

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

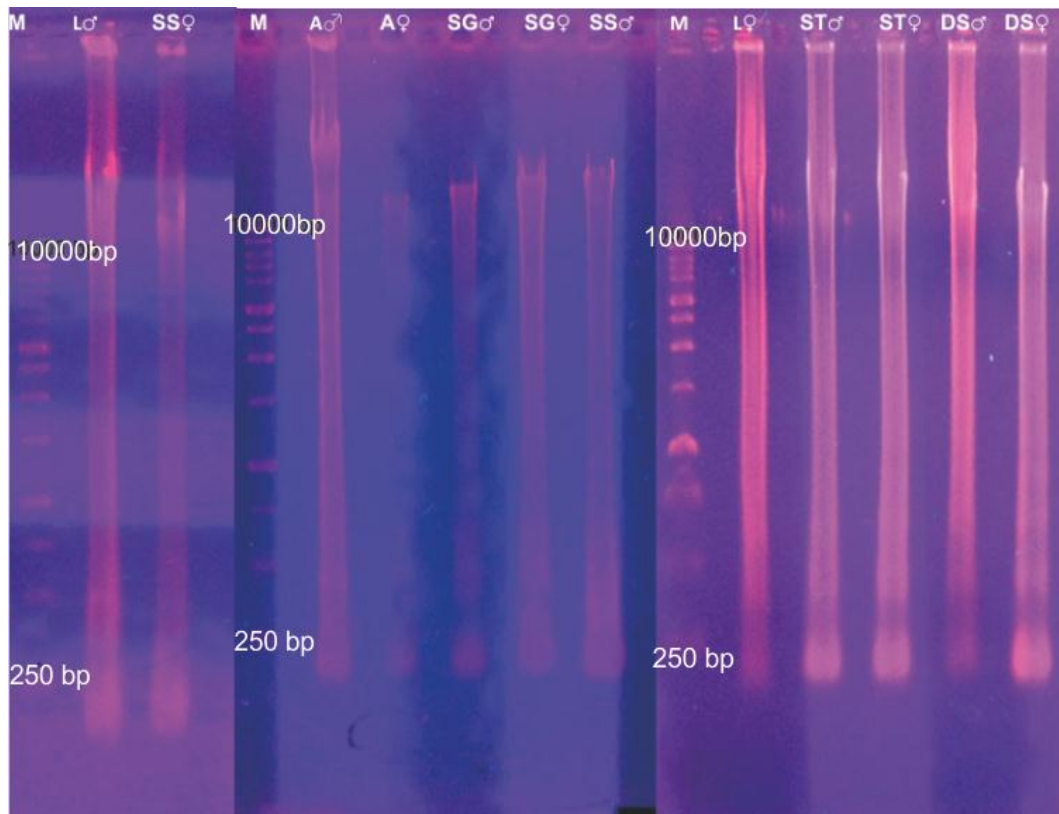
4.1 Isolasi DNA Genom

Isolasi dalam penelitian ini menggunakan *Wizard® Genomic Purification Kit* (Promega), yang dapat digunakan untuk mengisolasi DNA genom dari jaringan segar berupa sirip ikan lele. Penggerusan menggunakan sumpit steril yang sudah dimodifikasi dengan meruncingkan salah satu ujung dari sumpit tersebut. Hasil dari isolasi menggunakan *Wizard® Genomic purification Kit* (Promega) disimpan pada suhu -20°C untuk selanjutnya dilakukan amplifikasi.

Beberapa tahap yang mempengaruhi ekstraksi DNA adalah proses pengeluaran DNA dari nukleus, mitokondria maupun organel lain dengan cara dilisiskan dengan menghomogenasi dengan penambahan bufer ekstraksi atau bufer lisis untuk mencegah DNA rusak (Fatchiyah *et al.* 2011), setelah di ekstraksi dilakukan presipitasi DNA bertujuan untuk mengendapkan DNA dan memisahkan dari senyawa-senyawa atau bahan lain, dan pencucian DNA Genom.

DNA Genom hasil isolasi akan terlihat kualitas dan keberadaanya dengan menggunakan elektroforesis. Elektroforesis DNA Genom dilakukan dengan menggunakan beda potensial 75 volt selama 70 menit dengan konsentrasi gel agarose 1%. DNA Genom relatif berukuran besar.

Gel agarose hasil elektroforesis lalu direndam di *etidium bromida* 0,5% selama 30 menit. *Etidium bromida* mengandung senyawa fluoresen yang akan berikatan dengan DNA sehingga pada saat terkena sinar UV DNA akan berpendar di dalam gel agarose. Gel agarose kemudian dipindahkan kedalam aquades steril selama 15 menit untuk mencuci gel agarose. Visualisasi DNA hasil elektroforesis dan perendaman menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang sebesar 312nm. Hasil isolasi DNA ikan lele Lokal, Dumbo, dan Sangkuriang dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 hasil elektroforesis DNA Genom Lele Lokal, Dumbo, dan Sangkuriang

Keterangan :

M : Marker DNA ladder 1kb.
 L♂ : Lokal Jantan
 L♀ : Lokal Betina
 DS♂ : Dumbo Singaparna Jantan
 DS♀ : Dumbo Singaparna Betina
 SG♂ : Sangkuriang Garut Jantan

SG♀ : Sangkuriang Garut Betina
 SS♂ : Sangkuriang Sumedang Jantan
 SS♀ : Sangkuriang Sumedang Betina
 ST♂ : Sangkuriang Tasikmalaya Jantan
 ST♀ : Sangkuriang Tasikmalaya Betina
 A♂ : Albino Jantan
 A♀ : Albino Betina

Hasil isolasi diperoleh dari 3 gel agarose yang berbeda. Hasil tersebut dikarenakan dalam pengerjaan sampel DNA lele didapat dalam waktu yang berbeda dan pengulangan pada DNA yang tidak terisolasi. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali sampai DNA terisolasi. Tipisnya pita terjadi karena kemungkinan pada proses isolasi DNA genom tersebut karena konsentrasi DNA relatif rendah menyebabkan tipisnya pita DNA setelah perendaman Et.Br dan setelah visualisasi pada UV *transilluminator* (bekerja dengan cara menyinari DNA yang telah berikatan dengan senyawa Et.Br). Kemungkinan lain penyebab tidak terisolasinya DNA genom adalah adanya *smear* (kontaminasi DNA hasil isolasi

oleh sisa hasil ekstraksi DNA) pada isolat DNA yang dapat mengganggu proses PCR (Fatchiyah *et al.* 2011).

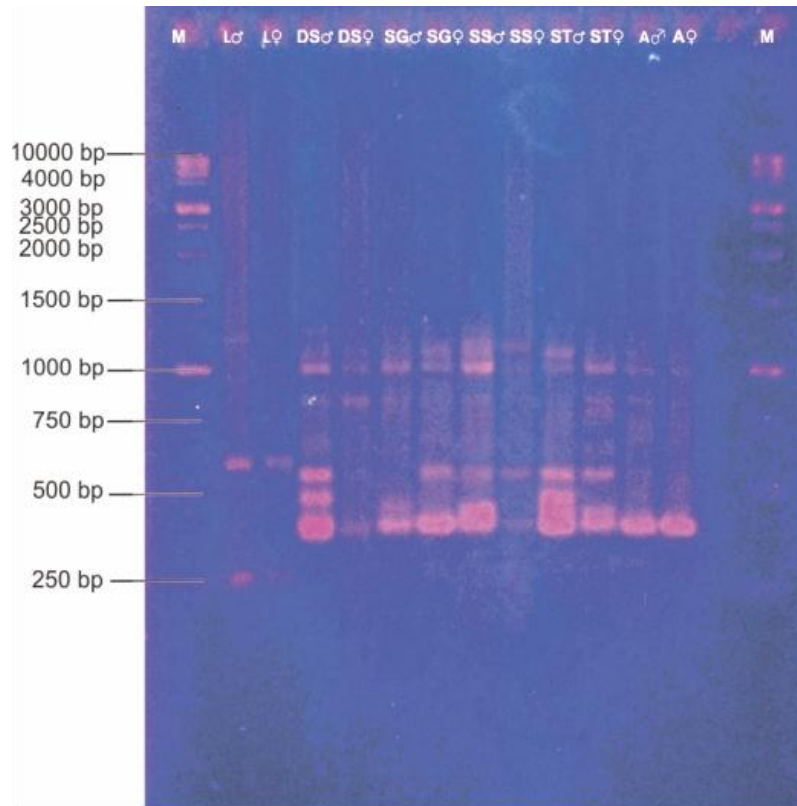
4.2 Hasil Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan 8 primer yang telah diseleksi diantaranya OPA-03, OPA-06, OPA-07, OPA-09, OPA-11, OPA-14, OPA-17, OPA-20 dari Operon Technology (Danish 1999). Dari ke-8 primer tersebut didapat dua primer yang dapat menghasilkan polimorfik setelah optimasi primer di setiap sampel ikan lele yang di amplifikasi. Dua primer tersebut adalah OPA-03 (5'-AGTCAGCCAC-3') dan OPA-09 (5'-GGGTAACGCC-3') yang selanjutnya dilakukan untuk analisis kekerabatan ikan lele dengan metode RAPD.

Amplifikasi DNA memerlukan banyak optimasi untuk dapat menghasilkan hasil amplifikasi yang terbaik (semua sampel DNA strain lele menghasilkan variasi fragmen DNA). Optimasi dilakukan pada perancangan program pada mesin PCR (*Thermal Cycler*) dan pemilihan primer. Perancangan program PCR dapat dilakukan dengan menambah atau mengurangi suhu *annealing* (proses penempelan primer pada DNA *template*) dari setiap tahap amplifikasi DNA. Selain dari suhu *annealing*, waktu ekstensi pada setiap tahap amplifikasi DNA dapat ditambah atau dikurangi untuk menghasilkan produk amplifikasi yang baik. Pemilihan primer dilakukan dengan cara memilih primer yang menghasilkan pita polimorfik yang tervisualisasi pada gel agarose. Pita pada gel agarose yang dihasilkan menunjukkan bahwa urutan basa primer yang digunakan komplemen dengan DNA genom pada ikan uji. Optimasi komponen PCR dan kondisi *thermal cycler* akan tergantung pada ukuran genom, kandungan basa nukleotida G C dari primer DNA genom, dan kualitas *template* (Saunders dan Parkes 1999). Hasil amplifikasi DNA ikan lele Lokal, Dumbo, dan Sangkuriang disajikan pada Gambar 4.2

Proses amplifikasi dilakukan dengan proses optimasi dengan merubah pengaturan pada mesin *thermal Cycler* seperti merubah suhu *annealing* (dari suhu 32-38°C) dan lama waktu ekstensi. Dari delapan (8) primer yang diujikan, 2

diantaranya menghasilkan fragmen di setiap sampel (OPA-03 dan OPA-09) sedangkan primer yang lainnya tidak teramplifikasi di setiap sampel dengan baik (Lampiran 9).



Gambar 4.2 hasil amplifikasi dengan primer OPA-03

Keterangan :

M	: Marker DNA ladder 1kb.	SG♀	: Sangkuriang Garut Betina
L♂	: Lokal Jantan	SS♂	: Sangkuriang Sumedang Jantan
L♀	: Lokal Betina	SS♀	: Sangkuriang Sumedang Betina
DS♂	: Dumbo Singaparna Jantan	ST♂	: Sangkuriang Tasikmalaya Jantan
DS♀	: Dumbo Singaparna Betina	ST♀	: Sangkuriang Tasikmalaya Betina
SG♂	: Sangkuriang Garut Jantan	A♂	: Albino Jantan
		A♀	: Albino Betina

Hasil produk amplifikasi DNA genom yang terdapat pada gambar 4.2 didapatkan fragmen pita DNA yang dihasilkan oleh primer OPA-03 dan OPA-09 pada setiap ikan uji (strain ikan lele). Fragmen pita dihasilkan bervariasi karena terdapat perbedaan pada urutan nukleotida tempat penempelan primer. Pita yang teramplifikasi sangat tergantung dari kualitas, kuantitas, kecocokan template dan primer yang digunakan. Tempat penempelan primer terdistribusi secara random di sepanjang genom dan polimorfismenya pada daerah ini menghasilkan amplifikasi

yang berbeda-beda (Harris 1995). Fragmen pita yang dihasilkan RAPD dapat terjadi karena adanya substitusi nukleotida yang dapat menciptakan atau menghilangkan tempat penempelan primer atau insersi, delesi pada daerah antar primer yang dapat mengubah ukuran fragmen yang dihasilkan (Black 1993, Caetano-Anolles 1996, William *et al.* 1993 *dalam* Harris 1995).

Fragmen pita tersebut dapat dikelompokkan menjadi dua kategori yaitu pita polimorfik dan pita monomorfik. Williams dan Ronald (1990) mengemukakan bahwa Pita polimorfik adalah gambaran pita DNA yang muncul pada ukuran tertentu, tetapi pada ikan uji lain tidak ditemukan pita DNA pada ukuran tersebut. Pita monomorfik adalah pita yang terdapat pada beberapa ikan uji sehingga tidak memiliki variasi.

Pita polimorfik ditentukan dengan melihat pita DNA ukuran tertentu yang hanya ditemukan pada ikan uji tersebut. Sedangkan pita monomorfik adalah pita yang timbul pada beberapa ikan uji. Pita yang teramplifikasi oleh primer OPA-03 berkisar antara 1570-227 bp yang ditampilkan pada tabel 4.1

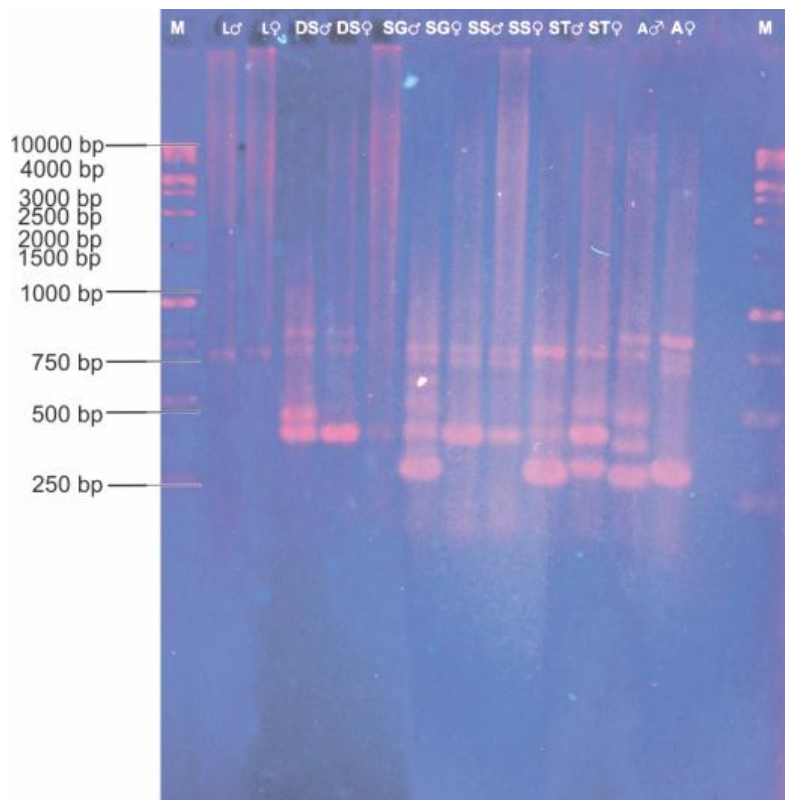
Tabel 4.1 Pita Polimorfik dan monomorfik Lele dari OPA-03

ukuran basa dari larik	L♂	L♀	DS♂	DS♀	SG♂	SG♀	SS♂	SS♀	ST♂	ST♀	A♂	A♀
1570			--*									
1375	--*											
1245	--		--		--	--	--	--	--			
1115			--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
827			--	--		--				--	--	
628			--							--		
550	--	--										
492			--	--	--	--	--	--	--	--		
426	--						--		--			
390			--			--			--			
361			--	--	--	--			--	--	--	--
342					--	--	--	--	--	--	--	--
306			--	--								
227	--	--										

Keterangan : -- pita yang muncul pada gel agarose
--* pita polimorfik

Berdasarkan tabel 4.1, Dumbo Singaparna memiliki pita yang teramplifikasi lebih banyak dibanding dengan sampel lainya bila menggunakan primer OPA-03. Ada 9 pita DNA pada Dumbo Singaparna jantan, 5 pita pada Dumbo Singaparna, 5 pita DNA pada lele Lokal jantan, 2 pita DNA pada lele Lokal betina, 5 pita DNA pada Sangkuriang Garut jantan, 7 pita DNA pada Sangkuriang Garut betina, 5 pita DNA pada Sangkuriang Sumedang jantan, 4 pita DNA pada Sangkuriang Sumedang betina, 7 pita DNA pada Sangkuriang Tasikmalaya jantan, 6 pita pada Sangkuriang Tasikmalaya betina, 4 pita DNA pada Albino jantan, dan 3 pita DNA pada Albino betina.

Terdapat pita polimorfik pada lele Lokal jantan dan Dumbo Singaparna jantan oleh primer OPA-03. Kedua pita tersebut tidak ditemukan pada ikan uji ikan lele lainya, ukuran pita DNA polimorfik pada lele Lokal terletak di 1375 bp. Sedangkan pada lele Dumbo Singaparna terletak di 1570 bp. Lele Lokal jantan yang digunakan dalam penelitian memiliki warna hitam dengan bintik putih sepanjang tubuhnya. Sedangkan pada lele Dumbo jantan yang digunakan memiliki tubuh yang paling panjang diantara ikan uji lele yang lainya. Perbedaan polimorfik tersebut mungkin dapat mengekspresikan sifat yang tampak (fenotip kuantitatif) ataupun sifat yang tidak tampak seperti kecepatan pertumbuhan, jumlah fekunditas, ketahanan terhadap penyakit, ataupun yang lainny.



Gambar 4.3 hasil amplifikasi dengan primer OPA-09

Keterangan :

M	: Marker DNA ladder 1kb.	SG♀	: Sangkuriang Garut Betina
L♂	: Lokal Jantan	SS♂	: Sangkuriang Sumedang Jantan
L♀	: Lokal Betina	SS♀	: Sangkuriang Sumedang Betina
DS♂	: Dumbo Singaparna Jantan	ST♂	: Sangkuriang Tasikmalaya Jantan
DS♀	: Dumbo Singaparna Betina	ST♀	: Sangkuriang Tasikmalaya Betina
SG♂	: Sangkuriang Garut Jantan	A♂	: Albino Jantan
		A♀	: Albino Betina

Pita yang teramplifikasi menggunakan primer OPA-09 (Gambar 4.3), Ada 1 pita DNA pada lele Lokal jantan, 1 pita DNA pada lele Lokal betina, 4 pita DNA pada Dumbo Singaparna jantan, 3 pita pada Dumbo Singaparna, 2 pita DNA pada Sangkuriang Garut jantan, 6 pita DNA pada Sangkuriang Garut betina, 2 pita DNA pada Sangkuriang Sumedang jantan, 2 pita DNA pada Sangkuriang Sumedang betina, 4 pita DNA pada Sangkuriang Tasikmalaya jantan, 4 pita pada Sangkuriang Tasikmalaya betina, 5 pita DNA pada Albino jantan, dan 4 pita DNA pada Albino betina. Ukuran pita yang tervisualisasikan pada gel agarose hasil PCR OPA 09 berkisar antara 206-908 bp.

Ada 3 sampel ikan lele yang menghasilkan pita polimorfik yang teramplifikasi OPA 09 ini, diantaranya Sangkuriang Garut betina di kisaran 255 bp, Albino jantan di 295 bp, dan Albino betina di 587 bp.

Tabel 4.2 Pita Polimorfik dan monomorfik Lele dari OPA-09

ukuran basa dari larik	L♂	L♀	DS♂	DS♀	SG♂	SG♀	SS♂	SS♀	ST♂	ST♀	A♂	A♀
908			--	--								
806			--	--							--	--
745	--	--				--	--	--	--	--	--	
679					--	--	--	--				
587												--*
456						--				--		
384			--								--	--
336			--	--	--	--	--	--	--	--		
295											--*	
255						--*						
232						--			--	--		--
206									--		--	

Keterangan : -- pita yang muncul pada gel agarose
--* pita polimorfik

Pita polimorfik yang timbul pada Sangkuriang Garut betina timbul pada 255 bp. Berdasarkan pengamatan fenotip lele Sangkuriang Garut tidak memiliki ciri khusus, sama seperti lele Sangkuriang pada umumnya. Pita polimorfik yang muncul pada lele Sangkuriang Garut mungkin merupakan alel (gen-gen yang terletak pada 1 lokus yang sama pada kromosom homolognya dan mempunyai tugas berlawanan untuk suatu sifat tertentu) yang lain yang tidak tampak pada fenotipnya. Polimorfik pada OPA 09 juga terekspresikan oleh lele Albino jantan dan betina. Berdasarkan pengamatan, lele Albino berwarna putih kemerahan dengan corak hitam kecoklatan pada seluruh tubuhnya. Variasi genetik yang timbul tidak dapat ditentukan oleh keberadaan satu pita polimorfik tersebut, karena pita tersebut belum pasti penentu sifat corak dan warna pada ikan uji lele Albino.

4.3 Analisis Kekerabatan Genetik strain Ikan Lele

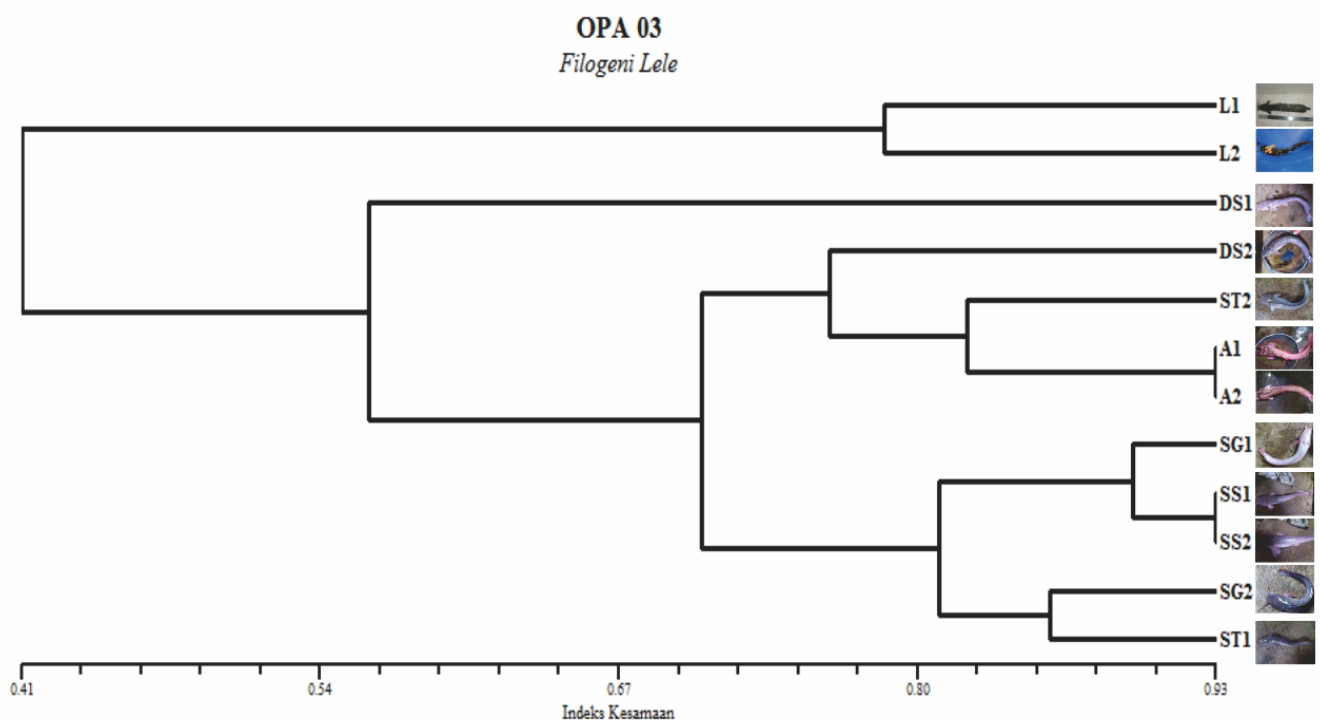
Fragmen pita DNA yang dihasilkan dari amplifikasi DNA genom oleh primer OPA 03 dan OPA 09 diterjemahkan kedalam matriks biner. Penerjemahan fragmen larik menjadi matriks biner bertujuan untuk analisis lebih lanjut menggunakan program NTSYS pc. Penerjemahan biner didasarkan pada kehadiran pita pada hasil amplifikasi DNA, nilai (1) diberikan untuk pita yang muncul dan nilai (0) untuk pita yang tidak muncul.

Ketebalan pita tidak diperhitungkan pada penerjemahan biner, perbedaan ketebalan dipengaruhi oleh intensitas DNA yang teramplifikasi pada pita tersebut. Venugopal *et al.* (1994) dalam Rafsanjani (2011) menyatakan bahwa perbedaan intensitas dihasilkan oleh variasi urutan nukleotida pada tempat penempelan primer. Larik dengan intensitas kuat merupakan produk amplifikasi yang diapit tempat penempelan primer dengan sempurna, sehingga memiliki ikatan yang lebih kuat. Sedangkan larik dengan intensitas lemah merupakan larik hasil amplifikasi yang diapit oleh tempat penempelan primer yang kurang sempurna.

Data biner yang dihasilkan (Lampiran 10 dan Lampiran 11), kedua data biner tersebut digabungkan untuk menghasilkan data biner gabungan (Lampiran 12). Penelitian dengan menggabungkan data biner dari seluruh primer yang digunakan pernah dilakukan oleh Muharam (2012), Anggraeni (2007), Hashmi. G *et al* (1997), Qian. W *et al* (2001), Chan dan Sun (1997), serta Yoon dan Park (2001). Data biner gabungan setiap primer dapat melihat hasil secara umum yang lebih jelas. Data biner dihitung indeks kesamaan dengan menggunakan indeks “*simple matching*” (Lampiran 13).

Fenogram dibangun untuk menghasilkan pohon filogeni yang dapat menggambarkan indeks kesamaan secara umum. Perhitungan fenogram menggunakan nilai *simple matching* dibangun dengan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages*). Metode UPGMA dapat menggunakan *software* computer NTSYS pc (Lampiran 14).

Terdapat tiga fenogram yang dihasilkan pada penelitian ini. Setiap fenogram dihasilkan dari hasil data biner dan nilai *simple matching* yang dihasilkan primer OPA 03, OPA 09 dan gabungan kedua primer tersebut. Hasil fenogram yang dihasilkan menggunakan primer OPA 03 terdapat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Fenogram kesamaan genetik hasil analisis UPGMA menggunakan primer OPA-03

Keterangan :

L1	: Lokal Jantan	SS1	: Sangkuriang Sumedang Jantan
L2	: Lokal Betina	SS2	: Sangkuriang Sumedang Betina
DS1	: Dumbo Singaparna Jantan	ST1	: Sangkuriang Tasikmalaya Jantan
DS2	: Dumbo Singaparna Betina	ST2	: Sangkuriang Tasikmalaya Betina
SG1	: Sangkuriang Garut Jantan	A1	: Albino Jantan
SG2	: Sangkuriang Garut Betina	A2	: Albino Betina

Berdasarkan fenogram hasil analisis UPGMA pada gambar 4.4 dengan menggunakan OPA-03, dari dua belas isolat DNA genom (Lokal Jantan, Lokal Betina, Dumbo Singaparna Jantan, Dumbo Singaparna Betina, Sangkuriang Garut Jantan, Sangkuriang Garut Betina, Sangkuriang Sumedang Jantan, Sangkuriang

Sumedang Betina, Sangkuriang Tasikmalaya Jantan, Sangkuriang Tasikmalaya Betina, Albino Jantan, dan Albino Betina) diperoleh 3 kelompok besar. Lele Lokal (L1 dan L2) memiliki indeks kesamaan sebesar 42% menunjukkan ikan uji lele Lokal memiliki tingkat kekerabatan yang jauh dibanding dengan kelompok Sangkuriang dan Dumbo, namun masih memiliki kesamaan. Kelompok berikutnya adalah lele Dumbo jantan (D1) dengan indeks kesamaan 57% dengan kelompok lele Sangkuriang (SG1, SG2, ST1, ST2, A1, A2, SS1, dan SS2,). Sedangkan lele Dumbo betina memiliki tingkat kesamaan 71% dengan lele Sangkuriang lainnya. Antara lele Lokal jantan hitam (L1) dengan lele Lokal betina (L2) bercorak memiliki tingkat kesamaan 78% yang menunjukkan kekerabatan yang dekat. Kedua ikan uji lele ini memiliki ciri morfologi yang sama walaupun memiliki warna berbeda. Sehingga nilai indeks kesamaan kedua ikan uji tinggi (kekerabatan dekat). Kedua ikan uji ini dapat dilihat pada gambar 4.5



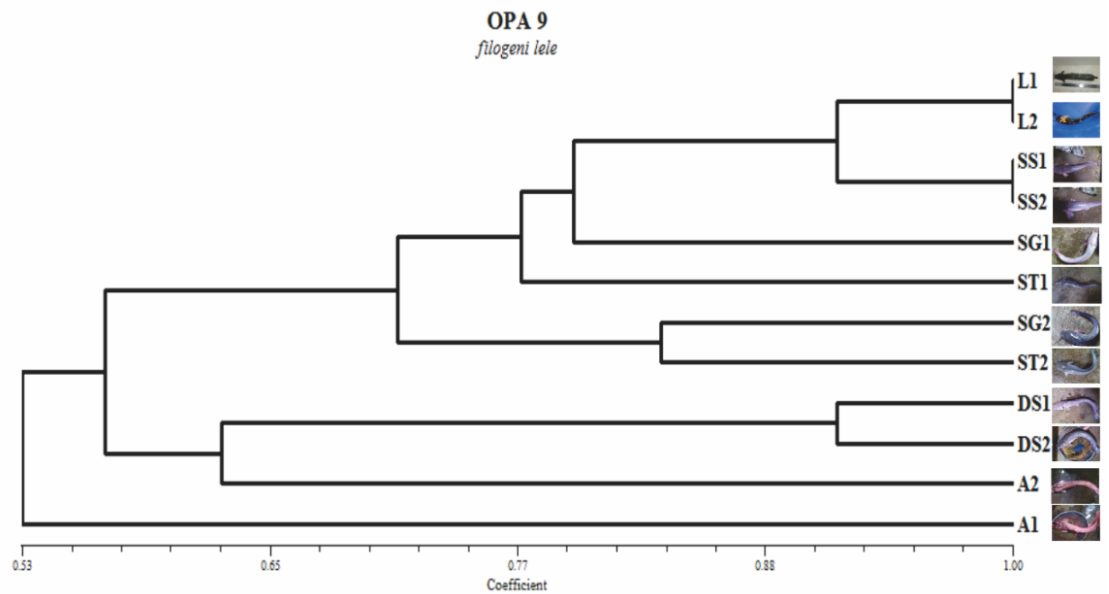
Gambar 4.5 Perbedaan corak pada lele Lokal Betina (L♀) dan Jantan(L♂)

Sedangkan kekerabatan terdekat diekspresikan antara ikan lele Albino jantan (A1) dan betina (A2) dengan indeks kesamaan sebesar 93%. Pada pengambilan ikan uji Albino jantan dan betina di ambil pada 1 habitat yang sama. Besar kemungkinan ikan uji ini masih dalam 1 filial (keturunan) yang sama. (Gambar 4.6)



Gambar 4.6 lele Albino betina (A♀) dan Jantan (A♂)

Hasil fenogram kedua adalah fenogram hasil pengolahan data biner hasil amplifikasi DNA menggunakan primer OPA-09. Pada gambar 4.7 menunjukkan hasil fenogram menggunakan OPA-09 dari dua belas (12) isolat DNA genom (Lokal Jantan, Lokal Betina, Dumbo Singaparna Jantan, Dumbo Singaparna Betina, Sangkuriang Garut Jantan, Sangkuriang Garut Betina, Sangkuriang Sumedang Jantan, Sangkuriang Sumedang Betina, Sangkuriang Tasikmalaya Jantan, Sangkuriang Tasikmalaya Betina, Albino Jantan, dan Albino Betina) didapat hasil fenogram yang menggambarkan bahwa lele Lokal memiliki tingkat kekerabatan .

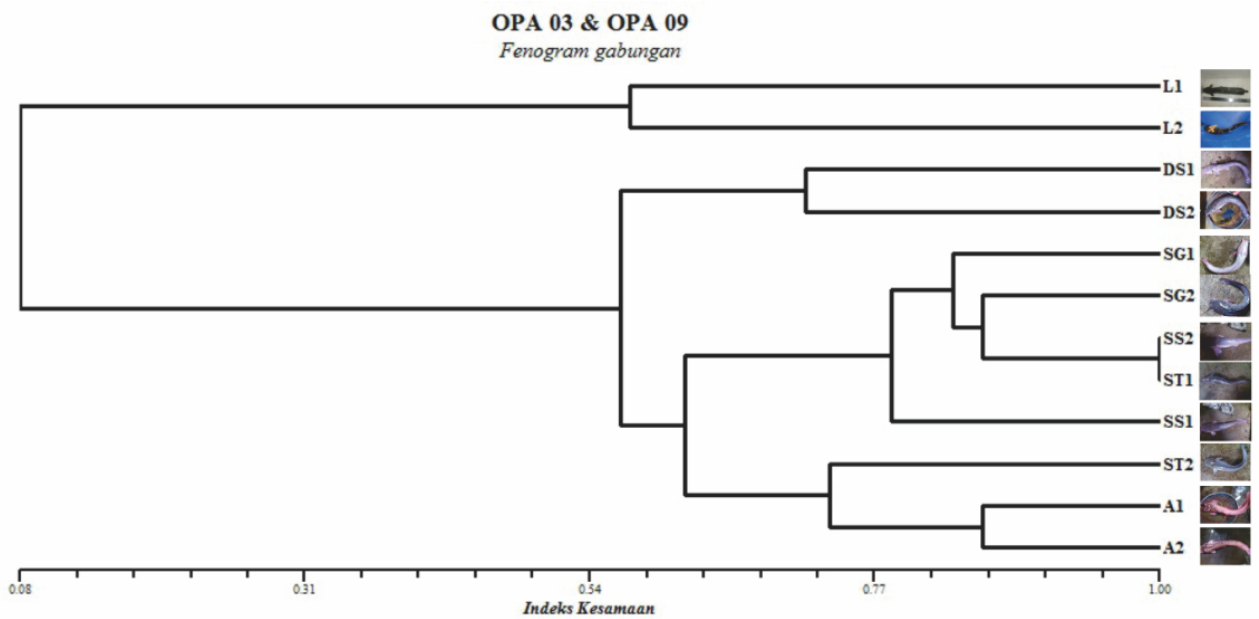


Gambar 4.7 Fenogram kesamaan genetik hasil analisis UPGMA menggunakan primer OPA-09

Keterangan :

L1	: Lokal Jantan	SS1	: Sangkuriang Sumedang Jantan
L2	: Lokal Betina	SS2	: Sangkuriang Sumedang Betina
DS1	: Dumbo Singaparna Jantan	ST1	: Sangkuriang Tasikmalaya Jantan
DS2	: Dumbo Singaparna Betina	ST2	: Sangkuriang Tasikmalaya Betina
SG1	: Sangkuriang Garut Jantan	A1	: Albino Jantan
SG2	: Sangkuriang Garut Betina	A2	: Albino Betina

Fenogram menggunakan OPA-09 pada Gambar 4.7 menunjukkan ketidakcocokan primer OPA-09 yang tidak spesifik mengamplifikasi sekuen yang dikenal dalam DNA genom lele Lokal (L1 dan L2) dan lele Sangkuriang Sumedang (SS1 dan SS2) sebagai fragmen-fragmen yang terkopi (Gambar 4.3). Hal ini yang mengakibatkan lele Lokal dan lele Sangkuriang Sumedang diinterpretasikan oleh OPA-09 sekerabat. Interpretasi ini menjabarkan primer OPA-09 bukan primer yang cocok untuk membedakan polimorfisme lele Lokal (*Clarias batrachus*) dan lele Sangkuriang Sumedang (*Clarias* sp.). Danish *et al* (2012), primer OPA-09 dapat membedakan pita-pita DNA polimorfik yang ada di antara strain-strain Lele Lokal (*Clarias batrachus* L.).



Gambar 4.8 Fenogram kesamaan genetik hasil analisis UPGMA menggunakan primer OPA-03 dan OPA-09

Keterangan :

L1	: Lokal Jantan	SS1	: Sangkuriang Sumedang Jantan
L2	: Lokal Betina	SS2	: Sangkuriang Sumedang Betina
DS1	: Dumbo Singaparna Jantan	ST1	: Sangkuriang Tasikmalaya Jantan
DS2	: Dumbo Singaparna Betina	ST2	: Sangkuriang Tasikmalaya Betina
SG1	: Sangkuriang Garut Jantan	A1	: Albino Jantan
SG2	: Sangkuriang Garut Betina	A2	: Albino Betina

Hasil fenogram ketiga adalah hasil gabungan antara OPA-03 dan OPA-09 (Lampiran 15). Fenogram gabungan berguna untuk melihat secara umum karakteristik genetik pada ikan uji yang diujikan. Hasil fenogram gabungan didapatkan dari pita-pita hasil amplifikasi DNA oleh primer OPA-03 dan OPA-09 yang diterjemahkan kedalam matriks biner. Hasil matriks biner yang didapatkan, disatukan kemudian dianalisis nilai kesamaanya dengan fenogram menggunakan NTSYS pc secara bersamaan. Pada gambar 4.8 menunjukkan hasil fenogram gabungan antara OPA-03 dan OPA-09 yang sudah dianalisis menggunakan NTSYS pc secara bersamaan.

Berdasarkan hasil fenogram pada gambar 4.8, menghasilkan 3 kelompok besar dari dua belas (12) isolat DNA genom (Lokal Jantan, Lokal Betina, Dumbo Singaparna Jantan, Dumbo Singaparna Betina, Sangkuriang Garut Jantan, Sangkuriang Garut Betina, Sangkuriang Sumedang Jantan, Sangkuriang Sumedang Betina, Sangkuriang Tasikmalaya Jantan, Sangkuriang Tasikmalaya Betina, Albino Jantan, dan Albino Betina).

Kelompok besar pertama adalah kelompok lele Lokal dengan kelompok lele Sangkuriang dan Dumbo memiliki indeks kesamaan sebesar 8-40% (Gambar 4.8). lele Lokal jantan dan betina yang terpisah dari kelompok lele Dumbo dan lele Sangkuriang ini menyatakan bahwa antara lele Lokal dan lele uji Sangkuriang, Dumbo dan Albino memiliki tingkat kekerabatan yang jauh (berbeda spesies). Lele Lokal jantan dan lele Lokal betina memiliki indeks kesamaan sebesar 57%, Kedua ikan lele uji ini memiliki ciri morfologi yang sama dengan sedikit perbedaan warna yang menghasilkan nilai indeks kesamaan kedua ikan uji tinggi.

Kelompok berikutnya antara lele Dumbo Singaparna dengan kelompok lele Sangkuriang memiliki indeks kesamaan 33-75%. Hasil kekerabatan lele Dumbo (jantan, betina) Singaparna dengan Sangkuriang Garut (jantan, betina) dan Sangkuriang Sumedang (jantan, betina) serta Albino memiliki jarak kekerabatan genetik sebesar 62,5% (Gambar 4.8). Lele Dumbo Singaparna memiliki kelompok tersendiri dengan indeks kesamaan antar jantan dan betinanya sebesar 71%. Lele Dumbo (DS1 dan DS2) dan kelompok Sangkuriang (SG1, SG2, ST1, ST2, A1, A2, SS1, dan SS2,) memiliki tingkat kekerabatan yang relatif lebih jauh meskipun masih dalam satu spesies (*Clarias* sp.).

Kelompok terakhir diantara lele Sangkuriang memiliki indeks kesamaan 44-83%. Ini menyatakan lele Sangkuriang dari berbagai daerah masih memiliki tingkat kekerabatan yang relatif dekat. Hal ini mungkin dikarenakan parental (induk ikan) dari sampel di tiap-tiap daerah relatif sama, yaitu dari Subang Cijengkol.

Tingkat kekerabatan yang didapatkan dari hasil pengolahan data diperoleh bahwa ikan yang diujikan dikelompokkan menjadi 3 kelompok besar yaitu ikan lele

Lokal, lele Dumbo, dan kelompok lele Sangkuriang. Hasil ini dapat dipengaruhi oleh banyak hal, salah satunya adalah oleh jumlah kromosom dalam individu. Jumlah kromosom dalam satu set tiap spesies pada keadaan normal adalah tetap. Walaupun jumlah kromosom satu spesies bisa sama dengan spesies lain, tetapi berbeda dalam bentuk, ukuran dan komposisi gen-gennya (Goldstein 1967; Dwidjoseputro 1977; Yatim 1991 *dalam* Sucipto 2012). Makin jauh hubungan kekerabatan suatu organisme, makin besar kemungkinan perbedaan jumlah, bentuk dan susunan kromosomnya (Ville dan Dethier 1971; Denton 1973; Yatim 1991 *dalam* Sucipto 2012). Dari hasil penelitian Carman (1990) dalam Widiyanti jumlah kromosom ikan lele Lokal (*Clarias batrachus*) adalah 98 untuk diploid dan 147 untuk triploid. Pada ikan lele Afrika (*Clarias gariepinus*) jumlah kromosom 54 untuk diploid dan 82 untuk triploid (Ritcher *et al.* 1987 dalam Widiyanti 2008).

Kelompok pertama yaitu ikan lele Lokal. Lele Lokal jantan yang diujikan berasal dari petani di daerah Cilangkap Jakarta dan merupakan ukuran dewasa (30cm) berwarna hitam dengan bintik putih disepanjang linea lateralisnya. Lele Lokal betina berasal dari sungai di daerah Kawali Ciamis yang asalnya kurang dapat diketahui. Tingkat kekerabatan sebesar 57-78% yang terjadi antar 1 spesies ini terjadi dari berbedanya lokasi, latar belakang parental yang berbeda, dan pigmentasi dari kedua sampel lele Lokal ini menghasilkan kekerabatan yang memiliki tingkat cukup jauh walaupun masih dikatakan 1 spesies.

Kelompok kedua adalah lele Dumbo. Lele Dumbo ini berasal dari daerah Singaparna, Tasikmalaya. Lele Dumbo yang digunakan merupakan indukan yang sudah tidak produktif lagi berumur sekitar 1 tahun. Lele Dumbo ini dulunya berasal dari Balai di Tasikmalaya yang mungkin keturunannya berbeda dengan indukan yang digunakan untuk pembuatan calon indukan lele Sangkuriang. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa lele Dumbo jantan dan betina memiliki indeks kesamaan sebesar 71-90%. Hasil ini diduga adanya perbedaan asal keturunan antar kedua individu (tidak berasal dari nenek moyang yang sama). Para pembudidaya sudah jarang menggunakan indukan dari lele Dumbo budidaya

karena dirasa memiliki mutu tingkat produksi yang lebih rendah dari lele Sangkuriang.

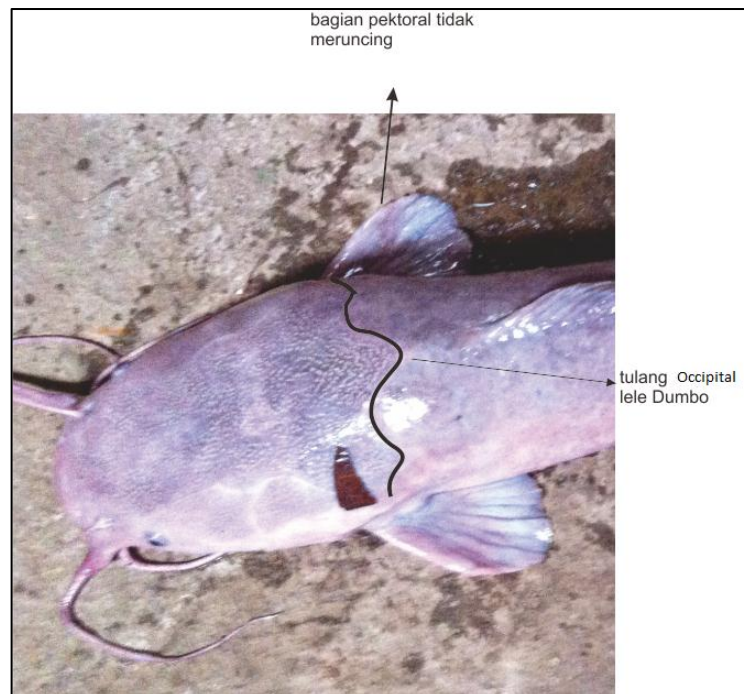
Kelompok terakhir adalah kelompok lele Sangkuriang. Lele Sangkuriang Tasikmalaya dan Garut yang digunakan merupakan lele konsumsi berumur sekitar 3 bulan yang dibesarkan di kolam semi intensif. Sedangkan lele Sangkuriang Sumedang berumur sekitar 9 bulan. Semua lele Sangkuriang yang digunakan pembudidaya di 3 tempat ini sebagai indukan merupakan indukan yang berasal dari Cijengkol Subang. Maka besar kemungkinan lele Sangkuriang yang diujikan masih dalam 1 nenek moyang. Primer OPA-03 dan OPA-09 mengatakan bahwa di antara lele Sangkuriang yang diuji cobakan didapat indeks kesamaan sebesar 21-92%. Indeks kesamaan antara lele Sangkuriang Tasikmalaya jantan dan betina 61-83%, lele Sangkuriang Garut 66-85%, Sangkuriang Sumedang 83%, dan Albino 58-93%. Hasil penelitian mengatakan bahwa lele Albino yang diujikan merupakan lele Sangkuriang dengan pigmentasi yang berbeda (*resesif*). Untuk memperkaya deteksi hasil polimorfisme dari sampel dengan tingkat kekerabatan yang sangat dekat dapat digunakan pendekatan genetik menggunakan metode *random amplified hybridisation microsatellites* (RAHM) (Saunders dan Parkes 1999).

Manfaat yang dapat dipetik dari hasil deteksi kekerabatan dengan menggunakan penanda RAPD dapat diketahui strain lele yang memiliki hubungan kekerabatan genetik terjauh yang dapat digunakan sebagai galur murni untuk menghasilkan keturunan unggul dalam upaya mencegah perkawinan sekerabat (*inbreeding*) pada setiap strain ikan lele yang diuji. Semakin rendah indeks kesamaan maka potensi *inbreeding* pada ikan uji semakin rendah. Sebaliknya apabila semakin tinggi indeks kesamaan maka potensi *inbreeding* semakin tinggi. (Buwono, 2011) Berdasarkan hasil penelitian ini, potensi terjadinya *inbreeding* paling besar adalah dari pasangan lele Sangkuriang Sumedang, Albino, dan Sangkuriang Tasikmalaya. Pasangan lele tersebut memiliki tingkat kesamaan yang tinggi menurut fenogram OPA-03 dan fenogram gabungan OPA-03 dan OPA-09.

4.4 Deskripsi Morfologi Bagian Kepala (*Cranium*) strain Lele

Morfologi adalah ilmu yang mempelajari bentuk luar suatu organisme. Bentuk luar dari organisme ini merupakan salah satu ciri yang mudah dilihat dan diingat dalam mempelajari organisme. Adapun yang dimaksud dengan bentuk luar organisme ini adalah bentuk tubuh, termasuk di dalamnya warna tubuh yang kelihatan dari luar. Pada dasarnya bentuk luar dari ikan dan berbagai jenis hewan air lainnya mulai dari lahir hingga ikan tersebut tua dapat berubah-ubah, terutama pada ikan dan hewan air lainnya yang mengalami metamorfosis dan mengalami proses adaptasi terhadap lingkungan (habitat). Namun demikian pada sebagian besar ikan bentuk tubuhnya relatif tetap, sehingga walaupun terjadi perubahan, perubahan bentuk tubuhnya relatif sangat sedikit (Djuanda, 1985).

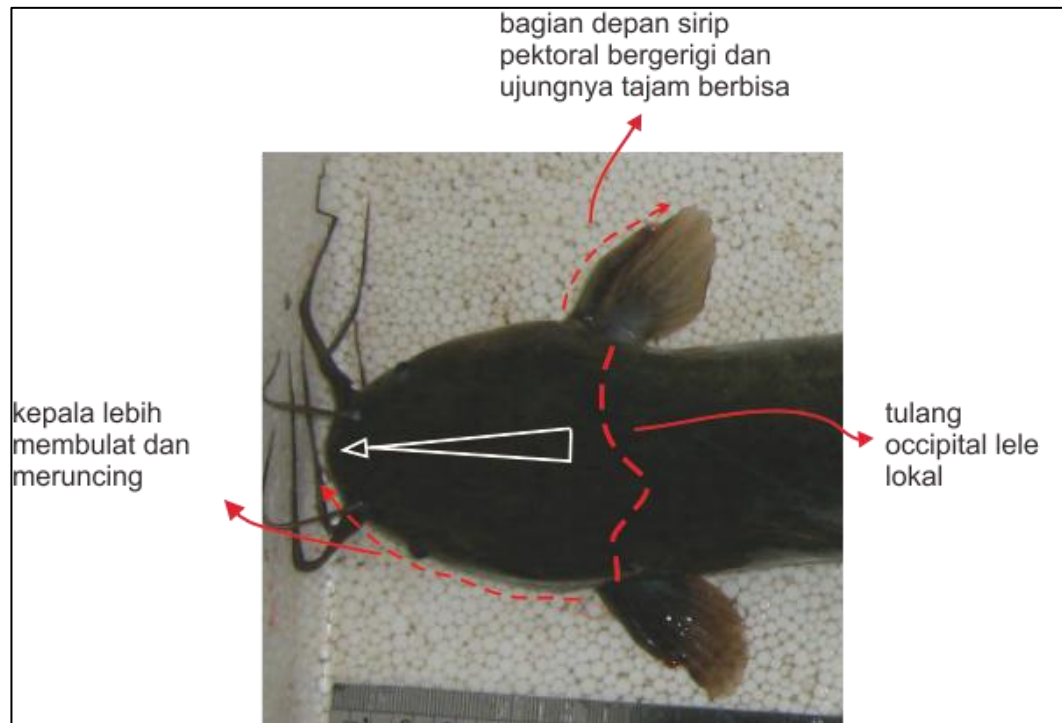
Hasil dari pohon filogeni dibandingkan dengan analisis deskripsi morfologi pada strain lele yang diujikan.



Gambar 4.9 ciri morfologi Lele Dumbo

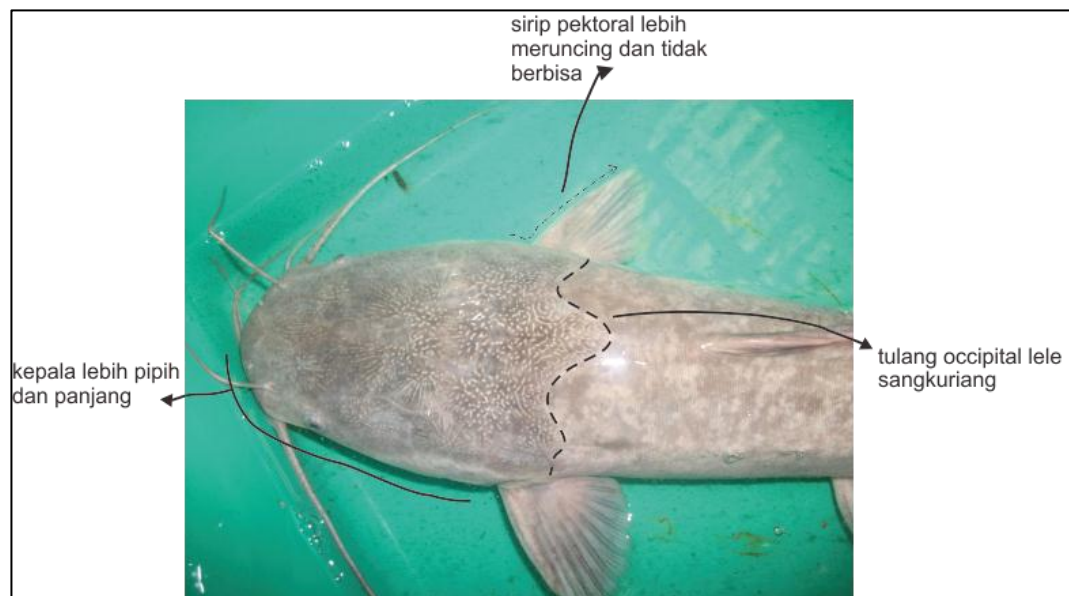
Morfologi ikan lele Dumbo tidak jauh berbeda dan sulit dibedakan dengan lele Sangkuriang. Dilihat dari bentuk tulang *occipital* ikan lele Dumbo dan Sangkuriang hampir tidak ada perbedaan. Terdapat 2 cekungan besar dan 3

tonjolan tulang *occipital* ke arah punggung ikan lele Sangkuriang dan Dumbo. Bentuk kepala lebih memanjang dan melebar. Bagian sirip yang mengeras pada pektoral tidak tajam dan tidak berbisa. Warna kulit keabuan.



Gambar 4.10 ciri morfologi Lele Lokal

Berbeda dengan lele Sangkuriang dan lele Dumbo, lele Lokal memiliki bagian kepala yg lebih membulat dan lebih pendek dibandingkan dengan lele Dumbo dan Sangkuriang. Memiliki mata yang lebih kecil. Tulang *occipital* lele Lokal membentuk menyerupai segitiga dan lurus dikedua sisinya dan lebih berjarak menuju sirip *dorsal* dibanding dengan lele Sangkuriang atau Albino. Bagian depan sirip pektoral mengeras seperti duri, bergerigi di bagian dalam, tajam dan memiliki bisa beracun.



Gambar 4.11 ciri morfologi Lele Sangkuriang

Lele Sangkuriang (gambar 4.11) memiliki tulang *occipital* yang mirip dengan lele Dumbo. Warna abu kehitaman dengan bercak abu yg lebih gelap. Memiliki mata yg lebih menjorok kedalam dan sirip pektoral yang tidak terlalu tajam. Jarak tulang *occipital* menuju sirip *dorsal* relatif lebih dekat dibandingkan dengan lele Lokal (*Clarias batrachus*). Bentuk kepala yang mirip dengan lele Dumbo pipih memanjang.



Gambar 4.12 ciri morfologi lele Albino

Secara morfologi ikan lele Albino ini adalah ikan lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). Yang membedakan hanya sifat pigmentasi yang diwarisinya Lele Albino memiliki warna kulit putih kemerahan dengan bercak hitam di atasnya. Ukuran tubuhnya menyerupai lele Sangkuriang. Mata lebih besar dan menonjol keluar. Tulang *occipital* lele Albino sama seperti lele Dumbo dan Sangkuriang memiliki 2 cekungan dan 3 tonjolan ke arah sirip *dorsal*.

Secara garis besar sedikit perbedaan yang dapat dilihat dari ciri morfologi antara lele Sangkuriang, Dumbo dan Albino. Tetapi dengan pendekatan genotip kekerabatan antar jenis ini masih dapat dibedakan. Ikan lele Albino (gambar 4.12) menurut hasil penelitian merupakan kerabat dekat dengan lele Sangkuriang. Kemungkinan terbesar adalah lele Albino ini merupakan jenis Sangkuriang yang memiliki gen resesif pada pigmentasinya.

Hasil dari penelitian pengamatan morfologi ini tidak dapat dijadikan sebagai pembeda mutlak dari hasil pengamatan genetik karena tidak semua alel yang teramplifikasi merupakan sifat yang tercermin dalam morfologi. Hasil morfologi hanya sebagai data pendukung dari analisis kekerabatan dengan metode molekuler ini.