



**POLIMORFISME PROTEIN PLASMA DARAH
PADA IKAN LELE LOKAL (*Clarias batrachus*)
DAN IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*)**

S K R I P S I



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

| | | |
|--------|--------------------------|-------|
| Asal: | | Klass |
| Oleh : | Terima Tgl : 21 MAR 2002 | 591.1 |
| | No. Induk : 0612 | NUR |
| | KLA'IR / PENYALIN : | 7 |

Titik Nurrohrawati

NIM. 971810401106

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

MARET 2002

MOTTO:

“ Mencari ilmu itu ibadah, mengungkapkannya seperti bertasbih, menyelidikinya seperti berjihad, mengajarkannya seperti bersedekah, memikirkannya seperti berpuasa ”

(Sufi Muslim)

“ Barang siapa menempuh suatu jalan untuk menuntut ilmu pengetahuan , maka Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga “

(H. R. Muslim)

“ Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat “

(Q. S. Al-Mujaadilah: 11)

“ Hanya dengan selalu mengingat Allah hati kita menjadi tenteram”

(Q. S. Ar-Ra'du: 28)

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

- ☒ **Robb Tuhan semesta alam yang Tunggal**
- ☒ **Islam dan Bangsa ku**
- ☒ **Ayah-Bunda ku yang telah mencurahkan segenap kasih – sayangnya.**
- ☒ **Saudara-saudara ku tercinta Mas Djikan-Mbak Nur, Mas Pur-Mbak Datik, Mas wir-Mbak Rum, Mas Suradi-Yunda Asrul, Mas Anto dan kedua adik ku yang manis Ashadi dan Prap; Jazakillah atas do'a dan dukungannya.**
- ☒ **Kedua sdri. ku De' Novie dan Laila, jazakillah atas kenangan manisnya bersama di Jember.**
- ☒ **Sahabat-sahabat terbaikkku di kampus MIPA, jazakillah atas tausyiah, kebersamaan dan keceriaan kita selama ini.**
- ☒ **Kak Mas ku, selamat berjuang kak...! dan,**
- ☒ **Almamater yang saya banggakan**

DEKLARASI

Skripsi ini berisi hasil kerja/penelitian mulai bulan Juli 2001 sampai dengan September 2001 di laboratorium Mikrobiologi-Genetika Jurusan Biologi dan laboratorium Kimia Jurusan Kimia FMIPA UNEJ. 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, Februari 2002

Titik Nurrohrawati



ABSTRAK

Titik Nurrohrawati, 2002, Polimorfisme Protein Plasma Darah pada Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*) dan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*).

Skripsi, jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

DPU: Dra. Rike Oktarianti, M.Si

DPA: Dra. Susantin Fajariah, M.Si

Keberadaan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di Indonesia dikhawatirkan akan menyebabkan terganggunya populasi lele lokal (*Clarias batrachus*) sehingga jumlahnya akan menurun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya polimorfisme protein plasma darah, tingkat heterozigositas dan kesetimbangan genetik pada populasi lele lokal sungai, lele lokal putih dan lele dumbo. Untuk mengamati protein plasma darah ikan lele digunakan teknik elektroforesis dengan gel poliakrilamida sistem vertikal. Hasil analisis elektroforesis menunjukkan lokus transferin, albumin dan pre-albumin terjadi polimorfisme. Lokus transferin Tf^A merupakan alel umum dan Tf^C merupakan alel jarang. Lokus albumin Alb^A merupakan alel umum dan Alb^C merupakan alel jarang. Lokus pre-albumin Pa^A merupakan alel umum dan Pa^B merupakan alel jarang. Heterozigositas (keanekaragaman genetik) pada populasi lele lokal (lele sungai dan lele putih) lebih tinggi, dibandingkan pada lele dumbo. Hasil uji kesetimbangan Hardy-Weinberg lokus albumin pada ketiga populasi menunjukkan adanya kesetimbangan genetik. Lokus transferin pada lele putih dan lele dumbo menunjukkan kesetimbangan genetik sedang pada lele sungai tidak menunjukkan kesetimbangan genetik. Kesetimbangan genetik lokus pre-albumin hanya terjadi pada populasi lele dumbo.

Kata Kunci: polimorfisme, protein, plasma darah, ikan lele lokal (*Clarias batrachus*), ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diterima oleh fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 19 MAR 2002

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji

Ketua

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

Sekretaris

Dra. Susantin Fajariah, M.Si.
NIP. 131 832 306

Anggota 1

Drs. Suratno, Msi
NIP. 131 993 443

Anggota 2

Dr. Hidayat T. Wiyono, MPd
NIP. 131 759 845

Mengesahkan

Dekan FMIPA UNEJ



Ir. Sumadi, M.S.
NIP. 130 368 784

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “ **Polimorfisme Proteim Plasma Darah Pada Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*) dan Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*)** ”.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Dra. Rike Oktarianti, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dra. Susantin Fajariah, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang dengan penuh kesabaran telah membimbing penulis mulai dari penentuan topik sampai dengan bentuk laporan ini.

Banyak pihak yang telah memberi kontribusi dalam penyelesaian tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Penulis ucapkan terima kasih kepada para teknisi yang telah membantu menyiapkan bahan dan peralatan laboratorium. Kepada rekan-rekan seangkatan saya ucapkan terima kasih atas segala bantuannya.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi kontribusi terhadap kemajuan ilmu pengetahuan khususnya bidang ilmu genetika.

Jember, Februari 2002

Penulis,

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN MOTTO..... | ii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN..... | iii |
| HALAMAN DEKLARASI..... | iv |
| HALAMAN ABSTRAK..... | v |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | vi |
| HALAMAN 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 Rumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Manfaat Penelitian..... | 4 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Tinjauan Umum Ikan Lele Lokal (<i>Clarias batrachus</i>) dan Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)..... | 5 |
| 2.2 Polimorfisme Protein Darah..... | 6 |
| III. METODE PENELITIAN..... | 11 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 11 |
| 3.2 Bahan Penelitian..... | 11 |
| 3.3 Alat Penelitian..... | 13 |
| 3.4 Pelaksanaan Penelitian..... | 14 |
| 3.5 Analisis Data..... | 16 |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 18 |
| 4.1 Polimorfisme Protein Plasma Darah pada Populasi Ikan Lele..... | 18 |
| 4.1.1 Transferin..... | 22 |
| 4.1.2 Albumin..... | 24 |
| 4.1.3 Pre-albumin..... | 26 |
| 4.2 Heterozigositas..... | 28 |
| 4.3 Uji Keseimbangan Hardy-Weinberg..... | 30 |

| | |
|-------------------------------|----|
| V. KESIMPULAN DAN SARAN | 32 |
| 5.1 Kesimpulan | 32 |
| 5.2 Saran..... | 32 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 33 |
| LAMPIRAN..... | 36 |



DAFTAR TABEL

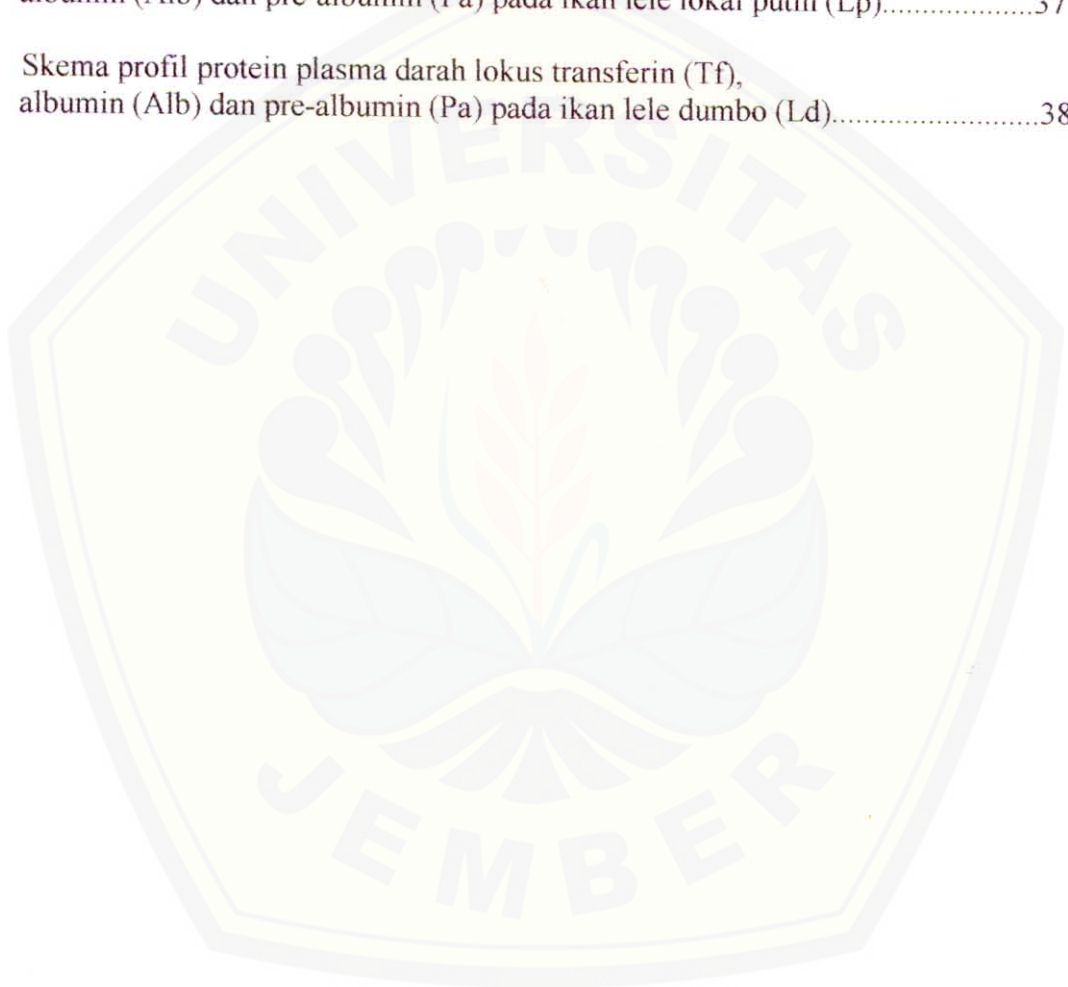
| No | Judul | Halaman |
|-----------|---|----------------|
| 1. | Frekuensi Genotip Lokus Transferin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 23 |
| 2. | Frekuensi Alel Lokus Transferin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 23 |
| 3. | Frekuensi Genotip Lokus Albumin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 25 |
| 4. | Frekuensi Alel Lokus Albumin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 25 |
| 5. | Frekuensi Genotip Lokus Pre-albumin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 27 |
| 6. | Frekuensi Alel Lokus Pre-albumin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 27 |
| 7. | Heterozigositas dan Heterozigositas Populasi Lokus Transferin, Albumin dan Pre-albumin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 28 |
| 8. | Hasil Uji Keseimbangan Hardy-Weinberg Lokus Transferin, Albumin dan Pre-albumin pada Populasi Lele Lokal Sungai, Lele lokal Putih dan Lele Dumbo | 31 |

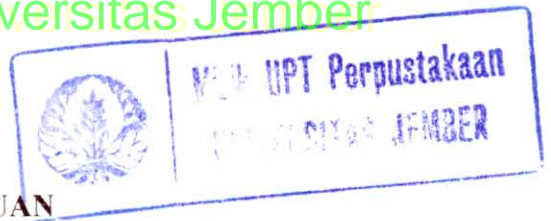
DAFTAR GAMBAR

| No | Judul | Halaman |
|-----------|--|----------------|
| 1. | Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Lele Lokal Sungai | 19 |
| 2. | Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Lele Lokal Putih | 20 |
| 3. | Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Ikan Lele Dumbo | 21 |
| 4. | Skema Profil Protein Plasma Darah pada Ikan Lele lokal Sungai (Ls), Lele Lokal Putih dan Lele Dumbo (Ld) | 22 |

DAFTAR LAMPIRAN

| No. | Judul | Halaman |
|------------|---|----------------|
| 1. | Skema profil protein plasma darah lokus transferin (Tf), albumin (Alb) dan pre-albumin (Pa) pada ikan lele lokal sungai (Ls)..... | 36 |
| 2. | Skema profil protein plasma darah lokus transferin (Tf), albumin (Alb) dan pre-albumin (Pa) pada ikan lele lokal putih (Lp)..... | 37 |
| 3. | Skema profil protein plasma darah lokus transferin (Tf), albumin (Alb) dan pre-albumin (Pa) pada ikan lele dumbo (Ld)..... | 38 |





1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jumlah kekayaan hayati perikanan yang ada di perairan alam tidaklah melimpah ruah begitu saja tetapi banyak sedikitnya tergantung pada berbagai faktor, baik yang berasal dari alam sendiri maupun karena ulah manusia. Untuk melestarikannya diperlukan pengelolaan dengan bijak. Sumberdaya perikanan bersifat dapat diperbarui (*renewable*) namun demikian jika pemanfaatannya tidak dikelola dengan baik maka sumberdaya perikanan tersebut dapat mengalami degradasi karena perikanan merupakan sumber daya yang cukup rentan terhadap adanya perubahan-perubahan lingkungan.

Diketahui bahwa 67% protein hewani yang dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia berasal dari ikan (Hutabarat dan Setwart, 1985). Pemenuhan terhadap kebutuhan protein hewan antara lain dapat diperoleh dari ikan lele sehingga diperlukan pengkajian lebih mendalam mengenai ikan lele. Pengkajian disini terutama dilakukan khusus pada spesies ikan lele yaitu ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) dan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Clarias batrachus* merupakan ikan lele lokal yang ada di Indonesia sedangkan *Clarias gariepinus* merupakan ikan lele hibrida impor dari Taiwan. *Clarias gariepinus* mempunyai sifat unggul dibandingkan ikan lele yang lainnya. Keunggulan itu antara lain mempunyai masa pertumbuhan yang cepat. Keunggulan dari lele dumbo ini menutupi kekurangan pada lele lokal yang lambat perkembangannya. Akan tetapi seiring dengan munculnya strain baru tersebut dapat menyebabkan turunnya populasi ikan lele lokal sehingga dapat menimbulkan permasalahan berupa semakin langkanya keberadaan lele lokal yang nantinya dikhawatirkan punah. Berkurangnya populasi tersebut dapat menyebabkan menurunnya variasi (keanekaragaman) genetik pada lele lokal tersebut. Mengingat lele lokal merupakan salah satu kekayaan hayati perikanan di Indonesia maka untuk mengatasinya diperlukan suatu usaha yang mengarah pada pemulihan populasi. Pemulihan tidak hanya dilakukan dari segi kuantitas tapi juga dari segi

kualitasnya. Untuk usaha tersebut maka diperlukan pengevaluasian terhadap struktur genetisnya. Pengkajian terhadap polimorfisme protein plasma darah pada ikan lele tersebut merupakan salah satu langkah untuk mencapai tujuan ini.

Pengkajian terhadap struktur genetik pada ikan lele, dapat dilakukan dengan telaah terhadap variasi genetisnya sehingga nantinya dapat dilakukan upaya konservasi terhadap genotip tertentu untuk pemanfaatan lebih lanjut. Pengkajian mengenai adanya variasi genetik antara lain dapat dilakukan melalui studi protein dengan cara melihat pada karakteristik genetisnya yaitu melalui kajian kenampakan pola polimorfisme protein darah dengan menggunakan metode elektroforesis (Sofro, 1994). Terdapatnya polimorfisme protein dan enzim pada ikan telah dilaporkan oleh beberapa peneliti (Riandi, 1997; Tuti, 2000; Hadie dkk., 1999; Utter dalam Donald *et al.*, 1999; Atherton dan Altukhov dalam Schroder, 1973). Lokus-lokus protein darah dan enzim yang dilaporkan polimorfik antara lain adalah transferin, pre-albumin, albumin, haemoglobin, *manose-6-phosphate isomerase* (MPI), *phosphoglyserol kinase* (PGK), *phosphogluco mutase* (PGM). Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap lokus transferin, albumin dan pre-albumin.

Terjadinya polimorfisme protein disebabkan adanya perubahan pada sintesis protein. Perubahan tersebut terjadi karena beberapa faktor, antara lain oleh mutasi, seleksi alam dan perkawinan acak. Ketiga faktor tersebut akan menyebabkan terjadinya perubahan susunan genetik suatu populasi. Keberadaan suatu variasi merupakan suatu fenomena umum di dalam kehidupan, hal ini dapat terlihat pada perbedaan fenotip dan genotip molekul protein antar individu dalam suatu populasi. Variasi tersebut justru berguna untuk mempelajari kekerabatan genetik makhluk hidup. Terlepas dari penggunaan variasi genetik untuk mempelajari kekerabatan antar individu suatu populasi, variasi genetik tersebut perlu didokumentasikan secara baik. Dokumentasi semacam ini merupakan suatu hal yang penting untuk konservasi genotip-genotip tertentu yang kelak berguna untuk program penangkaran.

1.2 Rumusan Permasalahan

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah pada populasi ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) dan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) menunjukkan adanya polimorfisme protein plasma darah.
2. Bagaimanakah tingkat heterozigositas pada populasi ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) dan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).
3. Bagaimanakah hasil uji kesetimbangan Hardy-Wainberg pada populasi lele lokal (*Clarias batrachus*) dan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui:

1. Adanya polimorfisme protein plasma darah pada populasi ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) dan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).
2. Tingkat heterozigositas yang terjadi pada populasi lele lokal (*Clarias batrachus*) dan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).
3. Hasil uji kesetimbangan Hardy-Wainberg pada populasi lele lokal (*Clarias batrachus*) dan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk:

1. Kajian informasi genetik pada ikan melalui studi protein plasma darah.
2. Usaha konservasi genotip-genotip tertentu sebagai sumber plasma nutfah di Indonesia yang perlu dijaga keberadaan dan kelestariannya.
3. Untuk mendeteksi karakteristik pola pita protein pada spesies ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) dan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).





II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*) dan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*).

Di alam bebas ikan lele banyak dijumpai hidup di perairan seperti sawah, rawa, sungai sampai kolam-kolam pekarangan. Ikan lele mempunyai kemampuan yang cukup tinggi untuk beradaptasi dengan lingkungannya sehingga mampu mengambil oksigen untuk pernafasan langsung dari udara. Oleh karena itu ikan lele dapat bertahan hidup dalam air yang tidak mengalir dan belumpur. Ikan lele lokal dalam bahasa ilmiahnya disebut *Clarias batrachus* dengan nama perdagangannya *Asian catfish* sedangkan lele dumbo dalam bahasa ilmiahnya disebut *Clarias gariepinus* dengan nama perdagangannya *African catfish* (Soeseno, 1984). Pakan alami ikan lele adalah jasad-jasad renik, baik berupa fitoplankton maupun zooplankton. Berdasarkan pada jenis makanan yang dimakan ikan lele termasuk dalam golongan binatang pemakan segalanya (omnivora) (Sugiharti, 1986). Di Indonesia diduga sistem perkawinan dapat diusahakan sepanjang tahun dengan pemberian atau penggunaan air segar yang cukup (Djarmiko dan Rusdi, 1986).

Ikan lele secara morfologi mempunyai ciri-ciri tubuhnya memanjang, kulitnya licin dan tidak bersisik. Bentuk tubuh bagian depan bulat makin kebelakang pipih, kepalanya besar dan gepeng. Disekitar mulut terdapat empat pasang sungut (barbel). Pada sirip dada, jari-jari sirip pertamanya mengeras dan berbisa yang berfungsi sebagai senjata, pada waktu berada dipermukaan tanah jari-jari tersebut berfungsi sebagai alat gerak. Sirip perut tidak bersatu dengan sirip dubur. Punggung ikan lele berwarna hijau kehitam-hitaman dan bagian perut lebih terang (Djarmiko dan Rusdi, 1986; Soeseno, 1984; Sugiharti, 1986).

Perbedaan yang mencolok antara lele lokal dengan lele dumbo terletak pada ukuran tubuh, warna dan sungutnya. Tubuh lele dumbo cenderung lebih panjang dan gemuk sedangkan lele lokal agak kurus dan pendek. Lele lokal berwarna hijau

tua kehitaman atau hitam merata dengan perut agak keputihan. Ada pula lele lokal yang berwarna putih atau merah pucat dan belang (merah hitam dan putih). Pada lele dumbo bagian kepala berwarna hitam keabuan, pada bagian tengah sampai leher terdapat bercak-bercak agak putih kusam tidak beraturan, perutnya berwarna putih. Sungut lele dumbo cenderung lebih kekar dan panjang dibanding dengan lele lokal (Najiyanti, 1992).

Sistematika dari genus *Clarias* menurut Bleeker yang telah diperbarui dan dilengkapi oleh Sumer *et al* dalam Saanin (1986) adalah sebagai berikut :

| | |
|-------------|--|
| Kingdom | : Animalia |
| Sub-kingdom | : Metazoa |
| Phyllum | : Chordata |
| Sub-phyllum | : Vertebrata |
| Super class | : Pisces |
| Sub-class | : Teleostei |
| Ordo | : Ostariophysii |
| Sub-ordo | : Siliroidea |
| Family | : Clariidea |
| Genus | : <i>Clarias</i> |
| Species | : 1. <i>Clarias batrachus</i> L. 2. <i>Clarias gariepinus</i> |

2.2 Polimorfisme Protein Darah

Protein merupakan kelompok senyawa yang terbesar, terdapat sebagai biomolekul yaitu sekitar 50% berat kering senyawa organik total terdapat dalam sel. Ditinjau dari fungsi biologisnya dikenal ada berbagai kelompok protein, misalnya sebagai enzim, hormon, protein pengangkut dan protein pembangun (Wongsosupantio, 1992) sedangkan menurut Sofro (1990) protein merupakan suatu makromolekul yang tersusun atas satu atau lebih rantai polipeptida yang terbentuk dari serangkaian asam amino. Urutan asam-asam amino ditentukan oleh pasangan pasangan basa yang menyusun molekul DNA. Protein merupakan salah

satu biomolekul yang paling penting karena menentukan proses metabolisme. Lebih lanjut lagi sifat yang diwariskan pada organisme ditentukan oleh molekul protein yang disintesisnya.

Darah mengandung sejumlah besar protein yang masing-masing memiliki fungsi yang spesifik (Wuryastuti, 1991). Sebagai salah satu jaringan tubuh, darah menunjukkan keunikan yang tidak dimiliki oleh jaringan tubuh yang lain. Darah bersifat cair dan beredar dalam suatu pembuluh tertutup yang menjangkau seluruh bagian tubuh individu (Sofro, 1991). Menurut Alvin (1974) darah terdiri atas 45% sel-sel darah yaitu sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan sel pembekuan darah (trombosit) dan 55% terdiri atas plasma darah. Dalam plasma darah terkandung bermacam zat yang memiliki fungsi yang kompleks dan berisi ratusan substansi yang berbeda-beda yaitu meliputi 90-92% air dan 7-8% protein, karbohidrat, lipid, hormon, enzim, antibodi dan lain-lain. Protein-protein plasma tersebut dapat dipisahkan menjadi tiga kelompok utama yaitu albumin, globulin dan fibrinogen. Menurut (Sofro, 1991) ditinjau dari sudut genetika biokimia, banyaknya molekul protein yang dijumpai dalam darah baik dalam komponen cair maupun komponen padatnya merupakan pengejawantahan ekspresi gena yang ada dalam organisme yang bersangkutan, artinya kelainan yang menyangkut gena sebagai penyimpan dan pelindung sifat keturunan dapat dengan mudah diamati dan dideteksi melalui pemeriksaan dengan menggunakan darah.

Menurut *Villee et al.* (1988) gen mempunyai sifat yang sangat stabil dan diteruskan pada generasi berikutnya dengan sangat tepat tetapi struktur gen tersebut ternyata dapat mengalami perubahan yang disebut mutasi. Suatu mutasi menurut Sofro (1994) didefinisikan sebagai suatu bias perubahan yang menurun yang tidak disebabkan oleh regenerasi atau rekombinasi normal dari materi genetik yang tidak berubah. Mutasi menyebabkan keanekaragaman materi genetik yang menjadi ciri sebagian besar organisme. Pada hakekatnya mutasi merupakan asal muasal dari semua variasi genetik. Menurut Stern (1949) dan Lawrence (1964) munculnya suatu alel baru akibat mutasi menyebabkan perubahan frekuensi gena-gena yang telah ada sebelumnya. Hal ini akan

berpengaruh terhadap pembentukan atau sintesis protein sehingga menyebabkan terjadinya polimorfisme pada protein. Menurut Ismadi dkk (1993) akibat langsung mutasi gen adalah perubahan kualitas dan kuantitas protein-protein khusus, karena gen-gen tertentu mencirikan urutan asam amino pada protein dan gen-gen lainnya mengendalikan kecepatan sintesis protein. Perubahan itu mungkin dapat mempengaruhi fenotip suatu organisme sehingga dapat dipantau dengan melihat perubahan dalam individu terhadap lingkungan tertentu. Menurut Kimura (*dalam* Friedrich dan Motulsky, 1979) menyatakan bahwa variasi genetik dapat terjadi karena adanya perubahan urutan sejumlah nukleotida DNA dan menurut Warwick dkk. (1990) pola protein yang berbeda-beda menunjukkan variasi fenotip yang mewakili genotip individu dan akan menghasilkan perbedaan distribusi frekuensi gen pada suatu populasi.

Variasi genetik dapat dianalisis dengan berbagai teknik laboratorium. Salah satu teknik yang paling luas digunakan untuk kepentingan semacam ini adalah elektroforesis protein atau enzim (Sofro, 1994). Menurut Jenkins (1992) elektroforesis merupakan metode pemisahan suatu protein. Prinsip dasar bekerjanya adalah adanya perbedaan kecepatan gerak partikel-partikel bermuatan bila terdapat dalam suatu medan listrik. Teknik elektroforesis tersebut dapat dipergunakan untuk menentukan polimorfisme protein berdasarkan pada mobilitas molekul di dalam suatu medan listrik. Mobilitas molekul tersebut ditentukan oleh ukuran, bentuk, besar muatan dan tempat kimia molekul. Menurut Peter (1994) jika dua individu mempunyai genotip yang berbeda pada suatu lokus maka akan dihasilkan perbedaan pada bentuk molekul protein. Perbedaan tersebut dapat dipisahkan dan diidentifikasi menggunakan teknik elektroforesis. Sedang menurut Haris dan Hopkinsin (*dalam* Haris, 1994), metode elektroforesis merupakan suatu teknik yang dapat menemukan perubahan dalam struktur molekul yang benar-benar tidak terlihat asalkan perubahan ini mengakibatkan perubahan muatan listrik molekul. Alel dengan berat molekul yang berbeda akan menunjukkan mobilitas yang berbeda dari katoda ke anoda. pada proses elektroforesis akan menghasilkan gambaran peta genotip yang berbeda. Adanya

perbedaan asam amino penyusun molekul protein menyebabkan perbedaan besar muatan dan kecepatan gerak pada suatu medan listrik sehingga tergambar sebagai pita protein dengan pola tertentu (Leary dan Booke *dalam* Lestari dkk., 1998).

Suatu populasi yang anggota-anggotanya memiliki dua atau lebih fenotip protein yang dikode oleh dua alel atau lebih pada suatu lokus gen tertentu dikenal dengan istilah polimorfisme dan apabila frekuensi alel terbanyak tidak lebih dari 99% atau 0,99 maka lokus tersebut disebut lokus polimorfik (Gaur dan Hsiungly, 1991; Harris, 1994; Smith, 1998). Beberapa protein yang mengalami polimorfisme adalah :

1. Albumin

Albumin adalah protein yang dapat larut dalam air serta dapat terkoagulasi oleh panas (Poedjiati, 1994). Albumin mempunyai porsi terbesar dari total protein dalam plasma darah, merupakan protein utama yang dihasilkan oleh hati, berperan penting dalam pengikatan dan transport berbagai zat didalam darah serta bertanggung jawab pada sekitar 80% dari tekanan osmotik potensial dari plasma darah (Frandsen *dalam* Mu'in, 1996). Albumin mempunyai berat molekul sekitar 69 kDA (Sofro, 1992) dan menurut Holme dan Hazel (1998) berat molekul albumin adalah 68 kDA secara elektroforesis albumin mempunyai laju migrasi tercepat kemudian diikuti berbagai globulin (Smithies dan Putnam *dalam* Mu'in, 1996). Polimorfisme lokus albumin pada lele telah ditemukan dengan menggunakan elektroforesis gel poliakrilamid. Lokus albumin tersebut terdiri dari 2 alel, yaitu alel Alb^A dan Alb^B. (Riandi, 1997).

2. Pre-albumin

Pre-albumin (Pa) mempunyai berat molekul 55 kDA Pa berperan dalam pengangkutan hormon tiroksin dan vitamin A. Dalam analisis elektroforesis protein, Pa bermigrasi di depan protein albumin (Putnam *dalam* Mu'in, 1996).

3. Transferin

Transferin merupakan glikoprotein plasma yang berperan dalam pengangkutan zat besi ke sumsum tulang (Schroder, 1973). Transferin merupakan molekul protein majemuk yang mengandung 6% hidrat arang dan termasuk dalam

fraksi globulin- β serum. Transferin mempunyai berat molekul 76 kDA – 80 kDA (Sofro, 1994) dan menurut Kaim dan Schawederski (1994) transferin mempunyai berat molekul sekitar 77 kDA. Polimorfisme lokus albumin pada lele telah ditemukan dengan menggunakan elektroforesis gel poliakrilamid. Lokus transferin tersebut terdiri dari 3 alel, yaitu alel Tf^A, Tf^B dan Tf^C (Riandi, 1997).

Terdapatnya polimorfisme protein darah pada ikan telah dilaporkan oleh beberapa peneliti, antara lain yaitu terjadi pada sekelompok ikan air tawar diketahui mempunyai jumlah lokus protein yang polimorfismenya sebesar 30%. Polimorfisme terjadi pada lokus albumin, transferin dan haemoglobin (Wright, Atherton dalam Schroder, 1973). Pada genus *Astyanax* (*Caracidae*), lokus protein yang polimorfik sebesar 29-41%. Polimorfisme terjadi pada lokus albumin dan haptoglobins pada ikan herring sebesar 45% (Altukhov dalam Schroder, 1973). Terjadinya polimorfisme selain pada protein juga terjadi pada lokus enzim, antara lain yaitu pada ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) pada lokus *isositrat dehidrogenase* (IDH), *adenilat kinase* (AK) dan *esterase D* (Es-D) (Riandi, 1997). Pada ikan salem terjadi polimorfik sebesar 11-18%, yaitu pada lokus enzim *mannose-6-phosphate isomerase* (MPI) dan *phosphoglycerol kinase* (PGK) (Utter dalam Donald *et al*, 1999). Tuti (2000) menyatakan bahwa pada ikan *Galaxias olidus* (*Salmoniformes: Galaxidae*) juga mengalami polimorfisme yaitu pada lokus *malate dehidrogenase* (mdh), *glycerol-3-phosphate dehydrogenase-1* dan *glycerol-3-phosphate dehydrogenase-2* (Gpdh-1 dan Gpdh-2) dan menurut Hadie dkk., (1999) enzim pada *Clarias batrachus* juga mengalami polimorfisme, yaitu pada lokus *phosphogluco mutase* (PGM), *alkohol dehydrogenase* (ADH) dan *sarcoplasmic protein* (SP).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus hingga Oktober 2001 di laboratorium mikrobiologi dan genetika, jurusan Biologi dan di laboratorium Kimia Dasar, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Bahan utama

Bahan utama dalam penelitian ini adalah ikan lele lokal yang diambil dari sungai di Rambipuji, Kaliwining dan Kencong. Ikan lele lokal hasil budidaya (Lele putih), diambil dari kolam di daerah Balung. Ikan lele dumbo diambil dari kolam di daerah Kepatihan. Semua sampel ikan tersebut diambil dari daerah yang ada di kabupaten Jember dan masing-masing jenis ikan lele sebanyak 14 ekor.

2. Bahan kimia

a. untuk proses pengambilan sample darah : EDTA (Etylenen Diamine Tetra Acetic).

b. untuk analisis profil protein darah :

Gel: acrylamide (sigma, USA), *NN'*-methylenen-bis-acrilamide (biorad laboratories), *tris* (*hidroxymethyl*)-amino-methane (merck, laboratories), APS (*Amonium Persulfat*), SDS atau *sodium dodecyl sulphate* (BDH limitd poole, England), *glycin* (Merck, Germany), TEMED atau *N,N,N',N'*-tetra-methillene diamine (Bio Rad laboratories), *glycerin* (Merck, Germany), mercaptoetanol 2-b (Merck, germany), HCl atau *hyddrochloric acid* (Merck, Germany).

Pewarnaan, pencucian dan penyimpanan gel: *bromophenol blue* (Merck, Germany), *coomassioe brilliant blue R-250* (BDH Chemicals Ltd, England), TCA atau *trichloro acetic acid* (Merck, Germany), metanol (Merck, Germany), AAG atau *acetic acid glaciale* (Merck, Germany).

3. larutan kimia untuk deteksi visualisasi pola polimorfisme protein darah pada gel elektroforesis.

Penyiapan larutan untuk deteksi dan visualisasi pola protein darah yang mengekspresikan polimorfisme berdasarkan metode Chung (1987) dan Wongsosupantio (1991) yang dimodifikasi.

- a. larutan stok akrilamida/bis (30% T; 2,6%C) terbuat dari campuran *acrylamide* 29,2 g dan 0,8 g *N'N'-bis-methylene-acrylamide* dilarutkan kedalam akuabides hingga volume 100 ml kemudian disimpan dalam botol warna gelap (coklat) suhu 4⁰C.
- b. Larutan buffer gel pemisah (*running gel*) Tris-HCl 1,5 M pH 8,8 dibuat dari campuran *tris (hidroximethyl)-amino methana* 18,15 g dilarutkan ke dalam 60 ml akuabides, ditambah HCl 1 N sampai pH 8,8 dan akuabides sampai volumenya 100 ml selanjutnya disimpan pada suhu 4⁰ C
- c. Larutan buffer gel penggertak (*stacking gel*) tris-HCl 0,5 M pH 6,8 dibuat dari campuran *tris-(hydroxymethyl)-amino methane* 6 g dilarutkan ke dalam 60 ml akuabides, ditambah HCl 1 N sampai pH 6,8 dan akuabides sampai volume 100 ml kemudian disimpan pada suhu 4⁰ C.
- d. Larutan *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) (10%, w/v) terbuat dari campuran SDS 10 g dilarutkan kedalam akuabides sampai volume 100 ml.
- e. *Amonium Persulphate* (APS) (10%, w/v). Larutan APS ini setiap proses running harus dalam kondisi baru (fresh) oleh karena itu setiap proses running disiapkan 0,1 g APS yang dilarutkan dalam akuabides sampai volume 1 ml.

- f. Larutan buffer elektroda (Tris-glisin) pH 8,3 dibuat dari campuran *tris (hydroxymethyl)-amino methane* 15 g, *glysin* 72 g dan SDS 5 g dilarutkan dalam akuabides sampai volumenya 1 liter. Selanjutnya disimpan pada suhu 4^o C. Larutan tersebut apabila akan digunakan diencerkan terlebih dahulu dengan perbandingan 1 bagian larutan buffer elektroda dengan 4 bagian akuabides.
- g. Larutan buffer sampel (Tris-HCl) pH 6,8 terbuat dari campuran tris-HCl 0,5 M pH 6,8 sebanyak 1 ml dicampur dengan *glycerin* 0,8 ml; SDS (10%, w/v) 1,6 ml; 2-b-*mercaptoetanol* 0,4 ml dan 0,2 ml *bromophenol blue* (0,05%, w/v) ditambah 4 ml akuabides hingga volume akhirnya 8 ml. Larutan buffer sampel ini selanjutnya disimpan pada kondisi beku.
- h. Larutan pewarna *coomassie brilliant blue*, terbuat dari campuran *coomassie brilliant blue* R-250 1,2 g, dilarutkan dalam 500 ml metanol kemudian ditambah 200 ml asam asetat glasial dan 500 ml akuabides. Larutan tersebut disimpan dalam botol warna gelap pada suhu kamar.
- i. Larutan pencuci, terbuat dari 300 ml metanol, 100 ml asam asetat glasial 100% ditambah akuabides sampai volume 1 liter. Larutan tersebut disimpan dalam botol warna gelap pada suhu kamar.
- j. Larutan penyimpanan gel, terbuat dari asam asetat glasial 100% sebanyak 5 ml dilarutkan dalam 100 ml akuabides selanjutnya disimpan dalam botol gelap pada suhu kamar.

3.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk mengamati profile protein plasma darah adalah: Eppendorf 1,5 ml, mikropipet (socorex, Swiss), *yellow tip*, *blue tip*, freezer (sanyo, SCF 4 N), *sentrifuge* (sigma 3 K 12), timbangan analitik (Sartorius), pH meter (TOA model HSM-10), *magnetic stirrer* dan perlengkapannya, botol Duran (scott, Jerman), *shaker* (RIKO RS-12TE), seperangkat alat elektroforesis sistem vertikal (Mini Protean II dual Slab Cell, Bio-Rad).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Deteksi dan visualisasi protein darah ikan lele dengan poliakrilamida gel elektroforesis sistem vertikal.

a. Pengambilan sampel darah

Ikan lele dipotong lehernya kemudian darahnya diambil menggunakan mikropipet sebanyak 1 ml. Darah dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf 1,5 ml yang berisi EDTA (kurang lebih 1,5 mg per 1 ml darah). Tabung Eppendorf tersebut selanjutnya ditutup dan digoyang perlahan-lahan agar darah bercampur dengan EDTA.

b. Penyiapan plasma darah

Sampel darah lele disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan antara plasma darah dengan sel darah kemudian plasma darah yang terbentuk dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf dan disimpan dalam *freezer* dengan suhu -20° C sampai dilakukan elektroforesis.

c. Penyiapan gel poliakrilamide untuk elektroforesis

1). Perakitan alat untuk pembuatan gel (Mini Protean Bio-Rad) yang terdiri atas dua keping kaca digabung diantara plastik *spacer* yang diletakkan di kiri dan kanan kemudian dijepit kuat.

2). Pembuatan gel pemisah (*running gel*) (0,375 M Tris, pH 8,8)

Gel pemisah yang digunakan adalah akrilamid 12%. Cara membuatnya yaitu dengan mencampurkan 4,0 ml larutan akrilamid-bis (30%T; 2,6% C); 3,35 ml akuabides; 2,50 ml buffer Tris-HCl 1,5 M, pH 8,8; 100 μ l larutan APS (10%) dan 5 μ l TEMED. Larutan gel pemisah yang telah dibuat tersebut kemudian dimasukkan ke dalam rakitan (no.1) dengan menyisakan ruang untuk gel penggertak (kurang lebih 2 cm). Larutan isobutanol ditambahkan di atas gel bertujuan untuk meratakan permukaan gel dan mencegah terbentuknya gelembung udara. Larutan isobutanol dibiarkan sampai gel memadat.

3). Pembuatan gel penggertak (*stacking gel*) (0,125 M Tris, pH 6,8)

Gel penggertak yang digunakan adalah akrilamid 3%. Cara membuatnya adalah dengan cara mencampurkan 0,5 ml larutan akrilamid-bis (30%T; 2,6% C); 3,2 ml akuabides; 1,25 ml larutan buffer Tris-HCl 0,5 M pH 6,8; 50 μ l larutan SDS (10%, w/v); 25 μ l APS (10%) dan 5 μ l TEMED. Larutan gel penggertak tersebut dimasukkan ke dalam ruang di antara dua keping kaca di atas gel pemisah yang telah memadat dan dicegah terbentuknya gelembung udara. Apabila gel penggertak telah memadat sisir gel dilepas.

4). Keping kaca yang telah berisi gel pemisah dan penggertak yang telah memadat dipasang keholder selanjutnya dimasukkan ke dalam bejana alat elektroforesis dan diisi buffer elektroda sampai merendam alur gel (well).

d. Pemuatan (*loading*)

Plasma darah yang sudah diencerkan dengan 5X pengenceran (5 μ l sampel dan 25 μ l akuabides) diambil sebanyak 5 μ l dicampur dengan 20 μ l larutan buffer sampel, dipanaskan pada suhu 95⁰ C selama 5 menit. Sebanyak 10 μ l campuran tersebut ditetaskan dalam alur gel (well). Protein standar dimasukkan kedalam alur gel (well) sebanyak 5 μ l disisi paling kanan sedangkan plasma darah dimasukkan kedalam alur gel yang lain.

e. Pelaksanaan elektroforesis yang telah berisi gel dan *running buffer* dialiri arus listrik 120 mA tegangan 100 v dari *power supply* sampai warna penanda mencapai dasar gel.

f. Pewarnaan gel

Gel dikeluarkan dari apitan kaca, *stacking gel* dipisahkan kemudian *running gel* direndam dalam pewarnaan yang sebelumnya diberi penanda pada salah satu ujungnya. Proses pewarnaan gel berlangsung selama semalam dengan diinkubasikan di atas *shaker*.

g. Pencucian dan penyimpanan gel •

Proses pencucian gel dilakukan dengan cara menuangkan larutan pencuci ke dalam suatu tempat yang berisi gel yang telah diwarnai. Selanjutnya digoyang dalam *shaker* selama setengah jam. Proses pencucian dapat diulang sampai pola pita protein tampak jelas. Gel hasil pencucian ini dapat langsung difoto atau dapat disimpan dahulu dalam larutan asam asetat 5% kemudian gel dikeringkan dalam apitan kertas kaca.

3.5 Analisis Data

Identifikasi pita protein darah yang tampak pada gel dilakukan dengan menghitung berat molekul berdasarkan mobilitas relatif (Rf) diukur dengan marker yang sudah diketahui berat molekulnya (Chung, 1987).

Data karakteristik fenotip lokus protein ditabulasikan, kemudian dilakukan penghitungan frekuensi genotip, frekuensi alel, heterozigositas dan uji keseimbangan Hardy-Weinberg (X^2). Menurut Ferguson (1980), Penghitungan frekuensi alel dan heterozigositas dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Frekuensi alel:

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

dimana; H_o = jumlah alel yang homozigot

H_e = jumlah alel heterozigot

N = jumlah individu

Heterozigositas:

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

Dimana; H_I = heterozigositas per lokus

X_i = frekuensi alel ke-i

Untuk uji keseimbangan Hardy-Weinberg menurut Anna (1987) adalah sebagai berikut :

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

dimana; O = jumlah fenotip lokus yang diobservasi

E = jumlah fenotip lokus yang diharapkan





V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian sebagaimana diuraikan diatas, dapat diambil kesimpulan sebagaimana berikut:

1. Lokus transferin, albumin dan pre-albumin pada plasma darah ikan lele lokal (*Clarias batrachus*) dan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) menunjukkan sifat polimorfik
2. Populasi lele lokal (*Clarias batrachus*) mempunyai tingkat heterozigositas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan populasi lele dombo (*Clarias gariepinus*).
3. Hasil uji keseimbangan Hardy-Weinberg lokus albumin pada ketiga populasi menunjukkan adanya kesetimbangan genetik. Lokus transferin pada populasi lele lokal putih dan lele dumbo menunjukkan adanya kesetimbangan genetik sedang pada lele sungai tidak menunjukkan kesetimbangan genetik. Kesetimbangan genetik pada lokus pre-albumin hanya terjadi pada populasi lele dumbo.

5.2 Saran

Untuk mendapatkan gambaran karakteristik genotip yang lebih lengkap, perlu diadakan pengamatan lebih lanjut terhadap lokus-lokus protein yang lainnya. Sampel populasi ditambah jumlahnya dan diambil dari lebih banyak lokasi.

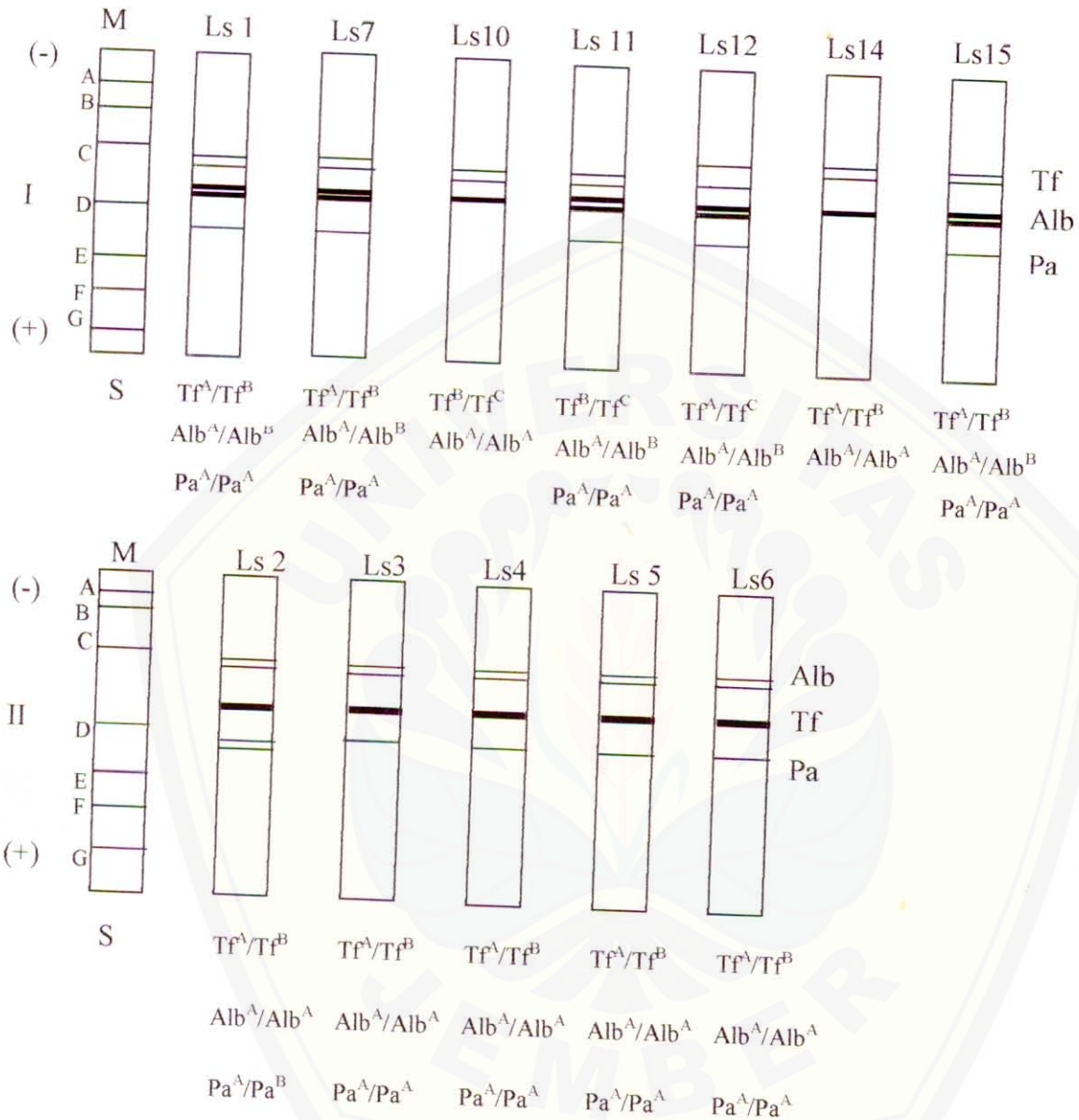
DAFTAR PUSTAKA

- Alvin, S. 1974. *The Biological Science*. Sanfrancisco: Rinehart Press/Holt.Rinehart Winstone. p 275-279.
- Anna, C. P. 1987. *Dasar-Dasar Genetika*. Jakarta: Erlangga. p 413-415.
- Chung, M. C. M. 1987. *Polyacrylamide Gel Electrophoresis*. United States of America: inc. Genes and Protein a Laboratory Manual Selected Techniques in Molekular Biology. p 101-109.
- Crowder, L. V. 1993. *Genetika Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. P 372-399.
- Djarmiko, H dan Rusdi, T. 1986. *Lele: Budidaya, Hasil Olah dan Analisa Usaha*. Jakarta: CV Simpleks. p 2-5.
- Dobzhansky, T., Dunn. L. C and Sinnott. E. W. 1958. *Principles of Genetics*. Fifth Editions. Tokyo: Kogakusha Company LTD. P 244-245.
- Donald, M., V. Doormik., G. A. Winans and David J.T. 1999. Allozyme Studies of Pacific Salmonids With Nonlethal Sampling of Fin Tissue. *Journal of Fisheries Management*. Vol. 19. p 686-688.
- Eldon, D. E and Frederick. C. R. 1997. *Concepts in Biology*. Eight Edition. London: Wm. C. Brown Publisher. P 177-179.
- Ferguson, A. 1980. *Biochemical Systematics ann Evolution*. London: Lecturer in Zoology The Queens University of Belfast. P162-164.
- Friederich, V and Motulsky. A. G. 1979. *Human Genetics*. Second Edition. Germany: APPL. Wending. P 435-523.
- Graur, S. A and Hsiungli. W. 1991. *Fundamentals of Moleculer Evolution*. USA: Inc. Publisher Sunderland. p 35-36.
- Hadie, L. E., Hadie. W., Sudarto dan Sutyarso. Keanekaragaman Genetik Antara Populasi Ikan Lele (*Clarias batrachus*). Di Sungai Musi dan Bengawan Solo. *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol.5 No.17. p 33-43.
- Harris, H. 1994. *Dasar-Dasar Genetika Biokimia Manusia*. Edisi Ke-3. Yogyakarta: Gadjah Mada Universitas Press. p 459.
- Holme, D. J. and Hazel. P. 1998. *Analitical Biochemistry*. Third Edition. Singapore: longman Singapore Publisher. p 58-60.

- Hutabarat, S dan Stewart. M. E., 1985. *Pengantar Oseanografi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. p 13.
- Ismadi, H. M. Siti. D. I dan Sri. R.A. 1993. *Kesalahan Metabolisme Bawaan*. Yogyakarta: PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. p 1-2.
- Jenskins, J. B. 1990. *Human Genetics*. Second Edition. New York: Harper Collins Publisher, inc. p 454-455.
- Kaim, W. And Schawedenski. B. 1994. *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of life*. Singapore: Wiley. p 162-163.
- Lawrencee, S. D. 1964. *The Principles of Life Science*. New York: The Macmillan Company. p 481-482.
- Lestari, Maria. A. dan Dinar. T.S. 1998. Pengkajian Polimorfisme Protein Darah Pada Ayam Kampung dan Ayam Ras. *Buletin Peternakan*. Vol.22: P 111-112.
- Mu'in, M. A. 1996. Hubungan Filogenetik Lima Macam Ayam Lokal Indonesia. *Tesis*. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada: Tidak dipublikasikan. p 5-13.
- Najiyanti, S. 1992. *Memelihara Ikan Lele Dumbo di Kolam Taman*. Jakarta: Penebar Swaday. P 1-5.
- Peter, J. R. 1994. *Fundamentals of Genetics*. New York: Herper Colins College Publishers. P 498-499.
- Poedjiati, A. 1994. *Dasa-Dasar Biokimia*. Jakarta: University Indonesia Press. P 114-115.
- Riandi. 1997. *Variabilitas Genetik Ikan Lele (Clarias batrachus L.) Berdasarkan Pengamatan Protein dan enzim*. *Tesis*. Program Pacsa Sarjana Universitas Gadjah Mada: Tidak dipublikasikan. p. 40-50.
- Saanin, H. 1968. *Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan*. Bandung: Binatjipta. p 88-215.
- Schroder, J. H. 1973. *Genetics and Mutagenesis of Fish*. Germany: by Springer-Verlag Berlin. p 223-225.
- Smith, J. M. 1998. *Evolutionary Genetics*. Second edition. Oxford University. p 50-51.
- Soeseno. 1984. *Dasar-Dasar Perikanan Umum*. Jakarta: CV Yasaguna. p 1-7.

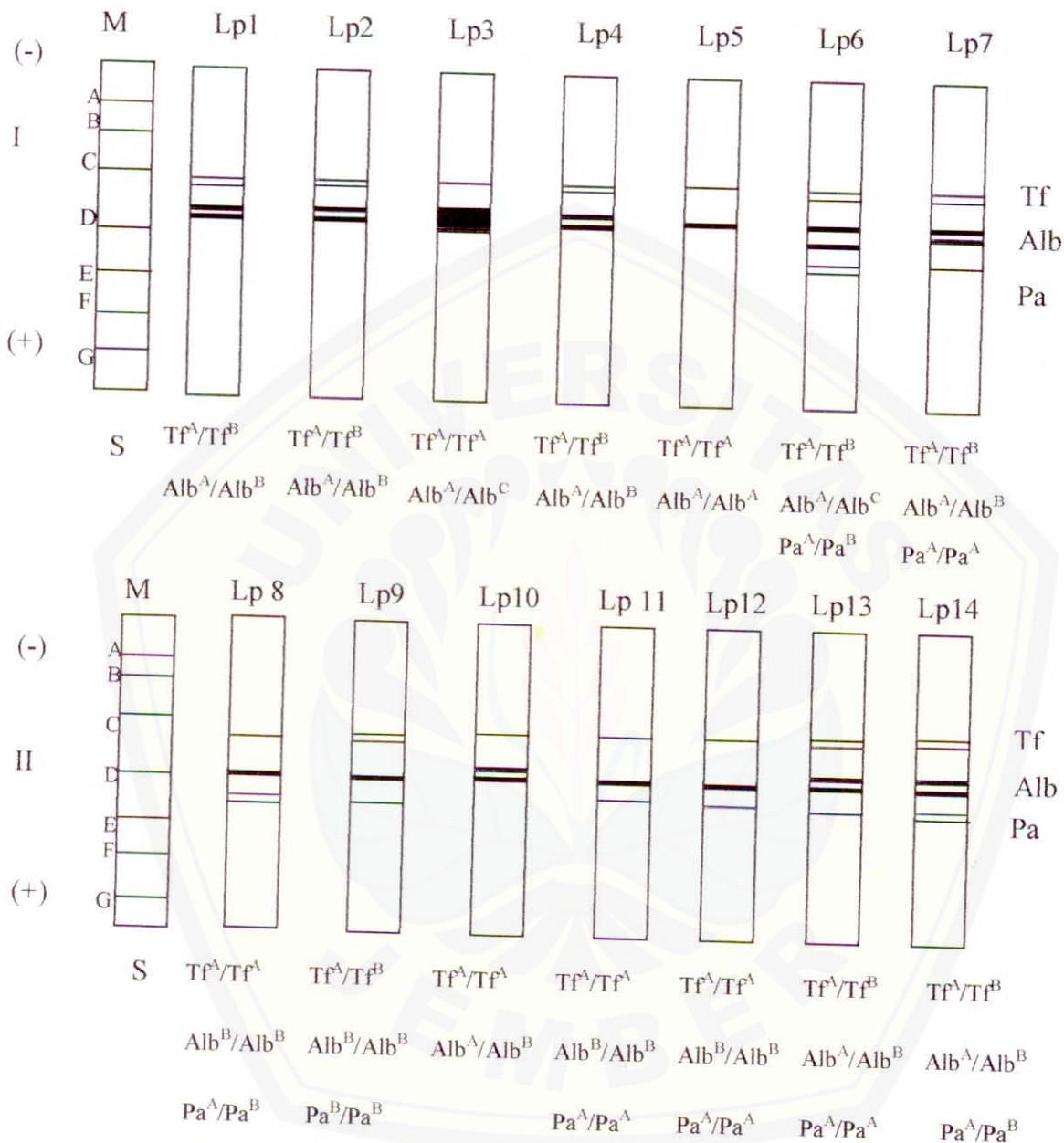
- Sofro, A. S. M. 1990. *Biokimia*. Yogyakarta: PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. p 46-47.
- , 1991. *Petunjuk Laboratorium Genetika Biokimia Darah*. Yogyakarta: PAU-Bioteknologi universitas Gadjah Mada. p 12-13.
- , 1994. *Keanekaragaman Genetika*. Yogyakarta: Andi Offset. p 34 -37.
- Stern, C. 1949. *Principles of Human Genetics*. Second Edition. United States of America: W. H. Freeman and Company. p 622.
- Sugiharti. 1986. *Usaha Budidaya Ikan Lele*. Jakarta: CV Simpleks. p 18-22.
- Sumastri, S. 1988. Intensifikasi Perawatan Benih Lele Lokal (*Clarias batrachus*). *Prosiding Puslitbangkan No.13/1988*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bandung: Universitas Padjajaran Press. p 421-427.
- Viillee, C. A. F. Walren dan J. R. Walkel. 1988. *Fisiologi Umum*. Terjemahan Nawang Sari Sugiri. Jakarta:p 411.
- Warwick, E. J., Astuti. J. M. dan Hardjo.S. W. 1995. *Pemuliaan Ternak*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. p17-43.
- Wongsosupantio, S. 1992. *Elektroforesis Gel Protein*. Yogyakarta: PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. p 20-29.
- Wuryastuti, H. 1991. *Petunjuk Laboratorium Teknik Pemeriksaan Darah Pada Mamalia*. Yogyakarta: PAU-Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. p 89.
- Tuti, A. 2000. Studi Awal Variasi Genetik Ikan *Galaxias Olidus* (*Salmoniformes: Galaxiidae*) di Bagian Barat Victoria Australia. *Jurnal Biologi*. Vol.2 No. 9 p 487-488.

Lampiran 1. Elektroforegram Lokus transferin (Tf), albumin (Alb) dan pre-albumin (Pa) pada populasi lele lokal sungai (Ls).



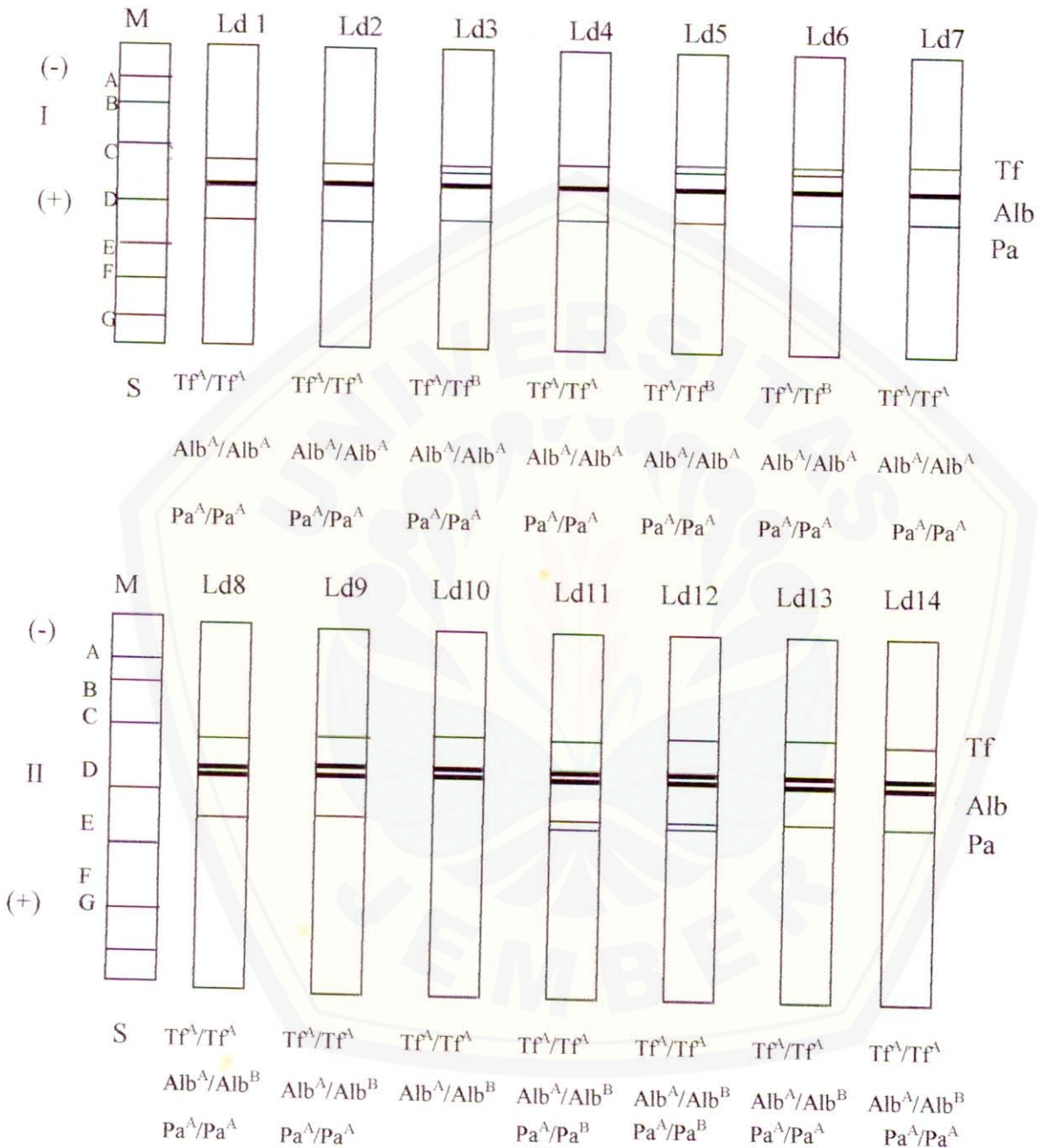
Keterangan S: Protein standart (A: Myosin, BM 200 kDA; B: β -galaktosidase, BM 116,2 kDA; C: Phosphorilase b, BM 97,4 kDA; D: Bovine serum albumin, BM 66,2 kDA; E: Ovalbumin, BM 45kDA; F: Carbonic anhydrase, BM 31 kDA; G: Trypsin inhibitor, BM 21,5 kDA).

Lampiran 2. Skema profil protein plasma darah lokus transferin (Tf), albumin (Alb) dan pre-albumin (Pa) pada populasi lele lokal putih (Lp).



Keterangan S: Protein standart (A: Myosin, BM 200 kDA B: β -galaktosidase, BM 116,2 kDA C: Phosphorilase b, BM 97,4 kDA; D: Bovine serum albumin, BM 66,2 kDA; E: Ovalbumin, BM 45kDA; F: Carbonic anhydrase, BM 31 kDA G: Trypsin inhibitor, BM 21,5 kDA).

Lampiran 3. Elektroforegram Lokus transferin (Tf), albumin (Alb) dan pre-albumin (Pa) pada populasi lele dumbo (Ld).



Keterangan S: Protein standart (A: Myosin, BM 200 kDA B: β-galaktosidase, BM 116,2 kDA C: Phosphorilase b, BM 97,4 kDA; D: Bovine serum albumin, BM 66,2 kDA; E: Ovalbumin, BM 45kDA; F: Carbonic anhydrase, BM 31 kDA G: Trypsin inhibitor, BM 21,5 kDA).