

KROMOSOM IKAN PELANGI IRIAN (*Melanotaenia boesemani*)

PEMBAKUAN METODE EKSTRAKSI KROMOSOM

Djamburiah S. Said

PENDAHULUAN

Ikan pelangi (*Melanotaenia boesemani*) merupakan salah satu jenis dari kelompok *Rainbowfishes* yang tergolong dalam famili Melanotaeniidae dengan 40 spesies, dan genus *Melanotaenia* memiliki 22 spesies (Allen & Cross, 1980). Ikan ini hanya hidup di daerah Irian Jaya sehingga merupakan ikan asli Indonesia. Keindahan penampilan ikan ini sangat menarik perhatian sehingga digolongkan dalam jenis ikan hias yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Namun demikian informasi ilmiah mengenai ikan ini masih jarang ditemukan, khususnya informasi sitogenetiknya.

Individu yang berasal dari satu jenis organisma memiliki jumlah, ukuran dan bentuk kromosom yang relatif sama. Pengertian ini digunakan untuk menentukan posisi taksonomi suatu jenis dan dapat juga dipakai untuk menunjukkan kekerabatannya dengan yang lain. Analisis kromosom juga dapat dipakai untuk mengetahui proses evolusi suatu organisma karena adanya kromosom sangat penting dalam konservasi suatu spesies dan evolusi itu sendiri merupakan hasil interaksi antara gen dengan lingkungan (White, 1973 dalam Said, 1986). Garber (1974) mengatakan bahwa makin banyak perbedaan karyotipe yang terdapat antara dua spesies, makin jauh kekerabatannya, sebaliknya makin kecil perbedaan karyotipe tersebut menunjukkan kekerabatan yang relatif dekat.

Selain itu, analisis kromosom juga dapat dipakai untuk mempelajari keragaman (genetis) biologis antara spesies, dan untuk mengidentifikasi informasi sitogenesis sebelum spesies tersebut mendapat perlakuan manipulasi kromosom.

Di daerah Irian paling sedikit terdapat lima spesies ikan pelangi (*Melanotaenia*) yang merupakan sumberdaya perairan darat Indonesia. Oleh sebab itu sangat dibutuhkan

informasi genetik (DNA/kromosom) ikan-ikan tersebut sebagai salah satu langkah dalam usaha pelestariannya.

Pada penelitian awal ini baru menggunakan jenis *M. boesemani* yang merupakan langkah awal sebelum mengkoleksi yang lainnya. Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi genetik mengenai karyotipe (jumlah, bentuk, ukuran) dan spesifikasi kromosom dari ikan pelangi Irian. Pada tahap awal ini baru mencari teknik/cara yang tepat untuk ekstraksi kromosom *M. boesemani*.

BAHAN DAN METODE

Metode ekstraksi (isolasi) kromosom organisma (katak, ikan, dll) telah banyak dilakukan oleh peneliti-peneliti terdahulu, namun masing-masing spesies memiliki kondisi spesifik pada beberapa tahap perlakuan dan sampel yang digunakan, seperti perlakuan colchicine, hipotonik, teknik *spread* dan lain-lain agar dapat diperoleh preparat yang baik dan dapat dianalisis.

Ada dua metode yang telah dicoba yaitu :

1. Metoda sentrifugasi

Pada metode ini telah digunakan beberapa jenis sampel seperti telur-telur ikan yang telah terbuahi (Said, 1997), telur dengan fase bintik mata, larva ikan umur 1 minggu dan anakan berumur 1 bulan. Pemilihan jenis bahan untuk sampel ini dengan anggapan bahwa pada fase-fase tersebut jaringan berada pada kondisi pembelahan sel yang sedang aktif.

Masing-masing percobaan dilakukan dengan cara merendam sampel (100 butir telur, atau 100 larva atau 50 anakan ikan) dalam larutan colchicine 0,1 % selama 3-4 jam. Sampel kemudian dipindahkan kedalam larutan hipotonik 0,4 % KCl, lalu dihancurkan dengan menggunakan *tissue grinder*. Setelah 20-30 menit sampel disentrifugasi pada 1000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh difiksasi dengan larutan Carnoy (Asam asetat glasial : Metanol absolut = 1 : 3). Sampel kemudian disentrifugasi lagi dengan waktu dan kecepatan yang sama. Pekerjaan ini diulangi sampai 2-3 kali. Endapan terakhir dihomogenkan dengan larutan Carnoy, kemudian dengan menggunakan

pipet Pasteur sampel diteteskan di atas kaca objek dingin dengan jarak sekitar 20-30 cm. Preparat kemudian dikeringkan di atas lampu spiritus dan akhirnya diwarnai dengan Giemsa-Buffer Phosphat pH 6,88 (1:30) selama 10-15 menit. Preparat dicuci dengan akuades mengalir, dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x.

2. Metode *Chopping* (tanpa sentrifugasi)

Pada percobaan ini hanya digunakan sampel dari telur yaitu dengan urutan kerja yang sama. Telur-telur direndam dalam larutan 0,1 % colchicine selama 3,5 jam, lalu dipindahkan ke dalam larutan hipotonik 0,4 % KCl. Setelah 30 menit telur dipindahkan dan difiksasi dengan larutan Carnoy selama 20 menit. Sepuluh butir telur dipindahkan ke dalam kaca objek yang telah berisi 0,05 ml akuades. Telur kemudian dihancurkan dengan menggunakan batang *tissue grinder* lalu diratakan pada kaca objek. Preparat kemudian difiksasi lagi dengan larutan Carnoy selama 10-15 menit. Preparat akhirnya dikeringkan dan diwarnai dengan Giemsa dengan perbandingan dan waktu yang sama dengan metode pertama. Preparat yang diperoleh dibilas dengan akuades mengalir, dikeringkan dan diamati dengan menggunakan mikroskop pembesaran 1000 x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Metode sentrifugasi

Pada metode sentrifugasi penggunaan telur memberikan hasil yang relatif baik dibandingkan dengan lainnya. Diperoleh preparat kromosom dengan sel dalam kondisi metafase. Tampak kromosom-kromosom dengan jelas namun penyebarannya tidak bagus (kromosom saling menumpuk), sehingga tidak dapat dianalisis.

Kromosom terlihat masih menumpuk dalam sel (sel tidak mengalami lisis). Hal ini kemungkinan karena perlakuan larutan hipotonik yang kurang sempurna (dalam lamanya perlakuan), disamping itu juga diduga bahwa telur banyak mengandung *yolk* (kuning telur) yang dapat mempengaruhi daya kerja dari larutan hipotonik. Selain itu kemungkinan cara menyempotkan suspensi pada preparat yang belum sempurna.

Sedangkan penggunaan telur dengan fase bintik mata dan anakan umur 1 bulan, menghasilkan endapan yang kotor berwarna kehitaman, sehingga sulit dikerjakan lebih lanjut, dan sampel larva umur satu minggu menghasilkan endapan yang sangat sedikit, sehingga sulit untuk dibuat preparat tetes.

2. Metode *Chopping*

Berdasarkan pengalaman dengan metode pertama, maka pada metode chopping ini tetap digunakan sampel telur-telur yang telah terbuahi (kondisi diploid). Dengan metode ini diperoleh preparat yang menunjukkan hasil yang relatif lebih baik dari lainnya. Tampak banyak sel-sel dengan kondisi metafase dengan kromosom tersebar relatif baik. Terlihat dua kelompok kromosom yaitu yang berukuran besar dan berukuran kecil. Tiap sel yang diamati menunjukkan jumlah kromosom yang bervariasi. Kromosom golongan besar berjumlah antara 6-12 buah, sedangkan kromosom berukuran kecil bervariasi antara 18 sampai dengan lebih dari 20 kromosom. Berdasarkan kenyataan ini, analisis jumlah, bentuk dan ukuran kromosom belum dapat dilakukan karena jumlah sampel yang diperoleh masih sangat terbatas dan bervariasi, dengan demikian belum dapat ditentukan karyotipe ataupun jumlah kromosom *M. boesemani* ini.

Dari beberapa kali percobaan yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa larutan-larutan yang digunakan dalam penelitian kromosom ikan pelangi harus dalam kondisi *fresh* (dibuat sesaat waktu akan digunakan) seperti larutan colchicine, hipotonik, maupun Carnoy. Selain itu pembuatan preparat harus dilakukan sesaat setelah perlakuan. Preparat yang dibuat pada keesokan harinya tidak memberikan hasil yang baik (walaupun disimpan pada suhu 4°C).

Penelitian masih akan dilanjutkan, apabila bahan-bahan maupun sarana yang dibutuhkan tersedia dalam jumlah yang memadai dengan menggunakan teknik yang lebih baik seperti pewarnaan *banding* dengan fase kontras. Dengan teknik ini akan dapat diketahui urutan gen dalam kromosom dan memudahkan dalam mencari pasangan kromosom yang homolog.

KESIMPULAN

Metode chopping memberikan hasil yang lebih baik dalam mendapatkan kromosom ikan pelangi dari sampel telur diploid.

Pembuatan preparat kromosom harus menggunakan bahan-bahan atau larutan-larutan yang dibuat sesaat akan digunakan.

Pembuatan preparat harus dilakukan sesaat setelah perlakuan berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Garber, E.D. 1974. Cytogenetics : an introduction. Tata Mc Graw-Hill Pub. Co Ltd. New Delhi. 259 pp.
- Said, D.S. 1986. Perbandingan Karyotipe *Rana erythraea* dan *Rana chalcanota*. Thesis Sarjana Biologi, FMIPA-Institut Teknologi Bandung. 101 pp.
- , 1997. Kromosom Ikan Pelangi (*Melanotaenia boesemani*). Laporan Teknik. Proyek Penelitian, Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat Tahun 1996/1997, hal 46-48.