

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

## KERAGAMAN GENETIK IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) VARIETAS RAJADANU TAHAN KOI HERPESVIRUS GENERASI $F_0$ DAN $F_1$ MENGGUNAKAN TIGA LOKUS MIKROSATELIT

Khairul Syahputra<sup>#</sup>, Didik Ariyanto, dan Erma Primanita Hayuningtyas

<sup>1)</sup> Balai Penelitian Pemuliaan Ikan

<sup>2)</sup> Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias

### ABSTRAK

Informasi tentang keragaman genetik sangat dibutuhkan pada program pemuliaan melalui kegiatan seleksi untuk menghasilkan induk unggul, seperti pada pembentukan ikan mas Rajadanu tahan infeksi koi herpesvirus (KHV). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi variasi genetik ikan mas varietas Rajadanu tahan infeksi KHV generasi  $F_0$  dan  $F_1$  dengan menggunakan marka molekuler mikrosatelit. Populasi  $F_0$  dan  $F_1$  dihasilkan dari kegiatan seleksi bersamaan (*independent culling*) pada karakter pertumbuhan dan ketahanan terhadap KHV. Seleksi karakter pertumbuhan dilakukan dengan metode seleksi individu (*mass selection*), sedangkan seleksi karakter ketahanan terhadap KHV dilakukan dengan mengidentifikasi individu yang membawa marka MHC II spesifik pada alel Cyca-DAB1\*05. Sebanyak sepuluh individu ikan mas dari setiap populasi digunakan untuk analisis variabilitas mikrosatelit menggunakan tiga lokus mikrosatelit (MFW6, MFW7, dan MFW9). Data alel mikrosatelit diolah menggunakan program *Microsoft excel* dan dianalisis menggunakan program *Fstat* dan *Arlequin*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah alel dari tiap lokus pada masing-masing populasi bervariasi, yaitu berkisar antara 2-5 alel. Rata-rata jumlah alel dan rata-rata heterozigositas teramati pada populasi  $F_0$  tidak berbeda dengan populasi  $F_1$ . Rata-rata jumlah alel pada kedua populasi sebesar 3,33 alel dengan rata-rata nilai heterozigositas teramati sebesar 0,47. *Inbreeding* teridentifikasi pada populasi  $F_0$  dan  $F_1$ , kedua populasi mempunyai tingkat *inbreeding* yang relatif sama. Populasi ikan mas tahan KHV pada penelitian ini memiliki keragaman genetik yang relatif rendah sehingga diperlukan monitoring variasi genetik dan skema pemijahan yang baik pada kegiatan seleksi selanjutnya untuk menghasilkan ikan mas tahan KHV yang unggul.

**KATA KUNCI:** ikan mas; KHV; mikrosatelit; keragaman genetik; heterozigositas

**ABSTRACT:** *Genetic diversity in  $F_0$  and  $F_1$  populations of Rajadanu strain of common carp (*Cyprinus carpio*) resistant to koi herpesvirus using three microsatellite loci. By: Khairul Syahputra, Didik Ariyanto, and Erma Primanita Hayuningtyas*

*Information on genetic diversity is needed in breeding program through selective breeding to produce superior broodstocks, such as on production of Rajadanu strain of common carp resistant to KHV infection. The aim of this study was to evaluate the genetic variation in  $F_0$  and  $F_1$  of Rajadanu strain of common carp resistant to KHV infection using microsatellite marker. The  $F_0$  and  $F_1$  populations have been produced by independent culling method on growth and resistant to KHV characters. Selection on growth character was conducted by mass selection method, while selection on resistant to KHV character was conducted by identification the individual of common carp that carrying MHC II marker specific on CycaDAB1\*05 allele. Ten individuals representing each population were analyzed for microsatellite variability using three microsatellite loci (MFW6, MFW7, and MFW9). Microsatellite allele data were analyzed using Microsoft Excel, Fstat, and Arlequin software. The result showed that the number of alleles per loci in each population varied ranging from 2 to 5 alleles. The average number of alleles and the average observed heterozygosity in  $F_0$  was similar to that of  $F_1$ . The average number of alleles in both populations was 3.33, while the average observed heterozygosity was 0.47. The  $F_0$  and  $F_1$  populations showed inbreeding level; inbreeding level in both populations was relatively similar. Common carp populations in this study had relatively low genetic variation, so that monitoring of genetic*

# Korespondensi: Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Jl. Raya 2 Pantura Sukamandi, Patokbeusi, Subang 41263, Jawa Barat, Indonesia. Tel.: + (0260) 520662  
E-mail: [khairul\\_syahputra@yahoo.com](mailto:khairul_syahputra@yahoo.com)

variation and good spawning scheme were needed on next selection program to produce a superior common carp resistant to KHV.

**KEYWORDS:** common carp; KHV; microsatellite; genetic variation; heterozygosity

## PENDAHULUAN

Pemahaman tentang diversitas genetik merupakan hal penting pada program pemuliaan melalui kegiatan seleksi (*selective breeding*) untuk menghasilkan induk unggul. Kegiatan seleksi dapat menyebabkan penurunan keragaman genetik bila populasi atau famili yang digunakan memiliki kekerabatan yang dekat. Selain itu, penurunan keragaman genetik juga dapat disebabkan intensitas seleksi yang tinggi. Rekaman silsilah (*pedigree*) yang kurang baik merupakan faktor lain yang dapat menurunkan diversitas genetik, karena akan meningkatkan peluang penggunaan tetua yang sekerabat dalam menghasilkan generasi selanjutnya, sehingga akan meningkatkan *inbreeding depression* (Norris *et al.*, 1999; Beaumont & Hoare, 2003; Dunham, 2004; Thai *et al.*, 2007).

Sejak tahun 2010, Balai Penelitian Pemuliaan Ikan (BPPI) Sukamandi telah melakukan kegiatan pemuliaan untuk membentuk ikan mas Rajadanu tahan KHV melalui kegiatan seleksi dan telah menghasilkan generasi  $F_0$  dan  $F_1$ . Populasi ikan mas Rajadanu tahan infeksi KHV generasi  $F_0$  dan  $F_1$  dihasilkan dari kegiatan seleksi bersamaan (*independent culling*) pada karakter pertumbuhan dan ketahanan terhadap infeksi KHV (Ariyanto *et al.*, 2015). Seleksi karakter pertumbuhan dilakukan dengan metode seleksi individu (*mass selection*), sedangkan seleksi karakter ketahanan terhadap infeksi KHV dilakukan dengan mengidentifikasi keberadaan gen *Major Histocompatibility Complex* (MHC) II spesifik pada alel Cyca-DAB1\*05 sebagai penanda molekuler ketahanan terhadap KHV (Alimuddin *et al.*, 2011). Kelanjutan kegiatan tersebut sangat membutuhkan studi tentang variabilitas genetik populasi ikan mas setiap generasi. Informasi variabilitas genetik tersebut dapat menjadi acuan dan memudahkan dalam membuat skema kegiatan seleksi selanjutnya yang sesuai, sehingga akan menghasilkan ikan mas tahan KHV yang lebih unggul.

Studi tentang variabilitas genetik ikan mas dapat dilakukan dengan aplikasi penanda genetik (marka molekuler). Marka molekuler yang telah banyak digunakan untuk studi diversitas genetik pada ikan mas, seperti *allozymes*, mikrosatelit, AFLP, RFLP, RAPD, dan mtDNA (Chistiakov & Voronova, 2009; Kohlmann *et al.*, 2005). Di antara marka tersebut, mikrosatelit dan mtDNA merupakan marka molekuler yang paling banyak digunakan untuk studi diversitas genetik pada

ikan mas (Chistiakov & Voronova, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi variasi genetik ikan mas tahan KHV generasi  $F_0$  dan  $F_1$  dengan menggunakan marka molekuler mikrosatelit.

## BAHAN DAN METODE

### Koleksi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah dua populasi ikan mas Rajadanu tahan KHV (Ariyanto *et al.*, 2015) yaitu populasi  $F_0$  dan  $F_1$ , dengan jumlah masing-masing populasi sebanyak 10 ekor. Kurang lebih 1 cm<sup>2</sup> sirip ekor masing-masing ikan uji dipotong menggunakan gunting *section* yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%. Potongan sirip ditempatkan ke dalam tabung mikro yang berisi 1 mL alkohol 70% dan disimpan pada suhu ruang hingga dilakukan proses ekstraksi DNA.

Populasi  $F_0$  merupakan populasi dasar yang dibentuk dari induk tetua hasil koleksi terseleksi berdasarkan marka Cyca-DAB1\*05. Populasi  $F_1$  adalah populasi generasi pertama yang dibentuk dari pemijahan antara induk jantan  $F_0$  positif marka Cyca-DAB1\*05 dan terseleksi karakter pertumbuhan dengan induk betina tetua (P) hasil koleksi positif marka Cyca-DAB1\*05. Masing-masing populasi dibentuk dengan pemijahan 30 pasang induk, pemijahan dilakukan secara buatan dan terpisah antar famili (Ariyanto *et al.*, 2015).

### Ekstraksi DNA Genom

Ekstraksi DNA genom dilakukan dengan menggunakan kit komersial *GeneJET DNA Purification Kit* (Thermo Scientific, Lithuania), dengan prosedur mengikuti protokol yang terdapat pada manual kit. DNA hasil ekstraksi disimpan pada suhu -20°C hingga dilakukan proses amplifikasi PCR. Kemurnian dan kuantitas DNA diukur menggunakan alat GeneQuant<sup>TM</sup>1300.

### Primer Mikrosatelit

Tiga lokus mikrosatelit MHF6, MFW7, dan MFW9 digunakan pada penelitian ini. Lokus mikrosatelit ini dipilih berdasarkan rekomendasi Yue *et al.* (2004) dan Thai *et al.* (2007) karena dapat menunjukkan polimorfisme pada ikan mas. Karakteristik primer yang digunakan untuk mengamplifikasi tiga lokus mikrosatelit disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik primer yang digunakan untuk mengamplifikasi lokus mikrosatelit polimorfik pada populasi ikan mas Rajadanu  $F_0$  dan  $F_1$   
 Table 1. Attribute of microsatellite primers used to amplify polymorphic microsatellite alleles in  $F_0$  and  $F_1$  Rajadanu common carp populations

Lokus Loci	Motif Motif	Sekuen primer (5'-3') Primer sequence (5'-3')	Kisaran ukuran Range size (bp)	Tm Tm (°C)
MFW6	(CA) $n$	F13: ACCTGATCAATCCCTGGCTC R: GTTTGGGACTTTTAAATCACGTTG	130-219	62
MFW7	(CA) $n$	F13: TACTTTGCTCAGGACGGATGC R: GTTTATCACCTGCACATCGCCACTC	192-262	62
MFW9	(CA) $n$	F13: GATCTGCAAGCATATCTGTCC R: GTTTATCTGAACCTGCAGTCCCTC	92-144	60

**Amplifikasi Lokus Mikrosatelit dan Penskoran**

Sebanyak 2  $\mu$ L ( $\leq$  200 ng) DNA genom hasil ekstraksi diamplifikasi dengan menggunakan *type-it microsatellite* PCR (Qiagen). Proses PCR dilakukan dengan program: 95°C selama 5 menit; (95°C selama 30 detik; 50°C-62°C selama 90 detik sesuai dengan derajat suhu penempelan (Tm) tiap primer (Tabel 1); 72°C selama 30 detik) sebanyak 30 siklus; dan 60°C selama 30 menit. Hasil amplifikasi PCR diseparasi dengan elektroforesis pada gel agarose 2% yang telah diberi pewarna GelRed™ (Biotium). Hasil elektroforesis diamati di bawah lampu UV transiluminator dan difoto menggunakan kamera digital Canon EOS 1100D.

Polimorfisme lokus mikrosatelit di-*screening* dengan menggunakan alat analisis fragmen QIAxcel (Qiagen) dan menggunakan kit QIAxcel DNA *Screening* (Qiagen), dan ukuran alel-alel ditentukan berdasarkan ukuran produk PCR relatif terhadap ukuran fragmen DNA pada QX size marker 50-800 bp (Qiagen). Data pola pita dan elektroforegram dianalisis menggunakan *software QIAxcel Biocalculator* (Qiagen) untuk menskor alel-alel yang muncul. Data skor alel kemudian digunakan untuk analisis parameter genetik yang relevan.

**Analisis Data**

Data alel yang teramati diolah menggunakan program *Microsoft Excel*. Parameter variabilitas genetik meliputi jumlah alel (A), frekuensi alel, heterozigositas teramati (Ho) dan harapan (He), Hardy-Weinberg equilibrium (HW) dan indeks fiksasi ( $F_{IS}$ ) dianalisis menggunakan *software* statistika genetik Fstat versi 2.9.3. (Goudet, 2001). Variasi genetik dalam dan antar populasi dianalisis menggunakan AMOVA (*Analysis of*

*Molecular Variance*) yang terdapat pada *software Arlequin* (Excoffier *et al.*, 2006).

**HASIL DAN BAHASAN**

**Polimorfisme Lokus Mikrosatelit**

Hasil analisis tiga lokus mikrosatelit pada populasi ikan mas Rajadanu  $F_0$  dan  $F_1$  disajikan pada Tabel 2. Ketiga primer mikrosatelit yang digunakan pada penelitian ini dapat mengamplifikasi dan menghasilkan lokus mikrosatelit yang polimorfik dan bervariasi pada kedua populasi. Sebanyak 13 alel yang berbeda diperoleh dari ketiga lokus dengan ukuran alel berkisar antara 88 bp hingga 222 bp. Jumlah alel yang teridentifikasi pada penelitian ini lebih sedikit dibandingkan dengan penelitian lain pada ikan mas. Thai *et al.* (2007) melaporkan bahwa terdapat 50 alel yang berbeda pada ikan mas di Vietnam menggunakan tiga lokus mikrosatelit (MFW6, MFW7, dan MFW9), sedangkan Kohlmann *et al.* (2005) juga melaporkan sebanyak 47 alel yang berbeda ditemukan pada populasi ikan mas di Asia dan Eropa dengan menggunakan lokus mikrosatelit MFW7. Jumlah alel dari tiap lokus pada masing-masing populasi bervariasi, yaitu berkisar antara 2-5 alel. Jumlah alel dari kedua populasi paling banyak terdeteksi pada lokus MFW6 dan MFW9 dengan jumlah alel masing-masing 5 alel, lokus MFW7 memiliki jumlah lokus paling sedikit yaitu 3 alel. Jumlah alel untuk tiap lokus pada penelitian ini berbeda jika dibandingkan dengan jumlah alel per lokus yang dilaporkan oleh Thai *et al.* (2007) pada ikan mas strain Sinyonya (*Indonesian yellow carp*) di Vietnam khususnya lokus MFW6 (7 alel) dan MFW9 (3 alel). Perbedaan jumlah alel disebabkan oleh perbedaan jenis strain yang dibandingkan, hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Thai *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa

strain ikan mas yang berbeda menghasilkan jumlah alel yang bervariasi.

**Variasi Genetik Populasi F<sub>0</sub> dan F<sub>1</sub> Ikan Mas Tahan KHV**

Jumlah alel untuk tiap lokus pada tiap populasi berkisar antara 2 hingga 5 alel (Tabel 2). Rata-rata jumlah alel per lokus pada populasi F<sub>0</sub> sama dengan populasi F<sub>1</sub>, yaitu 3,33 alel. Rata-rata jumlah alel ini lebih rendah jika dibandingkan dengan rata-rata jumlah alel yang teridentifikasi pada populasi ikan mas di Vietnam (Thai *et al.*, 2007), Bangladesh (Mondol *et al.*, 2006), Asia dan Eropa (Kohlmann *et al.*, 2005).

Frekuensi alel untuk lokus yang sama pada setiap populasi juga bervariasi, hal ini menunjukkan bahwa populasi F<sub>0</sub> dan F<sub>1</sub> memiliki struktur genotipe yang berbeda. Pada lokus MFW6 dan MFW9 terdapat beberapa *private allele* dari tiap populasi yang dianalisis. *Private allele* merupakan alel yang hanya ditemukan pada

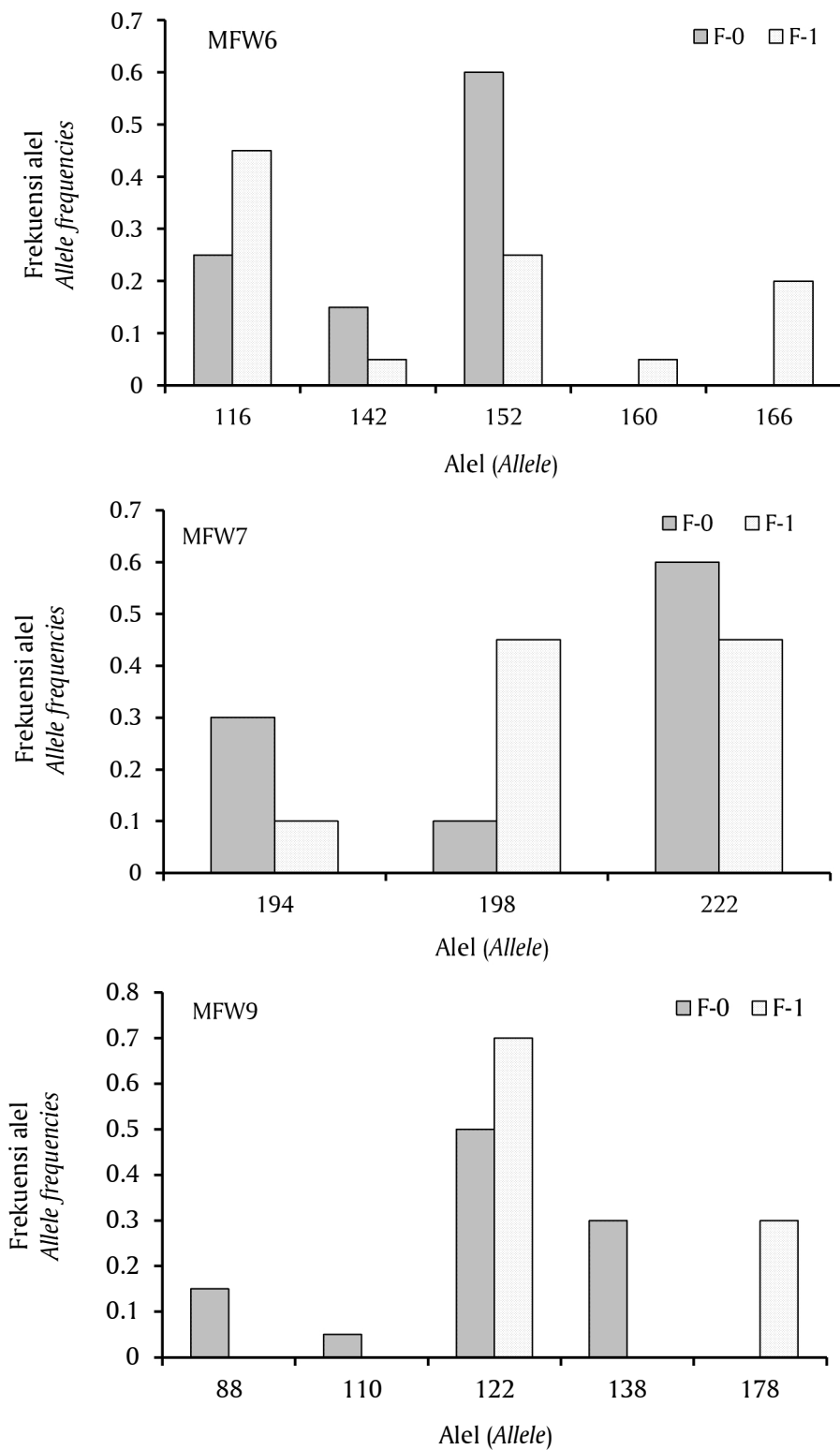
satu populasi dan tidak ditemukan pada populasi lainnya (Kalinowski, 2004; Szpiech & Rosenberg, 2011). Tiga alel pada lokus MFW9 hanya ditemukan pada populasi F<sub>0</sub> dan tidak diwariskan pada generasi F<sub>1</sub>, sedangkan dua alel pada lokus MFW6 dan satu alel pada lokus MFW9 hanya dijumpai pada populasi F<sub>1</sub>. Alel 138 bp pada lokus MFW9 merupakan alel yang memiliki frekuensi *private allele* yang tertinggi sebesar 0,3 pada populasi F<sub>0</sub>, sedangkan alel 178 bp pada lokus MFW9 merupakan *private allele* dengan frekuensi tertinggi sebesar 0,3 pada populasi F<sub>1</sub> (Gambar 1 dan Tabel 2). Pada kedua populasi tidak ditemukan alel jarang (*rare allele*) untuk tiap lokus yang diamati. Alel jarang merupakan alel yang teramati dengan nilai frekuensi alel lebih kecil dari 5% (Cole, 2005; Hale *et al.*, 2012).

Keragaman genetik kedua populasi ikan mas tahan KHV ditunjukkan dengan nilai heterozigositas teramati dan harapan (H<sub>o</sub> dan H<sub>e</sub>). Nilai rata-rata

Tabel 2. Variabilitas genetik dari tiga lokus mikrosatelit pada ikan mas Rajadanu tahan KHV generasi F<sub>0</sub> dan F<sub>1</sub>

Table 2. Genetic variability of three microsatellite loci in F<sub>0</sub> and F<sub>1</sub> populations of Rajadanu common carp resistant to KHV

Lokus Loci	Parameter Parameter	Populasi (Population)	
		F <sub>0</sub>	F <sub>1</sub>
MFW6	Kisaran panjang alel ( <i>Allele size range</i> ) (bp)	118-152	116-166
	Jumlah sampel ( <i>Number of sample</i> ) (N)	10	10
	Jumlah alel ( <i>Number of allele</i> ) (A)	3	5
	Heterozigositas teramati ( <i>Observed heterozygosity</i> ) (H <sub>o</sub> )	0.40	0.50
	Heterozigositas harapan ( <i>Expected heterozygosity</i> ) (H <sub>e</sub> )	0.58	0.74
	Indeks fiksasi ( <i>Fixation index</i> ) (F <sub>is</sub> )	0.33	0.32
	Nilai p Hardy-Weinberg ( <i>p-value of Hardy-Weinberg</i> ) (HW)	0.238	0.029
MFW7	Kisaran panjang alel ( <i>Allele size range</i> ) (bp)	194-222	194-222
	Jumlah sampel ( <i>Number of sample</i> ) (N)	10	10
	Jumlah alel ( <i>Number of allele</i> ) (A)	3	3
	Heterozigositas teramati ( <i>Observed heterozygosity</i> ) (H <sub>o</sub> )	0.60	0.50
	Heterozigositas harapan ( <i>Expected heterozygosity</i> ) (H <sub>e</sub> )	0.57	0.62
	Indeks fiksasi ( <i>Fixation index</i> ) (F <sub>is</sub> )	-0.06	0.20
	Nilai p Hardy-Weinberg ( <i>p-value of Hardy-Weinberg</i> ) (HW)	1,000	0.125
MFW9	Kisaran panjang alel ( <i>Allele size range</i> ) (bp)	88-138	122-178
	Jumlah sampel ( <i>Number of sample</i> ) (N)	10	10
	Jumlah alel ( <i>Number of allele</i> ) (A)	4	2
	Heterozigositas teramati ( <i>Observed heterozygosity</i> ) (H <sub>o</sub> )	0.40	0.40
	Heterozigositas harapan ( <i>Expected heterozygosity</i> ) (H <sub>e</sub> )	0.66	0.44
	Indeks fiksasi ( <i>Fixation index</i> ) (F <sub>is</sub> )	0.42	0.10
	Nilai p Hardy-Weinberg ( <i>p-value of Hardy-Weinberg</i> ) (HW)	0.028	1,000
Rata-rata Mean	Jumlah alel ( <i>Number of allele</i> ) (A)	3.33	3.33
	Heterozigositas teramati ( <i>Observed heterozygosity</i> ) (H <sub>o</sub> )	0.47	0.47
	Heterozigositas harapan ( <i>Expected heterozygosity</i> ) (H <sub>e</sub> )	0.60	0.60
	Indeks fiksasi ( <i>Fixation index</i> ) (F <sub>is</sub> )	0.24	0.23



Gambar 1. Jumlah alel dan distribusi frekuensi alel pada populasi F<sub>0</sub> dan F<sub>1</sub> ikan mas Rajadanu tahan KHV dari tiap lokus mikrosatelit

Figure 1. Number of alleles and distribution of allele frequencies in F<sub>0</sub> and F<sub>1</sub> populations of Rajadanu common carp resistant to KHV at each microsatellite locus

heterozigositas teramati ( $H_o$ ) lebih kecil dari heterozigositas harapan ( $H_e$ ) pada kondisi kesetimbangan Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ), keadaan ini biasa disebut dengan defisit heterozigositas. Nilai rata-rata heterozigositas teramati yang lebih kecil dari nilai rata-rata heterozigositas harapan teridentifikasi dalam lokus dan juga dalam populasi. Nilai rata-rata heterozigositas teramati untuk populasi  $F_0$  dan  $F_1$  adalah 0,47; sedangkan nilai rata-rata heterozigositas harapan adalah 0,6 untuk masing-masing populasi  $F_0$  dan  $F_1$  (Tabel 2). Tingkat variabilitas genetik pada penelitian ini tidak berbeda dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Aliah & Taniguchi (1999), nilai heterozigositas teramati pada sembilan jenis ikan mas domestikasi di Indonesia yang dilaporkan berkisar antara 0,44-0,74.

Defisit heterozigositas pada populasi ikan mas  $F_0$  dan  $F_1$  disebabkan oleh adanya keadaan homozigot berlebihan (*excess of homozygote*). Kondisi homozigot berlebihan dapat teramati hampir pada semua lokus dari tiap populasi. Homozigot berlebihan merupakan fenomena yang umum dalam analisis mikrosatelit dan juga ditemukan pada populasi ikan mas (Aliah & Taniguchi, 1999) dan ikan *orange-spotted grouper* (Antoro *et al.*, 2006). Munculnya homozigot berlebihan dapat disebabkan oleh fenomena *null alleles*, *inbreeding*, *assortative mating*, seleksi meningkatkan homozigositas, dan kombinasi dari beberapa faktor tersebut (Garcia de Leon *et al.*, 1997).

Homozigot berlebihan pada populasi  $F_0$  dan  $F_1$  lebih disebabkan oleh penggunaan tetua dengan keragaman genetik yang relatif rendah bukan dampak dari kegiatan seleksi yang dilakukan. Metode seleksi yang digunakan dalam pembentukan populasi ikan mas tahan KHV generasi  $F_0$  dan  $F_1$  dapat menekan peningkatan homozigositas yang akan berimplikasi buruk terhadap performa dan tentunya terhadap keberlanjutan dan keberhasilan kegiatan seleksi. Pante *et al.* (2001) menyatakan bahwa peningkatan homozigositas dalam jangka panjang akan memicu terjadinya *inbreeding* yang tidak akan menguntungkan secara ekonomis bagi perkembangan populasi yang dihasilkan.

Faktor lainnya yang dapat menyebabkan homozigositas berlebihan adalah adanya *null alleles*. *Null alleles* terjadi karena salah pembacaan oleh primer pada alel mikrosatelit saat proses PCR. Kesalahan pembacaan primer pada alel heterozigot akan menghasilkan alel yang homozigot dan tentunya akan meningkatkan nilai homogenitas. Kesalahan pembacaan oleh primer bisa disebabkan oleh adanya mutasi pada daerah penempelan primer pada alel target (Lehmann *et al.*, 1996).

Fenomena defisit heterozigositas yang teramati pada populasi  $F_0$  dan  $F_1$  juga didukung oleh parameter indeks fiksasi (*fixation index*,  $F_{is}$ ) dalam populasi. Indeks fiksasi dalam populasi yang ditunjukkan oleh nilai  $F_{is}$  pada Tabel 2, merefleksikan status *breeding* dari populasi  $F_0$  dan  $F_1$ . Nilai positif pada  $F_{is}$  mengindikasikan *inbreeding*, sedangkan nilai negatif mengindikasikan *outbreeding* (Keller & Waller, 2002; Imron *et al.*, 2011). Tabel 2 menunjukkan bahwa populasi  $F_0$  dan  $F_1$  mempunyai nilai  $F_{is}$  positif yang mengindikasikan status level *inbreeding* dari kedua populasi tersebut.

Nilai fiksasi indeks yang relatif sama pada populasi  $F_0$  dan  $F_1$  menunjukkan bahwa kedua populasi memiliki tingkat *inbreeding* yang relatif sama. Hal ini juga menjelaskan bahwa metode seleksi yang digunakan pada pembentukan populasi  $F_0$  dan  $F_1$  ikan mas Rajadanau tahan infeksi KHV dapat mempertahankan tingkat *inbreeding* dari  $F_0$  ke  $F_1$ . Terjadinya *inbreeding* pada kedua populasi bukan diakibatkan oleh intensitas seleksi yang dilakukan, namun diduga merupakan kontribusi dari tetua yang digunakan. Induk tetua yang digunakan untuk membentuk populasi  $F_0$  dan  $F_1$  merupakan populasi *survivor* terhadap serangan virus KHV di Waduk Djuanda, Purwakarta dan terseleksi berdasarkan marka Cyca-DAB1\*05 (Ariyanto *et al.*, 2015), sehingga secara genetik kemungkinan populasi tetua yang digunakan mempunyai keragaman genetik yang rendah. Induk tetua yang digunakan untuk membentuk populasi  $F_0$  berjumlah 55 ekor yang terdiri atas 30 ekor induk betina dan 25 ekor induk jantan, sebanyak 60% dari populasi tetua membawa marka MHC.

Status level *inbreeding* pada populasi  $F_0$  dan  $F_1$  juga diperkuat dengan nilai rata-rata indeks fiksasi  $F_{ST}$  (indeks fiksasi antar populasi) dan  $F_{IT}$  (indeks fiksasi total populasi). Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai rata-rata indeks fiksasi  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$ , dan  $F_{IT}$  semua bernilai positif.

Hasil analisis variasi genetik menggunakan AMOVA menunjukkan bahwa variasi genetik pada populasi ikan mas Rajadanu tahan KHV generasi  $F_0$  dan  $F_1$  lebih banyak disebabkan oleh variasi genetik dalam individu dengan persentase 68,80%. Variasi genetik antar individu dan variasi genetik antar populasi memberikan kontribusi dengan proporsi yang lebih kecil terhadap variasi genetik kedua populasi, yaitu masing-masing sebesar 20,88% dan 10,32% (Tabel 4).

Variasi genetik yang relatif rendah teridentifikasi pada populasi  $F_0$  dan  $F_1$  tentunya akan berimplikasi terhadap keberhasilan pembentukan ikan mas tahan KHV yang unggul. Oleh karena itu, perlu dilakukan monitoring variasi genetik, skema pemijahan, dan

Tabel 3. Nilai F-statistik ikan mas Rajadanu tahan KHV generasi  $F_0$  dan  $F_1$

Table 3. F-statistic value in  $F_0$  and  $F_1$  populations of Rajadanu common carp resistant to KHV

Lokus (Loci)	$F_{IS}$	$F_{ST}$	$F_{IT}$
MFW6	0.325	0.087	0.384
MFW7	0.075	0.092	0.160
MFW9	0.291	0.132	0.385
<b>Rata-rata (Average)</b>	<b>0.230</b>	<b>0.104</b>	<b>0.310</b>

Tabel 4. AMOVA (Analysis of Molecular Variance) populasi  $F_0$  dan  $F_1$  ikan mas Rajadanu tahan KHV

Table 4. The analysis of molecular variance (AMOVA) in  $F_0$  and  $F_1$  populations of Rajadanu common carp resistant to KHV

Sumber keragaman Source of variation	db	Jumlah kuadrat Sum of squares	Komponen ragam Variance components	Persentase ragam Percentage of variation
Antar populasi Among populations	1	3.23	0.11	10.32
Antar individu dalam populasi Among individuals within populations	18	20.25	0.21	20.88
Dalam individu Within populations	20	14.00	0.70	68.80
<b>Total (Total)</b>	<b>39</b>	<b>37.48</b>	<b>1.02</b>	

teknik budidaya yang baik terhadap program seleksi yang sedang dilakukan untuk mencegah peningkatan *inbreeding depression* agar populasi ikan mas tahan KHV yang unggul dapat diproduksikan.

**KESIMPULAN**

Ketiga lokus mikrosatelit yang digunakan bersifat polimorfik pada populasi  $F_0$  dan  $F_1$  ikan mas Rajadanu tahan KHV. Metode seleksi yang digunakan pada kegiatan seleksi dapat mempertahankan variasi genetik pada kedua populasi seleksi. Keragaman genetik antara populasi  $F_0$  dan  $F_1$  relatif tidak berbeda, dan terjadi defisit heterozigositas pada kedua populasi. *Inbreeding* terjadi pada kedua populasi, populasi  $F_0$  memiliki *level inbreeding* yang relatif sama dengan  $F_1$ . Variasi genetik pada populasi ikan mas tahan KHV generasi  $F_0$  dan  $F_1$  lebih banyak disebabkan oleh variasi genetik dalam individu daripada variasi genetik antar individu dalam populasi dan diferensiasi genetik antar populasi.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Penelitian ini dibiayai oleh Anggaran Pendapatan dan Belanja Negara (APBN) melalui DIPA T. A. 2012 di

Balai Penelitian Pemuliaan Ikan, Sukamandi. Terima kasih disampaikan kepada semua teknisi yang telah membantu dalam kegiatan penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada dewan redaksi untuk semua saran, masukan, dan perbaikan terhadap makalah ini.

**DAFTAR ACUAN**

Aliah, R.S., & Taniguchi, N. (1999). Comparison of genetic variability in nine domesticated stocks of Indonesian common carp by using microsatellite DNA markers. *Fish Genetics and Breeding Science*, 28, 121-130.

Alimuddin, Mubinun, Santika, A., Carman, O., Faizal, I., & Sumantadinata, K. (2011). Identification of Majalaya common carp strain resistant to KHV infection using Cyca-DAB1\*05 allele as the marker. *Indonesian Aquaculture Journal*, 6(2), 157-163.

Antoro, S., Na-Nakorn, U., & Koedprang, W. (2006). Study of genetic diversity of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) from Thailand and Indonesia using microsatellite markers. *Mar. Biotechnol.*, 8(1), 17-26.

Ariyanto, D., Syahputra K., & Himawan, Y. (2015). Naskah akademik pelepasan varietas unggul ikan

- mas Rajadanu tahan penyakit koi herpesvirus (KHV). Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Sukamandi, 90 hlm. Unpublish.
- Beaumont, R.A., & Hoare, K. (2003). Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture. Blackwell Publishing. Oxford, 158 pp.
- Chistiakov, D.A., & Voronova, N.V. (2009). Genetic evolution and diversity of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Cent. Eur. J. Biol.*, 4(3), 304-312.
- Cole, C.T. (2005). Allelic and population variation of microsatellite loci in aspen (*Populus tremuloides*). *New Phytologist*, 167, 155-164.
- Dunham, A.R. (2004). Aquaculture and fisheries biotechnology genetic approaches. CABI Publishing. Oxfordshire, 115 pp.
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2006). Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47-50.
- Garcia de Leon, F.J., Chikhi, L., & Bonhomme, F. (1997). Microsatellite polymorphism and population subdivision in natural population of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus 1758). *Molecular Ecology*, 6(1), 51-62.
- Goudet, J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Institute of Ecology, University of Lausanne, Switzerland. <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Hale, M.L., Burg, T.M., and Steeves, T.E. (2012). Sampling for microsatellite based population genetic studies: 25 to 30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies. *PLoS One*, 7(9), e45170.
- Imron, Sunandar, D., & Tahapari, E. (2011). Microsatellite genetic variation in cultured populations of African catfish (*Clarias gariepinus*) in Indonesia. *Indonesian Aquaculture Journal*, 6(1), 1-10.
- Kalinowski, S.T. (2004). Counting alleles with rarefaction: Private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation Genetics*, 5, 539-543.
- Keller, L.F., & Waller, D.M. (2002). Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 230-241.
- Kohlmann, K., Kersten, P.T., & Flajshans, M. (2005). Microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated, wild and feral common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations. *Aquaculture*, 247, 253-266.
- Lehmann, T., Hawley, W.A., & Collins, F.H. (1996). An evolution of evolutionary constraints on microsatellite loci using null alleles. *Genetics*, 144, 1155-1163.
- Mondol, K.R., Islam, S., & Alam, S. (2006). Characterization of different strains of common carp (*Cyprinus carpio* L.) (Cyprinidae, Cypriniformes) in Bangladesh using microsatellite DNA markers. *Genetics and Molecular Biology*, 29(4), 626-633.
- Norris, A.T., Bradley, D.G., & Cunningham, E.P. (1999). Microsatellite genetic variation between and within farmed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Aquaculture*, 180, 247-264.
- Pante, M.J.R., Gjerde, B., & MacMillan, I. (2001). Effect of inbreeding on body weight at harvest in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 192, 201-211.
- Szpiech, Z.A., & Rosenberg, N.A. (2011). On the size distribution of private microsatellite alleles. *Theoretical Population Biology*, 80, 100-113.
- Thai, B.T., BurrIDGE, C.P., & Austin, C.M. (2007). Genetic diversity of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Vietnam using four microsatellite loci. *Aquaculture*, 269, 174-186.
- Yue, G.H., Ho, M.Y., Orban, L., & Komen, J. (2004). Microsatellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp. *Aquaculture*, 234, 85-98.