

Deteksi gen *major histocompatibility complex class II* pada yuwana gurami sowang, *Osphronemus goramy* Lacepede, 1801 asal satu pemijahan

[Detection of major histocompatibility complex class II gene on sowang giant gourami (*Osphronemus goramy* Lacepede, 1801) fingerling from one spawning]

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

¹Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Jenderal Soedirman

Jalan Dr. Suparno No. 63 Purwokerto 53122

Tel: +62 (0) 281 638794

Fax: +62 (0) 281 631700

Diterima: 12 Januari 2016; Disetujui: 19 Juli 2016

Abstrak

Petani ikan percaya bahwa ikan gurami ras sowang memiliki laju pertumbuhan yang tinggi. Namun budi daya ras tersebut terkendala oleh kematian yuwana yang tinggi akibat rendahnya resistensi terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila*. Resistensi merupakan sifat yang diwariskan oleh induk ke anakan. Induk resisten dapat diperoleh melalui seleksi menggunakan penciri molekuler terkait dengan sifat resisten, seperti *Major Histocompatibility Complex* kelas II (MHC II). Sebagai langkah awal, perlu dilakukan deteksi keberadaan gen MHC II pada yuwana gurami sowang. Tujuan penelitian ini adalah 1) mendeteksi keberadaan gen MHC II pada yuwana gurami sowang dan 2) menganalisis tingkat resistensi yuwana ikan gurami sowang yang berasal dari satu pemijahan. Sebanyak 100 ekor ikan diinfeksi menggunakan 0,1 ml bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan koloni 10^8 CFU. DNA diisolasi menggunakan Thermo-scientific DNA easy kit dan gen MHC II dimplifikasi menggunakan dua pasang primer dari ikan *stickleback*. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Keberadaan gen MHC II ditentukan berdasarkan kemunculan pita DNA pada gel agarosa, sedangkan tingkat resistensi ditentukan berdasarkan jumlah ikan yang mati dan hidup pascainfeksi. Amplifikasi gen MHC II dari individu yang mati menghasilkan fragmen DNA sepanjang 400 bp. Namun, amplifikasi gen MHC II dari individu yang tetap hidup pascainfeksi menghasilkan fragmen DNA sepanjang sekitar 400 pb dan 585 bp. Fragmen gen MHC II berukuran sekitar 585 bp merupakan marka molekuler spesifik untuk gurami sowang tahan infeksi *A. hydrophila*. Sebanyak 71% ikan mati dan 29% hidup setelah 14 hari pascainfeksi. Hasil tersebut membuktikan bahwa yuwana gurami sowang memiliki resistensi berbeda terhadap *Aeromonas hydrophila*.

Kata penting: *Aeromonas hydrophila*, gurami sowang, MHC II, resistensi

Abstract

The fish farmer belief that strain sowang of giant gourami has the high growth rate. Nevertheless, the culture of this strain was constrained by high mortality due to low resistance to *Aeromonas hydrophila* infection. Resistance is a genetically inherited character from their parents. Resistant brood stock can be obtained through selection using molecular marker that is associated with resistance, such as major histocompatibility complex class II (MHC II) gene. At first step, detection of MHC II gene on sowang strain needs to be done. The aims of this study were 1) to detect the presence of the MHC II gene on sowang strain and 2) to analyze the resistance level of sowang strain from one spawning. A total of 100 individuals of sowang strain fingerling was infected with 0.1 ml 10^8 CFU of *A. hydrophila*. Genomic DNA was isolated using the thermoscientific DNA easy kit and the fragmen of MHC II gene was amplified using two different primer pairs of stickleback fish. The presence of the MHC II gene was defined based on DNA band appearance on agarose gel, while resistance level was analyzed descriptively based on the total number of death and live individuals after infection. Amplification of the MHC II gene using the second primer pair from death individuals results in approximately of 400 bp fragment. However, MHC II gene amplification from living individuals resulted of approximately of 400 bp and 585 bp length of DNA fragments. The 585 bp fragment of the MHC II gene is a specific molecular marker for sowang giant gourami strain which is resistant to *A. hydrophila* infection. A total of 71% fingerling was death and 29% of fingerling was survived. This proved that the fingerling from one spawning have different resistance characteristic.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, MHC II, resistance, sowang gourami

✉ Penulis korespondensi

Alamat surel: anuryanto2003@yahoo.com

Pendahuluan

Ikan gurami (*Osprrhronemus goramy* Lac.) merupakan ikan air tawar yang telah banyak dibudidayakan oleh petani ikan. Beberapa sentra produksi gurami juga telah dibentuk baik di Jawa maupun di Sumatera (Tanjung *et al.* 2011). Produksi ikan gurami nasional mengalami peningkatan sebesar 19,86 % per tahun sejak tahun 2009 sampai dengan 2013. Tahun 2009, produksi gurami mencapai 46.254 ton dan meningkat menjadi 94.605 ton pada tahun 2013. Kabupaten Banyumas merupakan salah satu pusat produksi gurami dengan produksi pada tahun 2012 mencapai 3.057 ton atau sekitar 20 % dari total produksi gurami di Provinsi Jawa Tengah (Kementerian Kelautan & Perikanan 2014). Hal tersebut membuktikan bahwa budi daya ikan gurami merupakan usaha yang memiliki prospek tinggi untuk dikembangkan. Hal tersebut dikarenakan dagingnya lezat, dan harga jual cukup tinggi dan relatif stabil. Selain itu, biaya pemeliharaan ikan gurami relatif rendah dan ikan ini memiliki daya adaptasi yang tinggi pada lingkungan dengan kandungan oksigen terlarut rendah (Setijaningsih *et al.* 2007).

Beberapa ras ikan gurami yang telah dibudidayakan di Indonesia meliputi gurami sowang, gurami jepang, gurami paris, gurami bastar, dan gurami porselen (Setijaningsih *et al.* 2007). Menurut Nugroho *et al.* (1993), setiap ras gurami memiliki potensi pertumbuhan berbeda. Petani ikan percaya bahwa ras gurami sowang memiliki lajur pertumbuhan lebih tinggi daripada ras gurami lainnya.

Namun, sampai saat ini masih ada kendala yang menjadi hambatan dalam peningkatan produksi yaitu tingginya kematian ikan gurami sowang akibat serangan berbagai penyakit. Menurut Yu *et al.* (2004), penyakit yang sering ditemukan dalam budi daya ikan air tawar dan

menjadi penyebab utama kegagalan budi daya ikan adalah penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) yang disebabkan serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dampak serangan bakteri terhadap ikan gurami telah dilaporkan oleh Purwaningsih *et al.* (2014). Pada penelitian tersebut dilaporkan bahwa serangan *A. hydrophila* dan *Mycobacterium fortuitum* telah menjadi kendala dalam produksi gurami. Infeksi kedua jenis bakteri tersebut dapat menyebabkan terjadinya penurunan kualitas produk ikan gurami (Purwaningsih *et al.* 2014). Lebih lanjut Tanjung *et al.* (2011) menyatakan bahwa setiap ras ikan gurami memiliki sifat resistensi berbeda terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*.

Oleh karena itu, perlu dilakukan berbagai upaya untuk mendapatkan yuwana unggul yang memiliki resistensi tinggi terhadap penyakit. Salah satu upaya awal yang dapat dilakukan adalah melalui penelitian seperti deteksi marka molekuler yang terkait dengan sifat ketahanan (resistensi) terhadap penyakit sebagai dasar pengembangan seleksi yuwana tahan penyakit secara molekuler.

Salah satu penanda molekuler yang dapat digunakan adalah penanda DNA, khususnya yang terkait dengan sifat ketahanan terhadap penyakit seperti *gen major histocompatibility complex* (MHC). Keuntungan dari pemanfaatan gen tersebut dalam studi keragaman genetik adalah ekspresinya terkait langsung dengan sifat produksi seperti resistensi terhadap penyakit (Kurtz *et al.* 2004). Gen MHC dibedakan menjadi dua kelompok yaitu MHC I dan MHC II (Bingulac-Popovic *et al.* 1997). MHC kelas II memiliki lokus A dan B (Sultmann *et al.* 1994). Beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan keberadaan gen MHC yang berbeda pada beberapa spesies ikan teleostei (Bingulac-Popovic *et al.* 1997).

Variasi pada gen MHC IIB berkorelasi positif dengan tingkat resistensi pada beberapa spesies ikan (Kurtz *et al.* 2004 2006, Wegner *et al.* 2006, Consuegra & Leaniz 2008). Penelitian lainnya juga telah membuktikan adanya hubungan yang erat antara variasi gen *major histocompatibility complex* (MHC) dan sifat resistensi seperti pada ikan Atlantic salmon *Salmo salar* (Landry & Bernatchez 2001), sockeye salmon *Oncorhynchus nelka* (Miller *et al.* 2001), dan pada ikan mas *Cyprinus carpio* (Rakus *et al.* 2009). Sementara itu, Azis *et al.* (2015) telah memperoleh fragmen gen MHC I dengan panjang 300 bp, 500 bp, dan 1000 bp dari ikan lele *Clarias sp.* yang masih hidup setelah ujiantang dengan *A. hydrophila* sehingga ketiga fragmen tersebut dapat dijadikan marka molekuler bagi ikan lele tahan *A. hydrophila*. Namun keberadaan gen MHC kelas II pada ikan gurami sowang belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk melacak keberadaan gen pengkode protein *Major Histocompatibility complex*, khususnya gen *Major Histocompatibility complex* kelas II sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam pengembangan metode seleksi molekuler yuwana gurami tahan *Aeromonas*.

Tujuan penelitian ini adalah 1) untuk mendeteksi keberadaan gen MHC II pada yuwana gurami sowang dan 2) menganalisis perbedaan resistensi di antara yuwana ikan gurami sowang yang berasal dari satu pemijahan.

Bahan dan metode

Penelitian dilaksanakan menggunakan metode survei eksplorasi mulai bulan Maret sampai November 2015. Pengambilan sampel gurami sowang dilakukan secara *purposive sampling* yaitu dari Balai Benih Ikan Sukamaju Kabupaten Ciamis. Ikan gurami sowang yang digunakan adalah yuwana berukuran 8 – 10 cm

yang berasal dari satu pemijahan. Ikan dipelihara di kolam Stasiun Percobaan Program DIII Biologi Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman (Unsoed). Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Taksonomi Hewan Fakultas Biologi Unsoed.

Pada hari ke 40 masa aklimatisasi yuwana ikan gurami sowang diinfeksi menggunakan 0,1 ml kultur cair bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan sel 10^8 CFU (Mulia 2007, Latifah *et al.* 2014). Yuwana hasil infeksi dipelihara dalam kolam ujiantang. Pengamatan individu yang mati dilakukan setiap hari selama periode 14 hari. Jika ditemukan ikan yang mati maka dilakukan sampling jaring sirip ekor. Sementara itu, pada kolam kontrol dipelihara 50 ekor yuwana ikan gurami dari sumber yang sama tanpa diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pemeliharaan ikan pada kolam kontrol dilakukan untuk memastikan bahwa kematian ikan pada kolam ujiantang terjadi karena infeksi bakteri *A. hydrophila* dan bukan karena faktor lain. Kedua kolam tersebut terletak berdampingan namun memiliki sistem saluran air paralel sehingga tidak saling terhubung. Sampling jaringan tubuh ikan yang hidup dilakukan 30 hari setelah infeksi. Hal ini dilakukan agar ikan sudah pulih dari luka setelah diinfeksi *A. hydrophila*. Jumlah ikan yang tetap hidup dicatat.

DNA genom diisolasi menggunakan *DNA isolation kit* berdasarkan protokol dari pabrik. Penanda genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah gen *Major histocompatibility complex* kelas II. Fragmen ekson 2 gen tersebut diamplifikasi menggunakan dua pasang primer, yakni forward: 5'-AAC TCC ACT GAG CTG AAG GAC AT-3' dan reverse primer 5'-CAG TGA AGC CGA CAW ACT TCC-3', sedangkan pasangan primer kedua terdiri atas forwards: 5'-ATGGAAGATGAAATCGCCGC-3'' dan reverse: 5'-TGCCAGATCTTCTCCATGTCG-3'

(Wegner *et al.* 2006). Reaksi PCR dilakukan dengan volume total 25 µl. Campuran untuk reaksi PCR meliputi air ultrapure (ddH₂O) sebanyak 18,5 µl; 10X PCR buffer 2,5 µl; volume masing-masing primer sebanyak 0,2 mM, 0,2 mM untuk masing dNTP, 1 U Taq polymerase, dan 01 µl DNA template. Rejim suhu ditentukan dengan fase awal predenaturasi 95°C selama dua menit diikuti dengan 35 siklus sebagai berikut. Denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, annealing pada suhu 41°C selama 45 detik dan pemanjangan rantai pada suhu 72°C selama satu menit serta diikuti proses pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR divisualisasikan pada gel agarose 1.2%.

Penentuan yuwana ikan yang resisten terhadap serangan *A. hydrophila* dilakukan dengan jumlah ikan yang masih tetap hidup setelah infeksi *Aeromonas*. Penentuan ada tidaknya gen *major histocompatibility complex* kelas II ditentukan secara deskriptif berdasarkan kemunculan pita DNA pada gel elektroforesis hasil amplifikasi DNA menggunakan primer spesifik.

Hasil

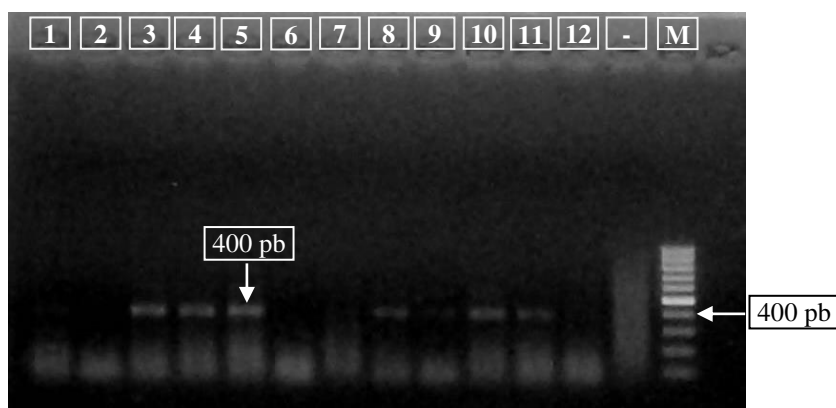
Deteksi gen *major histocompatibility complex (MHC) II*

Amplifikasi gen MHC menggunakan pasangan primer pertama seperti tersebut pada paragraf tiga bab bahan dan metode, yakni forward: 5'-AAC TCC ACT GAG CTG AAG GAC AT-3' dan reverse primer 5'-CAG TGA AGC CGA CAW ACT TCC-3' tidak menghasilkan ampikon atau produk amplifikasi. Hasil serupa tetap muncul meskipun telah dilakukan berbagai modifikasi kondisi suhu dan waktu penempelan primer (*annealing*) serta konsentrasi masing-masing reagen (Gambar 1).

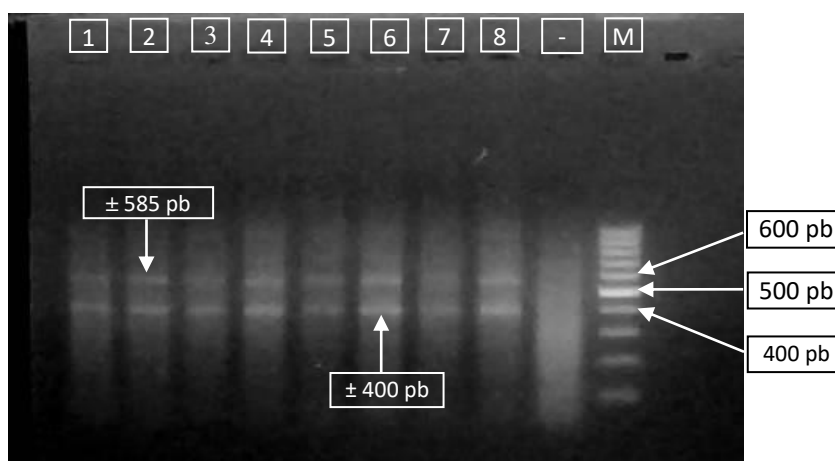
Amplifikasi gen MHC II menggunakan pasangan primer ke dua menghasilkan fragmen DNA dengan ukuran panjang sekitar 400 bp dari sampel ikan yang mati pascainfeksi bakteri *A. hydrophila* (Gambar 2). Sementara itu, amplifikasi gen MHC II dari ikan yang hidup dihasilkan dua fragmen DNA dengan ukuran sekitar 400 pb dan sekitar 585 pb (Gambar 3).



Gambar 1. Visualisasi hasil amplifikasi gen MHC II dari yuwana gurami sowang menggunakan pasang primer pertama. M: *DNA ladder* 1 kb. 1 – 7: sampel ikan yang mati



Gambar 2. Hasil amplifikasi gen MHC II dari yuwana gurami sowang menggunakan pasangan primer kedua. M = DNA ladder 100 pb, 1 & 7 = sampel ikan gurami sowang yang mati pada hari kesatu, 2 & 8 = sampel ikan gurami sowang yang mati pada hari kedua, 3 & 9 = sampel ikan gurami sowang yang mati pada hari ketiga, 4 & 10 = sampel ikan gurami sowang yang mati pada hari keempat, 5 & 11 = sampel ikan gurami sowang yang mati pada hari kelima, 6 & 12 = sampel ikan gurami sowang yang mati pada hari keenam, - = kontrol negatif



Gambar 3. Hasil amplifikasi gen MHC II pada yuwana gurami sowang hidup pascainfeksi. M: DNA ladder 100 bp. 1 – 8: sampel ikan hidup. - : kontrol negatif

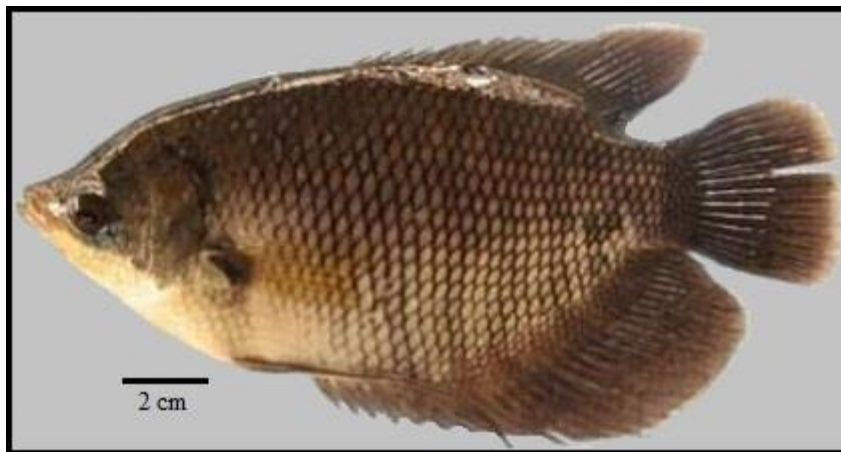
Resistensi yuwana gurami sowang terhadap infeksi Aeromonas hydrophila

Pengamatan terhadap resistensi ikan dilakukan sejak hari pertama sampai 14 hari pascainfeksi. Pengamatan dihentikan setelah pada kolam uji tantangan tidak ada lagi ikan yang mati. Sebanyak tiga individu ikan dalam kolam uji tantangan ditemukan telah mengalami kematian pada durasi 24 jam pascainfeksi. Sampai minggu kedua (hari ke 14) pascainfeksi bakteri *A. hydrophila*, sebanyak 71 individu ikan mati. Sementara itu, semua ikan yang dipelihara dalam kolam kontrol memiliki sintasan hidup sebesar 100%.

Dari 100 ekor ikan yang diinfeksi bakteri *Aeromonas*, sebanyak 29 ekor tetap hidup dan pulih dari luka (sakit) sampai hari ke 30 pascainfeksi. Sebanyak 12 individu ikan mengalami luka pascainfeksi dan ketika sembuh menyisakan lekukan pada bekas luka dan dikelompokkan sebagai individu abnormal. Sementara itu, 17 individu ikan tidak mengalami luka pascainfeksi sehingga ketika pengamatan berakhir pada ikan tersebut tidak nampak adanya lekukan bekas luka dan dikelompokkan sebagai individu normal (Gambar 4).



A



B

Gambar 4. Ikan gurami setelah 30 hari pascainfeksi. A. yuwana hidup abnormal; B. yuwana hidup normal; 1. abnormalitas

Pembahasan

Deteksi gen major histocompatibility complex (MHC) II

Amplifikasi gen MHC II menggunakan pasangan primer pertama tidak memperoleh ampikon sesuai yang diharapkan. Hal tersebut diduga terjadi karena pada *template* DNA individu-individu tersebut tidak terdapat situs penempelan bagi primer yang digunakan. Kondisi tersebut sangat mungkin terjadi karena setiap individu dalam satu spesies memperlihatkan adanya variasi. Keberhasilan primer dalam mengamplifikasi *template* DNA dipengaruhi oleh situs komplemen, kondisi termal, bahan-bahan reaksi dalam PCR serta kondisi mesin PCR yang digunakan (Jakaria *et al.* 2007).

Pada penelitian ini, amplifikasi gen MHC menggunakan pasangan primer kedua memperoleh ampikon sesuai dengan yang diharapkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Wegner *et al.* (2006) bahwa amplifikasi gen MHC dari total genom menggunakan primer forwards: 5'ATGGAAGATGAAATCGCCGC3' dan reverse: 5'TGCCAGATCTTCTCCATGTGCG3' akan menghasilkan produk lebih kurang sekitar 400 pb (Gambar 2). Hasil ini mendekati hasil penelitian Wegner *et al.* (2006) yang berhasil mengamplifikasi gen MHC II three-spine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) sepanjang sekitar 360 pb. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil amplifikasi gen yang sama dari ikan stickleback betina yang hanya mampu mengamplifikasi

MHC II sepanjang sekitar 120 pb exon 2 (Reusch *et al.* 2001) dan mengamplifikasi exon 2 sepanjang 105 pb dari *three-spine stickle-back* (Wegner *et al.* 2006). Perbedaan tersebut diduga terjadi karena DNA template yang digunakan berbeda. Pada penelitian ini digunakan template DNA dari total genom, sedangkan pada penelitian Reusch *et al.* (2001) dan Wegner *et al.* (2006) template DNA yang digunakan merupakan cDNA hasil transkripsi balik dari RNA. Menurut Wegner *et al.* (2006) ampikon yang dihasilkan dari proses amplifikasi menggunakan primer yang sama tetapi menggunakan template DNA dari cDNA dan total genom akan berbeda ukuran. Dari *three-spine stickleback*, Wegner *et al.* (2006) memperoleh ampikon gen MHC II sepanjang sekitar 260 pb ketika menggunakan cDNA sebagai template DNA. Sementara itu, ketika menggunakan total genom sebagai cetakan DNA, ampikon yang dihasilkan memiliki ukuran sekitar 360 pb yang berarti 100 pb lebih panjang dibandingkan ketika menggunakan cDNA sebagai template DNA. Perbedaan ukuran fragmen yang diperoleh dari yuwana gurami pada penelitian ini dan dari ikan *three-spine stickle-back* Wegner *et al.* (2006) diduga karena setiap spesies ikan memiliki ukuran gen yang berbeda termasuk ukuran gen MHC II antara ikan gurami dan ikan *three-spine stickleback*. Dugaan tersebut diperkuat oleh adanya bukti dari Hayuningtyas *et al.* (2013), Aryanto *et al.* (2015), dan Supriyanto & Dharmawantho (2015) yang memperoleh ampikon gen MHC II sepanjang 300 pb dari ikan mas Rajadanu. Oleh karena itu, meskipun produk amplifikasi yang dihasilkan sedikit lebih panjang daripada ampikon yang dihasilkan dari *three-spine stickleback*, penelitian ini telah berhasil mendeteksi keberadaan gen MHC II pada ikan gurami sowang.

Amplifikasi gen MHC II ikan yang mati dan tetap hidup pascainfeksi *A. hydrophila* menghasilkan pola pita yang berbeda. Pada ikan yang mati hanya diperoleh fragmen gen MHC II dengan ukuran sekitar 400 bp. Sementara pada ikan yang hidup, amplifikasi menggunakan primer yang sama diperoleh fragmen gen MHC sebanyak dua buah, yakni fragmen berukuran sekitar 400 bp dan sekitar 585 bp (Gambar 3). 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 II. Keyakinan tersebut muncul karena amplifikasi dilakukan menggunakan primer spesifik untuk gen MHC II. Dihasilkannya dua pita DNA dari individu yang hidup pascainfeksi membuktikan bahwa gen MHC II dapat digunakan sebagai marker molekuler untuk membedakan ikan gurami sowang yang tahan dan tidak tahan *A. hydrophila*. Fragmen dengan ukuran sekitar 585 bp merupakan marka molekuler spesifik sebagai penciri gurami tahan infeksi *A. hydrophila*. Hasil serupa dilaporkan 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*.

Resistensi yuwana ikan gurami sowang terhadap infeksi Aeromonas hydrophila

Kematian yuwana ikan gurami sowang yang terjadi pada hari pertama pascainfeksi membuktikan dua hal. Pertama, bakteri *A. hydrophila* bersifat sangat ganas sehingga sudah mampu menyebabkan terjadinya kematian yuwana ikan dalam waktu yang sangat singkat. Kedua, yuwana ikan gurami yang berasal dari satu pemijahan memiliki resistensi yang berbeda terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*. Hasil tersebut

berbeda dengan hasil 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 tersebut diduga karena dua hal, yakni yuwana ikan gurami dan bakteri *A. hydrophila* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari sumber yang berbeda dengan yang digunakan Tanjung *et al.* (2011).

Pengamatan sampai minggu kedua pascainfeksi *A. hydrophila* memperoleh informasi bahwa sebagian besar yuwana gurami sowang telah mengalami kematian. Hasil tersebut memperkuat bukti bahwa *A. hydrophila* merupakan bakteri yang sangat ganas sehingga mampu menyebabkan kematian masal dalam waktu singkat. Kondisi tersebut sama dengan hasil penelitian Kamiso (1997) pada ikan lele dumbo bahwa serangan bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian ikan dalam waktu 1-2 minggu pascainfeksi dengan sebagian besar atau semua ikan mengalami kematian. Sementara itu, menurut Ibrahim *et al.* (2008) serangan bakteri *Aeromonas* dapat menyebabkan kematian ikan budi daya sebesar 10% sampai 80% populasi.

Data yang diperoleh menjadi bukti ilmiah bahwa ikan yang dihasilkan dari satu pemijahan memperlihatkan adanya variasi sifat resistensi terhadap infeksi *Aeromonas*. Yuwana gurami yang berasal dari satu pemijahan dan digunakan dalam penelitian ini hanya sebagian kecil yang bersifat resisten terhadap *Aeromonas*. Hal ini dapat menjadi penyebab menurunnya kualitas dan produksi ikan gurami karena kematian yang tinggi. Menurut Purwaningsih *et al.* (2014) *A. hydrophila* merupakan salah satu bakteri patogen penyebab kematian pada ikan gurami di daerah Parung, Bogor. Kondisi tersebut memperkuat argumentasi tentang pentingnya seleksi calon

induk tahan *Aeromonas* agar di masa datang dapat dikembangkan gurami tahan *Aeromonas*.

Agar proses seleksi tidak perlu dilakukan melalui infeksi *Aeromonas* maka perlu dikembangkan teknik seleksi secara langsung terhadap kualitas yuwana ikan yang ada di pasaran. Salah satu metode seleksi yang dapat ditawarkan adalah seleksi molekuler menggunakan karakter spesifik terkait sifat resistensi seperti gen MHC II.

Kesimpulan

Gen MHC II berhasil diamplifikasi dari yuwana gurami sowang menggunakan primer dari ikan three-spine stickleback. Fragmen gen MHC II 585 bp merupakan penciri spesifik ikan gurami sowang tahan infeksi *A. hydrophila*. Yuwana gurami sowang yang berasal dari satu pemijahan memiliki resistensi terhadap *Aeromonas hydrophila* yang berbeda dengan jumlah individu resisten lebih sedikit.

Persantunan

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Dirjen Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini melalui skim Penelitian Fundamental tahun 2015, Universitas Jenderal Soedirman yang telah menyediakan berbagai fasilitas sehingga penelitian ini dapat berlangsung, mahasiswa yang telah membantu selama penelitian di laboratorium, dan tukang yang membantu selama proses infeksi dan sampling jaringan sirip ikan.

Daftar Pustaka

Aryanto D, Hayuningtyas EP, Syahputra K. 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.
- Azis, Alimuddin, Sukenda, Junior MZ. 2015. Identifikasi kandidat MHC I pada ikan lele (*Clarias* sp.) tahan infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Riset Akuakultur* 10(2): 261-269.
- Bingulac-Popovic J, Figueroa F, Sato A, Talbot AS, Johnson AL, Gates M, Postlethwait JH, Klein J. 1997. Mapping of MHC class I and class II regions to different linkage groups in the zebrafish, *Danio rerio*. *Immunogenetics* 46(2): 129-134.
- Consuegra S, de Leaniz CG. 2008. MHC-mediated mate choice increases parasite resistance in salmon. *Proceedings of the Royal Society B* 275(1641): 1397-1403.
- Hayuningtyas EP, Ariyanto D, Syahputra K. 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.
- Ibrahim M, Mostafa M, Arab RMH, Rezk MA. 2008. Prevalence of *Aeromonas hydrophila* infection in wild cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Egypt. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008. pp 1257-1271.
- Jakaria, Duryadi D, Noor RR, Tappa B, Martojo H. 2007. Hubungan polimorfisme gen hormon pertumbuhan MSP I dengan bobot badan dan ukuran tubuh sapi Pesisir Sumatera Barat. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 32(1): 33-40
- Kamiso HN. 1997. Uji lapang penggunaan vaksin *Aeromonas hydrophila* pada lele dumbbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan* 1(2): 17-24.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2014. Budidaya gurami, penggerak perekonomian daerah dan meningkatkan kesejahteraan. [Online] tersedia di <http://www.djpb.kkp.go.id> [diakses 5 Januari 2015]
- Kurtz J, Kalbe M, Aeschlimann PB, Haberli MA, Wegner KM, Reusch TBH, Milinski M. 2004. Major histocompatibility complex diversity influences parasite resistance and innate immunity in sticklebacks. *Proceedings of the Royal Society London B*. 271(1535): 197-204
- Kurtz J, Wegner KM, Kalbe M, Reusch TBH, Schaschi H, Hasselquist D, Milinski M. 2006. MHC genes and oxidative stress in sticklebacks: an immuno-ecological approach. *Proceedings of the Royal Society B* 273(1592): 1407-1414
- Landry C, Bernatchez L. 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(10): 2525-2539.
- Latifah AD, Sarjito, Prayitno SB. 2014. Karakterisasi bakteri dan gambaran histopatologi pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang terserang penyakit mata belo. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(4): 93-100.
- Miller KM, Kaukinen KH, Beacham TD, Withler RE. 2001. Geographic heterogeneity in natural selection on an MHC locus in sockeye salmon. *Genetica*. 111(1): 237-257.
- Mulia DS. 2007. Keefektifan vaksin *Aeromonas hydrophila* untuk mengendalikan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.). *Jurnal Pembangunan Pedesaan*, 7(1): 43-52.
- Nugroho E, Satyani D, Rusmaedi. 1993. Evaluasi potensi genetik dari beberapa ras gurame. *Buletin Penelitian Perikanan Darat* 12(1): 30-36.
- Purwaningsih U, Indrawati A, Lusiastuti AM. 2014. Proteksi vaksin monovalen dan koktail selutuh terhadap ko-infeksi *Mycobacterium fortuitum* dan *Aeromonas hydrophila* pada ikan gurame, *Osphronemus gouramy*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 9(2): 283- 294.
- Rakus KL, Wiegertjes GF, Jurecka P, Walker PD, Pilarczyk A, Irnazarov I. 2009. Major histocompatibility (MH) class II B gene polymorphism influences resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) *Aquaculture* 288 (1): 44 – 50.
- Reusch TBH, Haberli MA, Aeschlimann PB, Milinski M. 2001. Female sticklebacks count alleles in a strategy of sexual selection explaining MHC polymorphism. *Nature*, 414: 300-302.
- Setijaningsih L, Arifin OZ, Gustiano R. 2007. Karakterisasi tiga ras ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) berdasarkan metode truss morfometriks. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 7(1): 23-30
- Sultmann H, Meyer WE, Figueroa F, O'hUigin C, Klein J. 1994. Organization of MHC

- class II B gene in the zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Genomics*, 23 (1): 1-14.
- Supriyanto, Dharmawantho L. 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 LR, Triyanto, Sadi NH, Haryani GS, Said DS. 2011. Uji ketahanan beberapa ras gurami terhadap penyakit *Aeromonas*. *Limnotek* 18 (1): 58 – 71.
- Wegner KM, Kalbe M, Rauch G, Kurtz J, Schaschl H, Reusch TBH. 2006. Genetic variation in MHC class II expression and interactions with MHC sequence polymorphism in three-spined sticklebacks. *Molecular Ecology*, 15(4): 1153-1164.
- Yu HB, Rao PSS, Lee HC, Vilches S, Merino S, Tomas JM, Leung KY. 2004. A type III secretion system is required for *Aeromonas hydrophila* AH-1 pathogenesis. *Infection and Immunity*, 72 (3): 1248-1256