

TEKNOLOGI GYNOGENESIS DAN SEX REVEAL DALAM PRODUKSI MASSAL KLON IKAN SUMATRA (*PUNTIOUS TETRAZONA*) SEBAGAI KANDIDAT IKAN DI LABORATORIUM

Dinar Tri Soelistyowati¹⁾
Komar Sumantadinata, Agus Omman Sudrajat

Strain ikan klon adalah sekelompok ikan yang berasal dari 1 induk dan mempunyai genome indentik (kembar) seperti induknya. Klon dihasilkan dengan cara ginogenesis 2 tahap menggunakan sperma yang diradiasi dan inisiasi kejutan panas saat mitosis I (tahap I) dan miosis II (tahap II). Prinsipnya adalah melakukan pengarahannya modifikasi genome pada salah satu sumber genetic (maternal) dengan cara menginaktifkan kromosom jantan melalui radiasi (UV), dan memaksa penggabungan kromosom membentuk individu diploid dengan menginduksi secara fisik sel telur yang sudah dibuahi. Pada ginogenesis tahap I, induksi dengan kejutan panas diberikan pada fase mitosis I untuk memaksa duplikasi genome (copy genom) sehingga menghasilkan G2N-miotik (mitogenot) sebagai induk klon. Pada ginogenesis tahap II, induksi kejutan panas diberikan pada fase meiosis II untuk mempertahankan badan polar 2 supaya terbentuk G2N-Klon.

Teknologi ginogenesis memiliki implikasi yang luas terhadap perkembangan akuakultur. Alam hal ini, populasi klon sangat bermanfaat sebagai hewan percobaan laboratorium bidang perikanan yaitu mendukung penelitian-penelitian yang menuntut ketelitian tinggi, khususnya mengenai penyakit ikan, evaluasi pakan dan pengujian obat. Selain itu, ginogenesis juga dapat diterapkan untuk tujuan komersial, misalnya menghasilkan benih ikan berjenis kelamin tunggal betina dimana memiliki kecepatan pertumbuhan yang lebih baik dan efisien dalam penggunaan pakan. Pemanfaatan klon ikan sebagai hewan laboratorium memungkinkan penelitian dapat berkembang untuk menggali sumber-sumber genetic dalam waktu yang singkat. Untuk tujuan komersial, penerapan rekayasa genom menguntungkan karena dapat memproduksi benih ikan steril hasil triploidisasi yang cepat tumbuh. Demikian juga dibidang pelestarian sumberdaya perikanan, telaah yang mendalam mengenai reproduksi dan evaluasi strain diperlukan untuk mendukung upaya penangkaran dan penanaman kembali ikan-ikan potensial diperairan umum.

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur keberhasilan parameter ginogenesis dalam produksi klon berdasarkan kelangsungan hidup larva diploid ginogenetik (G2N-mitotik, G2N-meiotik, dan G2N-klon), yaitu meliputi: inisiasi (saat dan lama waktu) induksi fisik berupa kejutan panas 40°C, penanganan ginogenesis serta factor biologis ikan yang meliputi kuelitas sel telur dan sperma yang digunakan. Kesuksesan percobaan rekayasa genetic pada ikan sumatra merupakan prestasi yang akan terus dikembangkan untuk kepentingan penelitian-penelitian dibidang biologi terapan, khususnya aspek fisiologi, nutrisi dan pengendalian penyakit. Selain itu, penelitian ini juga potensial untuk

¹⁾ Staf Pengajar Dep. BDP, FPTK IPB

mengembangkan ilmu, wawasan dan keterampilan para mahasiswa yang memiliki minat dibidang genetika dan reproduksi.

Rekayasa set kromosom dengan teknologi ginogenesis telah dilakukan untuk memodifikasi genotip secara cepat dalam rangka penyediaan populasi klon ikan sumatra (*P.tetrazona*, Blkr) sebagai hewan percobaan laboratorium. Sperma ikan Tawes (*P.javanicus* Blkr) yang sudah diradiasi UV digunakan sebagai donor untuk membuahi telur ikan sumatra, kemudian dirangkai dengan pemberian perlakuan kejutan panas setelah pembuahan untuk menghasilkan zigote diploid (G2N). Kejutan panas diberikan dengan cara perendaman telur yang sudah dibuahi dalam penangas air pada suhu 40°C. Pada gynogenesis tahap I, Kejutan panas diberikan pada fase mitosis untuk mendapatkan individu G2N-mitosis (F1) sebagai calon induk klon (P). Selanjutnya, pada gynogenesis tahap II, kejutan panas diberikan pada fase meiosis untuk mendapatkan individu G2N- meiosis (F2) yang disebut klon (G2N-klon). Tingkat keberhasilan gynogenesis tahap I, yaitu produksi larva hidup G2N-mitotik (F1) adalah 7,7% dimana optimasi inisiasi kejutan panas yang diberikan yakni pada menit ke-18 (a.f) selama 90 detik. Selanjutnya, (klon) dengan keberhasilan hidup (SR₂₈) 3,54 % dimana optimasi inisiasi kejutan panas yang diberikan yakni pada menit ke-1 (a.f) selama 90 detik.

Status genetic klon dinialisis dengan cara *tissue grfting* dan pengamatan DNA menggunakan metode RAPD-PCR. Materi DNA diekstraksi dari bagian sirip ikan dengan metode CTAB II, sedangkan untuk mengetahui pola pita DNA Individu klon digunakan primer yang tidak bersifat spesifik yakni OPA-2. Suatu primer akan mewakili satu lokus dimana untuk setiap lokus indentik dengan aleliknya. Optimasi program amplikasi PCR menggunakan primer OPA-2 meliputi predenaturasi pada 94°C (1 siklus) selama 5 menit dan denaturasi (45 siklus) selama 1 menit, penempelan pada primer dengan suhu 30°C (1 menit), polimerasi pada 72°C (2 menit) dan polimerasi akhir (1 siklus) selama 5 menit. Hasil pembacaan DNA klon menggunakan marker 1 kb ladder menggambarkan pola pita yang seragam antar individu klon, yaitu terdiri dari 4 pita yang berbeda pada posisi antara 2000-3000 bp. Sedangkan percobaan *tissu grfting* dilakukan dengan cara menukar tempat menempel salah satu sisik antar individu klon, dan mengamati proses penempel salah satu sisik antar individu klon, dan mengamati proses penempelan kembali (pertumbuhannya) selama 2 minggu. Apabila sisik yang dinempelkan pada klon dapat dideteksi pada akhir pengamatan menunjukkan bahwa kedua ikan merupakan klon. Dalam percobaan ini, salah satu ikan diambil sisiknya pada bagian pita badan yang berwarna hitam dan ikan lainnya pada bagian perut yang berwarna putih. Hasil pengamatan tampak spot hitam yang tidak terlalu nyata pada bagian perut ikan maupun spot putih pada bagian pita hitam dibawah operculum, juga tidak ditemukan sisik yang gugur dalam media pemeliharaan. Hasil tersebut mendukung hypotesa kesamaan genome individu klon yang diproduksi dengan ginogenesis.

Rekayasa set kromosom dengan teknik ginogenesis menghasilkan kelangsungan hidup larva (SR₂₈) yang rendah, yakni 7,7% (G2N-mitotik) dan 3,5% (G2N-Klon), dimana keberhasilan G2N-mitotik (calon induk klon) mencapai siap pijah tidak lebih dari 50% pada suhu pemeliharaan 27-28°C.

Karakterisasi status genetik stain klon dapat dianalisis lebih lanjut menggunakan primer-primer lain yang biasa digunakan dalam pemetaan genetik ikan *Cyprinus*.