

# Marine Journal

Desember 2016

## INTERPRETASI GENETIK POLA PITA ISOZIM PADA BEBERAPA JARINGAN IKAN BANDENG (*Chanos chanos* Forskal) ASAL TAMBAK DI PERAIRAN PANTAI CILACAP

Misbakhul Munir

### INTISARI

Telah dilakukan penelitian tentang Interpretasi genetik Pola Pita Isozim pada Beberapa Jaringan Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forskal) asal Tambak di Perairan Pantai Cilacap menggunakan Teknik Elektroforesis Protein dengan tujuan untuk mengetahui pola pita isozim esterase (EST), Peroksidase (PER), malat dehidrogenase (MDH), acid phosphatase (ACP) dan aspartat amino transferase (AAT) pada beberapa jaringan ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap; serta jaringan yang paling efektif dalam mengekspresikan pola pita; (3) interpretasi genetik dari pola pita yang dihasilkan. Metode penelitian yang digunakan adalah metode survey dengan data berupa visualisasi pola pita isozim yang diperoleh melalui teknik elektroforesis protein. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik Random Sampling, asal tambak di Perairan Pantai Cilacap dengan bantuan petani setempat. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode deskriptif dengan cara menginterpretasikan penampilan pola pita yang muncul pada gel.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa dari 8 sampel yang diuji diperoleh pola pita pada MDH, AAT dan ACP masing masing satu pola pita. Sementara itu, isozim EST dan PER tidak dapat divisualisasikan dengan baik. Dari ketiga isozim yang dapat diekspresikan, disimpulkan bahwa ketiganya mengekspresikan pola pita yang sama dimana hati, otot dan mata dapat diekspresikan sama baik ekspresi pola pita ACP adalah monomer, sedangkan MDH dan AAT adalah dimer.

Kata kunci: Isozim, Elektroforesis, MDH, AAT, ACP, EST dan PER

### PENDAHULUAN

Ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskal) merupakan ikan yang memiliki keunggulan komparatif dan strategis bila dibandingkan dengan komoditas perikanan lainnya. Ikan ini memiliki daya toleransi yang tinggi terhadap perubahan kadar garam (salinitas) dan kisaran temperatur antara 12°C – 40°C (Ismail dan Pratiwi, 2001). Hal inilah yang menyebabkan kemudahan budidaya ikan bandeng di tambak. Menurut Ahmad dan Yakob (1998) ikan bandeng merupakan sumber protein hewani yang potensial bagi pemenuhan kebutuhan gizi masyarakat. Mujiman (1987) menyatakan bahwa kandungan protein ikan bandeng sebesar 20% bobot basah dan kandungan lemaknya hanya 4,8% bahan segar.

Kebutuhan pasar akan ikan bandeng yang cukup tinggi dewasa ini hanya dapat terpenuhi dari

sektor budidaya. Ismail *et al.* (1994) menyatakan bahwa budidaya ikan bandeng lebih dititikberatkan pada usaha untuk memanfaatkan ikan bandeng sebagai umpan ikan tuna, di samping juga untuk konsumsi. Ikan bandeng menurut Hadie dan Supriatna (2000), merupakan komoditas budidaya perikanan yang paling banyak diproduksi dan dikonsumsi di Indonesia baik dalam bentuk segar maupun olahan.

Menurut Ahmad dan Yakob (1998) produksi ikan bandeng pada tahun 1996 mencapai sekitar 23,60 % dari produksi ikan budidaya atau 41,87 % dari produksi ikan tambak secara nasional (Ahmad dan Yakob, 1998). Hasil tersebut masih sangat rendah apabila dibandingkan dengan kebutuhan masyarakat serta luas lahan tambak yang ada di Indonesia. Diperkirakan tahun 2010 (era APEC), kesadaran masyarakat untuk mengonsumsi lebih banyak protein akan

meningkat, sehingga upaya peningkatan produksi ikan bandeng juga harus ditingkatkan. Usaha budidaya Ikan Bandeng dewasa ini, banyak dilakukan di tambak-tambak. Benih ikan bandeng (nener) diperoleh dari tempat pemijahan yang jumlahnya sangat terbatas. Hal ini juga terjadi pada tambak budidaya bandeng di Perairan Pantai Cilacap. Petani tambak bandeng di Perairan ini mendapatkan pasokan nener dari sumber yang tetap, yaitu Gondol di Bali.

Keberadaan benih dari lokasi yang sama sangat memungkinkan terjadinya perkawinan antar kerabat dekat (*inbreeding*) sehingga keturunan yang dihasilkan akan memiliki kemiripan secara genetik. Selain itu, populasi bandeng yang baru akan memiliki keanekaragaman genetik yang rendah karena berasal dari sejumlah kecil individu pemula.

Sekelompok kecil individu pemula di alam berpeluang membentuk suatu spesies baru. Proses tersebut berlangsung karena adanya *founder effect* yang mengakibatkan terbentuknya populasi baru karena individu pemula terinisiasi oleh *genetic drift* (perubahan frekuensi alel secara acak atau tidak teratur) dan diikuti oleh seleksi alam. Perubahan struktur genetik dan hilangnya sebagian variasi genetik yang ada selain disebabkan oleh terbatasnya induk efektif (jumlah induk yang terlibat dalam pemijahan pada saat tertentu), juga mungkin karena terjadinya seleksi oleh lingkungan buatan dalam proses budidaya (domestikasi) (Sulaeman, 2001). *Founder effect* dimungkinkan terjadi pada budidaya ikan bandeng di tambak karena populasi benih ikan bandeng yang dikembangkan kecil dan berasal dari lokasi yang sama. Kecilnya populasi pemula memungkinkan populasi baru yang terbentuk memiliki rasio genetik berbeda dengan yang dimiliki populasi sebelumnya. Hadie dan Supriatna (2000) menyatakan bahwa populasi ikan bandeng di tambak relatif kecil dibanding dengan populasi alami, yakni 2.500 – 5.000 ekor/ha. Kecilnya populasi tersebut sangat berpotensi menurunkan keanekaragaman genetik.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam rangka menunjang usaha pelestarian plasma nutfah ikan bandeng di perairan tersebut adalah

melalui evaluasi potensi genetik dalam bentuk studi keanekaragaman genetik.

Studi keanekaragaman genetik dapat memberikan gambaran secara langsung mengenai variasi genotip yang ada. Purwanto *et al.* (2002) menyatakan bahwa studi keanekaragaman genetik dapat dilakukan menggunakan penanda molekuler berupa Uji DNA dan atau produk gen atau protein (isozim). Kedua macam cara tersebut masing-masing memiliki kelebihan dan kelemahan.

Kelebihan penggunaan DNA sebagai marker genetik adalah data yang diperoleh lebih akurat dan langsung dapat mendeteksi adanya variasi pada materi genetik, sedangkan kelemahannya adalah biaya yang dibutuhkan mahal. Sebaliknya, kelebihan penggunaan elektroforesis protein (isozim) yaitu biaya yang diperlukan lebih murah, mudah pengerjaannya, sederhana peralatan dan cara kerjanya, waktu yang dibutuhkan singkat (dapat digunakan untuk menguji beberapa sampel sekaligus) dan *reproducible* (jika diulang oleh peneliti lain hasilnya sama). Namun kelemahannya yaitu tidak dapat mendeteksi adanya *silent mutation* (mutasi yang biasa terjadi pada kodon ketiga), yang membutuhkan sampel jaringan yang segar dan beku, hanya sebagian kecil dari keseluruhan sekuens DNA yang dapat diuji (Ward and Grewe, 1994). Keterbatasan yang lain dari teknik isozim adalah. Akurasi polimorfismenya lebih rendah daripada penanda DNA karena (1) perbedaan sekuens DNA yang mengode asam-asam amino yang netral tidak akan mempengaruhi mobilitas elektroforetik protein yang dihasilkan; (2) asam amino yang bermuatan dapat bertukar dengan asam amino yang bermuatan sama, dan hal ini tidak akan banyak mempengaruhi mobilitas protein tersebut; (3) penggunaan nukleotida pada basa ketiga suatu kodon tidak selalu mengakibatkan perubahan asam amino yang dihasilkan; (4) variasi pada sekuens DNA yang tidak mengkode protein (*non-coding sequences*) seperti intron atau daerah pengapit lainnya tidak akan menghasilkan produk protein berbeda (Sastra, 2003).

Penggunaan Isozim selain sebagai pengukur keanekaragaman genetik juga dapat untuk mengidentifikasi spesies dan mengetahui hubungan kekerabatan antara spesies yang satu

# Marine Journal

Desember 2016

dengan yang lainnya. Hal ini antara lain telah dilaporkan pada 3 spesies ikan kerapu sunu (*Plectropomus maculatus*, *P. Leopardus* dan *P. Oligocanthus*) (suryani *et al.*, 2001).

Isozim adalah produk langsung suatu gen tertentu yang diekspresikan dalam bentuk protein. Isozim pada dasarnya tersusun dari deretan asam amino tertentu yang urutannya ditentukan oleh nukleotida pada gen yang mengkode pembentukan isozim tersebut. Oleh karena itu, analisis genetik atas dasar elektroforesis isozim secara tidak langsung dapat digunakan sebagai analisis terhadap gen itu sendiri (Asmono *et al.*, 1994)

Visualisasi suatu isozim diperoleh melalui pewarnaan reaksi spesifik bagi isozim tersebut. Dengan kata lain, jenis pewarnaan yang digunakan bergantung kepada jenis isozim yang akan dianalisis. Pengamatan dilakukan dengan melihat pita yang terbentuk ketika gel diredam di dalam larutan pewarna. Hasil dari ekspresi isozim dalam bentuk pola pita tersebut kemudian diinterpretasikan secara genetik.

Interpretasi genetik pola pita dilakukan dengan menduga komposisi sub unitnya (struktur kimianya). Sebagian besar isozim yang diuji berstruktur monomer (terdiri atas satu rantai polipeptida), dimer (dua rantai polipeptida), dan tetramer (empat rantai polipeptida). Pada kondisi heterozigot, isozim monomer akan memunculkan 2 pita, dimer 3 pita, dan tetramer 5 pita (Richardson *et al.*, 1986).

Karakter morfologi utama ikan bandeng dewasa adalah tubuh memanjang, padat, kepala tanpa sisik, mulut kecil terletak di ujung kepala dengan rahang tanpa gigi, dan lubang hidung terletak di depan mata. Tubuh yang langsing, mulut agak runcing, ekor bercabang, dan sisik yang halus sangat mendukung kebiasaan ikan bandeng yang memiliki mobilitas tinggi dengan jarak migrasi yang cukup jauh. Mata ikan bandeng dilindungi oleh selaput bening subkutan. Ikan ini memiliki warna tubuh yang putih bersih sehingga sering disebut sebagai ikan susu (Hadie dan Supriatna, 2000).

Ikan bandeng memiliki banyak nama daerah di Indonesia, antara lain ikan bolu, muloh dan agam, sedangkan dalam bahasa Inggris ikan ini sering disebut dengan *milkfish*. Di Filipina, ikan bandeng dikenal dengan nama bangos. Hal itu menunjukkan bahwa ikan bandeng cukup tersebar luas di berbagai kawasan dunia.

Ikan bandeng bersifat *euryhaline*, yakni mempunyai toleransi yang tinggi terhadap kadar garam, serta tahan terhadap fluktuasi salinitas tinggi dalam waktu yang relatif singkat. Ikan ini dapat hidup pada kisaran kadar garam dari 0 hingga 35 ‰. Akan tetapi, pada umumnya ikan bandeng lebih menyukai salinitas antara 20 dan 25 ‰. Ikan bandeng merupakan ikan air payau yang biasa memijah di sekitar pulau. Telur menetas menjadi benih yang disebut nener, bergerak ke pantai untuk mencari makan. Ikan bandeng dapat dipelihara dan tetap dapat bertahan hidup di tambak-tambak yang pada musim penghujan kadar garamnya dapat di bawah 10 ‰ dan pada musim kemarau dapat di atas 30 ‰ (Ismail dan Pratiwi, 2001).

Upaya untuk mempertahankan variasi atau keanekaragaman genetik dari ikan bandeng perlu dilakukan studi awal dalam bentuk interpretasi genetik pola pita Isozim.

Studi keanekaragaman genetik melalui analisis protein dapat dilakukan menggunakan teknik elektroforesis protein. Metode ini merupakan suatu teknik yang cepat untuk menentukan genotipe sejumlah individu pada banyak lokus. Prosedur elektroforesis telah banyak digunakan untuk menguji variasi genetik pada ratusan tumbuhan dan hewan.

Elektroforesis menurut Albert *et al.*, (1994) merupakan prosedur pemisahan protein berdasarkan atas muatan listriknya. Salah satu molekul biologi yang dapat dianalisis dengan teknik elektroforesis adalah isozim. Isozim pada dasarnya tersusun dari deretan asam amino yang urutannya ditentukan oleh urutan nukleotida pada gen yang mengkode pembentukan isozim tersebut. Dalam proses elektroforesis, asam amino akan bergerak atau bermigrasi menuju kutub yang berbeda pada kecepatan yang berbeda, bergantung kepada

muatan listrik, pH buffer dan tegangan listrik yang digunakan (Lehninger, 1990). Selain itu bentuk dan ukuran protein berpengaruh terhadap pergerakan protein. Molekul yang berukuran kecil akan bergerak lebih cepat dibandingkan dengan molekul berukuran lebih besar.

Visualisasi protein dilakukan dengan cara pewarnaan gel media menggunakan pewarna isozim. Setelah pewarnaan dilakukan pada gel media akan muncul pola pita protein dari individu yang diteliti. Kebanyakan produk alel protein diekspresikan sama pada gel dan isozim yang berbeda di deteksi berupa pita-pita dengan mobilitas yang berbeda (Smith, 1990). Pola pita yang muncul kemudian diinterpretasikan struktur sub unit dari isozim yang digunakan dalam penelitian ini.

Syahailatua (1985) menyatakan bahwa suatu gel yang tersusun dari zat pati (*starch*), agarosa atau poliakrilamid dapat digunakan sebagai media elektroforesis. Penggunaan gel pati dalam metode elektroforesis mempunyai beberapa keuntungan, antara lain dapat digunakan untuk pemisahan dengan sampel yang besar jumlahnya dan komposisi matrik gel dapat diubah-ubah sesuai dengan kebutuhan. Keuntungan penggunaan gel pati lainnya untuk penelitian isozim adalah tidak beracun dan dapat dibuat beberapa irisan bergantung kepada tebal tipisnya gel sehingga beberapa isozim dapat diamati langsung.

Analisis isozim dilakukan untuk melengkapi kajian taksonomi yang meliputi pencirian morfologi, anatomi dan sitologi. Isozim adalah enzim yang memiliki bentuk-bentuk molekul berbeda tetapi memperlihatkan aktivitas enzimatis spesifik yang sama. Istilah isozim mulanya digunakan oleh Market & Moller pada tahun 1959 untuk menjelaskan perbedaan bentuk-bentuk molekuler yang berbeda dari protein yang memperlihatkan enzimatis spesifik yang sama (Acquaah, 1992 dalam Indriani *et al.*, 2002). Isozim merupakan produk langsung dari gen (Novianto *dkk.*, 1999) yang keanekaragamannya dapat dilacak menggunakan teknik elektroforesis dalam bentuk pola pita. Isozim dapat digunakan sebagai ciri genetik dalam mempelajari pengelompokan suatu jenis organisme,

menunjukkan keanekaragaman individu dalam populasi, keanekaragaman genetik dan digunakan untuk menyeleksi sifat-sifat yang bernilai ekonomi penting (Hayward dan Adam, 1988).

Isozim yang sama pada jenis ikan yang berbeda dapat menampilkan pola pita yang berbeda. Bahkan adakalanya isozim tidak memberikan pola pita tertentu pada ikan tertentu. Untuk itu diperlukan interpretasi yang benar dari beberapa sistem isozim, terutama yang telah banyak digunakan untuk menunjukkan keanekaragaman genetik pada berbagai spesies, seperti esterase (EST), peroksidase (PER), malat dehidrogenase (MDH), *acid phosphatase* (ACP), dan aspartat aminotransferase (AAT).

Murphy *et al.*, (1996) dan Richardson *et al.* (1986) menjelaskan spesifikasi pola pita ACP, EST, AAT, MDH dan PER, sebagai berikut.

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi awal yang diperlukan dalam studi keanekaragaman genetik ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskal) asal tambak di Perairan Pantai Cilacap dalam bentuk interpretasi genetik pola pita isozim elektroforesis.

## **Metodologi**

### **Rancangan Penelitian**

Jenis Penelitian ini menggunakan metode survei berupa visualisasi pola pita isozim dari beberapa jaringan tubuh ikan bandeng pada elektroforesis gel pati. Data diperoleh menggunakan visualisasi pola pita isozim dengan teknik elektroforesis gel pati horizontal.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskal) asal tambak di kawasan Segara Anakan sebanyak 8 ekor dengan ukuran rata-rata 10 cm dan dengan bobot kurang lebih 0,774 gram, pati, bufer ekstraksi (lampiran 1.a), bufer gel (lampiran 1.b), bufer elektroda (lampiran 1.c) pewarna esterase (lampiran 2.a), pewarna peroksidase (lampiran 2.b), pewarna *acid phosphatase* (lampiran 2.c), pewarna malat dehidrogenase (lampiran 2.d), pewarna aspartat transaminase (lampiran 2.e), parafin cair, plastik, selotip, kertas saring, *bromophenolblue*, etanol, asam asetat, gliserol dan akuades, HCl dan NaOH.

### **Alat**

# Marine Journal

Desember 2016

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu erlenmeyer, gelas ukur, gelas beker, pH meter, *magnetic stirrer*, neraca analitik, mortar, refrigerator, seperangkat alat elektroforesis horizontal beserta *power supply*, spatula, *microwave*, set skalpel, baki pewarnaan, pinset, dan desikator.

## Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan metode survei berupa visualisasi pola pita isozim dari beberapa jaringan tubuh ikan bandeng pada elektroforesis gel pati. Data diperoleh menggunakan visualisasi pola pita isozim dengan teknik elektroforesis gel pati horizontal.

## Cara Kerja

### Pembuatan Bufer Ekstraksi

Semua bahan dilarutkan dalam akuades sampai mencapai volume 40 ml. Larutan ini dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan diatur pH-nya agar menjadi 8,0 dengan cara menambahkan 0,1M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  atau HCl secukupnya

### Pembuatan Bufer Gel

5 mM L-histidin monohidrat dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 1000 ml. Larutan ini dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan diatur pH-nya agar menjadi 6,0 dengan cara menambahkan tris atau NaOH secukupnya.

### Pembuatan Bufer Elektroda

Semua bahan dilarutkan dalam akuades sampai mencapai volume 1000 ml. Larutan ini dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan diatur pH-nya agar menjadi 6,0 dengan menambahkan HCl atau NaOH secukupnya.

### Pembuatan Gel Pati 10 %

Ditimbang 10 gram pati dan dilarutkan dalam 330 ml bufer gel. Sementara itu, 670 ml bufer gel yang tersisa dididihkan dalam *hot plate stirrer/magnetic stirrer*, kemudian dicampur dengan larutan pati, dikocok dan dididihkan kembali sampai terlihat jernih. Gel divakum sampai gelembung udara dalam larutan pati terangkat. Gel yang sudah matang tersebut dituangkan ke dalam cetakan elektroforesis yang

telah diolesi parafin cair dan ditutup selotip. Setelah dingin, gel yang terbentuk dari larutan pati ditutup dengan plastik yang telah diolesi parafin cair dan disimpan pada lemari pendingin suhu 5 °C hingga 10 °C selama kurang lebih 24 jam.

## Pengambilan Jaringan Mata, Otot dan Hati Sampel

Enzim yang akan diuji berasal dari jaringan otot punggung, hati, dan mata ikan bandeng segera setelah ikan dimatikan. Pengambilan dilakukan menggunakan skalpel, kemudian setiap jaringan tersebut dimasukkan ke dalam mortar yang telah disiapkan.

## Ekstraksi Enzim

0,2 gram jaringan otot punggung, mata dan hati ikan bandeng digerus sampai halus dengan pastel dan mortar yang ke dalamnya telah diberi pasir kuarsa dan bufer ekstraksi sebanyak 0,5 ml/mortar. Pemuatan enzim ke dalam gel dilakukan dengan cara memasukkan potongan kertas whatman dengan ukuran 0,5 cm<sup>2</sup> ke dalam ekstrak jaringan. Potongan kertas saring yang telah menyerap cairan sel dari setiap sampel dibersihkan terlebih dahulu dengan kertas tisu, kemudian potongan kertas saring tersebut disisipkan ke dalam gel pati yang telah disiapkan.

## Elektroforesis

Cetakan yang berisi gel dan telah disisipkan kertas saring dari masing-masing sampel pada salah satu lubang bagian tepi gel disisipkan kertas saring yang telah dicelupkan dalam *bromophenolblue* untuk mengontrol laju migrasi enzim. Cetakan gel tersebut kemudian dimasukkan dalam electrophoresis tray yang berisi bufer elektroda. Sebelum dimasukkan, selotip pada kaki cetakan dilepas terlebih dahulu dan kaki cetakan harus terendam dalam bufer elektroda, kemudian diletakkan dalam lemari pendingin pada suhu 5 °C hingga 10 °C. Proses elektroforesis gel pati dilakukan dengan menghubungkan tray pada *power supply* tegangan 100 Volt selama 4 jam.

## Pembuatan Larutan Pewarna Pewarna Esterase (EST)

Semua bahan dilarutkan dalam 100 mM sodium fosfat pH 7,0 dengan volume 100 ml.

#### **Pewarna Peroksidase (PER)**

Semua Bahan dilarutkan ke dalam 50 mM natrium asetat pH 5,0 dengan volume 100 ml.

#### **Pewarna Acid Phosphatase (ACP)**

Semua bahan dilarutkan dalam sodium asetat pH 5,0 dengan volume 50 ml.

#### **Pewarna Malat Dehidrogenase (MDH)**

Semua bahan dilarutkan dalam 50 mM tris HCl pH 8,5 dengan volume 50 ml.

#### **Pewarna Aspartat Transferase (AAT)**

Semua bahan dilarutkan dalam akuades dengan volume 800 ml. Larutan tersebut diambil sebanyak 200 ml dan ditambah dengan *fast blue BB salt* sebanyak 0,2 gram.

#### **Pewarnaan**

Setelah *running* elektroforesis selesai (4 jam), gel diangkat dan dibelah secara horizontal hingga menjadi lembaran-lembaran gel sejumlah pewarna enzim yang disiapkan. Gel direndam ke dalam masing-masing larutan pewarna enzim selama 1-2 jam.

#### **Dokumentasi Hasil Elektroforesis**

Gel pati diangkat dan diberi label sesuai dengan pewarna enzimnya, kemudian dibungkus plastik dan segera difoto menggunakan kamera polaroid atau kamera film biasa untuk diterjemahkan hasil visualisasinya.

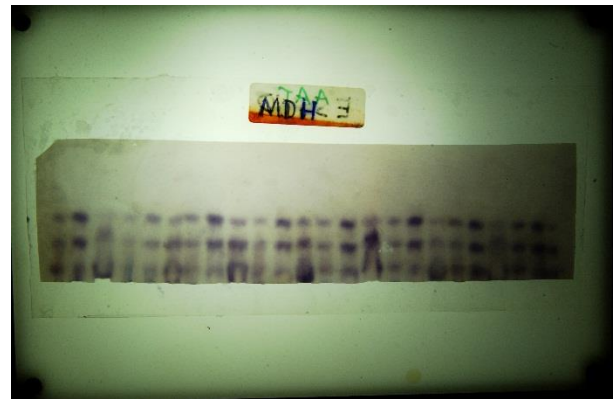
#### **Analisis Data**

Hasil akhir visualisasi pola pita isozim yang diperoleh diinterpretasikan berdasarkan atas resolusi optimal dan pola migrasinya.

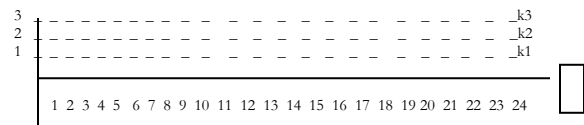
#### **Hasil dan Pembahasan**

Hasil elektroforesis dari kelima enzim yang dicoba pada jaringan mata, otot punggung dan hati, hanya terdeteksi 3 enzim. Hal itu ditunjukkan dengan terekspresinya pola pita pada gel hasil elektroforesis pada masing-masing isozim MDH, AAT dan ACP. Pola pita yang terbentuk dari ketiga jaringan ikan bandeng tersebut adalah hanya satu pola pita (seragam) (gambar 1, 2 dan 3), dan tidak ada perbedaan ekspresi pola pita isozim meskipun berasal dari jaringan yang berbeda. Ini artinya, aktivitas enzimatik dari MDH, AAT dan ACP adalah sama pada tiga jaringan, yaitu mata, otot punggung dan hati. Seperti halnya penelitian dari Suryani

*et al.*,(2001) yang menyatakan bahwa pola migrasi 13 enzim (termasuk AAT dan MDH) yang dicobakan pada jaringan mata, jantung, hati dan otot tiga spesies ikan kerapu sunu (*Plectropomus maculates*, *P. leopardus*, dan *P. oligachantus*) dapat terdeteksi 12 enzim pada jaringan hati dan otot punggung.



Gambar 1a. Zimogram malat dehidrogenase pada ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap



Gambar 1b. Skema zimogram malat dehidrogenase pada ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap.

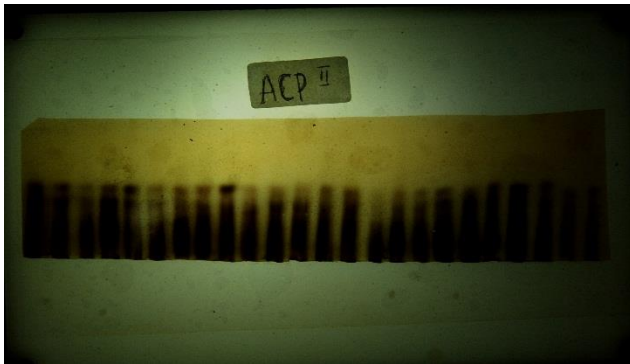
Sampel 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22 menggunakan sumber jaringan mata  
Sampel 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23 menggunakan sumber jaringan otot punggung

Sampel 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 menggunakan sumber jaringan hati

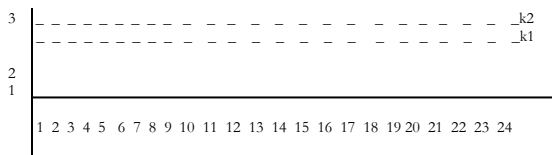
Pewarnaan spesifik MDH menghasilkan penampakan atau ekspresi 1 pola pita pada 8 sampel ikan bandeng dan 3 macam jaringan yang digunakan dalam penelitian (gambar 1a & 1b). Menurut Richardson *et al.*(1986) pemitaaan yang ideal mengekspresikan pita yang tipis dan tajam. Pola pita yang dihasilkan merupakan kombinasi antara jumlah pita dan jarak migrasi. Tiga pita isozim MDH yang terbentuk dapat ditafsirkan bahwa pada ikan bandeng, isozim MDH memiliki struktur sub unit monomer, 3 lokus homozigot atau dimer heterozigot. Murphy *et al.*,(1996) menyatakan bahwa enzim MDH memiliki struktur sub unit dimer.

# Marine Journal

Desember 2016



Gambar 2a. Zimogram *acid phosphatase* pada ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap



Gambar 2b. Skema zimogram *acid phosphatase* pada ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap.

Sampel 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22 menggunakan sumber jaringan mata  
Sampel 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23 menggunakan sumber jaringan otot punggung  
Sampel 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 menggunakan sumber jaringan hati

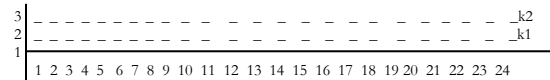
Hasil elektroforesis ACP (gambar 2a & 2b) juga menunjukkan terbentuknya 2 pita yang seragam ke arah anoda pada ke24 sampel yang dipakai. 2 pita yang terekspresi tersebut dapat ditafsirkan bahwa ACP berstruktur monomer, 2 lokus homozigot. Murphy *et al.* dalam Nuryanto (2001) menyatakan bahwa sub unit penyusun isozim ACP memiliki struktur monomer atau dimer.

Ekspresi pita pada pewarnaan ACP dari hampir semua sampel merupakan 2 pita yang tebal dan ditafsirkan sebagai pita yang mengalami penyimpangan dari pemitaaan yang ideal. Pita yang terekspresi tebal diduga karena molekul dengan berat molekul besar belum dapat terpisahkan dengan baik, sehingga terjadi penggabungan pita yang jaraknya sangat dekat. Visualisasi yang muncul memperlihatkan adanya perbedaan kepekatan pola pita. Menurut Hebert dan Beaton (1989), pewarnaan yang terlalu pekat dapat disebabkan oleh konsentrasi sample yang terlalu tinggi atau volume sample pada zona pemuatannya terlalu banyak. Kepekatan pewarnaan dapat disebabkan juga oleh

konsentrasi pewarna yang terlalu tinggi atau mungkin gel menyentuh dasar wadah pewarnaan yang ada endapan pewarna.



Gambar 3a. Zimogram aspartat aminotransferase ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap



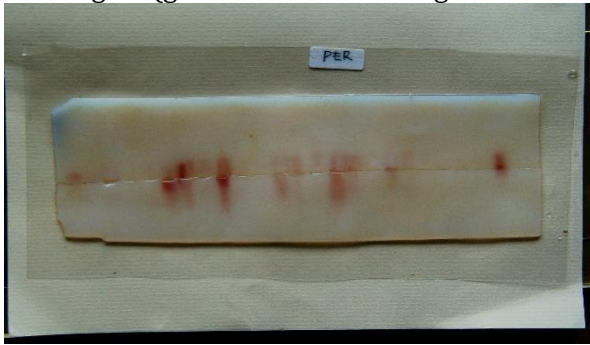
Gambar 3b. Skema zimogram aspartat aminotransferase pada ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap.

Sampel 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22 menggunakan sumber jaringan mata  
Sampel 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23 menggunakan sumber jaringan otot punggung  
Sampel 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 menggunakan sumber jaringan hati

Pewarnaan spesifik pada sample menggunakan AAT menunjukkan bahwa arah migrasi sample adalah menuju kutub positif (anoda) (gambar 3a & 3b). AAT terekspresi sebagai 2 pita yang seragam. Dari ekspresi pita tersebut dapat ditafsirkan bahwa AAT pada ikan bandeng berstruktur monomer, 2 lokus homozigot. Sedangkan menurut Murphy *et al.* dalam Nuryanto (2001) menyatakan bahwa sub unit penyusun isozim AAT memiliki struktur dimer dengan jumlah lokus 4 buah.

Sementara itu, isozim EST dan PER tidak dapat divisualisasikan dengan baik pada semua sampel yang diuji, baik pada mata, otot dan hati ikan

banding (gambar 4 & gambar 5).



Gambar 4. Zimogram peroksidase ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap



Gambar 4. Zimogram esterase ikan bandeng asal tambak di Perairan Pantai Cilacap

Tidak terespresinya pita hasil elektroforesis diduga disebabkan oleh perubahan formasi protein karena adanya metilasi. Faktor lainnya adalah kurangnya jumlah protein dari sampel individu yang dimasukkan ke dalam sumur gel (Prematuri, 1995). Meskipun demikian, pada PER tampak adanya kecenderungan bahwa pita-pita isozim bermigrasi ke arah kedua kutub elektroda seperti halnya pola migrasi PER pada ikan sidat (*Anguilla* sp) yang dilaporkan oleh Susanto *et al.* (2002). Pada ikan sidat PER dan EST dapat divisualisasikan dengan baik. Isozim PER lebih banyak menampilkan pita yang lambat sedangkan EST adalah cepat. Keadaan ini memberi petunjuk bahwa isozim PER didukung oleh protein enzim dengan berat molekul tinggi. Struktur sub unit PER menurut Murphy *et al.* dalam Nuryanto (2001), berbentuk tidak menentu dan bersifat heterozigot. Sedangkan struktur kimia dari isozim esterase adalah monomer atau dimer dengan jumlah lokus yang tidak diketahui (Richardson *et al.*, 1986). Jumlah lokus isozim EST dapat bervariasi bahkan pada taksa yang berkerabat dekat isozim ini cenderung untuk

mengekspresikan variasi yang tidak bisa diinterpretasikan.

Pada penelitian ini waktu *running* yang digunakan sudah berada pada kisaran waktu yang ideal untuk gel pati menurut Smith (1990) yaitu 2 sampai 16 jam. Jika *running* berjalan baik, maka penyebab ketidakhadiran pita isozim dapat disebabkan oleh tiga hal. Pertama, molekul isozim memang tidak mengalami migrasi. Kedua, isozim mengalami migrasi tetapi terjadi denaturasi sehingga inaktif, dan ketiga, pada organisme tertentu isozim tersebut tidak dapat divisualisasikan. Dalam hal ini, PER dan EST pada ikan banding diduga memang tidak dapat divisualisasikan. Isozim yang sama pada jenis ikan yang berbeda dapat menampilkan pola pita yang berbeda. Bahkan adakalanya suatu isozim tidak memberikan pola pita pada ikan tertentu.

### Kesimpulan

Isozim Malat Dehidrogenase (MDH), Aspartat Aminotransferase (AAT), dan *Acid Phosphatase* (ACP) pada jaringan mata, otot dan hati ikan bandeng (*Chanos chanos* F.) masing-masing memvisualisasikan pola pita yang seragam, sedangkan Esterase (EST) dan Peroksidase (PER) tidak dapat memvisualisasikan pola pita dengan baik. Ketiga jaringan yaitu mata, hati dan otot masing-masing mampu memvisualisasikan pola pita MDH, AAT dan ACP. MDH memiliki struktur monomer, 3 lokus homozigot atau dimer heterozigot. sedangkan AAT dan ACP adalah monomer, 2 lokus homozigot

### Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah mendukung selama pelaksanaan penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Ackerman, E., L. B. M. Ellis dan L. E. Williams. 1988. Ilmu Biofisika. (Terjemahan Redjani dan Abdul Basir). Airlangga University Press, Surabaya.
- Ahmad, T dan M. J. R. Yakob. 1998. Budidaya Bandeng Intensif di Tambak. Prosiding Seminar Teknologi Perikanan Perikanan Pantai Bali, 6-7 Agustus.



# Marine Journal

Desember 2016

- Albert, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Robert & J. D. Watson. 1994. Biologi Molekuler Sel; Mengenal Sel. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Asmono, D., A. Hartana, E. Guhardja dan S. Yahya. 1994. Keragaman Pola Pita Isozim dari Zuriat-zuriat Yang Berkerabat pada Kelapa Genjah Coklat Jombang & Jangkung Sumenep. Forum Pasca Sarjana 17 (1): 25-31.
- Crowder, L. V. 1990. Genetika tumbuhan (terjemahan L. Kusdiarti). Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Hadie, W., J. Supriatna. 2000. Teknik Budidaya Bandeng. Penerbit Bhratara, Jakarta.
- Ismail, A., A. Poernomo., P. Sunyota., Wedjatmiko., Dharmadi & R. A. I. Budiman. 1994. Pedoman Teknis Usaha Pembesaran Ikan Bandeng di Indonesia. Seri Pengembangan Hasil Penelitian Perikanan No.26/1993. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Ismail, W. dan E. Pratiwi. 2001. Pengembangan Budidaya bandeng Disesuaikan dengan Tipe Lahan Yang Tersedia (Laut, Tambak dan Tawar). Warta Penelitian Perikanan Indonesia 7 (2): 18-23.
- Mansyah, E., Anwarudinsyah, M. J, Sadwiyanti, L. dan A. susiloadi. 1999. Variabilitas Genetik Tanaman Manggis melalui Analisis Isozim dan Kaitannya dengan Variabilitas Fenotipik. Zuriat 10 (2) :1-10.
- Mujiman, A. 1987. Budidaya Bandeng di Tambak. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Murphy, R. W., J. W. Sites. Jr, D. G. Buth and C. H. Haufler. 1996. Protein I : Isozyme Elektrophoresis. In D. M. Hill and C. Moritz (Eds.). Moleculer Systematic. P 45-26. Sinauer Associates Inc., Saunderland, Masschuset, USA.
- Novarianto, H., Hartana, A., Rumawas, F., Rifai, M. A., Guhardja, E dan A. H. Nasoetion. 1999. Studi Keterpautan Pola pita Isozim dengan Karakter Kuantitatif pada Bibit Kelapa F2. Zuriat 10 (2) : 48-53.
- Permana I. G. N., S. B. Maria, Haryanti dan K. Sugama. 2001. Pengaruh Domestikasi Terhadap Variasi Genetik pada Ikan Kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang Dideteksi dengan Menggunakan Allozim Elektrophoresis. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vol. 7 (1): 25-30.
- Purwanto, E. Sukaya, E. Setianto dan H. Santoso. 2002. Identifikasi Berdasarkan Penanda Isozim terhadap Plasma Nutfah Jeruk Besar (*Citrus maxima* Merr.) di Blora, Jawa Tengah. Bio SMART Vol. 49 (5): 640-649.
- Richardson, B. J., P. R. Baverstock & M. Adams. 1986. Allozyme Electrophoresis; A Handbook for Animal Systematics and Population Studies. Academic Press, North Ryde.
- Sabarudin, C. Kokarkin dan A. Nur. 1995. Biologi Bandeng (*Chanos chanos* F.). Teknologi Pembenihan Bandeng Secara Terkendali. Balai Budidaya Air Payau, Jepara hal. 5-16.
- Sastra, D. R. 2002. Analisis Keragaman Genetik Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L ) dengan Penanda Isozim dan Morfologi. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Budidaya Pertanian. Prosiding Seminar Teknologi Untuk Negeri.
- Shiau . C. Y., Pong-Y. J. Y, Chiou-T. K, Chai-T. J. 1996. Free Amino Acid and Nucleotide-Related Compound in Milkfish (*Chanos chanos*). Muscle and Viscera. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 44 (9). 2650-2653.
- \_\_\_\_\_ 1997. Effect of Growth on The Levels of Free Histidine and Amino Acid in White Muscle of Milkfish (*Chanos chanos*). Journal of Agriculture and Food Chemistry. 45 (6). 2103-2106.
- Sudarmadji, S. 1996. Teknik Analisa Biokimiawi. Liberty, Yogyakarta.
- Sugama, K., Haryanti & F. Cholik. 1996. Biochemical Genetic of Tiger Shrimp *Penaeus monodon*: Description of Electrophoretic Detectable Loci. IFR Journal Vol.II (1): 19-28.
- Sulaeman. 2001. Beberapa Aspek Genetika dalam Melakukan Sea Reaching. Warta Penelitian Perikanan Indonesia. Vol. 7 (1): 2 – 6.
- Syahailatua, A. 1985. Identifikasi Stok Ikan, Prinsip dan Kegunaannya. Oseana Vol.XVIII (2) : 55 -63.