

<b>Full Paper</b>
-------------------

**STRUKTUR POPULASI DAN SEJARAH KOLONISASI IKAN BOTIA  
(*Chromobotia macracanthus* BLEEKER) ASAL SUMATERA DAN  
KALIMANTAN BERDASARKAN SEKUEN INTRON DARI GEN ALDOLASE-B**

**POPULATION STRUCTURE AND COLONIZATION HISTORY OF  
CLOWN LOACH (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) ORIGINATED FROM  
SUMATERA AND KALIMANTAN BASED ON INTRON SEQUENCE OF  
ALDOLASE-B GENE**

Sudarto<sup>\*)</sup>\*, Laurent Pouyaud<sup>\*\*)</sup> dan Ruby V. Kusuma<sup>\*\*\*)</sup>

**Abstract**

Clown loach (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) or botia is an endemic species of Indonesia belonging to Cobitidae family which has restricted distribution only in Sumatra in Pangabuang, Kwanten, Batanghari, Teluk Betung, Musi riverines, and in Kalimantan found in Barito, Kahayan, Kapuas, Bongan dan Mahakam rivers. The objectives of this study are to find the genetical population structure and the history of colonization of clown loach from Kalimantan (Kapuas river) dan Sumatra (Batanghari, Musi and Tulang Bawang rivers) based on intron *sequence* of Aldolase B gene. Cutting fins are collected from each location and preserved in ethanol solution and stored in deep freezer before digested for DNA analysis by proteinase-K method followed by CTAB (*cethyl/hexadecyl trimethyl ammonium bromide*) method; then amplified by EPIC-PCR (*Exon Primed Intron Crossing Polymerase Chain Reaction*) techniques. PCR product were Electrophoreted and DNA bands were sequenced. The results of sequences analysis showed 8 types of alleles, 5 types for type A alleles (A-1, A-2, A-3, A-4, A-5), 2 type B alleles (B-1 and B-2) and C-1. There was a genetic difference between Sumatra and Kalimantan populations.

**Key words :** aldolase-B gene, *Chromobotia macracanthus*, EPIC-PCR, intron

**Pengantar**

Ikan botia (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) atau lebih dikenal dengan nama *clown loach* merupakan spesies ikan endemik Indonesia dari Famili Cobitidae yang distribusinya terbatas hanya di pulau Kalimantan dan Sumatera saja. Di Kalimantan, ikan botia menghuni Sungai Barito, Kahayan, Kapuas, Bongan dan Mahakam, sedangkan di Sumatera, ikan hias ini menghuni Sungai Pangabuang, Kwanten, Batanghari, Teluk Betung, Musi dan aliran sungainya serta Danau

Maninjau (Weber & de Beaufort, 1916).

Ikan botia memiliki nilai ekonomis tinggi karena diperdagangkan sebagai ikan hias pengisi akuarium air tawar. Menurut Kottelat & Whitten (1996) ikan botia di Indonesia menjadi spesies utama dalam perdagangan ikan hias. Ratusan ribu ikan botia diekspor dari Indonesia setiap tahunnya (Kottelat *et al.*, 1993) dengan tujuan negara-negara Eropa seperti Denmark, Jerman, Swedia, Perancis, Norwegia; Australia; Amerika Serikat; beberapa negara Asia antara lain Jepang, Singapura dan Hongkong

<sup>\*)</sup> Komplek Perikanan No. 10 RT 01 RW 02 Pancoranmas, Depok 16436

<sup>\*\*)</sup> IRD- representatives, Wisma Anugraha, Jl Taman Kemang 32B. Jakarta 12730. Telp 021 71792114

<sup>\*\*\*)</sup> Jurusan MSP, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Kampus Darmaga. Bogor

<sup>\*)</sup> Penulis untuk korespondensi: E-mail : bukembar@yahoo.com

dengan total volume ekspornya mencapai 75% dari pasokan dunia (Anonim, 2004).

Produksi ikan botia di Indonesia hingga kini masih banyak bergantung hasil tangkapan dari alam sedangkan keberhasilan upaya budidayanya sendiri masih berlangsung dalam skala laboratorium. Seperti halnya yang telah dilaporkan oleh Satyani *et al.* (2006) bahwa pembenihan ikan botia di habitat buatan sudah berhasil dilakukan oleh Loka Riset Budidaya Ikan Hias Air Tawar Departemen Kelautan dan Perikanan (LRBIHAT-DKP) Depok-Indonesia yang bekerjasama dengan *Institut de Recherche pour le Développement* (IRD) Perancis, namun upaya ini masih dalam skala laboratorium dan sampai saat ini calon induk masih tetap didatangkan dari hasil tangkapan alam.

Penangkapan ikan botia yang terus berlangsung di alam tanpa memperhitungkan kuantitas sumberdayanya yang terbatas, baik untuk keperluan ekspor maupun kebutuhan calon induk setiap tahunnya, dapat menurunkan produksi alamnya sekaligus mengancam kelestariannya di masa mendatang. Untuk itu, informasi mengenai struktur genetika dari populasi alami ikan botia perlu diketahui untuk menentukan arah dan strategi pengelolaannya di masa mendatang. Selain itu dengan diketahuinya informasi mengenai struktur genetika populasinya, diharapkan juga akan berguna untuk proses seleksi induk (*broodstock*) di dalam upaya budidayanya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan gambaran mengenai struktur genetika populasi ikan botia (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) di alam, sebagai informasi dasar untuk upaya budidaya, pengelolaan stok alami maupun konservasi dimasa mendatang.

### Bahan dan metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium

Biologi dan Nutrisi, Loka Riset Budidaya Ikan Hias Air Tawar (LRBIHAT), Depok dibawah Departemen Kelautan dan Perikanan (DKP).

Sampel ikan botia yang berasal dari populasi Kalimantan (sungai Kapuas, Kalimantan Barat) dan populasi Sumatera (sungai Batanghari, Jambi; sungai Musi, Sumatera Selatan dan sungai Tulang Bawang, Lampung) diperoleh dari nelayan pengumpul pada setiap lokasinya. Sampel yang diambil berjumlah antara 20 – 30 ekor untuk setiap lokasinya (kecuali sungai Musi berjumlah 14 ekor) dengan metode *non-invasive sampling* dimana jaringan tubuh yang diambil hanya bagian sirip saja sehingga tidak membunuh ikannya. Sampel diawetkan menggunakan alkohol murni (ethanol 100%), dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 2 ml kemudian disimpan dalam deep freezer.

Bahan analisa terdiri dari *lysis buffer* proteinase-K ((0,1 M EDTA (*ethylene diamene tetraacetic acid*); 0,05 M Tris-HCl pH 8; 1% SDS (*sodium dodecyl sulfate*)), proteinase-K, *lysis buffer* CTAB (5% CTAB (*cethyl/hexadecyl trimethyl ammonium bromide*); 5 M NaCl; 0,5 M EDTA pH 8; 1 M Tris-HCl pH 8; 0,2%  $\beta$  Mercapto-ethanol), Chloroform, isopropanol, ethanol 70%. Primer universal intron dari gen Aldolase B berdasarkan Hassan *et al.* (2002) (10  $\mu$ M Aldob1-1F (*upstream primer*) 5' GCTCCAGGAAAGGGAATCCTGGC 3'; 10  $\mu$ M Aldob1-2R (*downstream primer*) 5'CTCGTGGAAGAAGATGATCCCCGCC 3'), GoTaq®Green Master Mix *Ready To Use* (Promega), agarose ultrapure, TAE (*tris acetate EDTA*), Wide Mini Gel Acrylamide etidium bromide (Elchrom scientific), TAE 1X (Elchrom scientific), Blue Dye, Gene Ruler 50 kbp (Fermentas) dan Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (Geneaid).

DNA total diekstraksi dari sirip ikan botia dengan metode proteinase-K dilanjutkan metode CTAB. Amplifikasi intron gel aldose dilakukan dengan

teknik EPIC-PCR (*Exon Primed Intron Crossing Polymerase Chain Reaction*) sebanyak 2 tahap menggunakan mesin PTC-100 Master Cycler (Mj Research). Elektroforesis untuk uji kualitas dan kuantitas DNA pada gel agarose 2% atau 2,5%. Elektroforesis untuk dilakukan pada *genotyping* pada gel *acrylamide* 20°C pada mesin ORIGINS migration tools Elchrom Scientific. Purifikasi DNA untuk memurnikan DNA produk PCR menggunakan Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (Geneaid). DNA hasil pemurnian dikirim ke Macrogen, Korea Selatan untuk *sequencing* menggunakan mesin Automatic Sequencer 3730xl.

Hasil sekuensing dianalisis dengan perbedaan *sequence* (urutan basa) intron 1 dari gen Aldolase B untuk setiap populasi ikan botia. Analisis statistik terhadap seluruh parameter struktur populasinya digunakan packages Genetics dari *software* R program ([www.R-project.org](http://www.R-project.org)).

Analisa keragaman alel dan genotipe dihitung secara manual dengan cara membaca data *sequence* (urutan basa) hasil *sequencing* bukan dari pergerakan pita DNA saat elektroforesis (*electrophoretic mobility*). Sedangkan analisa frekuensi alel dihitung dari proporsi jumlah setiap tipe alel dibandingkan dengan jumlah total semua alel dalam suatu populasi. Adapun persamaan yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$\text{Frekuensi Alel } p = \frac{(2N_{11} + N_{12})}{2N}$$

N = Jumlah seluruh genotipe  
 N<sub>11</sub>, N<sub>12</sub>, N<sub>22</sub> = Jumlah setiap genotipe A<sub>1</sub>A<sub>1</sub>, A<sub>1</sub>A<sub>2</sub> dan A<sub>2</sub>A<sub>2</sub>  
 p + q = 1  
 N = N<sub>11</sub> + N<sub>12</sub> + N<sub>22</sub>

Frekuensi genotipe dihitung berdasarkan proporsi jumlah setiap genotipe dibandingkan dengan jumlah total genotipe dalam suatu populasi.

Kondisi *panmixia* setiap populasi ikan botia diujikan terhadap keseimbangan Hardy-Weinberg menggunakan uji Chi-kuadrat. Populasi yang termasuk ke dalam keseimbangan Hardy-Weinberg adalah populasi yang setiap individunya memiliki kemungkinan sama untuk bereproduksi antara satu dengan yang lainnya (kawin acak). Dalam kasus ketidakseimbangan (*disequilibrium*) Hardy-Weinberg, didapatkan adanya penurunan nilai heterozigositas.

Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji berdasarkan persamaan :

$$\lambda (\text{Chi})^2 = \sum \frac{(H_o - H_e)^2}{H_e}$$

H<sub>o</sub> = Heterozigositas observasi  
 H<sub>e</sub> = Heterozigositas teoritis (*expected*)

Sedangkan untuk memperoleh nilai heterozigositas teoritis (H<sub>e</sub>), dihitung berdasarkan persamaan :

$$H_e = 1 - (\sum (\text{Frekuensi alel homozigot})^2)$$

Tingkat perbedaan genetik dihitung menggunakan *fixation index* Wright (F<sub>ST</sub>) yang dibandingkan antara populasi-populasinya. Adapun persamaan yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

H<sub>T</sub> = Heterozigositas Total  
 H<sub>S</sub> = Heterozigositas Subpopulasi

Nilai teoritis F<sub>ST</sub> berkisar antara 0–1, dimana Wright (1978) dalam Graves and McDowell (2003) membuat kisaran interpretasinya adalah sebagai berikut : 0,00 - 0,05 (perbedaan genetik rendah); 0,05 - 0,15(perbedaan genetik sedang); 0,15 - 0,25 (perbedaan genetik tinggi); dan > 0,25 (perbedaan genetik sangat tinggi).

Tabel 1. Frekuensi alel dari setiap populasi ikan botia

Tipe Alel	Panjang Alel (pb)	Frekuensi Alel			
		Sumatera			Kalimantan
		Batanghari	Musi	Tulang	Kapuas
B-1	273	0,38	0,50	0,67	0,93
A-5	249	0,05	0,29	0,12	-
A-1	249	0,20	0,11	0,08	-
A-3	246	0,15	0,07	0,08	0,03
A-2	249	0,15	0,04	-	-
A-4	249	0,07	-	0,04	-
C-1	254	-	-	-	0,03
B-2	273	-	-	-	0,03
$\Sigma$ Sampel		20	14	24	20

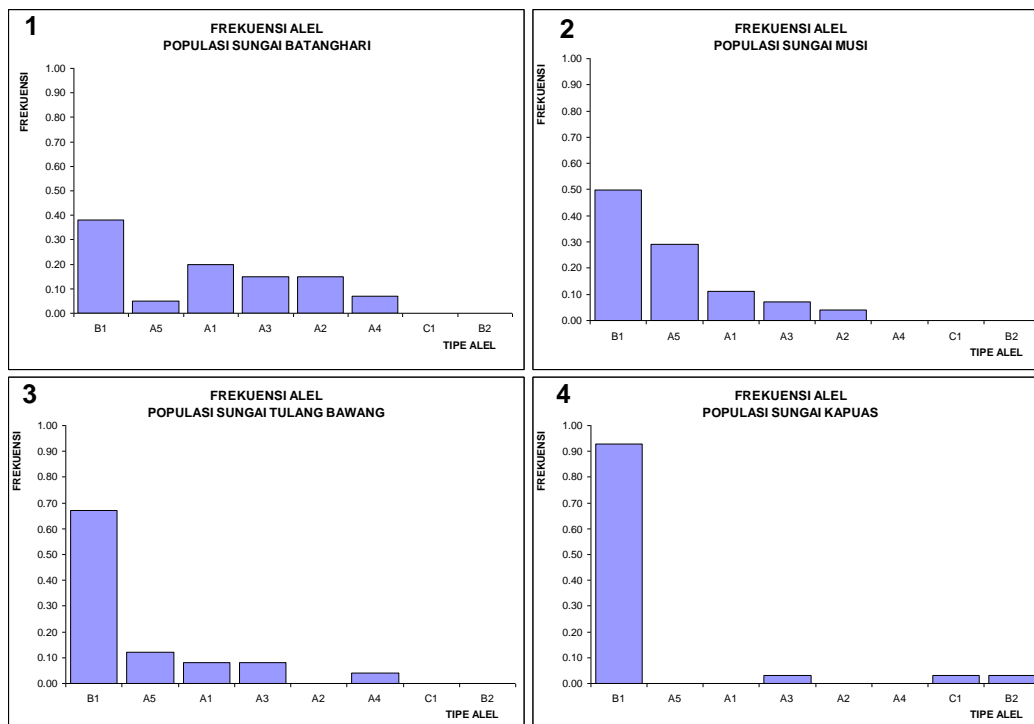
## Hasil Penelitian

### A. Keragaman Alel

Hasil *sequencing* intron 1 gen Aldolase B terhadap populasi ikan botia (*Chromobotia macracanthus*) asal Kalimantan (sungai Kapuas) dan Sumatera (sungai Batanghari, Musi dan Tulang Bawang) menghasilkan 8 tipe alel (alel A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, B-1, B-2

dan C-1) yang dibedakan dari ukuran panjang serta komposisi pasangan basa (pb)-nya (Tabel 1).

Populasi dengan polimorfisme tertinggi berasal dari populasi sungai Batanghari (populasi Sumatera) yang memiliki 6 tipe alel (alel A-1, A-2, A-3, A-4, A-5 dan B-1) dengan kisaran frekuensi 0,05 – 0,38.



Gambar 1. Histogram frekuensi alel pada setiap populasi ikan botia (*Chromobotia macracanthus*)

Sedangkan populasi dengan polimorfisme terendah berasal dari populasi sungai Kapuas (populasi Kalimantan) yang hanya memiliki 4 tipe alel (alel A-3, B-1, B-2 dan C-1) dengan kisaran frekuensi 0,03 – 0,93 dimana frekuensi alel A-3, B-2 dan C-1 berada dibawah 5% (Tabel 1; Gambar 1). Alel B-1 dan A-3 merupakan alel yang umum dimiliki oleh setiap populasi baik populasi Kalimantan maupun Sumatera. Pada setiap populasinya, alel B-1 (alel terpanjang dengan 273 pb) memiliki frekuensi tertinggi dengan kisaran 0,38 - 0,93. Alel B-2 dan C-1 merupakan alel yang unik untuk populasi sungai Kapuas, sedangkan alel A-1 dan A-5 merupakan alel yang unik untuk kelompok populasi sungai Batanghari, Musi dan Tulang Bawang yang secara geografis berhubungan (Tabel 1; Gambar 1).

Cara migrasi klasik dan juga *genotyping* pada gel *acrylamide*, hanya dapat diamati 2 tipe alel saja (alel A dan B) dari setiap populasi ikan botia yang diteliti (polimorfisme rendah) (Gambar 2).

#### B. Keragaman Genotipe dan Heterozigositas

Pengamatan terhadap keragaman genotipe dilakukan pada populasi ikan botia yang memiliki keragaman alel penting, yaitu populasi yang memiliki alel-alel jarang dengan frekuensi  $\leq 12\%$  yang kemudian membentuk genotipe homozigot yang diperkirakan terjadi akibat adanya silang dalam (*inbreeding*). Adapun jenis-jenis genotipe homozigot tersebut diantaranya adalah : A-4/A-4 dan A-5/A-5 untuk populasi sungai Batanghari; A-1/A-1 untuk populasi sungai Musi; serta A-1/A-1 dan A-3/A-3 untuk populasi sungai Tulang Bawang (Tabel 2; Gambar 2).

Pengamatan dilakukan juga terhadap genotipe heterozigot yang kemudian dihitung nilai heterozigositas dari setiap populasinya. Nilai heterozigositas tertinggi terdapat pada populasi sungai Batanghari dengan nilai 0,7859 (**Poly**

**inf = 0,7340**) sedangkan nilai heterozigositas terendah terdapat pada populasi sungai Kapuas dengan nilai 0,1462 (**Poly inf = 0,1359**) (Tabel 2; Gambar 2).



Gambar 2. Elektroforesis hasil amplikasi intron 1 gen Aldolase B.

#### C. Uji Keseimbangan Hardy-Weinberg

Pengujian menggunakan uji *Chi-kuadrat* berdasarkan 10.000 pengulangan diperoleh informasi bahwa setiap populasi ikan botia yang diteliti tidak memperlihatkan adanya penyimpangan terhadap hukum keseimbangan Hardy-Weinberg ( $p\text{-value} > 0,05$ ) (Tabel 2). Hal ini berarti bahwa setiap populasi ikan botia berada dalam kondisi *panmictic*. Kemudian jika diperhatikan dari jumlah genotipe homozigot pada setiap populasinya maka diperkirakan kondisi populasi sungai Batanghari sudah mulai mendekati ketidakseimbangan (*disequilibrium*) (6 dari 11 tipe genotipenya berada dalam bentuk homozigot (Tabel 2; Gambar 3)). Untuk memperoleh kejelasan informasi ataupun menolak kondisi *panmixia* dari populasi ini maka diperlukan penambahan jumlah sampel.

#### D. Tingkat Perbedaan Genetik ( $F_{ST}$ )

Tidak terdapat perbedaan genetik yang signifikan (nilai  $F_{ST}$  berkisar 0,0019 - 0,0043) diantara populasi-populasi ikan botia dari Sumatera (sungai Batanghari, Musi dan Tulang Bawang) (Tabel 3). Menurut Wright (1978) dalam Graves and McDowell (2003) kisaran nilai  $F_{ST}$  pada selang 0 – 0,05 menunjukkan perbedaan genetik yang rendah (*little genetic variation*) diantara populasi-populasi yang dibandingkan. Sedangkan menurut Frankham *et al.*

(2002) perbedaan genetik yang signifikan (diantara populasi-populasi yang dibandingkan) umumnya berada pada nilai  $F_{ST}$  di atas 0,15.

Juga tidak terdapat perbedaan genetik yang signifikan (nilai  $F_{ST}$  berkisar 0,0033 – 0,0129) antara populasi-populasi Sumatera (sungai Batanghari, Musi dan Tulang Bawang) yang dibandingkan dengan populasi Kalimantan (sungai Kapuas) (Tabel 3). Namun demikian, nilai  $F_{ST}$  diantara populasi-populasi ikan botia tersebut secara umum memiliki nilai yang lebih besar jika dibandingkan dengan nilai  $F_{ST}$  diantara populasi-populasi Sumatera itu sendiri. Nilai  $F_{ST}$  yang lebih besar ini menunjukkan bukti bahwa sebenarnya memang terdapat perbedaan genetik antara populasi Kalimantan dengan Sumatera, namun hanya dengan menggunakan satu sistem intron 1 dari gen Aldolase B saja kemungkinan masih belum cukup signifikan untuk menjelaskan adanya perbedaan tersebut. Untuk itu maka diperlukan penambahan beberapa

sistem intron lagi, seperti : Aldolase B5 (intron Aldo5), Aldolase C1 (intron AldoC1); S7 Ribosomal Protein (intron RPex); Growth Hormon 2 (intron GH2) dan Creatin kinase 7 (intron Ck7) yang semuanya telah teruji dan dapat digunakan pada awal penelitian untuk mengamplifikasi sistem intron dari ikan botia (*Chromobotia macracanthus*) (data tidak dibahas dan ditampilkan).

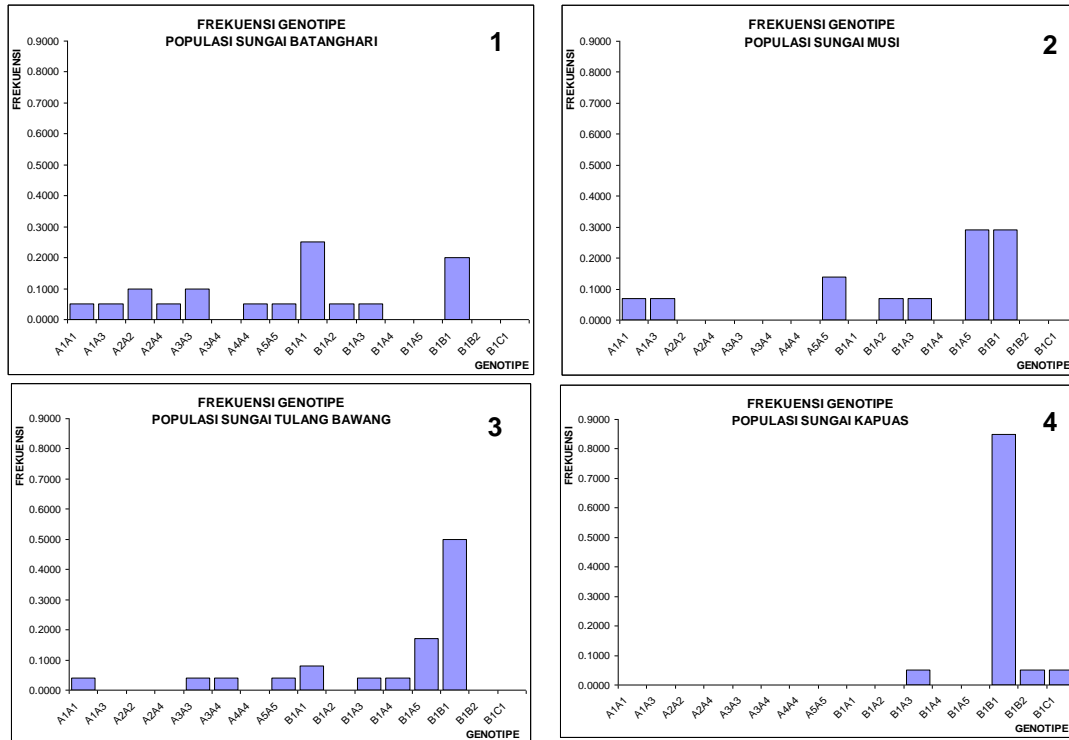
## Pembahasan

### A. Sequencing Alel

Hasil *screening* terhadap polimorfisme intron 1 dari gen Aldolase B yang diikuti dengan proses *sequencing* alel sangat cocok dalam genetika populasi. Dengan menggunakan cara migrasi klasik dan juga *genotyping* pada gel *acrylamide*, hanya dapat diamati 2 tipe alel saja (alel A dan B) dari setiap populasi ikan botia yang diteliti (polimorfisme rendah) (Gambar 2). *Sequencing* terhadap kedua tipe alel tersebut (alel A dan B) menghasilkan 6 tipe alel untuk alel A (A-1, A-2, A-3, A-4, A-5 dan C-1) dan 2 tipe alel untuk alel B (B-1 dan B-2).

Tabel 2. Frekuensi Genotipe, Heterozigositas dan Hasil Uji Keseimbangan Hardy-Weinberg

Genotipe	Frekuensi Genotipe							
	Sumatera						Kalimantan	
	Batanghari		Musi		Tulang Bawang		Kapuas	
	O	E	O	E	O	E	O	E
A-1/A-1	0,0500	0,0400	0,0700	0,0121	0,0400	0,0064	-	-
A-1/A-3	0,0500	0,0300	0,0700	0,0077	-	0,0064	-	-
A-2/A-2	0,1000	0,0225	-	0,0016	-	-	-	-
A-2/A-4	0,0500	0,0105	-	-	-	-	-	-
A-3/A-3	0,1000	0,0225	-	0,0049	0,0400	0,0064	-	0,0009
A-3/A-4	-	0,0105	-	-	0,0400	0,0032	-	-
A-4/A-4	0,0500	0,0049	-	-	-	0,0016	-	-
A-5/A-5	0,0500	0,0025	0,1400	0,0841	0,0400	0,0144	-	-
B-1/A-1	0,2500	0,0760	-	0,0550	0,0800	0,0536	-	-
B-1/A-2	0,0500	0,0570	0,0700	0,0200	-	-	-	-
B-1/A-3	0,0500	0,0570	0,0700	0,0350	0,0400	0,0536	0,0500	0,0279
B-1/A-4	-	0,0266	-	-	0,0400	0,0268	-	-
B-1/A-5	-	0,0190	0,2900	0,1450	0,1700	0,0804	-	-
B-1/B-1	0,2000	0,1444	0,2900	0,2500	0,5000	0,4489	0,8500	0,8649
B-1/B-2	-	-	-	-	-	-	0,0500	0,0279
B-1/C-1	-	-	-	-	-	-	0,0500	0,0279
Heterozigo- sitas	0,4500	0,7859		0,6746		0,5355		0,1462
Poly. Inf. Content		0,7340		0,5977		0,4959		0,1359
$\lambda$ -kuadrat dB	45,8833 NA (6 alel)		11,9603 NA (5 alel)		16,7917 NA (5 alel)		0,1315 NA (4 alel)	
P-value ( $>0,05$ )	0,0891		0,4516		0,4516		1,000	



Gambar 3. Histogram frekuensi genotipe pada setiap populasi ikan botia (*Chromobotia macracanthus*)

Tabel 3. Tingkat perbedaan genetik ( $F_{ST}$ ) antar populasi ikan botia

Populasi vs Populasi		$F_{ST}$	P
Batanghari	- Kapuas	0,012911	0,000***
Batanghari	- Tulang Bawang	0,004310	0,033*
Batanghari	- Musi	0,003383	0,068
Kapuas	- Musi	0,009323	0,000***
Kapuas	- Tulang Bawang	0,003252	0,079
Musi	- Tulang Bawang	0,001885	0,276

\*\*\*P < 0,001 (sangat signifikan); \* P < 0,05 (signifikan); P ≥ 0,05 (tidak signifikan)

Alel A-1, A-2, A-4 dan A-5 (249 pb) dibedakan antara satu sama lainnya karena adanya substitusi beberapa pasangan basanya, sehingga meskipun berukuran sama namun berbeda dari komposisi *sequence* DNA-nya. Alel A-3 mengalami delesi sebanyak 3 pb sehingga berukuran lebih pendek (246 pb). Alel C-1 mengalami insersi sebanyak 10 pb dan juga delesi sebanyak 5 pb sehingga berukuran lebih panjang sebanyak 5 pb (254 pb). Alel B-1 dan B-2 berbeda satu sama lainnya karena adanya substitusi 1 pb saja (273 pb).

**B. Struktur Genetika Populasi**

Keragaman alel, keragaman genotipe, heterozigositas dan tingkat perbedaan genetik ( $F_{ST}$ ) diantara populasi-populasi ikan botia yang diteliti menunjukkan adanya perbedaan secara geografis. Populasi ikan botia Kalimantan (sungai Kapuas) menunjukkan adanya perbedaan dari populasi Sumatera (sungai Batanghari, Musi dan Tulang Bawang) didukung oleh proses penyebaran dan pemisahannya pada zaman dahulu.

Populasi sungai Kapuas menunjukkan kemungkinan efek *bottleneck* yang mendorong hilangnya polimorfisme dari dalam populasinya (dari seluruh genotipe yang diamati hanya 3 individu yang ber-genotipe heterozigot). Kondisi ini dapat terjadi dimungkinkan karena **ukuran populasi** atau **badan sungainya** yang kecil dan sempit.

Perairan sungai Tulang Bawang merupakan habitat perairan sungai kecil Sumatera yang memiliki gambaran populasi yang ditandai oleh 1 alel berfrekuensi tinggi dan 4 alel berfrekuensi rendah. Ukuran sungainya yang kecil memperlihatkan kemungkinan ukuran populasinya juga kecil. Pada populasi kecil, laju *genetic drift* lebih berperan besar dalam mengurangi ataupun menghilangkan keragaman genetik dalam populasinya (Frankham, *et al.*, 2002). Laju *genetic drift* akan berlangsung lebih cepat lagi apabila didukung oleh terjadinya efek *bottleneck*. Akibatnya, keragaman alel-alel (baik alel yang menguntungkan atau merugikan) dalam populasinya akan semakin cepat mengalami kepunahan.

Populasi sungai Batanghari dan Musi merupakan populasi yang paling beragam dalam hal keragaman alel dan juga frekuensi alelnya. Pada populasi sungai Batanghari meskipun keragaman genetik yang dimilikinya tinggi namun diperkirakan sudah mulai mengalami kemungkinan silang dalam (*inbreeding*). Hal ini diduga karena tekanan eksploitasi yang berlebih serta kerusakan habitat baik pencemaran maupun konversi lahan yang menyebabkan fragmentasi habitat sehingga berakibat pada penurunan jumlah maupun ukuran populasinya. Pada populasi sungai Musi dari 14 individu yang diamati (populasi lain  $\geq 20$  individu) sudah dapat menunjukkan keragaman genetik yang tinggi. Tingginya keragaman genetik ini terjadi dikarenakan habitat yang ditempati kedua populasinya tersebut merupakan perairan sungai besar. Kondisi ini

mendukung populasinya untuk tumbuh dan berkembang dengan pesat menjadi populasi yang berukuran besar dan stabil.

Seluruh populasi ikan botia (*Chromobotia macracanthus*) yang diteliti berada dalam kondisi *panmictic*. Hal ini dapat dijelaskan oleh tingkah laku reproduksinya (daerah pemijahan berada di daerah aliran-aliran sungai utama yang melibatkan ratusan induk) serta kemampuan migrasinya ke hulu ke seluruh anak sungainya secara acak namun tidak bersifat *homing* (tidak kembali ke tempat induknya memijah).

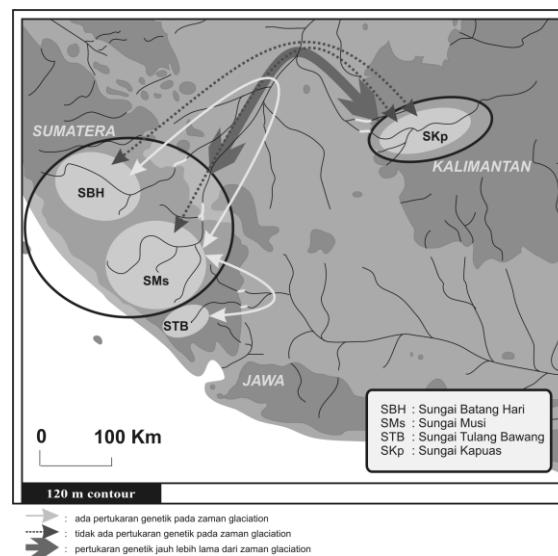
Jadi pola migrasi yang dilakukan hanya berdasarkan sifatnya saja yang selalu bereproduksi ke hulu namun tidak sama halnya seperti migrasi yang dilakukan ikan salmon.

### C. Sejarah Kolonisasi Ikan Botia

Seluruh populasi ikan botia asal Sumatera berkerabat dekat satu sama lainnya, hal ini menunjukkan bukti bahwa pada zaman dahulu telah terjadi adanya aliran genetik atau pertukaran genetik (migrasi) diantara populasi-populasi tersebut. Pertukaran genetik yang terjadi antara populasi sungai Batanghari dan Musi terjadi kemungkinan selama zaman *glaciation* pada masa Pleistocene (sekitar 20.000 tahun yang lalu). Pada zaman ini sungai Batanghari dan Musi berhubungan (Kottelat *et al.*, 1993; Voris, 2000) dan lebih disukai sebagai daerah penyebaran dari spesies ikan botia ini (Gambar 4).

Gambar 4 menunjukkan adanya aliran sungai Tulang Bawang yang mengalir langsung menuju Samudera Hindia melalui Selat Sunda. Hasil penelitian ini kemudian membuktikan juga adanya kemungkinan hubungan antara sungai Tulang Bawang dengan sungai Musi pada masa Pleistocene yang menyebabkan kedua populasinya tidak memperlihatkan adanya perbedaan genetik.





Gambar 4. Sistem sungai purba dan pola pertukaran genetik diantara populasi ikan botia (*Chromobotia macracanthus*) (diedit dari Voris, 2000)

Pertukaran genetik yang terjadi diantara kedua sistem sungai purba tersebut kemungkinan berlangsung pada waktu yang jauh lebih lama lagi. Proses kolonisasi populasi-populasi ikan botia yang ada pada masa sekarang terpisahkan antara satu sama lainnya dikarenakan terjadinya kenaikan air laut pada zaman *glaciation* di masa Pleistocene (Voris, 2000).

### Kesimpulan

Dari hasil *sequencing* intron gen aldolase B dijumpai 8 tipe alel, 6 tipe alel A (A-1, A-2, A-3, A-4, A-5 dan C-1) dan 2 tipe alel B (B-1 dan B-2). Alel B-1 dan A-3 umum dimiliki oleh setiap populasi; alel B-2 dan C-1 unik untuk populasi Kalimantan; sedangkan alel A-1 dan A-5 unik untuk kelompok populasi Sumatera. Keragaman genetik tertinggi berasal dari populasi sungai Batanghari dan terendah dari populasi sungai Kapuas. Tidak ada perbedaan genetik diantara populasi-populasi ikan botia dari Sumatera dan aliran genetik atau pertukaran genetiknya kemungkinan terjadi oleh adanya sistem aliran sungai purba. Proses kolonisasi populasi ikan botia hingga membentuk populasi-

populasi yang ada pada masa sekarang mungkin disebabkan adanya kenaikan air laut pada masa Pleistocene.

### Daftar Pustaka

- Anonim. 2004. Iptek Kelautan & Perikanan Masa Kini. Badan Riset Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Frankham, R., J. D. Ballou and D. A. Briscoe. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press.
- Graves, J. E. and J. R. McDowell. 2003. Stock Structure of the World's Istiophorid Billfishes : a Genetic Perspective. *Marine and Freshwater Research*, 54, 287-298.
- Hassan, M., C. Lemaire, C. Fauvelot and F. Bonhomme. 2002. Primer Note : Seventeen New Exon-Primed Intron-Crossing Polymerase Chain Reaction Amplifiable Introns in Fish. *Molecular Ecology Notes* (2002), 2, 334-340.

- Kottelat, M., A. J. Whitten, S. N. Kartikasari and S. Wirjoatmodjo. 1993. Freshwater fishes of Western Indonesia and Sulawesi. Periplus Editions (HK) Ltd. In collaboration with the Environmental Management Development in Indonesia (EMDI) Project, Ministry of State for Populations and Environment, Republic of Indonesia. (EMDI) Project. Hong Kong, 259 pp., 84 pls.
- Kottelat, M. and A.J. Whitten. 1996. Freshwater fishes of Western Indonesia and Sulawesi: Addition and correction. Copyright by the editors. ISBN 962-593. 148-1.
- Satyani, D., H. Mundiyanto, S. Subandiyah; Chumaedi dan Sudarto. 2006. Petunjuk teknis pembenih botia (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) skala laboratorium. Loka Riset Budidaya Ikan hias Air Tawar, Badan Riset kelautan dan Perikanan. Jakarta. 19 p.
- Voris, H.K. 2000. Maps of Pleistocene sea-levels in South East Asia: shorelines, river systems, time durations. *Journal of Biogeography*, 27, 1153–1167.
- Weber, M. and L. F. de Beaufort. 1916. The Fishes of the Indo-Australian Archipelago. Vol VIII. E. J. Brill, Ltd. Leiden. 456 p.