyatakan bahwa ikan yang digunakan adalah betina (ikan gynogenetik) dan mempunyai jumlah $2N = 100$.

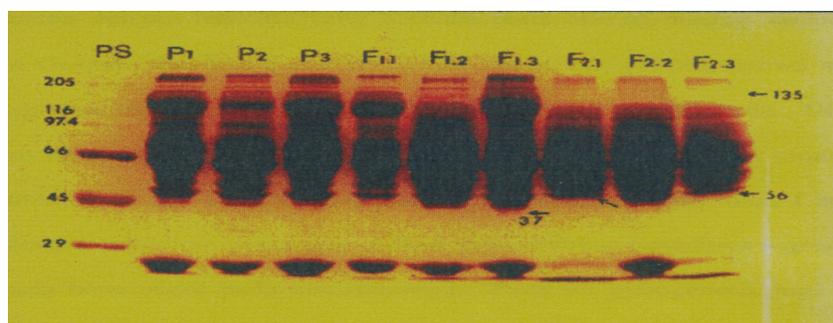
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola Elektroferogram Protein

Hasil elektroforesis dengan metode SDS-PAGE 10% diperoleh pola elektroferogram protein seperti terlihat pada Gambar 1.

Dari hasil SDS-PAGE (Gambar 1), untuk parent diperoleh 4 pita protein yang berbeda, yaitu 142 kD, 66 kD, 48 kD dan 40 kD. Hal ini berarti untuk parent masih memberikan kemungkinan heterosigot. Pada F1 ditemukan 2 pita protein yang berbeda, yaitu 52 kD dan 37 kD, dimana pita 37 kD hanya ditemukan pada F1.3. Hal ini berkaitan dengan fenotipe yang berbeda pada masing-masing contoh yang diuji. Menurut Gorman dan Renzi (1979) dalam Wu *et al.*, (1986), bahwa apabila secara morfologi (*fenotipe*) berbeda, maka secara genetiknya juga berbeda. Di samping itu, perkiraan heterosigositas dan jarak genetik lebih dipengaruhi oleh jumlah lokus dari pada jumlah individu yang dicontohkan. Ditambahkan pula oleh Cherfas (1981), bahwa dengan teknologi gynogenesis akan menyebabkan terjadinya segregasi sifat-sifat induk yang heterosigot pada keturunannya. Pada F2 gynogenetik juga ditemukan 3 pita pro-

tein yang berbeda, yaitu dengan berat molekul 78 kD, 62 kD dan 56 kD. Sedangkan pita protein yang ditemukan dari F1 dan F2 gynogenetik adalah 140 kD, 132 kD, 68 kD dan 44 kD. Pita protein hasil SDS-PAGE kadang-kadang tidak jelas. Hal ini kemungkinan disebabkan waktu pengambilan darah pada contoh tercampur dengan lendir. Menurut Daani (1984) in Anonymous (1994), lendir merupakan zat sejenis glukoprotein (mucin) yang dikeluarkan oleh sel-sel kelenjar pada lapisan epidermis dari kulit ikan yang terkena air dan menutupi seluruh lapisan tubuh ikan. Selain itu mucin ini merupakan kelompok protein yang sangat kental dan kebanyakan tersusun dari gabungan antara protein dengan polisakarida yang bersifat koloid. Sehingga pada saat dilakukan pemisahan plasma darah dengan sentrifugasi diduga lendir ini tidak dapat terpisah dari plasma darah ikan yang digunakan sebagai contoh dalam uji SDS-PAGE. Oleh karena itu dari hasil SDS-PAGE tersebut, pita proteinnya sering terlihat seperti tertutup oleh lapisan pada permukaannya. Apabila lapisan tersebut tebal, maka pita-pita protein tidak terbaca. Selain itu juga dapat terjadi karena denaturasi dari contoh darah yang diperoleh.



Keterangan:

1. Protein Standart (PS):

- 205 kD : MYOSIN (Rabbit Muscle)
- 116 kD : β - GALACTOSIDASE (Escherchia coli)
- 97.4 kD : PHOSPHORYLASE B (Rabbit Muscle)
- 66 kD : ALBUMINE, Bovine Plasma
- 45 kD : ALBUMINE, Egg (Ovalbumin)
- 29 kD : CARBONIC ANHYDRASE (Bovine Erythrocyte)

- 2. Parent (P): Ikan Mas strain Punten sebagai Induk Awal untuk Gynogenesis
- 3. F1 : Ikan Mas strain Punten Generasi Pertama Gynogenetik
- 4. F2 : Ikan Mas strain Punten Generasi Kedua Gynogenetik

Gambar 1. Pola Elektroferogram Protein, BM=37 kD (F1.3), 56 kD (F2.1 dan F2.3) dan 135 (F2.1, F2.3).

Di samping perbedaan-perbedaan pita protein diantara ketiga macam contoh yang diuji juga ditemukan pita protein yang sama, ya-

itu pada pita protein 122 kD, 108 kD dan 91 kD. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun terjadi perbedaan-perbedaan sebagai akibat dilaku-

kan gynogenesis, tetapi masih ada sebagian gen yang tidak berubah pada setiap keturunannya. Sehingga peristiwa segregasi sifat-sifat induk yang heterosigot pada keturunannya tidak semuanya terjadi (Cherfas, 1981).

Selain itu menurut Asher (1970) derajat homosigositas dari keturunan gynogenesis tergantung pada frekuensi “crossing over” selama meiosis. Ditambahkan pula oleh Allendorf dan Leary (1984), homosigositas individu diploid gynogenetik yang diperoleh melalui diploidisasi pada saat meiosis kedua dipengaruhi oleh peristiwa “crossing over”. Sedangkan “crossing over” itu sendiri adalah proses pertukaran segmen kromosom antara kromosom homolog yang berbeda, sehingga terbentuk kombinasi susunan gen baru pada kromosom homolog tersebut. Sedangkan menurut Tave (1986) in Anonymous (1994) hal ini akan mengakibatkan terjadinya peningkatan terhadap keragaman genetik dan fenotipe dari populasi.

Adapun berat molekul protein hasil SDS-PAGE untuk ikan mas Strain Punten Parent, F1 dan F2 Gynogenetik dapat dilihat pada Tabel 1.

Analisa Kromosom

Jumlah kromosom pada ikan mas (*Cyprinus carpio L.*) sangat besar, yaitu 2 N = 100, sehingga sulit untuk diidentifikasi secara tepat. Meskipun demikian dari hasil analisa kromosom yang telah dilakukan dalam penelitian ini menunjukkan jumlah yang sama. Menurut Ville and Dethier (1971) dan Yatim (1986) menyatakan bahwa setiap spesies mempunyai jumlah kromosom yang sama dan tertentu. Dengan kata lain setiap anggota dari suatu spesies mempunyai jumlah kromosom yang sama.

Adapun teknik preparasi kromosom yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan teknik kultur sel darah putih (*leukocyte*) (Blaxhall, 1975 dan Al-Sabti, 1985). Gambaran kromosom hasil analisa dari ketiga contoh yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 2.

Kurangnya variasi intra individu dalam jumlah kromosom diperoleh dari penyebaran yang baik disebabkan oleh perlakuan hipotonik yang lebih baik (Chourrout dan Happe, 1986). Sedangkan menurut Al-Sabti (1985) variasi jumlah kromosom dapat disebabkan kesalahan penghitungan sebagai akibat adanya penyimpangan dari teknik preparasi kromosom, hilang-

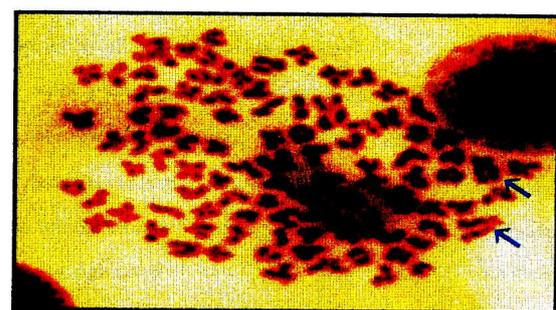
nya kromosom pada proses pembuatan preparat atau selnya *aneuploid*.

Tabel 1. Komposisi Molekul Protein hasil SDS-PAGE Serum Ikan Mas Strain Pun-ten (Parent dan F1/F2) Gynogenetik.

No.	Berat Molekul (kD)	Parent			F-1			F-2		
		P1	P2	P3	F1.1	F1.2	F1.3	F2.1	F2.2	F2.3
1.	142	1	1	1	0	0	0	0	0	0
2.	140	0	0	0	1	1	1	1	1	1
3.	135	1	1	1	1	1	1	0	0	0
4.	132	0	0	0	1	1	1	1	1	1
5.	122	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6.	108	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7.	91	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8.	78	0	0	0	0	0	0	1	1	1
9.	76	1	1	1	1	1	1	0	0	0
10.	68	0	0	0	1	1	1	1	1	1
11.	66	1	1	1	0	0	0	0	0	0
12.	62	0	0	0	0	0	0	1	1	1
13.	58	1	1	1	1	1	1	0	0	0
14.	56	0	0	0	0	0	0	1	1	1
15.	52	0	0	0	1	1	1	0	0	0
16.	48	1	1	1	0	0	0	0	0	0
17.	44	0	0	0	1	1	1	1	1	1
18.	40	1	1	1	0	0	0	0	0	0
19.	37	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Keterangan:

1: Terdapat Pita Protein; 0: Tidak Terdapat Pita Protein
 Fenotipe contoh yang digunakan: 1. P1: Biru Kekuningan, 2. P2: Hijau Kekuningan; 3. P3: Hijau Kekuningan; 4. F1.1: Hijau Kebiruan pada bagian perut putih; 5. F1.2: Hijau Kekuningan pada bagian perut putih; 6. F1.3: Merah (Orange); 7. F2.1: Biru Keputihan; 8. F2.2: Merah (Orange); dan 9. F2.3: Kuning Kehijauan.



1µm

Keterangan: Kromosom XX ditunjukkan oleh anak panah.

Gambar 2. Hasil Analisa Kromosom Ikan Mas Strain Punten Gynogenetik (P dan F1, F2) Gynogenetik.

Menurut Chourrout dan Happe (1986) untuk memperoleh metafase yang memuaskan,

yaitu dengan menggunakan hewan yang sehat dan usianya muda. Demikian juga menurut Denton dan Howel (1969) pada ikan teleost jumlah metafase lebih banyak diperoleh pada ikan muda dan aktif.

Di samping beberapa hal di atas masih banyak faktor yang harus diperhatikan untuk memperoleh hasil preparasi kromosom yang baik. Adapun faktor-faktor tersebut antara lain medium kultur, ketepatan dalam pemberian dosis kolkhisin, lama perendaman dalam larutan hipotonik, pemberian fiksatif, pewarnaan dan sterilisasi semua alat yang digunakan.

Metode kultur sel, terutama sel darah putih sejauh ini memberikan hasil yang paling baik. Media yang paling banyak digunakan adalah MEM Eagle dan medium 199. Pada medium tersebut perlu ditambahkan serum (Calf Serum) 10 - 15 % juga bahan anti mitogen seperti Phytohaemagglutinin (PHA) serta antibiotik. Kultur sel darah putih ini sering dilakukan untuk karyotiping tanpa membunuh ikan yang dianalisa. Pemberian kolkhisin harus tepat dosis maupun waktu inkubasinya, yaitu 0.001 - 0.007 % (w/w) selama 6 - 7 jam dihasilkan sebaran kromosom yang cukup baik. Menurut Sharma dan Sharma (1980) kolkhisin ini selain mempengaruhi berhentinya pembelahan sel pada metafase juga mengakibatkan terjadinya kontraksi pada kromosom itu sendiri.

Selain itu pemberian larutan hipotonik juga sangat mempengaruhi sebaran kromosom yang dihasilkan. Konsentrasi KCl yang digunakan 0.075 M selama 20 - 30 menit. Setelah perlakuan hipotonik adalah fiksasi. Menurut Sharma (1975) tujuan fiksasi ini adalah untuk melindungi bentuk dan kandungan sel serta membuat sel tahan terhadap perubahan yang disebabkan oleh proses berikutnya. Bahan fiksatif yang biasa digunakan adalah "Carnoy", yaitu fiksatif hasil kombinasi antara satu bagian asam asetat glasial dengan tiga bagian etil alkohol absolut. Ditambahkan oleh Wilson dan Morrison (1961) carnoy dapat mengawetkan kromosom lebih baik, yaitu dengan mengendapkan nukleoprotein dan memutuskan ikatan antara asam nukleat dan protein dalam strukturnya. Akibatnya kromosom akan dapat terwarnai dengan mudah.

Tahapan terakhir adalah pewarnaan. Pewarnaan yang digunakan adalah dengan giemsa 10 - 15 % selama 20 menit, ditemukan kromo-

som berwarna merah dan pucat. Menurut Wilson dan Morrison (1961) pewarnaan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu suhu, pH, fiksatif jaringan dan kekuatan ion pada pewarna.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut: (1) Pada parent ada 4 pita protein dan pada F1 ada 2 pita protein yang berbeda, dimana pita protein 37 kD hanya ditemukan pada F1.3. Pada F2 gynogenetik juga ditemukan 3 pita protein yang berbeda. Sedangkan antara F1 dan F2 gynogenetik ditemukan 4 pita protein yang sama. Selain itu juga ditemukan 3 pita protein yang sama pada ketiga macam contoh yang diuji, yaitu dengan berat molekul 122 kD, 108 kD dan 91 kD. (2) Berdasarkan dari hasil elektroforesis tersebut di atas, ternyata ikan mas strain Punten memberikan kemungkinan masih heterosigot, sedangkan untuk F1 dan F2 telah homosigot. (3) Metode gynogenesis yang telah dilakukan di Balai Benih Ikan (BBI) Punten Batu Malang adalah sesuai prosedur, sehingga hasil yang diharapkan dapat dijadikan sebagai acuan dalam memurnikan ikan, terutama ikan mas Strain Punten. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil F1 dan F2 yang telah homosigot. (4) Jumlah kromosom dari ketiga contoh yang diuji adalah sama, yaitu $2N = 100$ dimana terdiri dari 6 (enam) pasang Metasentris (M), 20 pasang Sub Metasentris (MS) dan 24 pasang Sub Telosentris (ST/T).

Metode gynogenesis yang telah dilakukan pada BBI Punten Batu Malang dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan untuk melakukan kegiatan gynogenesis di daerah lain yang menginginkan. Selain itu juga perlu dilakukan uji lebih lanjut, yaitu dengan *Western Blotting*, untuk mengetahui jenis-jenis protein dari pita-pita protein yang ditemukan. Sedangkan untuk analisa kromosomnya diperlukan penelitian lebih lanjut, yaitu dengan melakukan *karyotiping*.

PUSTAKA

- Allendorf and Leary, 1984. **Heterozygosity In Gynogenetic Diploid and Triploid Estimated by Gene-Centromer Recombination Rates**. *Aquaculture* 43: 413-420.
- Al-Sabti, K. 1985. **Chromosomal Studies By Blood Leukocyte Culture Technique On Three Salmonids from Yugoslavian Waters**. *J. Fish. Biol.*, 26: 5-12.

- Anonymous. 1988. **Petunjuk Teknis Pengoperasian Suatu Unit Usaha Pembenhian Ikan Mas**. Penerbit Departemen Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta. 128p.
- Anonymous. 1994. **Laporan Kegiatan Pelaksanaan Uji Coba Pembenhian Gynogenesis**. Kerjasama antara BBI Puntan Batu dengan Universitas Brawijaya Malang. Malang. 141p.
- Asher, Jr. J. H. 1970. **Parthenogenesis and Genetic Variability II One Locus Model For Various Diploid Population**. Genetic 66: 369 - 391.
- Blaxhall, P. C. 1975. **Fish Chromosome Technique - A Review Of Selected Literatur**. J. Fish., 7: 315-434.
- Cherfas, N. B. 1981. **Gynogenesis in Fish**. In Kirpichnikov, V. S. 1981. **Genetics Basis of Fish Selection**. Springer Verlag. New York. p. 45 - 50.
- Chourrout, D and A. Happe. 1986. **Improved Methode of Direct Chromosome Preparation In Rainbow trout, Salmo gairdneri**. Aquaculture, 52: 255-261.
- Clark, J. M. Jr and R. L. Switzer. 1977. **Eksperimental Biochemistry**. Second edition W. H. Freeman and Company San Fransisco. p. 45 - 50.
- Denton, T. E and W. M. Howel. 1969. **A Technique for Obtaning Chromosome from The Scale Epithelium of Teleost Fishes**. Departemen of Biology Samford University. Birmingham. Alabama. p 392 - 393.
- Gervai, J., T. Marian, Z. Krasznai, A. Nagy, and V. Csanyi. 1979. **Occurrence of Aneuploidy In Radiation Gynogenesis of Carp, (Cyprinus carpio Linn.)**. Journal Fish Biology.
- Kirpichnikov, N. S. 1981. **Genetics Bases Of Selection**. Springers Veerlag Berlin, Heidelberg. New York. 410p.
- Purdom, C. E. 1983. **Genetic Engineering by the Manipulation of Chromosome**. Aquaculture 33: 287-300.
- Roby, J. F. and B. J. White. 1987. **Biochemical Technique Theory and Practice**. Book/Cole. Publishing Company Monterey. California. p. 129 - 169.
- Rustidja. 1991. **Aplikasi Manipulasi Kromosom pada Program Pembenhian Ikan**. Makalah pada Konggres Ilmu Pengetahuan Nasional V di Jakarta, 3 - 7 September 1991. 18p.
- Sharma. 1975. **The Chromosomes**. Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi. p. 17 - 23.
- Sharma, A. K. and A. Sharma. 1980. **Chromosome Technique. Theory and Practice**. Butterworth Publishers. 771p.
- Stickney, R. R. 1979. **Principles of Warm-Water Aquaculture**. John Willey & Sons. United States of America.
- Sumantadinata, 1991. **Teknologi Produksi Benih Unggul Ikan Mas (Cyprinus carpio L.) I. Fenotipe Generasi Pertama Beberapa Strain Ikan Mas Hasil Pemurnian Dengan Menggunakan Metode Gynogenesis**. Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 47p.
- Ville, C. and V. G. Dethier. 1971. **Biological Principles and Process**. W.B. Saunders. Philadelphia. p. 217 - 219.
- Wilson, G. B. and J. H. Morrison. 1961. **Cytology**. Reinhold Publishing Cooperation Chapman and Hall, Ltd., London. 297 p.
- Wongsosupantio, S. 1992. **Pedoman Kuliah Elektroforsis Gel Protein**. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 107p.
- Wu, C., Y. Ye, and R. Chen. 1986. **Genome Manipulation in Carp (Cyprinus carpio L.)**. Aquacultur, 54: 57 - 61. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam.
- Yatim, W. 1986. **Genetika**. Penerbit Tarsito. Bandung. 135p.