

Ploidisasi Ikan *Mystacoleucus padangensis* Bleeker, 1852 (Pisces: Cyprinidae) Melalui Induksi Kejut Panas (*Heat Shock*)

Ploidization of *Mystacoleucus padangensis* Bleeker, 1852 (Pisces: Cyprinid) with Heat Shock Induction

Dian Juliadmi^{*}, Dewi I. Roesma, dan Djong H. Tjong

Laboratorium Genetika dan Sitologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas,
Kampus UNAND Limau Manis Padang – 25613

^{*}Koresponden: dianjuliadmi@gmail.com

Abstract

Ploidization of *Mystacoleucus padangensis* Bleeker, 1852 (Pisces: Cyprinid) with heat shock induction has been carried out from January to September 2014 at Genetics and Cytology Laboratory, Biology Department of Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Andalas University. This study aimed to find suitable temperature for ploidization on *M. padangensis*. The study used Completely Randomized Design method with five treatments and five replications. The treatments were various water temperatures (i.e. 27°C as control, 36°C, 38°C, 40°C, and 42°C). The results showed that triploid individuals were found in all treatments but not control.

Keywords: ploidization, *Mystacoleucus padangensis*, heat shock

Pendahuluan

Mystacoleucus padangensis Bleeker, 1852 (ikan bilih) adalah ikan yang hidup di Danau Singkarak, Sumatera Barat, Indonesia (Kottelat, Whitten, Kartikasari, and Wirjoatmodjo, 1993; Direktorat Jendral Perikanan Tangkap, 2005) dan berstatus langka (Direktorat Perlindungan dan Pengawetan Alam, 1980) serta bernilai komersial (Syandri, 1990). Syandri (1997, 2008) menegaskan bahwa *M. padangensis* hanya ditemukan di Danau Singkarak, Sumatera Barat. Berdasarkan kajian molekuler menggunakan sekuen DNA sitokrom *b*, Roesma (2011) menyatakan bahwa *M. padangensis* adalah sinonim baru dari *M. marginatus* dan dipertimbangkan sebagai morfotipe dari *M. marginatus*. Pada tahun 2003, Kartamihardja dan Sarnita (2008) melaporkan bahwa ikan *M. padangensis* ini telah diintroduksi ke Danau Toba, Sumatera Utara.

M. padangensis termasuk salah satu jenis ikan yang memiliki potensi komersial sebagai sumber makanan dengan nilai

ekonomi yang tinggi yaitu Rp.59.042/kg (harga pada tahun 2012) (Direktorat Jendral Perikanan Tangkap, 2012) dan pada tahun 2014 sudah mencapai harga Rp. 80.000/kg. Fluktuasi produksi penangkapan ikan *M. padangensis* dari tahun 2010 hingga 2012 secara berurutan yaitu 19.205 ton, 15.870 ton dan 16.310 ton. Nilai tersebut menggambarkan dari tahun 2010 ke 2011 terjadi penurunan produksi 7,30% dan dari tahun 2011 ke 2012 terjadi peningkatan produksi 2,77% (Direktorat Jendral Perikanan Tangkap, 2012). Penurunan produksi tersebut disebabkan oleh berbagai masalah.

Salah satu permasalahan yang terjadi adalah eksploitasi yang intensif (Junaidi, Patriono and Sastra, 2009) dengan penggunaan alat tangkap yang kurang ramah lingkungan sehingga ikan dengan berbagai ukuran ikut tertangkap (Kartamihardja and Sarnita, 2008). Sejak tahun 2000 ikan hasil penangkapan memiliki ukuran yang lebih kecil dari tahun sebelumnya (Syandri, 1996) dengan panjang total maksimum hanya mencapai

9,0 cm (Kartamihardja dan Sarnita, 2008) yang tercatat dalam Azhar (1993) dapat mencapai 11,6 cm. Oleh karena itu dibutuhkan suatu pengelolaan terhadap ikan tersebut seperti pembudidayaan dengan manipulasi genetika yaitu ploidisasi untuk menghasilkan individu yang memiliki keunggulan tertentu. Ploidisasi merupakan upaya memanipulasi variasi jumlah kromosom yang dapat dilakukan antara lain dengan induksi kejutan panas (*heat shock*).

Penelitian mengenai ploidisasi telah dilakukan pada beberapa kelompok ikan untuk menghasilkan ikan poliploid melalui induksi kejutan panas. Herbst (2002) menyatakan bahwa ikan *Danio rerio* (ikan zebra) yang diinduksi kejutan panas 41°C pada waktu 11, 13, dan 15 menit setelah fertilisasi selama 2 menit menghasilkan tetraploid 10%. Haryanto (2004) melaporkan bahwa ginogenesis ikan *Puntius tetrazona* Bleeker pada suhu 40°C selama 1,5 menit dengan waktu awal pemberian kejutan 1 menit setelah fertilisasi menghasilkan persentase SR-28 (*Survive Rate* umur 28 hari) $10,58 \pm 11,2$ %. Berdasarkan uraian diatas menggambarkan bahwa setiap ikan memiliki suhu, waktu awal kejutan dan lama kejutan optimum yang bervariasi untuk menghasilkan individu poliploid. Penelitian mengenai ploidisasi ikan *M. padangensis* belum ada dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suhu yang dapat digunakan sebagai penginduksi ploidisasi pada ikan *M. padangensis*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan diberikan selama 1,5 menit pada telur yang telah terfertilisasi. Waktu pemberian kejutan dilakukan pada saat 3 menit setelah fertilisasi (Mukti, 2005). Perlakuan adalah lima variasi suhu sebagai kejutan panas yaitu kontrol 27°C (tanpa kejutan panas), kejutan panas 36°C, 38°C, 40°C, dan 42°C. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak lima kali ulangan sehingga diperoleh 25 satuan percobaan.

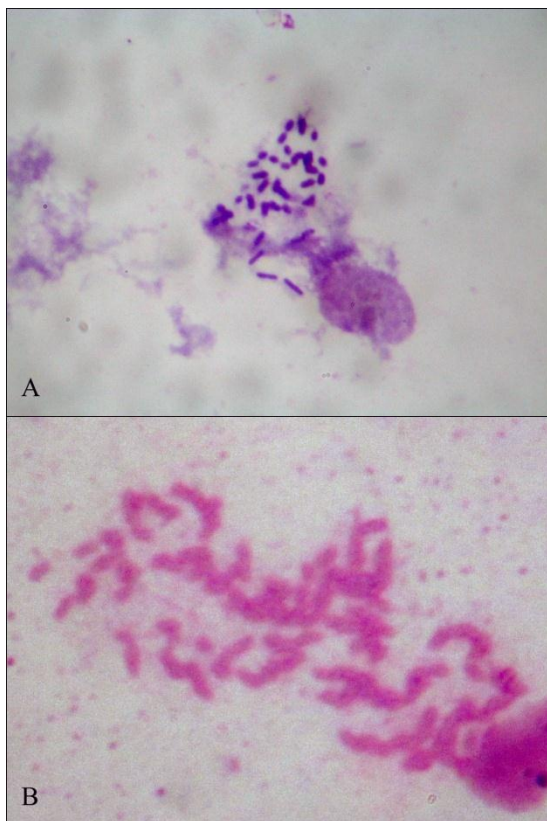
Penelitian dimulai dengan melakukan pengoleksian sampel induk ikan dari lapangan dan dibawa ke laboratorium dalam keadaan hidup. Di laboratorium dilakukan *stripping* induk ikan *M. padangensis* mengikuti teknik yang dilakukan oleh Mukti (2005) untuk mengeluarkan ovum dan sperma. Hasil *stripping* dimasukkan ke dalam medium pemijahan yaitu campuran larutan NaCl (4 g) dan Urea (3 g) dalam 1 liter aquadest yang telah disiapkan. Larutan sperma sebanyak 2-3 tetes ditetaskan pada telur dan diaduk menggunakan bulu ayam. Telur yang telah terfertilisasi dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Telur-telur kontrol tanpa perlakuan kejutan panas langsung dimasukkan ke dalam bak penetasan yang telah diisi air setinggi 5 cm. Perlakuan kejutan panas diberikan dengan memodifikasi prosedur yang dilakukan oleh Mukti (2005). Setelah diberikan perlakuan, telur dimasukkan ke dalam bak penetasan dan pemeliharaan.

Analisis poliploid dilakukan dengan menghitung jumlah kromosom *M. padangensis* dengan modifikasi prosedur yang dilakukan oleh Mukti (2005) dan Pradeep *et al.* (2011). Pembuatan preparat kromosom dilakukan dengan merendam larva ikan uji dalam larutan kolkhisin 0.01% selama 4-6 jam. Larva tersebut direndam dalam larutan hipotonik KCl (0.075 M) selama 40 menit. Jaringan sampel difiksasi dengan larutan Carnoy's selama 60 menit dan kemudian direndam dalam larutan asam asetat 50% dan disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama tiga menit sebanyak tiga kali pengulangan. Kemudian suspensi diambil dengan menggunakan pipet, lalu ditetaskan ke kaca objek dari ketinggian sekitar 30 cm. Preparat dibiarkan dan dikeringanginkan. Pewarnaan dilakukan menggunakan larutan Giemsa 4% selama 15 menit. Setelah pewarnaan, preparat dikeringanginkan kembali sebelum diamati menggunakan mikroskop. Induksi poliploid ditentukan dengan analisis jumlah kromosom yang menyebar dengan baik dan berasal dari suatu individu yang diambil secara acak (*random*) per perlakuan (Nurasni, 2012).

Data diambil dari masing-masing empat individu untuk setiap perlakuan.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian mengenai ploidisasi ikan *M. padangensis* dengan menggunakan perlakuan kejutan panas (*heat shock*) memperlihatkan adanya individu triploid sedangkan pada kontrol (27°C) hanya individu diploid. Kromosom diploid ikan *M. padangensis* berjumlah 50, sedangkan triploid berjumlah 75 (Gambar 1). Roesma, Syaifullah and Melyawati (2012) juga menyatakan bahwa jumlah kromosom ikan



Gambar. 1 Jumlah kromosom ikan *M. padangensis* (A) $2n=50$, (B) $3n=75$ (Perbesaran 1000x)

M. padangensis adalah $2n=50$. Menurut Collares-Pereira (1989) sebagian besar kelompok Cyprinidae memiliki jumlah kromosom $2n = 50$. Jumlah yang sama ditemukan pada ikan *Alburnoides bipunctatus* oleh Kilic-Demirok and Unlu (2004) dan ikan *Gobio gobio* oleh Kirtiklis, Boron, and Porycka (2005). Berrebi (1995) melaporkan ploidisasi pada ikan Barbus menghasilkan individu tetraploid ($4n = 100$) dan hexaploid ($6n = 150$).

Hasil pengamatan ploidisasi ikan *M. padangensis* (Tabel 1) memperlihatkan bahwa seluruh perlakuan kejutan panas menghasilkan beberapa individu triploid. Tingkat ploidi tertinggi ditemukan pada perlakuan kejutan panas 38°C dengan persentase triploid 75%. Namun demikian, pada perlakuan kejutan panas 36°C, 38°C, 40°C, dan 42°C masih ditemukan adanya individu diploid dengan persentase yaitu 75%, 25%, 50% dan 50%. Individu diploid masih ditemukan pada suhu tersebut karena suhu yang digunakan belum optimal untuk menghentikan pelepasan *polar body* II sehingga telah terjadi pembelahan untuk menghasilkan *polar body* II. Kemungkinan lain individu diploid masih ditemukan karena perlakuan induksi kejutan panas terlambat diberikan sehingga telur yang telah dibuahi sudah melepaskan *polar body* II dan telur ($2n$) hanya memiliki kromosom dari ovum (n) dan sperma (n). Bencsik *et al.* (2011) melaporkan bahwa dari tetraploidisasi ikan *Oncorhynchus mykiss* didapatkan diploid 10%, triploid 23,33% dan tetraploid 66,67%.

Individu poliploid yang dihasilkan melalui perlakuan kejutan panas membutuhkan suhu optimum untuk dapat menghentikan pelepasan *polar body* II. Suhu terendah 36°C telah mampu menyebabkan ploidisasi pada ikan *M. padangensis*. Hollebecq *et al.* (1986) menyatakan bahwa suhu minimum atau suhu terendah untuk mencegah terlepasnya *polar body* II yaitu 38°C pada ginogenesis ikan mas yang diinduksi dengan kejutan

Tabel 1. Persentase tingkat triploid larva umur 3 hari ikan *M. padangensis* pada kontrol dan perlakuan kejutan panas

No	Perlakuan	Jumlah individu dapat yang diamati	Tingkat Ploid		Individu triploid (%)
			Diploid	Triploid	
1	27 °C (Kontrol)	4	4	0	0
2	36 °C	4	3	1	25
3	38 °C	4	1	3	75
4	40 °C	4	2	2	50
5	42 °C	4	2	2	50

panas. Kemungkinan suhu 36°C merupakan suhu minimum pada ploidisasi ikan *M. padangensis* karena terjadi kerusakan protein-protein yang berperan dalam pembentukan benang spindel dan mikrotubul untuk pembelahan seperti yang dilaporkan oleh Mukti (2005), walaupun hanya menghasilkan tingkat triploid yang rendah. Sundov *et al.* (2005) melaporkan bahwa kolkhisin sebagai induktor ploidisasi secara kimia berperan sebagai zat antimitosis dan mengikat protein tubulin serta menghentikan mitosis untuk merusak pembentukan benang-benang spindel yang dapat menyebabkan depolimerisasi. Penelitian mengenai pengaruh suhu pada kromosom dan transformasi sel manusia oleh Yamada, Ichikawa, and Okumura (1989) dilaporkan bahwa ploidisasi meningkat ketika dikultur pada suhu 40,3°C dibandingkan suhu 37°C dan pada suhu 41,5°C mengakibatkan terjadinya aberasi kromosom struktural seperti terjadi pemotongan, perlekatan dan pemisahan.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang ploidisasi ikan *M. padangensis* ditemukan hasil individu triploid dengan induksi ploidisasi tertinggi pada perlakuan 38°C sebesar 75% dan suhu minimum yang memberikan hasil triploid yaitu 36°C.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Ditjen DIKTI) Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan dengan Surat Keputusan Dirjen Dikti Nomor 0071/E5.3/PKM/2012

atas bantuan dana hibah penelitian PKM-P tahun 2012 serta kepada Dr. Syaifullah, Prof. Dr. Mansyurdin, dan Dr. Mairawita selaku penguji atas bimbingan dan ilmu pengetahuan yang telah diberikan hingga penelitian ini terselesaikan.

Daftar Pustaka

- Azhar. 1993. *Studi Ekologi Ikan Bilih (Mystacoleucus padangensis Blkr.) di Danau Singkarak, Sumatera Barat*. Tesis. Program Pasca Sarjana IPB Bogor: 134 hlm.
- Bencsik, I., N. Pacala, G. Dumitrescu, D. Dronca, J. Stanculet, L. P. Ciochina, and L. Boca. 2011. The Rate of Tetraploidy Determination in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Embryonated Eggs. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*. 44 (1): 158-161.
- Berrebi, P. 1995. Speciation of the genus *Barbus* in The North Mediterranean basin: Recent advances from biochemical genetics. *Biological Conservation*. 72: 237-249.
- Carman, O., T. Oshiro, and F. Takashima. 1992. Variation in The Maximum Number of Nucleoli in Diploid and Triploid Common Carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58.
- Collares-Pereira, M. J. 1989. *Hybridization in European Cyprinids: Evolutionary Potential of Unisexual Populations (In: R. M. Dawley ed.) Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates*. Bulletin: New York.
- Direktorat Jendral Perikanan Tangkap. 2005. *Upaya Pelestarian Ikan Bilih*

- di Danau Singkarak. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Direktorat Jendral Perikanan Tangkap. 2012. *Laporan Akuntabilitas Kinerja Instansi Pemerintah*. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Direktorat Perlindungan dan Pengawetan Alam (DPPA). 1980. *Pedoman Pengelolaan Satwa Langka, Jilid III Serangga, Ikan serta Reptilia dan Mamalia Laut*. Direktorat Jendral Kehutanan: Bogor.
- Haryanto, A. 2004. *Pengaruh Lama Waktu Kejutan Suhu Terhadap Tingkat Keberhasilan Ginogenesis pada Ikan Sumatera (Puntius tetrazona)*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Herbst, E.C. 2002. *Induction Of Tetraploidy In Zebrafish Danio Rerio and Nile Tilapia Oreochromis Niloticus*. Thesis. University of North Carolina at Charlotte. 139 hal.
- Hollebecq, M. G., D. Chourrout, G. Whohifarth, and R. Billard. 1986. Diploid Gynogenesis Induced by Heat Shock After Activation with UV-Irradiated sperm in Common Carp. *Aquaquulture*, 54: 69-76. (Abstract)
- Junaidi, E., E. Patriono, and F. Sastra. 2009. Indeks Gonad Somatik Ikan Bilih (*Mystacoleucus padangensis* Blkr.) yang Masuk ke Muara Sungai Sekitar Danau Singkarak. *Jurnal Penelitian Sains* 09:12-12.
- Kartamihardja, E.S. and A.S. Sarnita. 2008. *Populasi Ikan Bilih di Danau Toba: Keberhasilan Introduksi Ikan Implikasi Pengelolaan dan Prospek Masa Depan*. Pusat Riset Perikanan Tangkap. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan Dan Perikanan.
- Kilic-Demirok, N. and Unlu, E. 2004. Karyotype of The Cyprinid Fish *Alburnoides bipunctatus* (Cyprinidae) from The Tigris River. *Folia Biologica (Krakow)* 52: 57-59.
- Kirtiklis L., A. Boron, and K. Porycka. 2005. Chromosome banding patterns of the gudgeon, *Gobio gobio* (Actinopterygii, Cyprinidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. 35(2): 119–123.
- Kottelat, M. A., J. Whitten, S. N. Kartikasari, and S. Wirjoatmodjo. 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Barkeley Books. Pte Ltd, Terror Road: Singapore.
- Mukti, A.T. 2005. Perbedaan Keberhasilan Tingkat Poliploidisasi Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* Linn.) Melalui Kejutan Panas. *J.Berk. Penel. Hayati*, 10: 133–138.
- Nurasni, A. 2012. Pengaruh Suhu dan Lama Kejutan Panas terhadap Triploidisasi Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *IJAS* 2(1): 19-23.
- Pradeep, P.J., T.C. Srijaya, R.B.M. Zaini, A. Papini and A.K. Chatterji. 2011. A Simple Technique for Chromosome Preparation from Embryonic Tissues of teleosts for Ploidy Verifi cation. *Caryologia*, 64(2): 235-241.
- Rahmawati, I. 2006. *Studi Reproduksi Ikan Beunteur (Puntius binotatus, C.V. 1842, Famili Cyprinidae) di Bagian Hulu Daerah Aliran Sungai (DAS) Ciliwung, Jawa Barat*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Roesma, D.I. 2011. *Diversitas Spesies dan Kekerabatan Genetik Ikan-Ikan Cyprinidae di Danau-Danau dan Sungai-Sungai di Sekitarnya di Kawasan Sumatera Barat*. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Andalas. 199 hal.
- Roesma, D.I., Syaifullah, and Melyawati. 2012. Pengamatan Kromosom Ikan Bilih (*Mystacoleucus padangensis* BLKR., Cyprinidae) dari Danau Singkarak Sumatera Barat. *Biospecies*. 5(2):1-4.
- Sundov, Z., Z. Nincevicb, M. Definis-Gojanovicc, M. Glavina-Durdovc, I. Jukica, N. Hulinand, and A. Tonkica. 2005. Fatal Colchicine Poisoning by Accidental Ingestion of Meadow

- Saffron-Case Report. *Forensic Sciences International* 149: 253-256.
- Syandri, H. 1990. *Beberapa Aspek Biologi Ikan Bilih (Mystacoleucus padangensis Blkr) di Perairan Umum Danau Singkarak Sumatera Barat*. Laporan Penelitian. Universitas Bung Hatta.
- Syandri, H. 1996. *Aspek reproduksi ikan bilih, Mystacoleucus padangensis Bleeker dan kemungkinan pembenihannya di Danau Singkarak*. Disertasi. Program Pascasarjana IPB. 122 hal.
- Syandri, H. 1997. Perkembangan Oosit dan Testis Ikan Bilih (*Mystacoleucus padangensis Blkr*) di Danau Singkarak Sumatera Barat. *Fish J. Garing* 2: 8-20.
- Syandri, H. 2008. *Ancaman terhadap Plasma Nutfah Ikan Bilih (Mystacoleucus padangensis Blkr) dan Upaya Pelestariannya di Danau Singkarak*. Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Bung Hatta.
- Yamada K., Ichikawa Y., Okumura H. 1989: Effects of High Temperatures on Chromosomes of Normal and Transformed Human Cell. *Human Cell*, 2: 80–85.