

KARYOTIPE IKAN PELANGI IRIAN (*Melanotaenia boesemani*)

Djamhuriyah S. Said¹⁾, Odang Carman²⁾, Abinawanto³⁾, dan Hidayat¹⁾

¹⁾Puslit Limnologi-LIPI, Jl. Raya Bogor KM 46.6 Cibinong-Bogor – 16911
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-IPB, Kampus Darmaga Bogor
Jurusan Biologi-FMIPA Univ. Indonesia, Kampus UI Depok

ABSTRAK

Ikan pelangi Irian (*Melanotaenia boesemani*) merupakan sumberdaya perairan darat Indonesia yang hidup endemik di Danau Ajamaru dan Danau Aitinjo Irian Jaya. Ikan tersebut memiliki bentuk dan warna tubuh yang indah dan dikenal sebagai ikan hias yang memiliki nilai ekonomi (terutama individu jantan) sehingga mengalami eksploitasi yang cukup tinggi. Usaha budidaya ikan tersebut mengalami beberapa kendala antara lain pertumbuhan yang lambat, ketahanan hidup dan rasio seks jantan yang rendah. Informasi biologis maupun genetik (seperti kromosom)nya masih jarang dilaporkan. Informasi kromosom sangat bermanfaat untuk usaha konservasi ataupun untuk menunjang pengembangan usaha budidaya. Penelitian sitogenetika ini adalah mendeskripsikan jumlah dan bentuk kromosom *M. boesemani*. Penelitian dilakukan pada bulan April–Oktober 2000 dan Januari–Mei 2001. Sel metafase diperoleh dengan menggunakan teknik jaringan padat. Larva ikan berumur 21 hari direndam dalam kolkisin dosis 0,07–0,09% selama 7,5–9 jam dan hipotonik 0,075M KCl selama 75–100 menit. Analisis kromosom dilakukan setelah preparat diwarnai dengan Giemsa selama 30–60 menit. Ikan *M. boesemani* memiliki kromosom sebanyak 48 (2N) dengan karyotipe yang terdiri atas 4 pasang kromosom berbentuk sub telosentrik/ST (pasangan no.1, 6, 21, dan 23) dan 20 pasang lainnya berbentuk telosentrik (T), namun kromosom seks tidak teridentifikasi.

ABSTRACT

Karyotype of Irian's Rainbow fish (*M. boesemani*). *Melanotaenia boesemani* is endemic in Lake Ajamaru and Lake Aitinjo-Irian Jaya. Attractive color and shape of this species has the economical value (especially the male fish) as ornamental fish that caused the exploitation of this fish so intensified. The problem in rearing of this fish is low survival rate, growth rate, and male percentage. The other problem is a genetic information (such as chromosome) of this fish is so poor. The information is needed for genetic conservation and aquaculture development. Cytogenetic study of *M. boesemani* was focusing on karyotype and to find out the information of chromosome. The research was conducted at Laboratory of Fish Breeding and Genetics, Faculty of Fisheries and Marine Science - IPB on April–October 2000 and January–May 2001. Chromosome plates were prepared by solid tissue technique (using 150 larvae) and analyzed after staining with Giemsa solution. Diploid chromosome number of *M. boesemani* are (2N=48). Karyotyping of this fish shown that 48 chromosomes consist of 4 pairs subtelosentrik(ST) (no.1, 6, 21, and 23) and 20 pairs telosentrik(T). The sex chromosomes have not yet identified.

Kata Kunci: karyotipe, *Melanotaenia boesemani*

PENDAHULUAN

Ikan Pelangi (*Melanotaenia boesemani*) merupakan sumberdaya perairan darat Indonesia. Ikan tersebut hidup endemik di Danau Ajamaru dan D. Aitinjo Irian Jaya, dan ikan dewasa dapat mencapai ukuran 10–12 cm (Allen, 1994). Ikan jantan dewasa berukuran relatif besar, memipih, dan memiliki warna yang indah yaitu bagian posterior jingga menyala, bagian anterior berwarna hijau dan batas kedua warna sangat jelas. Ikan betina berukuran relatif kecil, bentuk tubuh cenderung memanjang dengan warna hijau yang relatif merata. Keindahan warna dan bentuk tubuh yang menarik menyebabkan jenis ikan tersebut terkenal sebagai ikan hias yang memiliki

nilai ekonomi (terutama individu jantan). Kondisi tersebut menyebabkan eksploitasinya di alam sangat tinggi yang dikhawatirkan akan mengancam kelestarian ikan tersebut pada habitat alamnya. Untuk menjaga populasinya di alam dan pada waktu yang bersamaan dapat memenuhi permintaan pasar maka perlu dilakukan usaha pengembangan budidaya yang efektif. Menurut Nurhidayah dan Hadadi (1997) bahwa budidaya ikan pelangi belum memberikan hasil yang memuaskan karena pertumbuhan yang lambat, ketahanan hidup yang rendah, dan persentase ikan jantan yang rendah. Salah satu faktor yang mempengaruhi pengembangan budidaya yaitu tersedianya informasi genetika seperti kromosom. Namun pengetahuan sitogenetika pada ikan pelangi umumnya masih jarang dilaporkan.

Salah satu cara untuk mengetahui sifat genetik suatu spesies yaitu dengan analisis kromosom. Informasi kromosom sangat bermanfaat untuk pengungkapan keanekaragaman, kekerabatan, dan untuk usaha konservasi suatu spesies (Albert, 1989). Selain itu di dalam dunia perikanan pengetahuan mengenai kromosom dan kromosom seks sangat dibutuhkan dalam pengembangan usaha budidaya dengan rekayasa genetika seperti penyediaan ikan monoseks, ploidisasi, hibridisasi atau lainnya. Selain untuk penentuan rekayasa genetika yang diterapkan juga untuk mengidentifikasi hasil rekayasa genetika yang telah diterapkan tersebut.

Beberapa hasil penelitian sitogenetika terhadap beberapa jenis ikan hias antara lain Scheel pada tahun 1972 mendapatkan bahwa ikan pelangi Australia (*Melanotaenia maccullochi*) memiliki kromosom diploid sebanyak 46 (Ojima, 1986), ikan pelangi Sulawesi (*Telmatherina ladigesii*) memiliki kromosom diploid sebanyak 48 (Andriani, 2000), dan Said *et al* (2001) mendapatkan bahwa ikan pelangi merah Irian (*Glossolepis incisus*) memiliki kromosom diploid sebanyak 48.

Penelitian yang dilakukan bertujuan mengidentifikasi karakteristik kromosom ikan pelangi Irian (*M. boesemani*) seperti jumlah dan bentuk kromosom, karyotipe, dan identifikasi kromosom seksnya. Dengan demikian dapat diungkapkan keanekaragamannya dalam rangka menunjang usaha pelestarian maupun untuk pengembangan usaha budidaya ikan tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Pengembangbiakan dan Genetika Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan - Institut Pertanian Bogor pada bulan April—Oktober 2000 dan dilanjutkan pada bulan Januari—Mei 2001. Pembuatan preparat kromosom menggunakan jaringan padat (larva ikan) mengikuti metode Kligerman & Bloom (1977) dan Carman (1992), yang dimodifikasi. Spesimen (larva) yang digunakan merupakan hasil tetapan Laboratorium Produktivitas Perairan Darat Pusat Penelitian Limnologi – LIPI, Cibinong dari induk ikan yang diperoleh dari pedagang ikan hias pada tahun 1997.

Penyiapan Jaringan

Sebanyak 100 larva ikan direndam kolkisin 0,07—0,09% (70—90 mg kolkisin dalam 1 liter air pemeliharaan). Larva dibiarkan berenang selama 7—9 jam. Larva dimatikan dan direndam hipotonik 0,075M KCl selama 75—100 menit. Larva kemudian difiksasi dengan larutan Carnoy yaitu campuran etanol absolut dengan asam asetat glacial (dengan perbandingan 3 : 1) selama 2 x 30 menit.

Pembuatan Preparat

Larva yang telah difiksasi dikeringkan dengan kain kasa atau kertas tisu kemudian ditempatkan dalam kaca obyek cekung dan ditetesi asam asetat 50%. Larva diaduk-aduk perlahan dengan menggunakan *scalpel* sampai terbentuk suspensi. Suspensi diambil dengan menggunakan pipet Pasteur kemudian dibuat *ring* (lingkaran) pada kaca obyek yang diletakkan di atas *hot plate* (45—50°C). Pembuatan lingkaran dilakukan dengan cara menyemprotkan suspensi dari pipet lalu dihisap kembali. Pada tiap preparat dapat dibuat 3—4 lingkaran dan setiap contoh suspensi dapat dibuat 4—5 buah preparat.

Pewarnaan Preparat

Preparat yang diperoleh diwarnai dengan menggunakan Giemsa yang dilarutkan dalam *Phosphat Buffer Saline* pH 6,88 dengan perbandingan 1:30. Perendaman dilakukan selama 30—60 menit. Preparat lalu dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan. Hasilnya diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 400—1000 kali. Preparat dengan sebaran kromosom yang baik dipotret (pada perbesaran 1000 kali) untuk kemudian dianalisis.

Pengamatan dan pengambilan data

Analisis dilakukan terhadap jumlah dan bentuk kromosom. Jumlah kromosom dihitung dan diambil dari 10—20 lingkaran dengan sebaran yang baik. Jumlah kromosom ditentukan berdasarkan frekuensi tertinggi (modus).

Bentuk kromosom ditentukan berdasarkan harga numerik posisi sentromer (HNPS) atau nilai rasio lengan (*r*) yang selang nilainya telah dimodifikasi (lihat Levan *et al.*, 1964). Dengan cara tersebut didapatkan kromosom dengan bentuk metasentrik/M; submetasentrik/SM; subtelosentrik/ST; atau telosentrik/T (Tabel 1).

$$\text{HNPS} = \frac{\text{Panjang lengan pendek kromosom}}{\text{Panjang kromosom total}} \times 100$$

$$\text{Rasio (r)} = \frac{\text{Panjang lengan panjang kromosom}}{\text{Panjang lengan pendek kromosom}} \times 100$$

Pembuatan karyotipe dilakukan dengan memasang-masangkan kromosom homolog, kemudian diurutkan berdasarkan panjang relatif kromosom (PRK) dan bentuk kromosom yang diperoleh. Sedangkan untuk menampilkan penggambaran bentuk kromosom maka dibuat ideogram komposit yang berdasarkan pada PRK dan bentuk kromosom yang diambil dari 5—6 sel terbaik.

Tabel 1. Nilai HNPS, Nilai r , dan Bentuk Kromosom

HNPS		Bentuk kromosom
50,00– 37,50	1,00 – 1,67	Metasentrik (M)
37,49– 25,00	1,68 – 3,00	Submetasentrik (SM)
24,99– 12,50	3,01 – 7,00	Subtelosentrik (ST)
12,49– 00,00	7,01- ~	Telosentrik (T)

Sumber: Levan *et al.* (1964)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penggunaan metode langsung (larva) telah banyak diterapkan oleh peneliti sebelumnya seperti Kligerman dan Bloom (1977), Carman (1992) terhadap beberapa spesies *warmwater fish*, Nurhayati (1997) terhadap ikan pelangi. Selain itu Said (1998) yang meneliti kromosom ikan *M. boesemani* memperoleh bahwa penggunaan larva memberikan hasil yang lebih baik untuk mendapatkan kromosom daripada beberapa jenis jaringan lain (seperti telur dan embryo fase bintik mata) pada fase pertumbuhan ikan tersebut. Keuntungan metode tersebut yaitu lebih mudah memperoleh sel metaphase dalam waktu singkat, biaya lebih murah, serta mudah mengamati sel metaphase pada pinggiran *ring* yang dibuat (Kligerman & Bloom, 1977).

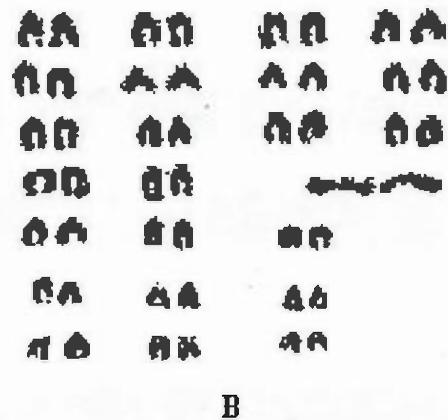
Bentuk dan sebaran kromosom terbaik diperoleh dari larva berumur 21 hari, dosis kolkisin 0,080% dengan waktu inkubasi 7,5 jam, dan perlakuan hipotonik selama 90 menit. Hasil penelitian Carman (1992) menunjukkan bahwa untuk mendapatkan preparat kromosom terbaik dari *warmwater fish* diperlukan waktu inkubasi selama 3—4 jam, dalam 0,07% kolkisin. Sedangkan larva *Chilaterina campsi* membutuhkan waktu inkubasi selama 9 jam dalam 0,07% kolkisin (Nurhayati, 1997). Said (2001) melaporkan bahwa untuk mendapatkan preparat kromosom terbaik dari ikan *Glossolepis incisus* membutuhkan larva berumur 30 dengan waktu inkubasi selama 8 jam dalam kolkisin 0,085% dengan perlakuan hipotonik selama 100 menit. Berdasarkan fenomena tersebut tampaknya untuk mendapatkan preparat kromosom terbaik pada larva ikan dibutuhkan spesifikasi dalam hal umur larva, dosis kolkisin, lama waktu inkubasi baik dalam kolkisin maupun dalam hipotonik. Menurut Flashjans & Rab (1989) bahwa dengan metode perendaman larva, tidak semua larva dapat menghasilkan sebaran kromosom tepat metaphase. Hal tersebut disebabkan oleh adanya perbedaan respon individu terhadap pengaruh kolkisin atau juga kolkisin tidak berfungsi dengan baik karena larva ikan yang stress saat perendaman.

Penentuan jumlah kromosom ditentukan berdasarkan frekuensi tertinggi (modus). Hal serupa telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya seperti Nurhayati (1977) terhadap *M. patoti*, *Ch. campsi*; Sucipto (1977) dan Carman *et al.* (1998) terhadap ikan *Oreochromis* sp; juga Andriani (2000) terhadap ikan *Telmatherina ladigesii*.

Jumlah kromosom *M boesemani* menurut modus adalah 48 (2N) sebanyak 71 sel (Tabel 2, Gambar 1). Pada tabel 2 juga dapat dilihat jumlah kromosom yang kurang daripada modus. Hal tersebut kemungkinan terdapat kromosom yang terlepas dari kelompoknya pada saat pembuatan preparat. Sedangkan jumlah kromosom yang lebih besar daripada modus (88) kemungkinan karena terdapat dua sel yang bedekatan sehingga tampak sel dengan kelompok kromosom tertentu.

Tabel 2. Jumlah sel dengan sebaran jumlah kromosom *M. boesemani*.

Jumlah kromosom	40	44	48	52	56	60
Jumlah sel	3	13	45	25	71	5



Gambar 1. Sel metaphase (A) dan karyotipe (B) *M. boesemani*.

Jumlah kromosom 48 (2N) juga ditemukan pada ikan *Atherian elimus* yang diteliti oleh Arai & Fujiki (1978), ikan *Basichlichtis bonariensis* yang diteliti oleh Arai & Koike (Ojima, 1986). Begitu pula dengan ikan *Telmatherina ladigesii* memiliki kromosom (2N) sebanyak 48 (Andriani, 2000). Ikan-ikan tersebut adalah satu ordo dengan ikan yang diteliti (*Atheriniformes*). Hal yang serupa juga ditemukan oleh Scheel pada tahun 1972 (Ojima, 1986) terhadap ikan *Nematocentris* sp. dan Said (2001) terhadap *G. incisus*. Dua spesies terakhir berada dalam satu famili (*Melanotaeniidae*) dengan ikan yang diteliti. Namun penelitian Nurhayati (1997) mendapatkan bahwa ikan *M.*

boesemani memiliki kromosom 46 (2N). Perbedaan tersebut mungkin karena kesalahan teknis dalam menghitung, mengingat Nurhayati tidak dapat membuat karyotipe dari preparat yang diperolehnya. Berdasarkan fenomena tersebut di atas tampaknya bahwa ordo Atheriniformes atau famili Melanotaeniidae cenderung konservatif dan memiliki kromosom yang cenderung sama yaitu 48 (2N).

Harga numerik posisi sentromer *M. boesemani* berada pada kisaran 0—20,5 (Tabel 3). Berdasarkan nilai tersebut maka didapatkan karyotipe *M. boesemani* dengan jumlah kromosom 48 (2N), yang terdiri atas 4 pasang berbentuk subtelosentrik (ST) yaitu pasangan nomor 1, 6, 21, & 23. Sedangkan 20 pasang lainnya berbentuk telosentrik (T) (Gambar 1B; Tabel 4). Penelitian Andriani (2000) mendapatkan bahwa *T. ladigesii* memiliki karyotipe dengan 3 pasang berbentuk SM, 7 pasang ST, dan 14 pasang berbentuk T. Pada ikan-ikan yang satu famili (Melanotaeniidae) seperti ikan *M. patoti* memiliki 1 pasang kromosom berbentuk SM, 3 pasang akrosentrik (A), dan 16 pasang berbentuk T, juga ikan *Ch. campsi* memiliki 2 pasang kromosom berbentuk ST, dan 21 pasang lainnya berbentuk T (Nurhayati, 1997). Ikan *G. incisus* memiliki 7 pasang kromosom berbentuk ST dan 17 pasang lainnya berbentuk T (Said, 2001). Tampaknya karyotipe Melanotaeniidae cenderung didominasi oleh bentuk telosentrik tanpa adanya yang berbentuk metasentrik.

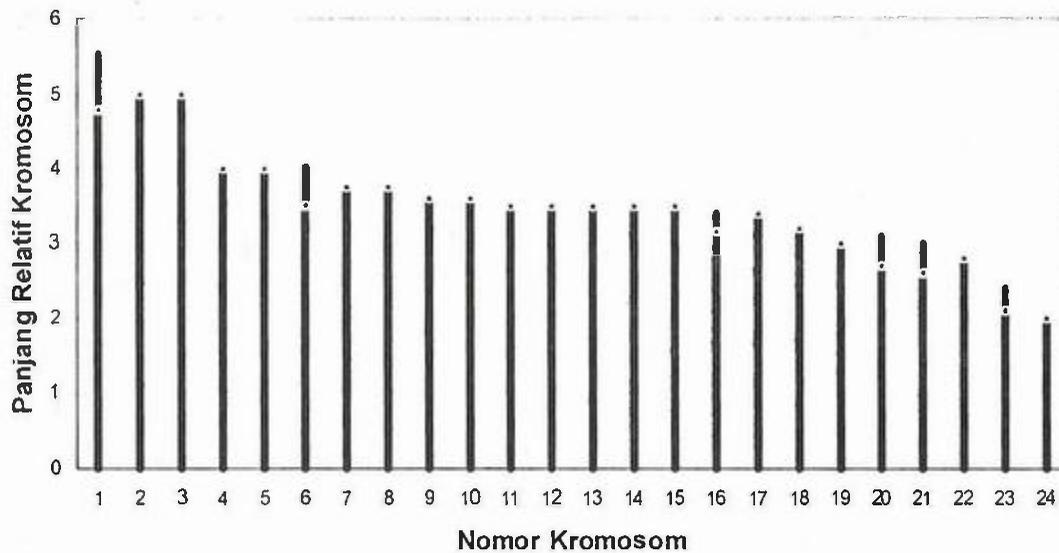
Tabel 3. Nomor kromosom dan HNPS masing-masing.

HNPS	20,5	0	0	0	0	19,8	0	0	0	0	0	0
HNPS	0	0	0	0	0	0	0	12,2	12,5	0	12,5	0

Tabel 4 Nomor dan bentuk kromosom *M. boesemani*.

Bentuk	ST	T	T	T	T	ST	T	T	T	T	T	T
Bentuk	T	T	T	T	T	T	T	T	ST	T	ST	T

Untuk penggambaran lebih jelas dari penampakan urutan pasangan dan bentuk kromosom tersebut dibuat sebuah idiogram komposit karyotipe *M. boesemani* (Gambar 2).



Gambar 2. Idiogram Kariotipe *M. boesemani*

Dari karyotipe maupun idiogram (Gambar 1 dan 2), tidak terlihat pasangan kromosom yang tidak homolog yang diduga sebagai kromosom seks. Dengan demikian kromosom seks *M. boesemani* belum teridentifikasi. Menurut Kligerman & Bloom (1977) bahwa kelemahan metode yang digunakan yaitu sulit mengidentifikasi kromosom seks ikan.

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan nilai tambah dalam usaha konservasi dan pengembangan budidaya ikan tersebut. Informasi kromosom sebagai data dasar sangat menunjang untuk pengembangan teknik produksi dalam budidaya seperti halnya produksi ikan monoseks, ploidisasi, hibridisasi, dan lainnya. Selain itu informasi kromosom bermanfaat untuk mendeteksi kembali keberhasilan rekayasa dengan manipulasi kromosom yang telah diterapkan pada ikan.

KESIMPULAN

Ikan pelangi *M. boesemani* memiliki kromosom diploid sebanyak 48, dengan karyotipe terdiri atas 4 pasang berbentuk submetosentrik (no. 1, 6, 21, & 23) dan 20 pasang lainnya berbentuk telosentrik. Kromosom seks ikan tersebut belum teridentifikasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan pada Prof. Dr. Komar Sumantadinata, MSc. sebagai kepala Lab. Pengembangbiakan dan Genetika Ikan-IPB atas kebaikan dan dukungannya. Kepada Drs.

Tjandra Chrismada, MSc. atas dukungan moril maupun materil. Juga pada Uda Hasan, adik-adik Lina, Julie, Oci, Ema, dan lain-lain yang sangat membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, & J.D. Watson. 1989. *Molecular biology of the cell*. 2 ed. Garland Publishing, Inc., New York: xxxv + 1219 pp.
- Allen, G.R. 1991. Field Guide to the Freshwater Fishes of New Guinea. Christensen Research institute, Madang: xi+268 hlm.
- Andriani, I. 2000. Morfologi, karyotipe, bioekologi, dan reproduksi ikan hias rainbow Sulawesi (*Telmaterina ladigesii*) di Sungai Maros, Sulawesi Selatan. Tesis. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, x+101 hlm.
- Arai, R. & A. Fujiki 1978. Fish chromosome data retrieval list. 1986. Ojima Laboratory Dept. of Biology Faculty of Science. Kwansai Gakui Univ. Nishinomiya, Japan: 241.
- Arai, R. & A. Koike. 1980. Fish chromosome data retrieval list. 1986. Ojima Laboratory Dept. of Biology Faculty of Science. Kwansai Gakui Univ. Nishinomiya, Japan: 241.
- Carman, O. 1992. Chromosome set manipulation in some warm-water fish. Dissertation Doctor of Fisheries Science. The Tokyo University of Fisheries, Japan: x + 165 hlm.
- Carman, O., Alimuddin, S. Sastrawibawa, & H. Arfah. 1998. Karyotype and nucleoleoli number in Red Tilapia. The Fifth Asian Fisheries Forum International Conference on Fisheries and Food Security Beyond the year 2000. November 11--14, 1998. Chiang May, Thailand: 312
- Flajshans, M. & P. Rab. 1989. Chromosome study of *Oncorhynchus mykiss kampoops*. *Aquaculture* 89: 1--8.
- Kligerman, A.D. & S.E. Bloom. 1977. Rapid Chromosome Preparation from Solid Tissue of fishes. *Fish. Res. Board. Can.* 34: 266--269.
- Nurhayati. 1997. Karyotipe ikan Rainbow famili Atherinidae. Skripsi Program Studi Budidaya Perairan, Insitut Pertanian Bogor: vi + 53 hlm.
- Nurhidayat, M.A. & A. Hadadi. 1997. Penerapan teknik peningkatan produksi ikan hias Rainbow (*Melanotaenia boesemani*) jenis kelamin jantan melalui pemberian hormon 17- α Metiltestosteron. Laporan Teknik Proyek Penelitian, Pengembangan, dan Pendayagunaan Biota Darat. Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor: 38--44.
- Ojima. 1986. Fish Chromosome Data Retrieval List. Laboratory Dept. of Biology Faculty of Science. Kwansai Gakui Univ. Nishinomia, Japan: 421 hlm.
- Said, D.S. 1998. Kromosom ikan pelangi Irian (*Melanotaenia boesemani*). Pembakuan metode ekstraksi kromosom. Laporan Teknik Proyek Penelitian, Pengembangan, dan Pendayagunaan Biota Darat. Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor: 19--23.
- Said, D.S., O. Carman, & Abinawanto 2001. Karyotipe Ikan Pelangi Merah (*Glossolepis incisus*). *Aquaculture Indonesia*. Vol 2 No. 1. 19--23.
- Sucipto, A. 1997. Karyotipe ikan Nila Merah (*Oreochromis* sp.). Skripsi Program Studi Budidaya Perairan Institut Pertanian Bogor: vi+ 37 hlm.