Perbandingan jumlah dan distribusi kromosom tiga varietas ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Comparison of the number and distribution of chromosomes of three varieties of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Darmawan Setia Budi^{1*}, Lailatul Lutfiyah¹, Arif Habib Fasya¹, Prayogo¹.

¹Program Studi Akuakultur PSDKU Banyuwangi, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga

Jl. Wijaya Kusuma No. 113, Banyuwangi, Indonesia.

*Email: darmawansetiabudi@fpk.unair.ac.id

Abstract

The aims of this study is to determine the number and distribution of the chromosomes of three Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) varieties as basic information in the process of identifying the characteristics of varieties in tilapia. This research was conducted in August-October 2016, at the Unair Banyuwangi PSDKU laboratory. The research procedures included rearing of test fish, immersion of test fish with colchicine solution and tissue preservation, preparation of preparations and staining, and observation. Based on the results of the study, it was found that each variety of tilapia (black, red, and white) showed a difference in the spread of chromosomes, while the number of chromosomes was the same, namely 44 pieces.

Keywords: Tilapia, chromosome characteristics

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan distribusi kromosom tiga varietas ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai informasi dasar dalam proses identifikasi karakteristik varietas pada ikan nila. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-Oktober 2016, bertempat di laboratorium PSDKU Unair Banyuwangi. Prosedur penelitian meliputi pemeliharaan ikan uji, perendaman ikan uji dengan larutan kolkisin dan pengawetan jaringan, pembuatan preparat dan pewarnaan preparat, serta pengamatan. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa tiap-tiap varietas ikan nila (hitam, merah, dan putih) memperlihatkan adanya perbedaan penyebaran kromosom, sedangkan jumlah kromosom adalah sama yaitu 44 buah.

Kata Kunci: Ikan nila, karakteristik kromosom

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas utama ikan konsumsi di dunia. Dalam budidayanya ikan nila telah banyak mengalami perkawinan silang sehingga menghasilkan banyak varietas yang memiliki morfologi dan warna tubuh beraneka ragam (Popma & Masser, 1999). Berdasarkan warnanya, secara umum varietas ikan nila di Indonesia dapat dibedakan menjadi tiga varietas yaitu ikan nila hitam, ikan nila putih dan ikan nila merah. Ikan nila merah merupakan hasil persilangan antara ikan nila hitam dan ikan nila putih.

Untuk mengetahui lebih jauh mengenai keragaman jenis suatu spesies dapat dilihat melalui aspek genetisnya, salah satunya melalui pengamatan kromosom (Yatim, 1983). Informasi tentang sifat dasar genetik suatu spesies ikan sangat dibutuhkan dalam upaya menunjang perbaikan genetik serta untuk kegiatan identifikasi ikan secara jelas. Selain itu melalui informasi mengenai kromosom suatu spesies ikan dapat dipakai untuk menganalisa perubahan genetik yang terjadi pada suatu spesies atau lebih jauh pada tingkat populasi.

Informasi identifikasi suatu spesies secara utuh dan lengkap diperlukan dalam menganalisa potensi suatu spesies serta dapat digunakan sebagai dasar pembanding dengan spesies lainnya. Dalam mengidentifikasi suatu spesies ikan, dapat dilakukan dengan melihat karakter fenotipe (morfologi) maupun secara genotipe.

Proses identifikasi berdasarkan karakter fenotipe kurang lengkap dalam menentukan sifat suatu spesies secara utuh sehingga diperlukan adanya pengamatan karakter genotipe berdasarkan gennya. Langkah awal untuk pengamatan tersebut dilakukan dengan menganalisa jumlah dan distribusi kromosom spesies ikan tersebut. Analisa dengan pengamatan kromosom ini lebih mudah dilakukan dan tidak memerlukan biaya yang besar dibandingkan dengan teknik PCR atau melalui analisa biokimia (Hartono, 2003). Selain itu melalui pengamatan kromosom, maka akan dapat membedakan genotipe hasil persilangan, sitogenetik yang meliputi: evolusi, sistematika, mutagenesis, penentuan jenis kelamin (Kligerman dan Bloom, 1977; Eldridge, 1985), penyebab terjadinya penyakit, untuk

mengetahui hubungan kekerabatan suatu spesies (Yatim, 1983) dan untuk mengidentifikasi tingkat ploidi suatu organisme (Carman, 1990 ; Liu *et al.*, 1999).

Analisa kromosom dapat bermanfaat dalam menganalisa hubungan kekerabatan suatu spesies. Semakin jauh hubungan kekerabatan suatu organisme maka semakin besar pula perbedaan di dalam jumlah, bentuk dan susunan kromosomnya melalui karyotyping (analisa karakteristik kromosom) (Denton, 1973; Yatim, 1983). Sehingga dengan adanya informasi mengenai karakteristik kromosom ini dapat disusun suatu strategi dalam usaha perbaikan mutu genetik suatu spesies ikan, strategi yang dapat ditempuh untuk usaha perbaikan tersebut adalah ditentukan oleh hubungan kekerabatan yaitu dengan membandingkan karakteristik kromosomnya.

Informasi mengenai jumlah dan distribusi kromosom macam-macam varietas ikan nila di Indonesia belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini sangat berguna dan perlu dilakukan untuk mengidentifikasi varietas ikan nila yang ada di Indonesia sehingga dimasa mendatang

dapat dirancang suatu kegiatan perbaikan mutu genetik ikan nila yang lebih efektif dan efisien.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan distribusi kromosom tiga varietas ikan nila sebagai informasi dasar dalam proses identifikasi karakteristik varietas pada ikan nila. Selanjutnya manfaat hasil penelitian ini dapat digunakan dalam merancang perbaikan mutu ikan nila berdasarkan rekayasa pada tingkat kromosom.

METODE

Pemeliharaan Ikan Uji

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-Oktober 2016, bertempat di laboratorium PSDKU Unair Banyuwangi. Penelitian ini menggunakan ikan nila yang berasal dari Balai Benih Ikan Kabat, Banyuwangi masing-masing 10 ekor tiap sampel. Ikan nila yang berhasil dikumpulkan kemudian dipelihara di dalam akuarium lengkap dengan aerasi selama lebih kurang 1 minggu dan diberi makan pakan pellet komersil sebanyak 2 kali sehari. Penyifonan air dilakukan setiap hari dengan mengganti air sebanyak 50% setiap hari. Hal ini dilakukan untuk

menjaga kualitas air media selama ikan dipelihara tetap terjaga dengan baik.

Perendaman Ikan Uji

Ikan uji dipuasakan selama 24 jam terlebih dahulu sebelum direndam dalam larutan kolkisin. Setelah itu ikan direndam di dalam larutan kolkisin 0,07% w/v selama lebih kurang 6-9 jam. Larutan kolkisin 0,07% w/v dibuat dengan melarutkan 70 mg kolkisin dalam 1 liter air.

Pengawetan Jaringan

Ikan uji yang telah direndam, kemudian dibunuh dengan cara menusukkan jarum pada bagian hipotalamus, selanjutnya diambil jaringan sirip dan insangnya. Jaringan tadi kemudian dipotong kecil dan selanjutnya direndam dalam larutan hipotonik (KCl 0,075 M) selama 60 menit pada suhu ruang. Selama perendaman, larutan hipotonik ini diganti setiap 30 menit dengan volume lebih kurang 20 kali volume jaringan. Larutan hipotonik 0,075 M dibuat dengan melarutkan 5,6 gram KCl dalam 1 liter akuades.

Kemudian jaringan tersebut direndam ke dalam larutan fiksatif (larutan Carnoy) selama 60 menit (2 x

30 menit). Larutan Carnoy ini dibuat dengan mencampurkan asam asetat glasial dan etanol (perbandingannya 1:3). Setelah difiksasi dapat dilanjutkan pembuatan preparat langsung atau bila diperlukan jaringan yang telah difiksasi tadi dapat disimpan dalam refrigerator selama 2-3 minggu.

Pembuatan Preparat

Jaringan yang telah difiksasi diambil menggunakan pinset dan selanjutnya disentuhkan pada kertas tissue untuk menghilangkan larutan fiksatif. Kemudian jaringan tersebut diletakkan di atas objek gelas cekung serta ditambahkan 3-4 tetes asam asetat 50%, selanjutnya digerakkan secara perlahan dengan menggunakan tusuk gigi atau ujung pisau bedah agar sel lepas dari jaringan pengikatnya. Sebelum objek gelas digunakan terlebih dahulu objek gelas direndam dalam larutan alkohol 70% selama lebih kurang 2 jam.

Hasil dari perlakuan tersebut adalah suspensi. Suspensi tersebut kemudian diteteskan dengan menggunakan pipet tetes di atas objek gelas yang ditempatkan di atas *hot plate* dengan kisaran suhu 45-50 °C, dan selanjutnya dihisap kembali

setelah terbentuk lingkaran (*ring*) berdiameter 1-1,5 cm. Pada setiap objek gelas dibuat 3 hingga 4 buah lingkaran.

Pewarnaan Preparat

Preparat yang sudah kering kemudian diwarnai menggunakan larutan giemsa 20%, yaitu mencampurkan giemsa dan akuades dengan perbandingan 2:8. Preparat tersebut direndam dalam larutan giemsa selama kurang lebih 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya preparat dibilas menggunakan akuades dan dikeringkan pada suhu ruang. Kemudian preparat yang sudah kering diamati di bawah mikroskop dengan

pembesaran 100, 400 dan 1000 kali untuk dihitung jumlah kromosom.

Analisa Data

Data berupa gambar dan tabel dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil diketahui pengamatan kromosom ikan nila hitam menunjukkan bahwa bentuk dan ukuran kromosom yang ditemukan dalam satu preparat cukup beragam, demikian pula dengan jumlah kromosom dimana didapatkan ada kromosom yang tidak lengkap (kurang dari modus) atau jumlah kromosom lebih dari modus.

Tabel 1. Distribusi jumlah kromosom ikan nila hitam.

Σ Kromosom	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	46	47
Σ Sel teramati	2	1	1	2	4	3	6	6	8	6	6	4	43	5	2

Gambar 1. Sebaran kromosom dan susunan karyotipe ikan nila hitam.

Hasil penyebaran kromosom didapatkan relatif baik sehingga pengamatan dapat dilakukan terhadap jumlah dan bentuk dari setiap kromosom. Jumlah kromosom untuk setiap individu yang diteliti sangat

beragam mulai dari 32 hingga 47. Dari semua preparat yang diamati didapatkan 99 sel kromosom dengan modus 44, sehingga dapat disimpulkan bahwa jumlah kromosom ikan nila hitam adalah $2N = 48$ (**Tabel 1**).

Tabel 2. Distribusi jumlah kromosom ikan nila merah.

Σ Kromosom	32	33	34	36	37	38	39	40	41	42	43	44	46
Σ Sel teramati	2	2	1	2	2	2	3	3	1	8	3	27	2

Gambar 2. Sebaran kromosom dan susunan karyotipe ikan nila merah.

Penyebaran kromosom ikan nila merah relatif sudah merata sehingga pengamatan terhadap jumlah dan bentuk kromosom dapat dilakukan (**Gambar 2.**) Pada beberapa preparat kromosom yang diamati, bentuk kromosom dalam satu preparat menunjukkan hasil beragam, serta penyebaran jumlah kromosom di setiap sel tidak selalu sama. Jumlah kromosom ikan nila merah pada setiap sel cukup bervariasi mulai dari 32 hingga 46. Dari semua preparat yang diperoleh didapatkan 59 sel yang teramati kromosomnya, penyebaran tertinggi diperoleh 44 kromosom sehingga dapat disimpulkan bahwa

jumlah kromosom ikan manvis white slayer berjumlah $2N=44$ (**Tabel 2**).

Penyebaran kromosom ikan Nila putih cukup beragam. Dari beberapa preparat kromosom yang diamati bahwa bentuk kromosom yang ditemukan dalam satu preparat menunjukkan hasil beragam (**Tabel 3**).

Jumlah kromosom berdasarkan dari hasil pengamatan diketahui dari ikan nila putih yang ditemukan menunjukkan nilai yang bervariasi mulai 32 hingga 48. Dari semua preparat didapatkan penyebaran tertinggi adalah 44 kromosom sehingga dapat disimpulkan bahwa jumlah kromosom ikan nila putih berjumlah $2N=46$.

Tabel 3. Distribusi jumlah kromosom ikan nila putih.

Σ Kromosom	32	33	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Σ Sel teramati	3	2	2	1	1	4	2	4	2	6	2	33	3

Gambar 3. Sebaran kromosom dan susunan karyotipe ikan nila putih.

Berdasarkan dari hasil pengamatan kromosom yang dilakukan, diketahui bahwa untuk setiap varietas ikan nila yang berbeda memperlihatkan adanya perbedaan penyebaran kromosom, sedangkan jumlah kromosom adalah sama yaitu 44 buah. Penentuan terhadap jumlah kromosom diambil berdasarkan atas jumlah yang paling banyak muncul atau modus (Al-Saleh, 1986; Cervella *et al.*, 1987; Hartono, 2003). Berdasarkan atas pengamatan yang dilakukan peneliti sebelumnya yang menyebutkan bahwa jumlah kromosom pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah 44 (Sucipto *et al.*, 2002). Selain itu dalam pengamatan jumlah dijumpai adanya kromosom yang lebih dari modus atau kurang dari modus.

Penambahan jumlah kromosom mungkin disebabkan adanya penambahan kromosom dari sel yang berbeda atau terdapatnya dua sel yang saling berdekatan pada saat pembuatan preparat kromosom sedangkan jumlah kromosom yang kurang dari modus dapat disebabkan adanya kromosom yang rusak atau hilang pada saat pembuatan preparat kromosom.

Pembuatan preparat kromosom menggunakan metode teknik jaringan padat, perlakuan pada saat perendaman kolkisin, perendaman dengan larutan hipotonik dan pengawetan dengan larutan Carnoy sangat menentukan berhasil tidaknya kromosom yang didapat pada saat metafase. Lama waktu pemberian perlakuan pada saat perendaman dengan kolkisin yang tepat akan memberikan hasil dimana kromosom yang didapat tepat pada saat kromosom berada pada metafase yang optimum. Dengan demikian pengamatan terhadap morfologi dan pengukuran kromosom dapat dengan mudah dilakukan (Cervella *et al.*, 1987; Thode *et al.*, 1987).

Penentuan jaringan pada pembuatan preparat sangat penting karena menentukan ada tidaknya kromosom yang didapat. Hal ini disebabkan adanya perbedaan keaktifan dalam pembelahan sel. Sel yang mengandung kromosom yang baik adalah jaringan-jaringan yang selnya aktif membelah, seperti: ginjal, sirip, dan insang. Jaringan-jaringan tersebut biasanya paling mudah untuk mendapatkan kromosom yang baik. Thode *et al.* (1987) mencoba

mendapatkan kromosom dari preparasi berbagai organ jaringan, didapatkan hasil bahwa jaringan yang berasal dari insang dan ginjal sangat baik di dalam pengamatan kromosom.

Untuk mendapatkan sebaran kromosom yang baik maka perlakuan pada saat melepaskan sel pada jaringan ikat dan pembuatan ring di atas objek gelas sangat menentukan. Apabila pada saat pelepasan sel dari jaringan tidak hati-hati akan mengakibatkan kromosom rusak atau bentuknya menjadi kurang jelas. Sedangkan pada saat pembuatan ring di atas objek gelas akan sangat menentukan penyebaran kromosom, pengamatan terhadap perhitungan jumlah kromosom, pengukuran panjang kromosom serta pengamatan morfologi kromosom. Sel yang sulit dilakukan penghitungan umumnya terjadi akibat adanya sel menumpuk atau bentuk kromosom yang tidak jelas. Ketidakjelasan bentuk kromosom ini akan sangat berpengaruh terhadap pengukuran ukuran lengan kromosom baik lengan panjang maupun lengan pendek.

Berdasarkan hasil pengamatan dari beberapa preparat, didapatkan adanya beberapa sel yang bentuk atau

morfologinya tidak jelas sehingga sangat sulit untuk menentukan bentuk dan ukuran panjang kromosom.

Perbedaan ukuran kromosom kemungkinan disebabkan oleh perbedaan pada saat terjadinya pembelahan selama mitosis. Hal ini didukung oleh pendapat Bajer (1959) dalam Moynihan dan Mahon (1982) yang menyebutkan bahwa ada perubahan antara panjang dan volume kromosom selama mitosis.

Lama waktu pemberian perlakuan kolkisin juga sangat berpengaruh terhadap morfologi kromosom. Kontraksi sel yang tinggi dapat menyebabkan sentromer menjadi lebih ke tengah dibandingkan dengan sel yang kontraksi selnya kurang. Beberapa penelitian yang mengamati fenomena ini seperti pada ikan *Indian Carps*, dimana komposisi karyotipnya diteliti oleh Manna dan Prasad (1971) berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Becks dan Biggers (1980).

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil, didapatkan bahwa setiap varietas ikan nila (hitam, merah, dan putih) memperlihatkan adanya perbedaan

penyebaran kromosom, sedangkan jumlah kromosom jumlah kromosom adalah sama yaitu 44 buah.

Saran

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut mengenai karakteristik setiap kromosom pada tiga varietas ikan nila hitam, merah, dan putih agar bisa dibandingkan lebih jauh.

Daftar Pustaka

- Al-Saleh, AA. 1986. Cytological Studies of Certain Desert Mammals of Saudi Arabia 6. First Report on Chromosome Number and Karyotype of *Acomys dimidiatus*. In Van Brink, J.M dan Kianta, B (Eds). *Genetica* 76 : 3 - 5, 1988.
- Beck, B, Biggers, A. 1980. Karyology Analysis of *Ctenopharingodon idella*, *Aristichthys nobilis* and Their F1 Hybrid. *Trans. Am. Fish. Soc.* 109 : 433 – 438.
- Carman, O. 1990. Ploidy Manipulation in Some Warm-Water Fish. Master's thesis. Tokyo University of Fisheries. 69 p.
- Cervella, P, Ramella, L, Robotti, CA, Sella, G. 1987. Chromosome Analysis of Three Species of *Patella* (Archaeogastropoda). In Van Brink, J.M dan Kianta, B (Eds). *Genetica* 77 : 97 – 103, 1988.
- Denton, TE. 1973. Fish Chromosome Methodology. Charles C. Thomas Publisher. Spring Field, Illionis, USA. 165 p.
- Eldridge, FE. 1985. Cytogenetic of Livestock. The Avi Publishing Company, Inc America. 298 p.
- Hartono, DP. 2003. Karakteristik Kromosom Ikan Kerapu. Tesis Program Pasca Sarjana IPB, Bogor. 44 hal.
- Kligerman, AD, Bloom, SE. 1977. Rapid Chromosome Preparation from Solid Tissue of Fishes. *Fish. Res. Board. Can.* 34 : 266 – 269.
- Liu, S, Liu. Y, Zhou. G, Zhang. X, Luo. C, Feng, H, Xe, H, Zhu. G, Yang, H. 1999. The Formation of Tetraploid Stocks of Red Crucian Carp X Common Carp hybrid as an effect of Interspecific Hybridization. *J. aqua* 192 (2001) 171 – 186.
- Manna, GK, Prasad, RA. 1971. Karyomorfology of Cyprinid Fish and Cytological Evolution of the Family. *Nucleus (Calcutta)*. 20 (1-2) :119-127
- Moynihan, EP, Mahon, GAT. 1982. Quantitative Karyotype Analysis in the Mussel *Mytilus edulis* L. p. 301 – 309. In Wilkins, N.P dan Gosling, E.M (Eds). *Genetic in Aquaculture. Proceeding of an International*.
- Popma, T., & Masser, M. (1999). *Tilapia: Life History and Biology*. SRAC Publication No. 283. Southern Regional Aquaculture Center, Stoneville, MS.
- Sucipto A, Hanif S, Junaedi D, Yuniarti T. 2002. Breeding program produksi nila kelamin jantan di Balai Budidaya Air Tawar (BBAT) Sukabumi. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Thode, G, Martinez, G, Ruiz JL, Lopez. JR. 1987. A complex Chromosomal Polymorphism in *Gobius fallax* (*Gobiidae, Perciformes*). In Van Brink, J.M dan Kianta, B (Eds) *Genetica* 76 : 65 – 71.
- Yatim, W. 1983. *Genetika*. Penerbit Tarsito Bandung. 397 hal.