

PENENTUAN VARIASI GENETIK IKAN BATAK (*Tor soro*) DARI SUMATERA UTARA DAN JAWA BARAT DENGAN METODE ANALISIS *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHISM DNA (RAPD)*

Sidi Asih^{*)}, Estu Nugroho^{*)}, Anang Hari Kristanto^{*)}, dan Mulyasari^{*)}

ABSTRAK

Variasi genetik ikan batak yang dikoleksi dari daerah Asahan, Aek Sarul (Tarutung), Aek Sirambe, Bahorok (Sumatera Utara), dan Sumedang (Jawa Barat) telah diteliti menggunakan metode *Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)*. Primer yang digunakan untuk analisis adalah OPC-01 dan OPC-02. Dari 2 primer yang digunakan hanya OPC-01 yang menunjukkan hasil PCR yang memberikan Polimorfisme. Berdasarkan nilai rata-rata heterozigositas (0,08—0,1250) dan persentase lokus polimorfik (22%—33%) secara umum menunjukkan bahwa keragaman genetik ikan batak yang dianalisis tergolong rendah. Hasil analisis RAPD juga menunjukkan bahwa secara genetik tidak ada perbedaan yang nyata di antara kelima populasi ikan batak.

ABSTRACT: *Determination of genetic variation of *Tor soro* from North Sumatra and West Java using Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) methods. By: Sidi Asih, Estu Nugroho, Anang Hari Kristanto, and Mulyasari*

*The genetic variabilities of *Tor soro* collected from Asahan, Aek Sarula (Tarutung), Aek Sirambe, Bahorok (North Sumatra), and Sumedang (West Java) were examined by RAPD. Primers used for analysis were OPC-01 and OPC-02. From both of the primers, only OPC-01 showed polymorphism. Based on the heterozygosity (0.08—0.1250) and percentage of polymorphic locus value (22%—33%), indicated that genetic variation of *Tor soro* of North Sumatra was low. The RAPD analysis showed that no significantly difference among five population.*

KEYWORDS: *genetic variation, *Tor soro*, RAPD methods*

PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai potensi plasma nutfah ikan air tawar yang cukup besar. Kottelat *et al.* (1993) menyatakan ikan air tawar di Pulau Sumatera terdapat 30 jenis, Kalimantan 149 jenis, Jawa 12 jenis, dan Sulawesi 149 jenis, dan di antara jenis ikan tersebut telah dimanfaatkan sebagai ikan budidaya. Dewasa ini, jenis ikan air tawar yang sedang dalam taraf domestikasi untuk dimanfaatkan sebagai komoditas budidaya adalah ikan ihan/ikan batak/masheer (*Tor soro*). Habitat ikan batak tersebut ada di sepanjang aliran sungai dan perairan umum

pada dataran tinggi, dengan penyebaran meliputi Sumatera, Jawa, Malaysia, Birma, Thailand, dan Indocina (Kottelat *et al.*, 1993). Di Pulau Jawa, ikan batak ditemukan di daerah Jawa Barat (Kuningan dan Sumedang) yang dikenal sebagai ikan dewa. Selain untuk dikonsumsi, ikan batak bagi masyarakat Sumatera Utara mempunyai nilai religius tersendiri yang dipakai dalam upacara adat sehingga mempunyai nilai ekonomis tinggi. Populasi ikan batak di Pulau Jawa disinyalir mulai langka dan di Pulau Sumatera menunjukkan penurunan akibat adanya eksploitasi penangkapan serta rusaknya lingkungan tempat ikan berkembang biak.

^{*)} Peneliti pada Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor

Habitat yang kurang memadai dapat menyebabkan perkembangan populasi ikan tertekan dan kemampuan reproduksi menurun. Sementara reproduksi penting terhadap kelangsungan keragaman gen. Whitmore (1999) dalam Suwarso (2002) menyatakan bahwa reproduksi merupakan unit yang fundamental dan keberadaannya penting untuk pembentukan individu baru dan keragaman sumber genetik suatu populasi. Upaya domestikasi merupakan langkah yang bisa dilakukan untuk menyelamatkan sumber plasma nutfah jenis-jenis ikan yang saat ini semakin langka seperti halnya ikan batak. Pengembangan ikan batak melalui program domestikasi, didahului dengan pengumpulan informasi atau data dasar genetik dari ras-ras ikan batak yang ada di perairan alam merupakan syarat awal dalam menentukan variasi genetik atau kekerabatan yang dimiliki. Menurut Dunham (2004), bahwa variasi genetik penting untuk sintasan jangka panjang suatu spesies dan juga dapat menjamin *fitness* suatu spesies atau populasi dengan memberikan kemampuan untuk beradaptasi pada perubahan lingkungan. Penentuan variasi genetik pada ikan dapat dilakukan berdasarkan karakter morfologi fenotip dan genotip. Secara genotip, variasi genetik dapat dilakukan melalui pendekatan polymorfisme molekuler dengan berbagai

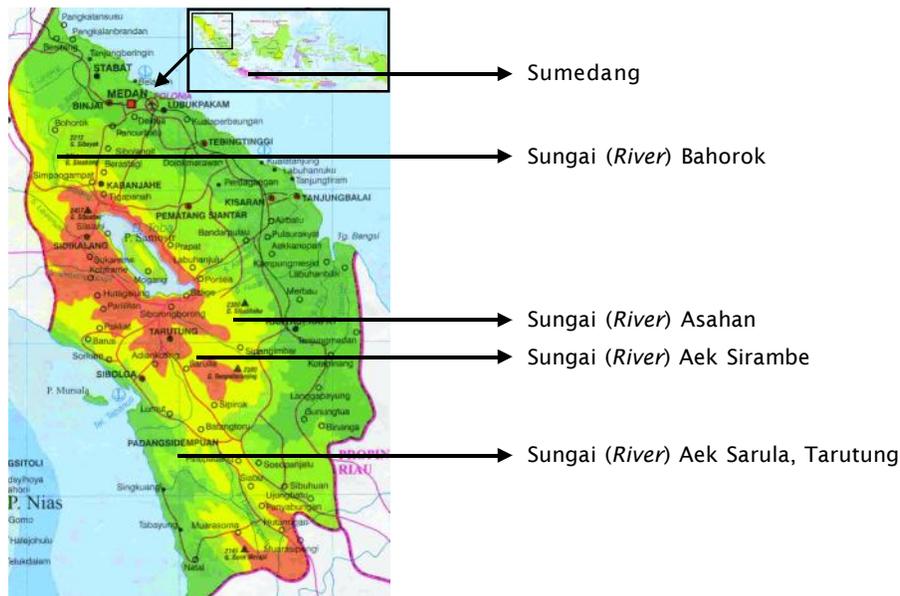
macam metode antara lain adalah alozim/ isozim (Sugama *et al.*, 1998; Permana *et al.*, 2003), DNA mitokondria (Nugroho *et al.*, 1997; 2002), *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RLFP) (Moria *et al.*, 2005), *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD) (Bartfai *et al.*, 2003), dan DNA mikrosatelit (Shikano, 2002 dan Ward *et al.*, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variasi genetik ikan batak dari Asahan, Tarutung, Aek Sirambe, Bahorok di Sumatera Utara, dan Sumedang (Jawa Barat) dengan metode *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD). Hasil yang diperoleh akan digunakan sebagai bahan masukan dalam pengelolaan ikan batak di masa yang akan datang.

BAHAN DAN METODE

Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan batak (*Tor soro*) yang berasal dari perairan Aek Sirambe, Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, dan Asahan di Sumatera Utara (Gambar 1) serta ikan batak dari perairan Sumedang, Jawa Barat. Sampel ikan hidup dipotong bagian siripnya yang kemudian disimpan dalam larutan alkohol 70% sampai akan digunakan.



Gambar 1. Peta dari empat lokasi aliran sungai sebagai habitat ikan batak yang diamati
 Figure 1. Map of the four locations of river flow as the habitat of *Tor soro* fish

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA ikan batak dengan menggunakan metode Phenol-Chloroform (Nugroho, 2001). Bagian dari tubuh ikan berupa potongan sirip dengan bobot 5—10 mg, dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL yang telah berisi 500 μ L larutan TNES urea. Kemudian ditambahkan Protein kinase 15 μ g/mL dan diinkubasikan pada suhu 55°C selama 1 jam. Setelah didinginkan pada suhu kamar, ditambahkan larutan Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol sebanyak 1.000 μ L. Selanjutnya disentrifuse pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Lapisan supernatan dimasukkan kedalam tabung baru, dan ditambahkan 1000 μ L larutan ethanol 90% dan 10 μ L larutan natrium asetat (CH_3COONa) divortex sampai mengendap. Dengan cara mensentrifus campuran tersebut pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit maka diperoleh pelet DNA dan selanjutnya dikeringkan pada suhu kamar. Pelet DNA dilarutkan dalam 50—100 μ L Tris-EDTA (TE) *buffer* dan disimpan dalam suhu 4°C sebelum digunakan pada tahap selanjutnya.

RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA)

Primer yang digunakan diamplifikasi DNA dengan metode RAPD adalah OPC-01 dengan urutan basa TTC GAG CCA G dan OPC-02 dengan urutan basa GTG AGG CGT C. Proses amplifikasi dilakukan menggunakan *Polymerize Chain Reaction* (PCR) dan komposisi reaksi kimia terdiri atas 10 μ g, 10 pmol primer dan "pure *taq DNA*" (Promega) dengan total volume keseluruhannya 25 μ L. Siklus PCR yang digunakan dalam amplifikasi adalah satu siklus denaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, 35 siklus penggandaan yang terdiri atas 94°C selama 1 menit, 36°C selama 1 menit dan 72°C selama 2,5 menit. Selanjutnya satu siklus terakhir pada suhu 72°C selama 10 menit. Hasil PCR kemudian dipisahkan secara elektroforesis dengan menggunakan gel agarose 2% dalam Tris-Boric-EDTA (TBE) *buffer* 0,5 dan diamati dengan illuminator (UV) serta didokumentasi dengan film polaroid.

Analisis Data

Nilai heterozigositas dan lokus polimorfik dihitung berdasarkan persamaan Hardy-Weinberg, (Nei, 1978 *dalam* Miller, 1997), sedangkan analisis statistik yang digunakan adalah perbandingan berpasangan Fst (Sokal & Rohlf, 1995). Program *Tools for Population*

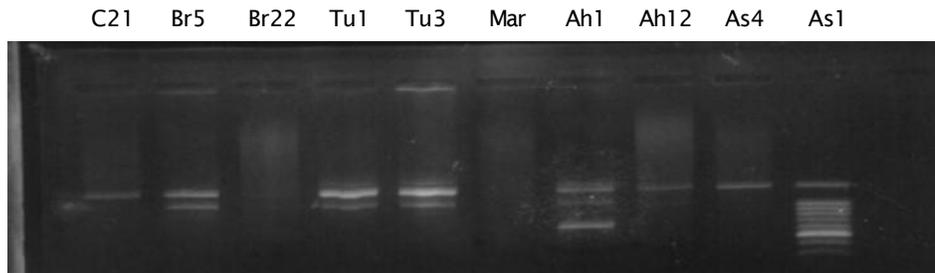
Genetic Analysis (TFPGA) digunakan untuk mencari kekerabatan antar populasi yang dihitung menurut Wright (1978) modifikasi dari Rogers (1972) *dalam* Miller (1997).

HASIL DAN BAHASAN

Dari 2 primer yang dicoba hanya 1 primer menunjukkan hasil PCR yang baik. Primer OPC-01 mempunyai fragmen yang dapat digunakan sebagai pembeda di antara populasi ikan batak yang diuji. Salah satu contoh hasil RAPD tertera pada Gambar 2.

Keragaman genetik yang ditentukan oleh nilai rata-rata heterozigositas dan persentase lokus polimorfik dari ikan batak yang dianalisis berkisar antara 0,0808—0,1250 dan 22%—33% (Tabel 1). Nilai heterozigositas ikan batak paling tinggi terlihat pada populasi dari Aek Sarula (Tarutung) (0,1250) dan nilai terendah adalah ikan yang berasal dari Sumedang (0,0808). Persentase polimorfik tertinggi berasal dari daerah perairan Sungai Aek Sarula (Tarutung) dan Sumedang yaitu 33%, sedangkan persentase ikan batak yang berasal dari Asahan, Aek Sirambe, dan Bahorok sama yaitu 22%. Secara umum ikan batak yang dianalisis memiliki keragaman genetik yang rendah bila dibandingkan dengan ikan air tawar lain seperti ikan baung (Nugroho *et al.*, 2005) dan ikan pangasius (Rina, 2001). Rendahnya keragaman genetik ini mengindikasikan bahwa populasi ikan batak memiliki laju migrasinya yang sempit dan terisolasi sehingga pertukaran gen dengan populasi lain sangat kecil, di samping itu juga budidaya komoditas ini masih belum banyak dilakukan. Hambatan pengembangan ikan batak adalah adanya aturan tidak tertulis bahwa ikan ini dikeramatkan sehingga tidak ada masyarakat yang berani untuk membudidayakannya. Terjadinya pembatasan pertukaran gen ini mengakibatkan peluang perkawinan sekerabat atau *inbreeding* sangat besar. Keadaan ini dalam jangka waktu yang lama akan mengakibatkan rendahnya variasi genetik bahkan lebih jauh lagi akan muncul peluang homosisot yang lebih tinggi. Jika hal ini terjadi ditambah pula dengan rusaknya habitat ikan batak tersebut, maka keberadaan ikan ini di alam mengkhawatirkan sehingga akan mengurangi *fitness*, *viabilisasi*, dan sintasan.

Secara statistik dengan menggunakan uji perbandingan berpasangan Fst menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan genetik secara nyata antara populasi ikan batak yang



C = Sumedang As = Aek Sirambe
 Br = Bahorok Ah = Asahan
 Tu = Tarutung Mar = Marker 100—1.500 bp

Gambar 2. Hasil amplifikasi RAPD pada ikan *Tor soro* dengan menggunakan primer OPC-01
 Figure 2. PCR amplification with RAPD method of *Tor soro* by using primer OPC-01

Tabel 1. Heterozigositas dan persentase lokus polimorfik ikan batak hasil RAPD menggunakan primer OPC-01
 Table 1. Heterozygosity and percentage of polymorphic locus of *Tor soro* amplified with by RAPD method and used OPC-01 primer

| | Sumedang | Aek Sarula (Tarutung) | Bahorok | Asahan | Aek Sirambe |
|------------------------|----------|-----------------------|---------|--------|-------------|
| Heterozigositas | 0.0808 | 0.1250 | 0.0932 | 0.0905 | 0.092 |
| Lokus polimorfik | 33.33 | 33.33 | 22.22 | 22.22 | 22.22 |
| Polymorphism locus (%) | | | | | |

diuji ($P > 0,05$) berdasarkan tipe amplifikasinya (Tabel 2). Hal ini mengindikasikan bahwa ikan batak yang berasal dari Sumatera Utara dan ikan batak dari Sumedang (Jawa Barat) masih satu kerabat.

Jarak genetik (D) yang dihitung menurut Wright (1978), modifikasi dari Rogers (1972) secara komputasi dengan program TFPGA berdasarkan fragmen RAPD dari primer OPC-01 antara koleksi ikan batak tertera pada Tabel 3. Berdasarkan perhitungan jarak genetik dari 5 populasi ikan batak, diperoleh nilai jarak genetik terdekat adalah antara populasi dari Aek Sarula (Tarutung) dengan populasi dari Bahorok yaitu sebesar 0,1199; kemudian antara populasi Aek Sarula (Tarutung) dan Bahorok dengan populasi dari Asahan yaitu 0,1636; dan antara Aek Sirambe dengan populasi dari Sumedang yaitu 0,1813. Sedangkan jarak paling jauh adalah jarak genetik antara populasi Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, dan Asahan dengan populasi dari Sumedang dan Aek Sirambe dengan jarak genetik sekitar 0,2667. Dendrogram yang dibentuk berdasarkan jarak genetik tersebut dengan

menggunakan program *Unweighted Pair Group Arithmetic Average* (UPGMA) menunjukkan bahwa antara populasi ikan dari daerah Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, dan Asahan mempunyai kekerabatan yang lebih dekat dibandingkan dengan kekerabatan antara ketiganya dengan ikan dari daerah Aek Sirambe dan Sumedang (Gambar 3). Kedekatan jarak genetik antara populasi ikan batak dari sungai di daerah Aek Sarula (Tarutung) dengan Bahorok dan ikan dari Asahan mengindikasikan bahwa ikan batak dari daerah-daerah tersebut masih berasal dari satu populasi. Hal ini di duga karena secara geografis sungai yang mengalir di ketiga daerah tersebut dulunya berasal dari satu hulu yang sama yaitu Danau Toba yang merupakan habitat asal ikan batak (Gambar 1).

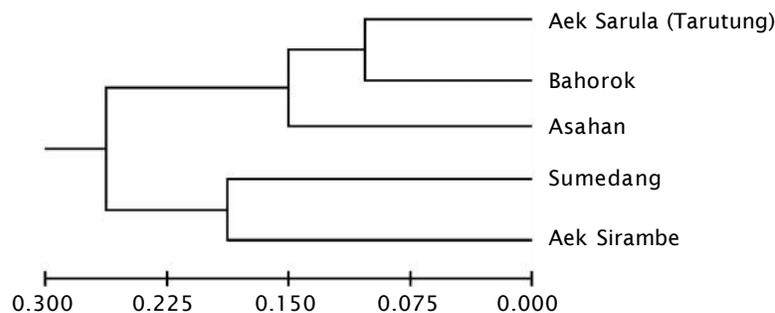
Meskipun populasi ikan batak asal Sumatera Utara dengan Sumedang (Jawa Barat) memiliki garis keturunan yang sama, namun terdapat perbedaan jarak genetik yang cukup jauh antara Tarutung, Bahorok, dan Asahan dengan Sumedang. Hal ini diduga karena secara geografis letak Sumedang terpisah jauh dari ketiga daerah tersebut disamping

Tabel 2. Nilai P dari uji perbandingan berpasangan Fst
 Table 2. P value of pairing comparisson Fst test

| | Sumedang | Tarutung | Bahorok | Asahan | Aek Sirambe |
|-------------|----------|----------|----------|----------|-------------|
| Tarutung | 0.3272 | xxxxxxxx | | | |
| Bahorok | 0.5350 | 0.9996 | xxxxxxxx | | |
| Asahan | 0.1207 | 0.9993 | 0.9999 | xxxxxxxx | |
| Aek Sirambe | 0.8343 | 0.8601 | 0.9656 | 0.8250 | xxxxxxxx |

Table 3. Jarak genetik ikan *Tor soro* dari Asahan, Aek Sirambe, Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, dan Sumedang
 Table 3. Genetic distance (D) *Tor soro* from Asahan, Aek Sirambe, Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, and Sumedang

| | Sumedang | Tarutung | Bahorok | Asahan | Aek Sirambe |
|-------------|----------|----------|----------|----------|-------------|
| Tarutung | 0.2769 | xxxxxxxx | | | |
| Bahorok | 0.2451 | 0.1199 | xxxxxxxx | | |
| Asahan | 0.3744 | 0.1749 | 0.1524 | xxxxxxxx | |
| Aek Sirambe | 0.1831 | 0.2433 | 0.1679 | 0.2928 | xxxxxxxx |



Gambar 3. Dendrogram ikan batak dari Asahan, Aek Sirambe, Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, dan Sumedang

Figure 3. Dendrogram of *Tor soro* from Asahan, Aek Sirambe, Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, and Sumedang

itu kondisi lingkungan perairan yang berbeda dan pola migrasi yang terbatas juga bisa menyebabkan jauhnya kekerabatan antara populasi-populasi ikan tersebut. Menurut Iguchi (1999) dalam Rina (2001), isolasi karena perbedaan jarak merupakan salah satu faktor yang perlu dipertimbangkan akan mempengaruhi laju aliran gen antara lokasi yang terpisah dan pada akhirnya akan mengakibatkan meningkatnya perbedaan genetik. Ikan batak yang berasal dari Aek Sirambe ditinjau dari jarak genetiknya memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan populasi

dari Sumedang dibanding populasi ikan yang berasal dari daerah Sumatera Utara lainnya. Hal ini terjadi karena adanya *genetic introgression* dari Sumedang ke Danau Toba, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar pernah melakukan *restocking* ikan batak asal Sumedang di Danau Toba yang kemudian beradaptasi dan terjadi perkembangbiakan populasi.

Dari semua populasi ikan batak yang dianalisis, memiliki satu lokus yang sama yaitu lokus dengan berat molekul 1.500 bp. Lokus ini bisa diindikasikan sebagai ciri dari ikan

batak. Dari 5 populasi ikan batak yang diuji hanya satu yang mempunyai lokus dengan berat molekul (BM) 2.000 bp yaitu populasi ikan dari Sumedang. Sedangkan populasi yang memiliki lokus dengan BM 650 bp hanya populasi yang berasal dari Asahan dan lokus dengan BM 600 bp hanya dimiliki oleh populasi dari Aek Sirambe. Berdasarkan perbedaan lokus ini, ketiga populasi tersebut potensial digunakan untuk program pemuliaan. Hal tersebut dilakukan untuk mempersempit peluang terjadinya perkawinan sekerabat jika pemuliaan dilakukan terhadap ikan batak.

KESIMPULAN

1. Nilai rata-rata heterozigositas dan persentase lokus polimorfik keragaman genetik ikan batak di daerah Sumatera Utara dan Sumedang (Jawa Barat) tergolong rendah (0,08—0,1250) dan 22%—33%.
2. Tidak terdapat perbedaan genetik yang nyata antara ikan batak dari daerah Aek Sarula (Tarutung), Asahan, Bahorok, Aek Sirambe yang berasal dari Sumatera Utara dan Sumedang, Jawa Barat.
3. Keekerabatan populasi ikan dari daerah Aek Sarula (Tarutung), Bahorok, dan Asahan mempunyai jarak genetik yang lebih dekat dibandingkan dengan keekerabatan ikan dari daerah Aek Sirambe dan Sumedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas biaya DIPA Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor, Tahun anggaran 2006. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Riset Perikanan Budidaya yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bartfai, R., S. Egedi., G.H. Yue., B. Kovacs, B. Urbanyi, G. Tamas, L. Hovath, and L. Orban. 2003. Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers. *Aquaculture*. 219: 157—168.
- Dunham, R.A. 2004. *Aquaculture and Fisheries Biotechnology: Genetic Approach*. CABI publishing, Cambridge, USA. p. 85—99.
- Kotellat, M., J.A. Witthen, and S. Wiryoatmodjo. 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Periplus edition and EMDI project Indonesia, Jakarta, Indonesia. 221 pp.
- Miller, M.P. 1997. *Tools For Population Genetic Analysis (TFPGA) version 1.3*. Department of Biological Science. Northern Arizona University, Arizona, USA. 30 pp.
- Moria, S.B., Haryanti, I G.N. Permana, dan B. Susanto. 2005. Karakteristik Genetik Induk Rajungan *Portunus pelagicus* dari Beberapa Perairan Melalui Analisis RFLP Mt-DNA. *J. Pen. Perik. Indonesia*. 11(5): 57—62.
- Nugroho, E. 2001. Capability of Mitochondria DNA-D-Loop Markers from Shark Species Identification. *Indonesian Fisheries Research Journal*. 7(1): 62—66.
- Nugroho, E., M. Takagi, and N. Taniguchi. 1997. *Practical Manual on Detection of DNA Polymorphism in Fish Population Study*. *Bulletin of Marine Sciences and Fisheries Kochi University*. 17: 109—129.
- Nugroho, E., W. Hadie, J. Subagja, dan T. Kurniasih. 2005. Keragaman Genetik dan Morfometrik pada Ikan Baung *Mystus nemurus* dari Jambi, Wonogiri, dan Jatiluhur. *J. Pen. Perik. Indonesia*. 11(7): 1—6.
- Nugroho, E., A. Widiyati, Imron, dan T. Kadarini. 2002. Keragaan genetik ikan nila gift berdasarkan polimorfism mitokondria DNA D-loop. *J. Pen. Perik. Indonesia*. 8(3): 1—6.
- Permana, I G.N., S.B. Moria, Haryanti, dan K. Sugama. 2003. Genetics Identification and Variation of Red Snapper *Lutjanus* sp. through Allozyme Electrophoretic Analysis. *Indonesian Fisheries Research Journal*. 9(1): 33—40.
- Rina. 2001. Keragaman genetik ikan pangasius Indonesia berdasarkan analisis mitokondria DNA dengan teknik PCR-RFLP. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. 47 pp.
- Rogers, J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. p. 145—153. In *Studies in Genetics*. VII. Ed. M.R. Wheeler Univ. Texas. Publ 7213. 354 pp.
- Sugama, K. and A. Prijono. 1998. Biochemical genetic differentiation among wild populations of milkfish (*Chanos chanos*) in Indonesia. *Indonesian Fisheries Research Journal*. 4(1): 11—18.
- Suwarso. 2002. Variasi Genetik dalam Struktur Genetik Populasi Ikan Kakap Merah, *Lutjanus malabaricus* (*Lutjanidae*) dan Interaksi Lingkungan di Pulau Jawa. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. 97 pp.

Penentuan variasi genetik ikan batak (Tor soro) (Sidi Asih)

- Sokal, R.R. and F.J. Rohlf. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. W.H. Freeman and Company. San Fransisco. 759 pp.
- Shikano, T. and N. Taniguchi. 2002. Using microsatellite and RAPD markers to estimate the amount of heterosis in various strain combination in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Aquaculture*. 204(3): 271—282.
- Ward, R.D., K.E. Jorstad, and G.B. Maguire. 2003. Microsatellite diversity in rainbow trout. *Aquaculture*. 219: 169—180.