Karakterisasi Molekuler Ikan Gurami Soang (*Osphronemus goramy* Lac.) berbeda ukuran menggunakan Pcr-Rflp Gen Sitokrom C Oksidase 1

Siti Nur Azizah, Agus Nuryanto, Hendro Pramono
Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto
email: siti.nurazizah93@gmail.com

Abstract

Gourami *(Osprhronemus goramy* Lac.*)* is a freshwater fish that is widely cultivated in Indonesia, particularly by fish farmer in Java. Soang strain has a faster growth rate than other strains. However, the fry that derived from a single cohort (generated from a single spawning) shows various sizes even in the same age because they have different growth rate. Differences in growth rate may occur due to differences in metabolic capabilities especially cellular respiration. Different rate of respiration can be assumed to be due to differences in the genetic component, especially on their cytochrome c oxidase 1 gene (CO1). Therefore this study aimed to determine whether there are differences in PCR-RFLP marker CO1 gene among different sizes of gourami soang strain from the same cohort so that can be used to analyze genetic diversity. This study used survey method by applying purposive random sampling. Four restriction enzymes were used during the research. Molecular characters were defined descriptively based on the appearance of restriction fragment on agarose gel. The result showed that soang strain which used in this study had monomorphics allele on their CO1-HindIII. PstI, BamHI, and EcoRI, could not cut the PCR products and results no RFLP markers. So that genetic variation in the used CO1 gene fragment could not be detected using HindIII, Pst1, BamH1 and EcoR1 enzymes. The three different sizes of soang strain had similar alleles or homozygous, meaning that heterozigocity value was 0 (zero). Therefore, the CO1 gene in this study could not be used as molecular character to differentiate different sizes of gourami soang strain from the same cohort.

Keywords : gourami soang strain, PCR-RFLP, genetic diversity, cohort, cytochrome c oxidase 1 gene (Co1).

Abstrak

Ikan gurami (Osprhronemus goramy Lac.) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang banyak dibudidayakan petani ikan, terutama di Pulau Jawa. Gurami strain Soang memiliki laju pertumbuhan lebih tinggi dari strain lainnya. Namun benih yang dihasilkan dari satu cohort(dihasilkan dari satu pemijahan) memilikiukuran tubuh bervariasi meskipun umurnya samakarerna memiliki laju pertumbuhan yang berbeda. Perbedaanlaju pertumbuhan dapat terjadikarena perbedaan kemampuan metabolisme khususnya pada respirasi seluler. Perbedaan kemampuan respirasi diduga karena adanya perbedaan komponen genetik pada benih-benih tersebut, terutama pada gen sitokrom c oksidase 1 (CO1) yang dimilikinya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan ada tidaknya perbedaan marka PCR-RFLP gen CO1 diantara benih ikan gurami sowang yang berasaldaari satu cohort tetapi memiliki ukuran tubuh berbeda sehingga dapat digunakanuntukmenganalisis keragaman genetiknya. Metode penelitian yang digunakan adalah purpossive random sampling Enzim restriksi yang digunakan sebanyak empat buah. Karakter molekuler PCR-RFLP ditentukan secara deskriptif berdasarkan kemunculan fragmen restriksi pada gel agarosa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa benih gurami sowang berbeda ukuran yang digunakan dalam penelitian ini memiliki alel monomorfik untuk marka PCR-RFLP genCO1-HindIII. PstI, BamHI, dan EcoRI. Keempat enzim yang digunakan tidak dapat memotong gen COI yang digunakan. Halini membuktikan bahwa pada gen tersebut tidak terdapat situs restriksi untuk keempat enzim yang digunakan. Oleh karena itu, penggunaan keempat enzim tidak dapatmedekteksi adanya variasi genetik pada benih gurami sowang berbeda ukuran namun berasal dari satu cohort.. Ketiga jenis ukuran benih gurami sowang dari satu cohort memiliki alel yang sama atau homozigot pada gen COI, denngan demikian nilai heteosigositasnya adalah nol (0). Oleh karena itu, dalam penelitian ini, gen CO1 tidak dapat digunakan sebagai marka molekuler yang dapat digunakan untuk membedakan benih gurami soang berbeda ukuran namun berasal dari satu cohort.

Kata Kunci: *gurami soang, PCR-RFLP, keragaman genetik, cohort, cytochrome c oxidase 1 gene (CO1).*

Pendahuluan

Ikan gurami (*Osprhronemus goramy* Lac.) merupakan ikan air tawar yang tersebar di kawasan Asia Tenggara dan banyak dibudidayakan oleh petani ikan khususnya di Pulau Jawa (Bachtiar, 2010). Produksi ikan gurami nasional mengalami peningkatan sebesar 19,86 % per tahun sejak tahun 2009 sampai dengan 2013 (Kementerian Perikanan & Kelautan, 2014). Oleh karena itu ikan gurami merupakan usaha yang memiliki prospek tinggi untuk dikembangkan. Hal tersebut dikarenakan dagingnya lezat, harga jual cukup tinggi dan relatif stabil, biaya pemeliharaan ikan gurami relatif rendah dan memiliki daya adaptasi yang tinggi pada lingkungan dengan kandungan oksigen terlarut rendah (Setijaningsih *et al.*, 2007).

Permasalahan utama pada budidaya ikan gurami adalah laju pertumbuhan yang lambat. Beberapa *strain* ikan gurami yang telah dibudidayakan di Indonesia meliputi gurami soang, gurami jepang, gurami paris, gurami bastar, dan gurami porselen (Setijaningsih *et al*., 2007). Salah satu *strain* ikan gurami yang dipercaya memiliki laju pertumbuhan lebih cepat dari *strain* lainnya adalah gurami soang (Bachtiar, 2010). Namun, benih yang dihasilkan dari satu pemijahan (satu cohort) memiliki ukuran bervariasi dikarenakan perbedaan laju pertumbuhan. Perbedaan laju pertumbuhan dapat disebabkan oleh adanya perbedaan laju metabolisme untuk memanfaatkan energi dari pakan, terutama respirasi seluler (Yurisma *et al*., 2013). Laju respirasi yang berbeda diduga terjadi karena variasi konstituen genetik yang dimilikinya. Salah satu faktor genetik yang berperan dalam respirasi adalah gen sitokrom c oksidase 1 (Co1).

Penelitian terdahulu memberikan bukti bahwa variasi faktor genetik khususnya gen penyandi hormon pertumbuhan berkorelasi positif dengan variasi ukuran tubuh yang dimiliki oleh individu-individu anggota populasi (Hua *et al*., 2009). Namun sampai saat ini belum ada laporan yang menyediakan bukti bahwa variasi ukuran tubuh benih gurami soang yang berasal dari satu cohort juga berkorelasi dengan variasi gen CO1.

Berdasarkan kenyataan diatas maka perlu dilakukan penelitian mengenai keragaman genetik benih gurami soang yang memiliki ukuran berbeda namun berasal dari satu cohort, yaitu melalui karakterisasi molekuler ikan gurami soang berbeda ukuran menggunakan gen CO1. Analisis variasi genetik (variasi intrapopulasi) dengan menggunakan penanda genetik yang mempunyai sensitifitas tinggi diperlukan untuk karakterisasi genetik. Salah satu teknik molekuler yang dapat digunakan adalah PCR-RFLP (Nichol, 2008). Penelitian ini akan membantu dalam program budidaya melalui penyediaan metode seleksi benih secara molekuler. Apabila hal ini dilakukan pada gurami soang, maka generasi berikutnya akan memiliki kualitas yang lebih baik, misalnya dapat tumbuh lebih cepat sehingga pemeliharaannya menjadi lebih efisien dan murah (Sembiring *et al*., 2013).

Salah satu karakter molekuler yang digunakan sebagai penanda genetik adalah gen CO1. Gen ini telah digunakan sebagai marka untuk mengidentifikasi spesies burung, ikan (Jeon *et al*., 2012), primata, insekta (Wang *et al*., 2011), Paramecium (Zhao et al., 2013), Holothuria (Kamarudin *et al*., 2011). Gen tersebut juga berhasil digunakan sebagai penanda genetik sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Nuryanto & Sastranegara (2013) untuk karakterisasi secara molekuler terhadap *Polymesoda erosa* yang hidup di perairan tercemar dan tidak tercemar. Bahkan telah ditemukan bahwa terdapat variasi sekuen gen CO1 pada ikan gurami *blue saphire* dan soang (Nuryanto et al., 2012).

Berdasarkan uraian tersebut maka permasalahan yang muncul dan perlu diteliti yaitu apakah ada perbedaan tingkat keragaman gen CO1 pada ikan gurami soang dari satu pemijahan yang memiliki laju pertumbuhan tinggi atau rendah berdasarkan karakter PCR-RFLP. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan data tingkat keragaman gen CO1 pada ikan gurami soang dari satu pemijahan yang memiliki laju pertumbuhan tinggi atau rendah berdasarkan karakter PCR-RFLP.

Penelitian karakterisasi molekuler dengan menggunakan PCR-RFLP gen CO1 pada ikan gurami soang berbeda ukuran ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai karakter PCR- RFLP gen CO1 pada ikan tersebut. Pengetahuan tersebut dapat digunakan untuk

membedakan individu yang memiliki laju pertumbuhan tinggi atau rendah, sehingga berguna bagi para pembudidaya ikan gurami soang untuk keperluan seleksi dalam tahapan berikutnya.

Metode

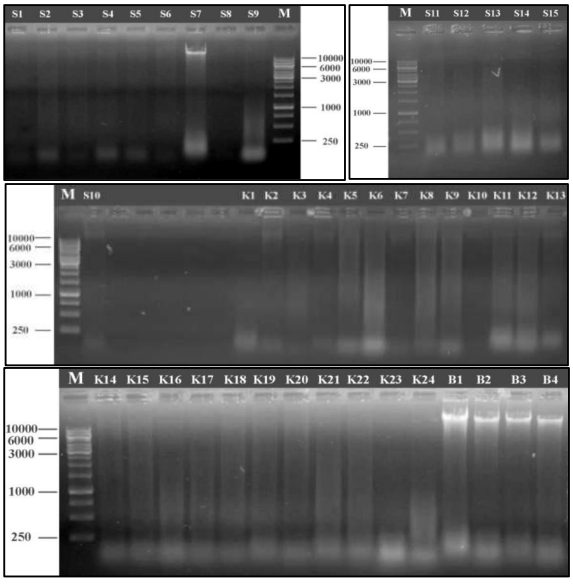
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survey dengan menggunakan teknik *purposive random sampling*, yaitu pengambilan sampel secara acak pada daerah yang telah ditentukan. Sampel ikan gurami soang diambil dari Desa Bancar, Kabupaten Purbalingga, namun asal gurami soang dari Ciamis. Jumlah sampel ikan sebanyak 43 ekor dengan rincian 4 ekor ikan gurami soang berukuran besar (> 15 cm), 15 ekor berukuran sedang (±10-15 cm), dan 24 ekor berukuran kecil (<10 cm). Semua sampel berasal dari satu cohort yang sama (berasal dari satu kali pemijahan). Variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi keragaman genetik intrapopulasi dan ukuran tubuh ikan gurami strain soang. Parameter yang diamati terdiri atas keragaman haplotipe dan keragaman nukleotida.

Sirip ekor dari masing-masing sampel ikan gurami soang dipotong dengan ukuran lebih kurang 5 mm. Sampel jaringan sirip ekor diawetkan dalam alkohol absolut 96% dan disimpan di lemari es dengan temperatur 4 °C. Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan metode chelex® 100 (Walsh et al., 1991). Penanda genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah gen sitokrom c oksidase 1 (CO1). Fragmen gen tersebut diamplifikasi menggunakan sepasang primer Fish F2 *Forward* : 5' TCGACTAATCATAAAGATATCGGCA C 3' dan FishR2 *Reverse* 5' ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGA A 3' (Ward et al., 2005). Segmen gen CO1 yang teramplifikasi dilakukan *skrinning* untuk memperoleh situs polimorfisme menggunakan 4 enzim restriksi endonuklease yang terdiri atas *Pst*I, *BamH*I, *Eco*RI dan *Hind*III. Profil marka PCR-RFLP untuk setiap ukuran benih dianalisis secara deskriptif berdasarkan kemunculan pita pada gel agarosa. Sementara itu, keragaman haplotipe h dan keragaman nukleotida π dihitung menggunakan program *Arlequin*, diawali dengan merubah data pola pita RFLP yang tervisualisasi menjadi data *binner* (0:1; 0 = berarti fragmen tidak muncul dan 1 berarti fragmen muncul).

Hasil dan Pembahasan

Profil Isolasi DNA Ikan Gurami Soang

Genom yang diisolasi menggunakan metode *chelex* diuji kualitasnya dengan teknik elektroforesis gel agarosa 1%. Secara keseluruhan DNA dari setiap individu berhasil diisolasi, meskipun DNA yang diperoleh terlihat tidak utuh atau *smear*. Pita *smear* menunjukkan adanya fragmen-fragmen DNA yang terbentuk akibat perlakukan fisik selama proses ekstraksi DNA. Namun, dari intensitas ketajaman pita yang terlihat, DNA hasil isolasi tersebut masih dapat digunakan sebagai templat yang cukup baik untuk reaksi PCR. Hal tersebut sesuai dengan yang dilaporkan Nuryanto & Kochzius (2009) yang berhasil mengamplifikasi gen CO1 dari *Tridacna maxima* (Bivalvia) menggunakan *template* DNA yang tervisualisasi pada gel agarosa berupa *smear* DNA. Hasil isolasi DNA dapat dilihat pada Gambar 1.



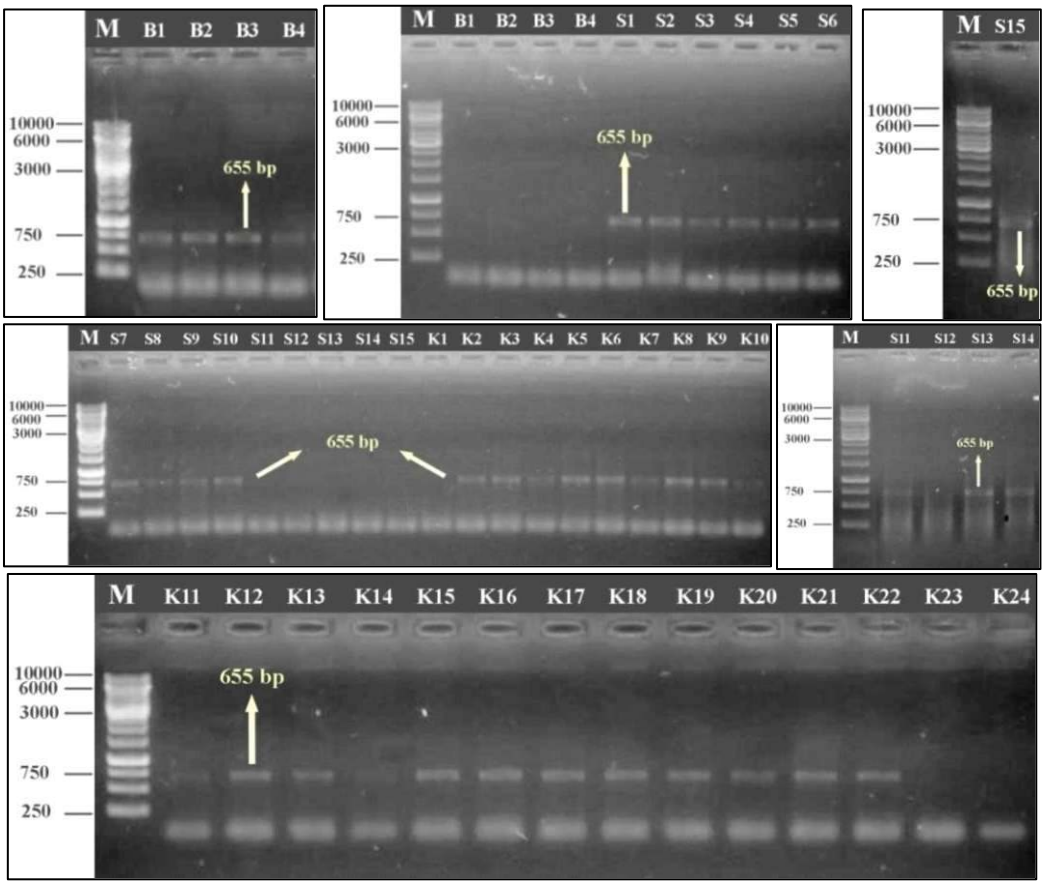
Gambar 1. Hasil visualisasi genom total ikan gurami soang

Keterangan: B1-B4 = Sampel ikan gurami soang besar; S1-S15 = Sampel ikan gurami soang sedang; K1-K24 = Sampel ikan gurami soang kecil; M= DNA marka 1kb

Amplifikasi Gen Sitoktrom C Oksidase 1

Hasil amplifikasi gen CO1 berukuran lebih kurang 655 pasang basa (pb). Pita amplikon yang dihasilkan merupakan fragmen yang diharapkan karena produk amplifikasi gen CO1 menggunakan primer dari Ward *et al.* (2005) adalah sepanjang 655 pb. Produk apmlifikasi (*amplicon*) disajikan pada Gambar 2.

Produk PCR 655 pb diperoleh setelah melalui proses optimasi suhu, waktu dan kombinasi reagen yang tepat. Kondisi optimal PCR yang diperoleh selama penelitian adalah pradenaturasi pada temperatur 95 ^{0}C selama 5 menit. PCR dilakukan sebanyak 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada temperatur 95 $^{\circ}$C selama 30 detik, *annealing* (penempelan) pada temperatur 55 $^{\circ}$C selama 2 menit, *extension* pada temperatur 72 $^{\circ}$C selama 1 menit 30 detik. Setelah 35 siklus, kemudian dilakukan tahap pemanjangan akhir (*final extension)* pada temperatur 72 $^{\circ}$C selama 5 menit.

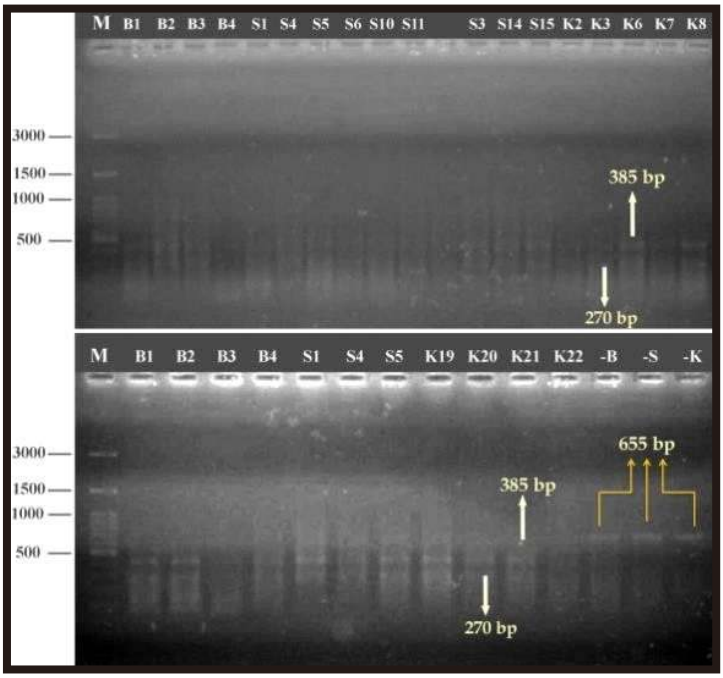


Gambar 2. Hasil amplifikasi gen sitokrom c oksidase 1 ikan gurami soang
Keterangan: B1-B4 = Sampel ikan gurami soang besar; S1-S15 = Sampel ikan gurami soang sedang; K1-K24 = Sampel ikan gurami soang kecil; M= DNA marka 1kb

Gen CO1 sebagai produk yang dihasilkan selama penelitian mempunyai spesifitas yang tinggi karena hanya terbentuk satu pita. Christianti (2003) menjelaskan bahwa hasil PCR yang baik dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kemurnian DNA hasil ekstraksi, ketepatan pemilihan primer yang digunakan serta ketepatan kondisi PCR. Primer merupakan bagian penting dalam reaksi CR karena primer merupakan inisiator pada sintesis DNA target. Primer yang telah digunakan telah memenuhi syarat- syarat dalam seleksi primer seperti terdiri atas 20 basa, kandungan G/C nya 50%, kemungkinan terbentuknya struktur sekunder dalam primer adalah kecil dan 2 basa pada 3 basa terakhir terdiri dari G/C. Ketepatan kondisi PCR juga sangat mempengaruhi hasil reaksi PCR.

Pemotongan Produk PCR Menggunakan Enzim Restriksi Endonuklease Deteksi polimorfisme gen CO1 pada gurami soang

dalam penelitian ini telah dilakukan menggunakan teknik PCR-RFLP, yaitu amplifikasi fragmen DNA spesifik sepanjang 655 pb yang dilanjutkan dengan pemotongan pada titik tertentu menggunakan enzim restriksi *EcoR*I, *BamH*I, *Pst*I, dan *Hind*III. Reaksi digesti dilakukan dengan cara menambahkan enzim restriksi, *nuklease free water* dan buffer enzim ke dalam tabung yang berisi DNA hasil amplifikasi menggunakan suhu inkubasi 37 °C.Penggunaan empat enzim restriksi tersebut dengan harapan dapat menghasilkan pola restriksi DNA sehingga digunakan sebagai dasar untuk mengetahui adanya perbedaan antara sampel ikan gurami soang yang berbeda ukuran dalam satu pemijahan.



Gambar 3. Hasil pemotongan produk PCR menggunakan enzim *Hind*III

Keterangan: B1-B4 = Sampel ikan gurami soang besar; S1-S15 = Sampel ikan gurami soang sedang; K1-K22 = Sampel ikan gurami soang kecil; -B,- S,-K= Kontrol negatif; M= DNA marka 100 bp

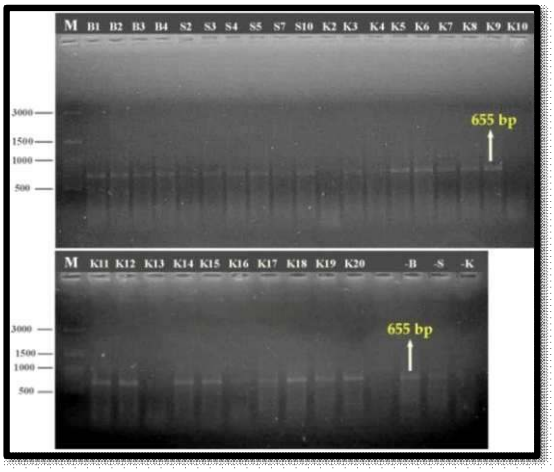
Jika terdapat situs restriksi maka enzim restriksi akan memotong DNA pada situs-situs yang dikenal oleh enzim restriksi sehingga sekuens DNA terpisah menjadi fragmen-fragmen DNA. Jika sekuens DNA pada individu tersebut berbeda pada situs yang dikenali oleh enzim restriksi maka pemotongan dengan enzim restriksi dapat menghasilkan jumlah fragmen yang berbeda. Ada atau tidaknya situs restriksi ditentukan berdasarkan kemunculan fragmen RFLP. Profil marka PCR-RFLP untuk setiap ukuran benih dianalisis kemunculan pita pada gel agarosa 1,3%. Ukuran fragmen RFLP diduga dengan cara membandingkan fragmen yang diperoleh dari hasil pemotongan dengan 100 *bp ladder*.

Pemotongan produk PCR menggunakan empat enzim restriksi diperoleh satu enzim yang menghasilkan pola marka RFLP yaitu *Hind*III (Gambar 3.). Setelah dilakukan pemotongan produk

PCR menggunakan enzim *Hind*III, dua pita RFLP dihasilkan yang masing-masing berukuran lebih kurang 385 pb dan 270 pb. Kedua fragmen RFLP tersebut muncul pada semua sampel baik pada ikan gurami soang berukuran besar, sedang, maupun kecil. Pemotongan yang menghasilkan dua pita ini menunjukkan bahwa gen CO1 mempunyai satu sisi pemotongan untuk enzim *Hind*III. Menurut Brown (1991), enzim *Hind*III dapat memotong produk PCR dengan urutan pengenal 5' A↓A-G-C-T-T 3' atau $_{3'T\text{-}T\text{-}C\text{-}G\text{-}A\downarrow A5'.}$

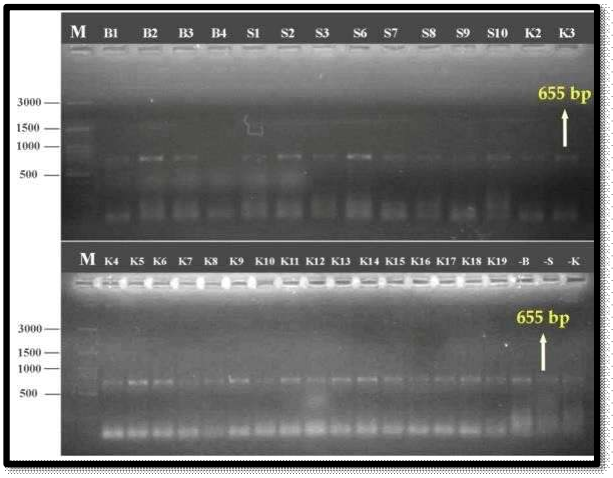
Enzim restriksi lain yang digunakan pada penelitian ini adalah *BamH*I. Hasil dari pemotongan gen CO1 oleh enzim *BamH*I dapat dilihat pada Gambar 4. Produk

PCR hasil digesti masih berbentuk satu pita dengan ukuran 655 pb. Hal tersebut menjadi bukti bahwa produk PCR tidak terpotong sehingga tidak diperoleh fragmen RFLP pada semua sampel. Tidak terpotongnya produk PCR diduga terjadi karena tidak terdapat situs pengenalan enzim restriksi *BamH*I pada gen CO1 dari semua sampel. Menurut Ausubel (2003), Enzim *BamH*I merupakan enzim yang diisolasi dari bakteri *Bacillus amyloquefaciens*. Kinerja enzim *BamH*I tersebut mampu memotong ikatan fosfodiester pada urutan DNA pada sisi: 5′ G↓G-A-T-C-C 3′ atau 3′ C-C-T-A- G↑G 5′. Enzim restriksi tersebut mampu mengenali urutan nukleotida yang sama (G-G), sehingga *BamH*I disebut juga sebagai *isoschizomer*.



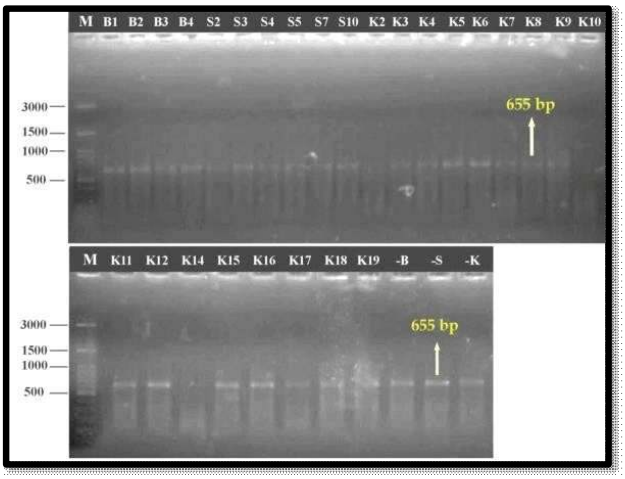
Gambar 4. Hasil Pemotongan Produk PCR Menggunakan Enzim BamH1
Keterangan: B1-B4 = Sampel ikan gurami soang besar; S2-S10 = Sampel ikan gurami soang sedang; K2-K20 = Sampel ikan gurami soang kecil; -B,-S,-K= Kontrol negatif; M= DNA Marka 100 bp

Pemotongan produk PCR menggunakan enzim restriksi *EcoR*I disajikan pada Gambar 5. Hasil pemotongan gen CO1 sepanjang 655 pb menggunakan enzim *EcoR*I pada semua sampel tidak terpotong sehingga tidak diperoleh fragmen RFLP dan produk pemotongan memiliki ukuran yang sama dengan produk PCR yaitu sepanjang 655 pb. Menurut Gholizadeh & Kohnehrouz (2009), *EcoR*I adalah enzim RE yang dihasilkan dari bakteri *Escherichia coli* strain RY13. Enzim yang memiliki urutan pengenalan 5' G↓A-A-T-T-C 3' atau 3' C-T-T-A-A↓G 5' ini merupakan enzim restriksi tipe II yang terdiri dari polipeptida, mengandung 277 asam amino dan memiliki bobot molekul tunggal mencapai 29 kDa yang telah dimurnikan sebelumnya.



Gambar 5. Hasil pemotongan produk PCR menggunakan enzim *EcoR*1
Keterangan: B1-B4 = Sampel ikan gurami soang besar; S1-S10 = Sampel ikan gurami soang sedang; K2-K19 = Sampel ikan gurami soang kecil; -B,-S,-K= Kontrol negatif; M= DNA marka 100 bp

Hasil digesti dengan enzim restriksi *Pst*I menunjukkan bahwa gen CO1 tidak terpotong (Gambar 6.). Hal ini berarti bahwa gen CO1 pada ikan gurami soang berukuran besar, sedang, dan kecil tidak memiliki situs pemotongan untuk enzim *Pst*I. Enzim ini mengenali situs pemotongan (restriksi) di posisi 5'C-T-G- C-A↓G 3' atau 3' G↓A-C-G-T-C 5' (Santoso et al., 2008). Tidak adanya situs restriksi pada gen CO1 pada semua sampel menyebabkan gen tersebut tidak terpotong dan hasilnya masih sama dengan produk PCR hanya terdapat satu pita dengan ukuran 655 pb. Dengan demikian tidak diperoleh marka *Pst*I-COI RFLP.



Gambar 6. Hasil pemotongan produk PCR menggunakan enzim *Pst*1
Keterangan: B1-B4 = Sampel ikan gurami soang besar; S2-S10 = Sampel ikan gurami soang sedang; K2-K19 = Sampel ikan gurami soang kecil; -B,-S,-K= Kontrol negatif; M= DNA Marka 100bp

Analisis Keragaman Haplotipe dan Nukleotida

Hasil penelitian ini tidak memperlihatkan adanya polimorfisme gen CO1 pada ikan gurami soang yang memiliki ukuran berbeda. Hal ini berarti bahwa gen tersebut tidak memperlihatkan variasi individu jika dipotong menggunakan enzim *Hind*III, *Pst*I, *EcoR*I, dan *BamH*I, atau dengan kata lain dalam keadaan monomorfisme, memiliki alel yang serupa atau homozigot, sehingga nilai heterozigositasnya 0 (nol). Lokus dinyatakan bersifat polimorfik apabila memiliki variasi alel dalam suatu populasi, sedangkan apabila tidak memiliki variasi maka dinyatakan bersifat monomorfik. Individu yang memiliki alel sama pada suatu lokus dinyatakan memiliki genotip yang homozigot sedangkan yang memiliki alel berbeda dikatakan heterozigot. Oleh karena nilai heterozigositas yang diperoleh nol (0), sehingga tidak perlu dianalisis lebih lanjut mengenai keragaman haplotipe dan nukleotida menggunakan *software Alrequin*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, karakterisasi genetik ikan gurami soang yang berbeda ukuran dalam satu pemijahan menggunakan PCR-RFLP gen CO1 menunjukkan bahwa variasi fenotip (ukuran tubuh) pada individu tersebut tidak diikuti dengan adanya variasi pada level molekuler khususnya pada gen CO1. Oleh karena itu, gen CO1 dalam penelitian ini dapat dikatakan tidak dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk membedakan ikan gurami soang berukuran kecil, sedang, dan besar. Variasi tersebut dimungkinkan terjadi bukan disebabkan oleh faktor genetik gen CO1, meskipun memiliki peran yang vital membebaskan energi adenosin trifosfat (ATP) dalam respirasi aerob yang diperlukan untuk aktivitas metabolisme sel, masih terdapat beberapa faktor lain yang mengatur pertumbuhan.

Besarnya variasi ukuran tubuh ikan gurami soang dalam satu pemijahan pada penelitian ini tidak berarti hanya menggambarkan besarnya variasi di dalam bahan genetik, karena variasi dalam fenotip dipengaruhi juga oleh lingkungan. Hal ini dijelaskan lebih lanjut oleh Mittler & Gregg (1969) dan Christianti et al. (2003) yang menyatakan

bahwa variasi pada fenotip dapat terjadi karena adanya variasi genetik atau variasi lingkungan atau karena keduanya, yaitu variasi genetik dan lingkungan.

Adanya perbedaan variasi fenotip dapat disebabkan oleh faktor lingkungan dan genetik. Di antara kedua faktor tersebut dapat terjadi interaksi ataupun asosiasi. Faktor genetik dan faktor lingkungan dikatakan berinteraksi apabila pengaruh faktor lingkungan terhadap suatu fenotip berbeda-beda, bergantung pada genotip, atau dengan kata lain, pengaruh faktor genetik terhadap suatu fenotip berbeda-beda tergantung pada lingkungannya. Kedua faktor tersebut dikatakan berasosiasi, apabila kedua faktor tersebut bersama-sama meningkatkan atau menurunkan nilai fenotip (Susanto, 2011). Namun, oleh karena dalam penelitian ini ikan yang diuji merupakan hasil dari satu pemijahan dan beberapa faktor lingkungan yang mendukung pertumbuhan ikan gurami soang juga memiliki kondisi yang sama untuk semua individu, maka ada faktor genetik lain selain gen CO1 yang diasumsikan berkontribusi dalam mengatur pertumbuhan pada ikan gurami soang.

Variasi fenotip yang nampak di dalam populasi merupakan indikasi bervariasinya protein-protein yang dimiliki oleh individu-individu di dalam populasi yang dihasilkan dari informasi genetik yang terdapat di dalam gen struktural sehingga menghasilkan asam amino yang terangkai menjadi polipeptida (protein) dengan berbagai fungsi dalam metabolisme tubuh. Pertumbuhan ikan gurami soang merupakan sifat kuantitatif, sehingga sifat ini dikendalikan oleh banyak gen nonalelik (*polygenic*) yang masing-masing memberikan kontribusi relatif terhadap pemunculan suatu fenotip (Susanto, 2011). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian dengan menggunakan penanda lain yang juga dapat mengatur pertumbuhan.

Pengukuran terhadap diversitas pada tingkat haplotipe cukup untuk digunakan dalam mempelajari polimorfisme pada tingkat DNA. Studi tentang variasi genetik pada tingkat DNA lebih akurat dibandingkan dengan studi variasi genetik pada protein. Polimorfisme atau variasi genetik pada jenis yang sama sangat penting, karena mempunyai banyak aplikasi dalam persilangan dan genetika (Purwoko *et al*., 2003).

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh gen Co1 DNA mitokondria tidak berhubungan secara nyata dengan perbedaan ukuran pada ikan gurami soang. Gen CO1 pada penelitian ini tidak dapat digunakan sebagai pananda molekuler pada populasi ikan gurami soang yang memiliki laju pertumbuhan tinggi atau rendah dalam satu pemijahan. Oleh karena itu diperlukan adanya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan gen penyandi hormon pertumbuhan sebagai penanda genetik misalnya *Growth Hormone* (GH) atau menggunakan enzim restriksi yang lebih bervariasi.

Daftar Referensi

Ausubel, F.M., 2003. *Current Protocols in Molecular Biology Tabs*. 19th ed. Canada: John Willey & Sons.

Bachtiar, Y., 2010. *Buku Pintar Budi Daya dan Bisnis Gurami*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.Brown, T.A., 1991. Pengantar Kloning Gen. Translated by A.M. Sumiati & Praseno. Yogyakarta: Yayasan Essentia Medica.

Christianti, T., Sutarno & Etikawati, N., 2003. Identifikasi Polimorfisme pada Fragmen D-Loop DNA Mitokondria Sapi Benggala. *BioSMART*, 5(2), pp.73-77.

Gholizadeh, A. & Kohnehrouz, B.B., 2009. Carborundum-Dependent Entrance of EcoRI Restriction Enzyme into Plant Cell and Specific of Genomic DNA. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47, pp.684-689.

Hua, G.H., Chen, S.L., Yu, J.N., Cai, K.L., Wu, C.J., Li, Q.L., Zhang, C.Y., Liang, A.X., Han, L., Geng, L.Y., Shen, Z., Xu, D.Q., Yang, L.G., 2009. Polymorphism of the Growth Hormone Gene and Its Association with Growth Traits in Boer Goat Bucks. *Meat Science*, 81, pp.391-395.

Jeon, H., Choi, S. & Suk, H.Y., 2012. Exploring the Utility of Partial Cytochrome C Oxidase Subunit 1 for DNA Barcoding of Gobies. *Animal Systematics, Evolution and Diversity*, 28(4), pp.269-278.

Kamarudin, K., Rehan, A., Hashim, R., Usup, G., Ahmad, H. &Anua, M., 2011.

Molecular Phylogeny of *Holothuria* (Mertensiothuria) *leucospilota* (brandt 1835) as Inferred from Cytochrome C Oxidase I Mitochondrial DNA Gene Sequences. *Sains Malaysiana*, 40(2), pp.125–133.

Kementerian Perikanan & Kelautan, 2014. *Budidaya Gurami, Penggerak Perekonomian Daerah dan Meningkatkan Kesejahteraan*. [Online] Available at: [Accessed 15 Januari 2015]. http://www.djpb.kkp.go.id

Mittler, L.E. & Gregg, T.G., 1969. *Population Genetics and Evolution*. Englewood Clifie: Prentice Hall Inc.

Nichol, D.S.T., 2008. *An Introduction to Genetic Engineering*. 3rd ed. United States of America: Cambridge University Press, New York.

Nuryanto, A. & Sastranegara, M.H., 2013. Molecular Characterisation of *Polymesoda erosa* (Solander, 1786) Inhabit Two Different Habitats. *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 15(3), pp.201-207.

Nuryanto, A. & Kochzius, M., 2009. Highly Restricted Gene Flow and Deep Evolutionary Lineages in the Giant Clam *Tridacna maxima*. *Coral Reef*, 28, pp.607-619.

Nuryanto, A., Wijayanti, G.E., Susilo, U., Darsono & Suharno., 2012. *Peningkatan Produksi Gurami Banyumas Melalui Pendekatan Genetik, Reproduksi, Manajemen Pemeliharaan dan Evaluasi Aspek Sosioekonomi*. Laporan Penelitian. Purwokerto: Universitas Jenderal Soedirman Fakultas Biologi.

Purwoko, A., Sutarno & Etikawati, N., 2003. Polimorfisme DNA pada Lokus-2 Gen Hormon Pertumbuhan Sapi Madura. *Biodiversitas*, 4(1), pp.7-11.

Santoso, T.J., Hidayat, S., Herman, M., Aswidinnoor, H., & Sudarsono., 2008. Identitas dan eragaman Genetik Begomovirus yang Berasosiasi dengan Penyakit Keriting pada Tomat Berdasarkan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR)-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). *Jurnal AgroBiogen*, 4(1), pp.9-17Sembiring, S.B.M., Tridjoko & Haryanti, 2013. Keragaman Genetik Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) Generasi F1 Dan F3. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 5(1), pp.103-111.

Setijaningsih, L., Arifin, O.Z. & Gustiano, R., 2007. Karakterisasi Tiga Strain Ikan Gurame *Osphronemus gouramy* Lac.) Berdasarkan Metode Truss Morfometriks. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 7(1), pp.23-30.

Susanto, A.H., 2011. *Genetika*. 1st ed. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Walsh, P.S., Metzger, D.A. & Higuchi, R., 1991. Chelex-100 as A Medium for Simple Extraction of DNA for PCR Based Typing from Forensic Material. *Biotechniques*, 10(4), pp.506-513.

Wang, J.-F., Jiang, L.-Y. & Qiao, G.-X., 2011. Use of A Mitochondrial COI Sequence to Identify Species of the Subtribe Aphidina (Hemiptera, Aphididae). *Zookeys*, 122 (2011), pp.1-17.

Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P. R. & Hebert, P.D.N., 2005. DNA Barcoding Australia's Fish Species. *Philosophical Transaction of The Royal Society*, 360, pp.1847–1857.

Yurisma, E.H., Abdulgani, N. & Mahasri, G., 2013. Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Laju Konsumsi Oksigen Ikan Gurame (*Osprhonemus gouramy*) Skala Laboratorium. *Jurnal Sains dan Seni*, 1(1), pp.1-4.

Zhao, Y., Gentekaki, E., Yi, Z. & Lin, X., 2013. Genetic Differentiation of the Mitochondrial Cytochrome Oxidase C Subunit I Gene in Genus Paramecium (Protista, Ciliophora). *Plos One*, 8(10), pp.1-8.