

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Gurame (*Osphronemous gouramy Lac.*) merupakan jenis ikan air tawar yang banyak dibudidayakan oleh petani karena mudah berkembang biak dan dapat memijah sepanjang tahun di daerah tropis (Pawarti *et al.*, 2006). Ikan ini merupakan sumber protein hewani yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena memiliki daging yang empuk dan rasa yang lezat. Selain itu, gurame juga dapat dijadikan sebagai ikan hias yang memiliki harga jual cukup tinggi dan relatif stabil, yang apabila dilihat dari aspek bisnis dapat memberikan keuntungan yang besar. Berdasarkan hal tersebut, ikan gurame menjadi salah satu ikan air tawar yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia.

Dalam proses pembudidayaan ikan gurame, petani Indonesia mengalami beberapa kendala, salah satunya adalah kematian ikan yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Infeksi ini menyebabkan nafsu makan ikan menurun, terdapat luka borok atau bintik-bintik merah karena pendarahan pada badan ikan, sirip yang membusuk, mata menonjol dan sebagian organ dalam hancur (Kurniadie, 2005; Meita, 2005). Infeksi tersebut selanjutnya menyebabkan kematian masal ikan gurame, sehingga para petani mengalami kerugian yang cukup tinggi (Diraja, 2007).

Pada banyak kasus, populasi ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* tidak semuanya mengalami kematian, ada sebagian ikan yang masih hidup. Sebagai contohnya adalah pada saat serangan bakteri *A. hydrophila* di daerah

Kabupaten Bandung pada bulan Juli 2002. Jumlah keseluruhan ikan yang terserang pada bulan Juli 2002 adalah 442,4 ton dan 10% dari jumlah tersebut masih ada yang hidup (Pikiran Rakyat, 2002 dalam Holipah, 2006). Ikan-ikan yang bertahan hidup tersebut merupakan ikan unggul yang berpotensi menjadi ikan yang resisten terhadap infeksi bakteri *A. Hydrophila*.

Selama ini, para petani ikan gurame pada umumnya melihat kualitas ikan dari morfologi saja. Namun, petani belum bisa menentukan secara pasti antara ikan yang resisten dengan ikan yang sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila*. Penanda DNA sangat potensial untuk membantu memecahkan masalah ini, karena teknik ini sudah dapat menunjukkan adanya perbedaan antara individu dalam satu species yang tinggi (Kusumawaty *et al.*, 2008).

Salah satu penanda DNA yang saat ini banyak digunakan untuk melihat variasi genetik diantaranya adalah mikrosatelit. Mikrosatelit adalah sekuen sederhana yang berulang-ulang dua sampai empat motif sekuen nukleotida sebagai sekuen konservatif dan melimpah dalam genom suatu spesies. (Prasetyono *et al.*, 2003). Kelebihan utama dari penanda mikrosatelit adalah pada sifat polimorfisme dan daya pembeda yang sangat tinggi, terutama pada individu yang memiliki hubungan kekerabatan sangat dekat (Xu *et al.*, 2001 dalam Kusumawaty *et al.*, 2008). Sifat tersebut dapat dikembangkan sebagai alat identifikasi genotif (Kusumawaty *et al.*, 2008).

Menurut Skirmisdottir *et al.*, (2008) terdapat beberapa keuntungan menggunakan penanda mikrosatelit dibandingkan dengan penanda DNA lainnya, diantaranya penanda mikrosatelit ini menggunakan DNA dalam jumlah sedikit karena menggunakan proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*) sehingga lebih

mudah, cepat dan ekonomis dalam pengaplikasiannya. Selain itu, mikrosatelit memiliki kemampuan segregasi populasi seakurat RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), yaitu dapat mendeteksi sifat kodominan, artinya dapat membedakan antara yang homozigot dan heterozigot. Pendeteksian populasi segregasi dengan menggunakan penanda mikrosatelit pada gel poliakrilamida akan dapat dilakukan secara cepat, tepat, dan efisien (McCouch *et al.*, 1997). Menurut Gupta *et al.*, (1996), motif mikrosatelit terdistribusi pada seluruh kromosom sehingga diharapkan semakin tinggi kemungkinan untuk mendapatkan penanda yang terpaut dengan suatu sifat tertentu dan memunculkan pola larik DNA yang polimorfik.

Dalam proses pemunculan larik-larik DNA hasil amplifikasi dengan menggunakan primer mikrosatelit dapat digunakan media gel agarosa atau gel poliakrilamida. Gel agarosa banyak digunakan untuk elektroforesis DNA sedangkan gel poliakrilamida umumnya digunakan untuk proses separasi protein. Kemampuan separasi gel poliakrilamida lebih tinggi dibandingkan gel agarosa. (Sambrook *et al.*, 1989). Menurut Reddy *et al.*, (1999) gel poliakrilamida secara efektif dapat digunakan untuk pemisahan fragmen DNA dari ukuran 200-1000 pasang basa (pb).

Berdasarkan uraian di atas, dilakukan penelitian untuk mengetahui variasi genetik ikan gurame yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan penanda mikrosatelit. Penggunaan penanda mikrosatelit yang bersifat polimorfik dan memiliki daya pembeda yang sangat tinggi serta penggunaan gel poliakrilamida yang dapat memisahkan fragmen DNA dengan baik, diharapkan dapat memunculkan pola larik DNA yang polimorfik sehingga

bisa digunakan untuk mengidentifikasi ikan yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila*. Setelah diperoleh primer mikrosatelit yang dapat membedakan ikan yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila*, diharapkan dapat berkontribusi dalam memberikan informasi pada penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan sifat ketahanan ikan gurame terhadap infeksi *A. hydrophila*.

### **B. Rumusan Masalah**

Apakah primer mikrosatelit yang digunakan yaitu GEB3; GE 3.3; GE 3.1; dan GEB1b dapat membedakan variasi genetik ikan gurame resisten dan sensitif terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh primer yang dapat membedakan variasi genetik ikan gurame yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan penanda mikrosatelit

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang primer mikrosatelit yang dapat membedakan variasi genetik gurame yang resisten dan sensitif terhadap infeksi bakteri *A. hydrophila*. Diharapkan akan diperoleh penanda DNA yang dapat membedakan ikan yang resisten dan sensitif terhadap infeksi bakteri *A. hydrophila*. Dengan diperolehnya penanda DNA tersebut akan

sangat membantu para pemulia ikan gurame dengan program perbaikan mutu ikan untuk mendapatkan ikan gurame yang unggul.

### E. Pertanyaan Penelitian

1. Berapakah suhu *annealing* optimum untuk keempat primer mikrosatelit yang digunakan?
2. Berapakah nilai PIC (*Polimorfic information Content*) dan nilai rata-rata heterozigositas primer mikrosatelit yang digunakan untuk menganalisis semua sampel ikan gurame yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila*?
3. Bagaimanakah hubungan genetik ikan gurame yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila* menggunakan penanda mikrosatelit berdasarkan nilai kesamaan Nei & Li ?

### F. Batasan Masalah

- Ikan yang digunakan adalah gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) populasi bluesafir yang resisten dan sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila* yang diperoleh dari hasil penelitian Kurniadie (2005); Meita (2005).
- Konsentrasi  $MgCl_2$  yang digunakan adalah 2mM.
- Suhu *annealing* yang digunakan antara 37-45°C
- Konsentrasi gel poliakrilamida yang digunakan adalah 6% pada tegangan 150 Volt dalam waktu 3,5 jam.
- Primer mikrosatelit yang digunakan adalah empat primer mikrosatelit hasil penelitian Kusumawaty *et al*, (2008) yaitu GEb3, GE 3.3, GE 3.1, GEB1b.