

# ANALISIS KERAGAMAN GENETIK TIGA STRAIN NILA MERAH (*Oreochromis sp*) DENGAN ANOVA RAPD

Iskandariah<sup>1\*</sup>, Otong Zenal Arifin<sup>1</sup> dan Rudhy Gustiano<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar

Jl. Sempur No.1, Bogor

\*e-mail : [iskandariah.3010@gmail.com](mailto:iskandariah.3010@gmail.com)

<sup>2</sup>Balai Riset Budidaya Ikan Hias

## ABSTRACT

### *Analysis Genetic Variation of Three Strains of Red Tilapia by Anova of RAPD. By. Iskandariah, Otong Zenal Arifin and Rudhy Gustiano*

*Study on the genetic variance of three strains of red tilapia (*Oreochromis sp*) had been conducted in the Biology Molecular Laboratory, Research Institute for Freshwater Aquaculture (RIFA) Bogor. Three different strains, Red NIFI from Thailand, Red Tilapia from Lido lake and Red Tilapia from Bogor's farmer were analyzed in the study. Observation used Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) with OPA-03, OPA-04, OPC 14 and OPC-15 primers. The results showed that only OPA-03 primer was able to amplify numerous samples. Further analysis showed that the percentage of polymorphic range was between 16.67 – 38.89%, heterozygosity value 0.0378 – 0.1536 and genetic distance among strain 0.3051 – 0.6037.*

*Keywords : RAPD, genetic, strain, nila tilapia, oreochromis*

## ABSTRAK

Penelitian mengenai variasi genetik tiga strain nila merah dari 3 lokasi yang berbeda telah dilakukan di Laboratorium Molekuler Biologi, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar (BRPBAT) Bogor. Strain yang diamati meliputi jenis nila Red NIFI dari Thailand, nila merah dari Danau Lido dan nila merah dari Petani Bogor. Penelitian menggunakan metode analisis Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD), dengan menggunakan primer OPA-03, OPA-04, OPC-14 dan OPC-15. Hasil pengamatan menunjukkan hanya OPA-03 yang dapat menghasilkan amplifikasi dalam jumlah sampel yang memadai. Hasil analisis menunjukkan bahwa persentase polimorfik berkisar antara 20.00-40.00%, dengan nilai heterozigositas 0.0604-0.1516 dan jarak genetik antar strain 0.1770-0.4865.

Kata kunci : RAPD, genetik, strain, ikan nila, oreochromis

## PENDAHULUAN

Ikan nila merah merupakan ikan introduksi asal Filipina (1981) dan Thailand (1989). Beberapa keunggulan yang dimiliki seperti mudah berkembang biak, pertumbuhan relatif cepat, tahan terhadap hama penyakit dan toleransi yang cukup luas terhadap perubahan lingkungan menyebabkan teknologi budidaya ikan ini berkembang cukup luas di beberapa daerah di Indonesia bahkan produksinya telah diekspor ke beberapa negara Eropa, Singapura, Jepang dan Amerika Serikat. Selain dapat diekspor dalam bentuk fillet segar juga dapat diekspor dalam keadaan hidup.

Budidaya ikan nila merah dapat dilakukan di kolam, sawah, tambak, keramba, jaring apung, baik dip perairan tawar, payau maupun di tepi pantai. Tingginya animo masyarakat dalam membudidayakan ikan nila merah ini berdampak pada perubahan kualitas genetik turunan yang dihasilkan akibat kurangnya pemahaman mengenai pengelolaan induk yang baik. Penurunan kualitas

genetik ikan secara umum ditandai dengan sifat-sifat seperti pertumbuhan lambat, tingkat kematian tinggi, kematangan gonad pada usia dini dan ukuran individu yang kecil.

Penelitian perbaikan genetik untuk ikan nila hitam telah banyak dilakukan di Indonesia, namun untuk nila merah belum banyak dikaji. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nugroho dan Maskur (2002) dengan menggunakan metode mtDNA menunjukkan terdapat indikasi bahwa salah satu induk nila merah adalah berasal dari nila hitam. Menurut Nugroho dan Maskur (2002), beberapa peneliti berpendapat bahwa ikan nila merah merupakan hasil hibrid dari nila hitam dan nila putih/bule, namun demikian hasil riset yang mendukung pendapat tersebut belum ada.

Mengingat peranan ikan nila merah yang cukup strategis bagi perikanan budidaya di Indonesia, maka penelitian dasar yang menunjang untuk perbaikan mutu genetik ikan nila merah penting untuk dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik ikan

nila merah yang dikoleksi dari 3 lokasi yang berbeda, yaitu Red NIFI, Merah Lido dan Merah Petani dengan menggunakan metode *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD), sebagai informasi dasar dalam meningkatkan mutu genetik ikan nila merah.

## BAHAN DAN METODE

### Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah 3 strain ikan nila merah koleksi yang diambil dari lokasi yang berbeda, yaitu Red NIFI dari Thailand ukuran 5-8 cm (10 sampel), nila merah dari Danau Lido ukuran 5-8 cm (10 sampel) dan nila merah dari Petani Bogor ukuran 3-5 cm (10 sampel). Sampel ikan nila yang digunakan berupa sirip yang dipotong dan disimpan dalam larutan alkohol 70% untuk digunakan dalam proses analisis.

### Ekstraksi DNA

DNA ikan diekstraksi dari potongan sirip dengan menggunakan metode *Phenol-Chloroform* (Nugroho, 2001). Potongan sirip sebanyak 5 – 10 mg dimasukkan dalam mikrotube 1,5 ml yang telah diisi dengan 500 µl TNES Urea, kemudian ditambah 10 µl protein kinase. Setelah *divortex* selama 1 menit sampel diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya ditambah larutan *Phenol Chloroform* sebanyak 1000 µl dan *divortex* selama 1 menit. Sampel kemudian disentrifius dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan dimasukkan dalam mikrotube baru, lalu ditambah dengan 1000 µl *ethanol* 90% dan 10 µl CH<sub>3</sub>COONa. Sampel lalu *divortex* selama 1 menit sampai terlihat gumpalan berwarna putih. DNA diendapkan dengan cara mensentrifiusnya dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit, lalu dikeringkan pada suhu kamar. Pelet DNA dilarutkan dengan 100 µl Tris-EDTA (TE) *buffer* dan disimpan pada suhu 4 °C sebelum digunakan pada tahap selanjutnya.

### Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)

Primer yang digunakan adalah OPA-03 dengan urutan basa AGT CAG CCA C. Proses amplifikasi dilakukan dengan metode *Polymerize Chain Reaction* (PCR) dengan komposisi reaksi: 1µl DNA, 1,5 µl primer, 12,5 µl 2X PCR *Master Mix* dan 10 µl H<sub>2</sub>O; dengan total volume 25 µl. Selanjutnya dimasukkan dalam *thermocycler* dengan 1 siklus denaturasi pada suhu 94 °C selama

2 menit, 35 siklus penggandaan yang terdiri dari denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 36 °C selama 1 menit dan elongasi pada suhu 72 °C selama 2,5 menit; dan elongasi akhir pada suhu 72 °C selama 7 menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis menggunakan gel agarose 1% dalam Tris-Boric-EDTA (TBE) *buffer* 1%. Hasilnya diamati dengan UV illuminator dan dicetak gambarnya dengan Polaroid.

### Analisis Data

Analisis data menggunakan software *Tools For Population Genetic Analysis* (TFPGA). Variasi genetik antar populasi menggunakan *Analysis Molecular of Varians* (AMOVA) dan *Fst*, sedangkan kekerabatan antar populasi menggunakan jarak genetik (D) yang dianalisis berdasarkan Wright (1978) modifikasi Rogers (1972).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 4 jenis primer yang dicoba, yakni : OPA-03, OPA-04, OPC-14 dan OPC-15, hanya OPA-03 yang dapat menghasilkan amplifikasi dalam jumlah sampel yang banyak. Jumlah fragmen yang dihasilkan melalui analisa menggunakan pimer OPA-03 sebanyak 8 sampai 11 fragmen, dengan ukuran fragmen berkisar antara 200 sampai 1600 bp dan jumlah lokus sebanyak 15 lokus. Hasil amplifikasi primer OPA-03 pada strain nila *Red NIFI* disajikan pada Gambar 1, sedangkan strain nila merah Danau Lido pada Gambar 2 dan strain nila merah petani pada Gambar 3.

Secara umum keragaman genetik ikan nila merah yang diuji relatif rendah dengan kisaran nilai polimorfisme 20.00-40.00% dan heterozigositas 0.0604-0.1516 (Tabel 1). Hasil yang sama juga terjadi pada penelitian Iskandariah *et al.* (2009), lima strain ikan nila yang diuji meliputi ikan nila merah Danau Lido, Red NIFI, nila lokal Kuningan, nila lokal Bogor dan nila BEST memiliki persentase polimorfisme berkisar antara 22.22 – 38.89% dan heterozigositas 0.0378 – 0.1536. Rendahnya tingkat keragaman genetik ini disebabkan karena ikan air tawar mempunyai tingkat migrasi yang lebih rendah sehingga peluang terjadinya persilangan dengan jenis dan ras lainnya juga semakin kecil (Kirpichnikov, 1981; Tave, 1991).

Analisis statistik dengan menggunakan AMOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan genetik secara nyata antara strain nila Red NIFI dengan nila merah Danau Lido dan nila merah Petani ( $P < 0.05$ ), sedangkan antara nila merah

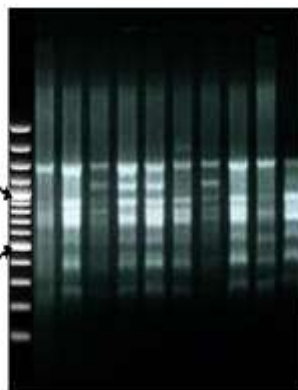
Danau Lido dan nila merah Petani tidak terdapat perbedaan yang nyata ( $P > 0.05$ ). Hal ini disebabkan karena antara strain nila merah Danau Lido dan nila merah Petani kemungkinan mempunyai hubungan kekerabatan berdasarkan strain yang pernah di datangkan ke Indonesia, sedangkan nila Red NIFI yang digunakan merupakan ikan introduksi baru. Hasil analisa statistik ditampilkan pada Tabel 2.

Jarak genetik tertinggi antara strain nila merah Red NIFI dan nila merah Petani dan terendah antara nila merah Danau Lido dengan nila merah petani (Tabel 3). Dendogram yang dibentuk berdasarkan jarak genetik tersebut menunjukkan

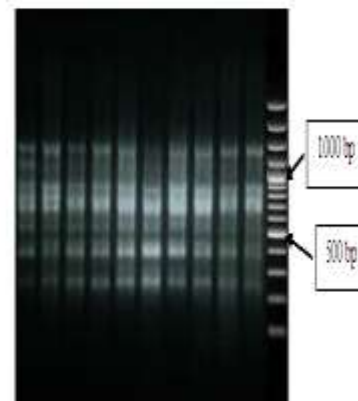
bahwa antara strain nila merah Danau Lido dan nila merah Petani terdapat hubungan kekerabatan yang lebih dekat, dibandingkan dengan hubungan kekerabatan antara strain nila Red NIFI dan 2 strain lainnya (Gambar 2). Kedekatan hubungan kekerabatan antara strain nila merah Danau Lido dan nila merah Petani disebabkan karena keduanya mempunyai asal-usul induk yang relatif sama, sementara nila Red NIFI merupakan generasi terbaru dari Thailand. Keadaan serupa juga terjadi pada ikan *kingfish* yang dikoleksi Jepang, Australia dan New Zealand (Nugroho *et al.*, 2001).



Gambar 1. Hasil Amplifikasi Primer OPA-03 pada Strain Nila Red NIFI



Gambar 2. Hasil Amplifikasi Primer OPA-03 pada Strain Nila Merah D. Lido



Gambar 3. Hasil Amplifikasi Primer OPA-03 pada Strain Nila Merah Petani

Tabel 1. Nilai Polimorfisme dan Heterozigositas Tiga Strain Nila Merah Menggunakan Primer OPA-03

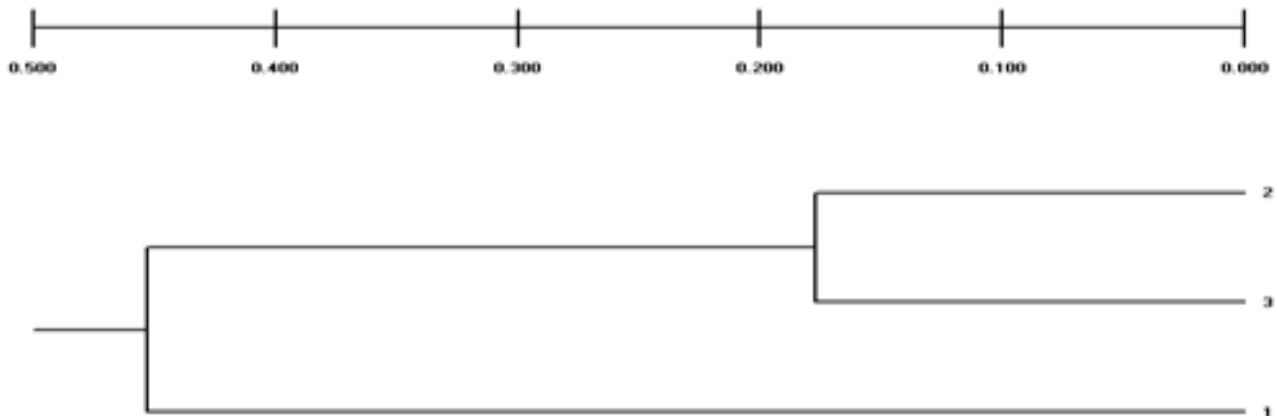
No.	Keterangan	Strain		
		Red NIFI	Nila Merah D.Lido	Nila Merah Petani
1.	Polimorfisme	40.0000%	26.6667%	20.0000%
2.	Heterozigositas	0.1516	0.0926	0.0604

Tabel 2. Hasil Uji Fst Berpasangan Tiga Strain Nila Merah Menggunakan Primer OPA-03

Strain	Red NIFI	Nila Merah D. Lido	Nila Merah Petani
Red NIFI	****		
Nila Merah D. Lido	0.0000	****	
Merah Petani	0.0000	0.9140	****

Tabel 3. Jarak Genetik antar 3 Populasi Nila Merah dengan Primer OPA-03

Strain	Red NIFI	Nila Merah D. Lido	Nila Merah Petani
Red NIFI	****		
Nila Merah D. Lido	0.4195	****	
Merah Petani	0.4865	0.1770	****



Gambar 4. Dendrogram dari 3 Strain Nila Merah yang Diamati.  
1= Red NIFI; 2= Nila Merah Danau Lido; 3= Nila Merah Petani

### KESIMPULAN

Strain nila *Red* NIFI, nila Merah Danau Lido dan nila Merah Petani mempunyai tingkat keragaman genetik yang rendah dengan kisaran polimorfisme 20.00-40.00% dan heterozigositas antara 0.0604-0.1516. Terdapat perbedaan genetik secara nyata antara strain ikan nila merah *Red* NIFI dengan nila Merah Lido dan Merah Petani, sedangkan antara nila Merah Lido dan Merah Petani tidak terdapat perbedaan yang nyata. Jarak genetik tertinggi antara strain nila merah *Red* NIFI dan Merah Petani dan terendah antara nila Merah Lido dengan Merah petani.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Penelitian ini merupakan bagian penelitian perikanan budidaya air tawar yang dibiayai oleh DIPA TA 2009.

### DAFTAR PUSTAKA

- Iskandariah, I. I. Kusmini, O. Z. Arifin dan R. Gustiano. 2009. *Variasi genetik 5 populasi ikan nila (Oreochromis niloticus) dengan metode analisis Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)*. Seminar nasional perikanan Indonesia 2009. Sekolah Tinggi Perikanan, Jakarta.
- Kirpichnikov, V. S. 1981. Genetic based of fish selection. 410 pp. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Miller, M. P. 1997. *Tools For Population Genetic Analysis (TFPGA) version 1. 3*. Department of Biological Science. Northern Arizona University, Arizona, USA, 30 pp.
- Nugroho, E. 2001. Capability of mitochondria DNA D-Loop markers from shark species identification. *Indonesian Fisheries Research Journal*, 7 (1) : 62 – 66.
- Nugroho, E., D. J. Ferrell, P. Smith and N. Taniguchi. 2001. Genetic divergence of kingfish from Japan, Australia and New Zealand inferred by microsatellite DNA and mitochondrial DNA control region markers. *J. Fisheries Science*, 67 : 843 – 850.
- Nugroho, E dan Maskur. 2002. Benarkah ikan nila merah adalah hasil hybrid? (melacak asal usul nila merah dengan menggunakan *molecular genetic markers*). *Warta penelitian perikanan Indonesia*, Vol. 8 No. 1 : 8–11.
- Tave, D. 1993. *Genetics for fish managers*. The AVI Publ. Comp. Inc. NY, USA, 418 pp.
- Wright, 1978. Modifikasi Rogers 1972. *Analysis Moleculer of Varians (AMOVA) dan Fst*, sedangkan kekerabatan antar populasi menggunakan jarak genetik (D) yang dianalisis.