

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ikan merupakan salah satu makanan yang memiliki nilai gizi yang baik bagi tubuh, terutama kandungan proteinnya. Beberapa ikan air tawar yang sering dikonsumsi diantaranya adalah ikan gurame. Gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) merupakan salah satu ikan asli perairan Indonesia yang masuk dalam keluarga Anabantidae (Juragan, 2008). Salah satu kelebihan dari pembudidayaan ikan tersebut dibandingkan ikan air tawar lainnya adalah memiliki nilai ekonomi yang sangat menjanjikan (Diraja, 2007). Sekitar tahun 1997 harga jual ikan gurame sekitar Rp. 6000 – Rp. 8000 per kg (Bappenas, 1997). Akan tetapi, harga jual ikan gurame sekarang di pasar-pasar tradisional ataupun supermarket berkisar Rp 25.000 - Rp 35.000 per kg sementara ikan mas hanya Rp 12.000 – Rp 14.000 per kg (Merdeka, 2009). Walaupun adanya kenaikan harga yang sangat tinggi, para pembudidaya ikan gurame sempat mengalami permasalahan yang cukup serius. Ikan – ikan gurame terinfeksi oleh suatu bakteri sehingga mempengaruhi kualitasnya untuk dijual. Pada bulan Oktober tahun 2005, sebanyak kurang lebih 47 ton ikan gurame dan 2,1 juta ekor benih yang siap untuk dipasarkan milik kelompok tani ikan Mutiara Sukma di Kanagarian Lubuk Pandan mengalami kematian. Berdasarkan hasil uji laboratorium, ikan positif terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan ditemukannya bakteri tersebut pada organ ginjal dan adanya borok pada bagian kulit tubuhnya. Bakteri tersebut

mengakibatkan nafsu makan berkurang, tukak pada kulit dan penimbunan cairan dirongga tubuh sehingga menimbulkan kematian pada ikan gurame (Diraja, 2008). Oleh karena hal tersebut para petani gurame mengalami kerugian cukup besar.

Bakteri *A. hydrophila* tersebar luas di perairan air tawar terutama yang mengandung bahan organik tinggi (Lestari, 2001). Kualitas air yang tidak baik dapat menimbulkan penyakit pada ikan dan berdampak pada turunnya produksi bahkan kerugian bagi petani ikan (Hernawati & Suantika, 2007). Selain dapat menimbulkan kematian juga dapat mengakibatkan kualitas daging ikan menurun (Supriyadi, 2002). Oleh karena itu, perlu adanya jaminan kualitas ikan konsumsi yang baik. Salah satunya dengan penyediaan induk unggul yang dihasilkan melalui perbaikan genetik sehingga dapat diperoleh keturunan gurame yang tahan infeksi *A. hydrophila*.

Penelitian untuk memperoleh ikan gurame yang dapat tahan terhadap *A. hydrophila* ini diawali dengan menganalisis variasi genetik antara gurame yang resisten dan sensitif dengan penanda RAPD. Hal tersebut pernah dilakukan oleh Holipah (2006), dua primer RAPD yaitu OPA 2 (5'-TGCCGAGCTG-3') dan OPA 20 (5'-GTTGCGATCC-3') mampu membedakan antara DNA sensitif dan resisten terhadap infeksi bakteri. Akan tetapi, pita spesifik yang terpaut pada sifat ketahanan terhadap *A. hydrophila* tidak diperoleh. Kemudian, penelitian lanjutan dilakukan oleh Muhsinin (2007) dengan menggunakan penanda lain yakni ISSR. Ternyata pita DNA gurame yang diperoleh tidak dapat dianalisis dengan penanda ISSR. Walaupun demikian, dari hasil penelitian tersebut dapat diketahui beberapa motif mikrosatelit/SSR pada DNA gurame resisten dan sensitif. Oleh karena itu,

penelitian untuk memperoleh pita DNA spesifik terhadap sifat ketahanan pada *A. hydrophila* terus dilakukan.

Penanda *Simple Sequence Repeats* (SSR) atau dikenal dengan mikrosatelit merupakan penanda yang dapat mendeteksi kekerabatan dengan lebih baik dibandingkan dengan penanda molekuler yang lain seperti RAPD (Septiningsih *et al.* 2004). Menurut Sartika *et al.* (2004) penanda tersebut mempunyai derajat polimorfisme yang tinggi, karena ukuran alelnya dapat dibedakan sampai 1 pb dan bersifat kodominan alel. Selain itu, kelebihan lain dari penanda SSR ini bersifat spesies spesifik. Wahyu (2009), Arrizqiyani (2009) dan Aprilian (2009) telah melakukan analisis variasi genetik pada gurame yang diinfeksi oleh *A. hydrophila* dengan 11 penanda SSR.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wahyu (2009), memperlihatkan bahwa dari tiga primer SSR yang digunakan hanya primer GE 1.7 yang dapat membedakan antara DNA gurame yang resisten dan sensitif pada suhu *annealing* 44°C. Sedangkan hasil penelitian Arrizqiyani (2009) pada suhu *annealing* sebesar 43°C dua primer mampu membedakan populasi ikan yang resisten dan sensitif. Begitu juga dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Aprilian (2009) hanya primer GE.1.b dengan suhu *annealing* 43°C yang dapat membedakan DNA gurame resisten dan sensitif. Walaupun ketiga penelitian tersebut dapat membedakan antara DNA resisten dan sensitif, tetapi masih memiliki kekurangan yakni pita yang muncul masih terlalu banyak. Masih banyaknya pita yang muncul menyebabkan pita yang ada masih dianggap kurang spesifik.

Menurut Rahman *et al* (2000) peningkatan suhu *annealing* mampu meningkatkan kespesifikan pita DNA. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat variasi genetik ikan gurame yang diinfeksi oleh *A. hydrophila* dengan menggunakan penanda SSR. Pada penelitian ini, suhu *annealing* yang digunakan di atas 49 °C agar memperoleh pita yang lebih sedikit yang berkisar antara 1-4. Menurut Pabendon *et al* (2004) untuk membedakan produk PCR penanda SSR yang ukurannya berkisar 130-200 pb dengan susunan nukleotida yang berbeda 2 pb tidak dapat menggunakan gel agarosa. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan gel poliakrilamid untuk melihat DNA gurame yang diamplifikasi menggunakan penanda SSR.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana variasi genetik *Osphronemus gouramy* Lac. yang sensitif dan resisten terhadap *Aeromonas hydrophila* dengan menggunakan penanda *Simple Sequence Repeat* (SSR)?

C. Batasan Masalah

1. DNA berasal dari ikan populasi Blusafir yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* hasil penelitian Saptiani (2005) dan Meita (2005).
2. Primer SSR (*Simple Sequence Repeat*) yang digunakan adalah GE 1.7 dengan motif (CCA)₈(TCA)₂, GE 1.9 dengan motif (GCA)(CAA), GE 1.10 dengan motif (GCA)₅(GTG)₇ dan GE 1,4 dengan motif (GCT)₉.

3. Suhu *annealing* yang digunakan untuk optimasi di atas 49°C.
4. Konsentrasi gel agarosa untuk elektroforesis hasil PCR dengan primer SSR sebesar 3% selama 150 menit dengan sebesar tegangan 50 volt.
5. Konsentrasi gel poliakrilamida yang digunakan 6%, selama 3,5 jam dengan tegangan 150 volt.

D. Pertanyaan Penelitian

1. Berapakah suhu *annealing* yang cocok untuk masing-masing primer SSR yang dipakai?
2. Apakah dihasilkan jumlah pita antara 1-4 pada elektroforesis hasil PCR dengan primer SSR ?
3. Berapakah nilai heterozigositas dan PIC (*Polymorphic Information Content*) pada primer SSR yang digunakan ?
4. Apakah primer SSR yang digunakan mampu membedakan DNA ikan gurame yang resisten dan sensitif terhadap *Aeromonas hydrophila*?

E. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui varisasi genetik ikan gurame (*Osphronemous gouramy Lac.*) Blusafir yang sensitif dan resisten terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan menggunakan penanda SSR (*Simple Sequence Repeat*) pada suhu *annealing* di atas 49°C.

F. Manfaat Penelitian

1. Untuk menambah informasi mengenai variasi genetik dari ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dengan menggunakan penanda genetik.
2. Untuk mendeteksi DNA ikan gurame resisten dan sensitif terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* yang pada akhirnya dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam program perbaikan mutu genetik ikan.

