

# Karakteristik Genetik Serta Klasifikasi Isozyme Esterase Pada Tiga Spesies Ikan Batak

(*Neollisochilus spp*) Di kawasan Sumatera Utara.

Oleh

Dra. Deny Supriharti, MSc

## DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN .....	i
1. PENDAHULUAN.....	1
2. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	2
3. STUDI PUSTAKA.....	3
4. METODOLOGI PENELITIAN.....	4
5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	6
6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	10
9. DAFTAR PUSTAKA.....	14
10. LAMPIRAN	

# Karakteristik Genetik Serta Klasifikasi Isozyme Esterase Pada Tiga Spesies Ikan Batak (*Neollisochilus spp*) Di kawasan Sumatera Utara.

## I. PENDAHULUAN

Dalam usaha untuk meningkatkan perekonomian bangsa sangat diperlukan pengembangan berbagai usaha baik dari sektor industri maupun sektor pertanian dan pangan, terutama usaha - usaha untuk meningkatkan baik kualitas-maupun kuantitas jenis - jenis pangan yang bernilai ekonomis.

Ikan Batak ( *Neollisochilus spp* ) merupakan ikan yang banyak dikonsumsi masyarakat di Sumatera Utara dan mempunyai harga yang relatif mahal yaitu berkisar Rp 20.000/kg. bahkan dapat mencapai Rp 50.000 (Nekat, 2002) Akan tetapi untuk mendapatkan ikan ini sekarang relatif tidak mudah karena jumlahnya yang sekarang mulai berkurang akibat eksploitasi yang dilakukan baik terhadap hutan sekitarnya yang dapat merombak habitatnya maupun eksploitasi langsung terhadap ikan Batak ini dengan cara penangkapan yang tidak memikirkan aspek - aspek kelestarian ikan ini sendiri.

Berbagai upaya untuk membudidayakan ikan ini telah dilakukan akan tetapi belum memberikan hasil yang baik (Dinas Perikanan, 1999), kemungkinan karena kurang didukung oleh berbagai penelitian baik dari aspek ekologi maupun aspek biologi khususnya yang terkait dengan aspek genetik yang merupakan dasar suatu kehidupan Selain itu, tidak diketahui ada/tidaknya gen dan distribusi gen yang dapat menentukan daya tahan ikan ini terhadap berbagai serangan berbagai penyakit yang membuat ikan ini sukar untuk dibudidayakan

Berbagai penelitian tentang karakteristik genetik isozim esterase telah dilakukan pada berbagai organisme termasuk pada beberapa ikan, seperti famili Characidae (Supriharti dan Frankel, 1998), Poecillidae, *Brachydanio abolineatus*, *Trachurus trachurus*,

*Pseudorasbora parva*, Ikan Mas (*Carassius auratus*). Ikan Nila (*Tilapia nilotica*), Ikan Salmon (*Salmo gairdneri*), *Gymnocorymbus ternetzi*, jenis - jenis *cat fish* dan lain sebagainya (Leslie dan Pontier, 1980; Li dan Fan, 1997; Samastrakis dan Haritos, 1998, serta Supriharti, 2003) akan tetapi kajian tentang karakteristik genetik antar spesies pada ikan Batak sejauh ini belum pernah dilakukan.

Isozim terdiri dari beberapa kelompok enzim, salah satu diantaranya adalah esterase (Pen dan Beintenema, 1986). Esterase merupakan enzim yang bekerja untuk merombak protein. Menurut Pen dan Beintenema (1986) karakteristik dan ekspresi isozim esterase akan berbeda untuk setiap organisme bahkan pada setiap jaringan. Salah satu jenis esterase adalah Cholinesterase yang berperan sebagai daya survival dari suatu spesies (Esbenshade dan Triantaphyllou, 1986; Habig *et al*, 1988 ; dan Frankel dan Middendorf III, 1991).



## II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

### 2.1 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan dua aspek yaitu pola ekspresi gen isozyme esterase dan jenis esterase serta intensitas jenis - jenis esterase yang ada pada ikan Batak (*Neollissochilus sumatranus*, *Neollissochilus thienemanni* dan *Neollissochilus longipinis*). Jenis esterase meliputi Carboxyl esterase (CE), Cholinesterase (CHO), aryl esterase (AR), Eserine Esterase (ESE), Esdp dan ER. Dari penelitian ini juga diharapkan akan didapatkan gen pembawa Cholinesterase. Dengan demikian dapat dikaji mana jenis Ikan Batak yang mempunyai ketahanan atau daya survival yang lebih baik terhadap parasit - parasit ikan maupun terhadap tekanan ekologi yang diterimanya.

### 2.2 MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaaan pola ekspresi gen isozymes esterase serta jenis - jenis esterase dan intensitasnya pada berbagai spesies ikan batak (*Neollissochilus sumatranus*, *Neollissochilus thienemanni* dan *Neollissochilus longipinis*), sehingga daya tahan ketiga spesies ikan Jurung terhadap berbagai parasit ikan maupun seleksi alam yang terjadi di habitatnya juga berbeda.

### III. STUDI PUSTAKA

#### 5.1 Ikan Batak (*Neollissochilus spp*)

Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati termasuk berbagai jenis ikan baik ikan laut maupun ikan air tawar yang cukup tinggi (Kotellat, 1993). Diantara ikan - ikan tersebut banyak pula yang mempunyai potensi ekonomis yang baik bila dapat dikembangkan dengan baik antara lain ikan Batak ini. Pemanfaatan sumber daya alam ini sering sekali tidak didukung oleh berbagai informasi keilmuan yang memadai sehingga pada akhirnya dapat merusak kelangsungan hidup suatu spesies. Bila pengelolaan sumber daya perikanan dilakukan dengan cara yang tidak rasional, maka dapat menyebabkan perubahan dalam struktur komunitas maupun populasi ikan yang pada akhirnya akan mengurangi manfaat sumber daya perikanan tersebut (Rupawan, *et al*, 1999).

Ikan Batak merupakan ikan air tawar yang banyak ditemukan hidup di sekitar sungai-sungai di Kabupaten Tapanuli Utara dan Simalungun, termasuk di kawasan Danau Toba. Ikan yang mempunyai bentuk tubuh yang khas dan berwarna keperakan ini banyak dikonsumsi oleh masyarakat sekitar terutama karena rasa dagingnya yang gurih yang disukai oleh banyak orang sehingga harga ikan ini relatif mahal (Nekad, 2001, Gurning *et al*, 2002)

Ikan Batak (*Neollissochilus spp*) hidup pada tiga ekosistem perairan yaitu perairan mata air, sungai dan danau terutama pada bagian hulu sungai dengan dasar perairan berpasir atau berbatu (Gurning *et al*, 2002).

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan oleh Kotellat *et al* (1993) didapatkan tiga spesies ikan batak yaitu *Neollissochilus sumatranus*, *Neollissochilus thienemanni* dan *Neollissochilus longipinis*.

Menurut Kottelat *et al* (1993) *Neollissochilus* spp merupakan ikan - ikan yang sebagian jenisnya terancam punah karena habitatnya yang mulai terganggu dan penangkapan yang berlebihan. *Neollissochilus* spp termasuk pada ikan ordo Cypriniformes, Famili Cyprinidae yang umumnya hidup di perairan yang jenis. Adapun. *Neollissochilus sumatranus* mempunyai lebar badan 3,1 - 3,5 kali lebih pendek dari panjang standar; 7 - 8 sisik di depan sirip punggung; 4 baris pori - pori pada masing - masing sisi moncong dan di bawah mata; alur dari bagian belakang sampai ke bibir bawah terputus di bagian tengah. *N. thienemanni* mempunyai ciri - ciri lebar badan 4 kali lebih pendek dari panjang standar; 10 sisik di depan sirip punggung; 26 sisik pada garis literal; 10 baris pori - pori yang tidak teratur pada sisi moncong dan mata bagian bawah. Ikan batak jenis *Neollissochilus longipinis* mempunyai ciri lebar badan 3,4 - 3,6 kali lebih pendek dari panjang standar; 8 - 9 sisik di depan sirip punggung; alur dari bagian belakang sampai bibir bawah tidak terputus di bagian tengah. Bagi daerah Sumatera Utara jenis ini merupakan jenis yang bernilai penting karena sering digunakan dalam upacara - upacara adat dan saat ini keberadaannya sudah semakin langka. ( Kottelat *et al*, 1993 dan Nelson, 1994).

Pada kondisi alamiah ikan batak dapat berbiak ditandai dengan induk ikan yang telah matang gonad, berukuran 1,2 - 2,2 kg per ekor, mulai mencari tempat untuk berlindung. Pemijahan ikan batak akan dilakukan di antara - batu - batu koral, dimana telur akan menetas setelah 10 hari kemudian (Gurning *et al*, 2002)

Selain di daerah Sumatera Utara, ikan jenis *Neollissochilus* lain di temukan di Sungai Korala India Selatan yaitu *Neollissochilus wayanadensis*, jenis ikan yang endemik pada sungai tersebut dan terancam punah keberadaannya ( Kurup *et al*, 2004)

## 5.2 Isozim

Isozim multilokus protein memegang peranan yang penting dalam berbagai bidang ilmu yang berkaitan dengan studi proses ekspresi gen serta perbandingan dan klasifikasi dari sistem protein ( Frankel, 1983, Kijima dan Fujio, 1990 dan Scandalious. 1992 ). Isozim juga dapat berfungsi sebagai 'marker' dari struktur, fungsi dan perubahan gen regulator yang terjadi selama proses penggandaan (duplikasi) gen dan seleksi alam (Markert, 1987 dan Shaklee *et al*, 1990 ).

Sistem multilokus isozim merupakan hasil dari beberapa kali proses penggandaan gen yang diikuti oleh pemisahan dari lokus yang mengalami penggandaan. Pada dasarnya, isozim tersebut biasanya muncul pada semua jaringan suatu species (Nei, 1978, 1987).

Pada umumnya di dalam sel, enzim biasanya berfungsi sebagai pemelihara atau 'housekeeping', dimana enzim berfungsi untuk membantu proses metabolisme dasar yang diperlukan oleh sel. Akan tetapi, ada beberapa jenis enzim yang hanya membantu proses metabolisme tersebut hanya pada sel - sel tertentu dan pada jaringan tertentu (Powers, 1991). Selanjutnya, enzim - enzim yang mempunyai perbedaan baik fungsi fisiologisnya maupun pemunculannya (ekspresi) pada tempat dan waktu tertentu dapat menunjukkan adanya suatu metabolisme khusus yang terjadi dan dibutuhkan pada sel -sel tertentu, jaringan ataupun suatu organ (Supriharti dan Frankel, 1998).

Isozim merupakan suatu marker yang sangat baik dan banyak digunakan dalam menganalisa pemunculan suatu gen, seperti dapat mengidentifikasi proses - proses biokimia yang pada awalnya belum dikenal (Markert, 1987; Pasteur *et al*, 1988; Kijima dan Fujio, 1990). Di samping itu, isozim sangat berguna untuk mengidentifikasi spesies yang tersembunyi yang tidak dapat dibedakan secara morfologi (Markert, 1987) dan juga dapat mendeteksi individu - individu yang homozigot atau heterozigot, polimorfism genetik, sistem persilangan dan struktur populasi (Murphy *et al*, 1990).

### 5.3 Esterase

Isozim terdiri dari beberapa kelompok enzim, salah satu di antaranya adalah esterase (Pen dan Beintenema, 1986). Esterase merupakan enzim yang bekerja untuk merombak protein. Menurut Pen dan Beintenema (1986) karakteristik dan ekspresi isozim esterase akan berbeda untuk setiap organisme bahkan pada setiap jaringan.

Isozim esterase bekerja pada substrat yang tidak spesifik, dalam arti kata esterase mempunyai banyak substrat, sehingga jumlah locus dari gen yang mengkode esterase dan juga fungsinya pada suatu jaringan akan berbeda . Li dan Fan (1997) menyatakan bahwa aktifitas isozim esterase ditemukan pada berbagai ikan yang hidup di air tawar seperti *Pseudorasbora parva*, *Carrasius auratus*, *Cambusia affinis* dan *Salmo gairdneri*, di mana distribusinya lebih terkonsentrasi pada bagian pencernaan.

Aktifitas esterase yang paling tinggi terdapat pada ikan nila (*Tilapia nilotica*). Isozim esterase pada ikan *G. ternetzi* menunjukkan pola ekspresi penyebaran yang tinggi pada hampir semua jaringan, akan tetapi aktifitas esterase yang tertinggi didapatkan pada mata dan yang terendah pada insang. Sedangkan pada *Chanos chanos* yang tersebar dari Aceh sampai Sulawesi selatan terekspresi dua esterase (Sugama dan Prijono, 1998).

Berdasarkan uji terhadap inhibitor didapatkan 4 jenis esterase pada semua jaringan ikan *G. ternetzi* yaitu CHO (Cholinesterase), ER (Eserine Resistant), ESdp (esterase sensitif terhadap PCMB dan/atau PHMB serta Ese atau Eserine sensitif (Supriharti, 2003).

Salah satu dari jenis esterase yaitu Cholinesterase (CHO) yang mempunyai peranan penting terhadap daya survival beberapa spesies (Esbenshade dan Triantaphyllou, 1986; Habig *et al*, 1988 ; dan Frankel dan Middendorf III, 1991). Cholinesterase sendiri terdiri atas Asetilcholinesterase dan Pseudocholinesterase, dimana asetilcholinesterase merupakan Cholinesterase yang dapat menghidrolisa asetilcholin (Esbenshade dan Triantaphyllou, 1986; Frankel dan Middendorf III, 1991 dan Huang *et al*, 1996).

Klasifikasi isozim esterase secara tradisional dapat dilakukan berdasarkan kemampuannya merombak substrat yang berbeda dan daya tahannya terhadap suatu senyawa inhibitor. Secara umum suatu esterase dapat dikelompokkan atas empat kelompok besar yaitu Carboksyl esterase (CE), EC 3.1.1.1; Aryl esterase (AR), EC 3.1.1.2, Cholinesterase (CHO), EC 3.1.1.7 dan EC 3.1.1.8. Cholinesterase dapat dipisahkan menjadi dua bagian yaitu Asetylcholinesterase dan Pseudocholinesterase (Hart dan Cook, 1977; Varma dan Frankel, 1980, Triantaphyllidis *et al*, 1981; Schmidt dan Schmidt, 1994; Antosiewicz *et al*, 1995).

Menurut Leslie dan Pontier (1998) pada kelompok Wan Poeciliidae didapatkan lima kelompok esterase termasuk carboksilesterase, dan eserine sulfate - sensitif esterase. Dua lokus yang mengkode carboksilesterase bersifat saling terpaut satu sama lain sehingga mempengaruhi ekspresi jenis esterase pada berbagai jaringan yang diamati.

Menurut Leslie dan Pontier (1998) pada kelompok ikan Poeciliidae didapatkan 5 kelompok estererase termasuk carboksilesterase, dan eserine sulfate - sensitif esterase. Dua lokus yang mengkode carboksilesterase bersifat saling terpaut satu sama lain sehingga mempengaruhi terhadap ekspresi jenis estererase pada berbagai jaringan yang diamati.

Pada *Oryzaephilus surinamensis* didapatkan adanya ekspresi asetilcholinesterase serta carboksilesterase yang menunjukkan adanya resistansi terhadap berbagai senyawa kimia seperti malathion dan Chlorypyrifos - methyl. Aktifitas carboksilesterase ternyata menunjukkan kenaikan dengan melakukan pemberian substrat alpha - naphthyl asetat. (Lee dan Lee, 2001).

#### **5.4. Elektroforesis**

Elektroforesis merupakan tehnik yang sudah dipakai oleh banyak peneliti terutama peneliti yang berkaitan dengan genetika ataupun molekular. Elektroforesis bersama -sama dengan tehnik pewarnaan histochemical telah terbukti sangat berguna dalam pemisahan berbagai variasi protein baik yang terdapat pada intra maupun extra spesies (Pasteur *et al*, 1988 dan Weistemeier, 1993). Selain itu elektroforesis juga telah digunakan untuk mendekripsi variasi gen dari suatu spesies ataupun suatu populasi (Frankel, 1982 , Hoelzel dan Dover, 1994).

## IV DESAIN DAN METODOLOGI PENELITIAN

### a. Analisis isozim esterase

Penelitian akan dilakukan di laboratorium Genetika Biologi FMIPA Universitas Sumatera Utara. Sampel akan diambil di Sungai - Sungai danau Toba yang berada di Sumatera Utara. Sampel diambil secara random langsung dari sungai dan dimasukkan ke dalam - kantong - kantong plastik yang berisi air, sampel dijaga agar tetap hidup sampai di laboratorium. Bila tidak memungkinkan dibawa dalam keadaan hidup sampel dibawa dengan terlebih dahulu memasukkan ke dalam es untuk mencegah denaturasi protein serta disimpan segera didalam cool storage dengan suhu yang diatur sampai 4 °C dan dibawa segera ke laboratorium untuk dianalisa secara elektroforesis. Pengambilan sampel akan dilakukan selama 2 kali pengambilan. Sampel untuk elektroforesis diambil dari 6 (enam) organ yaitu otak, mata, otot, usus, lambung dan insang. Masing - masing organ dibilas dengan air suling untuk selanjutnya dihancurkan sampai halus. Masing - masing organ dibilas dengan air suling untuk selanjutnya dihancurkan sampai halus. Perlakuan khusus diberikan untuk usus dan lambung yaitu dengan membuang terlebih dahulu semua isi kedua jaringan tersebut. Sampel yang telah hancur dihomogenkan dengan menggunakan 0,2 M Tris -HCl dalam larutan 0,3 Sukrosa dengan pH 8,0.

Setelah larutan homogen pada larutan tersebut ditambahkan bromophenol blue sebagai pewarna dan selanjutnya sampel disentrifus pada 15000 rpm sampai menghasilkan supernatan yang segera dianalisa dengan menggunakan elektroforesis (Frankel dan Middendorf III, 1991).

### b. Analisa Elektroforesis

Analisa elektroforesis dilakukan dengan menggunakan slab gel elektroforesis pada EC Model 490 horizontal Cell. Selama proses elektroforesis, suhu gel dijaga konstans sekitar 4° C. Adapun gel yang digunakan adalah Acrylamide gel dengan konsentrasi 7 %

yang dipasangkan pada 300 voltage. *Buffer yang* digunakan adalah 0.155M Tris -sitrat dengan pH 6.8. Proses analisa elektroforesis dihentikan setelah "gel running" selama 4 (empat) jam. Setelah proses running selesai maka gel diberi bahan inhibitor dan selanjutnya diberi pewarna Fast Blue RR.

#### c. **Klasifikasi Esterase**

Untuk menentukan jenis esterase yang didapatkan digunakan uji pada berbagai inhibitor. Gel di potong secara vertikal dan diinkubasikan pada 0,2 M Tris -HCl dan yang lainnya pada salah satu inhibitor berikut ini :  $10^{-3}$  M PHMB (parahidroksimerkuribenzoat).  $10^{-3}$  M PCMB ( parakloromerkuribenzoat),  $10^{-4}$  M DFP (diiSoprophyflourophospat ) dan  $10^{-4}$  M ES ( eserin sulfat) . Kedua potongan gel tersebut diinkubasikan selama 30 menit selanjutnya diberi warna Fast Blue RR (Supriharti dan Frankel, 1998).

#### d. **Pewarnaan.**

Pewarnaan dilakukan dengan cara menginkubasikan gel pada larutan pewarna yang terdiri atas  $\alpha$  - naphthyl asetat ,  $\alpha$  - naphthyl myristat,  $\alpha$  - naphthyl proponat sebagai substratnya, dimana komposisi zat warna adalah 50mg substrat yang dilarutkan pada 1 ml aseton dan 100 mg fast blue RR salt pada larutan buffer 0,2 M Tris -HCl sebanyak 60 ml dengan pH 8,0. Selanjutnya gel diinkubasikan pada inkubator dengan suhu konstant  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit.

Bila proses pewarnaan selesai dan didapatkan band dari isozyme esterase maka gel disimpan pada 7 % asam asetat (Frankel, 1982)

#### e. **Intensitas isozim**

Derajat esterase dapat diamati berdasarkan tingkat penurunan intensitas warna pada berbagai jenis inhibitor yang berbeda. Dimana . +++ = aktifitas tinggi, ++ = aktifitas sedang, + = aktifitas rendah, dan -- = tidak ada aktifitas.

Jenis esterase akan dikelompokkan pada Carboxyl esterase (CE), Cholinesterase (CHO), aryl esterase (AR), Eserine Esterase (ESE), Esdp dan ER berdasarkan tingkat penurunan intensitas warna tersebut.

#### **f. Analisis data**

Data yang dianalisa adalah nilai relatif mobility (Rf Value) yang akan dianalisis menggunakan Standard Deviasi dengan cara mengambil nilai rata - rata rf value dari setiap individu. Rf value tidak akan berbeda lebih dari satu standard deviasi dari nilai Rf yang telah ditentukan.



## V . HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Tingkat Ekspresi Isozim Esterase

Hasil penelitian tentang pola distribusi isozim esterase pada ikan batak *Neollisochilus sumatranus*, *Neollisochilus thienemanni* menggunakan substrat anaphthyl asetat dan a-naphthyl myristat menunjukkan jumlah total esterase yang didapatkan dari keenam jaringan yang diamati adalah delapan isozim esterase yang mempunyai pola distribusi yang berbeda. Nilai Rf Value isozim esterase yang didapatkan berkisar dari 0,051 - 0,503. Lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel- tabel berikut.

Tabel 1. Distribusi isozim Esterase pada ikan *Neollisochilus sumatranus* menggunakan substrat a-naphthyl asetat.

Isozim Esterase	Jaringan dan Nilai RF dari esterase					
	Mata	Insang	Otak	Otot	Usus	Lambung
E-1	0,051	-	0,051	0,051	-	-
E-2	0,098	-	-	-	0,098	0,098
E-3	-	0,146	-	-	0,145	0,146
E-4	0,181	0,181	0,181	-	-	-
E-5	-	-	-	0,239	0,239	0,239
E-6	-	-	-	-	0,336	0,336
E-7	-	-	-	-	0,431	-
E-8	0,503	-	-	-	-	-

Distribusi dan aktivitas isozim esterase pada *Neollisochilus sumatranus* dengan menggunakan substrat a-naphthyl asetat adalah cukup tinggi. Hal ini terlihat dengan jumlah esterase sebanyak 8 esterase yang menyebar hampir pada semua jaringan dengan kisaran nilai Rf adalah 0,051 sampai dengan 0,503. Jaringan yang mengekspresikan paling tinggi esterasesnya adalah usus (5 esterase) serta lambung dan mata dengan masing -masingnya 4 esterase Sementara itu, jaringan insang dan otot merupakan dua jaringan yang

mempunyai ekspresi esterase terendah dengan masing - masingnya 2 esterase. esterase E-3 ( nilai Rf 0.146) merupakan esterase yang paling banyak tersekspresi yaitu pada empat jaringan kecuali pada mata dan otot, sedangkan E-8 ( nilai Rf 0,503) hanya terekspresi pada mata.

Tabel 2. Distribusi isozim Esterase pada ikan *Neollissochilus sumatranus* menggunakan substrat a-naphthyl myristat.

Isozim Esterase	Jaringan dan Nilai RIF dari esterase					
	Mata	Insang	Otak	Otot	Usus	Lambung
E-1	-	-	-	0,051	0,051	-
E-2	-	0,098	-	-	-	-
E-3	-	-	-	0,146	-	-
E-4	0,181	0,181	-	-	0,239	-
E-5	-	-	-	0,239	-	-
E-6	-	-	-	0,336	-	-
E-7	-	-	-	0,431	-	-

Diantara keenam jaringan yang diamati, otot merupakan jaringan yang mempunyai jumlah esterase terbanyak, yaitu lima isozim dengan nilai Rf-nya berkisar 0,051 - 0,431. Adapun esterase yang tidak ditemukan pada otot adalah esterase E-2 dan E-4 yang masing-masing mempunyai nilai Rf 0,098 dan 0,181. Berlawanan dengan jaringan otot, otak dan lambung merupakan dua jaringan yang tidak mempunyai satupun esterase. Phenomena ini menunjukkan bahwa tingkat aktivitas esterase di otot sangat tinggi dibandingkan dengan jaringan lain, sementara itu tidak ditemukan adanya aktivitas esterase pada dua jaringan lain yaitu otak dan lambung.

Meskipun tingkat aktivitas esterase dengan substrat a-naphthyl myristat tidaklah tinggi, akan tetapi penggunaan a-naphthyl myristat sebagai substrat menunjukkan pola distribusi esterase yang juga sangat bervariasi. Diantara ketujuh isozim esterase yang didapat dari *Neollissochilus sumatranus*, banyak diantaranya hanya muncul pada jaringan-jaringan tertentu. Beberapa isozim esterase hanya didapatkan pada satu jaringan dibandingkan dengan enam jaringan yang diamati. Hal ini dapat dilihat pada E-2, E-3, E-6

dan E-7. Diantara keempat esterase ini hanya E-2 yang muncul pada insang, sedang tiga esterase lainnya (E-3, E-6 dan E-7) hanya ditemukan pada otot saja. Sementara itu, esterase E-1, E-4 dan E-5 terdistribusi pada dua jaringan dari enam jaringan yang berbeda, dimana E-1 (nilai Rf 0,051) tersebar pada otot dan usus sedangkan E-4 (nilai Rf 0,181) hanya ditemukan pada mata dan insang saja dan E-5 (nilai Rf 0,239) terdapat pada otot dan usus.

Tabel 3. Distribusi isozim Esterase pada ikan *Neollissochilus thienemanni* menggunakan substrat a-naphthyl asetat.

Isozim Esterase	Jaringan dan Nilai RIF dari esterase					
	Mata	Insang	Otak	Otot	Usus	Lambung
E-1	0,051	-	-	0,051	-	-
E-2	0,098	-	-	-	0,098	0,098
E-3	-	-	0,098	-	0,146	0,145
E-5	0,239	-	-	0,239	0,239	0,239
E-6	-	-	-	-	0,336	0,336
E-7	-	0,431	-	-	0,431	-

Isozim esterase pada *Neollissochilus thienemanni* dengan menggunakan substrat a-naphthyl asetat. Juga dapat mengekspresikan banyak esterase seperti halnya dengan *Neollissochilus sumatranus* Akan tetapi jumlah esterase yang didapatkan berkurang yaitu 6 esterase yang tersebar pada keenam jaringan dengan kisaran nilai Rf 0,051 sampai 0,431, Usus dan lambung merupakan jaringan - jaringan yang paling banyak mengekspresikan esterase masing - masingnya 5 dan 4 esterase. esterase E - 4 (0,181) dan E-8 (0,503) tidak muncul pada Wan ini. Disatu sisi mata dan otak merupakan jaringan yang mengekspresikan esterase paling sedikit yaitu hanya satu dengan masing - masingnya mempunyai nilai Rf 0,431 dan 0,098.

Tabel 4 : Distribusi isozim Esterase pada ikan *Neollissochilus thienemanni* menggunakan substrat a-naphthyl myristat.

Isozim Esterase	Jaringan dan Nilai RIF dari esterase					
	Mata	Insang	Otak	Otot	Usus	Lambung
E-1	0,051	-	-	0,051	-	-
E-2	-	-	-	-	0.098	0.098
E-3	-	0146	0,146	-	0,146	0,145
E-4	0,181	0,181	-	-	-	-

Ekspresi isozim esterase pada ikan *Neollissochilus thienemanni* dengan menggunakan substrat a-naphthyl myristat menunjukkan tingkat ekspresi yang rendah, dimana hanya didapatkan 4 esterase dengan kisaran nilai Rf 0,051 - 0,181 yang tersebar pada ke enam jaringan. Masing - masing jaringan mengekspresikan dua esterase dengan nilai Rf yang berbeda sementara hanya otot yang mengekspresikan satu esterase dengan nilai Rf 0,051.

Penyebaran esterase pada jaringan jaringan *Neollissochilus sumatranus* dan *Neollissochilus thienemanni* dengan menggunakan substrat a-naphthyl myristat ini nampak lebih spesifik bila dibandingkan dengan distribusi esterase dengan menggunakan substrat a-naphthyl asetat. Penelitian terdahulu tentang pola penyebaran esterase pada ikan yang sama dengan substrat substrat a-naphthyl asetat yang dilakukan oleh Supriharti, et al. (1998) menunjukkan bahwa aktivitas esterase pada substrat ini jauh lebih tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah esterase yang lebih banyak dan menyebar lebih merata pada keenam jaringan yang diamati. Phenomena ini menunjukkan bahwa aktivitas esterase akan berbeda bila substrat yang digunakan berbeda. Tingginya tingkat variasi isozim esterase baik pada substrat maupun pada jaringan disebabkan karena sifat heterogen yang ditunjukkan oleh enzim-enzim yang termasuk pada kelompok hidrolase (Pen dan Beintinema. 1986). Selanjutnya Huang., et al. (1993) menyatakan bahwa propionat merupakan senyawa yang mempunyai rantai lebih panjang dibanding asetat, sehingga lebih sukar diuraikan. Hal ini sejalan dengan jumlah dan penyebaran esterase yang lebih tinggi pada substrat asetat dibanding dengan penggunaan substrat myristat.

Ditinjau dari derajat aktivitas esterase terlihat bahwa esterase yang mempunyai nilai Rf kecil seperti E-1 dan E-2 mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan esterase lain yang mempunyai Rf lebih tinggi. Dengan demikian, kemungkinan esterase yang mempunyai nilai Rf lebih rendah mempunyai berat molekul yang lebih besar dan cenderung bermuatan positif. Studi isozim sering sekali difokuskan pada adanya perbedaan ekspresi dari sistem protein multilokus dari spesies-spesies (Varma dan Frankel, 1980, Frankel, 1983). Penelitian-penelitian yang dilakukan tentang pola ekspresi gen isozim esterase menunjukkan adanya proses evolusi secara molekuler yang menunjukkan pengembangan tingkat spesies. Sehingga, adanya pola distribusi isozim esterase yang bervariasi dari suatu spesies menunjukkan bahwa spesies tersebut merupakan spesies yang lebih maju (Markert et al., 1975; Nei, 1983, Buth, 1995).

Bukti awal tentang adanya kespesifikan pemunculan isozim esterase pada berbagai jaringan antara ikan teleostei pertama kali diteliti pada spesies-spesies ikan yang primitif dari famili Hemiodontiade dan Gasteropelcidae, dimana esterase pada kedua famili ikan tersebut hanya ditemukan pada esterase jaringan usus dan hati. Keterbatasan distribusi yang sama juga dapat dilihat pada ikan-ikan leluhunya. Sementara itu, diantara ikan-ikan yang termasuk seri otophysi (misalnya Cyprinidae dan Characidae) menunjukkan adanya peningkatan baik dari tingkat kespesifikan ekspresi esterase pada berbagai jaringan maupun peningkatan jumlah total isozim esterase yang terekspresi.

Basil pengamatan isozim esterase pada ikan *Neollissochilus sumatranus* dan *A'eollissochilus thienemanni* yang dilakukan ini, menunjukkan ada delapan isozim esterase. Tingginya jumlah esterase yang terdistribusi pada ikan ini menunjukkan adanya peningkatan tingkatan spesies ikan ini, hal ini dapat dibandingkan dengan ikan otophysi lain, seperti *Labeo bicolor* dan *Crassius duratus*, yang mempunyai jumlah total isozim esterase yang lebih sedikit (Whiff, 1987, Markert, 1987).

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian di atas dapat diambil kesimpulan bahwa ekspresi isozim pada *Neollissochilus sumatranus* lebih banyak di banding *Neollissochilus thienemanni*. Hal yang sama didapatkan pada pemakaian substrat naphthyl asetat dibanding substat lainnya.

### 6.1 Saran

Untuk lebih menjawab tentang kemampuan survival dari ikan ini sebaiknya dilakukan penelitian melihat ekspresi dan jenis isozim esterase dengan perbedaan tingkat perkembangan.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Antosiewicz, J., McCammon, J.A., Wlodek. T dan Gilson. K., 1995. Simulations of Charge- Mutant Acethylcholinesterase. *Biochemistry*. 34 : 4211 - 4219.
2. Dinas Perikanan. 1999. **Studi Kasus Penangkaran Ikan Langka di Labuhan Batu dan Tapanuli Utara Sumut**. Dinas Perikanan Sumatera Utara. Medan
3. Esbenshade, P.R dan Triantaphyllou., A.C (1 986). Partial Characterization of Esterase in *Meloidogyne* (Nematoda). **Comp. Biochem.Physiol. 83B (1): 31 -38.**
4. Frankel, J.S. (1982). Serum esterases variation and characterization in populations of the longnose Garpike, *Lepisosteus osseus*. **Comp. Biochem. Physiol. 7313:347 -347.**
5. \_\_\_\_\_ (1983). Lactate dehydrogenase tissue specificity and characterization in the Teleost genus *Barbus*. **Comp. Biochem. Physiol. 76B : 103 -105**
6. \_\_\_\_\_ dan Middendorf 111, G.A. (1991). An Electrophoretic study of genetic variation in populations of yarrow's spiny lizard *Sceloporus jarrovi* (*Sauria, Iguanidae*) - I. Esterase characterization and polymorphism. **Comp. Biochem. Physiol. 100B: 173 -176.**
7. Habig, C; Di Giulio, R.T dan Abou- Donia, M.B. (1988). Comparative Properties of Channel Catfish (*Ictalurus punctuatus*) and Blue Crab (*Calinectes sapidus*) Acetylcholinesterases. **Comp. Biochem. Physiol. 91 C:293 - 300.**
8. Hardjamulya, A;N.,Suhenda dan .B. Wahyudin. 2002. Pengaruh Pakan berkadar protein berbeda terhadap pertumbuhan, laiu sintesis dan perkembangan ovari gelondongan ikan semah (*Tor douronensis*). **J.Penel. Perikanan.Ind. Vol. V. (4) :7-14.**
9. Hart, N.H. and Cook, M. 1976. Comparative analysis of tissues esterases of Zebra danio (*Brachydanio rerio*) and the Pearl danio (*B. albolineatus*) by disc gel electrophoresis. **Comp. Biochem. Physiol. 54B :357-364.**
10. Hoelzel, A.R. and Dover G.A.. 1994. Molecular approach to the analysis of genetic variation. In **Moleculer Genetic Ecology**, 15-20. IRL Press. Oxford University Press, Oxford New York.
11. Huang. T.L:Szekacs. A; Uematsu. T: Kuwano. E:Parkinson. A dan Hammock. B.D.. (1996). Hydrolysis of Carbonates, Thiocarbonates, carbamates, and Carboxylic Esters of a-Naphthol, P- Naphthol, dan p-Nitrophenol by Human, Rat , and Mouse Liver Carboxylesterases. **Pharmaceutical Research. 10 : 639 - 648.**

12. Kijima. A dan Fujio, Y (1990). Genetics analysis of populations structure in marine Teleost around Japan. Dalam **Isozymes : Structure, Function, and Use in Biology and Medicine. 177 - 206. Wiley-Liss, Inc.**
13. Kottelat, M., A.J. Whitten., S.N Kartikasari., and S. Wirjoatmodjo. 1993. **Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi.** Periplus Edition. Ltd. Indonesia.
14. Lee, SE dan EM Lees. 2001. Biochemical mechanisms of resistance in strain of *Oryzaephillus surinamensis* resistans to malathion dan chlorpyrofos - methyl. **J. Econ. Entomol.;** 94(3): 706 - 713
15. Lesli, JF dan PJ Pontier. 1998. Linkage conservations of homologous esterase loci in fish (Cyprinodontoidei: Poeciliidae). *Biochem. Genet.* 18(2):203 - 215
16. Li, SN dan DF. Fan. 1997. Activity of esterases from different tissues of freshwater fish and responses of their isozymes to inhibitors. **J. Toxicol. Environ.Health.;** 51(2):149-157.
17. Markert, C.L. (1987). Isozymes and the regulatory structure of the genome. Dalam **Isozymes ; Current Topics in Biological and Medical Research. Molecular and Cellular Biology. 14:1-17. Alan R. Liss, New York.**
18. Nei, M. (1987). Genetic polymorphism and the role of mutations in evolution. Dalam **Evolution of Genes and Proteins.** M.Nei dan R.H. Koehn. 165. Sinauer Associates Inc. Publishers. Saunderland, Massachussets.
19. Nelson, J.S., 1994. *Fishes of the World.* Third Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.
20. Nekat. 2002. Membelah Jeram, memeluk kehangatan sungai Wampu Sumut. [http://www. satulelaki.com](http://www.satulelaki.com).
21. Pasteur, N., Pateur, G., Bonhomme, F., Catalan, J. and Britton-Davidian, J. 1988. **Principles of Protein electrophoresis. In Practical Isozymes Genetics.** 15-29. Ellis Horwood Limited, Publishers. New York
22. Pen, J., dan Beintennema, J.J. (1986) Nomenclature of Esterase. **Biochem. Journal** **238:691-699.**
23. Powers, D.A (1991). Evolutionary Genetics of Fish. In *Advances in Genetics.* Edited by J.G Scandalious dan T.R.F.Wright 29 :1 19 -188. Academic Press, Inc. New York.
24. Rupawan: A.K. Gaffar dan Husnah. 1999. Beberapa sifat biologi dan ekologi ikan semah (*Tor douronensis*) di danau Kerinci dan Sungai Merangin, Jambi. **J. Penel. Perikanan. Ind.** Vol. V(4): 1-5.

25. Salamastrakis SS dan AA Ilaritos. 1998. Physicochemical characterization and tissue distribution multiple molecular forms of fish (*Trachurus trachurus*) esterase. **Comp. Biochem Physiol Bio.** 91(4):741 - 750.
26. Scandalious, J.G. (1992). Isozymes (book review) **Amer. Sci.** **80 :196**
27. Schmidt. E dan Schmidt, F.W. 1994. Serum Cholinesterase in Diabetes. In **Esterase, Lipases and Phospholipases. From Structure to Clinical Significance.** Edited by M.1 Mackness and M . Clerck. 71 - 89. Plenun Press. New
28. Shaklee, J.B., Busack, C., Marshall. A., Miller, M dan Phelps, S.R., (1990). The electroforetic of mixed stock fisheries of Pacific Salmon. In. **Isozymes: Structure, Function and Use in Biology and Medicine.** 235 - 265. Alan R. Liss. New York
29. Supriharti, D. & J.S. Frankel, Characterization of soluble esterase isozymes in five species of fishes in the Characidae. **Gene Families and Isozyme Bulletin** 31:56., 1998
30. Supriharti, D. 2003. Pola penyebaran dan Uji inhibitor isozin esterase pada jaringan ikan *Gymnocorymbus ternetzi* dengan menggunakan substrat a- naphthyl asetat. J. Teknologi Proses. USU. Vo.2(1) : 50- 55.
31. Syahdi. O.E., 2000. Agar Jurung Senantiasa Dapat Dinikmati Kawasan Ekosistem Leuser Harps Lestari.. **Bulletin Leuser.**
32. Triantaphyllidis, C.D., Damianakis, H., Economidis, P.S. and Karakousis, J. 1981. Genetic variation in greek Barbel populations-1. Esterases, LDH, MDH, ME, and PGM in *Barbus meridionalis* (Pisces, Cyprinidae). **Comp. Biochem. Physiol.** 7013:289-293.
33. Varma, A.K. dan Frankel, J.S (1980). A comparison of tissue esterase in the genus *Barbus* by vertical gel electrophoresis. **Comp. Biochem. Physiol.** 6813 : 267 -273.
34. Wirjoatmodjo, S., 2001. Fish Training and Ecological Survey at Leuser Ecosystem Area. Research Monitoring, and Information Division. Leuser Management Unit.