

# PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN REKAYASA GENETIKA BIOTA POTENSIAL PERAIRAN DARAT

Fachmijany Sulawesty

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Ikan hias mempunyai nilai ekonomis tinggi karena merupakan salah satu komoditi ekspor. Nilai ekonomis ikan hias ditentukan oleh penampilannya yang menarik/indah. Ada berbagai jenis ikan hias asli Indonesia yang indah dan bernilai ekonomis, diantaranya adalah *Botia macranchantus* Bleeker) dari Jambi, berbagai jenis ikan pelangi (*Melanotaenia* spp.), dan pelangi merah (*Glossoplepis incisus*) dari Irian. Karena harganya yang cukup tinggi maka eksploitasinya di alam semakin meningkat, hal ini dikhawatirkan akan menyebabkan kepunahan di habitat aslinya.

Ada beberapa hal yang dapat dilakukan untuk mengantisipasi punahnya biota-biota tersebut di habitat aslinya, diantaranya adalah mengupayakan teknik peningkatan produksi dan teknik untuk mendapatkan ikan hias yang berpenampilan indah yang dapat dilakukan dengan cara rekayasa genetika. Selain itu diperlukan kegiatan penunjang seperti mengkoleksi informasi genetika.

Dari kegiatan-kegiatan di atas diharapkan didapat teknik untuk meningkatkan produksi ikan hias yang bermutu tinggi sehingga eksploitasi di habitat aslinya akan berkurang, dengan demikian keanekaragaman biota perairan darat dapat dilestarikan.

### Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah :

- mendapatkan spesies ikan hias yang bermutu tinggi (berpenampilan indah dan cepat tumbuh).
- penguasaan teknik rekayasa genetika (*sex reversal*, mikromanipulasi, manipulasi kromosom, dan lain-lain) yang tepat untuk ikan hias.

## **Ruang Lingkup Kegiatan**

Pada tahun anggaran 1997/1998 ruang lingkup kegiatan meliputi pengkajian teknik reproduksi untuk ikan botia (*Botia macracanthus* Bleeker), ikan pelangi (*Melanotaenia* spp.), dan ikan pelangi merah (*Glossolepis incisus*), serta penelitian lainnya yang menunjang penelitian utama.

## **BAHAN DAN METODE**

Kegiatan Penelitian dan Pengembangan Rekayasa Genetika Biota Potensial Perairan Darat merupakan kegiatan lanjutan dan akan terus berlangsung untuk tahun anggaran selanjutnya. Semua kegiatan penelitian merupakan kegiatan laboratorium yang dilakukan di laboratorium Fisiologi, laboratorium Genetika dan Laboratorium Basah Puslitbang Limnologi – LIPI, Cibinong. Sedangkan untuk studi banding, studi pustaka, dan konsultasi dilakukan kunjungan ke Instansi terkait di Jakarta, Bandung, Sukabumi, dan Sukamandi

Ada beberapa kegiatan penelitian yang dilakukan :

### **Manipulasi kromosom**

Kegiatan manipulasi kromosom merupakan kegiatan lanjutan, Ikan hasil *sex reversal* telah dibesarkan mencapai ukuran 2,0-2,5 cm. Pendeteksian secara morfologi (penampilan warna dan bentuk tubuh) menunjukkan bahwa jantan yang diperoleh sebesar 66,67 % dari jumlah ikan yang hidup (masing-masing perlakuan berjumlah 12 ekor) untuk pemberian hormon  $\alpha$  methyl testosterone masing-masing perlakuan (kontrol, 20 mg/kg pakan, 40 mg/kg pakan, dan 80 mg/kg pakan), hasil ini tidak memperlihatkan perbedaan antar perlakuan. Setelah itu dilakukan pengamatan ulangan secara morfologi ikan-ikan yang hidup, dan dibandingkan dengan pengamatan pertama apakah terjadi perubahan pada jantan yang dihasilkan.

### **Uji hormon pemacu pertumbuhan**

Penelitian ini dilakukan pada ikan botia, karena ikan ini memiliki nilai ekonomis tinggi dan merupakan komoditi ekspor, tetapi diketahui mempunyai pertumbuhan sangat lambat. Penelitian dilakukan dengan cara memberikan hormon pemacu pertumbuhan (hormon  $\alpha$  methyltestosterone) dengan dosis 5 mg/kg pakan, 7 mg/kg pakan, 9 mg/kg pakan kepada ikan botia ukuran 7,5 cm secara oral, yaitu ditambahkan dalam makanannya. Sebagai pembanding diberi makanan yang tidak ditambahkan hormon. Tolok ukur yang dipakai untuk melihat pengaruh perlakuan adalah pertumbuhan. Selain itu dianalisis juga gonad dan hatinya secara histologis untuk melihat apakah pemberian hormon mempengaruhi organ-organ tersebut.

### **Uji karotenoid pada ikan**

Uji karotenoid ini terdiri dari dua macam, yaitu terhadap kualitas warna ikan pelangi merah jantan (merupakan kelanjutan penelitian tahun sebelumnya), dan terhadap kualitas gonad ikan pelangi merah betina dan botia.

Uji karotenoid untuk meningkatkan kualitas warna pada ikan pelangi merah jantan dilakukan dengan menambahkan karotenoid total dari rebon sebesar 40, 80, 120 mg/kg pakan kedalam makanan yang diberikan pada ikan pelangi merah (*Glossolepis incisus*) jantan berukuran 5,08 cm. Karotenoid diekstraksi dari rebon segar menggunakan metode Zakaria & Simpson (1979). Pengamatan dilakukan selama 40 hari, didasarkan pada penelitian Satyani dan Slamet (1997) bahwa untuk ikan botia warna maksimal terjadi sampai hari ke 30. Tolok ukur yang digunakan dalam melihat perbedaan pengaruh karotenoid total dalam pakan adalah penampilan warna pada tubuh dan sirip ikan (*Toka Color Standard*), sebagai data penunjang dilihat pertambahan berat tubuh dan tingkat kelangsungan hidup.

Uji karotenoid untuk meningkatkan kualitas gonad ikan pelangi merah betina dilakukan dengan cara menambahkan karotenoid kedalam pakan sebesar 0, 50, 100 mg/kg pakan dan diberikan pada ikan. Tolok ukur yang dipakai untuk melihat pengaruhnya terhadap gonad adalah dengan menganalisa kandungan karotenoid dalam gonadnya dan menganalisa tingkat kematangan gonad secara histologis. Untuk

menentukan ukuran ikan yang tepat, yaitu yang belum masuk dalam perkembangan kematangan gonad maka dilakukan pengamatan awal, dengan cara menganalisa gonad dari enam ikan betina ukuran 5,08 - 6,66 cm dan berat 2,09 - 4,29 gram secara histologis dengan metode parafin untuk melihat tingkat kematangan gonadnya.

Uji karotenoid untuk meningkatkan kualitas gonad ikan botia dilakukan dengan cara menambahkan berbagai jenis karotenoid seperti astaxanthin, cantaxanthin, dan karotenoid dari rebon dengan dosis 60 mg/500 gram pakan, sebagai pembanding adalah makanan tanpa karotenoid. Tolok ukur yang dipakai untuk melihat pengaruhnya terhadap gonad adalah menganalisa kandungan karotenoid pada gonad dan tingkat kematangan gonad secara morfologi dan histologi. Pada tahap awal dilakukan analisis gonad terhadap enam ekor ikan berukuran 12,3-13,5 cm dan berat 49,81-82,07 gram.

### **Analisis karyotype/sitogenetik**

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh informasi keragaman genetik ikan-ikan hias asli Indonesia seperti pelangi, sehingga dapat dibuat suatu peta genetik ikan hias Indonesia. Tahap pertama yang dilakukan adalah analisis kromosom terhadap ikan pelangi Irian (*Melanotaenia boesemani*). Preparat dibuat dari sel-sel jaringan tubuh ikan yang sedang aktif bermitosis, mitosis dan stadium metafase dapat dirangsang dan dipertahankan dengan menggunakan *colchicine*. Ada dua metode yang dicoba, yaitu metode sentrifugasi dan metode *chopping*/tanpa sentrifugasi (Said, 1998). Preparat diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x.

### **Analisis suhu dan cahaya**

Penelitian ini merupakan teknik untuk mempercepat/meningkatkan produksi ikan. Perlakuan suhu dan cahaya dilakukan untuk mencari kondisi lingkungan (hasil manipulasi kondisi alam) yang optimal untuk aktifitas pemijahan, penetasan, atau pertumbuhan ikan. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan, untuk tahun ini melihat perilakunya pada musim kemarau. Manipulasi lingkungan dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya (Said & Tanjung, 1996), yaitu suhu sama untuk 4 ruangan ( masing-masing akuarium : suhu air alami, 29 °C, 31 °C), cahaya berbeda untuk masing-masing ruangan (Alamiah ;

12T-12G; 15T-9G; dan 18T-6G). Tolok ukur yang dipakai untuk melihat pengaruh perlakuan adalah pengaruhnya terhadap tingkah laku pemijahan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kegiatan Tolok Ukur Penelitian dan Pengembangan Biota Potensial Perairan Darat pada tahun anggaran 1997/1998 merupakan kelanjutan dari kegiatan tahun sebelumnya, yaitu mengenai teknik-teknik atau perekayasaan dalam perlakuan sehingga biota yang dipilih mempunyai nilai tambah baik dari segi kualitas maupun kuantitas. Kegiatan penelitian manipulasi kromosom pada tahun ini melanjutkan melihat jenis kelamin ikan hasil *sex reversal*, uji karotenoid dapat meningkatkan kualitas warna pada ikan pelangi merah jantan, dilakukan juga analisa gonad pada ikan pelangi merah betina dan botia, untuk informasi keragaman genetika telah dapat dibuat preparat untuk melihat kromosom pada analisis karyotip (sitogenetik), dan untuk manipulasi lingkungan dapat dilihat perbedaan tingkah laku pemijahan pada musim kemarau.

Pengamatan jenis kelamin ikan hasil *sex reversal* pada tahap kedua tidak bisa dilakukan pada seluruh ikan hasil perlakuan, karena terjadi kematian massal pada ikan-ikan yang diberi perlakuan penambahan *methyltestosterone* sebesar 40 mg/kg pakan dan kontrol. Pada pengamatan kedua ini ternyata mengalami perubahan hasil, pada tahap pertama dari semua perlakuan didapat 66,6 % jantan. Pada tahap kedua terjadi penurunan pada persentase jantan yang dihasilkan, yaitu pada perlakuan 20 mg *methyltestosterone*/kg pakan ikan jantannya turun menjadi 50,0 % dan perlakuan 80 mg *methyltestosterone*/kg pakan turun menjadi 33,3 % . Ada dua kemungkinan mengapa hal ini terjadi yaitu perubahan warna belum permanen atau ikan dalam kondisi interseks (Said dan Yoga, 1998). Untuk lebih menunjang hasil yang didapatkan, dapat dilakukan analisis secara mikroskopis yaitu dengan analisa gonad secara histologis yang rencananya akan dilakukan.

Hormon steroid seperti *17- $\alpha$ -methyltestosterone* selain digunakan untuk menstimulir pertumbuhan juga dapat dipakai untuk kegunaan lain seperti pembalikan seks/*sex reversal* dengan dosis tertentu, sehingga perlu diamati pengaruhnya terhadap

organ-organ lain seperti gonad dan hati. Pada analisa awal gonad ikan botia baru dilihat secara makroskopis dimana terlihat gonad belum berkembang, berukuran  $\pm 1$  cm terdiri dari 2 lobus (Haryani dan Sulawesty, 1998). Untuk lebih detailnya akan dilihat secara mikroskopis.

Penelitian tentang kualitas warna ikan yang diberi karotenoid dari ekstraksi rebon telah berhasil dilakukan pada ikan botia dengan pemberian sebesar 120 mg/kg pakan memberikan warna terbaik (Husni, 1997), pada penelitian terhadap ikan pelangi merah jantan ternyata dengan pemberian karotenoid total sebesar 120 mg/kg pakan juga memberikan warna tertinggi. Tetapi hasil ini belum maksimal, karena dari persamaan regresinya belum mencapai titik puncak artinya jika ditambahkan kadarnya masih bisa meningkatkan warna tubuh ikan, dan pada titik tertentu diduga penambahannya tidak akan meningkatkan warnanya lagi. Ini disebabkan ikan mempunyai daya serap tertentu terhadap karotenoid (Sulawesty, 1998). Selain itu pemberian karotenoid total selama 40 hari terhadap ikan pelangi merah ternyata masih menaikkan nilai warnanya, sedangkan untuk ikan botia setelah 30 hari cenderung tetap atau menurun (Satyani & Slamet, 1997). Dari penelitian ini diduga pemberian karotenoid untuk ikan pelangi merah masih bisa ditambahkan lagi untuk mendapatkan warna yang maksimal disamping juga diperlukan waktu pemberian karotenoid yang lebih lama dibanding ikan botia.

Analisis gonad untuk penelitian mengenai pemberian karotenoid dalam makanan terhadap kualitas gonad ikan pelangi merah betina menunjukkan bahwa ikan berada pada tingkat kematangan gonad I sampai IV. Dari enam ekor ikan pelangi merah betina, tiga ekor berada pada tingkat kematangan gonad III, dan satu ekor (ukuran 5,08 cm) pada tingkat kematangan gonad IV, dua ekor ikan diduga sudah memijah sebelumnya (Haryani dan Sulawesty, 1998). Dari pengamatan ini dapat disarankan bahwa ikan pelangi merah betina yang akan digunakan dalam penelitian peningkatan kualitas gonad dengan penambahan karotenoid sebaiknya berukuran kurang dari 5 cm yang belum memasuki tahap kematangan gonad.

Analisis gonad awal untuk ikan botia secara morfologi mendapatkan ikan pada tingkat kematangan gonad II sampai IV, dimana 2 ekor ikan pada TKG II, 3 ekor pada

TKG III, dan 1 ekor pada TKG IV (Nasution, 1998). Untuk melihat secara detail akan dianalisa secara histologis.

Analisis kromosom dapat digunakan untuk menentukan posisi taksonomis suatu jenis, menunjukkan kekerabatan antar jenis, mengetahui proses evolusi suatu organisme, mempelajari keragaman (genetis) biologis antar spesies, dan untuk mengidentifikasi informasi sitogenetis sebelum spesies tersebut mendapatkan perlakuan manipulasi kromosom. Dari dua metode yang dicoba, yaitu metode sentrifugasi dan metode *chopping* (tanpa sentrifugasi) ternyata hasil yang didapatkan lebih baik pada metoda *chopping*, sedangkan sampel yang digunakan yang baik adalah dengan menggunakan telur yang telah terbuahi (kondisi diploid). Dari percobaan ini didapatkan juga bahwa larutan-larutan yang digunakan harus dalam kondisi baru (dibuat saat akan digunakan), dan pembuatan preparat harus dilakukan bersamaan dengan pemberian perlakuan (Said, 1998). Untuk pengamatan lebih lanjut harus disiapkan sampel yang lebih banyak, dan teknik yang lebih baik dan mudah agar hasil yang didapatkan sesuai dengan yang diinginkan. Jika analisis untuk ikan pelangi *Melanotaenia boesemani* ini telah berhasil, maka penelitian sejenis untuk ikan pelangi yang lain akan dilakukan.

Kombinasi suhu dan cahaya merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi siklus reproduksi ikan. Dari hasil pengamatan pengaruh suhu dan fotoperiode terhadap tingkah laku pemijahan ikan pelangi Irian pada musim kemarau didapatkan bahwa ovulasi tertinggi berlangsung pada kombinasi suhu air alami dengan fotoperiode alamiah, sedangkan pada kombinasi suhu tinggi (31 °C) dengan fotoperiode panjang memberikan pengaruh negatif terhadap pemijahan (Said, 1998). Dari pengamatan ini dapat disarankan bahwa pada musim kemarau pemijahan ikan pelangi Irian (*Melanotaenia boesemani*) sebaiknya dilakukan pada kondisi alamiahnya.

Secara umum penelitian-penelitian di Litbang Rekayasa Genetika Biota Potensial Perairan Darat telah dilakukan dengan baik, walaupun banyak yang masih merupakan pengamatan awal. Hal ini terutama disebabkan oleh beberapa kendala teknis, dan kurang matangnya perencanaan, untuk selanjutnya akan diusahakan kendala-kendala ini dapat diatasi agar tujuan dari Tolok Ukur dapat tercapai.

## KENDALA

Objek penelitian dan pengembangan rekayasa genetika biota potensial perairan darat adalah ikan, organisma ini membutuhkan sarana pemeliharaan yang cocok untuk kehidupannya sehingga dapat tumbuh dan berkembang. Sarana pemeliharaan sangat tergantung pada sistem aliran listrik yang ada, karena seperti diketahui laboratorium Puslitbang Limnologi-LIPI aliran listriknya sering berhenti dalam waktu yang cukup lama yang tentunya akan mengganggu jalannya penelitian, yaitu mengakibatkan kematian massal ikan-ikan yang dipelihara. Selain itu pengadaan ikan sangat dipengaruhi oleh musim, jika musimnya sudah lewat maka akan sulit didapatkan ikan yang dibutuhkan (contoh : ikan botia), atau ikan betina dalam jumlah banyak agak sulit didapatkan karena untuk ikan hias ikan jantannya yang bernilai tinggi (contoh : ikan pelangi merah).

Kendala lainnya adalah pengadaan bahan terutama yang impor agak mundur dari jadwal yang direncanakan karena harus dipesan dahulu, turunnya nilai rupiah, dan diberhentikannya dana sampai bulan November 1997.

Untuk penelitian mikromanipulasi pada tahun ini ditunda karena peneliti yang bersangkutan akan melanjutkan sekolahnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Husni, S. 1997. Tingkat perubahab warna ikan botia (*Botia macracanthus*) yang diberi pakan dengan karotenoid dari ekstrak rebon. Said D.S, dkk (red.) : Laporan Teknik Proyek Penelitian, Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat, tahun 1996/1997. Hal. : 38 - 45.
- Haryani, G.S., dan F. Sulawesty. 1998. Efek hormon 17-a-methyltestosterone terhadap pertumbuhan ikan botia, *Botia macracanthus*. Laporan Teknis.
- Haryani, G.S., dan F. Sulawesty. 1998. Analisis histologis ikan pelangi merah betina (*Glossolepis incisus*). Laporan Teknis.
- Nasution, S.H. 1998. Pengaruh berbagai sumber karotenoid terhadap perkembangan gonadiklan botia (*Botia macracantha* Blkr.). Laporan Teknis.

- Said, D.S. dan L. R. Tanjung. 1996. Pengaruh suhu dan fotoperiode terhadap kemampuan pemijahan ikan pelangi (*Melanotaenia* spp.). Dalam : Haryani G.S., dkk (red.) : Prosiding Ekspose Hasil Penelitian Puslitbang Limnologi-LIPI 1995/1996. Hal.: 125- 131.
- Satyani, Darti dan Slamet Sugito. 1997. Astaxanthin sebagai suplemen pakan untuk peningkatan warna ikan hias. Warta Penelitian Perikanan Indonesia. Puslitbang Perikanan. Vol. III, Nomor 1 : 6-8.
- Said, D.S., dan G.P. Yoga. 1998. Percobaan pembalikan seks (*sex reversal*) pada ikan pelangi Irian (*Melanotaenia boesemani*) dengan hormon *methyltestosterone*. Laporan Teknis.
- Said, D.S. 1998. Kromosom ikan pelangi Irian (*Melanotaenia boesemani*), pembakuan metode ekstraksi kromosom. Laporan Teknis.
- Said, D.S., dan H. Fauzi. 1998. Pemijahan ikan pelangi Irian (*Melanotaenia boesemani*) pada suhu dan fotoperiode berbeda, perilaku pada musim kemarau. Laporan Teknis.
- Sulawesty, F. 1998. Penggunaan karotenoid total dari rebon terhadap penampilan ikan pelangi merah (*Glossolepis incisus*) betina. Laporan Teknis.
- Zakaria, M., dan K. Simpson. 1979. Use of reversed phase high performance liquid chromatographic analysis for determination of provitamin A carotenes in tomatoes. J. Chromat. 176 : 109- 117.