

VARIASI GENETIK IKAN GURAMI
(Osphronemus gouramy Lac.) BERDASARKAN
POLIMORFISME PROTEIN PLASMA DARAH

SKRIPSI



Milik UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Penyelesaian Program Sarjana Sains Jurusan
Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Oleh :

MAMIK PRISTIWINDARI

991810401028



Hadiah
Pembelian

Tgl 6 NOV 2003

No. Induk:

Klass

612.12

PR1

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
Oktober, 2003

MOTTO

“Bertaqwalah kamu kepada Allah dan ketahuilah bahwa Allah melihat apa yang kamu kerjakan”

(QS Al-Baqarah: 233)

“Cinta dan kasih sayang merupakan kekuatan abadi”

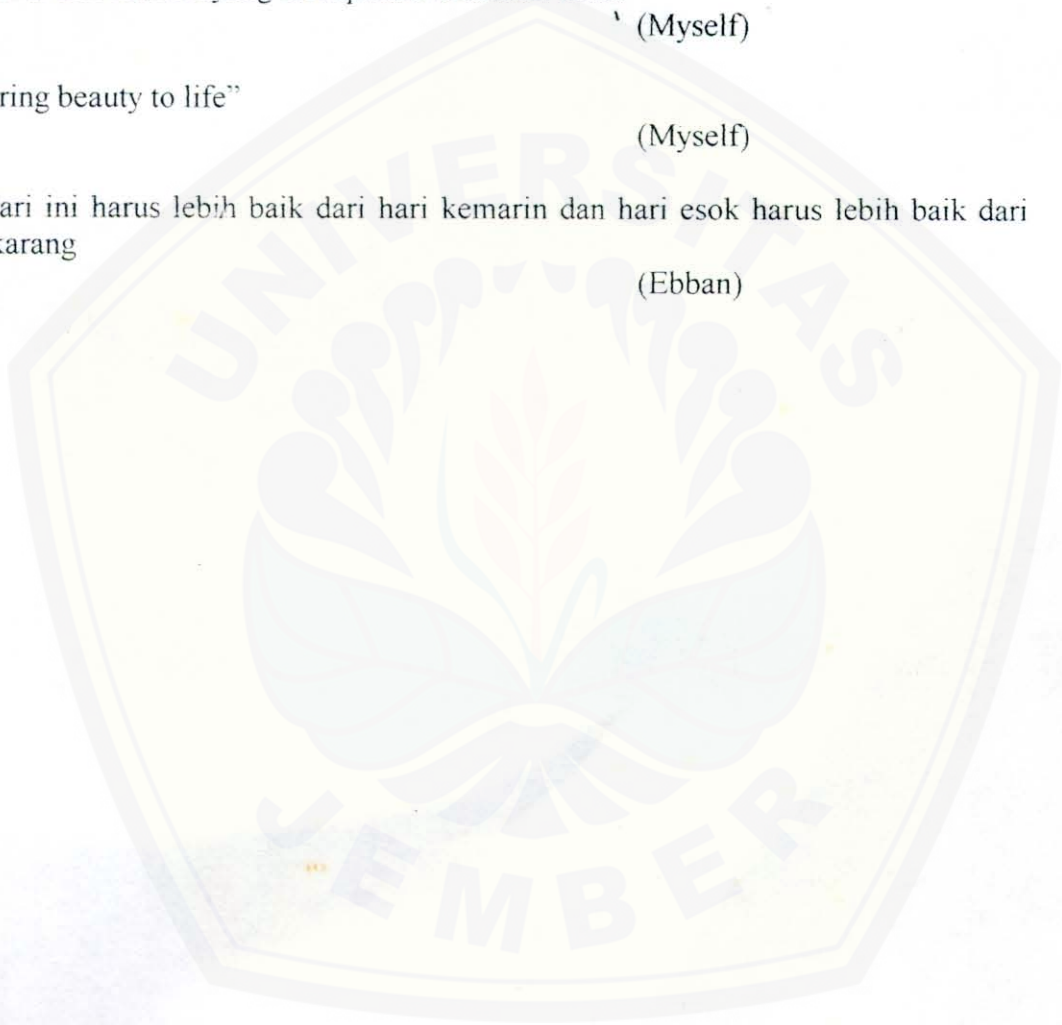
(Myself)

“Bring beauty to life”

(Myself)

“Hari ini harus lebih baik dari hari kemarin dan hari esok harus lebih baik dari sekarang

(Ebban)



HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini kupersembahkan untuk :

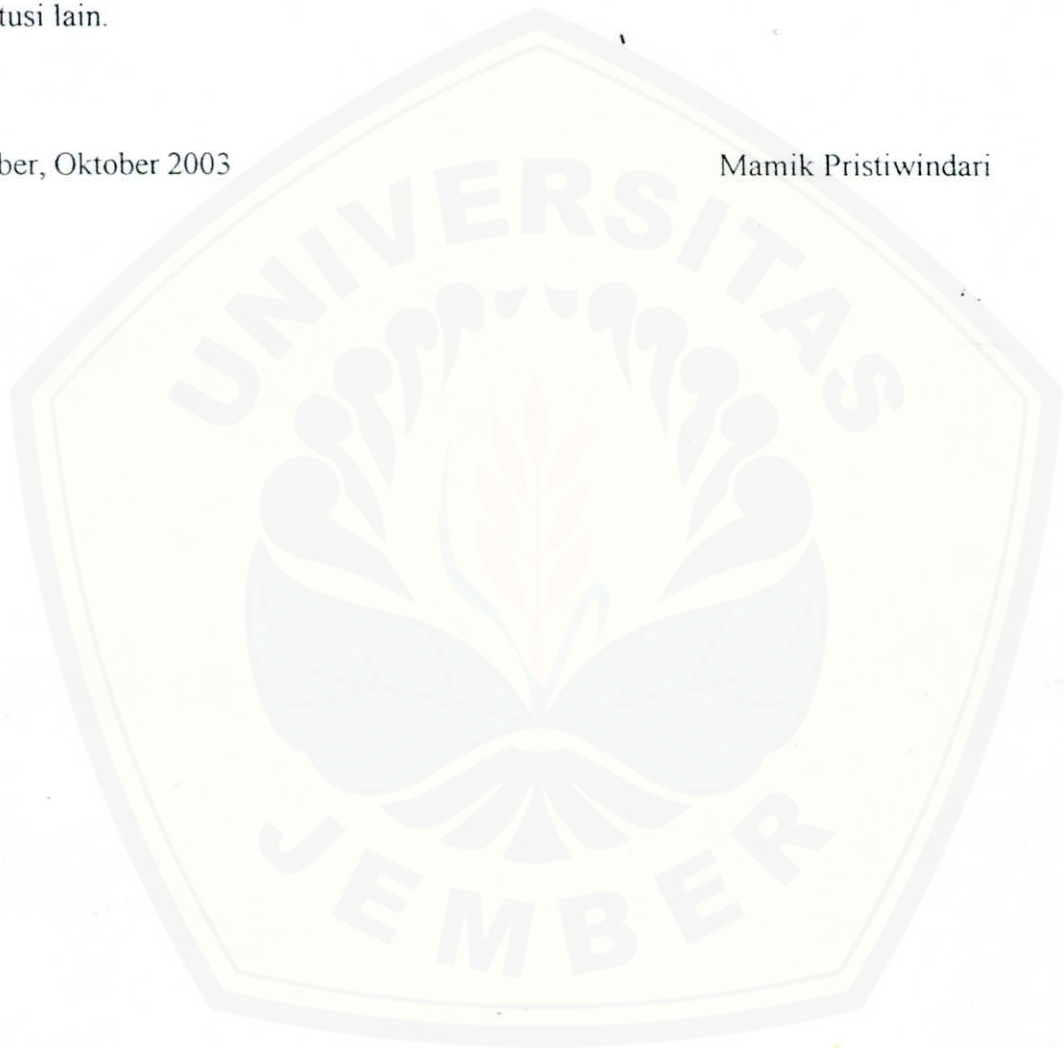
- Bapak dan Ibu yang telah memberi ananda segala-galanya, ananda belum bisa memberi apa-apa.
- Adikku Heni Trisnawati atas keceriaan yang diberikan walau jauh namun selalu terasa ada.
- Agus Tri Andy M yang telah mencurahkan kasih sayang, tenaga dan doanya untuk karyaku ini.
- Mbah Kakung dan Mbah Uti, semoga do'anya tetap untuk cucumu.
- Bapak Ismail sekeluarga, terima kasih atas do'a serta dukungannya.
- Bapak M. Zani dan Ibu Rike Oktarianti terima kasih atas dukungannya.
- Sahabatku di MIPA BIO '99 Anita (Noel), persahabatan kita indah jangan lupakan itu.
- Chemil terima kasih, telah kau tunjukkan kepadaku bahwa aku masih berarti.
- Almamater yang kubanggakan

DEKLARASI

Skripsi ini berisi hasil kerja/penelitian mulai bulan Maret 2003 sampai dengan bulan Juni 2003 di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Jember. Bersama ini saya menyatakan bahwa isi skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri kecuali jika disebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada institusi lain.

Jember, Oktober 2003

Mamik Pristiwindari



ABSTRAK

Variasi Genetik Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah, Mamik Pristiwindari, 991810401028, Skripsi, September 2003, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

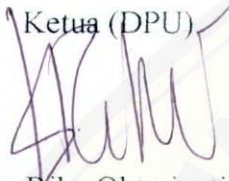
Mutasi merupakan penentu adanya variasi genetik. Studi tentang variasi genetik sangat membantu dalam mempelajari organisme. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan penelaahan pada polimorfisme protein plasma darah. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui polimorfisme protein plasma darah pada lokus transferin, albumin dan pre-albumin dan mengetahui variasi genetik ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). Polimorfisme protein plasma darah pada ikan gurami ini dikaji dengan menggunakan teknik elektroforesis. Hasil elektroforesis pada lokus Tf, Alb dan Pa menunjukkan bahwa ketiga lokus dikontrol oleh tiga alel, berdasarkan perhitungan frekuensi gen terlihat bahwa ketiga alel ini memiliki sifat polimorfik. Pada lokus transferin yang merupakan alel umum adalah Tf-A. Untuk lokus albumin yang merupakan alel umum adalah Alb-A dan Alb-C merupakan alel jarang. Lokus pre-albumin memiliki alel umum yaitu Pa-A dan yang merupakan alel jarang adalah Pa-C. Heterozigositas tingkat populasi ikan gurami sebesar 52%.

Kata kunci : polimorfisme, protein plasma darah, variasi genetik, ikan gurami (Osphronemus gouramy Lac.).

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

Hari : JUM'AT
Tanggal : 31 OCT 2003
Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji

Ketua (DPU)


(Dra. Rike Oktarianti, M.Si)
NIP. 131 877 583

Sekretaris (DPA)



(Drs. Suratno, M.Si)
NIP. 131 993 443

Dosen Penguji I



(Dr. Hidayat Teguh W, MPd)
NIP. 131 759 845


Dosen Penguji II



(Purwatiningsih, S.Si, M.Si)
NIP. 132 258 181

Mengesahkan
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember




(Sumadi, MS)
NIP. 130 368 784

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena penulis telah diberi rahmat untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada Dra. Rike Oktianti, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, Drs. Suratno, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota, Dr. Hidayat Teguh Wiyono, MPd dan Purwatiningsih, S.Si, M.Si selaku Dosen Penguji yang dengan penuh kesabaran telah membimbing penulis mulai dari penentuan topik sampai dengan terbentuknya skripsi ini.

Berbagai pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ketua Laboratorium Biologi Molekuler beserta staf yang telah memberi ijin penggunaan fasilitas yang ada. Serta semua rekan-rekanku Biologi Angkatan '99 atas semuanya.

Akhirnya penulis berharap skripsi ini dapat memberi kontribusi terhadap kemajuan ilmu pengetahuan.

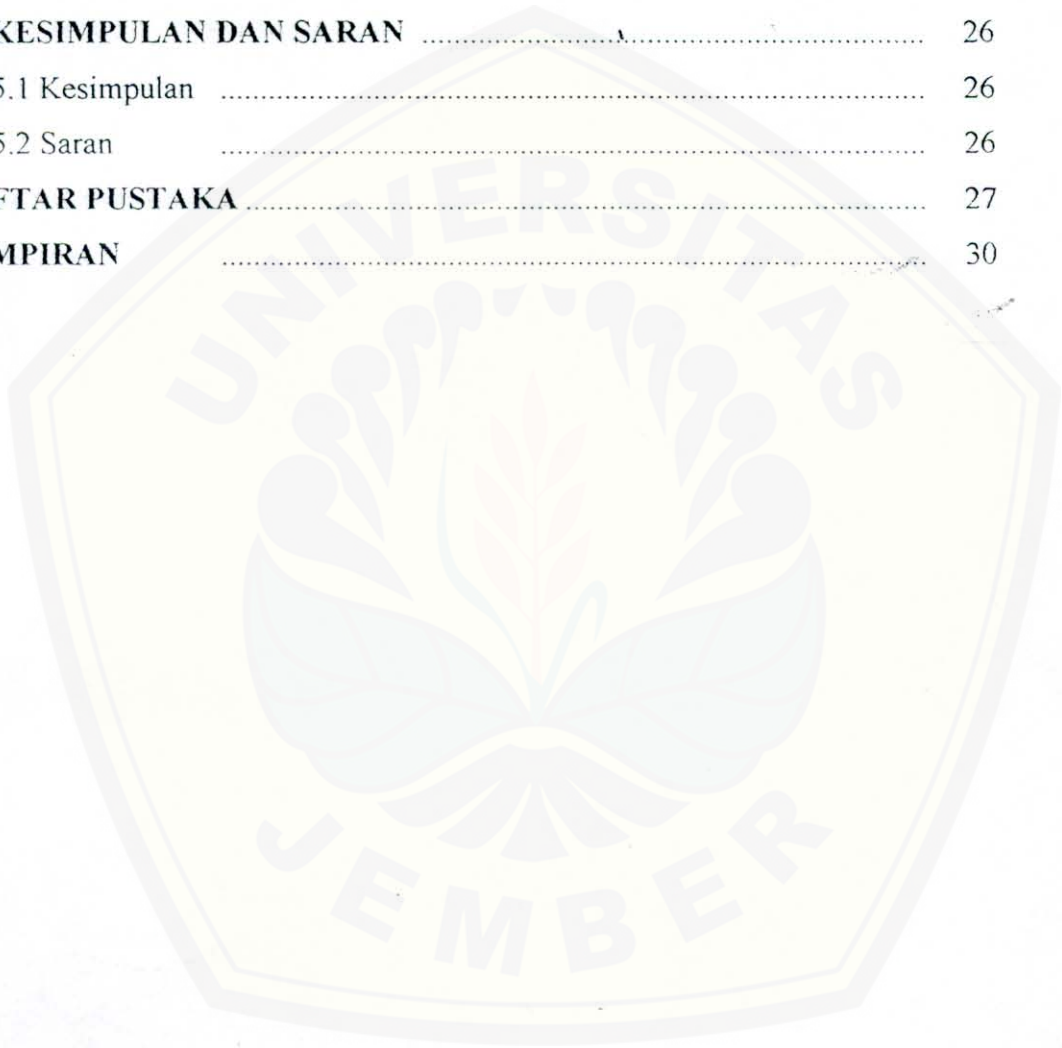
Jember, Oktober 2003

Penulis,

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN MOTTO.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN DEKLARASI.....	iv
ABSTRAK.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Sistematika dan Karakter Morfologi Ikan Gurami (<i>Osphronemus gouramy</i> Lac.).....	4
2.2 Variasi Genetik.....	5
2.3 Polimorfisme Protein Plasma Darah.....	6
III. METODOLOGI.....	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	10
3.2.1 Alat.....	10
3.2.2 Bahan.....	10
3.3 Prosedur Penelitian.....	11
3.4 Analisa Data.....	13
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15

4.1 Hasil Elektroforesis Protein Plasma Darah Ikan Gurami.....	15
4.1.1 Lokus Transferin	17
4.1.2 Lokus Albumin.....	19
4.1.3 Lokus Pre-Albumin	21
4.2 Heterozigositas	24
V. KESIMPULAN DAN SARAN	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	30



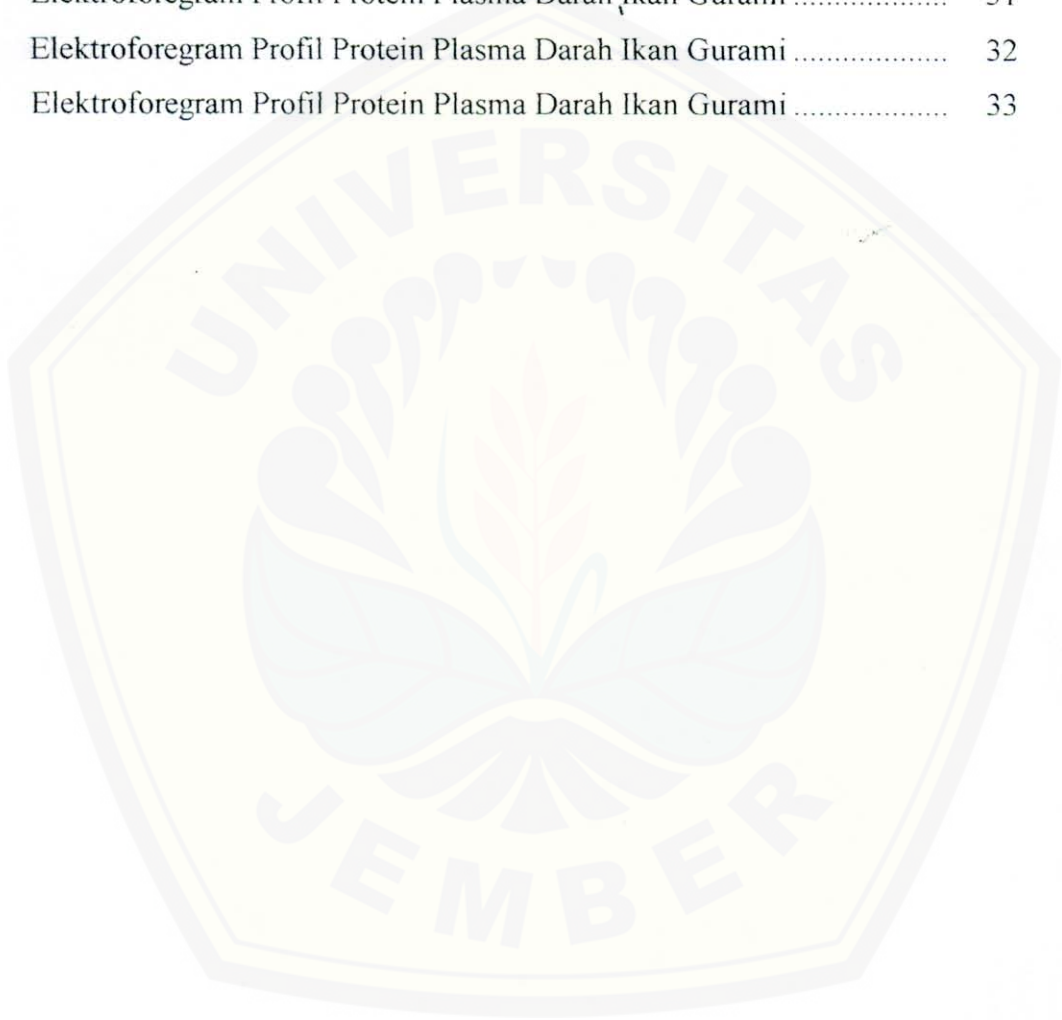
DAFTAR TABEL

No.	Judul	Hal
1.	Frekuensi Genotip Lokus Transferin (Tf) Pada Ikan Gurami	17
2.	Frekuensi Alel Lokus Transferin (Tf) Pada Ikan Gurami	17
3.	Frekuensi Genotip Lokus Albumin (Alb) Pada Ikan Gurami	20
4.	Frekuensi Alel Lokus Albumin (Alb) Pada Ikan Gurami	20
5.	Frekuensi Genotip Lokus Pre-albumin (Pa) Pada Ikan Gurami.....	22
6.	Frekuensi Alel Lokus Pre-albumin (Pa) Pada Ikan Gurami.....	22
7.	Heterozigositas Ikan Gurami	24



DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Hal
1.	Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Gurami	15
2.	Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Gurami	30
3.	Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Gurami	31
4.	Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Gurami	32
5.	Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Gurami	33



DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul	Hal
1.	Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.....	30
2.	Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.....	31
3.	Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.....	32
4.	Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.....	33
5.	Skema profil protein plasma darah ikan gurami lokus transferin, albumin dan pre-albumin.....	34
6.	Skema profil protein plasma darah ikan gurami lokus transferin, albumin dan pre-albumin.....	35
7.	Skema profil protein plasma darah ikan gurami lokus transferin, albumin dan pre-albumin.....	36
8.	Skema profil protein plasma darah ikan gurami lokus transferin, albumin dan pre-albumin.....	37
9.	Skema profil protein plasma darah ikan gurami lokus transferin, albumin dan pre-albumin.....	38
10.	Skema profil protein plasma darah ikan gurami lokus transferin, albumin dan pre-albumin.....	39
11.	Perhitungan frekuensi genotip lokus transferin, albumin dan pre-albumin pada ikan gurami.....	40



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) merupakan salah satu famili dari ordo Labyrinthici yang dikenal sebagai ikan konsumsi, karena rasa dagingnya yang sangat lezat. Selain itu ikan gurami juga memiliki nilai gizi yang cukup tinggi, serta terbukti tidak mengandung kolesterol (Noe *et.al.*, 2001). Ikan gurami dapat tumbuh dan berkembang pada perairan tropis atau subtropis. Secara geografis ikan ini tersebar di berbagai negara, seperti Indonesia (Puspowardoyo dan Djarijah, 1992). Pada tahun 1902 menyebar ke Tondano, 1916 ke Madura (Seputro, 2002). Selain itu ikan gurami ini tersebar ke Malaysia, Filipina, Thailand, Kepulauan Sychillin dan Australia. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan selama ini ternyata gurami tidak tahan hidup dalam lingkungan yang agak payau (asin). Meskipun mempunyai daya adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan tawar, gurami lebih cocok hidup di daerah rawa di dataran rendah sampai di kolam-kolam pekarangan pada ketinggian 600 meter di atas permukaan laut. Oleh karena itu ada penelitian yang mengemukakan bahwa gurami merupakan ikan air tawar murni (Puspowardoyo dan Djarijah, 1992).

Menurut Sitanggang (1987), ikan gurami memiliki jenis yang bermacam-macam dengan morfologi yang berbeda, berdasarkan kemampuan bertelur, kecepatan tumbuh dan bobot maksimal yang bisa dicapai, salah satunya adalah gurami Bastar. Gurami Bastar merupakan gurami yang banyak dibudidayakan, gurami ini memiliki sisik besar-besar, warna tubuh agak kehitaman serta mempunyai daya pertumbuhan relatif cepat dibandingkan strain yang lain. Secara morfologi gurami Bastar memiliki karakteristik yang sama, namun secara genetis susunan gen yang dimiliki kemungkinan berbeda, sehingga pola profil protein yang dimiliki oleh tiap individu kemungkinan menunjukkan perbedaan. Menurut Sofro (1994), secara genetik tidak ada dua individu dalam satu spesies yang persis sama.

Protein merupakan makromolekul kompleks yang terdapat di dalam semua sel dan mengekspresikan informasi genetik dalam ribuan gen dalam inti sel (Pai, 1992). Protein ini dapat digunakan sebagai salah satu acuan untuk mempelajari karakteristik genetik. Akhir-akhir ini karakteristik genetik dirasakan sangat perlu dalam membantu mempelajari organisme. Dengan cara menelusuri kemiripan dari struktur protein tertentu. Selain itu protein juga bisa digunakan untuk mengkaji keanekaragaman, baik protein struktural maupun protein fungsional (Hartl, 1980). Protein struktural terdapat dalam membran, serabut kontraktil dan filamen intraseluler. Protein fungsional seperti enzim sangat dibutuhkan untuk menjadi katalisator pada sintesa berbagai macam persenyawaan kimia yang sangat dibutuhkan untuk kehidupan (Suryo, 1986). Upaya yang dapat dilakukan adalah penelaahan pada polimorfisme protein plasma darah. Beberapa protein yang mudah ditemukan dan diamati adalah pre-albumin, albumin dan transferin. Ketiganya merupakan protein yang mudah ditemukan dalam jumlah besar. Melalui metode elektroforesis akan dapat diketahui polimorfisme plasma darah tersebut. Oleh karena itu adanya polimorfisme protein plasma darah dapat digunakan untuk menentukan variasi genetik pada ikan gurami.

Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian tentang “Variasi Genetik Ikan Gurami (*Ophronemus gouramy* Lac.) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah”.

1.2 Permasalahan

- 1.2.1 Apakah pada plasma darah ikan gurami terjadi polimorfisme protein pada lokus pre-albumin, albumin dan transferin?
- 1.2.2 Bagaimanakah variasi genetik ikan gurami (tingkat heterozigositas) yang diteliti berdasarkan polimorfisme protein pada lokus pre-albumin, albumin dan transferin?

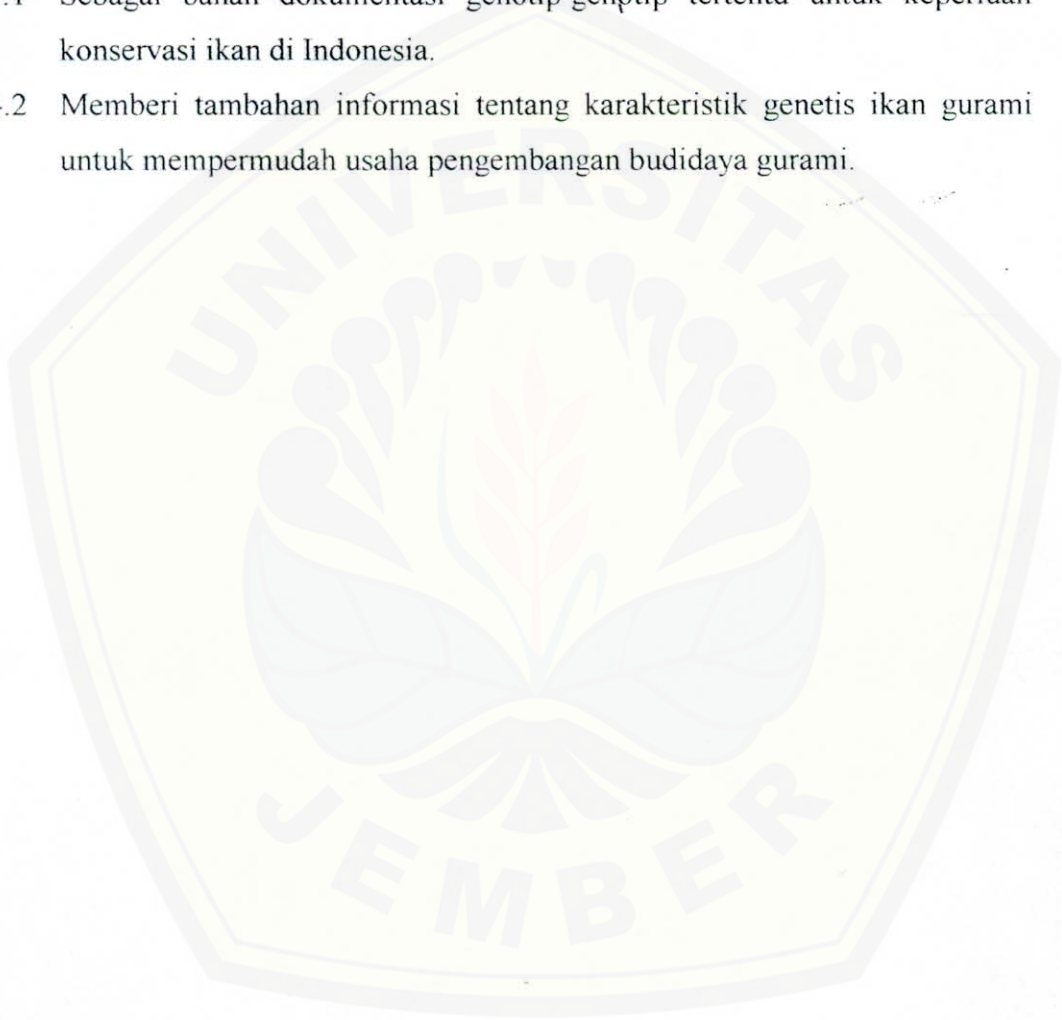
1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui polimorfisme protein plasma darah pada ikan gurami pada lokus pre-albumin, albumin dan transferin.

- 1.3.2 Mengetahui variasi genetik ikan gurami (tingkat heterozigositas) berdasarkan polimorfisme protein plasma darah pada lokus pre-albumin, albumin dan transferin.

1.4 Manfaat

- 1.4.1 Sebagai bahan dokumentasi genotip-genotip tertentu untuk keperluan konservasi ikan di Indonesia.
- 1.4.2 Memberi tambahan informasi tentang karakteristik genetik ikan gurami untuk mempermudah usaha pengembangan budidaya gurami.





2.1 Sistematika dan Karakter Morfologi Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.)

Klasifikasi gurami menurut sistematika yang disusun oleh Saanin (1984) adalah sebagai berikut :

Filum	:	Chordata
Subfilum	:	Vertebrata
Kelas	:	Pisces
Subkelas	:	Teleostei
Ordo	:	Labyrinthici
Subordo	:	Anabantoidei
Familia	:	Anabantidae
Genus	:	<i>Osphronemus</i>
Spesies	:	<i>Osphronemus gouramy</i> Lac.

Ikan gurami termasuk dalam ordo Labyrinthici yaitu sebangsa ikan yang memiliki alat pernafasan berupa insang tambahan (labyrinth). Labyrinth adalah alat pernafasan yang berupa selaput tambahan berbentuk tonjolan pada tepi atas lapisan insang pertama. Pada selaput ini terdapat pembuluh darah kapiler sehingga memungkinkan bagi gurami untuk mengambil oksigen langsung dari udara dalam aktivitas pernafasannya (Puspowardoyo dan Djariyah, 1992).

Gurami memiliki bentuk badan pipih dan lebar, panjang tubuhnya dari ujung moncong sampai pangkal ekor kira-kira 2-4 kali tinggi tubuhnya. Sewaktu muda kepalanya runcing ke depan dan berubah menjadi tumpul setelah dewasa. Sepasang sirip perutnya mengalami perubahan menjadi sepasang benang panjang yang berfungsi sebagai alat peraba, jari-jari sirip punggungnya keras dan tajam (Sitanggung, 1987). Gurami memiliki sirip punggung berjari-jari keras sebanyak 12-13 buah dan jari-jari lemah 11-13 buah. Sirip duburnya mempunyai jari-jari keras 9-11 buah dan jari-jari lemah 19-21 buah. Sirip dadanya 2 buah, terletak di sisi kanan dan kiri dengan jumlah jari-jari lemah 13-14 buah

dan sepasang sirip perutnya yang mempunyai jari-jari keras 1 buah dan jari-jari lemah 5 buah. Letak garis rusuk menyilang di bagian bawah sirip punggung, jumlah sisik pada garis rusuk 30-33 buah (Puspowardoyo dan Djariyah, 1992).

Menurut Puspowardoyo dan Djariyah (1992), warna ikan gurami ada yang hitam, ada pula yang putih kemerah-merahan, tetapi keduanya memiliki warna bagian punggung lebih gelap dan bagian perut lebih terang seperti lazimnya warna ikan air tawar lainnya. Tetapi warna ini tidak mutlak demikian, tergantung dari keadaan lingkungan, terutama warna tanah atau air tempat hidupnya.

2.2 Variasi Genetik

Para ahli taksonomi telah mengelompokkan makhluk hidup ini berdasarkan adanya kesamaan dan perbedaan yang tampak secara morfologis. Namun demikian makhluk hidup yang sudah digolongkan pada takson yang paling spesifik yaitu spesies (jenis) tetap menunjukkan adanya beberapa perbedaan di antara individu-individunya. Secara genetik tidak ada dua individu dalam satu spesies yang persis sama. Perbedaan di antara individu ini disebabkan oleh adanya variasi berbagai faktor antara lain faktor genetik, umur, jenis kelamin, makanan, stadium daur hidup, bentuk tubuh, habitat (Sofro, 1994). Sedangkan variasi genetik itu sendiri menurut Yatim (1996), merupakan variasi yang disebabkan oleh perubahan pada bahan genetik (mutasi).

Lebih lanjut menurut Sofro (1994), dalam mempelajari variasi terutama ditekankan pada bentuk morfologis. Sesungguhnya banyak wujud fenotip yang lebih beranekaragam tetapi tidak mudah dilihat secara langsung. Dengan teknik biologi molekuler dapat dilakukan pemeriksaan terhadap keanekaragaman genetik pada individu-individu anggota spesies, bukan saja sampai aras protein bahkan sampai aras DNA.

Hipotesa "*one-gene-one-protein*" hubungannya tidak dapat ditemukan apabila hanya dilihat dari faktor fenotip dengan menggunakan ciri fisik. Kenyataannya pada manusia maupun organisme lainnya diduga bahwa sintesa serta struktur dari protein struktur tunggal bisa dikontrol oleh dua atau lebih gen. Konsep "*one-gene-one-enzyme*" mengemukakan bahwa gen mengontrol produksi

dari polipeptida. Kemudian konsep ini berkembang menjadi “*one-gene-one-polipeptida*” (Verma and Agarwal, 1975).

Kekhasan molekul protein ditentukan mulai dari urutan asam amino yang membentuk polipeptida. Urutan asam amino ini ditentukan secara mendasar berdasarkan “perintah” gen. Jadi posisi masing-masing asam amino pada rantai polipeptida dikendalikan secara genetik. Jika satu atau lebih asam amino pada urutan tersebut diganti atau dilepas akibat suatu mutasi titik (*point mutation*) konsekuensinya bisa sangat mengerikan atau mungkin akibat mutasi ini akan terbentuk protein baru yang menjamin kelangsungan hidup organisme (Rafelson *et. al.*, 1980 dalam Riandi, 1997). Mutasi titik mempunyai arti terbatas dan umumnya dikenal sebagai mutasi yang terjadi pada tingkat molekuler dalam gen (sistron). Mutasi ini menunjukkan ragam pada tempat tertentu dalam ADN, yaitu perubahan satu pasang nukleotida (Crowder, 1997). Mutasi ini memiliki konsekuensi yang sangat mengerikan atau mungkin akibat mutasi ini akan terbentuk protein mutan yang justru menjamin kelangsungan hidup organisme (Rafelson *et.al.*, 1980 dalam Riandi, 1997). Salah satu faktor penentu adanya variasi genetik adalah mutasi. Variasi genetik ini terjadi apabila ada beberapa perubahan materi genetik. Dengan adanya mutasi maka akan muncul variasi baru dalam suatu populasi dan juga membawa perubahan dalam frekuensi alel. Semakin tinggi variasi genetik, menunjukkan tinggi pula variasi yang ada pada suatu populasi (Ferguson, 1980).

2.3 Polimorfisme Protein Plasma Darah

Evolusi Darwin tergantung pada variasi dalam suatu populasi. Batasan mengenai genetika polimorfisme yang terjadi dikontrol oleh 1 alel atau lebih pada lokus tertentu. Biasanya polimorfisme terjadi dalam populasi yang memiliki frekuensi genetik yang lebih dari 5%. Alel polimorfisme dalam suatu populasi dihitung menggunakan nilai heterozigositas, frekuensi alel atau metode yang lain (Tamarin, 2002). Kebanyakan dari polimorfisme protein darah diatur secara genetik oleh pasangan alel atau rangkaian alel tanpa dominansi (Warwick *et. al.*, 1990). Pada tahun 1966 genetika populasi mulai menggunakan prinsip

elektroforesis protein untuk mempelajari populasi yang ada di alam (Rusell, 1994). Pada tahun 1970 juga dilakukan elektroforesis gel pada protein terlarut yang merupakan penelitian yang banyak dikaji oleh para ilmuwan (Li, 1997).

Faktor yang menentukan fenomena polimorfisme adalah mutasi gen. Secara umum yang dimaksud dengan mutasi merupakan perubahan dalam bahan genetik namun secara terbatas, mutasi lebih menuju ke perubahan dalam gen (intragenik). Produk mutasi dalam sepasang individu induk dapat pula dilihat pada keturunannya (Sofro, 1994). Suatu lokus tergolong lokus polimorfisme apabila memiliki frekuensi alel terbanyak yang ditemukan tidak melebihi 99% (Li dan Graur, 1991).

Pemeriksaan variasi genetik dapat dilakukan pada molekul protein, termasuk enzim (Sofro, 1994). Protein tersusun atas satu atau lebih rantai polipeptida yang terbentuk sebagai benang panjang asam-asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida dalam susunan linier yang spesifik (Harris, 1994). Protein membentuk bagian terbesar dari komponen yang tidak mudah menguap di dalam plasma darah. Konsentrasinya berkisar antara 60-80 g.L⁻¹. Dengan demikian sekitar 4% dari seluruh protein tubuh adalah protein plasma (Physiol, 2000). Protein plasma sebenarnya merupakan campuran yang sangat kompleks yang tidak hanya terdiri dari protein sederhana namun juga protein campuran seperti glikoprotein dan berbagai jenis lipoprotein (Harper, 1979).

Berdasarkan tingkah lakunya yang berbeda dalam elektroforesis protein dapat dibedakan secara kasar menjadi 5 kelompok besar yaitu albumin dan α_1 , α_2 , β dan γ globulin. Protein dan enzim yang bermuatan listrik lainnya dapat dipisahkan dengan cara elektroforesis (Physiol, 2000). Elektroforesis tergantung pada ukuran, bentuk molekul serta medium yang digunakan (Jenkins, 1990). Elektroforesis bisa digunakan untuk memisahkan hasil isoalel misalnya dilakukan pada *Drosophila* sp. (Crowder, 1997). Menurut Jusuf dan Subamia (2000), untuk studi aktivitas enzimatik protein sistem pencernaan gurami (*Osphronemus gouramy*) usia muda dilakukan dengan menggunakan teknik elektroforesis. Hadie *et. al.*, (1999) mengemukakan bahwa teknik elektroforesis juga digunakan untuk

mengetahui keanekaragaman genetik antara populasi ikan lele (*Clarias batrachus*) di sungai Musi dan Bengawan Solo.

Protein plasma yang terdapat dalam plasma darah antara lain:

a. Albumin (Alb)

Fraksi protein plasma ini paling banyak ditemukan, selain itu protein ini ditemukan di dalam hati. Berat molekulnya kira-kira 68.000-69.000 Dalton (Harper *et. al.*, 1995 dan Sofro, 1992). Struktur primer dari albumin terdiri atas 610 asam amino yang tersusun dalam satu rantai peptida (Sofro, 1992). Albumin memiliki fungsi dalam transpor dari asam lemak, bilirubin asam empedu, hormon-hormon steroid, obat-obatan juga ion-ion anorganik (Physiol, 2000). Selain itu juga bertanggungjawab pada sekitar 80% dari tekanan osmotik potensial dari plasma. Hal ini disebabkan karena albumin dan protein-protein lain yang berat molekulnya lebih tinggi, tidak dapat melewati dinding pembuluh atau dinding kapiler dan oleh karenanya akan membantu mempertahankan cairan berada di dalam sistem vaskuler (Frandsen, 1992).

b. Pre Albumin (Pa)

Pre-albumin (Pa) mempunyai berat molekul 55.000 Dalton. Dalam analisis elektroforesis protein Pa bermigrasi di depan protein albumin (Putnam dalam Mu'in, 1996). Termasuk dalam fraksi albumin yang mentranspor hormon tiroksin dan metabolitnya (iodotironin) bersama-sama dengan suatu transferin yang berikatan pada tiroksin dan albumin (Physiol, 2000).

c. Transferin (Tf)

Merupakan protein plasma yang heterogen dengan berat molekul 78.000-80.000 Dalton. Sebagai molekul protein majemuk, transferin mengandung 6% hidrat arang. Transferin berfungsi dalam pengangkutan zat besi dalam bentuk ferri ke sumsum tulang sebagai tempat penyimpanan zat besi (Sofro, 1992). Berdasarkan atas mobilitas elektroforesisnya transferin dapat dibedakan menjadi α_1 -globulin, α_2 -globulin, β -globulin dan γ -globulin yang memiliki fungsi antara

lain mentransfer lemak, mentransfer hormon, vitamin dan ion-ion logam (Pysiol, 2000). Sedangkan berdasarkan struktur dan fungsinya, transferin dibagi menjadi glikoprotein, lipoprotein, protein pengangkut logam, enzim, hormon dan imunoglobulin (Sofro, 1992).

Polimorfisme pada ikan pernah dilakukan beberapa kali oleh para peneliti, misalnya pada ikan lele, Riandi (1997). Ikan *Galaxias olidus* yaitu pada lokus Malate Dehidrogenase (Mdh), Glycerol-3-Phosphate Dehidrogenase-1 dan 2 (Gpdh-1 dan GPDH-2) (Arisuryanti, 2000). Pada Anoplarchus terbukti bahwa terdapat lokus polimorfisme sebesar 2%-26% pada alel LDH dan LDH-1 (Scroder, 1973). Polimorfisme pada ikan nila hitam (*Oreochromis nilotus*), ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) dan ikan mujair (*Oreochornis mossambica*) ditemukan pada lokus Tranferin (Tf), Albumin (Alb) serta Pre Albumin (Pa) (Widiasworo, 2002).

III. METODE PENELITIAN



3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Sampel ikan gurami diperoleh dari petani ikan di Desa Rambutan Kecamatan Bangsalsari Kabupaten Jember. Preparasi sampel darah dan analisis protein plasma darah dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Mei 2003 sampai Juli 2003.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Sentrifugase (SIGMA 3 K12), *disposable syringe* 1 ml (TERUMO, Japan), tabung *ependrof* 1.5 ml, *mikropipet* (SOCOREX, Swiss), *yellow tip*, *blue tip*, *freezer* -20°C (SANYO SCF 4N), *shaker* (RIKO RS-12TE), seperangkat alat elektroforesis sistem vertikal (BIO CRAFT MODEL BE 210. Japan), *power supply* (KAYAGAKI PS-10), kaca, penjepit, kertas kaca, *cutter gel*, *erlenmeyer* 25 ml, termos es, *tissue*, kamera (NIKON 10 FM).

3.2.2 Bahan

a. Hewan coba:

Sampel yang digunakan sebanyak 55 ekor dengan berat masing-masing ikan 500 gram.

b. Preparasi sampel: alkohol 70 %, EDTA (*ethylene diamine tetra acetic-acid*).

c. Gel: *Acrylamide-bis* (SIGMA, USA), *Tris HCl* (MERCK, Germany), *ammonium persulfate* (APS) 10% (BIO-RAD Laboratories), *sodium dodecyl sulphate* (SDS) 10% (BDH LIMITED POOPLE, England), *N,N,N',N'* tetra methyl ethylene diamine (TEMED) 0.05 % (BIO-RAD Laboratories), *glycin* (MERCK, Germany), *glycerin* (MERCK, Germany), *mercaptoethanol 2-b* (MERCK, Germany) dan *aquadest*.

d. Pewarnaan, pencucian dan penyimpanan gel: *bromophenol blue* (MERCK, Germany), *coomassie brilliant blue R-250* (BDH CHEMICAL Ltd, England),

trichloro acetic acid (TCA), *methanol*, *acetic acid glacial* (AAG) (MERCK, Germany).

3.3 Prosedur Penelitian

Identifikasi protein plasma darah menggunakan teknik elektroforesis gel poliakrilamid sistem vertikal (Sofro, 1992):

1) Pengambilan sampel darah

Darah diambil dari insang sebanyak 1 ml dengan menggunakan *disposable syringe*, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* yang telah diberi EDTA. Tabung *eppendorf* ditutup lalu digoyang-goyang agar darah bercampur dengan EDTA, kemudian dimasukkan ke dalam termos es yang berisi es batu sampai dilakukan *sentrifugase*.

2) Penyiapan plasma darah

Sampel darah yang diperoleh *disentrifugase* 4000 rpm selama 10 menit sehingga sel darah terpisah dengan plasma darah, kemudian plasma darah dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* dan disimpan dalam freezer suhu -20°C sampai dilakukan elektroforesis.

3) Penyiapan gel pemisah atau *running gel*

Untuk gel pemisah dibuat dengan kadar *acrylamide* sebesar 12.5%. Cara membuatnya yaitu dengan mencampurkan 2.5 ml larutan buffer *Tris-HCl* 1.5 M pH 8.8; 4.15 ml stok *acrylamide-bis* (30%); 50 μL APS 10% dan 5 μL TEMED 0.05% larutan dalam 3.3 mL *aquadest*.

4) Penyiapan gel penggertak atau *stacking gel*

Dibuat dengan kadar *acrylamide* sebesar 4.5%. Cara membuatnya yaitu dengan mencampurkan 0.75 mL *Tris-HCl* 0.5 M pH 6.8; 0.45 ml stok *acrylamide-bis* (30%); 10 μL APS 10% dan 4.5 μL TEMED 0.05% dan dilarutkan dalam 1.8 mL *aquades* (khusus TEMED dicampurkan ketika akan dituang ke apitan kaca).

5) Pelaksanaan elektroforesis gel

- a. Menggabungkan dua keping kaca pada rakitan alat elektroforesis diantara plastik *spacer* yang diletakkan di sisi kanan dan kiri kemudian dijepit dengan kuat.
- b. Menuangkan campuran gel pemisah yang telah disiapkan ke rakitan elektroforesis gel sampai $\frac{2}{3}$ isi rakitan, kemudian menambahkan isobutanol pekat ke dalam permukaan gel dan dibiarkan memadat. Setelah memadat, isobutanol dituang dan dihisap dengan kertas hisap.
- c. Memasukkan sisir gel di antara dua keping kaca, kemudian menuangkan gel penggertak ke dalam rakitan tersebut. Apabila gel penggertak telah memadat, sisir gel dilepaskan.
- d. Keping kaca yang telah berisi gel pemisah dan penggertak yang telah memadat dipasang ke *holder*, selanjutnya dimasukkan ke dalam bejana alat elektroforesis dan diisi buffer elektroda sampai merendam alur gel (*well*).
- e. Mencampurkan $5\mu\text{L}$ plasma darah dengan $20\mu\text{L}$ larutan buffer sampel, kemudian dipanaskan pada suhu 95°C selama 4 menit.
- f. Pemuatan atau *loading* yaitu memasukkan $5\mu\text{L}$ protein standar ke dalam alur gel di sisi paling kanan, sedangkan $5\mu\text{L}$ campuran plasma darah dan buffer sampel (poin e) dimasukkan ke dalam alur gel lainnya.
- g. Rakitan alat elektroforesis yang telah berisi gel dan *running buffer* dialiri arus listrik 5 A dengan *power supply* dengan tegangan 100V, sampai warna penanda mencapai 1cm dari dasar gel atau kurang lebih selama 2 jam.
- h. Running dihentikan, gel dilepas dari apitan kaca dan dicuci sampai bersih dengan *aquadest*. Gel penggertak dipisahkan dengan *cutter gel*, salah satu ujung gel pemisah diberi penanda.

6) Pewarnaan gel atau *staining*

Gel direndam dalam pewarna yaitu *coomasie brilliant blue* 0.1% selama 24 jam dengan diinkubasi di atas *shaker*.

7) Pencucian (*destaining*) dan penyimpanan gel

Proses pencucian gel dilakukan dengan cara merendam ke dalam larutan pencuci yang terdiri dari *methanol*, *acetic acid glacial* dan *aquadest*, kemudian dimasukkan ke dalam *shaker* selama 30 menit. Proses pencucian dapat diulang sampai tampak pita-pita protein pada gel. Gel kemudian difoto dan disimpan dalam larutan *asam asetat 5%* selanjutnya dikeringkan dengan apitan kertas kaca.

3.4 Analisis Data

Untuk mengidentifikasi pita protein plasma darah yang tampak pada gel maka dilakukan penghitungan berat molekul yang didasarkan pada mobilitas relatif (R_f) dan membandingkan dengan marker dimana sudah diketahui berat molekulnya (Chung, 1987). Sedangkan frekuensi alel serta heterozigositas dapat dihitung sesuai data pada fenotip Albumin (Alb), Pre-Albumin (Pa) dan Transferin (Tf) menurut Ferguson (1980) dapat digunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Frekuensi alel} = \frac{2H_o + H_e}{2N}$$

Dimana; H_o : Jumlah alel homozigot

H_e : Jumlah alel heterozigot

N : Jumlah individu

Heterozigositas:

$$H_L = 1 - \sum X_i^2$$

Dimana; H_L : Heterozigositas per lokus

X_i : Frekuensi alel ke-1

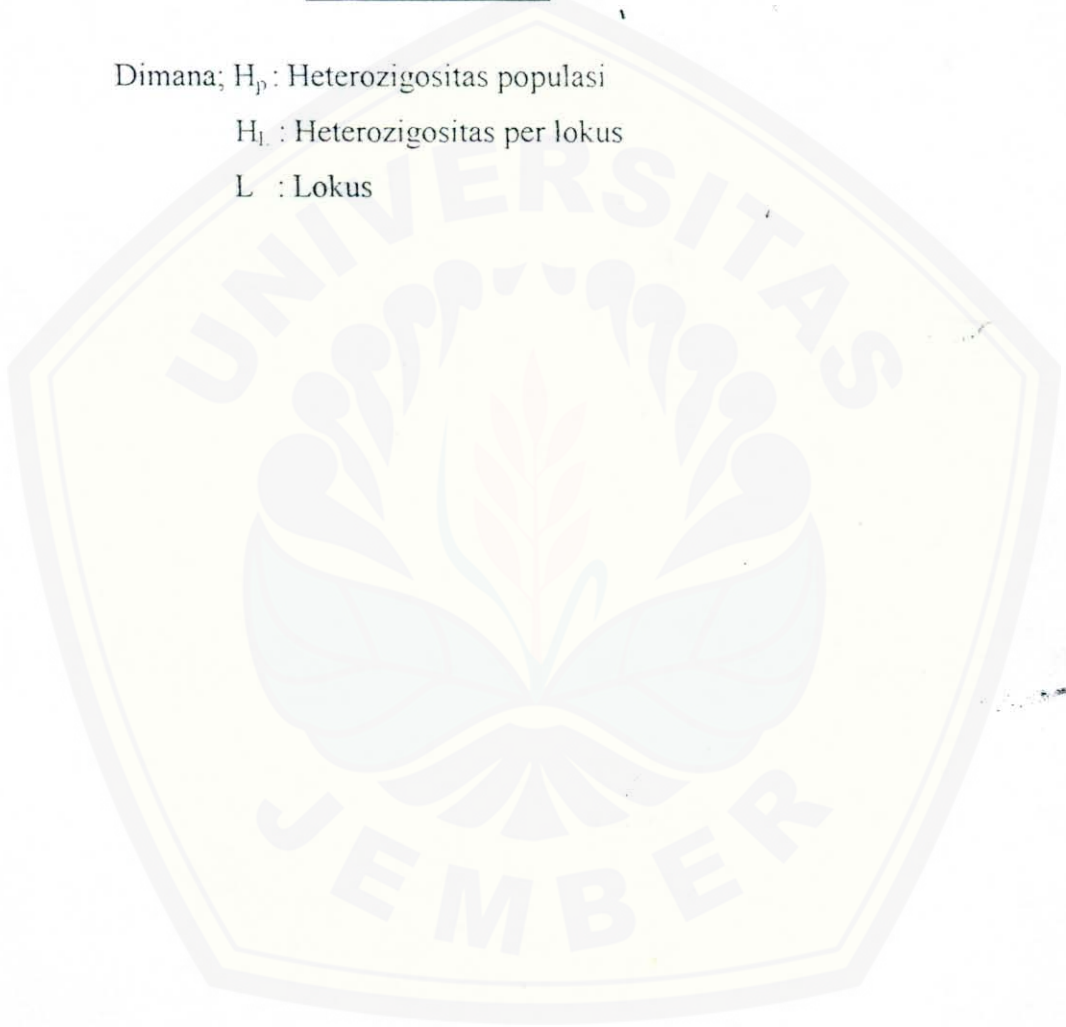
Heterozigositas populasi:

$$H_p = \frac{\sum H_L}{\sum L}$$

Dimana; H_p : Heterozigositas populasi

H_L : Heterozigositas per lokus

L : Lokus



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- 1) Pada plasma darah ikan gurami terjadi polimorfisme protein pada lokus pre-albumin, albumin dan transferin. Lokus pre-albumin dikontrol oleh 3 alel yaitu Pa-A, Pa-B dan Pa-C, lokus albumin dikontrol oleh 3 alel yaitu Alb-A, Alb-B dan Alb-C, lokus transferin dikontrol oleh 3 alel yaitu Tf-A, Tf-B dan Tf-C.
- 2) Nilai heterozigositas masing-masing sebesar 0.5 untuk lokus Tf, 0.49 lokus Alb dan 0.54 lokus Pa. Sedangkan nilai heterozigositas tingkat populasi yaitu sebesar 0.52 atau 52%

5.2 Saran

Dalam penelitian tentang variasi genetik ikan gurami berdasarkan polimorfisme protein plasma darah, untuk mendapatkan data yang lebih akurat disarankan dihitung total proteinnya terlebih dahulu.



Milik UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

DAFTAR PUSTAKA

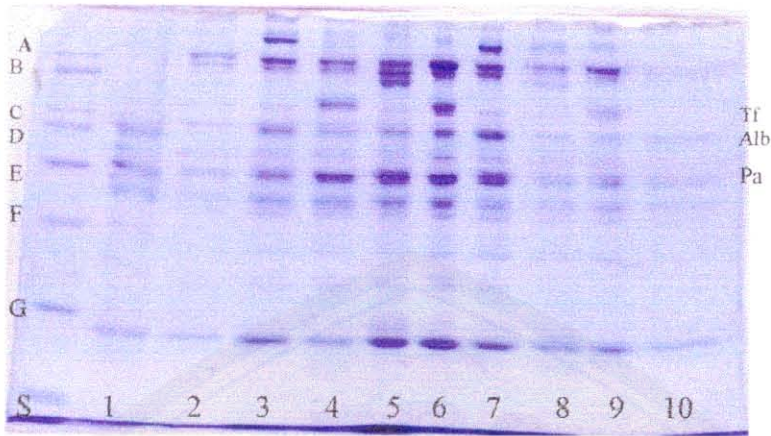
- Arisuryanti, T. 2000. "A Preliminary Study of Genetik Variation of *Galaxius olidus* (Salmoniformes : Galaxiidae) in Western Voctoria". Australia: Dalam *Berkala Penelitian Pasca Sarjana UGM*.
- Budiarsa, I. M. 1995. "Variasi Genetik Burung Puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) di Daerah Istimewa Yogyakarta Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah". *Tesis*. UGM: Program Pasca Sarjana.
- Chung, M. C. M. 1987. *Poliacrylamide Gel Electroforesis*. Paris: ICSU Press.
- Crowder, L. V. 1997. *Genetika Tumbuhan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Ferguson, A. 1980. *Biochemical Systematics and Evolution*. London: Lecturer in Zoology The Queens University of Belfast.
- Frandsen, D. R. 1993. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Hadie, L. E., L.E. Hadie, Sutyarso, Sudarti. 1999. "Keanekaragaman Genetik Antar Ikan Lele (*Clarias batrachus*) di Sungai Musi dan Bengawan Solo". Dalam *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol II.
- Harper, H. A., V. W. Rondwell and P. A. Mayes. 1978. *Review of Physiological Biochemistry*. California : Lange Medical Publisher.
- Harris, H. 1994. *Dasar-dasar Genetika Biokemis Manusia. Edisi Ketiga*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Hartl, D. L. 1980. *Principles of Population Genetics*. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.
- Jenkins, JB. 1990. *Human Genetis. Second Edition*. New York: Harper Collins Publisher.
- Jusuf, E., I. W. Subamia. 2000. "Studi Aktifitas Enzimatik Protein Sistim Pencernaan Gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) Usia Muda". Dalam *Jurnal Biologi Indonesia*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kattel, B., Y. Hayashi, T. Nishida, A. Adachi, T. Shotake, Y. Kawamoto. 1988. "Genetic Variability of The Native Asses in Nepal and Their Genetic Differentiation From Horses". Dalam *Jurnal*. Nepal: Departement of National Park and Wildlife Conservation.

- Lestari, T. D., Sulistyawati, M. Astuti. 1998. "Pengkajian Polimorfisme Protein Darah Pada Ayam Kampung dan Ayam Ras". Dalam *Buletin Peternakan*. Bogor: IPB.
- Li, W. H. 1997. *Molecular Evolution*. USA: Sinauer Associates, Inc.
- Li, W. H. and D. Graur. 1991. *Fundamentals of Molekuler Evolusion*. USA: Inc. Publisher Sunderlind.
- Masyud, B. 1992. "Penampilan Reproduksi dan Karakteristik Genetik Jalak Bali (*Leucopsar rothchildi*) Hasil Penangkaran". *Tesis*. IPB: Program Pasca Sarjana.
- Mu'in, M. A. 1996. "Hubungan Filogenetik Lima Macam Ayam Lokal Indonesia". *Berkala Penelitian Pasca Sarjana*. Yogyakarta: Gadjah Mada University.
- Nishida, T., Y. Hayashi, A. Adachi, Y. Kawamoto, T. Shotake. 1988. "Genetic Variability Within and Between Yak, Cattle and Their Hybrid". Dalam *Jurnal*. Japan: University of Tokyo.
- Noe, B. H., K. Prakoso, N. Roosany. 2001. "Ningrat Yang Jadi Primadona". Dalam www.google.com.
- Nurrohawati, T. 2002. "Polimorfisme Protein Plasma Darah Pada Ikan Lele Lokal dan Lele Dumbo". *Skripsi*. FMIPA Universitas Jember.
- Pai, A. C. 1992. *Dasar-Dasar Genetika*. Jakarta: Erlangga.
- Physiol, Kanadi, S. I. 2000. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Jakarta: Hipokrates.
- Puspowardoyo, H. dan A. S. Djariyah. 1992. *Membudidayakan Gurami Secara Intensif*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Riandi. 1997. "Variabilitas Genetik Ikan Lele (*Clarias gathracus* L.) Berdasarkan Pengamatan Protein dan Enzim". *Tesis*. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada: Tidak Dipublikasikan.
- Rusell, P. J. 1994. *Fundamental of Genetics*. USA: Harper Collins College Publisher.
- Saanin, H. 1984. *Taksonomi dan Kunci Determinasi Ikan*. Bandung: Penerbit Bina Tjipta.
- Seputro, M. B., 2002. "Kolam Ikan Gurami". Dalam mimbarse@gajahsora.net.

- Schroder, J. H., 1973. *Genetics and Mutagenesis of Fish*. New York: Springer Verlag Berlin Heidelberg.
- Sitanggang, M. 1987. *Budidaya Gurami*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Smith, J. M., 1998. *Evolutionary Genetic*. Second Edition. Oxford University.
- Sofro, A. S. M., 1994. *Keanekaragaman Genetik*. Yogyakarta: Andi Offset.
- , 1992. *Petunjuk Genetika Biologi Darah*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM.
- Suryo. 1986. *Genetika Manusia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tamarin, R. 2002. *Principles of Genetics*. USA: McGraw-Hill Companie, Inc.
- Verma, P.S., V. K. Agarwal. 1997. *Genetics*. New Delhi: S. Chand and Company Ltd.
- Warwick, E. J., J. M. Astuti dan W. Hardjosubroto. 1995. *Pemuliaan Ternak*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wuryastuti, H. 1991. *Petunjuk Laboratorium Teknik Pemeriksaan Darah Pada Mamalia*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi Universitas Gajah Mada.
- Widiasworo, A. 2002. "Polimorfisme Protein Plasma Darah Pada Ikan Nila Hitam (*Oroechormis nilotus*), Ikan Nila Merah (*Oroechormis* sp) dan Ikan Mujair (*Oroechormis mossambica*)". *Skripsi*. FKIP Biologi Universitas Jember.
- Wongsosupantic, S. 1992. *Elektroforesis Gel Protein*. Yogyakarta: PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada.
- Yatim, W. 1996. *Genetika*. Bandung: Tarsito.

Lampiran 1. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami

(-)

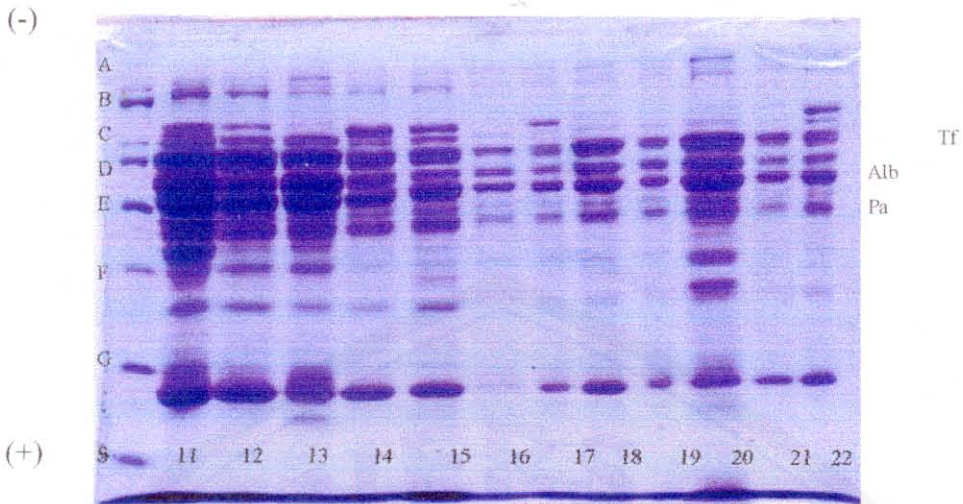


(+)

Gambar 2. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.

Keterangan gambar : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin,
 S= protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

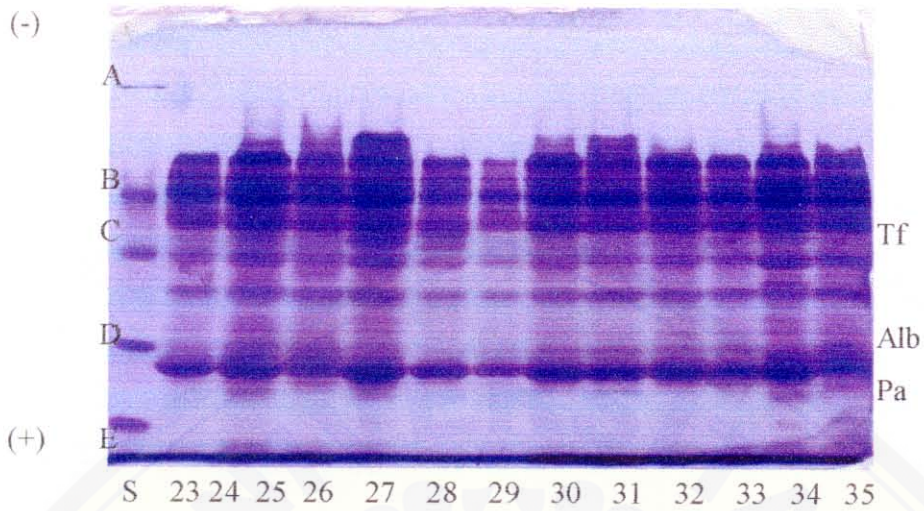
Lampiran 2. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami



Gambar 3. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.

Keterangan gambar : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin,
 S= protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

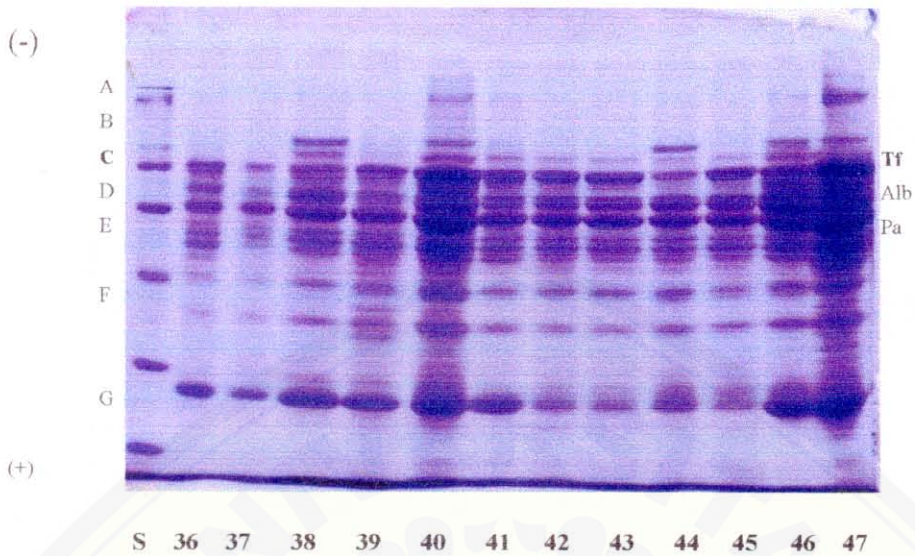
Lampiran 3. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.



Gambar 4. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.

Keterangan gambar : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin,
S = protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA

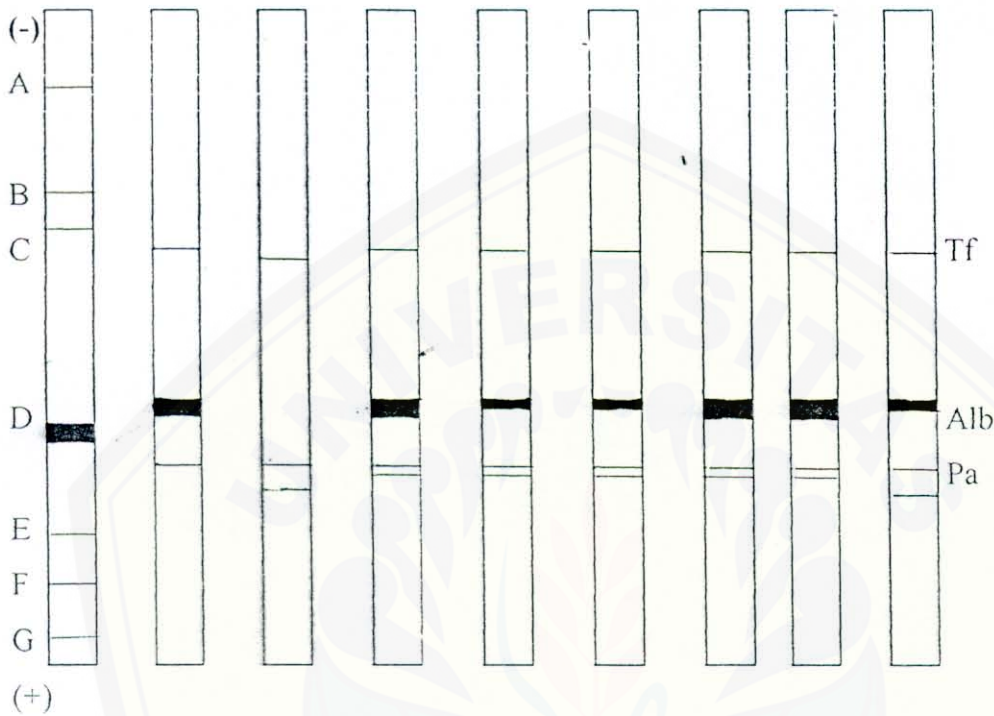
Lampiran 4. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.



Gambar 5. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.

Keterangan gambar : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin,
 S= protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

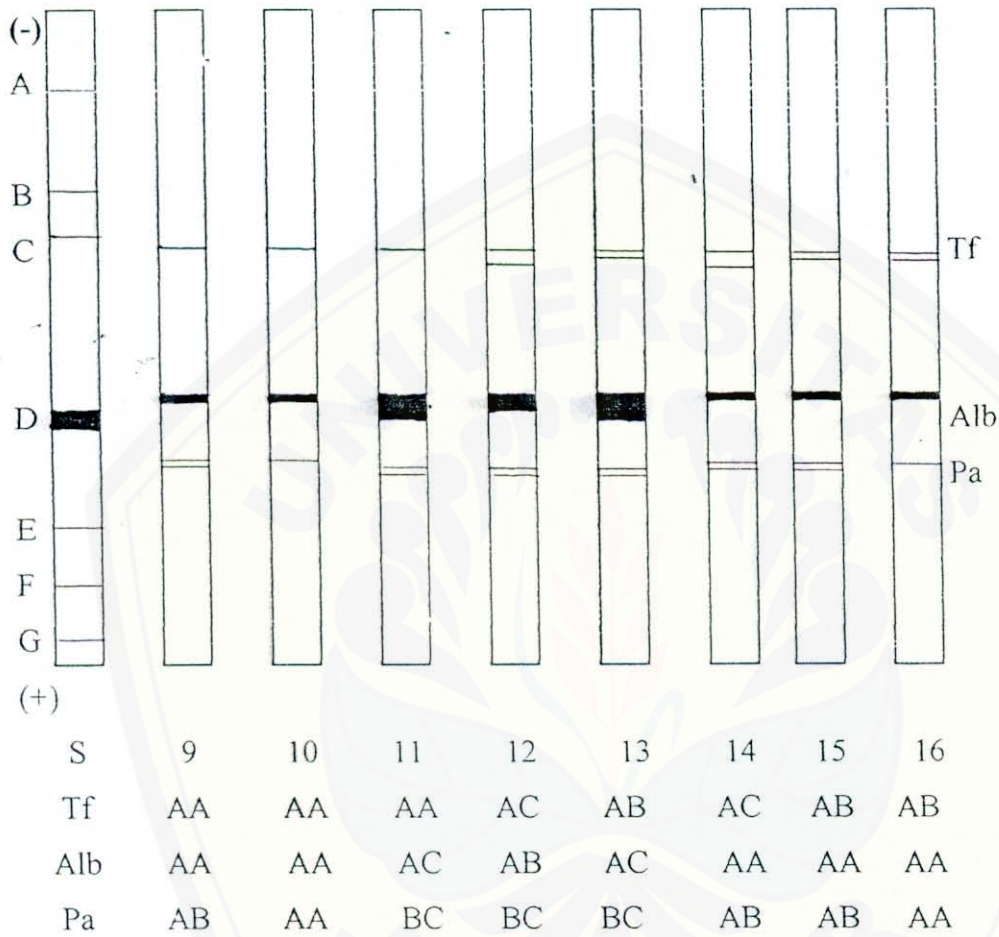
Lampiran 5. Skema pola profil protein plasma darah ikan gurami lokus transferin, albumin dan pre-albumin terlihat pada gambar berikut :



S	1	2	3	4	5	6	7	8
Tf	AA	BB	AA	AA	AA	AA	AA	AA
Alb	AB		AB	AA	AA	AB	AB	AA
Pa	AA	AC	AB	AB	AB	AB	AB	AC

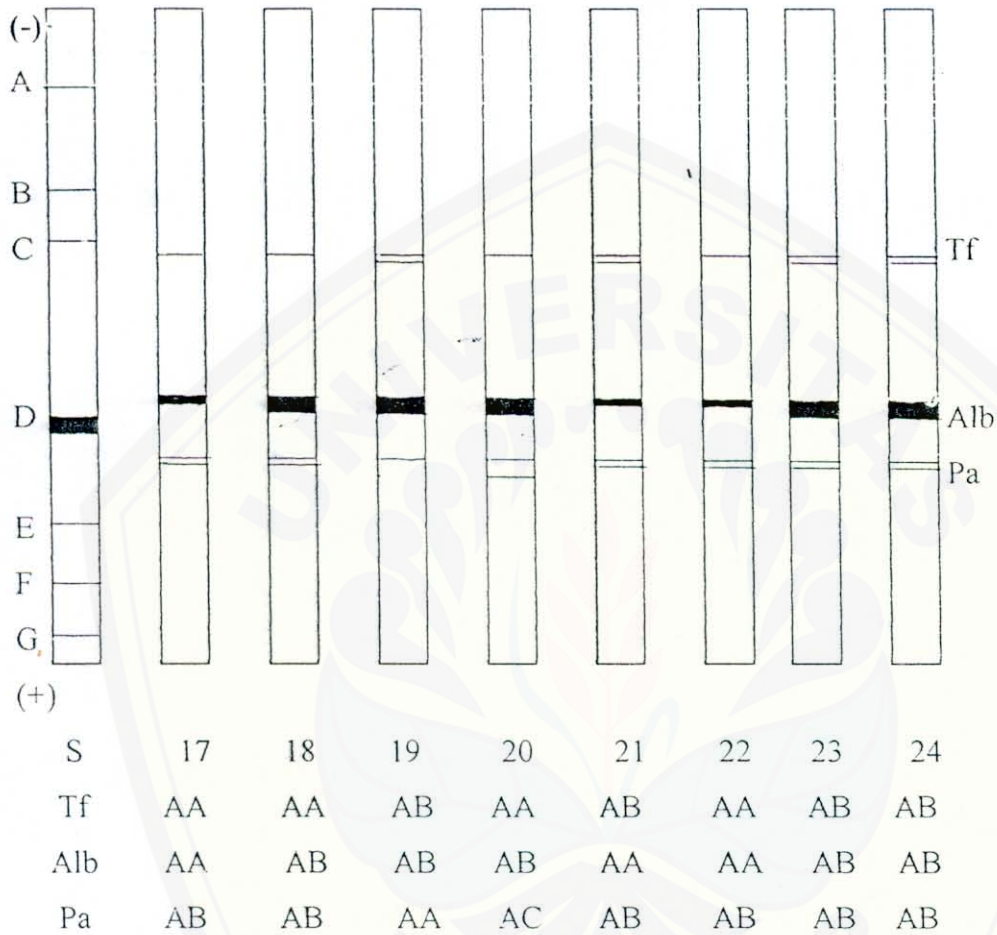
Keterangan : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin, S=protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

Lampiran 6. Skema pola profil protein plasma darah ikan gurami untuk lokus transferin, albumin dan pre-albumin terlihat pada gambar berikut :



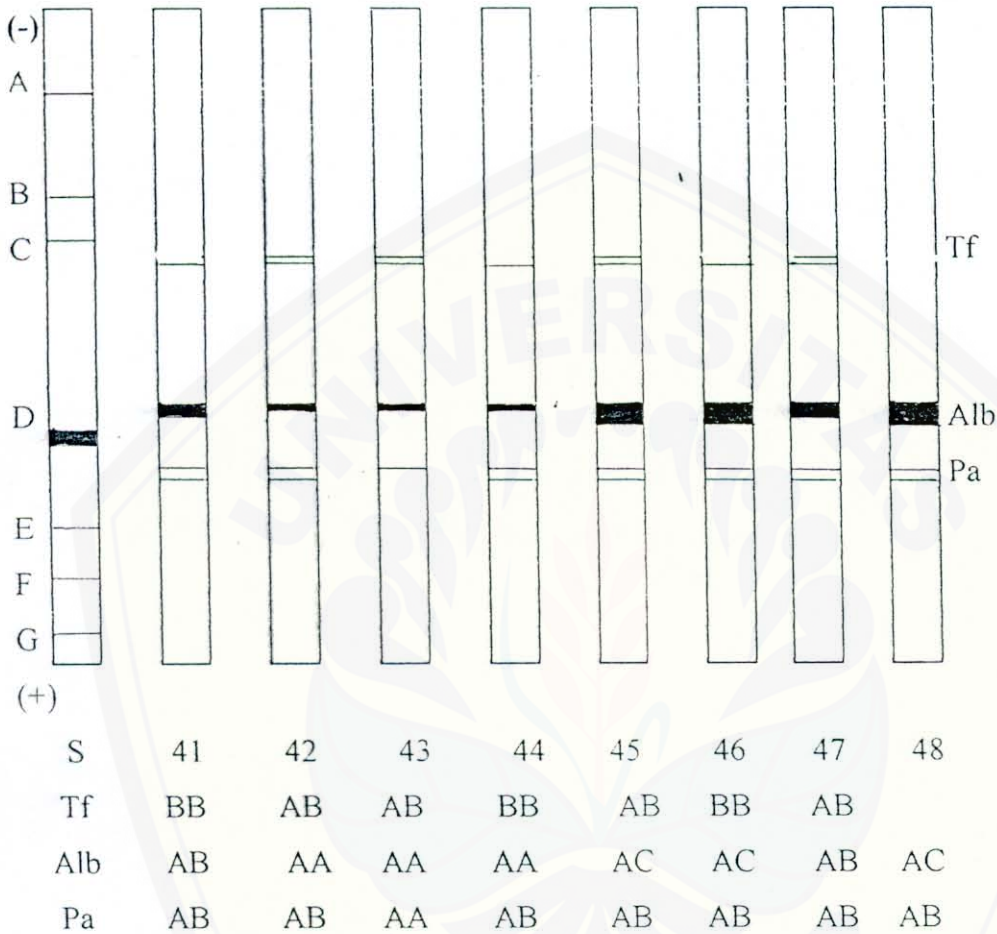
Keterangan : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin, S=protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

Lampiran 7. Skema pola profil protein plasma darah ikan gurami untuk lokus transferin, albumin dan pre-albumin terlihat pada gambar berikut :



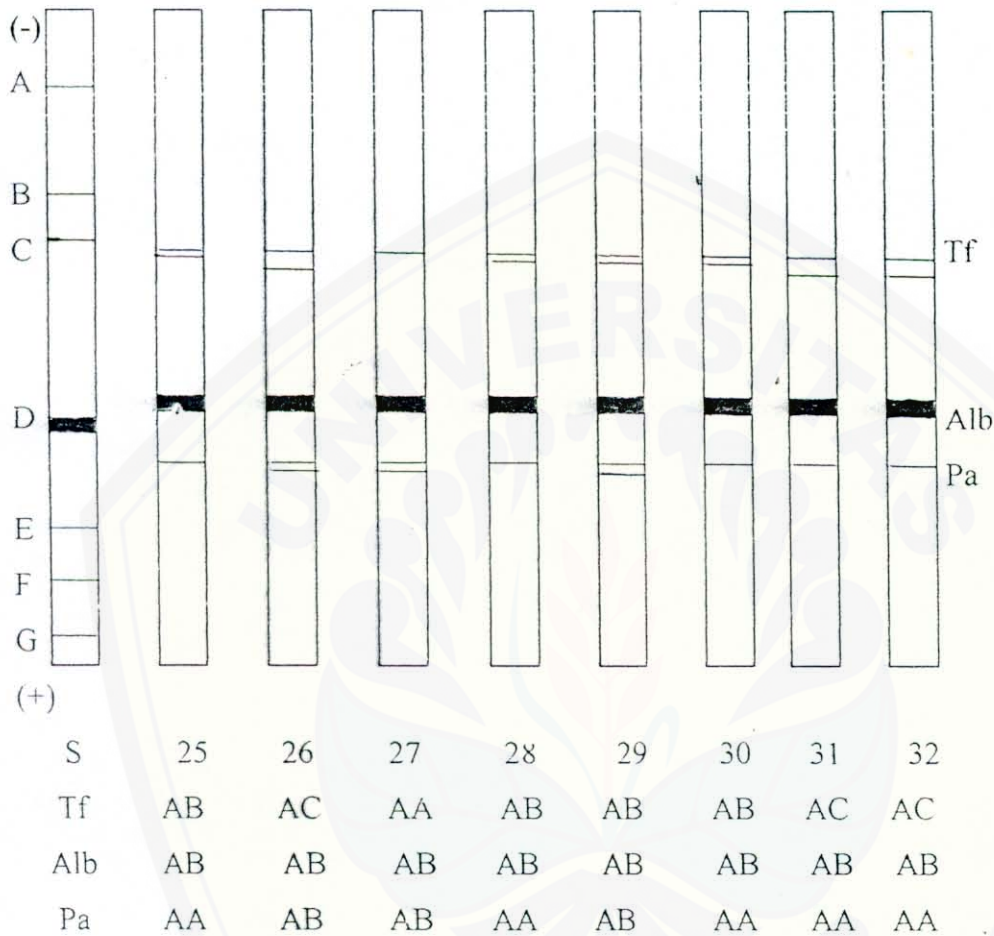
Keterangan : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin, S=protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

Lampiran 9. Skema pola profil protein plasma darah ikan gurami untuk lokus transferin, albumin dan pre-albumin terlihat pada gambar berikut :



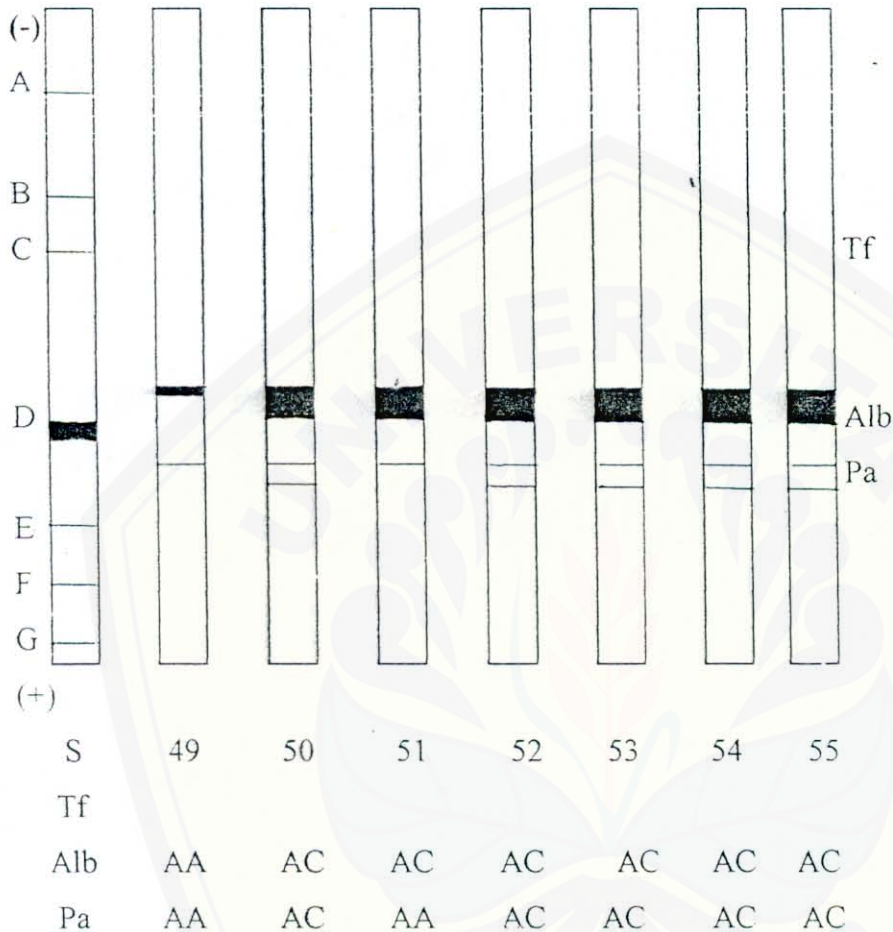
Keterangan : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin, S=protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

Lampiran 8. Skema pola profil protein plasma darah ikan gurami untuk lokus transferin, albumin dan pre-albumin terlihat pada gambar berikut :



Keterangan : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin, S=protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

Lampiran 10. Skema pola profil protein plasma darah ikan gurami untuk lokus transferin, albumin dan pre-albumin terlihat pada gambar berikut :



Keterangan : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin, S=protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116.2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66.2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21.5 kDA.

Lampiran 11. Perhitungan frekuensi genotip dan alel pada lokus transferin, albumin dan pre-albumin pada ikan gurami

a. Lokus Transferin

Genotip	Jumlah
Tf-A/Tf-A	18
Tf-B/Tf-B	6
Tf-C/Tf-C	0
Tf-A/Tf-B	18
Tf-B/Tf-C	0
Tf-A/Tf-C	5

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel A} &= \frac{(18 \times 2) + 23}{2 \times 47} \\ &= 0.63 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel B} &= \frac{(6 \times 2) + 18}{2 \times 47} \\ &= 0.32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel C} &= \frac{0 + 5}{2 \times 47} \\ &= 0.05 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Heterozigositas Tingkat Lokus (H}_L) &= 1 - \sum X_i^2 \\ &= 1 - (0.396 + 0.102 + 0.05) \\ &= 1 - 0.5 \\ &= 0.5 \end{aligned}$$

b. Locus Albumin

Genotip	Jumlah
Alb-A/Alb-A	19
Alb-B/Alb-B	0
Alb-C/Alb-C	0
Alb-A/Alb-B	24
Alb-B/Alb-C	0
Alb-A/Alb-C	11

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel A} &= \frac{(19 \times 2) + 35}{2 \times 54} \\ &= 0.68 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel B} &= \frac{(0 \times 2) + 24}{2 \times 54} \\ &= 0.22 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel C} &= \frac{(0 \times 2) + 11}{2 \times 54} \\ &= 0.10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Heterozigositas Tingkat Locus (H}_L) &= 1 - \sum X_i^2 \\ &= 1 - (0.46 + 0.04 + 0.01) \\ &= 1 - 0.51 \\ &= 0.49 \end{aligned}$$

c. Locus Pre-Albumin

Genotip	Jumlah
Pa-A/Pa-A	14
Pa-B/Pa-B	0
Pa-C/Pa-C	0
Pa-A/Pa-B	30
Pa-B/Pa-C	3
Pa-A/Pa-C	8

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel A} &= \frac{(14 \times 2) + 30}{2 \times 55} \\ &= 0.6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel B} &= \frac{(0 \times 2) + 30}{2 \times 55} \\ &= 0.3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel C} &= \frac{(0 \times 2) + 11}{2 \times 55} \\ &= 0.1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Heterozigositas Tingkat Locus } (H_L) &= 1 - \sum X_i^2 \\ &= 1 - (0.01 + 0.09 + 0.36) \\ &= 1 - 0.46 \\ &= 0.54 \end{aligned}$$

d. Heterozogosis Tingkat Populasi

$$\begin{aligned} H_p &= \sum H_L \\ &= \frac{0.5 + 0.49 + 0.54}{3} = 0.52 \end{aligned}$$

