

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki potensi kekayaan sumber daya alam yang melimpah, salah satunya berasal dari sektor perikanan budidaya. Perikanan budidaya di Indonesia memiliki potensi yang cukup besar untuk dikembangkan. Potensi perairan yang dapat dikembangkan diantaranya adalah perairan tawar, perairan payau dan perairan laut. Menurut data hasil produksi perikanan budidaya yang dimiliki Kementerian Kelautan dan Perikanan (KPP) pada tahun 2016 produksi perikanan budidaya meningkat 1,36% dari tahun 2015 dengan total produksi perikanan budidaya 17,22 juta ton dan perikanan tangkap 6,04 juta ton. Sektor kelautan dan perikanan Indonesia memiliki beberapa komoditas unggulan salah satu komoditas unggulan pada perairan budidaya adalah Gurame.

Ikan gurame yang memiliki nama ilmiah *Osphronemus gouramy* merupakan ikan air tawar asli perairan Indonesia yang sudah menyebar ke seluruh perairan Asia Tenggara dan Cina. Ikan gurame banyak digemari masyarakat Indonesia karena memiliki rasa yang sangat gurih, lezat dan daging yang tebal (Djarjah & Purpowardoyo, 1992). Berdasarkan data statistik Perikanan Budidaya Indonesia, perkembangan produksi ikan gurame sejak tahun 2013 mengalami peningkatan produksi ikan gurame secara nasional berada dikisaran 100.000 ton. Pada tahun 2017 produksi ikan gurame telah mencapai 405.304 ton. Namun demikian masih banyak kendala yang dihadapi oleh petani gurame di Indonesia, diantaranya adalah rendahnya nilai kelangsungan hidup dibandingkan ikan air tawar lainnya, sehingga menimbulkan kerugian sangat besar bagi petani ikan gurame. Salah satu penyebab rendahnya kelangsungan hidup ikan gurame diakibatkan ikan rentan terkena stres.

Stres merupakan ketidakmampuan suatu organisme mempertahankan kondisi homeostasis akibat terganggunya individu tersebut oleh adanya rangsangan dari luar (Schreck & Tort, 2016). Meskipun ikan dapat beraklimatisasi pada suhu yang relatif rendah dari suhu optimal pemeliharaan, tetapi pada suatu derajat tertentu dapat menyebabkan kematian ikan. Hastuti *et al.*, (2003) menyatakan bahwa pada perubahan suhu A-9°C dari media pemeliharaan ikan merupakan batas toleransi ikan gurame yang mampu menyebabkan ikan stres tetapi tidak mematikan. Ikan yang diberi perlakuan A-9°C menunjukkan

Siti Nur Endah, 2019

ANALISA EKSPRESI GEN HOUSEKEEPING PADA IKAN GURAME (*OSPHRONEMUS GOURAMY*) YANG DIBERI PAKAN CAMPURAN TEPUNG *SPIRULINA PLANTESIS* DENGAN PAPARAN SUHU 20°C

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

perubahan memiliki perilaku berenang naik ke permukaan, tenang kembali dan rebah di dasar akuarium dan perubahan warna kulit menjadi lebih gelap. Adanya perubahan warna kulit pada ikan disebabkan oleh sel melanosit yang menjadi lebih aktif dan menghasilkan melanin (Khan *et al.*, 2016). Pada kondisi stres juga terjadi relokasi energi metabolik aktivitas investasi (seperti pertumbuhan) menjadi aktivitas memperbaiki homeostasis, seperti respirasi, pergerakan, regulasi hidromineral dan perbaikan jaringan (Wendelaar, 1997). Kebutuhan energi untuk memperbaiki homeostasis selama stres dipengaruhi oleh proses glikogenolisis dan glukoneogenesis yang menghasilkan glukosa dalam darah (Anderson, 1997).

Salah satu upaya untuk mengatasi permasalahan tersebut dilakukan dengan perbaikan kualitas pakan pada ikan gurame. Pakan merupakan bagian terpenting dalam kegiatan budidaya karena menentukan pertumbuhan dan perkembangan organisme yang dibudidayakan, Hal ini terkait dengan kandungan nutrisi pada pakan seperti protein, lemak, karbohidrat dan nutrisi lainnya. Beberapa tahun terakhir ini telah ditemukan dan diteliti bahan potensial yang berasal dari ganggang seperti *Spirulina* (Firsty, 2010).

Spirulina merupakan ganggang hijau-biru yang seringkali ditemukan pada air payau yang bersifat alkalis. Ganggang ini memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi dengan potensi kandungan protein dan vitaminnya sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein sel tunggal (PST) (Susanna *et al.*, 2007). Kandungan nutrisi yang ada di dalam *Spirulina* antara lain protein, vitamin, mineral, asam lemak, asam amino dan berbagai jenis pigmen (Chirstwardana & Hadiyanto, 2012). *Spirulina* mengandung protein dalam jumlah yang cukup tinggi. Kandungan protein *Spirulina* bervariasi dari 50% hingga 70% dari berat keringnya (Richmond, 1988). Alvarenga *et al.* (2011) melaporkan bahwa *Spirulina* dalam keadaan kering mengandung protein yang terdiri dari asam amino seperti *seine*, *glycine*, *arginine*, *threonine*, *alanine*, *tyrosine*, *valine*, *methionine*, *cysteine*, *isoleucine*, *leucine*, *phenylalanine* yang lebih banyak dibandingkan dengan protein yang berasal dari tepung kedelai. Mikroalga ini banyak digunakan sebagai bahan untuk *nutraceutical* karena memiliki fitonutrien (fikosianin, karoten, *xanthophylls*), *gamma linoleic acid* (GLA), *galactolipids*, *sulfolipids*, klorofil dan mineral (Thomas, 2010).

Siti Nur Endah, 2019

ANALISA EKSPRESI GEN HOUSEKEEPING PADA IKAN GURAME (*OSPHRONEMUS GOURAMY*) YANG DIBERI PAKAN CAMPURAN TEPUNG *SPIRULINA PLANTESIS* DENGAN PAPAN SUHU 20 °C

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Penelitian mengenai keterkaitan stres dengan sistem imun secara morfologi dan molekuler sudah banyak dilakukan, seperti pada Ikan Putak (*Notopterus notopterus*) (Mohanty & Luna, 2018), Ekspresi gen pada ikan mandarin (*Siniperca chuatsi*) yang terinfeksi *A. hydrophila* (Chen *et al.*, 2018), Sedangkan pada ikan gurame terkait ekspresi gen telah dilakukan pada gen TLR3 dan IL- β setelah diberi paparan LPS, Polo (I:C), Zymosan pada kultur sel ginjal Gurame (Kusumawaty *et al.*, 2018), Induksi Toll-like receptor (TLR) 2 dan Myeloid88 terhadap Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada gurame (Kusumawaty, *et al.*, 2017). Data ini menunjukkan pada gurame masih minimnya informasi ekspresi gen yang berkaitan antara stres dan sistem imun. Namun sebelum dilakukan analisa ekspresi gen tersebut diperlukan satu atau beberapa gen referensi sebagai kontrol internal. Hal ini dibutuhkan untuk memastikan besar kecil ekspresi gen target yang terjadi bukan diakibatkan oleh *pipetting error* atau *human error* (Kozera & Rapacz, 2013). Menurut Arukwe (2006) menyebutkan bahwa gen yang dijadikan sebagai kontrol internal merupakan gen *housekeeping* yang telah divalidasi terlebih dahulu, meskipun gen *housekeeping* memiliki ekspresi gen yang bersifat konstitutif (terus menerus), diketahui masih adanya variasi ekspresi gen yang berbeda dalam tingkat sel hingga jaringan, variasi ekspresi gen ini terjadi diakibatkan oleh gender, tipe jaringan, tahap perkembangan dan kondisi eksperimental.

Pada penelitian ini menggunakan empat kandidat gen *housekeeping* yang telah terdapat pada database ikan gurame yaitu *gliseraldehida 3-fosfat* (GAPDH), *elongation factor-1 alpha* (EF1a) (Kusumawaty D., 2016) dan *18S rRNA ribosom* (18S rRNA), *ornithine decarboxylase* (ODC1) (Rahma, 2018). Seleksi gen *housekeeping* perlu dilakukan dikarenakan sampai saat ini belum ditemukannya gen referensi yang bersifat *universal* (Kozera dan Rapacz, 2013) dan minimnya informasi terkait gen referensi pada ikan gurame. Hal ini dibuktikan sampai bulan agustus 2018 database yang terdapat pada NCBI terdapat gen GAPDH (Kusumawaty *et al.*, 2016), EF1a, β -actin (Kusumawaty, 2016)

Stabilitas gen pada umumnya dapat diketahui dengan melakukan seleksi gen *housekeeping* menggunakan RT-PCR dengan aplikasi *GeNorm*, *NormFinder* dan *BestKeeper*. Minimnya ketersediaan alat yang digunakan pada penelitian ini, maka dari itu penelitian ini menggunakan metode Bradford *et al.*, (2005) dengan menggunakan *software* ImageJ

Siti Nur Endah, 2019

ANALISA EKSPRESI GEN HOUSEKEEPING PADA IKAN GURAME (*OSPHRONEMUS GOURAMY*) YANG DIBERI PAKAN CAMPURAN TEPUNG SPIRULINA PLANTESIS DENGAN PAPARAN SUHU 20°C

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

untuk menganalisa stabilitas pita yang terekspresikan. Adapun tahap penelitian yang akan dilakukan meliputi tahapan aklimatisasi ikan, laju pertumbuhan ikan yang diberi pakan *Spirulina*, kelulushidupan, analisa kadar glukosa darah dan perubahan warna kulit ikan setelah pemberian paparan suhu 20°C, isolasi mRNA total organ ginjal dan seleksi gen *housekeeping* menggunakan analisa imageJ berdasarkan intensitas pita yang diperoleh.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah didapatkan maka rumusan penelitian adalah “Gejala stres dan gen *housekeeping* apa sajakah yang muncul pada ikan yang diberi perlakuan pakan campuran *S. platensis* dengan paparan suhu 20°C?

C. Pertanyaan Penelitian

Dari rumusan masalah di atas dikemukakan beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Gejala stres apa sajakah yang muncul pada ikan yang diberi perlakuan pakan campuran *S. platensis* dengan paparan suhu 20°C?
2. Gen *housekeeping* mana sajakah yang dapat teramplifikasi dan terekspresikan dengan stabil pada organ ginjal ikan gurame yang diberi pakan campuran *S. platensis* dengan paparan suhu 20°C?

D. Batasan Masalah

Batasan masalah yang ditentukan dalam penelitian yang akan dilaksanakan adalah sebagai berikut :

1. Populasi ikan yang digunakan berasal dari petani gurame strain soang yang berasal dari daerah Singaparna, Tasikmalaya.
2. Parameter gejala stres meliputi kelulushidupan, laju pertumbuhan, kadar glukosa darah dan perubahan warna kulit.
3. Sampel ikan gurame yang digunakan berasal dari organ ginjal.
4. Isolasi mRNA total yang dilakukan pada sampel organ ginjal konsentrasi 0%, 1% dan 3% pada jam ke-0 setelah dilakukan paparan suhu 20°C.
5. Gen *housekeeping* yang digunakan GAPDH, EF1a, 18S rRNA dan ODC1.

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui gejala stres pada ikan gurame dan mendapatkan gen *housekeeping* yang dapat terekspresikan dengan stabil pada ikan gurame yang diberi pakan tambahan tepung *S.plantensis* dan paparan suhu 20°C.

F. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan memiliki beberapa manfaat sebagai berikut :

1. Sebagai informasi awal mengenai kelulushidupan ikan gurame
2. Sebagai informasi awal mengenai laju pertumbuhan pada ikan gurame yang diberi pakan campuran tepung *S.platensis*.
3. Sebagai informasi awal mengenai perubahan warna kulit setelah pemberian paparan suhu 20°C pasca pemberian pakan campuran tepung *S.platensis*.
4. Sebagai informasi mengenai analisa kadar glukosa darah ikan yang diberi pakan campuran tepung *S.platensis* dan diberi paparan suhu 20°C.
5. Mendapatkan pasangan primer gen *housekeeping* yang terekspresikan dengan stabil pada ikan gurame yang diberi pakan campuran tepung *S.platensis*, sehingga dapat digunakan pada analisa ekspresi gen yang terkait sistem imun karena perlakuan pemberian pakan campuran tepung *S.platensis* dan diberi paparan suhu 20°C.

G. Struktur Penelitian

Secara umum isi dari skripsi ini terdiri dari lima bagian yaitu pendahuluan, kajian pustaka, metode penelitian, temuan dan pembahasana, terakhir yaitu simpulan, implikasi dan rekomendasi. Adapun pada bagian I yaitu bab pendahuluan berisi latar belakang penelitian secara umum, rumusan masalah, pertanyaan penelitian secara terperinci, batasan masalah, tujuan dari penelitian sampai manfaat dari penelitian yang dilakukan. Bab II berisi tentang kajian pustaka sebagai literature tambahan yang dikutip dan diambil sebagai sumber yang berkaitan dengan penelitian ini. Pada bab III berisi tentang pemaparan metode penelitian yang dilakukan, diawali dengan tahap persiapan, tahap

Siti Nur Endah, 2019

ANALISA EKSPRESI GEN HOUSEKEEPING PADA IKAN GURAME (*OSPHRONEMUS GOURAMY*) YANG DIBERI PAKAN CAMPURAN TEPUNG *SPIRULINA PLANTESIS* DENGAN PAPARAN SUHU 20°C

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

prapenelitian, tahap pelaksanaan penelitian, sampai analisa data. Pada bab IV berisi tentang temuan yang didapatkan pada penelitian yang telah dilakukan. Temuan-temuan dianalisa dan dibahas secara detail berdasarkan teori yang ada dan hasil pada penelitian-penelitian sebelumnya. Terakhir, pada bab V didapatkan kesimpulan dari penelitian ini, selain itu bab ini berisi implikasi atau perluasan untuk penelitian selanjutnya, bab ini juga berisi rekomendasi yang ditulis sebagai upaya untuk perbaikan pada penelitian-penelitian selanjutnya.

Siti Nur Endah, 2019

ANALISA EKSPRESI GEN HOUSEKEEPING PADA IKAN GURAME (OSPHRONEMUS GOURAMY) YANG DIBERI PAKAN CAMPURAN TEPUNG SPIRULINA PLANTESIS DENGAN PAPAN SUHU 20 °C

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu