

KERAGAMAN GENETIK POPULASI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)
DALAM PROGRAM SELEKSI BERDASARKAN RAPD
[Genetic Variability of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Population
in Selection Program Based on RAPD]

Otong Zenal Arifin[✉], Estu Nugroho dan Rudhy Gustiano

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar

Jl. Sempur No. 1, Bogor 16154

Email: rgustiano@yahoo.com

ABSTRACT

Objectives of the study was to discover genetic variability and genetic relationship of paternal half sib population of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under Selection Program Scheme at Research Institute for Freshwater Aquaculture, in Bogor, West Java. Four populations from unrelated selected breeders were observed for genetic variability using RAPD. The analysis of amplification from each locus and fragments were used to estimate DNA polymorphisms, heterozygosity, *Fst* and genetic distance. The range of heterozygosity of four examined populations was 0.1760-0.2168 with level polymorphic between 47.66% and 64.86%. The highest heterozygosity and polymorphic was on population 1 and the lowest one was on population 2. *Fst* test showed significance among the populations. The closest relationship was between population 1 and 4 (0.1978) and the furthest was population 2 and 3 (0.3289).

Kata kunci: Ikan nila, *Oreochromis niloticus*, RAPD, seleksi, kekerabatan, polimorfisme, heterozigositas, *fst*, jarak genetik.

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan konsumsi yang sering dibudidayakan oleh para pembudidaya ikan air tawar. Penggunaan ikan nila sebagai komoditas budidaya telah meliputi sebagian besar wilayah di Indonesia menyebabkan pengendalian kualitas yang tidak terkontrol dan cenderung terjadi penurunan. Hal ini diduga karena banyak terjadi silang-dalam (*inbreeding*) di dalam usaha budidaya yang meliputi pembenihan dan pembedaan. Secara umum, indikasi dari penurunan kualitas genetik ikan ini ditandai dengan sifat-sifat seperti pertumbuhan lambat, tingkat kematian tinggi dan matang kelamin dini. Untuk mengatasi masalah ini maka perlu dilakukan perbaikan genetik pada ikan nila.

Kualitas genetik dapat dilihat dari keragaman genetiknya. Teknik "Random Amplified Polymorphisms DNA" (RAPD) pada ikan nila di luar negeri pertama kali dilakukan oleh Harris *et al.* (1991). Riset keragaman genetik pada ikan nila di Indonesia pertama kali dilakukan secara enzimatik oleh Sudarto (1990). Selanjutnya menggunakan teknik "Random Fragment Length Polymorphisme" (RFLP) oleh Widiyati (2003) dan Arifin (2006). Namun demikian penelitian-penelitian tersebut belum dalam konteks program breeding yang besar. Sebagaimana diketahui, RAPD

merupakan salah satu cara yang dilakukan untuk melihat keragaman genetik adalah secara *genotif* MUI polimorfisme DNA. Melalui keragaman genetik dapat dilihat tingkat keragaman genetik *paternal half sib* ikan nila (*O. niloticus*), dan hubungan kekerabatan yang terjadi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkapkan keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antarpopulasi *paternal half sib* ikan nila pada kegiatan program seleksi yang dilakukan di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor. Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan data tentang keragaman genetik ikan nila untuk menghindari terjadinya "negatif selection" dalam program seleksi, sehingga dapat menjadi acuan dalam menetapkan langkah-langkah yang akan diambil pada tahap selanjutnya.

BAHATANMETODE

Penelitian ini telah dilaksanakan bulan November 2006 sampai Februari 2007. Ikan uji berasal dari kolam di Instalasi Riset Plasma Nutfah, Cijeruk Bogor. Pengamatan sampel dilakukan di Laboratorium Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Sempur, Bogor.

Ikan nila yang diamati merupakan G-2 (generasi ke dua) dari hasil perkawinan antarinduk hasil kegiatan

seleksi. Digunakan 4 induk jantan dan 2-4 ekor induk betina sehingga dihasilkan 4 populasi *paternal halfsib*. DNA uji yang digunakan berasal dari jaringan sirip dada sebelah kanan, dihasilkan dari proses ekstraksi menggunakan *Genomic DNA Purification Kit* (Fermentas).

Amplifikasi menggunakan 9 primer (*Operon Technologies Primer set A, B, and C*, Invitrogen, Hongkong) (Tabel 1). Amplifikasi dilakukan menggunakan metode PCR dengan komposisi bahan: 1 µl primer, 3 µl DNA, 12,5 µl *2X PCR Master Mix* dan 8,5 µl H₂O; dengan total volume 25 µl. Selanjutnya dimasukan dalam *thermocycler* dengan siklus sebanyak 35 *cycle*, yaitu satu siklus *denaturasi* awal pada suhu 94°C selama 2 menit, 34 siklus selanjutnya terdiri atas *denaturasi* pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* 36°C selama 1 menit dan *elongasi* 72°C selama 2 menit. *Elongasi* akhir pada suhu 72°C selama 7 menit. Hasil PCR dilihat melalui *elektroforesis*. Untuk satu sampel ikan, proses PCR ini dilakukan sebanyak jumlah primer yang digunakan (9 primer). Setiap satu kali proses PCR menggunakan primer tunggal.

Keragaman genetik dianalisis menggunakan program TFPGA (*Tools for Population Genetic Analysis*) (Nei and Tajima, 1981). Hubungan kekerabatan antarindividu dianalisis dengan menggunakan jarak genetik berdasarkan program UPGMA menurut (Wright (1978) modifikasi Rogers (1972) dari *software* TFPGA. Data yang dihasilkan dari penggunaan program tersebut berupa konstruksi pohon filogeni yang disajikan dalam bentuk dendrogram.

HASIL

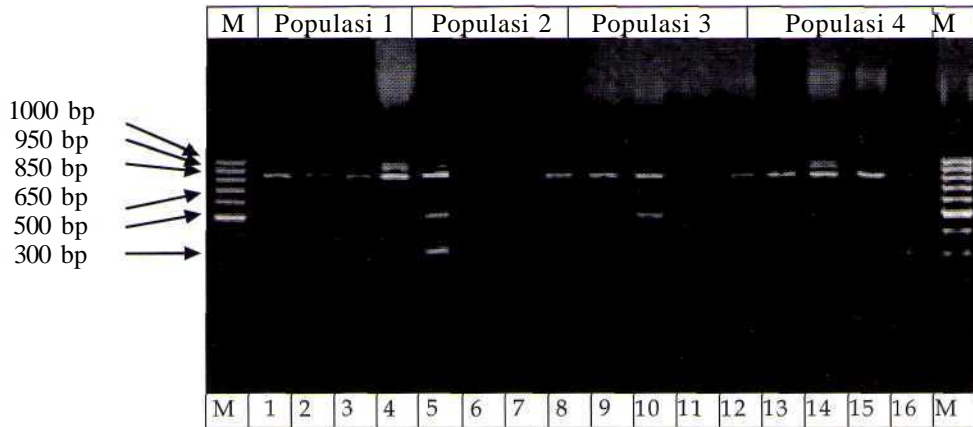
Data kemunculan fragmen menunjukkan bahwa dari 9 primer yang digunakan untuk amplifikasi 37 sampel, hanya 5 primer yang dapat menghasilkan amplifikasi dalam jumlah sampel yang banyak. Dari ke-5 primer yang digunakan, OPC-15 tidak disertakan dalam analisis, karena fragmen tidak muncul pada beberapa sampel ikan uji. Untuk dapat dianalisis menggunakan program TFPGA, maka dilakukan pengurangan jumlah sampel dan primer, sehingga diperoleh 26 sampel dan 4 primer yang dapat dianalisis menggunakan TFPGA, yaitu OPA-03, OPA-04, OPB-10, OPC-02.

Hasil amplifikasi setiap primer memiliki karakter yang berbeda sehingga jumlah dan ukuran fragmen yang muncul pun berbeda. OPC-02 merupakan primer yang dapat menghasilkan amplifikasi dengan jumlah fragmen yang lebih banyak (4-9), tetapi memiliki ukuran fragmen yang lebih rendah dari pada primer lainnya yaitu 300-1100 bp (Gambar 1). OPB-10 merupakan primer yang dapat mengamplifikasi dengan kisaran ukuran fragmen yang lebih besar dari primer lainnya (250-1600 bp) (Gambar 2). Primer OPA-03 menghasilkan amplifikasi dengan jumlah fragmen 3-8, dengan ukuran fragmen 275-1600 bp (Gambar 3) dan primer OPA -04 menghasilkan amplifikasi dengan jumlah fragmen 1-7, dengan ukuran fragmen 300-1500 bp (Gambar 4).

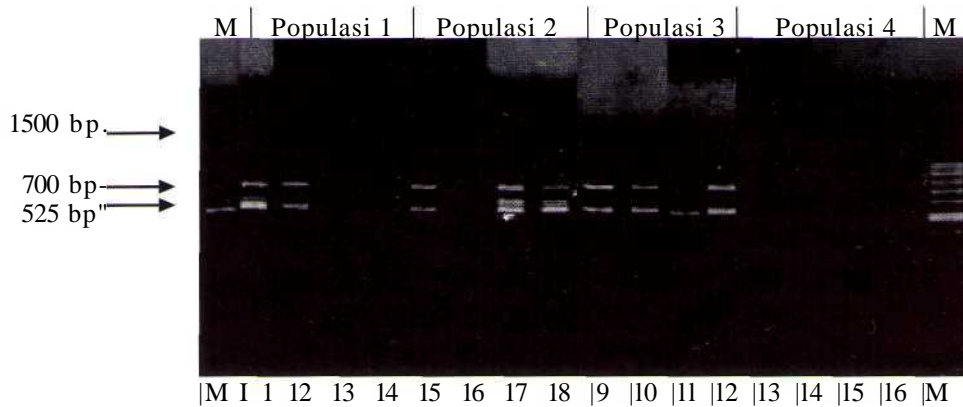
Frekuensi kemunculan allel pada lokus memiliki kisaran 0,0000-1,0000. Setiap primer menghasilkan amplifikasi dengan jumlah lokus yang berbeda. Primer OPA-04 menghasilkan jumlah lokus yang paling rendah yaitu 8 lokus, diikuti OPC-02 sebanyak 11 lokus, OPA-

Tabell. Jenis primer yang digunakan beserta urutan basa, panjang nukleotida, dan komposisi basa G+C yang terdapat didalam primer.

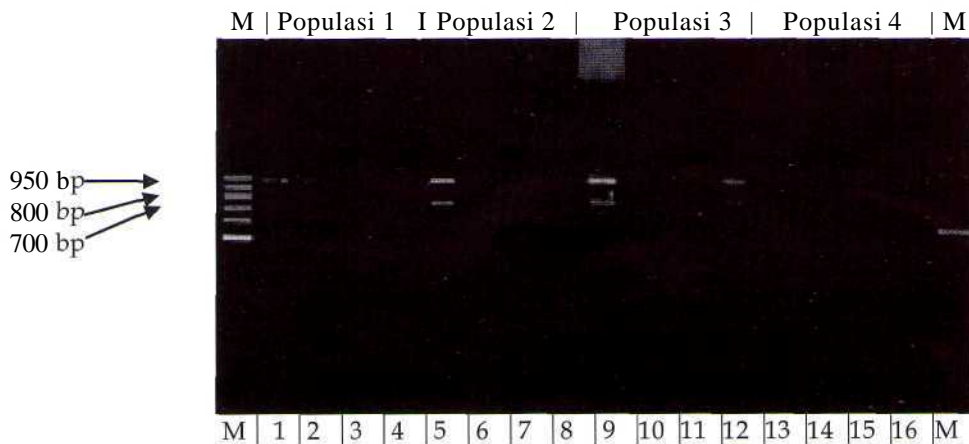
No.	Kode Primer	Urutan basa (5'-3')	Panjang nukleotida	G+C(%)
1.	OPA-03	AGT CAG CCA C	10-mer	60
2.	OPA-04	AAT CGG GCT G	10-mer	60
3.	OPA-05	AGG GGT CTT G	10-mer	60
4.	OPB-03	CAT CCC CCT G	10-mer	70
5.	OPB-10	CTG CTG GGA C	10-mer	70
6.	OPC-02	GTG AGG CGT C	10-mer	70
7.	OPC-07	GTC CCG ACG A	10-mer	70
8.	OPC-14	TGC GTG CTT G	10-mer	60
9.	OPC-15	GAC GGA TCA G	10-mer	60



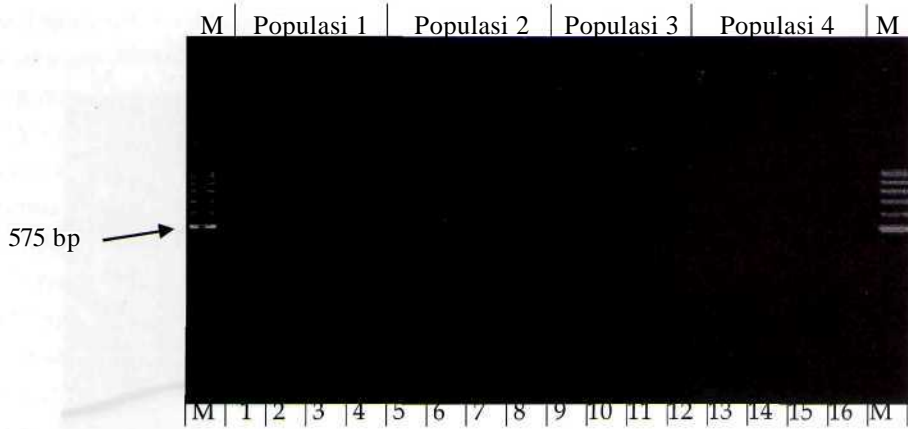
Gambar 1. Hasil amplifikasi OPC-02 pada 4 populasi ikan nila



Gambar 2. Hasil amplifikasi OPB-10 pada 4 populasi ikan nila



Gambar 3. Hasil amplifikasi OPA-03 pada 4 populasi ikan nila



Gambar 4. Hasil amplifikasi OPA-04 pada 4 populasi ikan nila

03 sebanyak 12 lokus, dan OPB-10 dengan jumlah lokus 17 lokus (Tabel 2).

Persentase polimorfik tertinggi diperoleh pada **populasi 4**, sedangkan yang terendah pada populasi 2. Berdasarkan jenis primer yang digunakan, persentase polimorfik tertinggi terdapat pada OPA-04, sedangkan persentase polimorfik terendah adalah pada OPA-03

(Tabel 3).

Berdasarkan populasi ikan yang digunakan, nilai heterozigositas tertinggi diperoleh pada populasi 4, sedangkan nilai terendah pada populasi 2. Berdasarkan primer yang digunakan, nilai heterozigositas tertinggi terdapat pada OPA-04, sedangkan nilai terendah pada OPA-03 (Tabel 4).

Tabel 2. Jumlah dan ukuran fragmen ikan nila hasil amplifikasi 4 primer

No.	Primer	Jumlah fragmen	Kisaran ukuran fragmen (bp)	Jumlah lokus
1.	OPA-03	3-8	275- 1600	12 lokus
2.	OPA-04	1-7	300- 1500	8 lokus
3.	OPB-10	3-8	250- 1600	17 lokus
4.	OPC-02	4-9	300- 1100	11 lokus

Tabel 3. Nilai pohmorfisme menggunakan 4 primer pada 4 populasi ikan nila

Populasi	Keterangan	Primer				Rata-rata
		OPA-03	OPA-04	OPB-10	OPC-02	
1	Polimorfisme (%)	50	75	76,47	45,45	61,73
	Jumlah sampel	6	6	6	6	
2	Polimorfisme (%)	33,33	37,5	47,06	72,73	47,65
	Jumlah sampel	6	6	6	6	
3	Polimorfisme (%)	41,67	75	58,82	36,36	52,96
	Jumlah sampel	6	6	6	6	
4	Polimorfisme (%)	58,33	87,5	47,06	63,64	64,13
	Jumlah sampel	8	8	8	8	
Polimorfisme antar populasi (95%)		66,67	87,5	76,47	72,73	
Jumlah sampel		26	26	26	26	

Tabel 4. Nilai heterozigositas menggunakan 4 primer pada 4 populasi ikan nila

Populasi	Keterangan	Primer				Rata-rata
		OPA-03	OPA-04	OPB-10	OPC-02	
1	Heterozigositas	0,1713	0,3472	0,2745	0,1919	0,2462
	Jumlah sampel	6	6	6	6	
2	Heterozigositas	0,0926	0,1458	0,1928	0,2727	0,1760
	Jumlah sampel	6	6	6	6	
3	Heterozigositas	0,1343	0,3542	0,2320	0,1465	0,2168
	Jumlah sampel	6	6	6	6	
4	Heterozigositas	0,1510	0,30g6	0,1618	0,2557	0,2193
	Jumlah sampel	8	g	8	g	
Heterozigositas antar populasi		0,2175	0,3317	0,2527	0,2789	
Jumlah sampel		26	26	26	26	

Secara statistik dengan menggunakan uji perbandingan berpasangan fst pada selang kepercayaan $P > 0,05$ menunjukkan bahwa, terdapat perbedaan genetik secara nyata antara 4 populasi ikan nila yang diuji kecuali antara populasi 1 dan 2 (Tabel 5).

Nilai jarak genetik terendah diperoleh antara populasi 1 dengan 4 (0,1952) dan nilai jarak genetik tertinggi antara populasi 2 dengan 3 (0,3289) (Tabel 6). Hubungan kekerabatan digambarkan dalam bentuk dendrogram pada Gambar 5,

PEMBAHASAN

Setiap primer memiliki karakter penempelan fragmen yang berbeda pada setiap sampel ikan uji. Dalam hal ini pemilihan primer pada analisis RAPD berpengaruh terhadap polimorfisme fragmen yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri, sehingga fragmen dari DNA yang diamplifikasi oleh primer berbeda menghasilkan polimorfik dengan jumlah fragmen dan berat molekul berbeda (Roslim, 2001).

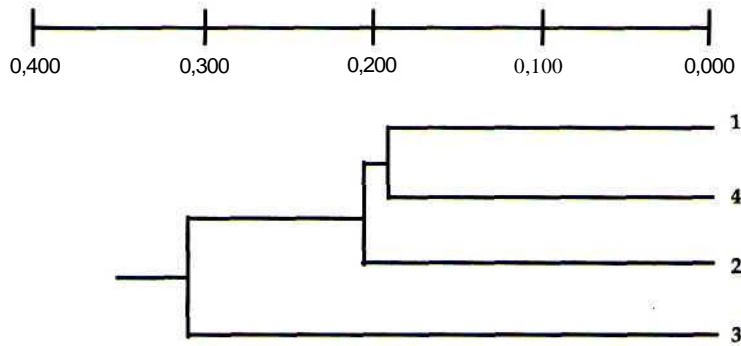
Ukuran fragmen yang muncul berada pada

Tabel 5. Nilai P dari uji perbandingan berpasangan/s² dari rata-rata 4 primer yang digunakan

	Populasi 1	Populasi 2	Populasi 3	Populasi 4
Populasi 1	*****			
Populasi 2	0,5577	*****		
Populasi 3	0,4090	0,0427	*****	
Populasi 4	0,3226	0,3658	0,1554	*****

Tabel 6. Jarak genetik antar 4 populasi ikan nila pada primer yang berbeda

Jarak genetik	Primer				Rata-rata
	OPA-03	OPA-04	OPB-10	OPC-02	
1 vs 2	0,1273	0,2700	0,2021	0,1880	0,1969
1 vs 3	0,4564	0,1132	0,2651	0,4113	0,3115
1 vs 4	0,1262	0,1620	0,1852	0,3072	0,1952
2 vs 3	0,4739	0,2887	0,2557	0,2973	0,3289
2 vs 4	0,1433	0,2830	0,1830	0,2556	0,2162
3 vs 4	0,4280	0,2325	0,3038	0,1938	0,2895



Gambar 5. Dendrogram 4 populasi ikan nila keturunan *paternal half sib*.

kisaran 250-1600 bp, merupakan ukuran yang pada umumnya muncul pada amplifikasi DNA ikan air tawar menggunakan metode RAPD. Menurut Liu *et al.*, (1999), ukuran fragmen pada ikan antara 200 - 1500 bp. Pada ikan discus, ukuran fragmen yang muncul antara 200-1500 bp, dihasilkan dengan menggunakan primer OPA-03 dan OPA-04 (Koh *et al.*, 1999).

Empat populasi ikan nila *paternal half sib* memiliki persentase polimorfik lebih tinggi, dibanding populasi ikan nila di alam (24% - 44,84%) dengan habitat hidup di sungai dan delta (Abdallah, *et al.*, 2004). Hal ini didukung oleh Asih *et al.* (2006), yang menyatakan bahwa pada ikan batak dengan habitat di alam, menghasilkan persentase polimorfik yang rendah (22%-33%). Berdasarkan nilai heterozigositas, ikan nila yang digunakan memiliki tingkat keragaman genetik yang cukup tinggi dibandingkan ikan budidaya air tawar pada umumnya dan juga lebih tinggi dibandingkan populasi ikan alam seperti ikan batak yang dilaporkan oleh Asihefa/.(2006).

Tingginya keragaman genetik pada ikan nila uji dikarenakan sumber induk yang digunakan merupakan hasil seleksi dari induk yang tidak sekerabat. Diduga terdapat perpaduan kemunculan gen antara dominan dan resesif yang berasal dari induk jantan dan betina. Falconer (1989), mengemukakan bahwa seleksi adalah upaya dalam merubah frekuensi gen. Dalam hal ini seleksi untuk suatu sifat selama banyak generasi dapat menurunkan sifat genetiknya, atau dalam keadaan ekstrim dapat menghilangkan keragaman genetik.

Berdasarkan nilai *fst* menunjukkan terjadinya perbedaan dan kesamaan antara populasi ikan nila uji.

Hubungan antar 4 populasi ikan nila *paternal half sib* menunjukkan perbedaan yang nyata, kecuali hubungan antara populasi 1 dengan 2. Hal ini menandakan bahwa keempat populasi ikan nila berasal dari sumber induk yang memiliki perbedaan karakter genetik.

Antara populasi 1 dengan populasi 4 mempunyai jarak genetik yang relatif rendah (0,1978), hal ini menandakan bahwa antara kedua populasi tersebut mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat. Hal ini mengindikasikan terjadinya perkawinan sekerabat yang dapat menurunkan kualitas genetik keturunannya, karena dapat meningkatkan homozigositas populasi. Hasil yang serupa pada ikan kerapu sunu dilaporkan oleh Suryani *et al.* (2001). Populasi 2 dengan 3 mempunyai jarak genetik yang lebih tinggi dari jarak genetik antar populasi lainnya (0,3289), menandakan bahwa kedua populasi tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang lebih jauh dibanding populasi lainnya. Tingkat kemiripan genetik dari suatu populasi dapat digambarkan oleh jarak genetik dari individu-individu anggota populasi. Semakin besar jarak genetik individu di dalam suatu populasi, maka populasi tersebut memiliki anggota yang semakin beragam (Pandini, 2000).

Ikan nila yang diamati merupakan ikan budidaya, sehingga faktor yang mempengaruhi hubungan kekerabatan diduga berasal dari sumber induk yang berbeda, sebab lingkungan perairan dianggap homogen antara populasi yang satu dengan lainnya. Menurut Koh *et al.* (1999), ikan discus yang dibudidayakan memiliki rata-rata jarak genetik lebih tinggi (0,105) dibanding ikan discus yang ditangkap di

alam (0,033). Diduga hal ini terjadi akibat adanya *inbreeding* pada ikan discus yang ditangkap di alam. Pada ikan discus hasil budidaya, merupakan varietas baru yang berasal dari perkawinan induk yang berbeda sumber genetiknya. Semakin kecil jarak genetik antar individu dalam satu populasi, maka semakin seragam populasi tersebut (Pandin, 2000).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian keragaman genetik ikan nila dari keturunan *paternal halfsib* diperoleh kesimpulan bahwa keragaman genetik ikan *nitepaternal halfsib* memiliki tingkat keragaman genetik yang tinggi dengan rata-rata nilai heterozigositas 0,2146 dan polimorfisme 56,62%. Berdasarkan uji statistik (F_a) pada selang kepercayaan $P > 0,05$, terdapat perbedaan nyata di antara 4 populasi, kecuali antara populasi 1 dengan 2.

Berdasarkan nilai jarak genetik (0,1952-0,3289), hubungan kekerabatan antar 4 populasi *paternal halfsib* yang digunakan tergolong rendah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Erma Primanita Hayuningtyas dan para teknisi atas kerjasama.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah HH, M Elnaldy, A Obeida and H Itriby. 2004.** Genetic Diversity of Nile Tilapia Populations Revealed by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Aquaculture Research* 35, 587-593.
- Arifin OZ. 2006.** Polimorfisme mtDNA Keturunan Pertama (F1) dalam Seleksi Famili Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di BBI Wanayasa, Jawa Barat. *Tests*. Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Asih S, E Nugroho dan Mulyasari. 2006.** Penentuan Keragaman Genetik Ikan batak (*Tor sorro*) dari Sumatera Utara dengan Metode Analisis Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD). *Kumpulan Hasil Riset Tahun 2006*. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar.
- Falconer DS. 1989.** *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Group Ltd, UK.
- Harris AS, S Bieger, RW Doyle and SM Wright. 1991.** DNA Fingerprinting of Tilapia *Oreochromis niloticus* and Its Application to Aquaculture Genetics. *Aquaculture* 92, 157-163.
- Koh TL, G Khoo, LQ Fan and VPE Phang. 1999.** Genetic Diversity Among Wild Forms and Cultivated Varieties of Discus (*Symphysodon* spp.) as Revealed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprinting. *Aquaculture* 173, 485-497.
- Liu ZJ, P Li, BJ Argue and RA Dunham. 1999.** Random Amplified Polymorphic DNA Markers: Usefulness for Gene Mapping and Analysis of Genetic Variation of Catfish. *Aquaculture* 174, 59-68.
- Nei M and F Tajima. 1981.** DNA Polymorphism Detectable by Restriction Endonucleases. *Genetics* 97, 146-163.
- Pandin DS. 2000.** Kemiripan Genetik Populasi Kelapa Dalam Mapanget Tenga, Bali, Palu dan Sawarna Berdasarkan Penanda RAPD. *Tesis*. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Rogers JS. 1972.** Measures of Genetic Similarity and Genetic Distance. In: *Studies in Genetics VII. University of Texas Publication No 7213*, 145-154.
- Roslim DI. 2001.** Kemiripan Genetik Tiga Populasi Kelapa Dalam dari Tiga pulau dengan Penanda RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). *Tesis*. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Suryani SAMP, Sukoso dan Sugama. 2001.** Hubungan Kekerabatan Tiga Spesies Ikan Kerapu Sunu (*Plectropomus* spp.) Atas Dasar Keragaman Genetik. *Biosain*. 1(3), 99-107.
- Sudarto. 1990.** Pengamatan Elektroforesis terhadap Ikan Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Bulletin Penelitian Perikanan Darat* 9, 19-24.
- Widiyati A. 2003.** Keragaman Fenotipe dan Genotipe (*Oreochromis niloticus*) dari Danau Tempe (Sulawesi Selatan) dan Beberapa Sentra Produksi di Jawa Barat. *Tesis*. Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.