SELEKTIF BREEDING UDANG WINDU Penaeus monodon DENGAN KARAKTER PERTUMBUHAN DAN SPF (SPECIFIC PATHOGEN FREE)

Ida Komang Wardana", Ahmad Muzaki", Fahrudin", I Gusti Ngurah Permana", dan Haryanti"

ABSTRAK

Riset selektif breeding dengan mengutamakan karakter pertumbuhan dan bebas penyakit (SPF) menjadi pilihan mendesak agar diperoleh calon induk udang windu dengan karakter fenotipe dan genotipe yang lebih baik. Tujuan riset ini adalah mendapatkan teknik selektif breeding dan induk udang hasil seleksi dengan karakter tumbuh cepat serta bebas penyakit (SPF). Metode seleksi diawali dengan pembenihan induk yang berasal dari alam (F-0) mengikuti kaidah full sib matina, mengaplikasikan teknik probiotik, biosecurity, dan pemantauan infeksi virus. Diagnosis bebas penyakit (SPF) dilakukan dengan pengujian 7 jenis virus (TSV, WSSV, IHHNV, YHV, BP, MBV, HPV). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa 8 famili udang generasi pertama (F-1) memberikan keragaan fenotipe yang bervariasi (ukuran besar, sedang/reguler, dan kecil). Benih generasi pertama (F-1) hasil seleksi fenotipe pertumbuhan cepat (0,78%— 9,91%) dari populasi benih udang kemudian dipelihara untuk calon induk. Induk udang yang digunakan pada saat dan setelah pembenihan mempunyai karakter SPF, demikian pula generasi pertama (F-1), walaupun ada kontaminasi IHHNV pada benih dari induk Ŷ-18,Ŷ-19,Ŷ-22. Keragaan genotipe induk udang (F-0) dan generasi pertama (F-1) menunjukkan keragaman genetik yang berbeda. Nilai heterozigositas pada induk udang (F-0) sebesar 0.1436; sedangkan pada generasi pertama (F-1) dengan tumbuh cepat sebesar 0,2659. Penanda gen untuk tumbuh cepat ditunjukkan pada gen dengan berat molekul 1.025 bp. 1.280 bp. dan 1.325 bp serta susunan sequence DNA yang berbeda bila dibandingkan pada penanda gen udang tumbuh lambat.

ABSTRACT: Selective breeding of black tiger shrimp, Penaeus monodon using growth and SPF (Specific Pathogen Free) traits. By: Ida Komang Wardana, Ahmad Muzaki, Fahrudin, I Gusti Ngurah Permana, and Haryanti

Selective breeding focusing on growth and Specific Pathogen Free (SPF) is a priority to obtain genetically and morphologically better of black tiger shrimp spawner. The objective of the study was to develop selective breeding technique and select spawner better character on growth and Specific Pathogen Free (SPF). Selection method was initiated from the breeding of wild shrimp spawners (F-0) following full sib mating method, probiotics application, biosecurity, and virus diseases diagnosis. Diagnosis of SPF was tested on 7 viruses (TSV, WSSV, IHHNV, YHV, BP, MBV, HPV) by IQ-2000 kit. Result showed that 8 families of first generation (F-1) shrimp phenotypically varied (big, regular and small size). First generation of shrimp produced from phenotype selection with fast growth (0.78%—9.91%) of total fry polulation then reared till reached spawner size. Shrimp spawners used before and after breeding had SPF traits, similar with the first generation of shrimp fry. There was IHHNV contamination on shrimp (F-1) offsprings from 9-18, 9-19, 9-22. Genotype performance shrimp spawner (F-0) and the first generation (F-1) showed different genetic variations. Heterozigosity value of shrimp spawner (F-0) was 0,1436 and the first generation (F-1) with fast growth trait was 0,2659. Gene marker of fast growth was indicated by a

Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

gene with molecular weight of 1,025 bp; 1,280 bp; and 1,325 bp and different DNA sequences compared with gen marker of slow growth shrimp.

KEYWORDS: selective breeding, growth, Specific Pathogen Free, P. monodon

PENDAHULUAN

Udang windu (Penaeus monodon) sudah sejak lama dibudidayakan oleh praktisi dan enterpreuner serta sangat berkembang sebagai komoditi primadona komersial perikanan di Indonesia. Semua kebutuhan benih udang windu yang digunakan untuk budidaya di tambak secara keseluruhan dipasok dari hatcheri dengan penggunaan induk udang hasil tangkapan dari alam (Ahmad & Haryanti, 2004; Ahmad et al., 2004). Namun, dengan menurunnya produksi udang windu di tambak karena infeksi penyakit khususnya virus, maka kegiatan bisnis udang windu meniadi menurun hingga titik terendah dan beralih pada budidaya udang Litopenaeus vannamei. Diketahui bahwa induk udang L. vannamei diimpor dari USA dan merupakan udang hasil selektif breeding. Dengan keterbatasan karakter genetik pada udang tersebut, maka sulit untuk dikembangbiakkan dalam jangka panjang, sehingga ketergantungan impor sangat tinggi. Akibat lanjut dari akivitas tersebut devisa negara akan mengalir sangat besar ke negara lain.

Dalam upaya mengembalikan kejayaan budidaya udang windu, maka langkah perbaikan dan antisipasi serta pencegahan terhadap faktor kegagalan terus dilakukan. Satu di antara upaya yang mendapatkan perhatian adalah penanganan terhadap karakter genetik udang windu. Diawali dengan pemetaan (mappina) keragaman genetik udang windu di perairan Indonesia (Benzie et al., 2002; Sugama et al., 2002), domestikasi induk udang dari perairan berbeda melalui pembenihan dan mengevaluasi benih turunannya (Moria et al., 2002; Moria et al., 2003), serta selektif breeding secara fenotipe ataupun genotipe pada udang windu (Haryanti et al., 2006; Haryanti & Sugama, 2007).

Sejak tahun 2005, Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali telah melakukan penelitian selektif breeding udang windu dari turunan alam (F-0) dan generasi pertama (F-1) yang terarah dan sistematik. Hasil selektif breeding udang windu dari turunan alam (F-0) yang berasal dari perairan Timika dan Aceh serta generasi pertama (F-1), telah

diperoleh 19 famili calon induk udang dan secara fenotipe berdasarkan laju pertumbuhan sangat bervariasi. Berdasarkan hasil penelitian Benzie et al. (2002), terbukti bahwa faktor genetik sangat berpengaruh pada kualitas larva P. monodon, sementara pertumbuhan dikontrol oleh faktor genetik. Oleh karena itu, peranan faktor genetik dalam breeding sangat penting untuk memperoleh induk dan benih yang unggul. Selanjutnya Sbordoni et al. (1987), juga mengemukakan pentingnya variasi genetik untuk kelanjutan produktivitas stok kultur pada udang penaeid (*P. japonicus*). Hal ini ditunjukkan oleh hubungan yang erat antara penurunan produktivitas induk dengan variabilitas pertumbuhan.

Riset selektif breeding dengan mengutamakan karakter pertumbuhan dan bebas penyakit (SPF) menjadi pilihan mendesak untuk mendapatkan calon induk udang windu dengan sifat fenotipe dan genotipe yang lebih baik. Dari keberhasilan upaya tersebut diharapkan dapat memotivasi praktisi untuk menggunakan udang windu sabagai spesies andalan dalam bisnis budidaya perikanan. Dampak lanjut adalah memberikan peluang industri hatcheri skala komersial untuk memasok kebutuhan benih pada budidaya tambak.

BAHAN DAN METODE

Langkah awal dalam melakukan selektif breeding adalah pembenihan udang dari alam (F-0) untuk penyediaan calon induk (F-1). Pembenihan mengacu pada kaidah full sib mating dengan rasio jantan : betina adalah 1:1 agar diperoleh benih dengan famili yang berbeda. Teknik pembenihan mengikuti metode yang telah ada yaitu pematangan gonad melalui ablasi tangkai mata, pemeliharaan larva dengan pemberian pakan alami dan buatan, penanganan kualitas media pemeliharaan dengan aplikasi probiotik, pemantauan penyakit, dan aplikasi biosecurity. Sistem biosecurity yang diaplikasikan pada setiap tahapan-tahapan pemeliharaan tersebut antara lain sterilisasi peralatan yang digunakan, penggunaan air laut melalui filtrasi dengan ultra membran filter (0,05 µm), kebersihan teknisi, serta hatcheri.

Evaluasi sifat SPF pada induk alam (F-0) yang digunakan untuk pembenihan dilakukan melalui metode pengujian 7 jenis infeksi virus kategori C-1 dan C-2 yaitu: TSV, WSSV, IHHNV, YHV, BP, MBV, HPV menggunakan kit IQ-2000. Hasil uji tersebut akan menentukan sifat SPF induk udang. Udang yang terinfeksi salah satu virus atau lebih harus dibuang (dimatikan) dan tidak digunakan untuk pembenihan. Hanya udang yang negatif terinfeksi virus selanjutnya dibenihkan dan digunakan untuk riset lebih lanjut.

Benih udang yang dihasilkan merupakan generasi pertama (F-1) dan dipelihara hingga mencapai ukuran calon induk. Seleksi benih udang dilakukan pada saat pemeliharaan memasuki bulan ke-2. Udang diseleksi secara morfologis dengan kesehatan yang baik, dicirikan dengan kondisi udang yang bersih. warna cerah dan aktivitas renang yang normal, serta variabilitas pertumbuhan yang diindikasikan dengan ukuran yang berbeda (besar, sedang, dan kecil). Pada waktu memasuki pemeliharaan bulan ke-5. selanjutnya yuwana udang hasil seleksi ditagging menggunakan VIE (Visible Implants of Fluorescent Elastomer) mengikuti metode Goyard et al. (2002). Selama masa pemeliharaan, pada setiap sampling pertambahan bobot dilakukan pemantauan infeksi virus dengan mengambil kaki renang dari beberapa ekor udang secara acak yang selanjutnya diidentifikasi terhadap infeksi 7 jenis virus.

Analisis karakter fenotipe dilakukan dengan pengukuran panjang dan bobot melalui interval waktu tertentu pada benih hingga calon induk (F-1) hasil seleksi, sintasan, dan pemantauan karakter SPF. Sementara untuk analisis karakter genotipe dilakukan dengan mengisolasi DNA dari induk (F-0) dan generasi pertama (F-1) dengan variasi pertumbuhan (Ovenden, 2000), mengamplifikasi PCR dengan universal primer dan pemotongan gen dengan enzim restriksi (RFLP) untuk mengetahui variasi genetik dari induk udang (F-0) dan F-1 (besar, sedang, kecil) (Anonimous, 2001) dan fragmentasi DNA dengan metode fingerprinting menggunakan polyacrilamid dan vertikal elektroforesis untuk calon induk (F-1) ukuran berbeda (besar dan kecil) agar didapatkan penanda gen pertumbuhan (Flegel, 2007). Penghitungan data menggunakan TFPGA (Tool for Population Genetic Analisys).

HASIL DAN BAHASAN

Keragaan Fenotipe

Hasil pembenihan menggunakan induk alam yang berasal dari perairan Aceh (F-0) dengan panjang 24,0-28,0 cm dan bobot 137,8-200,6 g (Tabel 1), menunjukkan fekunditas telur, laju penetasan telur (HR), dan sintasan (SR) benih yang bervariasi (Tabel 2). Induk alam dengan keragaan morfologi sehat, tanpa cacat atau nekrosis pada tubuh serta alat gerak merupakan kriteria utama dalam operasional pembenihan di hatcheri. Dari 36 pasangan induk, setelah dilakukan ablasi pada induk betina, hampir semua induk udang betina memberikan respons kematangan gonad. walaupun tidak semua mengalami pemijahan dan menghasilkan fekunditas dan daya tetas telur yang memadai. Seringkali induk udang tidak memijah dan gonad diserap kembali. induk udang memijah secara partial, jumlah telur sedikit (50.000 butir), telur tidak dibuahi (infertil), atau telur tidak dapat berkembang sempurna untuk menetas menjadi larva.

Dari proses pemijahan menunjukkan bahwa 8 ekor induk udang windu dapat menghasilkan benih generasi pertama F-1 yang secara fenotipe baik dan dipelihara sebagai calon induk. Pada Tabel 1 terlihat bahwa variasi ukuran panjang dan bobot induk betina relatif tidak bervariasi. Hal yang sama ditunjukkan pada induk jantan dengan ukuran panjang berkisar 19 cm—22 cm dan bobot 61—89 g. Pada umumnya induk udang windu betina dan jantan ditangkap dari perairan dengan kedalaman 20 m—40 m, sehingga sangat dimungkinkan keragaan fenotipe (bobot dan panjang) relatif seragam. Selain itu, bahwa respons terhadap seleksi alam yang terjadi dalam perairan tersebut juga berpengaruh pada keragaan fenotipe.

Hasil pengamatan terhadap fekunditas, daya tetas telur, dan sintasan larva udang pada stadia PL-5 yang dihasilkan terlihat adanya variasi antar induk udang *P. monodon* yang dipijahkan. Rata-rata fekunditas telur yang diperoleh antara 163.999—658.999 butir dengan daya tetas telur berkisar 32,0%—75,9% dan sintasan larva pada PL-5 sebesar 6,1%—49,8% (Tabel 2). Pada udang penaeid, fekunditas telur sangat dipengaruhi oleh nutrisi, lingkungan, dan proses hormonal pada tubuh udang. Induk udang dengan pemberian nutrisi yang baik dan seimbang serta lingkungan yang memadai, akan menghasilkan

Tabel 1. Panjang dan bobot tubuh induk udang windu (*P. monodon*) F-0 yang digunakan untuk pembenihan

Table 1. Body length and weight of black tiger shrimp (P. monodon) F-0 used in selective breeding

Induk Spawner	Panjang <i>Body length</i> (cm)	Bobot tubuh <i>body weight</i> (g)		
우 -2	25.0	159.7		
ዩ -4	24.0	185.8		
우 -10	25.2	154.1		
우 -18	26.2	178.2		
우 -19	25.5	178.6		
♀-22	24.1	137.8		
♀-31	28.0	143.7		
우 -32	26.2	200.6		

fekunditas telur yang tinggi. Sementara, daya tetas telur sangat dipengaruhi oleh proses perkembangan embrio dalam telur, ketersediaan energi untuk pembelahan sel embrio secara normal, dan tidak adanya infeksi bakteri pada dinding telur.

Pada umumnya sintasan larva udang mempunyai korelasi yang erat dengan proses pemeliharaan. Penanganan larva dengan aplikasi probiotik, pakan alami yang bersih, dan penggunaan air laut dengan sistem filtrasi serta sistem biosecurity yang ketat akan berdampak pada hasil sintasan larva. Larva udang pada stadia zoea, mysis, dan PL 1-3 sangat rentan terhadap perubahan lingkungan terutama suhu, infeksi bakteri (bakteri luminescent, Vibrio harveyi), dan kualitas pakan alami

atau buatan. Fluktuasi suhu 1°C—2°C akan menyebabkan perubahan kondisi media pemeliharaan larva udang yaitu ditandai dengan rendahnya kemauan larva untuk memangsa pakan, terjadi *blooming* atau pengendapan plankton dan perubahan kualitas air lainnya. Dampak lanjut dari keadaan tersebut larva akan menjadi lemah, terjadi infeksi sekunder oleh bakteri, dan akhirnya mengalami kematian.

Hasil analisis terhadap SPF pada induk udang windu (F-0) pada saat akan dipijahkan, setelah pemijahan dan benih generasi pertama (F-1) yang dihasilkan menunjukkan negatif terhadap 7 jenis virus (BP, HPV, IHHNV, MBV, TSV, WSSV, YHV) kecuali pada benih generasi pertama (F-1) dari turunan induk betina dengan

Tabel 2. Keragaan fekunditas, penetasan, dan sintasan benih udang windu (*P. monodon*) yang digunakan untuk seleksi *breeding*

Table 2. Performance of fecundity, hatching rate, and survival rate of black tiger shrimp (**P. monodon**) F-1 used in selective breeding

Induk Spawner	Fekunditas (butir) Fecundity (pcs)	Penetasan Hatching rate (%)	Sintasan (PL-5) Survival rate (PL-5) (%)	
우 -2	399,999	75.9	49.8	
오 -4	313,333	47.2	10.6	
우 -10	422,666	62.7	16.2	
우 -18	658,944	70.0	6.1	
우 -19	302,666	32.0	12.0	
우 -22	163,999	55.2	39.7	
우 -31	289,333	66.8	24.2	
ዩ -32	274,666	75.7	11.2	

kode \S -18, \S -19, \S -22 yang terlihat positif terinfeksi IHHNV (Tabel 3). Pemantauan infeksi virus secara berkala dilakukan untuk mengetahui agar sifat SPF selalu terjaga selama proses selektif *breeding*.

Pada induk udang windu (F-0) sebelum digunakan untuk pembenihan dan setelah pemijahan tidak menunjukkan adanya infeksi dari ketujuh virus yang diujikan sebagai syarat sifat SPF. Nampaknya, induk udang windu dari perairan Aceh bagian barat masih bebas infeksi penyakit (virus) mengingat perairan tersebut merupakan perairan lepas dan dalam. pertemuan dari 3 perairan negara (Indonesia, Thailand, dan Malaysia), serta berhadapan langsung dengan Laut Andaman, sehingga sangat dimungkinkan bebas pencemaran. Di samping itu, aktivitas budidaya juga masih rendah, sehingga konsentrasi buangan limbah relatif belum ada. Karakter SPF pada induk udang windu (F-0) sangat menjadi prioritas untuk mendapatkan generasi berikutnya yang

bersifat SPF juga. Penularan infeksi virus dapat terjadi secara vertikal atau horizontal, sehingga pencegahan dini melalui diagnosis adanya infeksi virus pada induk udang harus selalu dicermati.

Pada benih udang F-1 yang terinfeksi IHHNV, nampaknya tidak semua udang mengalami infeksi, hal tersebut ditandai dengan udang yang masih dapat tumbuh dan berkembang besar. Adanya hasil deteksi positif terinfeksi virus seringkali disebabkan oleh kontaminasi dan bukan adanya replikasi DNA virus pada sel udang. Kontaminasi virus pada tubuh udang seringkali terjadi pada promoter yang tidak dapat dikode oleh DNA sel udang atau DNA virus, sehingga tidak terjadi replikasi copy virus. Sementara, bila terjadi replikasi maka DNA virus akan mengkode promoter DNA sel udang sehingga akan menghasilkan sejumlah copy virus yang eksponensial dalam waktu tertentu. Selanjutnya udang akan menunjukkan indikasi sakit dan mengalami

Tabel 3. Hasil analisis karakter SPF (*Specific Pathogen Free*) melalui deteksi tujuh jenis virus pada induk alam (F-0) dan benih generasi pertama (F-1) udang windu (*P. monodon*)

Table 3. Result of viral diseases detection of wild spawners (F-0) and the first generation fry F-1 of black tiger shrimp (**P. monodon**)

Sampel	Deteksi virus (Virus detection)							
Sample	ВР	HPV	IHHNV	MBV	TSV	wssv	YHV	
Induk (Spawne	er) (F-0)							
♀ -2	-	-	-	-	-	•	-	
♀ -4	-	-	-	•	•	-		
우 -10	-	•	-	•	-	-		
♀-18	-	•	-	-	•	-	-	
Չ -19	•	-	-	-	-		-	
ዩ -22	•	-	-	-	-		-	
♀-31	•	-	-	-	-	-	-	
♀-32	-	-	-	-	-	-	-	
Benih genera	si pertam	a F-1 (First	t generatio	n fry F-1)				
♀ -2		-	-	-	•	-	-	
오 -4	-	-	-	-	-	•	-	
우 -10	-	-	-	-	-	•	-	
우 -1 8	-	-	(+)	-	-	•	-	
우 -19	-	-	(+)	-	-	•	-	
ዩ -22	-	-	(+)	-	-	-	-	
ዩ -31	•	-	-	-	-	-	-	
우 -32	-		-		_	_	_	

Keterangan (Remark): (-) : negatif/tidak terinfeksi (not infection)

(+): positif terinfeksi (infected)

Tabel 4. Persentase populasi benih udang windu (*P. monodon*) generasi pertama (F-1) dengan perbedaan pertumbuhan dari hasil selektif *breeding*

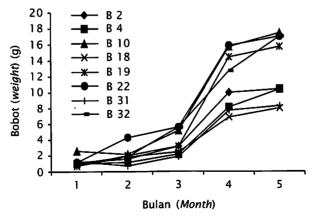
Table 4. Population percentage of the first generation (F-1) fry of black tiger shrimp (P. monodon) with various growth size produced from selective breeding

Induk	Persentase seleksi Selection percentage (%)					
Spawner	Besar <i>Big</i>	Sedang <i>Regular</i>	Kecil Small			
♀ -2	1.17	58.78	40.05			
ዩ -4	1.06	62.29	36.65			
ዩ -10	9.91	53.05	37.04			
♀-18	0.78	94.65	4.560			
우-19	7.60	80.60	11.80			
ዩ -22	5.30	86.15	8.550			
ዩ -31	2.75	54.76	42.49			
♀-32	3.53	83.99	12.47			

mortalitas. Symptom infeksi IHHNV pada udang windu seringkali ditandai dengan kekerdilan pertumbuhan (Runt Deformity Syndrome/RDS) dan mengakibatkan udang mengalami pertumbuhan yang sangat bervariasi (Lightner, 2004).

Bila dilihat dari hasil seleksi fenotipe terhadap benih generasi pertama (F-1), menunjukkan bahwa persentase populasi ukuran (besar, sedang, dan kecil) dari benih udang pada 2 bulan pertama pemeliharaan sangat bervariasi. Pertumbuhan cepat ditunjukkan dengan individu udang berukuran besar, sementara pertumbuhan lambat diindikasikan pada udang berukuran sangat kecil. Benih udang dengan pertumbuhan normal (reguler) akan membentuk persentase populasi dengan jumlah relatif tinggi. Perbedaan pertumbuhan benih udang generasi pertama (F-1) dapat dilihat pada Tabel 4.

Nampak jelas bahwa secara fenotipe terlihat adanya perbedaan pertumbuhan pada benih generasi pertama (F-1), sementara proses pemeliharaan larva dikondisikan sama dan terkontrol. Hal ini menunjukkan kecenderungan bahwa dalam seleksi



Gambar 1. Pola pertumbuhan udang windu (*P. monodon*) generasi pertama (F-1) hasil selektif *breeding*

Figure 1. Growth pattern of the first generation F-1 black tiger shrimp (P. monodon) produced from selective breeding

Tabel 5. Hasil seleksi dan kode tag udang windu (*P. monodon*) generasi pertama (F-1) dengan pertumbuhan cepat hasil selektif *breeding*

Table 5. Result of selection and tag code on the first generation (F-1) black tiger shrimp (P. monodon) fry with fast growth from selective breeding

Benih generasi pertama F-1 dari induk First generation fry from spawner (F-1)	Bobot Body weight (g)	Panjang Body Iength (cm)	Jumlah (ekor) Number (pcs)	Kode tag <i>Tag code</i> (VIE)	
♀ -2	14	11.7	30	Jingga (Orange)	
우 -4	20	13	363	Hijau (Green)	
ዩ -10	33	16	64	Merah ganda (Double red)	
우 -1 8	10	9	147	Merah (Red)	
♀-19	36	16	39	Jingga ganda (Double orange)	
우 -22	23	14	136	Kuning ganda (Double yellow)	
ዩ -31	13	11	70	Hijau tua (Dark green)	
♀-32	27	14	125	Kuning (Yellow)	
Jumlah total (<i>Tota</i>	il numbe	2r)	974		

konvensional berdasarkan pada karakter fenotipe (ukuran besar atau tumbuh cepat) dapat digunakan sebagai indikator karakter genotipe pada udang. Sementara, berdasarkan kaidah genetik (Ramirez, 1991) diterangkan adanya nilai $\Delta P = \Delta G + \Delta E (\Delta P)$: coefficient variation phenotype, ΔG : coefficient variation genotype, dan ΔE : coefficient variation lingkungan). Bila diasumsikan bahwa benih udang windu generasi pertama (F-1) dipelihara dalam kondisi dan lingkungan yang sama, maka $\Delta E = 0$ berarti $\Delta P = \Delta G$ (karakter fenotipe sama dengan genotipe). Dengan demikian, asumsi bahwa udang yang mengalami pertumbuhan cepat (berukuran besar) sangat mungkin berhubungan dengan karakter genotipe yang lebih baik.

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa populasi udang stadia yuwana dengan pertumbuhan cepat relatif sangat kecil, hanya 0,78%-9,91%; sedangkan udang dengan pertumbuhan lambat sebesar 4,56%-42,49%; dan udang dengan pertumbuhan reguler sebesar 53,06%-94,65%. Dengan kenyataan sangat kecilnya populasi udang tumbuh cepat, maka selektif breeding yang dilakukan harus menghasilkan banyak famili sehingga jumlah individu udang berukuran besar dapat terkumpul lebih banyak. Dari hasil seleksi tahap pertama tersebut, maka pemeliharaan yuwana udang selalu dipantau karakter SPF dan pertumbuhannya serta dilakukan tagging menggunakan VIE.

Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan bobot masing-masing benih hasil seleksi dengan interval waktu satu bulan disajikan pada Gambar 1. Nampak bahwa calon induk udang generasi pertama (F-1) dari turunan induk \$-10, \$-19, \$-22, dan \$-32 menunjukkan pertumbuhan yang pesat dibandingkan calon induk lainnya. Hal ini sangat berhubungan dengan persentase hasil seleksi yang diperoleh pada awal dimulainya seleksi. Induk udang dengan kode 9-10, 9-19, 9-22, dan 9-32 masing-masing memberikan persentase pertumbuhan cepat sebesar 9,91%; 7,60%; 5,30%; dan 3,53% dalam populasi keseluruhan udang yang dipelihara dalam bak yang sama. Persentase tersebut lebih tinggi dari persentase tumbuh cepat dari induk betina lainnya yaitu \$-2, \$-4, \$-18, dan \$-31. Dengan indikator keragaan fenotipe yang tercermin dari besar persentase tumbuh cepat tersebut, maka terlihat kecenderungan bahwa generasi pertama (F-1) berpotensi membawa karakter genotipe tumbuh cepat.

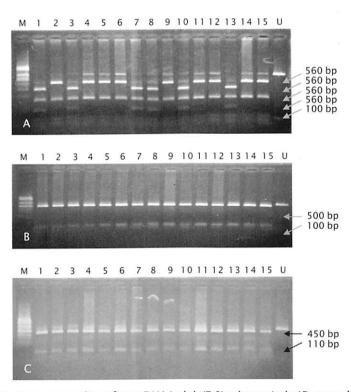
Pertumbuhan calon induk hasil seleksi terlihat meningkat tajam mulai bulan ke-4 pemeliharaan. Kondisi ini kemungkinan berhubungan dengan dilakukan seleksi secara berkala, sehingga kepadatan udang dalam bak pemeliharaan semakin berkurang, menyebabkan persaingan pakan, ruang, dan lingkungan menjadi tereliminir.

Bila dilihat dari hasil seleksi yang telah dilakukan dan penandaan (tagging) menggunakan VIE (Visible Implant Elastomer), maka hingga kini dari 8 famili populasi calon induk (F-1) dari perairan Aceh diperoleh sebanyak 974 ekor dengan karakter fenotip yang baik seperti disajikan pada Tabel 5. Penggunaan tagging VIE dengan cara mengimplant pada permukaan otot (muscle) udang akan bertahan lama hingga udang mengalami lebih dari 30 kali moulting (Goyard et al., 2002). Adanya flourescent warna juga mempermudah pemantauan pertumbuhan dan sampling untuk diagnosis virus pada tiap keturunan udang windu.

Keragaan Genotipe

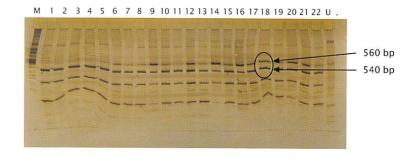
Hasil analisis DNA induk udang windu (F-0) dan generasi pertama (F-1) melalui amplifikasi PCR dan pemotongan dengan beberapa enzim restriksi (Mbo I, Hae III, dan Hinf I) dan fragmentasi DNA menggunakan metode SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism)

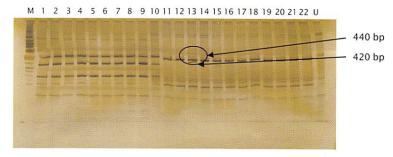
menunjukkan bahwa polimorfisme fragmen DNA pada kelompok induk dan benih generasi pertama (F-1) tumbuh cepat dan lambat ada perbedaan (Gambar 2 dan 3). Terlihat bahwa induk udang windu (F-1) pada lokus Mbo I menunjukkan sisi pemotongan (restriction site) yang bervariasi (polimorfisme) dengan genotipe B dan C, sedangkan pada lokus Hae III dan Hinf I tidak ada restriction site vang berbeda (monomorfisme) antar sampel. Keadaan ini dimungkinkan susunan basa DNA induk udang tidak dapat mengkode susunan basa enzim restriksi, sehingga hanya memberikan susunan genotipe yang monomorfik. Karakter genotipe induk udang (F-0) pada lokus Hae III adalah B demikian pula pada lokus Hinf I, mempunyai karakter genotipe B. Dengan demikian diperkirakan bahwa lokus Mbo I dapat menghasilkan sifat polimorfik pada induk udang dan dapat digunakan sebagai penanda untuk keragaman gen.



Gambar 2. Keragaan polimorfisme DNA induk (F-0) udang windu (*P. monodon*) pada lokus Mbo I (A), dan monomorfisme pada lokus Hae III (B), dan lokus Hinf I (C), M: marker 100 bp DNA ladder, U: undigest

Figure 2. Pattern of DNA polymorphism black tiger shrimp (**P. monodon**) spawner (F-0) at Mbo I locus (A) and monomorphism at Hae III locus (B) and Hinf I locus (C), M: marker 100 bp DNA ladder, U: undigest





Gambar 3. Keragaan polimorfisme DNA benih generasi pertama (F-1) udang windu (*P. monodon*) tumbuh cepat pada lokus Mbo I (A1--18) dan HaellI (B11—22) dan monomorfisme tumbuh lambat pada lokus Mbo I (A 19—22) dan HaellI (B1--10), M: *marker* 100 bp DNA *ladder*, U: *undigest*

Figure 3. Pattern of DNA polymorphism of black tiger shrimp (**P. monodon**) the first generation (F-1) at Mbo I (A1--18) and HaeIII (B11-22) locus and monomorphism at Mbo I (A 19--22) and Hae III (B1-10) locus, M: marker 100 bp DNA ladder, U: undigest

Pada benih generasi pertama (F-1) fragmentasi DNA melalui polyacrilamid menunjukkan ekspresi gen yang lebih jelas, yaitu adanya polimorfisme pada benih tumbuh cepat pada lokus Mbo I dengan genotipe C dan D, sedangkan pada lokus Hae III dengan genotipe B dan C. Pada benih tumbuh lambat, ekspresi gen monomorfik dan semua benih mempunyai genotipe D pada lokus Mbo I dan genotipe C pada lokus Hae III.

Dari perhitungan heterozigositas yang dapat mencerminkan keragaman genetik udang windu F-0 dan generasi pertama (F-1) pertumbuhan cepat dan kerdil menunjukkan nilai masing-masing sebesar 0,1436; 0,2659; dan 0,0000 (Tabel 6). Keragaman genetik suatu individu digambarkan dengan frekuensi alel heterozigot yang dimiliki suatu individu, sedangkan keragaman genetik untuk kelompok indvidu dipahami sebagai nilai heterozigositas yang teramati (Ho = observed heterozygosity) dan heterozigositas yang

diharapkan (*He = expected heterozygosity*). Perbandingan nilai *He* dan *Ho* diperlukan untuk mengetahui adanya keseimbangan alel dalam suatu populasi berdasarkan keseimbangan Hardy Weinberg (Nei, 1987).

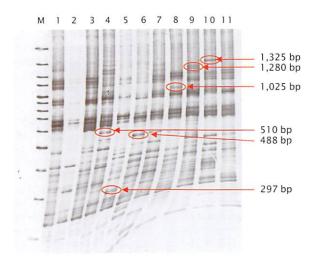
Dari Tabel 6 menunjukkan bahwa polimorfisme pada induk udang windu (F-0) terekspresi pada lokus Mbo I, sedangkan pada benih udang generasi pertama (F-1) tumbuh cepat terlihat pada lokus Hae III dan Mbo I. Pada udang yang tumbuh lambat hanya terlihat pola genotipe yang monomorfik. Nampak dari hasil perhitungan heterozigositas, bahwa udang generasi pertama (F-1) tumbuh cepat mempunyai nilai yang lebih tinggi (0,2659) dibandingkan induk (F-0), hanya sebesar 0,1436. Hal ini dimungkinkan adanya segregasi gen pada turunan F-1 yang terekspresi secara jelas dalam analisis. Selain itu, mengingat adanya perkawinan udang dalam kondisi random mating dan massal, sehingga peluang terjadinya mating antara jantan dan betina dengan genotipe berbeda sangat besar,

Tabel 6. Genotipe dan alel frekuensi pada lokus yang terdeteksi pada induk (F-0) dan generasi pertama (F-1) udang windu (*P. monodon*) hasil selektif *breeding*

Table 6. Genotype and allel frequencies in detected loci of (**P. monodon**) spawners (F-0) and the first generation of fry produced from selective breeding

Generasi udang Shrimp generation	Lokus <i>Locus</i>	N	Genotipe Genotype	Alel frekuensi Allel frequency	Heterozigositas Heterozygocity	Heterozigositas rata-rata Average heterozygocity
FO	Hae III	20	В	1.0000	0.0000	0.1436
-0.0 0 .0	Hinf I	20	В	1.0000	0.0000	
	Mbo I	14	В	0.7000	0.4308	
		6	D	0.3000		
F1 tumbuh cepat	Hae III	2	C	0.1667	0.2889	0.2659
		10	В	0.8333		
	Hinf I	12	В	1.0000	0.0000	
	Mbo I	8	C	0.4444	0.5079	
		10	D	0.5556	0.5079	
F1 tumbuh lambat	Hae III	10	В	1.0000	0.0000	0.0000
	Hinf I	10	В	1.0000	0.0000	
	Mbo I	14	D	1.0000	0.0000	

akibatnya akan menghasilkan turunan yang mempunyai heterozigositas lebih bervariasi. Selanjutnya, terjadi benih turunan generasi pertama F-1 yang yang mempunyai keragaman genetik lebih baik daripada induk udang F-0. Dengan diketahui adanya perbedaan pada analisis RFLP dan SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) maka analisis dilanjutkan dengan metode fingerprinting dengan menggunakan 8 sampel benih



Gambar 4. Genotipe DNA dengan metode *fingerprinting* pada benih udang windu (*P. monodon*) generasi pertama (F-1) dengan karakter fenotipe tumbuh cepat (7-11) dan tumbuh lambat (1--6), M: *marker gene ruler* 100 bp DNA *ladder plus*

Figure 4. DNA Genotyping in fingerprinting method of black tiger shrimp (**P. monodon**) for the first generation (F-1) fry with phenotype traits of fast (7--11) and slow growth (1--6), M: marker gene ruler 100 bp DNA ladder plus

generasi pertama (F-1) yang tumbuh cepat dan tumbuh lambat. Amplifikasi PCR menggunakan universal primer (2-AAM2) dan fragmentasi template DNA menggunakan vertikal elektroforesis dengan polyacrilamid 8%. Perbedaan pita akibat fragmentasi polyacrilamid yang terekspresi selanjutnya dipotong dan ditranformasi (cloning) untuk mendapatkan copy gen DNA yang sama menggunakan competen sel bakteri E. coli DH5a. Selanjutnya dilakukan sequencing. Hasil yang diperoleh seperti disajikan pada Gambar 4. Nampak bahwa fragment DNA pada udang yang tumbuh cepat lebih banyak dan mempunyai berat molekul yang lebih tinggi dibandingkan fragment DNA pada udang yang tumbuh lambat. Perbedaan berat molekul pada udang tumbuh cepat antara 1.025 bp, 1.280 bp, 1.325 bp, sedangkan pada udang tumbuh lambat hanya sekitar 297 bp, 488 bp, dan 510 bp. Setelah dilakukan *cluster* terlihat bahwa ada beberapa pasangan basa yang tidak terlihat pada udang tumbuh lambat. Hal ini dimungkinkan bahwa pertumbuhan cepat dikontrol oleh gen yang dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam selektif breeding.

KESIMPULAN

- Selektif breeding udang windu (P. monodon) dari induk alam (F-0) menghasilkan 8 famili benih generasi pertama (F-1) dengan keragaan fenotipe tumbuh cepat dan SPF sebanyak 974 ekor dengan rata-rata panjang 13,6 cm dan bobot tubuh 18,17 g.
- Keragaan genotipe induk udang (F-0) dan benih generasi pertama (F-1) tumbuh cepat dan lambat mempunyai heterozigositas masing-masing sebesar 0,1436; 0,2659; dan 0,0000.
- Penanda gen untuk tumbuh cepat dengan fingerprinting ditunjukkan pada gen dengan berat molekul 1.025 bp, 1.280 bp, dan 1.325 bp serta susunan sequence DNA yang berbeda bila dibandingkan pada penanda gen udang tumbuh lambat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada rekan-rekan teknisi dan peneliti kelompok Bioteknologi BBRPBL, Gondol, diucapkan terima kasih sebesar-besarnya atas kerja sama dan bantuannya dengan penuh tanggung jawab, sehingga riset ini dapat terlaksana dengan baik. Riset ini dilakukan dengan pendanaan dari APBN tahun anggaran 2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 2001. Polymerase Chain Reaction (PCR) (A method for multiplying DNA). Aquatic stock Improvement Company, California. 4 pp.
- Ahmad, T. dan Haryanti. 2004. Analisis kebijakan revitalisasi pertambakan di pantai utara Jawa Timur *dalam* Analisis Kebijakan Pembangunan Perikanan Budidaya (Eds. Sudradjat, Heruwati, Priono). Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta. p. 43—49.
- Ahmad, T., Haryanti, T. Sutarmat, dan Muhari. 2004. Analisis kebijakan perdagangan induk udang windu untuk usaha budidaya. dalam Analisis Kebijakan Pembangunan Perikanan Budidaya (Eds. Sudradjat, Heruwati, Priono). Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta. p. 113—121.
- Benzie, J.A.H., E. Ballment, A.T. Forbes, N.T. Dementriades, K. Sugama, Haryanti, and S.B. Moria. 2002. Mt DNA variation in Indo-Pacific populations of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon. Molecular Ecology.* 11: 2,553—2,569.
- Flegel T.W. 2007. Construction of a genetic linkage map of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) using AFLP, mikrosatelites and SNP markers. 32 pp.
- Goyard, E., L. Penet, L. Chim, G. Cuzon, D. Bureau, E. Bedier, and Aquacop. 2002. Selective Breeding of The Tahitian Domesticated Population of Pacific Blue Shrimp (*Litopenaeus stylirostris*); Perspectives for the New Caledonian Shrimp Industry. *World Aquaculture*. 33(3): 28—70.
- Haryanti dan K. Sugama. 2007. Perbaikan mutu dan genetika udang. Kumpulan makalah Bidang Riset Perikanan Budidaya. Simposium Kelautan dan Perikanan Hotel Bidakara Jakarta, 7 Agustus 2007. 8 pp.
- Haryanti, I.G.N. Permana, I.K. Wardana, A. Muzaki, dan Fachrudin. 2006. Selektif breeding SPF (Specific Pathogen Free) untuk udang windu, Penaeus monodon F-1. Laporan Teknis Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol. 11 pp.
- Lightner, D.V. 2004. The Penaeid Shrimp Viral Pandemics due to IHHNV, WSSV, TSV and YHV: History in the Americas and Current Status. www.libnoaa/japan/aquaculture/proceeding/report 32/lightner_corrected. 20 pp.
- Moria, S.B., Haryanti, I.G.N. Permana, dan K. Sugama. 2002. Marka Genetik untuk

- Variabilitas Pertumbuhan Udang Windu, Penaeus monodon dari Sumber Induk Berbeda Melalui Analisis mt-DNA RFLP. I. Pen. Perik. Indonesia, 8(5): 1—9.
- Moria, S.B., I.G.N. Permana, dan Haryanti. 2003. Analisis mt-DNA Dari Benih Asal Induk Udang Windu, *Penaeus monodon* dari Perairan yang Berbeda. *Aquaculture Indonesia*. 4(1): 19—27.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press. New York.
- Ovenden, J. 2000. Development of Restriction Enzim Markers for Red Snapper (Lutjanus erytropterus and Lutjanus malabaricus) Stock Descrimination Using Genetik Variation in Mitochondrial DNA. Molecular Fisheries Laboratory, Southerm Fisheries Cen-

- tre. Produced for CSIRO Marine Laboratories as Part of the ACIAR Indonesia Snapper Project. 18 pp.
- Ramirez, D.A. 1991. Genetics. SEAMEO-SEARCA, UPLB. Philippines. 217 pp.
- Sbordoni, V., E. De Mattthaeis, M. Cobolli-Sbordoni, G. La Rosa, and M. Mattoccia. 1987. Bottleneck Effects and The Depression of Genetic Variability in Hatchery Stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda). *Aquaculture*. 57: 239—251.
- Sugama, K., Haryanti, J.A.H. Benzie, and E. Ballment. 2002. Genetic variation and population of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, in Indonesia. *Aquaculture*. 205: 37—48.