



Resistensi dan karakter molekuler benih gurami sowang (*Osphronemus goramy* Lacepede, 1801) asal induk berbeda

*Resistance and molecular character of sowang gourami juvenile (*Osphronemus goramy* Lacepede, 1801) from different broodstocks*

Kusbiyanto Kusbiyanto¹, Agus Nuryanto^{1*}, Petrus Hary Tjahja Soedibja²

¹Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto 53122, Indonesia; *Email korespondensi: anuryanto2003@yahoo.com; ²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto 53122, Indonesia.

Abstract. *The cultivation of giant gourami is constrained by its high mortality due to low resistance to diseases. Resistance is an inherited character from the parental to their seeds. High resistance seeds can be selected using molecular marker, such as Major Histocompatibility complex (MHC) gene. Resistance character is assumed to be different among individual from different broodstocks and is suggested related to their genetic constituent. This research aims to analyze the resistance of sowang gourami seeds from different broodstocks and describe genetic character of seeds from different broodstocks. An explorative survey was performed. One hundred individuals were taken purposively from Balai Benih Ikan Sikamaju Ciamis West Java and hundred individuals were bought from fish farmer in Ciamis West Java. Sampling was performed in 2015 for the first seed group and in 2016 for the second seed group. Samples were subjected to *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas aeruginosa* infection. The fragments of MHC gene were amplified using PCR technique from eight individual of first group and six individuals of second group. The resistance characteristic was analyzed using simple mathematics based on the number of living seeds compared total infected seeds and molecular characteristics was analyzed descriptively based on DNA band pattern. Different resistance to *A. hydrophila* was observed between seed groups from different broodstocks. The seeds group from the first broodstocks showed lower resistance level with the value of 29% than that from the second broodstocks with the resistance value reached of 100%. Both seed groups also showed resistance differences to *P. aeruginosa*, although not as high as *A. hydrophila* infection. The differences were also reflected in their MHC gene between seed groups from two different broodstocks. The amplification of MHC gene of the seeds from the first broodstocks resulted of 585bp and 400bp length fragments, while from those second broodstocks was only resulted of 400 bp fragment. The differences on DNA band pattern between seed groups indicate a different molecular characteristics among seeds from different broodstocks.*

Keywords: *genetic difference, Aeromonas, Pseudomonas, major histocompatibility complex*

Abstrak. Usaha budidaya ikan gurami terhambat oleh tingginya mortalitas benih karena rendahnya resistensi terhadap penyakit. Resistensi merupakan sifat yang diwariskan dari tetua ke anakan. Benih yang resisten dapat diseleksi menggunakan marka molekuler seperti gen *Major Histocompatibility complex (MHC)*. Sifat resisten diduga berbeda diantara benih yang berasal dari induk berbeda dan diduga terkait dengan komponen genetik yang dimiliki. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat resisten dan karakter molekuler benih gurami sowang asal induk berbeda. Fragmen gen MHC di amplifikasi menggunakan teknik PCR. Sifat resistensi dianalisis menggunakan perhitungan matematika sederhana berdasarkan jumlah benih hidup dibagi jumlah total benih yang diinfeksi, sedangkan karakter molekuler dianalisis secara deskriptif berdasarkan pola pita yang dihasilkan. Kedua kelompok benih memiliki sifat resistensi berbeda terhadap *Aeromonas hydrophila*. Benih dari induk pertama memiliki sifat resistensi lebih rendah dengan nilai kelangsungan hidup sebesar 29% daripada kelompok benih dari induk kedua yang memiliki kelangsungan hidup mencapai 100%. Kedua kelompok benih juga memperlihatkan perbedaan sifat resisten terhadap *P. aeruginosa*, meskipun perbedaannya tidak sebesar terhadap *A. hydrophila*. Perbedaan tersebut juga tercermin pada gen MHC kedua kelompok benih. Pada kelompok benih pertama dihasilkan dua fragmen gen MHC dengan ukuran 585pb dan 400pb, sedangkan dari kelompok benih kedua hanya dihasilkan fragmen berukuran 400pb. Perbedaan pola pita diantara kedua kelompok benih tersebut merupakan indikasi adanya perbedaan karakter molekuler pada benih yang berasal dari dua induk berbeda.

Kata Kunci: Perbedaan genetik, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *major histocompatibility complex*



Pendahuluan

Ikan gurami (*Osprrbronemus gouramy* Lac) merupakan ikan air tawar asli Indonesia khususnya Sumatera, Kalimantan dan Jawa. Sebaran alami spesies tersebut mencakup wilayah Sumatera, Kalimantan (Borneo), Jawa, Semenanjung Malaysia, Thailand, dan Indochina (Sungai Mekong) (Robert, 1992). Ikan gurami merupakan salah satu komoditas ikan air tawar yang banyak dibudidayakan di Indonesia (Tanjung *et al.*, 2011). Oleh karena itu budidaya ikan gurami merupakan usaha yang memiliki prospek baik untuk dikembangkan (Setijaningsih *et al.*, 2007).

Saat ini ada lima ras ikan gurami telah dibudidayakan oleh petani ikan, yaitu gurami soang, Jepang, paris, bastar, dan gurami porselen (Setijaningsih *et al.*, 2007) dengan kemampuan pertumbuhan yang bervariasi (Nugroho *et al.*, 1993). Petani ikan percaya bahwa ras gurami sowang memiliki pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ras lainnya. Namun, sampai saat ini masih ada kendala dalam peningkatan produksi gurami, termasuk gurami sowang, yaitu tingginya kematian benih ikan gurami akibat serangan berbagai penyakit. Menurut Na-Nakorn *et al.* (1994). Penyakit yang sering menyerang ikan budidaya air tawar termasuk ikan gurami umumnya adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. Menurut Nzeh dan Udeze (2010), *Pseudomonas* sp. dan *A. hydrophila* merupakan bakteri yang sangat berbahaya ikan budidaya. Menurut Kamiso (1997), bakteri *A. hydrophila* telah menyerang semua daerah di Indonesia dimana budidaya ikan dilakukan. Lebih lanjut dinyatakan juga bahwa pembenihan ikan dapat kehilangan ratusan ribu benih siap jual dalam waktu singkat. Jika populasi benih dalam penampungan ada yang terserang dapat dipastikan sebagian besar atau semua benih akan mati

Perbedaan morfologi diantara strain gurami tidak sesuai dengan hasil analisis sekuen gen sitokrom c oksidase 1 (CO1) (Nuryanto *et al.*, 2012; Azizah *et al.*, 2016). Hasil *multiple alignment* terhadap sekuen gen CO1 dari strain blue sapphire, Jepang, dan Sowang menunjukkan variasi gen CO1 yang sangat rendah. Variasi sekuen hanya ditemukan pada nukleotida ke 41 untuk strain blue sapphire, untuk strain sowang ditemukan variasi pada basa nukleotida nomor 271, 373, 408 dan 418, sedangkan strain Jepang dan Sabah tidak memperlihatkan variasi pada sekuen gen CO1 mereka. Dengan demikian, variasi genetik diantara strain gurami indigenus Indonesia sangat rendah (Nuryanto *et al.*, 2012). Namun, apakah rendahnya variasi pada gen sitokrom c oksidase 1 merupakan gambaran umum mengenai rendahnya variasi genetik pada ikan gurami termasuk untuk gen *major histocompatibility complex* kelas II (MHC II) belum pernah dilaporkan.

Gen MHC merupakan kelompok gen yang paling polimorfik. Pada ikan teleostei ditemukan dua kelas gen MHC, yaitu kelas I dan II (Bingulac-Popovic, *et al.*, 1997). Menurut Ono *et al.* (1992) dan Sultmann *et al.* (1994) MHC kelas II memiliki lokus A dan B yang berfungsi mengkode rantai alfa dan beta dari heterodimeer molekul kelas II. Protein MHC memegang peran penting dalam menghasilkan antigen untuk sistem imun adaptif. Keragaman pada gen MHC berpengaruh terhadap tingkat imunitas atau resistensi organisme (Wegner *et al.*, 2006). Kurtz *et al.* (2004) menyatakan bahwa keragaman alel MHC yang rendah telah menyebabkan ikan sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758) lebih menderita infeksi parasit setelah dipaparkan pada cacing pita. Sementara itu, imunitas spesifik terkait MHC berhubungan dengan stres oksidatif (Kurtz *et al.*, 2006). Lebih lanjut Wegner *et al.* (2008) menyatakan bahwa ada hubungan fungsional langsung antara keragaman MHC dan fitness.

Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa gen MHC IIB terkait dengan sifat resistensi terhadap parasit. Variasi genetik pada gen MHC IIB berkorelasi positif dengan tingkat resistensi pada beberapa spesies ikan (Landry dan Bernatchez, 2001; Kurtz *et al.*, 2004, 2006; Wegner *et al.*, 2006; Consuegra dan Leaniz, 2008). Namun variasi gen MHC dan korelasinya dengan resistensi terhadap penyakit bakterial pada ikan gurami, khususnya gurami sowang belum pernah dilaporkan Oleh karena itu sangat penting untuk dilakukan analisis



varisi genetik gen *major histocompatibility complex* kelas II khususnya gen *major histocompatibility complex* kelas IIB (MHC IIB) pada gurami sowang dari berbagai induk. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis tingkat resistensi benih ikan gurami sowang yang berasal dari induk berbeda dan mendeskripsikan sifat genetik antara benih ikan yang berasal dari induk berbeda.

Bahan dan Metode

Lokasi dan waktu penelitian

Pemeliharaan ikan dilakukan di kolam percobaan Program Studi Diploma Tiga Program Studi Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto (Unsoed), sedangkan sampel ikan diperoleh Balai Benih Ikan (BBI) Sukamaju Kabupaten Ciamis dan Petani Ikan di Kabupaten Ciamis. Isolat bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi, sedangkan isolate *P. aeruginosa* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Unsoed Purwokerto. Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Taksonomi Hewan Fakultas Biologi Unsoed. Penelitian dilakukan mulai bulan Mei sampai bulan Oktober 2016.

Sampling

Ikan sampel kelompok satu dibeli langsung dari dari BBI Sukamaju pada tahun 2015, sedangkan untuk kelompok dua dibeli dari petani ikan di Kabupaten Ciamis pada tahun 2016. Jaringan sirip ekor sebagai sumber DNA template diambil dari delapan individu benih ikan kelompok pertama dan enam individu kelompok kedua. Sampel jaringan sirip selanjutnya diawetkan dalam alkohol 96% PA dan kemudian disimpan dalam lemari pendingin sampai analisis DNA dilakukan.

Isolasi dan amplifikasi DNA

DNA genom diisolasi menggunakan *DNA isolation kit* berdasarkan protokol dari pabrik. Penanda genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah gen MHC IIB. Fragmen exon 2 gen tersebut akan diamplifikasi menggunakan primer berikut forward: 5'-ATGGAAGATGAAATCGCCGC-3' dan reverse: 5'-TGCCAGATCTTCTCCATGTTCG-3' (Wegner et al. 2006). Primer ini akan mengamplifikasi gen MHC II dari ikan gurami dengan produk sepanjang 400 pb dan 585 pb. Reaksi PCR akan dilakukan dengan volume total 50 µl. Campuran untuk reaksi PCR meliputi air ultrapure (ddH₂O), 10X PCR buffer 5 µl, 2 mM MgCl₂, volume masing-masing primer sebanyak 0,2 mM, 0,2 mM untuk masing dNTP, 1 U Taq polymerase, dan 0.5–2.0 µl DNA template. Rejim suhu akan ditentukan dengan fase awal pada 95 °C selama 4 menit diikuti dengan 35 siklus: 30 detik pada 95 °C, 2 menit pada 55 °C, dan 1 menit pada 72 °C, dilanjutkan dengan pemanjangan lanjutan selama 5 menit pada 72 °C (Blanck et al., 2009). Konsentrasi masing-masing bahan dan rejim suhu akan optimasi sesuai kebutuhan sampai diperoleh produk PCR yang baik. Produk PCR akan divisualisasikan pada gel agarose 1.2%.

Analisis data

Kelangsungan hidup ikan hitung berdasarkan Muchlisin et al. (2016) dengan persamaan sebagai berikut: $SR = [(N_o - N_t) / N_o] \times 100$

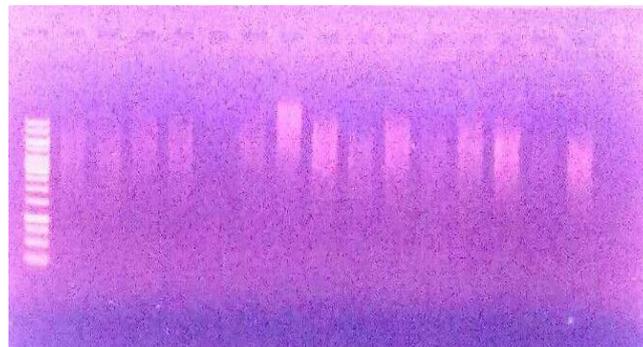
Dimana, SR= kelangsungan hidup (%), N_t = Jumlah ikan yang mati selama penelitian (ekor), N_o Jumlah ikan pada awal penelitian (ekor).

Keberadaan gen MHC ditentukan secara deskriptif berdasarkan pola pita PCR-RFLP yang muncul setelah produk PCR dipotong menggunakan enzim restriksi. Penentuan marka PCR-RFLP ditentukan secara deskriptif berdasarkan ada-tidaknya pita spesifik untuk masing-masing individu dengan resistensi berbeda. Keragaman genetik dianalisis secara deskriptif berdasarkan jumlah alel yang diperoleh. Perbedaan genetik diantara kedua kelompok dilakukan secara deskriptif berdasarkan pola pita DNA yang diperoleh dari kedua kelompok benih yang diteliti.



Hasil dan Pembahasan

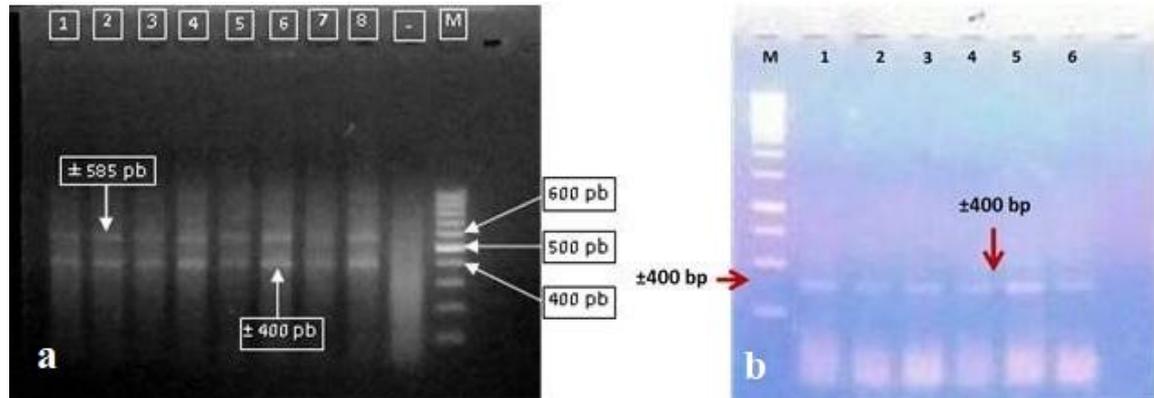
Genom total berhasil diisolasi dari kedua induk gurami sowang meskipun tervisualisasi sebagai *smear* DNA (Gambar 1). *Smear* DNA merupakan kumpulan potongan-potongan fragmen DNA yang sangat berdekatan karena pemisahannya tidak bersifat diskrit. Hal tersebut terjadi karena ukuran fragmen-fragmen DNA yang dihasilkan selama isolasi memiliki ukuran panjang yang perbedaannya sangat kecil antara satu dengan lainnya. Menurut Pharmawati (2009), *smear* pada DNA umumnya disebabkan oleh fragmentasi DNA akibat perlakuan fisik, sedangkan *firetype* DNA menunjukkan tingginya konsentrasi polisakarida yang mengkontaminasi. Faktor lain yang dapat mengganggu proses dan hasil ekstraksi DNA yaitu terjadi lisis sel yang tidak sempurna dan dapat juga dipengaruhi oleh reagen atau buffer yang digunakan, waktu inkubasi minimum dan optimasi homogenisasi dalam proses lisis (Kruske *et al.*, 1998 dalam Susanto *et al.*, 2006). Namun dari intensitas ketajaman pita yang terlihat, beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa DNA hasil isolasi yang berupa *smear* DNA masih dapat digunakan sebagai templat yang cukup baik untuk reaksi PCR (Nuryanto dan Komalawati, 2013; Nuryanto dan Sastranegara, 2013).



Gambar 1. Genom total gurami sowang

Gen MHC berhasil diamplifikasi dari delapan individu kelompok pertama dan enam individu kelompok kedua (Gambar 2a dan Gambar 2b). Hasil tersebut membuktikan bahwa pada ikan gurami sowang terdapat gen MHC II. Hasil penelitian ini serupa dengan beberapa penelitian terdahulu yang juga berhasil mengamplifikasi gen MHC II dari berbagai spesies ikan (Wegner *et al.*, 2004; Wegner *et al.*, 2008; Hayuningtyas *et al.*, 2013); Aryanto *et al.*, 2015; Supriyanto & Dharmawantho, 2015). Hasil penelitian ini dan penelitian terdahulu membuktikan bahwa gen MHC terdistribusi secara luas pada berbagai spesies ikan bahkan pada mammalia.

Amplifikasi gen MHC dari induk kedua hanya diperoleh amplicon berukuran 400 pb (Gambar 2a), sedangkan dari induk pertama memperoleh amplicon dengan ukuran 400 pb dan 585 pb (Gambar 2b). Hasil ini berbeda dari hasil penelitian Wegner *et al.* (2006) yang berhasil mengamplifikasi gen MHC II dari three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) sepanjang sekitar 360 pb. Perbedaan ukuran amplicon yang diperoleh pada kedua penelitian tersebut diduga karena setiap spesies ikan memiliki ukuran gen yang berbeda termasuk ukuran gen MHC antara ikan gurami dan ikan three-spine stickleback. Dugaan ini diperkuat oleh adanya bukti dari Hayuningtyas *et al.* (2013), Aryanto *et al.* (2015), dan Supriyanto & Dharmawantho (2015) yang memperoleh amplicon gen MHC sepanjang 300 pb dari ikan mas Rajadanu. Oleh karena itu, meskipun produk amplifikasi yang dihasilkan sedikit lebih panjang daripada amplicon yang dihasilkan dari three-spine stickleback, penelitian ini telah berhasil mendeteksi keberadaan gen MHC pada kedua induk ikan gurami sowang.

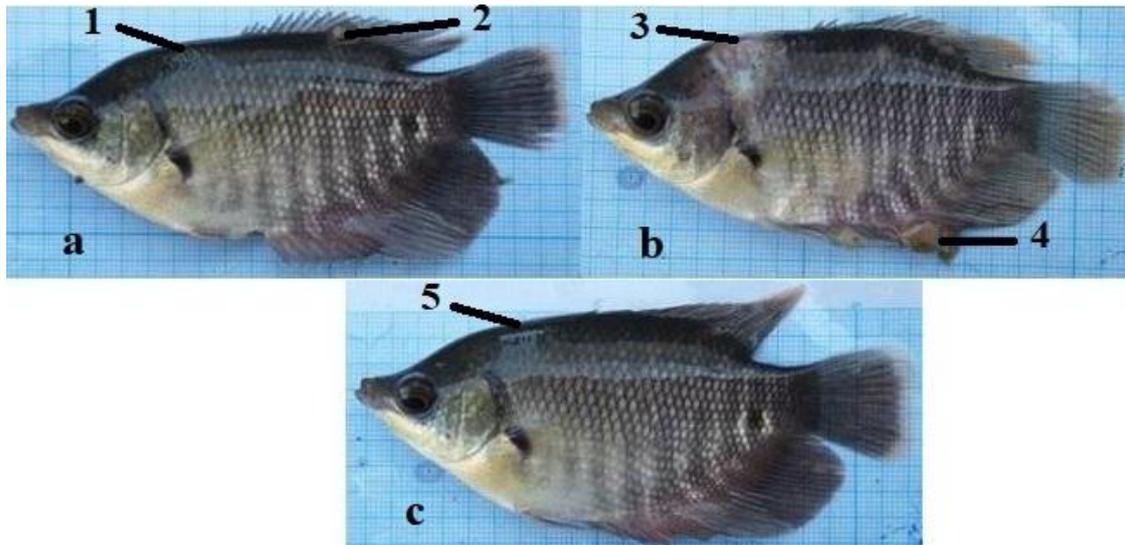


Gambar 2. Hasil amplifikasi gen MHC dari benih gurami asal induk berebeda. a= benih kelompok pertama (Kusbiyanto *et al.*, 2016), b= benih kelompok kedua, M= DNA ladder, 1-18, = nomor individu, - = kontrol negatif

Selama periode pengamatan dengan durasi waktu 14 hari pascainfeksi, ditemukan sebanyak 14 individu dari total 100 individu benih dari kelompok kedua mengalami kematian. Namun, kematian diduga bukan disebabkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila* melainkan karena serangan jamur. Dugaan tersebut muncul karena semua individu yang mati tidak mengalami luka di tempat dan/atau di sekitar tempat infeksi dilakukan, sementara pada bagian lain dari tubuhnya banyak ditumbuhi jamur (Gambar 3b). Dugaan tersebut diperkuat dengan ditemukannya individu-individu ikan pada kolam kontrol yang juga mengalami kematian meskipun tidak diinfeksi *A. hydrophila* dan ditemukan banyak jamur pada tubuhnya. Oleh karena itu resistensi benih gurami sowang yang berasal dari induk kedua mencapai 100%.

Hasil tersebut berbeda dengan hasil penelitian pada induk pertama yang memiliki resistensi terhadap *A. hydrophila* hanya mencapai 29% (Kusbiyanto *et al.*, 2016) dan penelitian Tanjung *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa kematian ikan gurami yang disebabkan oleh serangan bakteri *A. hydrophila* mulai terjadi pada hari ke 3 sampai hari ke 10 pascainfeksi. Perbedaan resistensi diantara benih yang berasal dari induk pertama Kusbiyanto *et al.* (2016) dan dari induk kedua pada penelitian ini diduga karena dua hal, yakni benih ikan gurami yang bersumber induk yang berbeda mewarisi sifat berbeda dan bakteri yang digunakan berasal dari isolat yang berbeda meskipun dibeli dari tempat yang sama. Demikian pula perbedaan yang terjadi dengan hasil penelitian Tanjung *et al.* (2011), diduga juga disebabkan karena dua hal yakni benih ikan gurami dan bakteri *A. hydrophila* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari sumber yang berbeda dengan yang digunakan Tanjung *et al.* (2011). Peluang lain yang mungkin muncul dengan adanya perbedaan resistensi kedua benih dari induk berbeda terhadap *A. hydrophila* adalah bahwa bakteri yang digunakan untuk menginfeksi induk kedua belum masuk masa infeksiusnya. Namun hal ini perlu klarifikasi lebih lanjut.

Lebih kurang 30 hari pascainfeksi *A. hydrophila*, sebanyak 19 individu dari kelompok pertama dan 76 individu dari kelompok kedua diinfeksi kembali dengan bakteri *P. aeruginosa*. Semua individu dari induk pertama (hasil seleksi tahun pertama atau tahan *A. hydrophila*) diinfeksi *P. aeruginosa* dengan dosis 0,2 ml 10^8 CFU, sedangkan benih ikan dari induk kedua diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan 0,1 ml 10^8 CFU. Perbedaan dosis dilakukan karena kedua induk benih memiliki ukuran tubuh berbeda.



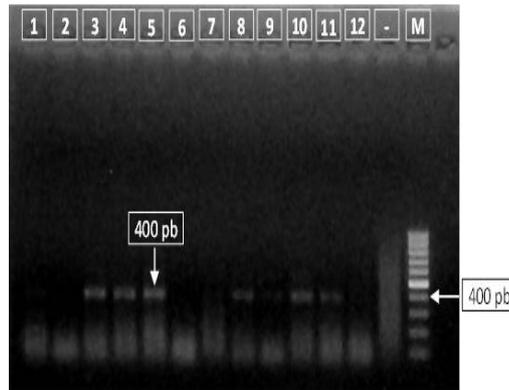
Gambar 3. Benih gurami pascainfeksi *A. hydrophila* dan *P. aeruginosa*. a. Benih ikan satu bulan infeksi *A. hydrophila* (tidak ada bekas luka), b. Benih ikan 14 hari pascainfeksi *P. aeruginosa*, c. Benih ikan 14 hari pascainfeksi *P. aeruginosa*. 1. Tempat infeksi tidak ada bekas luka, 2. Jamur, 3. Luka akibat infeksi *P. aeruginosa*, 4. Jamur, 5. Tempat infeksi *P. aeruginosa* tidak ada bekas luka

Perbedaan dosis tersebut tidak berpengaruh terhadap kelangsungan hidup dan mortalitas dari kedua kelompok benih yang diuji. Hal tersebut didasarkan pada hasil pengamatan 14 hari pascainfeksi *P. aeruginosa* di mana tidak ditemukan individu yang mati baik benih dari kelompok pertama maupun benih dari kelompok kedua. Namun, benih gurami sowang dari kelompok pertama tidak mengalami luka sama sekali pascainfeksi *P. aeruginosa*. Sementara itu, sebanyak tiga individu ikan dari kelompok kedua mengalami luka pada titik penyuntikan (Gambar 3b), sedangkan sisanya tidak mengalami luka (Gambar 3c). Hal tersebut menambah bukti adanya perbedaan tingkat Hal ini memunculkan dugaan bahwa bakteri *P. aeruginosa* tidak seganas *A. hydrophila* ketika menyerang benih ikan gurami sowang. Hasil tersebut berbeda dengan pernyataan Nzeh dan Udeze (2011), bahwa *Pseudomonas* sp. merupakan salah satu bakteri yang sangat berbahaya dalam budidaya ikan selain *Aeromonas hydrophila*. Perbedaan tersebut diduga karena dua hal yaitu jenis ikan yang digunakan dan sumber isolat. Pada penelitian ini ikan yang digunakan adalah gurami sowang, sedangkan Nzeh dan Udeze (2011) menggunakan ikan lele (*Clarias bidorsalis*). Sementara itu, pada penelitian ini digunakan isolat bakteri *P. aeruginosa* yang berasal dari Fakultas Biologi Unsoed, sedangkan Nzeh dan Udeze (2011) menggunakan *Pseudomonas* spp. yang berasal dari Nigeria. Kemungkinan lain, induk pertama sudah lebih resisten karena sudah memiliki antibodi yang lebih kuat pascainfeksi *A. hydrophila*.

Informasi lain yang diperoleh dari perbedaan efek infeksi *P. aeruginosa* pada kedua induk (Gambar 3b dan Gambar 3c) adalah benih yang berasal dari sumber induk berbeda memiliki resistansi berbeda terhadap *P. aeruginosa*. Perbedaan resistensi juga ditemukan ketika benih dari kedua induk diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Benih ikan induk pertama mengalami kematian sebesar 71% pascainfeksi *A. hydrophila*, sedangkan benih ikan dari induk kedua memiliki tingkat kematian 0% (kelulushidupan 100%) pascainfeksi *A. hydrophila*.

Amplifikasi gen MHC II dari ikan yang mati dan tetap hidup pascainfeksi *A. hydrophila* menghasilkan pola pita yang berbeda. Pada enam dari 12 ikan yang mati hanya diperoleh fragmen gen MHC dengan ukuran sekitar 400 bp (Gambar 4). Sementara itu, pada seluruh sampel ikan yang hidup dimana gen MHCnya dapat diamplifikasi, diperoleh fragmen gen

MHC sebanyak dua buah, yakni fragmen berukuran sekitar 400 bp dan sekitar 585 bp (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil amplifikasi gen MHC dari individu yang mati pasca infeksi (Kusbiyanto *et al.*, 2016)

Hasil amplifikasi berupa dua fragmen DNA juga tetap diperoleh meskipun kondisi termal, khususnya suhu *annealing* diubah-ubah untuk menghasilkan kondisi optimum. Konsistensi hasil amplifikasi pada ikan yang tetap hidup pascainfeksi *A. hydrophila* membuat peneliti yakin bahwa fragmen hasil amplifikasi berupa gen MHC. Keyakinan tersebut muncul karena amplifikasi dilakukan menggunakan primer spesifik untuk gen MHC. Dihasilkannya 2 pita DNA dari individu yang hidup pascainfeksi membuktikan bahwa gen MHC dapat digunakan sebagai marker molekuler untuk membedakan ikan gurami sowang yang tahan dan tidak tahan *A. hydrophila* pada induk pertama. Fragmen dengan ukuran sekitar 585 bp merupakan marka molekuler spesifik sebagai penciri gurami tahan infeksi *A. hydrophila*. Hasil serupa dilaporkan oleh Azis *et al.* (2011) yang memperoleh fragmen MHC I berukuran 300 bp, 500 bp, dan 1.000 bp pada ikan lele pascauji tantang *A. hydrophila*.

Sementara itu, amplicon yang sama tidak diperoleh dari induk kedua. Amplifikasi gen MHC dari benih ikan induk kedua hanya menghasilkan amplicon berukuran sekitar 400 pb. Amplicon ukuran tersebut diperoleh baik dari individu yang mati maupun yang tetap hidup pascainfeksi *A. hydrophila* dan *P. aeruginosa*. Dengan demikian tidak diperoleh marka spesifik yang dapat digunakan untuk membedakan ikan yang dari induk kedua yang resisten dan tidak resisten serangan bakteri. Pita gen MHC berukuran 585 pb hanya diperoleh dari individu yang tetap hidup pascainfeksi bakteri *A. hydrophila* dari induk pertama. Sementara itu, amplicon tersebut tidak diperoleh dari induk kedua. Oleh karena itu, keberadaan amplicon berukuran 585pb belum dapat digunakan untuk membuat generalisasi bahwa pita tersebut menjadi penciri benih tahan *A. hydrophila* bagi semua benih gurami sowang dari berbagai induk. Penggunaan fragmen gen MHC berukuran 585 pb sebagai penciri individu bersifat resisten terhadap bakteri *Aeromonas* dan *Pseudomonas* masih perlu dikaji lebih lanjut.

Sebelum dilakukan analisis keragaman genetik, data kualitatif berupa pita DNA dalam gel agarosa ditransformasi menjadi data biner 0:1 (0 = tidak ada; 1 = ada. Hasil transformasi data disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data biner hasil tranformasi data kualitatif (pola pita) menjadi data kuantitatif

Ukuran Fragmen	Induk Benih Pertama*								Induk Benih Kedua*					
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6
400 pb	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
585 pb	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0

Keterangan: Pb = pasang basa, 585= hanya diperoleh dari individu yang tetap hidup pascainfeksi bakteri, * = Kedua induk bersumber dari induk berbeda



Pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa benih yang berasal dari induk berbeda memiliki pola pita gen MHC berbeda. Hasil tersebut menjadi bukti bahwa ada perbedaan karakter genetik pada gen MHC dari benih gurami sowang yang berasal dari sumber induk berbeda. Perbedaan keragaman genetik sangat umum dijumpai antar populasi (Nuryanto and Kochzius, 2009). Perbedaan pola pita gen MHC berukuran pada kedua kelompok benih gurami sowang mengindikasikan bahwa gen MHC pada ikan tersebut bersifat heterozigot. Heterozigositas diduga berkorelasi positif dengan sifat-sifat kuantitatif seperti dengan panjang total, panjang standar, tinggi tubuh dan lebar tubuh. Menurut Blanck *et al.* (2009) korelasi tersebut juga menunjukkan bahwa sifat heterozigot berkorelasi dengan sifat-sifat yang lebih baik. Oleh karena itu, adanya sifat heterozigositas pada gen MHC dari gurami sowang diduga berkorelasi positif dengan sifat lebih resiten. Individu yang memiliki fragmen berukuran 585 bp lebih resitan terhadap serangan bakteri dari pada individu yanghanya memiliki fragment 400 bp. Haltersebut sesuai dengan pernyataan Kusbiyanto *et al.* (2016) bahwa pada ikan gurami yang tetap hidup pascainfeksi bakteri *A. hydrophila* ditemukan fragmen gen MHC sepanjang 585 pb.

Kesimpulan

Benih gurami sowang yang berasal dari dua induk berbeda memiliki sifat resistensi berbeda. Perbedaan juga tercermin pada jumlah lokus gen MHC yang dimilikinya. Lokus 585 pb hanya dimiliki oleh benih dari kelompok pertama, sedangkan lokus 400 pb dapat ditemukan pada kedua kelompok benih gurami.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada DRPM yang telah mendanai penelitian ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Dekan Fakultas Biologi yang telah memfasilitasi kegiatan penelitian ini sehingga dapat berjalan dengan lancar. Terimakasih juga peneliti sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu proses pelaksanaan penelitian.

Daftar Pustaka

- Aryanto, D., E.P. Hayuningtyas, K. Syahputra. 2015. Hubungan antara keberadaan gen major histocompatibility complex class II (MHC-II) ketahanan terhadap penyakit, dan pertumbuhan pada populasi ikan mas Ras Rajadanu. *Jurnal Riset Akuakultur*, 10(4): 461 – 469.
- Azizah, S.T., A. Nuryanto, H. Pramono. 2016. Karakterisasi molekuler ikan gurami soang (*Osphronemus goramy* Lac.) berbeda ukuran menggunakan PCR-RFLP gen sitokrom c oksidase 1. *Biosfera*, 32(3): 185-195.
- Azis, A., A. Alimuddin., S. Sukenda., M.Z. Junior. 2015. Identifikasi kandidat MHC I pada ikan lele (*Clarias* sp.) tahan infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 10(2): 261-269.
- Bingulac-Popovic, J., F. Figueroa, A. Sato, A.S. Talbot, A.L. Johnson, M. gates, J.H. Postlethwait, J. Klein. 1997. Mapping of MHC class I and class II regions to different linkage groups in the zebrafish, *Danio rerio*. *Immunogenetics*, 46: 129-134.
- Blanck D.V., E. Gasparino, R.P. Ribeiro, D.S. Marques. 2009. Polymorphism in the *GH1-PsA* gene associated to corporal characteristics in Nile tilapia strains. *Pesq. Agropec. Bras.*, 44(6): 599-604.
- Consuegra, S., C.G. deLeaniz. 2008. MHC-mediated mate choice increases parasite resistance in salmon. *Proc. R. Soc. B.*, DOI:10.1098/rspb.2008.0066.
- Hartl, D.L., A.G. Clark. 1997. Principles of population genetics. Third edition. Sinauer Associates Inc. Publisher, Sunderland, Massachusetts, USA.



- Hayuningtyas, E.P., D. Ariyanto, K. Syahputra. 2013. Hubungan antara pertumbuhan dengan keberadaan gen tahan penyakit major histocompatibility complex (MHC) pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(3) 383 - 391.
- Kamiso, H.N. 1997. Uji lapang penggunaan vaksin *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan*, 1(2): 17-24.
- Kurtz, J., M. Kalbe, P.B. Aeschlimann, M.A. Haberli, K.M. Wegner, T.B.H. Reusch, M. Milinski. 2004. Major histocompatibility complex diversity influences parasite resistance and innate immunity in sticklebacks. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 271: 197-204.
- Kurtz, J., K.M. Wegner, M. Kalbe, T.B.H. Reusch, H. Schaschi, D. Hasselquist, M. Milinski. 2006. MHC genes and oxidative stress in sticklebacks: an immuno-ecological approach. *Proc. R. Soc. B.*, 273: 1407-1414
- Kusbiyanto, K., A. Nuryanto, P.H.T. Soedibja. 2016. Deteksi gen *major histocompatibility complex class II* pada yuwana gurami sowang, *Osphronemus goramy* Lacepede, 1801 asal satu pemijahan. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 16(3): 279-288.
- Landry, C., L. Bernatchez. 2001. Comparative analysis of population structure across environments and geographical scales at major histocompatibility complex and microsatellite loci in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Molecular Ecology*, 10: 2525-2539.
- Muchlisin, Z. A., A.A. Arisa, A.A. Muhammadar, N. Fadli, I.I. Arisa, M.N. Siti-Azizah. 2016. Growth performance and feed utilization of keureling (*Tor tambra*) fingerlings fed a formulated diet with different doses of vitamin E (alpha-tocopherol). *Archives of Polish Fisheries*, 23: 47-52.
- Na-Nakorn, U., S. Chantsawang, W. Tarnchalanukit. 1994. Response to mass selection for disease resistance in walking catfish, *Clarias macrocephalus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 4(4): 65-73.
- Nugroho, E., D. Satyani, R. Rusmaedi. 1993. Evaluasi potensi genetik dari beberapa ras gurame. *Buletin Penelitian Perikanan Darat*, 12(1): 30-36.
- Nuryanto, A., M.H. Satranegara. 2013. Molecular characterisation of *Polymesoda erosa* (Solander, 1786) inhabit two different habitats. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik*, 15(3): 201-207
- Nuryanto, A., N. Komalawati, 2013. Population genetics of the highly exploited bagrid fish *Hemibagrus nemurus* in Java Island: importance for conservation. *Research Report*. Jenderal Soedirman University. Purwokerto.
- Nuryanto, A., G.E. Wijayanti, U. Susilo, Darsono, Suharno. 2012. Peningkatan produksi gurami banyumas melalui pendekatan genetik, reproduksi, manajemen pemeliharaan Dan evaluasi aspek sosioekonomi. *Laporan Penelitian*, Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Nuryanto, A., M. Kochzius. 2009. Highly restricted gene flow and deep evolutionary lineages in the giant clam *Tridacna maxima*. *Coral Reef*, 28:607-619.
- Nzeh, C.G., A.O. Udeze. 2011. *Lactobacillus delbrueckii* infection of *Clarias bidorsalis* cultured in fish tanks in Ilorin, Kwara State-Nigeria. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2(2): 188-191.
- Ono, H., D. Klein, V. Vincek, F. Figueroa, C. O'hUigin, H. Tichy, J. Klein. 1992. Major histocompatibility complex class II gene of zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89: 11886-11890.
- Setijaningsih, L., O.Z. Arifin, R. Gustiano. 2007. Karakterisasi tiga ras ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) berdasarkan metode truss morfometriks. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 7(1): 23-30
- Sultmann, H., W.E. Meyer, F. Figueroa, C. O'hUigin, J. Klein. 1994. Organization of MHC class II B gene in the zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Genomics*, 23: 1 - 14.



- Supriyanto, S., L. Dharmawantho. 2015. Deteksi gen major histocompatibility complex (MHC) pada beberapa ras ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) dengan menggunakan metode polymerase chain reaction (PCR). Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, 13(1): 33-37.
- Tanjung, L.R., T. Triyanto, N.H. Sadi, G.S. Haryani, D.S. Said. 2011. Uji ketahanan beberapa ras gurami terhadap penyakit *Aeromonas*. Limnotek, 18(1): 58 – 71.
- Wegner, K.M., M. Kalbe, H. Schaschl, T.B.H. Reusch. 2004. Parasites and individual major histocompatibility complex diversity-an optimal choice? *Microbes and Infection*, 6: 1110-1116.
- Wegner, K.M., M. Kalbe, G. Rauch, J. Kurtz, H. Schaschl, T.B.H. Reusch. 2006. Genetic variation in MHC class II expression and interactions with MHC sequence polymorphism in three-spined sticklebacks. *Molecular Ecology*, 15: 1153-1164.
- Wegner, K.M., M. Kalbe, M. Milinski, T.B.H. Reusch. 2008. Mortality selection during the 2003 European heat wave in three-spined sticklebacks: effects of parasites and MHC genotype. *BMC Evolutionary Biology*, 8: 124. DOI I0.1186/1471-2148-8-124.

Received: 2 March 2017

Accepted: 6 November 2017

How to cited this paper:

Kusbiyanto, K., A. Nuryanto, P.H.T. Soedibja. 2017. Resistensi dan karakter molekuler benih gurami sowang (*Ospbronemus goramy* Lacepede, 1801) asal induk berbeda. *Depik*, 6(3): 242-251.