

Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinases* (MAPK_s) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda

TESIS
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Magister Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya



Oleh :

Muhammad Rezki Fauzi
NIM : 156080100011004

PROGRAM PASCASARJANA BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019

Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPKs) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**

Oleh :

**Muhammad Rezki Fauzi
NIM : 156080100011004**

**PROGRAM STUDI PASCASARJANA BUDIDAYA PERAIRAN
MINAT REPRODUKSI IKAN**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

TESIS

Ekspresi Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPKs) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda

Oleh:

**Muhammad Rezki Fauzi
NIM : 156080100011004**

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Pembimbing

Ketua

Anggota

Dr. Ir. Maheno Sri Widodo, MS
NIP. 19600425 198503 1 002
Tanggal: 19 FEB 2019

Dr. Ir. M. Fadjar, MSc
NIP. 19621014 198701 1 001
Tanggal: 19 FEB 2019

Mengetahui,

Dekan

Ketua

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

Program Magister



Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal: 19 FEB 2019

Dr. Ir. Maftuch, M.Si
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal: 19 FEB 2019



JUDUL TESIS

Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPKs) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda

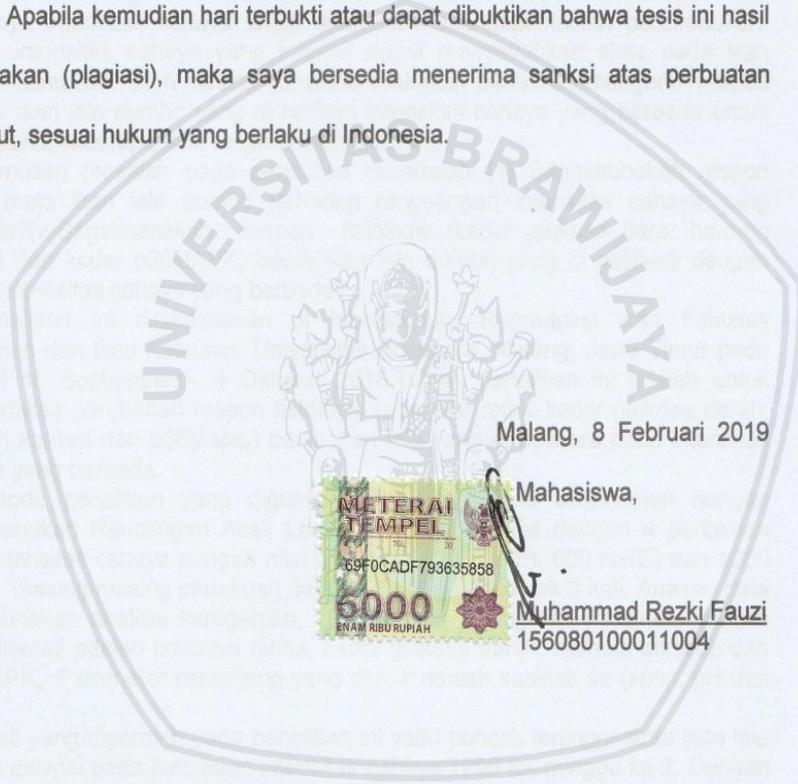


Nama Mahasiswa : Muhammad Rezki Fauzi
NIM : 156080100011004
Program Studi : Budidaya Perairan
Minat : Reproduksi
Komisi Pembimbing
Ketua : Dr. Ir. Maheno Sri Widodo, MS
Anggota : Dr. Ir. Muhammad Fadjar, M.Sc
Komisi Penguji : Dr. Ir. Muhammad Musa, MS
Anggota : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si
Tanggal Ujian Thesis : 8 Februari 2019
SK Penguji : No. 65 Tahun 2017

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis yang saya tulis ini benar - benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa tesis ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, 8 Februari 2019

Mahasiswa,



Muhammad Rezki Fauzi
156080100011004



RINGKASAN

Muhammad Rezki Fauzi. Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK_s) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda. Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Maheno Sri Widodo, MS** dan **Dr. Ir. M. Fadjar, MSc**

Kebutuhan ikan dari tahun ke tahun mengalami peningkatan salah satunya adalah lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang perkembangan produksinya secara nasional sangat baik. Tahun 2010, angka sementara yang dipublikasikan produksi lele dumbo dari hasil budidaya sebesar 273.554 ton. Ikan lele dumbo bersifat nokturnal, salah satu faktor yang sangat penting bagi pertumbuhan adalah cahaya yang meliputi spektrum warna, intensitas dan fotoperiode. Pada umumnya intensitas cahaya tinggi akan lebih mengoptimalkan pertumbuhan, namun intensitas cahaya yang intensif dapat menyebabkan stres pada ikan bahkan kematian. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai respon fisiologi ikan lele dumbo yang di berikan intensitas cahaya yang berbeda untuk mengetahui seberapa jauh respon stress ikan lele.

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah (1) Bagaimanakah respon retina mata ikan lele dumbo terhadap rangsangan intensitas cahaya yang berbeda?(2)Bagaimanakah respon fisiologis (kadar glukosa dara, hormon kortisol dan kadar p38MAPK_s benih ikan lele dumbo yang di pelihara dengan tingkat intensitas cahaya yang berbeda?.

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Reproduksi ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur pada tanggal 13 September – 4 Oktober 2018. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa perubahan respon fisiologis (adaptasi retina, kadar glukosa darah, hormon kortisol dan p38Mapk_s) benih ikan lele yang di pelihara pada intensitas cahaya yang berbeda.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 4 perlakuan yaitu intensitas cahaya dengan nilai 0 lux (A), 400 lux (B), 800 lux(C) dan 1200 lux (D), masing-masing perlakuan dengan ulangan sebanyak 3 kali. Analisis data menggunakan analisis keragaman, uji BNT dan uji regresi. Parameter utama yang diamati adalah adaptasi retina, kadar glukosa darah, hormon kortisol, dan p38MAPK_s. Parameter penunjang yang diukur adalah kualitas air (suhu, pH dan DO).

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu puncak tertinggi stres ikan lele dumbo dicapai pada perlakuan intensitas cahaya 1200 lux minggu ke-2. Dengan nilai kadar glukosa darah sebesar $120 \pm 3,4^b$ mg/dL, hormon kortisol sebesar $34,27 \pm 1,50^b$ ng/mL, enzim p38MAPK_s sebesar $97,3 \pm 1,1^b$ % dan respon retina dengan perlakuan B 400 lux, C 800 lux dan D 1200 lux sel kon pada minggu ke-3 mengalami adaptasi penuh.

Berdasarkan hasil penelitian ini Intensitas cahaya mempengaruhi respon glukosa darah, hormon kortisol dan enzim p38mapk_s) ikan lele dumbo (*C. gariepinus*). Tingginya glukosa darah, kadar kortisol dan presentase enzim p38MAPK_s mengindikasikan ikan stres.

Kata kunci : *Clarias gariepinus*, Respon retina, glukosa darah, , kortisol dan p38MAPK_s.

SUMMARY

Muhammad Rezki Fauzi. Expression of Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPKs) and Cortisol Hormones in Catfish (*Clarias gariepinus*) Against Different Light Intensities. Under the guidance of **Dr. Ir. Maheno Sri Widodo, MS** and **Dr. Ir. M. Fadjar, MSc.**

The need for fish to increase from year to year, one of which is African catfish (*Clarias gariepinus*), whose national production development is very good. In 2010, the temporary figures published by African catfish production from cultivation amounted to 273,554 tons. African catfish are nocturnal, one of the most important factors for growth is light which includes the color spectrum, intensity and photoperiod. Changes in environmental factors such as irradiation and temperature can also affect the growth and development of organisms. In general, high light intensity will further optimize growth, but intensive light intensity can cause stress to fish and even death. Therefore, it is necessary to do research on the physiological response of African catfish which is given different light intensities to find out how far the stress response of catfish.

The formulation of the problem in this study? (1) What is the retinal response of African catfish eyes to different light intensity stimuli? (2) What is the physiological response (blood glucose levels, cortisol hormone and p38MAPKs levels of catfish maintained at different levels of light intensity?).

This research was conducted in the fish reproduction laboratory of the Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Brawijaya University, Malang, East Java on September 13 - October 4, 2018. The purpose of this study was to analyze changes in physiological responses (adaptation of retina, blood glucose levels, cortisol and p38Mapks) Catfish seeds are maintained at different light intensities.

The research method used was the experimental method using factorial Randomized Complete Design (RAL) with 4 treatments, namely light intensity with a value of 0 lux (A), 400 lux (B), 800 lux (C) and 1200 lux (D), respectively. each treatment with replications 3 times. Data analysis using diversity analysis, BNT test and regression test. The main parameters observed were retinal adaptation, blood glucose levels, cortisol hormones, and p38MAPKs. The supporting parameters measured are water quality (temperature, pH and DO).

The results obtained in this study were the highest peak stress of African catfish achieved at 1200 lux light intensity treatment the second week. With a blood glucose level of 120 ± 3.4 mg / dL, the cortisol hormone is 34.27 ± 1.50 ng / mL, the p38MAPKs enzyme is $97.3 \pm 1.1b\%$ and the retinal response is B 400 lux, C 800 lux and D 1200 lux con cells at 3 weeks experienced full adaptation.

Based on the results of this study, light intensity affects the response of blood glucose, cortisol and p38mapks enzymes) African catfish (*C. gariepinus*). High blood glucose, cortisol levels and the percentage of the p38MAPKs enzyme indicate stress in fish.

Keywords: *Clarias gariepinus*, Retinal response, blood glucose, cortisol and p38MAPKs.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal tesis dengan judul Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Tingkat Stres Ikan Lele (*Clarias gariepinus*). Proposal tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Budidaya Perairan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa dalam laporan ini masih terdapat banyak kekurangan, sehingga diharapkan adanya kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Penulis berharap proposal tesis ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan dapat meningkatkan wawasan.

Malang, 8 Februari 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP



Muhammad Rezki Fauzi, S.Pi lahir di Rantau pada tanggal 8 juli 1993. Anak kedua dari 3 bersaudara dari pasangan Bapak Ir. H. SARIFIN, MS dan Ibu Hj. KASMINI, SP. Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan di SDN Sungai Besar 2 Banjarbaru Kalimantan Selatan, pada tahun 1999-2005. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama diselesaikan disekolah di Pondok Pesantren Modern Islam Assallam Sukaharjo, Solo, Jawa Tengah pada tahun 2005-2008. Pendidikan Sekolah Menengah diselesaikan di SMA 7 Mataram pada tahun 2008-2011. Pendidikan Strata 1 (S1/Sarjana) diselesaikan di program studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya, tahun 2011-2015.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan semesta alam, yang telah memberikan kemuliaan atas ilmu pengetahuan. Atas kebesaran dan izin-Nya, penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul “Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPKs) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda”. Penyusunan naskah Tesis ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis Bapak Ir. H. SARIFIN, MS dan Ibu Hj. KASMINI, SP, serta Saudara/i, dr. Venia Miftahul Rezki, dr. Nawis Esti Wibowo, drg. Inna Rezki Rahmasari dan Adeeva Rezki Meysha yang selalu mendukung, mendo'akan serta memberikan motivasi.
2. Dr. Ir. Maheno Sri Widodo, MS dan Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulisan Tesis.
3. Dr. Ir. Muhammad Musa, MS dan Dr. Uun Yanuhar, S,Pi, M.Si selaku dosen penguji yang telah membimbing penulisan Tesis.
4. Shilvia Astryanti, S.Pi, yang membantu dan memberikan semangat serta doa.
5. Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dekan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan serta Dr. Ir. Maftuh, MS selaku Ketua Program Pascasarjana (S2) yang banyak memberikan saran dan masukan kepada saya.
6. Bapak udin dan Ribut selaku laboran laboratorium Reproduksi ikan yang telah memberikan izin dan bantuan fasilitas selama penelitian tesis.

7. Teman-teman Magister angkatan 2015 atas motivasi dan dukungannya, terutama untuk Group papi pasca Harun Wijaya, Faizal zakaria, Galih Ardhi Nugraha, Randy Adhi Kamula, Adhryan dan semua yang sudah banyak membantu selama penelitian dan penyusunan tesis ini.



DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN ORISINILITAS	ii
RINGKASAN.....	iii
SUMMARY	iv
KATA PENGANTAR	v
RIWAYAT HIDUP	vi
UCAPAN TERIMAKASIH.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
GLOSARIUM.....	xii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>).....	6
2.2 Intensitas Cahaya.....	7
2.3 Indera Penglihatan	8
2.4 Stres dan Respon Fisiologi Ikan	9
2.5 Glukosa Darah	11
2.6 Hormon Kortisol	12
2.7 Jalur Aktivasi Mapk	13
2.8 Kualitas Air.....	15
2.8.1 Suhu.....	15
2.8.2 pH	16
2.8.3 DO.....	17

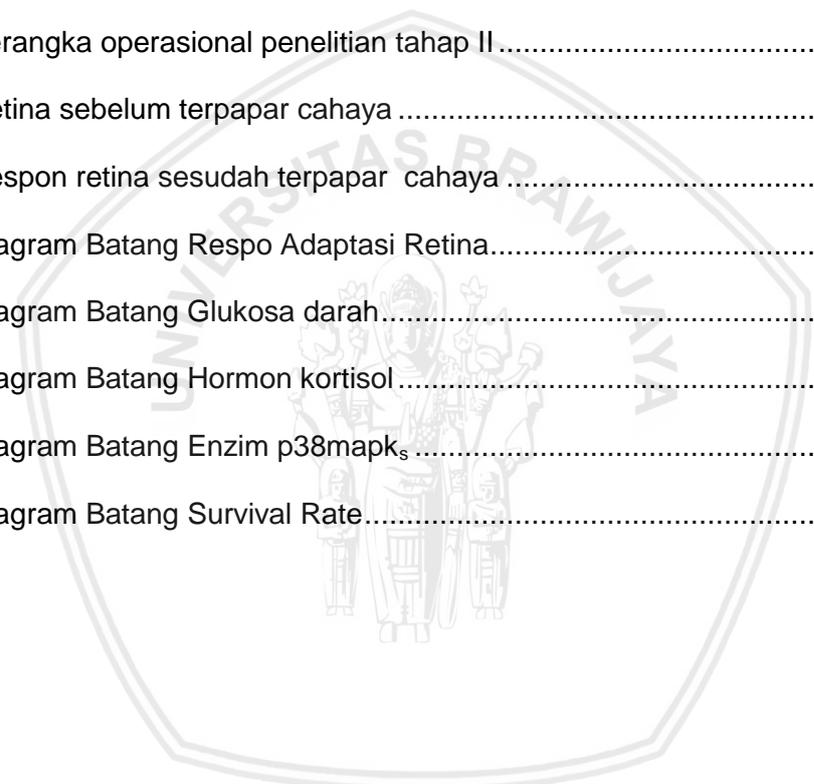
3. KERANGKA KONSEP PENELITIAN	18
3.1 Landasan teori	18
3.2 Kerangka Konsep Penelitian	22
3.3 Kerangka Operasional Penelitian	25
3.4 Kebaruan Penelitian	26
3.5 Strategi Publikasi.....	27
4. METODOLOGI PENELITIAN	28
4.1 Materi Penelitian	28
4.1.1 Alat-alat Penelitian.....	28
4.1.2 Bahan-bahan Penelitian	28
4.2 Metode Penelitian.....	28
4.3 Rancangan Penelitian	29
4.4 Prosedur Penelitian.....	30
4.4.1 Persiapan wadah.....	30
4.4.2 Penebaran Benih.....	30
4.4.3 Pengaturan Intensitas Cahaya.....	30
4.4.4 Paramete Air	31
4.5 Parameter	31
4.5.2 Parameter Utama	31
4.5.2.1 Histologi Mata Ikan.....	31
4.5.2.2 Glukosa Darah	33
4.5.2.3 Kortisol	33
4.5.3.4 Mapk.....	34
4.5.3.5 Survival Rate.....	36
4.5.3 Parameter Penunjang.....	37
4.5 Analisa Data.....	37
5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
5.1 Respon retina	38
5.2 Glukosa Darah	42
5.3 Kortisol.....	45
5.4 Enzim p38mapk _s	46
5.5 Survival Rate.....	48
5.6 Kualitas Air.....	49

6. KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
6.1 Kesimpulan.....	51
6.2 Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Hal
1.	Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	6
2.	Intensitas Cahaya	7
3.	Kerangka konsep penelitian.....	24
4.	Kerangka operasional penelitian tahap I	25
5.	Kerangka operasional penelitian tahap II	26
6.	Retina sebelum terpapar cahaya	35
7.	Respon retina sesudah terpapar cahaya	39
8.	Diagram Batang Respo Adaptasi Retina.....	40
9.	Diagram Batang Glukosa darah.....	42
10.	Diagram Batang Hormon kortisol	45
11.	Diagram Batang Enzim p38mapk _s	46
12.	Diagram Batang Survival Rate.....	48



DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Hasil penelitian terdahulu yang menjadi landasan teori penelitian	20
2. Strategi Publikasi Jurnal	27
3. Kualitas Air	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Dokumentasi Penelitian	59
2. Pergerakan Sel Kon	62
3. Hasil Pengamatan Enzim p38mapk _s	65
4. Bagan Histologi Retina	68
5. Bagan Uji Glukosa Darah	69
6. Bagan Uji Hormon Kortisol	70
7. Bagan Uji Enzim p38MAPK _s	71
8. Skematik diagram prosedur histologi retina mata ikan	72
9. Perbedaan warna ikan lele dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	73
10. Perhitungan Respon Adaptasi Retina	74
11. Perhitungan Glukosa Darah	86
12. Perhitungan Hormon Kortisol	96
13. Perhitungan Enzim p38MAPK _s	106
14. Perhitungan Survival Rate	114

GLOSARIUM

A

- ACTH** : *Adrenocorticotropin Hormone*, Suatu protein (polipeptida) yang terdiri dari asam amino-39 dan beberapa peptide (fragmen-N, betalipoprotein). Menstimulasi sekresi glukokortikoid misalnya kortisol dan juga mengontrol sekresi aldosterone dan hormone steroid lainnya dalam korteks adrenal.
- Adlibitum** : Pemberian pakan pada ikan sedikit demi sedikit sampai ikan tersebut berhenti makan atau kenyang
- Aklimatisasi** : Suatu penyesuaian fisiologis atau adaptasi dari suatu organisme terhadap suatu lingkungan baru yang akan di masukinya.
- Anabolik** : Suatu fase dimana tubuh memperbaiki dan mengembangkan sel-sel sebagai bagian dari proses metabolisme.
- Antibodi** : Glikoprotein dengan struktur tertentu yang disekresikan oleh sel B yang telah teraktivasi menjadi sel plasma sebagai respon antigen tertentu dan reaktif terhadap antigen tersebut.
- Antigen** : Sebuah zat yang merangsang respon imun, terutama dalam menghasilkan antibodi.
- AP-1** : *Activator protein 1* yaitu protein di dalam inti sel berbentuk heterodimerik dari kompleks fos dan subgroup ATF, yang merupakan faktor transkripsi memiliki peran penting dalam ekspresi genetik seluler seperti transformasi.
- Apoptosis** : Mekanisme biologi yang merupakan salah satu jenis kematian sel terprogram.
- ASK1** : *Apoptosis signal regulating kinase 1* sebagai sensor adanya stres oksidatif.
- ATF 2** : *Activator transcription factors* yang menstimulasi transkripsi gen.
- ATP** : *Adenosin trifosfat*, Suatu nukleotida yang dalam biokimia dikenal sebagai "satuan molekuler" pertukaran energy intraseluler ; artinya ATP dapat di gunakan untuk menyimpan dan mentranspor energy kimia dalam sel, berperan juga dalam mensintesis asam nukleat.

C

- Coenzim Q** : Ko-faktor yang berupa molekul organik kecil yang merupakan bagian enzim yang tahan panas, mengandung ribose dan fosfat, larut dalam air dan bisa bersatu dengan apoenzim membentuk

holoenzim. Berfungsi untuk menentukan sifat dari suatu reaksi dan dapat bertindak sebagai transport elektron dari satu enzim ke enzim yang lain.

CRF : *Corticotropin releasing factor*, Hormon yang mengatur kelenjar pituitari untuk mensekresikan ACTH (*Adenocortico-tropik hormone*).

D

Disfungsi : Tidak berfungsi secara normal.

DNA : Sebuah polimer yang terdiri dari satuan-satuan berulang yang disebut nukleotida.

E

Endotel : Sel-sel endotel yang melapisi dinding bagian dalam pembuluh darah, secara strategis berada diantara plasma serta sel-sel darah dan otot polos pembuluh darah.

Eosinofil : Sel darah putih dari kategori granulosit yang berperan dalam sistem kekebalan dengan melawan parasite multiseluler dan beberapa infeksi pada makhluk beberapa vertebrata.

ERK : *extracellular signal-regulated protein kinases* merupakan famili protein kinase yang diaktifkan oleh faktor pertumbuhan.

F

Fisiologi : Salah satu dari cabang-cabang biologi yang mempelajari berlangsungnya sistem kehidupan.

Fosforilasi : Penambahan gugus fosfat pada suatu protein atau molekul organik lain. Fosforilasi dapat meningkatkan efisiensi katalitik enzim mengubahnya menjadi bentuk aktifnya dalam suatu protein.

G

G-protein : Protein tertanam di permukaan sel tepatnya pada membrane sel.

Gen : Unit warisan sifat bagi organisme hidup.

Glikogen : Bentuk simpanan karbohidrat di dalam tubuh.

Glukogenesis : Sintesa glukosa dari senyawa bukan karbohidrat, misalnya asam laktat dan beberapa asam amino.

Glukokortikoid : Golongan hormon steroid yang memberikan pengaruh terhadap metabolisme nutrisi.

GLUT-1 : Transporter glukosa pada melanosom yang mempunyai panjang 492 asam amino.

H

Hematologi : Cabang ilmu kesehatan yang mempelajari darah, organ pembentuk darah dan penyakitnya.

Hiperglikemia : Istilah medis untuk keadaan dimana kadar gula dalam lebih tinggi dari nilai normal. Dalam keadaan normal gula darah berkisar antara 70-80 mg/dl.

Hipotalamus : Bagian dari otak yang terdiri dari sejumlah nucleus dengan berbagai fungsi yang sangat peka terhadap steroid dan glukokortikoid.

Homeostatis : Mekanisme tubuh untuk mempertahankan keseimbangan dalam menghadapi berbagai kondisi yang dapat terjadi secara ilmiah apabila tubuh mengalami stres.

I

Inflamasi : Respon dari suatu organisme terhadap pathogen dan alterasi mekanis dalam jaringan, berupa rangkaian reaksi yang terjadi pada tempat jaringan mengalami cedera seperti karena terbakar atau terinfeksi.

Insulin : Hormon alami berupa hormone polipeptida yang diproduksi oleh organ pancreas (sel-sel beta), yang berfungsi dalam mengatur metabolisme karbohidrat dan tingkat gula darah (glukosa) dalam tubuh.

Interlukin 1 & 2: Sebutan bagi beberapa polipeptida sitokina.

J

JNK : Turunan jalur persinyalan MAPK yang aktif dalam bentuk protein stres.

K

Katabolisme : Lintasan metabolisme yang merombak suatu substrat kompleks molekul organik menjadi komponen-komponen penyusunnya sambil melepaskan energy pada umumnya berupa ATP.

Katekolamin : Istilah digunakan untuk merujuk sekelompok hormon yang memiliki gugus katekol yang dikeluarkan oleh kelenjar adrenal dalam menanggapi stres.

Makrofag : Sel pada jaringan yang berasal dari sel darah putih yang disebut monosit,

M

MEK : MAPK Kinase cabang dari MAPK_s yang merupakan enzim kompleks memicu respon seluler.

MEKK : MAPK Kinase cabang dari MAPK_s yang merupakan enzim kompleks memicu respon selluler.

Metabolisme : Suatu proses kimiawi yang terjadi dalam tubuh makhluk hidup.

Mitosis : Proses pembagian genom yang telah digandakan oleh sel ke dua sel identik yang dihasilkan oleh pembelahan sel.

MKK3 : Enzim kinase yang termasuk dalam anggota MAPK.

MKK4 : Enzim kinase yang termasuk dalam anggota MAPK.

MKK6 : Enzim kinase yang termasuk dalam anggota MAPK.

MKK7 : Enzim kinase yang termasuk dalam anggota MAPK.

MSH : Suatu hormone kelas peptide yang dihasilkan atau diproduksi oleh hipofis anterior dalam kelenjar pituitary.

N

NF-KB : Faktor transkripsi pada mamalia yang mengontrol sejumlah gen penting dalam proses imunitas dan inflamasi.

NO : Salah satu molekul dalam tubuh.

O

Organ reseptor: Organ penerima rangsang.

Osmotik : Tekanan yang diperlukan untuk menghentikan osmosis yaitu gerakan molekul pelarut melewati membrane semi permeable ke larutan yang lebih pekat.

P

Pejanan : Peristiwa yang menyebabkan penularan,

Patogen : Agen biologis yang menyebabkan penyakit pada inangnya.

Protein kinase : Protein onkogenik yang mengalami fosforilasi katalitik dari tirosin.

R

RNA : Hasil dari transkripsi dari suatu fragmen DNA, sehingga RNA sebagai polimer yang jauh lebih pendek jika dibandingkan dengan DNA.

ROS : *Reactive oxygen species*, Radikal bebas baik, anion mengandung atom oksigen reaktif atau molekul yang mengandung atom oksigen yang dapat menghasilkan radikal bebas.

S

Sel kromafin : Sel yang terdapat di medulla merupakan modifikasi neuron postganglion yang menjadi sumber penghasil hormone jenis katekolamin.

Siklus kreb : Reaksi antara asetil ko-A dengan asam oksaloasetat yang kemudian membentuk asam sitrat.

Sitokin : Protein yang dibuat oleh sel-sel yang mempengaruhi perilaku sel-sel lain.

T

TNF : *Tumor necrosis factor*, Salah satu dari sejumlah besar sitokin, banyak yang sedang terlibat dalam pathogenesis gangguan rematik dan inflamasi, seperti sitokin kebanyakan itu adalah protein yang memediasi komunikasi antara sel-sel.



1.PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan ikan dari tahun ke tahun mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan jumlah penduduk. Peningkatan tersebut perlu ditopang dengan ketersediaan ikan untuk memenuhi kebutuhan tersebut. Salah satunya adalah lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang perkembangan produksinya secara nasional sangat baik. Hal tersebut dapat dilihat dari ketersediaan ikan lele dumbo yang selama lima tahun terakhir produksinya terus meningkat. Pada tahun 2005 produksi nasional lele dumbo sebesar 69.386 ton, tahun 2006 sebesar 77.332 ton, tahun 2007 sebesar 91.735 ton lalu tahun 2008 meningkat menjadi 114.371 ton dan pada tahun 2009 terus meningkat menjadi 144.755 ton. Tahun 2010, angka sementara yang dipublikasikan produksi lele dumbo dari hasil budidaya sebesar 273.554 ton (Rakhmawati *et al.*, 2011).

Pada siang hari lele dumbo memang jarang menampakkan aktivitasnya dan lebih menyukai tempat yang bersuasana sejuk dan gelap. Ikan lele dumbo bersifat nokturnal (aktif pada malam hari). Lele dumbo mencari makan biasa dilakukan pada malam hari (Santoso, 1994). Kemampuan ikan untuk tertarik pada sumber cahaya berbeda-beda. Cahaya yang memiliki intensitas dan panjang gelombang tertentu akan mempengaruhi pergerakan atau tingkah laku ikan baik secara langsung maupun tidak langsung. Ikan tertentu adaptif terhadap intensitas cahaya rendah, sedangkan jenis lain adaptif terhadap intensitas cahaya tinggi (Boeuf dan Le-Bail, 1999). Menurut Ariandhana (2010), salah satu faktor yang sangat penting bagi pertumbuhan adalah cahaya yang meliputi spektrum warna, intensitas dan fotoperiode. Perubahan faktor lingkungan seperti lama penyinaran dan suhu juga dapat memengaruhi pertumbuhan dan

perkembangan organisme (Elseth dan Baumgardner, 1984). Menurut Boeuf dan Le Bail (1989), pada umumnya intensitas cahaya tinggi akan lebih mengoptimalkan pertumbuhan, namun intensitas cahaya yang intensif dapat menyebabkan stres pada ikan bahkan kematian.

Ikan yang mengalami stress akan menghindari aktivitas anabolik seperti pertumbuhan dan reproduksi, dalam jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya penurunan pertumbuhan, resistensi penyakit, keberhasilan reproduksi, tampilan renang dan karakteristik biota atau populasi (Iwama, 2003).

Hematologi sering juga digunakan untuk mendeteksi perubahan fisiologis yang disebabkan oleh stress lingkungan dan juga berhubungan dengan status kesehatan ikan (Al-Attar, 2005). Untuk melihat stress ikan biasanya juga diukur kadar kortisol dan glukosa darah (Porchaz *et al.*, 2009).

Secara alami sel-sel pada ikan merespon kehadiran stressor lingkungan dengan memproduksi protein stress seperti *mitogen-activated protein kinase* (MAPKs). MAPKs merupakan salah satu sistem persinyalan seluler yang penting pada ikan sebagai respon terhadap keberadaan stressor lingkungan, sehingga protein stress ini berpotensi digunakan sebagai biomarker molekuler (Santoso, 2010). Penerapan biomarker molekuler penting dalam usaha akuakultur untuk biomonitoring perairan yang menjadi sumber air ataupun media pemeliharaan organisme budidaya. Pendeteksian dini keberadaan stressor lingkungan perairan dapat mencegah kegagalan usaha akuakultur akibat penurunan produksi.

1.2 Rumusan Masalah

Semakin meningkatnya permintaan pasar ikan lele dumbo berdampak meningkatnya usaha pembesaran ikan lele dumbo, salah satu faktor yang dapat meningkatkan keberhasilan panen ikan lele dumbo adalah parameter kualitas air

fisika dan kimia. Ikan sebagai organisme akuatik seringkali berhadapan dengan stressor lingkungan perairan. Stressor yang akan di amati yaitu intensitas cahaya khususnya organisme yang aktif pada malam hari atau ikan nokturnal. Kurangnya informasi mengenai intensitas cahaya yang dapat di tolerir ikan lele untuk kemajuan teknologi yang masa akan datang untuk budidaya yang di lakukan di dalam ruangan atau indoor. Intensitas cahaya yang berlebihan diduga akan di respon ikan sebagai stressor lingkungan. Ikan yang mengalami stress akan meningkatkan sekresi katekolamin dan kortisol. Kedua hormon tersebut pada kadar tinggi berpengaruh negatif terhadap sistem imunitas ikan, karena meningkatnya kortisol dalam plasma akan menghambat pembentukan interleukin I dan II. Akibatnya kekebalan tubuh ikan akan menurun dan mudah terinfeksi pathogen, dengan demikian dapat menyebabkan tingkat kematian yang tinggi

Perubahan intensitas cahaya akan mempengaruhi tingginya kebutuhan glukosa darah untuk thermogenesis. Kebutuhan energi glukosa untuk menangani stress dapat terpenuhi apabila glukosa dalam darah dapat segera masuk ke dalam sel target. Keberhasilan pasok glukosa ke dalam sel di tentukan oleh kinerja insulin. Sedangkan selama stress akan terjadi inaktivasi insulin sehingga menutup penggunaan glukosa darah sel. Pada kondisi hiperglikemia akan terbentuk lebih banyak NADH dan $FADH_2$ akibat peningkatan metabolisme glukosa melalui siklus krebs, yang pada titik batas tertentu akan terjadi blockade transport elektron di kompleks III sehingga terjadi penumpukan electron di koenzim Q. Elektron ini akan direaksikan dengan molekul O_2 sehingga terbentuk O_2^- (superoksida). Bila produksi O_2^- melebihi kemampuan SOD (*superoxide dismutase*) maka akan terbentuk ROS (*Reactive Oxygen Species*), ROS akan mengaktivasi p38MAPK_s. Enzim p38MAPK_s yang aktif dapat mempengaruhi beberapa proses seluler antara lain pertumbuhan sel dan apoptosis, inflamasi, serta respon jaringan spesifik akibat stress melalui regulasi ekspresi gen. Enzim

p38 MAPK_s juga meregulasi serin kinase dan mengaktifkan faktor transkripsi yang menyebabkan berbagai efek patologis.

Dari uraian diatas dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimanakah respon retina mata ikan lele dumbo terhadap rangsangan intensitas cahaya terhadap tingkat stress ?
2. Bagaimanakah respon fisiologis (kadar glukosa darah, hormon kortisol dan p38MAPK_s benih ikan lele dumbo yang di pelihara dengan tingkat intensitas cahaya yang berbeda ?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan yang ingin dicapai melalui penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menganalisa respon retina ikan lele dumbo terhadap rangsangan intensitas cahaya yang berbeda.
2. Menganalisa perubahan respon fisiologis (kadar glukosa darah, hormon kortisol dan p38MAPK_s) benih ikan lele yang di pelihara pada intensitas cahaya yang berbeda.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat yang dipaparkan sebagai berikut :

1. Memberikan informasi mengenai kisaran intensitas cahaya yang dapat di tolerir oleh benih ikan lele dumbo dilihat dari respon stress dan memberikan informasi berapa lama stress tersebut terjadi di lihat dari adaptasi retina .
2. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah wawasan ilmu pengetahuan sekaligus sebagai pengembangan budidaya lele skala indoor. Serta sebagai bahan pertimbangan untuk menciptakan suatu alternatif baru dalam bidang akuakultur.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga perbedaan tingkat intensitas cahaya yang berbeda tidak berpengaruh terhadap perubahan kadar glukosa darah, kortisol dan p38 MAPK_S.

H_1 : Diduga perbedaan tingkat intensitas cahaya yang berbeda berpengaruh terhadap perubahan kadar glukosa darah, kortisol dan p38 MAPK_S.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Reproduksi ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur pada tanggal 13 September – 4 Oktober 2018.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*)

Klasifikasi ikan lele menurut Saanin (1984) adalah:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Sub-kingdom	: <i>Metazoa</i>
Phyllum	: Chordata
Sub-phyllum	: Vertebrata
Klas	: Pisces
Sub-klas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysii
Sub-ordo	: Siluroidea
Familia	: Clariidae
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias gariepinus</i>



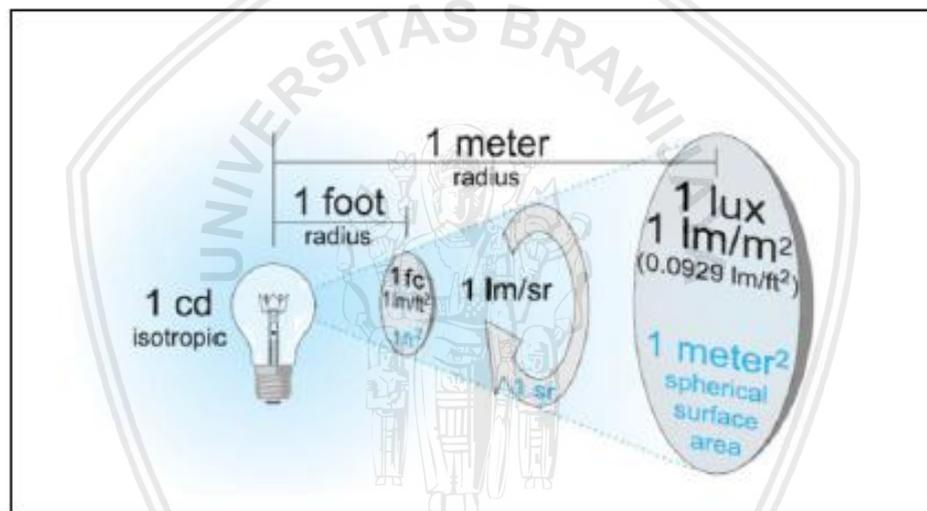
Gambar 1. Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Habitatnya di sungai dengan arus air yang perlahan, rawa, telaga, waduk, sawah yang tergenang air. Ikan lele bersifat nokturnal, yaitu aktif bergerak mencari makanan pada malam hari. Pada siang hari, ikan lele berdiam diri dan berlindung di tempat-tempat gelap. Di alam ikan lele memijah pada musim penghujan. Ikan

lele dapat hidup pada suhu 20 °C, dengan suhu optimal 25-28 °C. Pertumbuhan larva diperlukan kisaran suhu antara 26-30 °C dan untuk pemijahan 24-28 °C, pada pH 6,5–9 (Mahyudin, 2008).

2.2 Intensitas Cahaya

Intensitas cahaya atau *illuminance* adalah sebuah ukuran fotometri flux perunit area atau flux density yang terlihat. Intensitas cahaya atau *illuminance* dinyatakan dalam lux (lumen per meter persegi) atau foot-candel (lumen per foot kuadrat) (Ryer, 1998).



Gambar 2. Intensitas cahaya (*illuminance*) (Ryer, 1998).

Cahaya mempengaruhi ikan pada waktu memijah dan pada larva. Jumlah cahaya yang tersedia dapat mempengaruhi waktu kematangan ikan. Jumlah cahaya juga mempengaruhi daya hidup larva ikan secara tidak langsung, hal ini diduga berkaitan dengan jumlah produksi organik yang sangat dipengaruhi oleh ketersediaan cahaya. Cahaya juga mempengaruhi tingkah laku larva (Valpato dan Barreto, 2001).

Cahaya juga dipercaya mempengaruhi kelakuan makan, daya hidup ikan, metabolisme dan kanibalisme larva beberapa spesies ikan. Berbeda dengan

kematangan gonad yang memerlukan periode penyinaran yang pendek, larva ikan membutuhkan penyinaran yang lebih lama, larva ikan biasanya akan tertarik dengan adanya cahaya. Kebutuhan akan cahaya tergantung dari jenis ikan tersebut. Pada daerah tropis, cahaya ini erat hubungannya dengan suhu, karena di alam cahaya matahari akan mempengaruhi fluktuasi suhu air, fotoperiode atau lamanya penyinaran harian merupakan faktor yang lebih dominan (Valpato dan Barreto, 2001). Menurut Maishela *et al.* (2010), mengatakan bahwa dari 5 perlakuan fotoperiode yang berbeda terhadap ikan lele menunjukkan bahwa semakin lama waktu gelap (fotoperiode 0 jam terang 24 jam gelap) maka pertumbuhan semakin tinggi.

Dalam penelitian Tian *et al.* (2015), respon stres yang mengalami peningkatan kadar kortisol, glukosa dan laktat pada *Megalobrama amblycephala* yang di berikan intensitas cahaya tinggi. Plasma Kortisol meningkat secara signifikan seiring dengan meningkatnya intensitas cahaya dari 400 sampai 1600 lux, karena konsentrasi kortisol dapat dilihat sebagai stress pada ikan. Hasilnya dalam penelitian ini menunjukkan bahwa intensitas cahaya yang tidak tepat mungkin dapat menyebabkan respon stres.

2.3 Indera Penglihatan Ikan

Indera penglihatan ikan merupakan indera yang utama yang memungkinkan mereka untuk terciptanya pola tingkah laku mereka terhadap keadaan lingkungannya. Indera penglihatan ikan akan mempunyai sifat khas tertentu oleh adanya berbagai faktor seperti jarak penglihatan yang jelas, kisaran dari cakupan penglihatan, warna yang jelas, kekontrasan dan kemampuan membedakan objek yang bergerak (Gunarso, 1985).

Pada jenis ikan yang aktif pada siang hari, pada umumnya kon tersusun dalam bentuk *mosaik* pada retina. Kon tersebut dapat tersusun dalam bentuk

barisan atau dalam bentuk persegi empat. Pada umumnya ikan-ikan yang memiliki kon dalam bentuk *mozaik* seperti ini adalah jenis ikan yang intensif sekali menggunakan indera penglihatannya, biasanya mereka jenis ikan yang aktif memburu mangsa. Untuk jenis-jenis ikan yang aktif pada malam hari atau jenis ikan yang hidup pada lapisan dalam (*deep sea fishes*) jumlah kon sangat kurang atau tidak ada sama sekali, dan kedudukan kon sangat kurang atau tidak ada sama sekali, dan kedudukan kon tersebut digantikan oleh rod (Gunarso,1985).

Menurut Joan (1995), melaporkan bahwa cahaya tampak diterima oleh retina dan kemudian ditransduksi dan dikirim ke korteks visual dan juga melalui sebuah jalur alternatif menuju nukleus suprachiasmatik (SCN) yang dikendalikan ritme sirkadian dan fungsi neuroendokrin. Terlihat paparan cahaya dapat memodulasi kelenjar di bawah otak dan kelenjar pineal, yang mengarah ke Perubahan fungsi neuroendokrin. Sebagai gantinya, neuroendokrin ini Perubahan bisa menyebabkan modulasi imun. Studi menurut Vihtelic dan Hyde (2000), menunjukkan bahwa kegiatan enzim yang mengandung kekebalan secara signifikan meningkat pada intensitas cahaya 320-1150 lux, yang mengindikasikan bahwa *E. coioides* memiliki intensitas cahaya optimum untuk merangsang retina dan menyebabkan perubahan neuroendokrin mekanisme mata-otak, yang mengakibatkan peningkatan enzim terkait kekebalan tubuh kegiatan . Sebaliknya, ringan Intensitas yang terlalu rendah atau terlalu tinggi tidak bisa dirasakan dengan baik oleh retina, atau retina mungkin rusak. Sehingga aktivitas enzim yang terkait dengan kekebalan tubuh menurun dan tidak ada kapasitas untuk mentolerir tekanan lingkungan (Herve *et al.*, 2007).

2.4 Stres dan Respon Fisiologi Ikan

Pada kondisi stres terjadi realokasi energi metabolik aktivitas *investasi* (seperti pertumbuhan dan reproduksi) menjadi aktivitas untuk memperbaiki *homeostasi*, seperti *respirasi*, pergerakan, regulasi hidromineral dan perbaikan jaringan. Kebutuhan energi untuk memperbaiki *homeostasi* selama stres dipenuhi oleh proses *glikogenolisis* dan *glukoneogenesis* yang menghasilkan glukosa (Hastuti *et al.*, 2004).

Sewaktu ikan stres, organ reseptor akan menerima informasi yang akan disampaikan ke otak bagian hipotalamus, kemudian sel kromaffin akan mensekresikan hormon katekolamin. Hormon ini akan menekan sekresi hormon insulin yang berfungsi untuk membantu memasok glukosa ke dalam sel, sehingga menyebabkan kadar glukosa yang masuk ke dalam darah mengalami peningkatan. Hormon ini juga akan mengaktifkan enzim-enzim yang terlibat dalam katabolisme simpanan glikogen hati dan otot. Pada saat yang bersamaan hipotalamus akan mensekresikan CRF (*Corticotropin Releasing Factor*) yang akan meregulasi kelenjar *pituitary* untuk mensekresikan ACTH (*Adenocorticotrophic Hormone*), MSH (*Melanophore-Stimulating Hormone*) dan *p-End* (*p-Endorphin*). Hormon tersebut akan meregulasi hormon kortisol dari interrenal. Kortisol ini akan mengaktifkan enzim-enzim yang terlibat dalam *glukoneogenesis* yang menghasilkan peningkatan glukosa darah yang berasal dari sumber nonkarbohidrat. Terjadinya katabolisme protein untuk membentuk glukosa juga menghasilkan asam amino, sehingga asam amino dalam darah mengalami peningkatan. Meningkatnya asam amino dalam darah akan mengaktifkan insulin kembali sehingga mampu melakukan transport glukosa, sehingga glukosa dalam darah akan menurun kembali (Hastuti *et al.*, 2003). Hal ini sesuai dengan Ando *et al.*, 1999, menyatakan stres merangsang ekspresi dan sintesis *Corticotropin Releasing Factor* (CRF), dengan transkrip CRF terkonsentrasi di area preoptic

pada otak rainbow trout (*Oncorhynchus myciss*), ikan mas (*Cyprinus carpio*) (Flik *et al.*, 2006) dan daerah preoptik dan telecephalon ikan mas (*Carassius auratus*) (Bernier *et al.*, 1999).

2.5. Glukosa Darah

Glukosa darah dalam tubuh ikan merupakan sumber energi utama dan sumber pasokan bahan bakar dan substrat esensial untuk metabolisme sel terutama sel otak. Untuk berfungsinya otak secara kontinyu dibutuhkan glukosa secara terus menerus (Hastuti *et al.*, 2004). Volume darah pada ikan berkisar 1,5-3% dari bobot tubuh. Kadar glukosa darah ikan yang normal mengandung 40-90 mg/dl, kandungan glukosa darah tersebut hampir sama dengan glukosa darah pada manusia yaitu 70-110 mg/dl (Rahardjo *et al.*, 2011).

Kebutuhan energi dari glukosa untuk menangani stres dapat terpenuhi apabila glukosa dalam darah dapat segera masuk ke dalam sel target. Keberhasilan pasok glukosa ke dalam sel ditentukan oleh kinerja insulin. Sedangkan selama stres terjadi inaktivasi insulin sehingga menutup penggunaan glukosa oleh sel (Brown 1993). Untuk melihat kinerja insulin terhadap penurunan glukosa selama stres, maka dilakukan injeksi insulin terhadap perubahan performa glukosa darah selama stres.

Insulin memiliki peranan penting dalam penyimpanan zat yang mempunyai kelebihan energi di dalam tubuh. Dalam keadaan karbohidrat yang tinggi, insulin akan menyimpan karbohidrat sebagai glikogen terutama di dalam hati dan otot. Kelebihan karbohidrat yang tidak dapat disimpan sebagai glikogen akan diubah menjadi lemak karena adanya rangsangan dari insulin dan disimpan di jaringan adiposa. Selain karbohidrat yang tinggi, insulin juga memiliki pengaruh terhadap kelebihan protein, yaitu secara langsung insulin memiliki efek dalam memicu pengambilan asam amino oleh sel dan perubahan asam amino ini akan

menjadi protein dan dapat menghambat pemecahan dari protein yang sudah terdapat di dalam sel (Guyton dan Hall, 1997).

2.6 Hormon Kortisol

Hormon kortisol merupakan hormon *glukokortikoid* yang ada dalam tubuh manusia dan hewan termasuk ikan. Pada ikan, hormon ini disintesis dalam lapisan fasikulata dari korteks adrenal, sebagai prekusornya adalah terosin. Diantara banyaknya kerja hormon ini, salah satu yang paling penting adalah untuk meningkatkan proses *glukoneogenesis*. Glukoneogenesis adalah peningkatan pengambilan energi dari protein untuk memenuhi kebutuhan energi yang dibutuhkan saat stres (Ismail, 1994).

Menurut Rachmawati *et al.* (2010), pada saat stres terjadi peningkatan glukokortikoid yang berakibat pada peningkatan kadar glukosa darah untuk mengatasi kebutuhan energi yang tinggi. Jika keadaan glukosa darah ikan tidak normal maka ikan akan terganggu kehidupannya bahkan dapat menyebabkan kematian. Pengukuran kadar glukosa darah dapat digunakan untuk mendiagnosis ikan yang mengalami stres secara sederhana dan efektif untuk berbagai macam *stressor* (Darwisito, 2006 *dalam* Sulmartiwi *et al.*, 2013).

Kortisol adalah hormon stres yang penting (Barton dan Iwama, 1991), dan diproduksi melalui hipotalamus-hipofisis-interrenal yang di rangsang pada eksternal. Konsentrasi kortisol dapat dilihat sebagai sinyal sensitif stres pada ikan (Strange dan Schreck, 1978). Menurut Boeuf dan Le Bail (1989), bahwa intensitas cahaya terlalu tinggi, bisa menyebabkan stres dan kematian. Dalam penelitian Wang *et al.* (2013), pada intensitas cahaya 320 - 1150 lux memiliki peningkatan konsentrasi kortisol dan tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah dari pada perlakuan lainnya. Puncak kenaikan stress pada plasma kortisol Secara khas adalah 40-200 ng/ml (Pickering dan Pottinger, 1989).

2.7 Jalur Aktivasi *Mitogen-activated protein kinases* (MAPK_S)

Mitogen-activated protein kinase (MAPK_S) merupakan enzim-enzim kompleks yang dapat menghubungkan epitope membrane sel, atau bagian-bagian yang mampu memacu respon seluler untuk pengaturan pada intraseluler. Dalam hal ini MAPK_S merespon stress kimiawi dan mekanis untuk mengontrol ketahanan dan adaptasi sel. Aktivasi MAPK_S diatur dalam tiga tingkatan cabang yang tersusun atas MAPK, MAPK kinase (MEK) dan MEK kinase (MEKK) (Cowan dan Storey, 2003). Modul-modul tersebut dapat diaktivasi oleh sejumlah kecil guanosin triphospat (GTP) yang berikatan pada protein yang di sebut dengan G-protein yang terhubung dengan reseptor. Pada prinsipnya semua jalur MAPK diaktivasi mulai dari respon awal sampai pada fosforilasi tingkat substrat dan dapat dinonaktifkan oleh MAPK phosphatase (Cowan dan Storey, 2003 dalam Santoso, 2010).

MAPK tersusun atas 3 langkah proses persinyalan utama yaitu : *extracellular signal-regulated protein kinases* (ERK_S), *c-Jun N-terminal protein kinases* (JNK_S) atau stress-activated protein kinases (SAK) dan p38. Masing-masing model tersebut bekerja dalam tiga tingkatan sistem. MAPK yaitu serin/threonin kinase diaktivasi oleh MAPK kinase (MAPKK) yang merupakan kinase ganda spesifik yang mengfosforilasi serin/threonin dan tirosin, mempunyai target dengan bentuk threonin-x-tirosin pada MAPK (dimana x adalah glutamin, prolin atau glisin untuk ERK, JNK dan p38) dan akan mengalami peningkatan samapai diatas 1000 kali pada aktivasi tertentu. Dengan demikian MAPK_S tidak akan aktif terkecuali difosforilasi oleh protein kinase sebelumnya (Hoefflich dan Woodgate, 2001 dalam Cowan dan Storey, 2003).

JNK dan p38MAPK diaktifkan dengan adanya respon sitokin inflamasi dan stress, sedangkan ERK diaktifkan oleh faktor pertumbuhan. Aktivasi jalur MAPK umumnya di mulai oleh mediator proinflamasi melalui aktivasi sel pada

permukaan reseptor. Aktivasi JNK, p38MAPK dan ERK membutuhkan aktivasi dari MAPK. Aktivasi JNK dimediasi oleh fosforilasi dua MAPK yakni MKK4 dan MKK7 oleh MKK3 dan p38MAPK oleh MKK6. JNK dan p38MAPK yang teraktivasi akan menuju inti sel dan meningkatkan aktivasi transkripsi. Aktivasi dari JNK dan p38MAPK akan mengaktifkan faktor transkripsi protein AP-1 yang mendorong transkripsi gen proinflamasi seperti VCAM-1 (Warboys, 2011). Aktivasi *extracellular signal-regulated kinases* (ERK) disebabkan adanya rangsangan sitokin proinflamasi dari kelompok TNF (*tumor necrosis factor*) yang dimediasi oleh MAPK kinase1/2 yang dapat memfosforilasi ERK sehingga aktif pada situs fosfoaseptornya. Hal ini dikarenakan adanya invasi mikroba patogen yang menghasilkan lipopolisakarida dan LDL (*low density lipoprotein*) teroksidasi pada aterosklerosis (Kyriakis dan Avruch, 2012).

Enzim p38MAPK merupakan salah satu anggota famili MAP serin/threonin protein kinase, selain *extracellular signal-regulated protein kinases* (ERK1 atau p44MAPK), ERK2 (P42MAPK) dan c -JUN NH₂-terminal kinas (JNK) atau *stress-activated protein kinases* (SAPK). Aktivasi p38 MAPK diinduksi oleh berbagai stimulus stress endogen maupun eksogen antara lain hiperglikemia, ROS, stress osmotik, sitokin-sitokin proinflamasi, heatshock dan radiasi sinar ultra violet. Diantara beberapa stimulator aktivasi p38 MAPK tersebut ROS yang sangat kuat dalam mengaktifasi p38 MAPK. Penelitian pada sel tubular ginjal dilaporkan bahwa pejanan glukosa tinggi dapat meningkatkan produksi ROS dan mengaktifasi p38 MAPK. Pada penelitian yang dilakukan oleh Firani dan Indra (2015), terbukti bahwa pejanan glukosa tinggi pada kultur adipositas yaitu pada konsentrasi glukosa 11 Mm dan 25 Mm dapat meningkatkan aktivasi enzim p38 MAPK, melalui peningkatan kadar enzim p38 MAPK yang terfosforilasi. P38 MAPK diaktivasi oleh berbagai rangsangan ekstraseluler seperti sitokin *inflamasi Interlukin 1* (IL-1) dan *Tumor necrosis factor-alpha* (TNF α), faktor-faktor

pertumbuhan seperti : *fibroblast growth factor* (FGF) dan perubahan-perubahan osmolaritas, sinar ultraviolet dan zat-zat kimia yang meningkatkan respon stress (Nurmasida, 2014).

ROS dapat mengaktifkan ASK1 yang merupakan sensor adanya stress oksidatif. ASK1 mengaktifkan MKK3/6 (MAPK kinase) yang selanjutnya memfosforilasi enzim p38MAPK pada residu threonin 180 dan tirosin 182 sehingga enzim p38 MAPK menjadi aktif. Enzim p38 MAPK yang teraktivasi selanjutnya dapat memfosforilasi *activator transcription factor* (ATF-2) yang menstimulasi transkripsi gen. Enzim p38 MAPK yang aktif dapat mempengaruhi beberapa proses seluler, antara lain pertumbuhan sel dan apoptosis, inflamasi serta respon jaringan spesifik akibat stress melalui regulasi ekspresi gen. Enzim p38 MAPK juga meregulasi serin kinase dan mengaktifkan faktor transkripsi yang menyebabkan berbagai efek patologis (Evans *et al.*, 2002).

Peningkatan masukan glukosa ke sel endotel melalui GLUT-1 (*glucose transporter -1*) akan menyebabkan meningkatnya metabolisme glukosa sehingga terjadi hiperaktivasi rantai transport elektron di mitokondria sehingga terjadi overproduksi ROS (Brownlie, 2005).

ROS (*Reactive oxygen species*) pada konsentrasi rendah dapat berfungsi sebagai signal molekul yang berperan pada aktivasi seluler seperti pertumbuhan sel dan respon adaptasi. Pada konsentrasi tinggi akan menyebabkan stress oksidatif, *celluler injury* dan apoptosis. (Van den Oever *et al.*, 2010).

2.8 Kualitas Air

2.8.1 Suhu

Suhu merupakan faktor pengontrol (*controlling factor*) dan berperan dalam sistem resirkulasi. Suhu merupakan efek terbesar dalam fisiologi ikan. Hal ini karena ikan menyesuaikan suhu tubuhnya mendekati keseimbangan suhu air

dalam perairan (Forteath *et al.*, 1993). Ikan bersifat *poikilothermal*, hal ini berarti suhu tubuhnya mengikuti suhu lingkungan (Boyd, 1982). Suhu mempunyai pengaruh yang nyata pada respirasi, pemasukan pakan, pencernaan, pertumbuhan dan berpengaruh terhadap metabolisme ikan (Forteath *et al.*, 1993).

Suhu sangat mempengaruhi aktifitas metabolisme organisme, selain itu suhu juga sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, namun apabila kenaikan suhu terlalu ekstrim dapat menyebabkan kematian (Hermanto *et al.*, 2011). Hal ini sesuai dengan Dominggas (2009), bahwa kenaikan suhu perairan diikuti oleh derajat metabolisme dan kebutuhan oksigen organisme, hal ini sesuai dengan hukum Van't Hoff yang menyatakan kecepatan reaksi kimiawi akan naik 2-3 kali lipat setiap kenaikan suhu sebesar 10°C. Perubahan drastis suhu sampai 5°C dapat menyebabkan stress pada ikan.

2.8.2 pH

Nilai pH didefinisikan sebagai negatif logaritma dari konsentrasi ion hydrogen dan nilai asam ditunjukkan dengan nilai 1 sampai dengan 7 dan basa 7 s/d 14. Kebanyakan perairan umum mempunyai nilai pH antara 6-9 (Suherman *et al.*, 2002). Hal ini diperkuat oleh Tatangindatu, *et al.* (2013) menyatakan bahwa pH yang baik untuk kegiatan budidaya ikan air tawar berkisar antara 6-9. Jika pH terlalu rendah dapat menyebabkan kelarutan logam-logam dalam air makin besar yang bersifat toksik bagi organisme air, sebaliknya jika pH terlalu tinggi dapat meningkatkan konsentrasi amoniak dalam air yang juga bersifat toksik bagi organisme air.

Jika pH terlalu tinggi (lebih dari 8) maka toksisitas amonia meningkat. Jadi, penting untuk menjaga pH air dalam sistem resirkulasi sekitar 7,2 dalam air

tawar dan 7,8-8,2 di air laut (Forteath *et al.* 1993). Nilai pH yang baik untuk sistem intensif adalah 6,5-9 (Wedemeyer 1996). Nilai pH yang kurang dari 6,0 dan lebih dari 9,0 untuk waktu yang cukup lama akan mengganggu reproduksi dan pertumbuhan (Boyd 1982).

2.8.3 DO

Oksigen terlarut (DO) merupakan faktor pembatas dalam sistem budidaya. Oksigen terlarut merupakan variabel kualitas air yang paling penting untuk dimonitor dalam budidaya ikan. Bila DO tidak dijaga pada nilai yang memenuhi, maka ikan menjadi stres dan tidak dapat makan dengan baik (Stickney 1979). Oksigen masuk ke dalam air melalui difusi pasif dari atmosfer (suatu proses yang dijalankan oleh perbedaan tekanan parsial O₂ di udara dan di dalam air) dan dari hasil fotosintesis (Stickney 1979). Laju respirasi meningkat sejalan dengan meningkatnya aktivitas ikan (Boyd 1982).

Menurut Tatangindatu *et al.* (2013), bahwa oksigen terlarut (DO) yang seimbang untuk biota budidaya adalah >5 mg/l. Jika oksigen terlarut tidak seimbang dapat menyebabkan stress pada ikan karena otak tidak mendapat suplai oksigen yang cukup. Sehingga mengakibatkan kematian karena anoxia (kekurangan oksigen) yang disebabkan jaringan tubuh tidak bisa mengikat oksigen terlarut ke dalam darah.

3. KERANGKA PENELITIAN

3.1 Landasan teori

Stres merupakan sejumlah respon fisiologis dari tubuh yang terjadi pada saat hewan berusaha mempertahankan homeostatis pada tiap tuntutan yang dikenakan padanya (Selye, 1973 *dalam* Barton, 2002; Taqwa, 2008). Stres yang terjadi pada ikan salah satunya disebabkan karena kondisi lingkungan yang buruk. Dalam kondisi stress, ikan mengalami respon primer dan respon sekunder. Respon primer adalah perubahan keadaan oleh *Central Nervous System* (CNS) dan melepas hormon stres yakni kortisol dan katekolamin (*adrenaline dan ephinephrine*) kedalam aliran darah melalui sistem endokrin. Sedangkan respon sekunder terjadi akibat dari lepasnya hormon stres yang menyebabkan perubahan dalam darah dan jaringan kimia seperti meningkatnya kadar glukosa darah pada ikan (Cook *et al.*, 2011; Wedemeyer dan Mc Leay, 1981 *dalam* Taqwa, 2008).

Pada waktu stres, organ reseptor akan menerima informasi yang akan disampaikan ke otak bagian hipotalamus, kemudian sel kromafin akan mensekresikan hormon katekolamin. Hormon ini akan menekan sekresi hormon insulin yang berfungsi untuk membantu memasok glukosa kedalam sel, sehingga menyebabkan kadar glukosa yang masuk ke dalam darah mengalami peningkatan. Hormon ini juga akan mengaktivasi enzim-enzim yang terlibat dalam katabolisme simpanan glikogen hati dan otot. Pada saat yang bersamaan hipotalamus akan mensekresikan CRF (*Corticotid Releasing Factor*) yang akan meregulasi kelenjar *pituitary* untuk mensekresikan ACTH (*Adenocortico-Tropic Hormone*), MSH (*Melanophore-Stimulating Hormone*) dan p- End (*p-Endorphin*). Hormon tersebut akan meregulasi hormon kortisol dari interenal. Kortisol ini akan

menggertak enzim-enzim yang terlibat dalam *glukoneogenesis* yang menghasilkan peningkatan glukosa darah yang berasal dari sumber nonkarbohidrat. Terjadinya katabolisme protein untuk membentuk glukosa juga menghasilkan asam amino, sehingga asam amino dalam darah mengalami peningkatan. Meningkatnya asam amino dalam darah akan mengaktivasi insulin kembali sehingga mampu melakukan transport glukosa, sehingga glukosa dalam darah akan menurun kembali (Hastuti *et al.*, 2003).

Stres merupakan respon bertahan pada ikan terhadap penyebab stres (stressor). Berbagai sumber stres baik berupa faktor lingkungan (suhu, salinitas, ph, cahaya, pemeliharaan) maupun faktor biotik seperti infeksi mikroorganisme akan mempunyai dampak negatif terhadap perubahan fisiologis tubuh hewan. Perubahan tersebut meliputi, gangguan pertumbuhan, produktivitas dan semua aktivitas yang merupakan akibat dari mekanisme homeostasis dalam tubuh yang terganggu. Karakteristik darah dapat digunakan untuk mengevaluasi respon fisiologi pada ikan (Royan, 2014). Dengan demikian, stres dapat meningkatkan glukosa darah. Beberapa mekanisme yang berperan dalam mempertahankan kestabilan glukosa darah adalah glukoneogenesis, liposis, dan glikogenesis dan lipogenesis.. (Pilliang dan Djojosoebagio, 2000).

Ikan nokturnal seperti lele dumbo akan bergerak cenderung menjauhi sumber cahaya dan aktif bergerak mencari makan pada saat kondisi lingkungan gelap. Pada saat kondisi gelap tingkat keaktifan ikan dalam mencari makan menjadi lebih tinggi, dan asupan pakan meningkat. Meningkatnya asupan pakan memicu peningkatan pertumbuhan berat, semakin banyak pakan yang dikonsumsi maka pertumbuhan semakin tinggi (Sudirman dan Malawa, 2004). Penelitian ini selain mengacu pada kerangka teori dasar, juga akan mengacu pada beberapa penelitian terdahulu yang dijabarkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penelitian terdahulu sebagai landasan teori penelitian

Peneliti dan Tahun	Judul	Metode	Hasil
Maishela <i>et al.</i> (2013)	Pengaruh Fotoperiode Terhadap Pertumbuhan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	5 fotoperiode yang berbeda A (6 jam T dan 18 jam G), B (12 jam T dan 12 jam G), C (18 jam T dan 6 jam G), D (24 jam G dan 0 jam T) dan E (0 jam T dan 24 jam G)	fotoperiode benih lele dumbo ditunjukkan dengan performa pertumbuhan panjang terbaik pada perlakuan E (24G:0T). Semakin lama waktu gelap maka pertumbuhan panjang semakin tinggi.
Tian <i>et al.</i> (2015)	Effects of light intensity on growth, immune responses, antioxidant capability and disease resistance of juvenile blunt snout bream <i>Megalobrama amblycephala</i> .	Perlakuan tingkat intensitas cahaya yaitu 100 lux, 200 lux, 400 lux, 800 lux, 1600 lux.	Intensitas cahaya tinggi (lebih dari 800 lx) tidak hanya menghasilkan pertumbuhan yang buruk, tapi mungkin juga menyebabkan respon stres, karena akibatnya bisa menyebabkan kenaikan tingkat oksidasi hati d
Priyo Santoso, (2010)	Peran Protein Stress Mapks Dalam Regulasi Inos Pada Ikan Sebagai Respon Terhadap Stressor Di Lingkungan Perairan	MAPKs berperan dalam regulasi iNOS (<i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>) yang berfungsi untuk memperbaiki kerusakan sel.	Hasil penelitian pada ikan karper menunjukkan bahwa transkripsi iNOS dideteksi dalam 4 jam setelah dirangsang dengan lipopolisakarida, dan transkripsi maksimum terjadi dalam 4 hingga 12 jam setelah dirangsang.
Wang <i>et al.</i> (2013)	Effects of light intensity on growth, immune response, plasma cortisol and fatty acid	intensitas cahaya perlakuan pada 0 lx, 10-50 lx, 320-550 lx, 600-1150 lx dan 3000-3500 lx	cahaya yang sesuai untuk memberi makan, dengan yang paling aktif pakan ikan diamati

	composition of juvenile <i>Epinephelus coioides</i> reared in artificial seawater		pada 320-1150 lx; Sebaliknya, makanan aktif menurun pada intensitas cahaya 0 lx.
Zahrotun <i>et al.</i> (2017)	Analisis Kadar Glukosa Darah Ikan Tawes (<i>Barbonymus gonionotus</i>) Dari Bendung Rolak Songo Hilir Sungai Brantas	Pengukuran kadar glukosa darah ikan tawes dilakukan dengan metode <i>glucose oxydase peroxidase</i> .	ikan tawes dari Bendung Rolak Songo melebihi kadar glukosa darah normal bagi ikan, ikan tawes tersebut sudah mengalami stres yang diduga akibat dari tingginya padatan tersuspensi, COD dan amoniak serta kurangnya DO, sebesar 86,84%.
Royan <i>et al.</i> (2014)	Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Profil Darah Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Perlakuan 35 ppt, 25 ppt, 15 ppt dan 0 ppt	Kortisol, glukosa darah, hematocrit, jumlah sel darah merah dan jumlah sel darah putih merupakan indikator stress pada ikan
Barton dan Iwama, (1991)	Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids		Puncak kenaikan stress pada kortisol plasma Secara khas adalah 40-200 ng/mL
Utami Eva (2006)	Analisis Respons Tingkah Laku Ikan Pepetek (<i>Secutor insidiator</i>) Terhadap Intensitas Cahaya Berwarna	Intensitas cahaya 1 lx, 3 lx, 5 lx, 7 lx, 9 lx, 11 lx, 13 lx, 15 lx, 17 lx, 19 lx.	Pergerakan sel kon mengalami peningkatan dengan seiringnya cahaya yang dipaparkan, semakin cepat sel fotoreseptor mendekati membrane pembatas luar, ikan cepat beradaptasi.

3.2 Kerangka Konsep

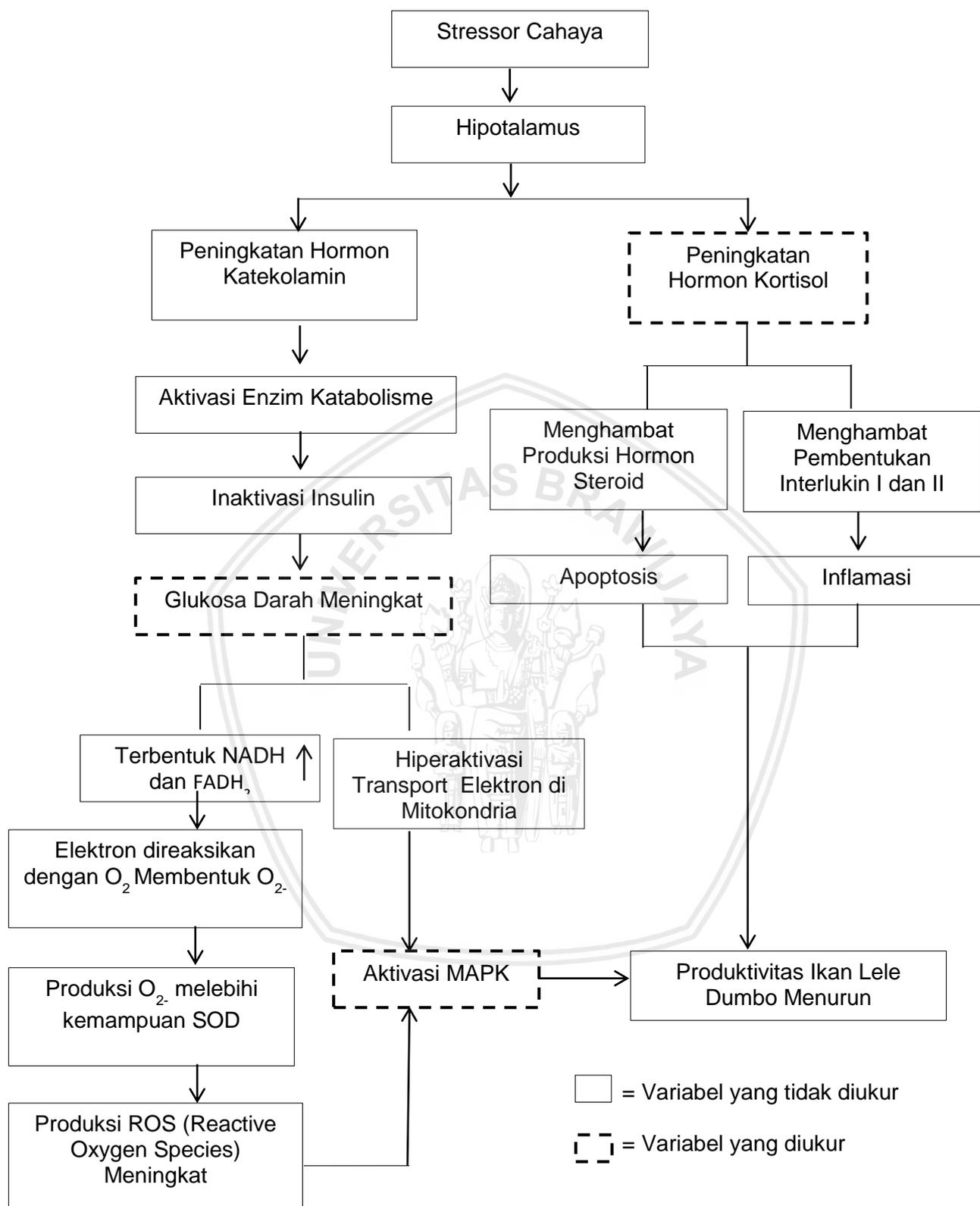
Perubahan lingkungan yang drastis pada intensitas cahaya terutama pada ikan nokturnal akan di respon ikan sebagai stressor lingkungan. Hematologi sering juga digunakan untuk mendeteksi perubahan fisiologis yang disebabkan oleh stress lingkungan dan juga berhubungan dengan status kesehatan ikan. Ikan yang mengalami stress akan menghindari aktivitas anabolik seperti pertumbuhan dan reproduksi, dalam jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya penurunan pertumbuhan, resistensi penyakit, keberhasilan reproduksi, tampilan renang dan karakteristik biota atau populasi (Iwama, 2003). Parameter yang biasa menjadi indeks dalam menentukan status kesehatan ikan adalah total sel darah merah, sel darah putih, hematokrit sedangkan untuk melihat tingkat stress biasanya diukur kadar kortisol dan glukosa darah. Kortisol, glukosa darah, hematocrit, jumlah sel darah merah dan jumlah sel darah putih merupakan indikator stress pada ikan (Royan, 2014).. Secara alami sel-sel pada ikan merespon kehadiran stressor lingkungan dengan memproduksi protein stress seperti *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs) (Santoso, 2010).

Adanya perlakuan intensitas cahaya lingkungan akan diterima oleh organ reseptor. Informasi tersebut disampaikan ke otak bagian hipotalamus melalui sistem syaraf dan selanjutnya sel kromafin menerima perintah melalui serabut syaraf symphatik untuk mensekresikan hormone katekolamin. Hormon ini akan mengaktivasi enzim-enzim yang terlibat dalam katabolisme simpanan glikogen hati dan otot serta menekan sekresi hormone insulin sehingga glukosa darah mengalami peningkatan. Selanjutnya pada saat yang bersamaan hipotalamus otak mensekresikan CRF (*corticoid releasing factor*) yang meregulasi kelenjar pituitary untuk menseksresikan ACTH (*Adenocortico-tropik hormone*), MSH (*Melanophore-stimulating hormone*) dan p-End (*p-endorphin*). Hormon tersebut akan meregulasi sekresi hormone kortisol dari sel internal. Ikan yang mengalami

stress akan meningkat sekresi katekolamin dan kortisol. Kedua hormon tersebut pada kadar tinggi berpengaruh negatif terhadap sistem imunitas ikan, karena meningkatnya kortisol dalam plasma akan menghambat pembentukan interleukin I dan II. Akibatnya ikan akan menurun sistem kekebalan dan mudah terinfeksi pathogen (Wendelaar, 1997).

Perubahan intensitas cahaya akan mempengaruhi tingginya kebutuhan glukosa darah untuk thermogenesis. Kebutuhan energi dari glukosa untuk menangani stress dapat terpenuhi apabila glukosa dalam darah dapat segera masuk ke dalam sel target. Keberhasilan pasok glukosa ke dalam sel di tentukan oleh kinerja insulin. Sedangkan selama stress terjadi inaktivasi insulin sehingga menutup penggunaan glukosa oleh sel. Pada kondisi hiperglikemia akan terbentuk lebih banyak NADH dan FADH₂ akibat peningkatan metabolisme glukosa melalui siklus krebs, yang pada titik batas tertentu akan terjadi blockade transport elektron di kompleks III sehingga terjadi penumpukan coenzim Q. Elektron ini di reaksi dengan molekul O₂ sehingga terbentuk O₂⁻ (superoksida). Apabila produksi O₂⁻ melebihi kemampuan SOD maka akan terbentuk ROS, ROS akan mengaktifasi p38 MAPK. Enzim p38 MAPK yang aktif dapat mempengaruhi beberapa proses seluler antara lain laju pertumbuhan sel, apoptosis, inflamasi serta respon jaringan spesifik akibat stress melalui regulasi ekspresi gen (Evans *at al.*, 2002)

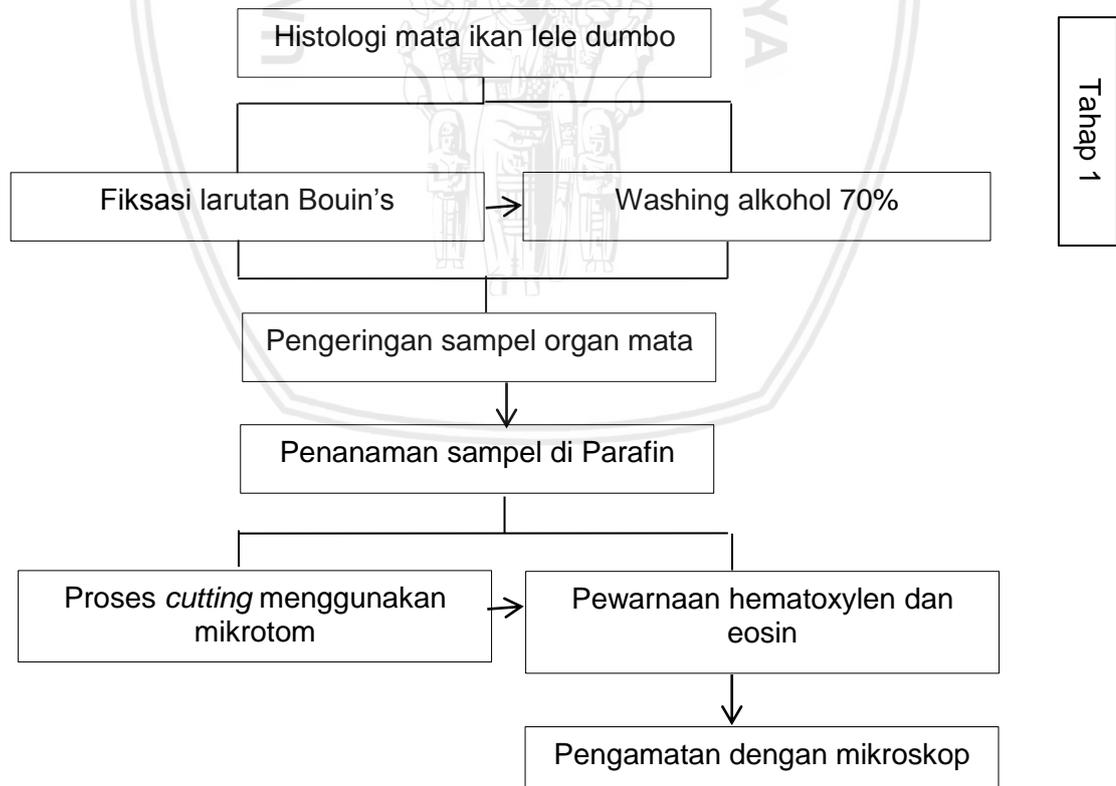
Berdasarkan landasan teori yang di jelaskan, maka informasi mengenai tingkat intensitas cahaya yang optimal merupakan hal yang penting dalam pencegahan stress pada benih ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sehingga dapat meminimalisir kematian dalam proses budidaya kemudian dengan adanya penelitain tentang intensitas cahaya di harapkan dapat mengoptimalkan proses budidaya tersebut, Kerangka konseptual dapat dilihat pada gambar 3, yang di sajikan pada halaman selanjutnya.



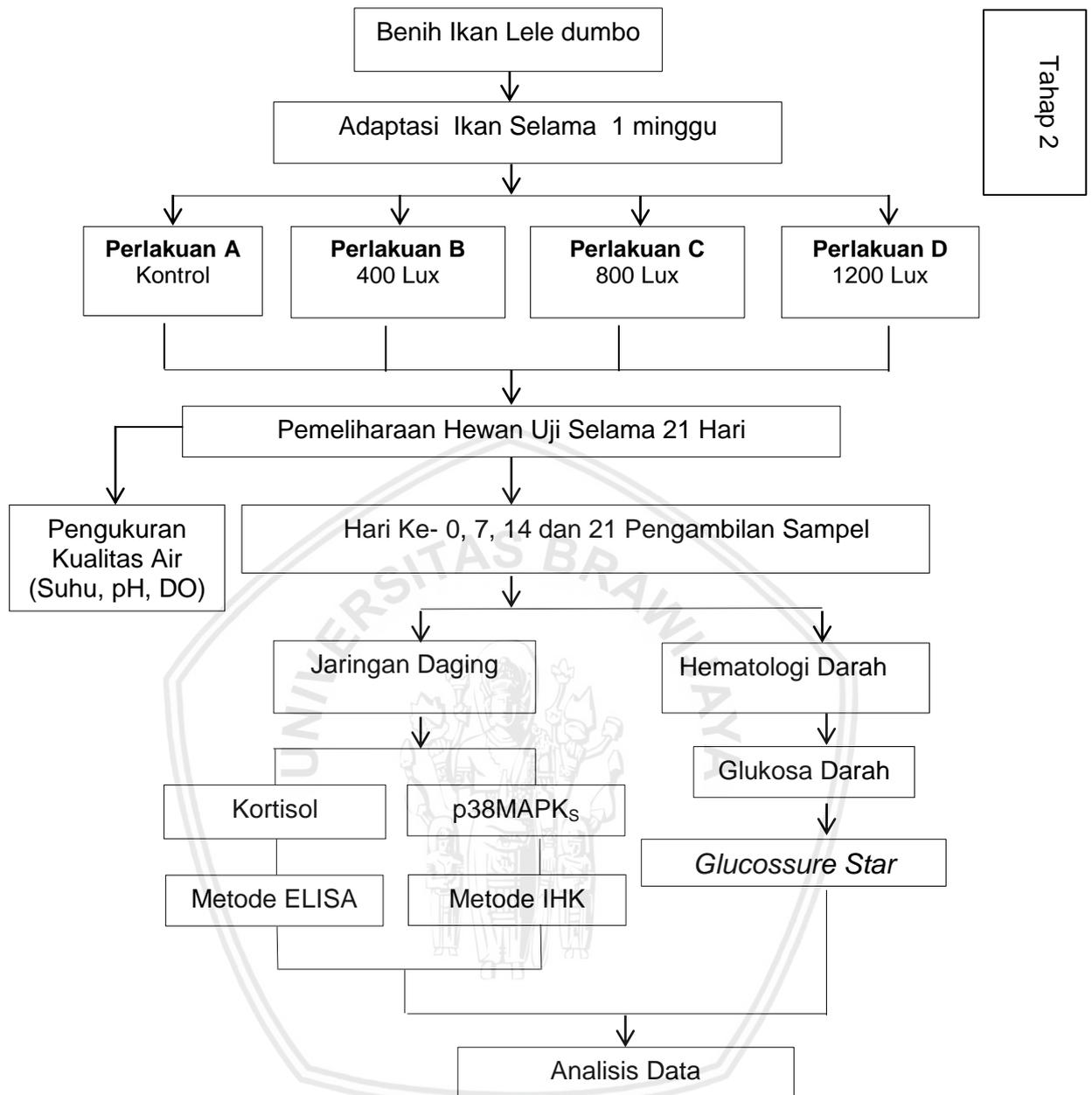
Gambar 3. Kerangka konsep

3.3 Kerangka Operasional

Pada penelitian ini dilakukan persiapan alat dan bahan, wadah yang digunakan berupa akuarium dengan kapasitas 20 liter sebanyak 12 buah. Akuarium yang sudah terisi air diatur tingkat intensitas cahaya sebesar Kontrol (0 lux (tanpa cahaya), 400 lux, 800 lux dan 1200 lux. Pemeliharaan perlakuan selama 21 hari. Penelitian dilakukan dengan dua tahap. Pada tahap kesatu dilakukan histologi mata ikan lele dumbo. Untuk menganalisa sel reseptor *cone* (kerucut) dan *Rod* (batang). Pada tahap kedua, hari ke-0,7,14 dan 21 dilakukan pengambilan sampel daging dan darah untuk menganalisa glukosa darah, hormon kortisol dan p38 MAPK_s. Kerangka operasional dapat dilihat pada gambar 4 dan 5 sebagai berikut :



Gambar 4. Kerangka Operasional Tahap I



Gambar 5. Kerangka Operasional Tahap II

3.4 Kebaruan Penelitian

Kebaruan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui respon retina benih ikan lele (*Clarias gariepinus*) dan respon fisiologis (kadar glukosa darah, hormon kortisol dan kadar p38 MAPK) benih ikan lele dumbo yang di pelihara dengan tingkat intensitas cahaya yang berbeda.

3.5 Strategi Publikasi

Publikasi hasil penelitian ini dipublikasi seperti Tabel 2 di bawah ini :

Tabel 2. Strategi Publikasi Jurnal

No	Judul	Bulan	Jurnal
1.	Expression of <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i> (MAPKS) and Cortisol Hormones in Catfish (<i>Clarias gariepinus</i>) Against Different Light Intensities.	Januari 2019	J. Experimental Life Science



4. MATERI DAN METODE

4.1 Materi Penelitian

4.1.1 Alat-alat Penelitian

Pada Penelitian ini, peralatan yang digunakan meliputi timbangan digital, perlengkapan aerasi (blower, batu aerasi dan selang), plastik hitam, penggaris, seser, heater, section set, coolbox, DO meter, pH meter, mikroskop cahaya, termometer, selang air, kabel rol, alat suntik, nampan, kardus, lampu, lux meter, kabel, pompa air, kamera, perangkat ELISA Washer 470 (Biomerieux) dan ELISA reader 270 (Biomerieux) dan akuarium kapasitas 20 liter.

4.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan sebagai berikut : ikan yang diuji berupa benih ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) dengan ukuran 7-8 cm sebanyak 300 ekor , pakan yang digunakan pakan komersil pemberian pakan diberikan secara *ad libitum*, *ependorf*, alkohol, formalin 10%, tissue, plastik zipper, plastik hitam , larutan *bouinne*, larutan *Xylene*, larutan *eosin*, kertas saring dan kertas label, Glucose star (*EasyTouch GCU*), Kit kortisol (*E0014FI*, *Fish Cortisol Elisa Kit*, *BT. LAB*) dan Antibody p38MAPK_S (*Antiboby bs-0637R Anti-p38MAPK Polyclonal*, *BIOSS*.)

4.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Penelitian yang menguji hipotesis dalam bentuk hubungan sebab akibat melalui pemanipulasian variabel independen (contohnya : *treatment*), juga menguji perubahan-perubahan yang diakibatkan oleh hasil pemanipulasian. Menurut Zulnaidi (2007), penelitian eksperimen mempertajam masalah dan perumusan hipotesis tentang hubungan

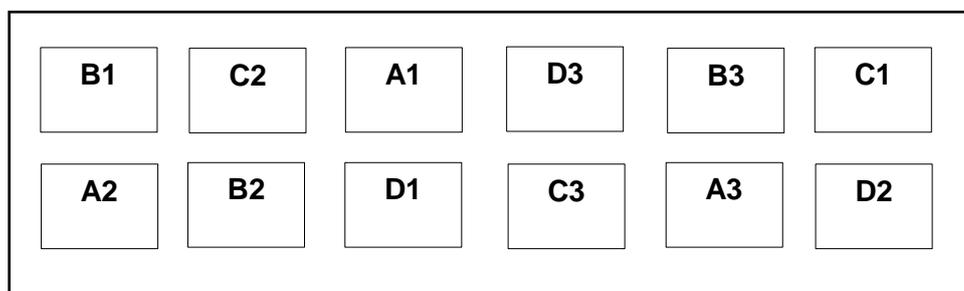
sebab akibat antara dua variable atau lebih, dan menguji atau membuktikan hipotesis tersebut.

4.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 Faktor yaitu dengan 4 perlakuan 3 kali ulangan Perlakuan yang di berikan antara lain (A) Kontrol (0 lux), (B) 400 lux, (C) 800 lux dan (D) 1200 lux. Nilai intensitas cahaya mengacu pada penelitian sebelumnya menurut Tian *et al.* (2015), intensitas cahaya tinggi (lebih dari 800 lux) tidak hanya menghasilkan pertumbuhan yang buruk, tapi mungkin juga menyebabkan respon stres, pada intensitas cahaya yang rendah di bawah 400 lux juga menunjukkan stres oksidatif, immunosupresi dan penurunan resistensi penyakit.

Penelitian ini dilakukan selama 21 hari dimana pengambilan sampel di ambil pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan ke-21 pengukuran adaptasi retina, glukosa darah, Hormon kortisol, p38MAPK_S dan pada *Survival Rate* pengambilan data pada awal dan akhir penelitian.

Rancangan acak lengkap digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam, sehingga rancangan acak lengkap banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca, peternakan dan perikanan (Sastrosupadi, 1995). Denah percobaan pada penelitian dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini :



Keterangan :

Perlakuan A : Perlakuan dengan intensitas cahaya 0 Lux

Perlakuan B : Perlakuan dengan intensitas cahaya 400 Lux
Perlakuan C : Perlakuan dengan intensitas cahaya 800 Lux
Perlakuan D : Perlakuan dengan intensitas cahaya 1200 Lux
123 : Ulangan

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Wadah

Pada penelitian ini menggunakan wadah pemeliharaan berupa akuarium dengan kapasitas 20 liter sebanyak 12 unit dan dilengkapi dengan peralatan aerasi berupa selang dan batu aerasi untuk memberikan oksigen. Sebelum akuarium digunakan, akuarium dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan kemudian diisi dengan air. Setiap akuarium yang di berikan perlakuan cahaya di tutup menggunakan plastik hitam agar cahaya dari luar tidak masuk ke perlakuan.

4.4.2 Penebaran Benih

Hewan uji yang digunakan adalah benih ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang ada di Kepanjen sebanyak 300 ekor. Padat tebar yang digunakan yaitu 1 ekor/L, dengan ukuran 10 cm (SNI, 1999). Ikan ditebar pada akuarium sebanyak 18 ekor yang telah di atur intensitas cahaya sesuai perlakuan.

4.4.3 Pengaturan Intensitas Cahaya

Pengaturan intensitas cahaya pada perlakuan Kontrol tanpa mengenai cahaya (kontrol 0 lux) , 400 lux, 800 lux dan 1200 lux diukur menggunakan Lux meter. Kemudian toples diletakkan di tempat yang tidak di masuki oleh cahaya dari luar dan ditutupi dengan plastik hitam, kecuali kontrol dibiarkan di tempat gelap tanpa mengenai cahaya. Lampu di gunakan setiap perlakuan 15 watt, untuk menentukan cahaya yang diinginkan perlu diatur tinggi rendahnya lampu antara permukaan air dengan lampu kemudian diukur menggunakan Lux meter.

4.4.4 Parameter Kualitas Air

Peralatan yang digunakan untuk mengamati intensitas cahaya setiap harinya adalah Lux meter. Pengamatan suhu, pH dan DO dilakukan dua kali sehari yaitu pada jam 07.00 WIB dan 17.00 WIB. Suhu menggunakan thermometer Hg, oksigen terlarut diukur menggunakan DO meter, sedangkan pH diukur menggunakan pH meter.

4.5 Parameter

4.5.1 Parameter Utama

a. Histologi Mata Ikan

Analisis dengan menggunakan metode histologi retina mata ikan berdasarkan potongan horizontal (Hajar, 2008). Tahap-tahap metode histologi adalah sebagai berikut

1. *Fiksasi*, yaitu proses dimana potongan mata ikan dicelupkan ke dalam larutan *Bouine* minimal selama 2 hari yang bertujuan untuk mempertahankan bentuk morfologi dari sampel dan komposisi kimia jaringan (*sampel*).
2. *Washing*, yaitu pencucian sampel dari *bouinne* dengan menggunakan alkohol 70%.
3. Mengukur diameter bola mata dan lensa mata menggunakan *micrometer scrup*, kemudian mengambil retina dengan metode spot pada bagian depan, belakang, atas, bawah.
4. Sampel retina di bungkus dalam kertas saring dan memasukkan ke dalam *embedding cassettes*.
5. Dehidrasi, memasukkan sampel ke dalam alkohol secara bertingkat yaitu 75%, 85%, 90% dan 96% masing-masing 30 menit, yang bertujuan untuk mengeluarkan air dalam jaringan

6. *Clearing*, memasukkan sampel ke dalam larutan *Xylene*, yang bertujuan untuk menghilangkan alkohol dalam jaringan, melarutkan lemak dan mengantarkan *paraffin* ke jaringan, hal ini dilakukan sampai jaringan transparan
7. *Impregnating*, memasukkan sampel ke dalam *Xylen + paraffin*, dan *paraffin*. Yang bertujuan untuk memasukkan *paraffin* cair kedalam jaringan
8. *Embedding*, merupakan proses penanaman ke dalam *paraffin* sebagai media, dimana sampel retina dibenamkan dalam *paraffin* kemudian sampel retina di cairkan dalam oven dengan suhu 60°C lalu dipadatkan dalam *frezeer* kemudian diletakan pada kayu penahan.
9. *Cutting*, suatu proses pemotongan, di mana pemotongan sampel retina yang telah dibenamkan dalam *paraffin* disayat dengan menggunakan *microtome* kemudian diletakan pada *micro slide glass*, setelah itu dipanaskan dengan suhu 60 °c.
10. *Staining*, yaitu proses pewarnaan.
 - *eparafinasi (clearing)* yaitu sampel retina di masukan kedalam *Xylene*, yang bertujuan untuk menghilangkan *paraffin* dari dalam jaringan.
 - *Rehidrasi*, bertujuan untuk memasukan air kedalam jaringan dengan tahap sebagai berikut : A. Sampel retina dimasukan kedalam alkohol 100%, 96%, 90%, 80% dan 70% masing-masing 10 menit. B. Sampel retina dimasukan kedalam air mengalir tujuan untuk menyempurnakan proses *rehidrasi*. Setelah itu dimasukkan ke dalam larutan *Hematoxilene*. Kemudian di masukan ke dalam air mengalir, selanjutnya di masukan kedalam larutan *Eosin* setelah itu di masukan kembali ke dalam aquades. C. *Dehidrasi* dengan menggunakan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 96% dan 100% masing-masing selama 10 menit, dengan

tujuan agar air dalam jaringan keluar. D. *Clearing*, dengan menggunakan larutan *Xylene* selama 10 menit, yang bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan. E. Setelah itu sampel ditutup dengan *micro cover glass*.

11. *Observasi* dengan menggunakan mikroskop.

Data yang diambil pada histologi retina ini adalah data tentang adaptasi retina mata ikan yang dilihat dari pola pergerakan sel kon menuju ke *outer limiting membrane*. Data pergerakan sel kon tiap iluminasi tiap warna cahaya dibandingkan. Rasio adaptasi retina diperoleh dengan *cone index* (C) yang didasarkan pada pola pergerakan dari sel kon pada *photomicrograph* dengan formula (Arimoto *et al*, 1988):

$$\text{Cone Index (C)} = C'/A \times 100\%$$

Keterangan :

A = jarak dari *Retinal Pigment Epithelium* (RPE) ke *outer limiting membrane*

C' = jarak dari *Retinal Pigment Epithelium* (RPE) ke bagian tengah sel kon.

b. Glukosa Darah

Pengambilan darah dengan menggunakan jarum spuit bervolume 1 ml. Darah dimbil dari vena caudalis sebanyak $\pm 0,1$ ml (Hastuti dan Subandiyono, 2011). Profil darah dilakukan setiap 0, 7, 14 dan 21 hari selama penelitian 21 hari. Parameter profil darah yang diamati glukosa darah (mg/dL).

Perhitungan glukosa darah menggunakan alat *Glucosure Star EasyTouch GCU*. sampel darah ikan yang didapat kemudian diteteskan pada *test strip glucose*, kemudian *test strip* dimasukkan pada *Glucosure Star* sehingga terbaca hasil glukosa darah yang terkandung.

c. Hormon Kortisol

Pengambilan sampel menggunakan daging benih ikan lele dumbo sebanyak 1 gram untuk 1 sampel. Perhitungan kadar hormon kortisol

menggunakan metode ELISA (*E0014FI, Fish Cortisol Elisa Kit, BT. LAB*). Langkah pertama daging harus dipotong kecil-kecil dan dibilas dengan es dingin PBS (Pospat Buffer Saline) (0,01M, pH = 7,4) untuk menghilangkan kelebihan darah secara menyeluruh. Potongan daging harus ditimbang dan kemudian dihomogenisasi dalam PBS (berat jaringan (g): volume PBS (mL) = 1: 9) dengan kaca homogenizer di atas es. Daging dihomogenkan kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada 5000 × g untuk mendapatkan supernatan. Kemudian tambahkan larutan standar atau sampel dalam konsentrasi yang berbeda. Setiap konsentrasi larutan ditambahkan ke dalam tabung (masing-masing tabung sebanyak 50 µL), setelah itu tambahkan 50 µL larutan Biotinylated Ab. Kemudian tabung ditutup. Kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 37°C. Kedua, tuangkan larutan dari setiap tabung ke tabung yang lain, lalu cuci dengan larutan 350 µL wash buffer. Lalu homogenkan selama 1-2 menit. Setelah itu, disaring dengan kertas absorbent dan ulangi sebanyak 3 kali. Ketiga, tambahkan 100 µL larutan HRP Conjugate, kemudian tabung ditutup. Setelah itu, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Keempat, tuangkan larutan dan ulangi proses pencucian dengan mengikuti langkah yang ketiga sebanyak 5 kali. Kelima, tambahkan 90 µL Substrat Reagent pada setiap tabung. Kemudian tutup dengan sealer. Dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C (hindari sampel dari cahaya). Tambahkan 50 µL larutan STOP pada setiap tabung. Terakhir, dilakukan pembacaan *optical density* (OD) pada panjang gelombang 450 nm. Pengukuran ini dilakukan di laboratorium Fisiologi (FAAL) Universitas Brawijaya.

d. p38 MAPK_s

Pengukuran p38 MAPK menggunakan bahan Antibody *bs-0637R Anti-p38MAPK Polyclonal, BLOSS* dengan metode *imunohistokimia* (Junquiera and Carneiro (2007), diambil sampel jaringan (daging ikan), kemudian dimasukkan

botol film yang berisi formalin 10%, kemudian dilakukan pembuatan preparat. Adapun langkah-langkah pembuatan preparat dan pengamatan *immunohistokimia* (IHK) sebagai berikut :

1. Preparat dideparafinasi (blok parafin) dengan xylene sebanyak 3 kali masing-masing 3 menit.
2. Dilakukan Rehidrasi preparat dengan menggunakan etanol 100%, etanol 95% dan etanol 70% masing-masing selama 2 menit, 2 menit, 1 menit dan yang terakhir dengan air selama 1 menit.
3. Direndam dalam *peroxidase blocking solution* pada suhu kamar selama 10 menit.
4. Inkubasi preparat dalam prediluted blocking serum 25^oC selama 10 menit.
5. Direndam preparat di dalam antibody monoklonal anti-p38 25^oC selama 10 menit.
6. Dicuci preparat dengan *phosphate buffer saline* (PBS) selama 5 menit.
7. Inkubasi preparat dengan antibody sekunder (*conjugated to mouse radish peroxidase*) 25^oC selama 10 menit.
8. Dicuci preparat dengan PBS selama 5 menit.
9. Inkubasi preparat dengan peroxidase 25^oC selama 10 menit.
10. Dicuci preparat dengan PBS selama 5 menit.
11. Inkubasi preaparat dengan kromogen DAB (*Diaminobenzinidine*) 25^oC selama 10 menit.
12. Inkubasi preparat dengan hematoxylin Eosin selama 3 menit,
13. Dicuci preparat dengan air mengalir
14. Dibersihkan preparat dan ditetesi dengan mounting media.
15. Ditutup preparat dengan coverslip.

16. Amati ekspresi p38 (warna coklat) pada sel menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 x.
17. Dilakukan dokumentasi setiap pengamatan.

e. Survival Rate (SR)

Tingkat Kelulushidupan adalah perbandingan jumlah organisme yang hidup pada akhir periode dengan jumlah organisme yang hidup pada awal periode (Effendie, 2004). Tingkat kelulushidupan dapat digunakan untuk mengetahui toleransi dan kemampuan ikan untuk hidup. Kelangsungan hidup ikan dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang mempengaruhi yaitu resistensi terhadap penyakit, pakan dan umur. Faktor eksternal yang mempengaruhi antara lain yaitu padat tebar, penyakit serta kualitas air (sifat fisika dan sifat kimia) dari suatu lingkungan perairan (Silaban *et al.*, 2012).

Indikator kelulushidupan ikan dihitung pada akhir pengamatan dengan menghitung jumlah ikan yang masih hidup pada setiap wadah percobaan dibandingkan dengan jumlah udang pada awal penelitian dinyatakan dalam persen (%) (Saraswati, 2014). Derajat kelulushidupan dihitung berdasarkan data jumlah ikan yang hidup pada akhir pemeliharaan dan jumlah ikan yang ditebar pada awal pemeliharaan dengan menggunakan rumus dari Effendi (1997).

$$SR = \frac{Nt}{N0} \times 100 \%$$

Keterangan:

SR = tingkat kelulushidupan ikan (%)

Nt = jumlah udang pada akhir pemeliharaan (gram)

No = jumlah udang pada awal penebaran (gram)

4.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah parameter kualitas air yang diukur selama penelitian meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari pada jam 07.00 dan 17.00 WIB. Suhu menggunakan thermometer Hg, oksigen terlarut diukur menggunakan DO meter, sedangkan pH diukur menggunakan pH meter.

4.5 Analisis Data

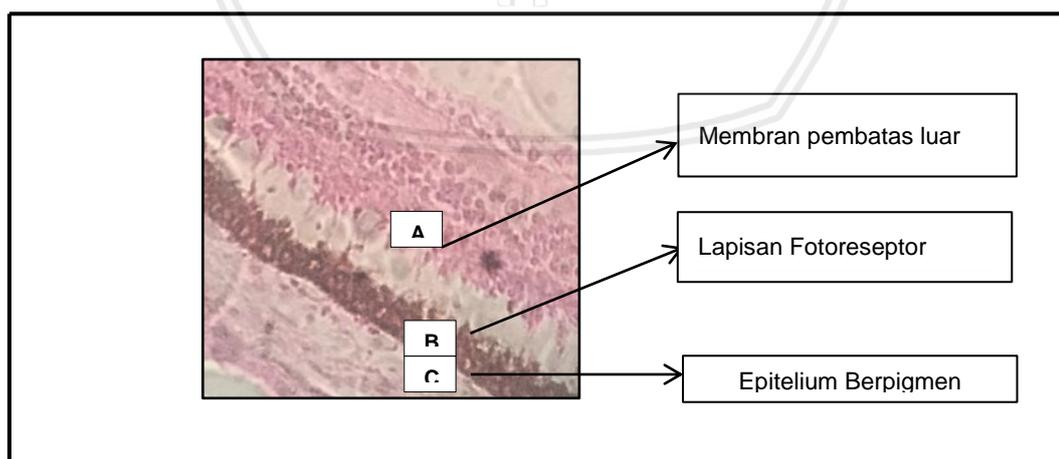
Data yang di peroleh dari pengamatan di sajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap 2 Faktor (RAL 2 faktor) dengan 4 perlakuan 3 kali ulangan. Selanjutnya data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis Ragam (ANOVA) dan uji F pada selang kepercayaan 95%. Lalu untuk melihat perbedaan antara perlakuan dilakukan uji lanjut Duncan (Beda Nyata Jujur) dengan selang kepercayaan 95%.

5. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK_s) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda antara lain parameter utama yang di uji meliputi pengamatan respon retina terhadap paparan intensitas cahaya , uji glukosa darah menggunakan glucometer, uji kortisol menggunakan KIT kortisol, enzim p38MAPK_s menggunakan Antibody p38MAPK_s. Penelitian ini juga melakukan pengecekan parameter kualitas air sebagai parameter penunjang yaitu: suhu, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO), dan suhu dilakukan setiap hari pada pagi dan sore. Hasil dan pembahasan yang di lakukan selama 3 minggu di paparkan dibawah sebagai berikut :

5.1 Respon Adaptasi Retina

Hasil penelitian pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap adaptasi retina ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) selengkapnya dapat dilihat pada gambar 6, 7 dan 8.

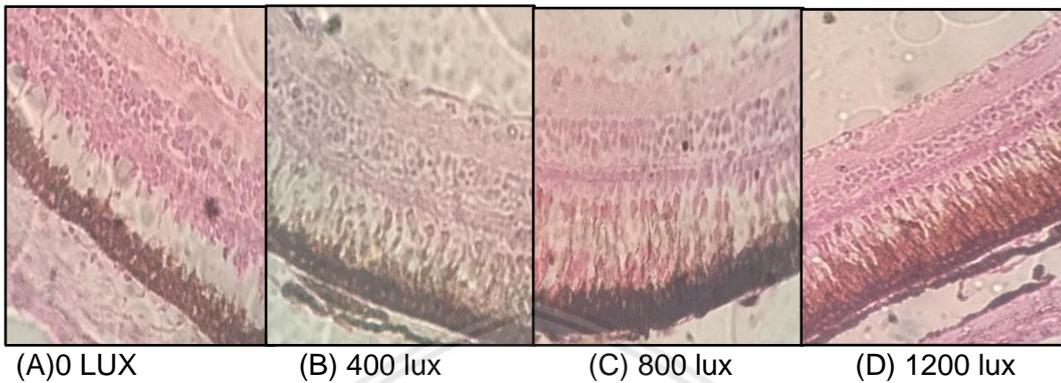


Gambar 6. Sel Kon sebelum terpapar intensitas cahaya.

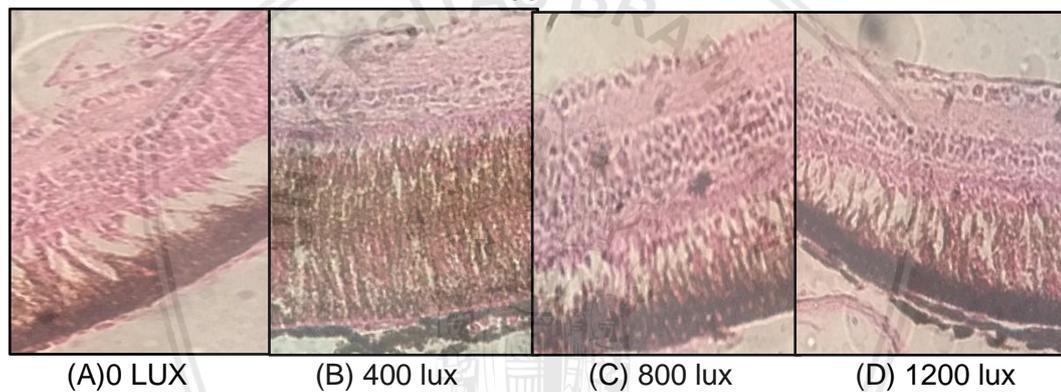
Pergerakan sel kon tetap terjadi seiring dengan peningkatan intensitas cahaya yang dipaparkan. Akan tetapi peningkatan pergerakan sel kon menuju

membran pembatas luar untuk tiap warna cahaya berbeda, perubahan sel kon dapat dilihat sebagai berikut :

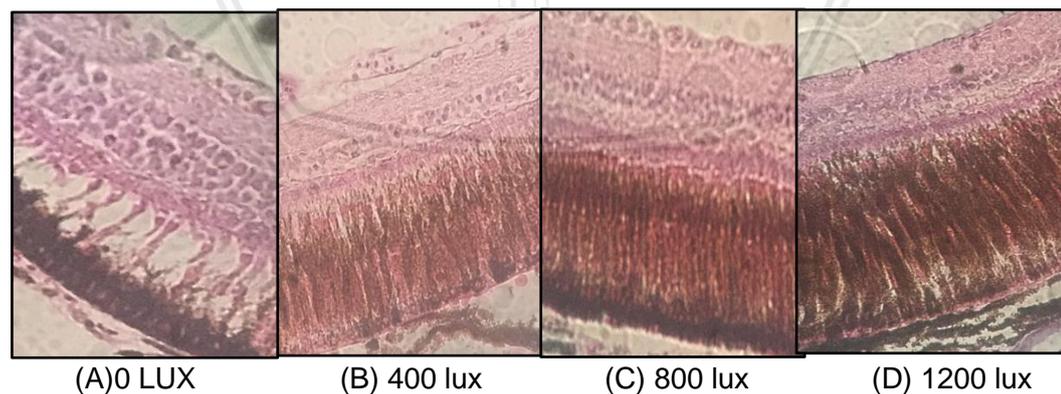
Minggu ke-1



Minggu ke-2



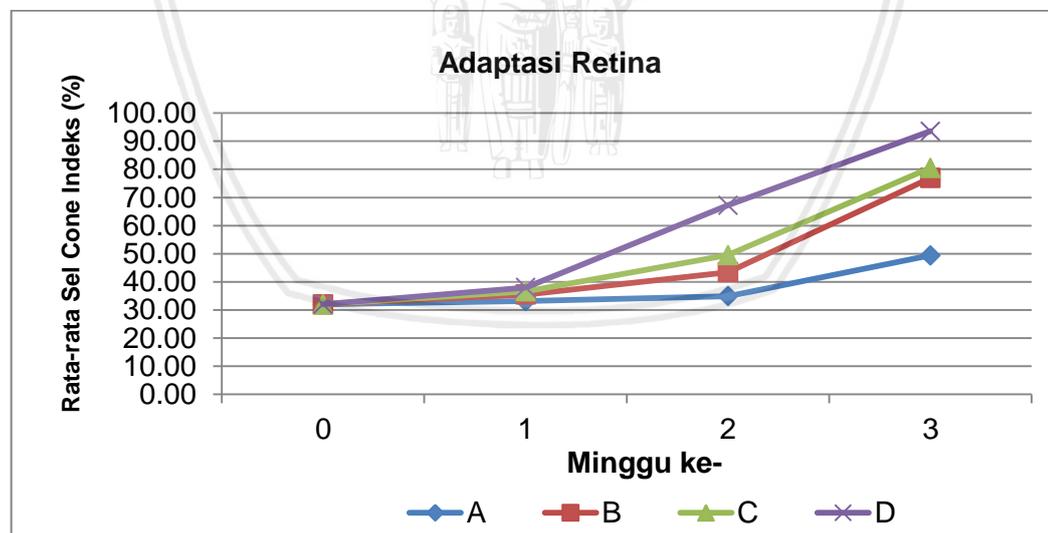
Minggu ke-3



Gambar 7. Adaptasi Retina Benih Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*).

Respon retina mata ikan terhadap cahaya dapat dilihat dari pergerakan sel kon. Apabila sel kon telah mencapai membran pembatas luar (*outer limiting membran*) maka sel kon dari ikan tersebut sudah mengalami adaptasi penuh

terhadap cahaya yang dipaparkan (*fully adapted*). Dapat di lihat pada gambar diatas bahwa pada perlakuan A dengan intensitas cahaya 0 lux perkembangan sel konnya mengalami keterlambatan dikarenakan tidak adanya rangsangan cahaya berbeda dengan perlakuan B 400 lux, C 800 lux dan D 1200 lux sel fotoreseptor yaitu sel kon pada saat minggu ke-3 mengalami adaptasi penuh yang artinya sel kon sudah mencapai titik membran pembatas luar hal ini sesuai dengan hasil uji glukosa dan uji kortisol dimana pada minggu ke-3 kadar glukosa dan kortisol mengalami penurunan yang dimana ikan sudah beradaptasi dengan paparan intensitas cahaya. Menurut Fujaya (2002) seperti halnya pada semua hewan vertebrata, ukuran sel kon (sel kerucut) menunjukkan kesensitifitasan retina terhadap spektrum cahaya. Sel kerucut pendek sensitif terhadap gelombang cahaya pendek sedangkan sel kerucut panjang sensitif terhadap gelombang cahaya terpanjang. Ukuran sel kerucut adalah 20-200mm (Nicol 1963).



Gambar 8. Rata-rata Adaptasi Retina Benih Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Keterangan:

A = 0 lux

B = 400 lux

C = 800 lux

D = 1.200 lux

Berdasarkan hasil penelitian, nilai sel cone indeks pada minggu ke-0 (M0) berbeda nyata : ^a $p < 0,05$ dibandingkan M1, M2 dan M3. Nilai sel cone indeks pada minggu ke-1 (M1) berbeda nyata : ^b $p < 0,05$ dibandingkan M0, M2 dan M3. Nilai sel cone indeks pada minggu ke-2 (M2) berbeda nyata: ^c $p < 0,05$ dibandingkan M0, M1 dan M3. Sedangkan pada minggu ke-3 (M3) berbeda nyata: ^d $p < 0,05$ dibandingkan M0, M1 dan M2. Jadi hasil dari faktor A (Waktu) sangat mempengaruhi terhadap jumlah sel cone pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*).

Berdasarkan hasil pengamatan diatas menunjukkan bahwa perlakuan cahaya meningkatkan jumlah sel cone indeks pada minggu ke-3. Perlakuan D berbeda signifikan terhadap perlakuan kontrol A ($p < 0,05$). Menariknya lagi, perlakuan D dengan pencahayaan tertinggi juga menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terhadap jumlah sel cone indeks kelompok B dan C. Hal ini dapat disimpulkan bahwa perlakuan cahaya yang lebih tinggi mampu meningkatkan jumlah sel cone indeks pada ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Hasil pengamatan ini juga sesuai dengan pernyataan Utami (2006), Pada pemaparan dengan intensitas cahaya warna hijau dan biru sel kon pepetek mulai bergerak naik menuju *outer limiting membrane* pada intensitas 1 lux dan mengalami adaptasi penuh pada intensitas 13 lux, jadi semakin tinggi intensitas cahaya yang di berikan maka sel cone lebih cepat mengalami adaptasi penuh.

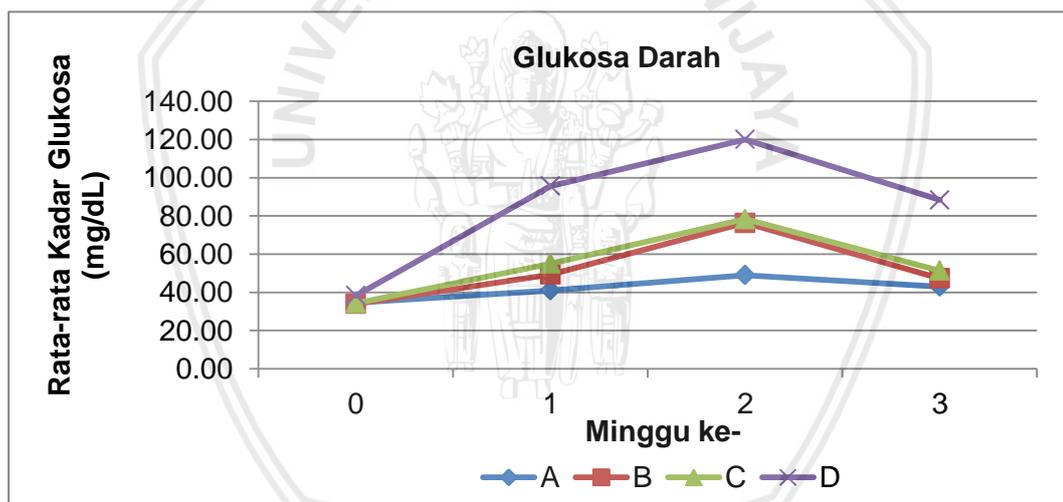
Hasil penelitian pengaruh intensitas warna cahaya terhadap adaptasi retina mata selar (*Selaroides leptolepsis*), melalui proses adaptasi pada percobaan skala laboratorium dengan analisis histologi didapatkan bahwa pergerakan sel kon tetap terjadi seiring dengan peningkatan intensitas cahaya yang dipaparkan, akan tetapi peningkatan pergerakan sel kon menuju membran pembatas luar untuk tiap warna cahaya berbeda. Kuantitas dan kualitas cahaya yang digunakan

akan mempengaruhi tingkah laku ikan terhadap cahaya, dimana mata ikan bereaksi selektif terhadap perbedaan spektrum (Nikonorov 1975).

Menurut Nabiu *et al.*, (2018). Pergerakan sel kon ikan selar (*Selaroides Leptolepsis*) pada cahaya putih menunjukkan bahwa sel kon telah mengalami kenaikan index con tertinggi pada ikan sebesar 90% dan pigment index sebesar 76% pada pemaparan 10 lux.

5.2 Glukosa Darah

Hasil penelitian pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap kadar glukosa ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) selengkapnya dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Rata-rata Kadar Glukosa Benih Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Keterangan:

A = 0 lux

B = 400 lux

C = 800 lux

D = 1.200 lux

Berdasarkan hasil penelitian, kadar glukosa (mg/dL) pada Minggu ke-0 (M0) berbeda nyata : ^a $p < 0,05$ dibandingkan M2. Kadar glukosa pada Minggu ke-2 (M2) berbeda nyata : ^c $p < 0,05$ dibandingkan M0, M1 dan M3. Kadar glukosa pada Minggu ke-1 (M1) dan Minggu ke-3 (M3) tidak ada beda : ^b $p < 0,05$

dibandingkan M0 dan M2. Sedangkan Kadar glukosa pada perlakuan A berbeda nyata ^a $p < 0,05$ terhadap perlakuan B, C dan D. Kadar glukosa pada perlakuan D berbeda nyata ^c $p < 0,05$ terhadap perlakuan B, C dan A. Kadar glukosa pada perlakuan B dan C tidak ada beda ^c $p < 0,05$ tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan A dan D.

Berdasarkan hasil pengamatan diatas menunjukkan bahwa perlakuan cahaya yang berbeda meningkatkan kadar glukosa diawal dan mengalami penurunan pada minggu ke-3. Perlakuan D berbeda signifikan terhadap perlakuan kontrol A ($p < 0,05$) (Data disajikan pada **Lampiran 10.**). Menariknya lagi, perlakuan D dengan pencahayaan tertinggi juga menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terhadap hasil glukosa kelompok B dan C. Hal ini dapat disimpulkan bahwa perlakuan cahaya yang lebih tinggi mampu meningkatkan kadar glukosa pada ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) (Lihat **Gambar 9.**). Kadar glukosa darah ikan yang normal mengandung 40-90 mg/dl, kandungan glukosa darah tersebut hampir sama dengan glukosa darah pada manusia yaitu 70-110 mg/dl (Rahardjo *et al.*, 2011).

Pada penelitian ini respon stress yang paling tinggi di dapatkan pada perlakuan D dengan intensitas cahaya 1200 lux hal ini sesuai dengan pernyataan Tian *et al*, (2015), bahwa intensitas cahaya (lebih dari 800 lx) pada benih ikan *Megalobrama amblycephala* tidak hanya menghasilkan pertumbuhan yang buruk, tetapi juga mungkin menyebabkan respons stres, yang mungkin berakibat pada peningkatan tingkat oksidasi hati dan menekan sistem kekebalan.

Menurut Anderson (1990), Pada saat ikan mengalami gangguan yang menyebabkan stres, maka tubuh ikan akan mengeluarkan tanda atau alarm sebagai indikasi adanya gangguan. Alarm pada ikan antara lain : pertama adanya peningkatan gula darah akibat sekresi hormon dari kelenjar adrenalin. Persediaan gula, seperti glikogen dalam hati dimetabolisme sebagai persediaan

energi untuk emergensi. Kedua, osmoregulasi kacau akibat perubahan metabolisme mineral. Ikan air tawar cenderung mengabsorpsi air dari lingkungan (over-hydrate). Ketiga, pernafasan meningkat, tensi darah meningkat, persediaan eritrosit direlease ke sistem resirkulasi dan keempat, respon inflamasi ditekan oleh hormon dari kelenjar adrenalin.

Salah satu indikasi ikan stres adalah meningkatnya kadar glukosa dalam plasma. Adanya respons stres, akan merangsang hipotalamus untuk melepaskan *Corticotrophin Releasing Factor* (CRF), dan CRF ini akan merangsang kelenjar hipofisa anterior untuk melepaskan hormon *adrenocorticotropin hormone* (ACTH). Kemudian ACTH akan merangsang sel-sel interrenal (medulla adrenal) untuk menghasilkan kortisol dan hormon katekolamin, seperti epinefrin (Wedemeyer, 1996). Hormon-hormon ini berperan dalam proses glukoneogenesis yang akan mendeposisi cadangan glikogen di hati dan otot untuk meningkatkan kadar glukosa darah (Hastuti, 2004).

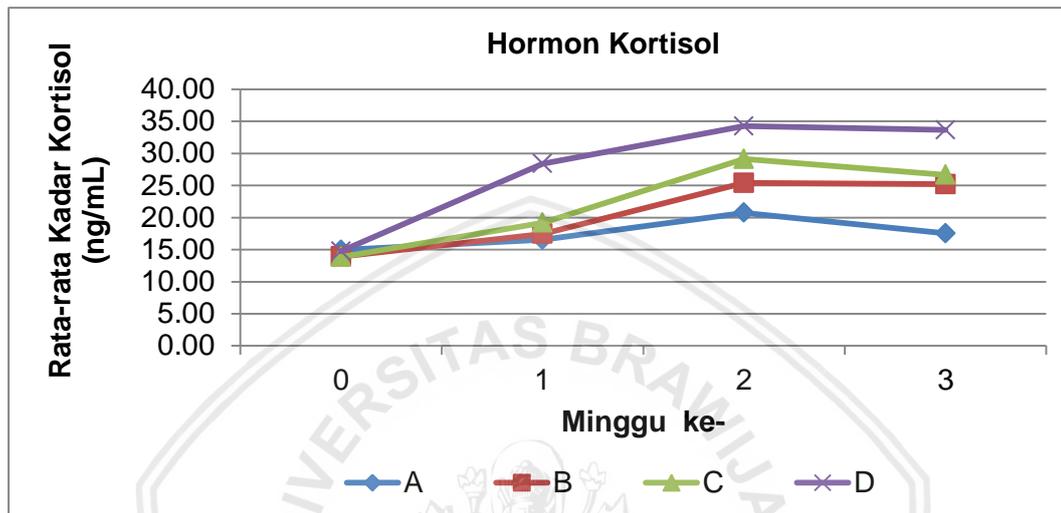
Kadar glukosa darah yang terus meningkat mengindikasikan adanya aliran glukosa ke dalam darah yang lebih besar dibandingkan pemasukan glukosa darah ke dalam sel. Sebaliknya, kadar glukosa akan menurun apabila aliran glukosa ke dalam darah lebih rendah dibandingkan pemasukkan glukosa darah ke dalam sel. Dengan demikian, puncak kadar glukosa darah terjadi saat aliran glukosa ke dalam darah dan pemasukan glukosa darah ke dalam sel mencapai titik keseimbangan (Aslamyah, 2006).

Glukosa yang telah masuk ke dalam sel akan segera dimetabolisme untuk mencukupi kebutuhan energi sehingga menghindari penggunaan sejumlah asam amino sebagai sumber energi metabolik (Suarez *et al.*, 2002). Matthews *et al.*, (2003) mengemukakan bahwa peningkatan kadar glukosa darah yang berlangsung cepat dapat memicu bioaktivitas insulin pada tingkat tertinggi, sehingga pemasukan glukosa darah ke dalam sel berlangsung dengan cepat.

5.3 Hormon Kortisol

Hasil penelitian pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap kadar kortisol ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) selengkapnya dapat dilihat pada

Gambar 10.



Gambar 10. Rata-rata Kadar Kortisol Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Keterangan:

A = 0 lux

B = 400 lux

C = 800 lux

D = 1.200 lux

Kadar kortisol pada Minggu ke-0 (M0) berbeda nyata : ^a $p < 0,05$ dibandingkan M1, M2 dan M3. Kadar kortisol pada Minggu ke-1 (M1) berbeda nyata : ^b $p < 0,05$ dibandingkan M0, M2 dan M3. Kadar kortisol pada Minggu ke-2 (M2) dan Minggu ke-3 (M3) tidak ada beda: ^c $p < 0,05$ dibandingkan M0 dan M1. Sedangkan Kadar kortisol pada perlakuan A berbeda nyata ^a $p < 0,05$ terhadap perlakuan B, C dan D. Kadar kortisol pada perlakuan B dan C tidak ada beda tetapi berbeda nyata ^b $p < 0,05$ terhadap perlakuan A dan D. Kadar kortisol pada perlakuan D berbeda nyata ^c $p < 0,05$ terhadap perlakuan B, C dan A.

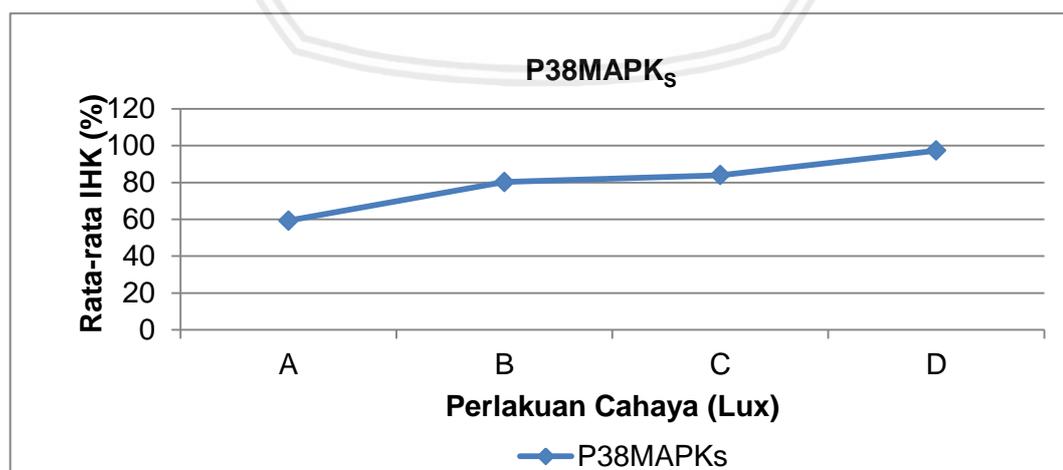
Berdasarkan hasil pengamatan diatas menunjukkan bahwa perlakuan cahaya yang berbeda dapat meningkatkan kadar kortisol (hormon stres) dan berbeda signifikan dibandingkan kelompok kontrol 0 lux ($p < 0,05$) (Data disajikan

pada **Lampiran 11.**). Menariknya lagi, perlakuan D dengan pencahayaan tertinggi menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terhadap kelompok B dan C. Hal ini dapat disimpulkan bahwa perlakuan cahaya yang lebih tinggi mampu meningkatkan kadar kortisol pada ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) (Lihat **Gambar 10.**).

Plasma kortisol adalah hormon stres yang penting (Barton dan Iwama, 1991), dan diproduksi melalui sumbu hipotalamus-hipofisis-interrenal setelah rangsangan eksternal. Konsentrasi plasma kortisol dapat dilihat sebagai sinyal stres pada ikan (Strange and Schreck, 1978). Menurut Boeuf dan Le Bail (1989) bahwa ketika intensitas cahaya terlalu tinggi, ini bisa menyebabkan stres dan kematian. Dalam penelitian ini ikan *Epinephelus coioides* dipelihara di 320–1150 lux memiliki tingkat kelangsungan hidup yang rendah dan konsentrasi plasma kortisol yang secara signifikan lebih meningkat (Tao, *et al.*, 2013).

5.4 Enzim p38MAPKs

Hasil penelitian pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap kadar kortisol ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) selengkapnya dapat dilihat pada **gambar 11.**



Gambar 11. Rata-rata p38MAPK_s Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Keterangan:

A = 0 lux

B = 400lux

C = 800 lux

D = 1.200 lux

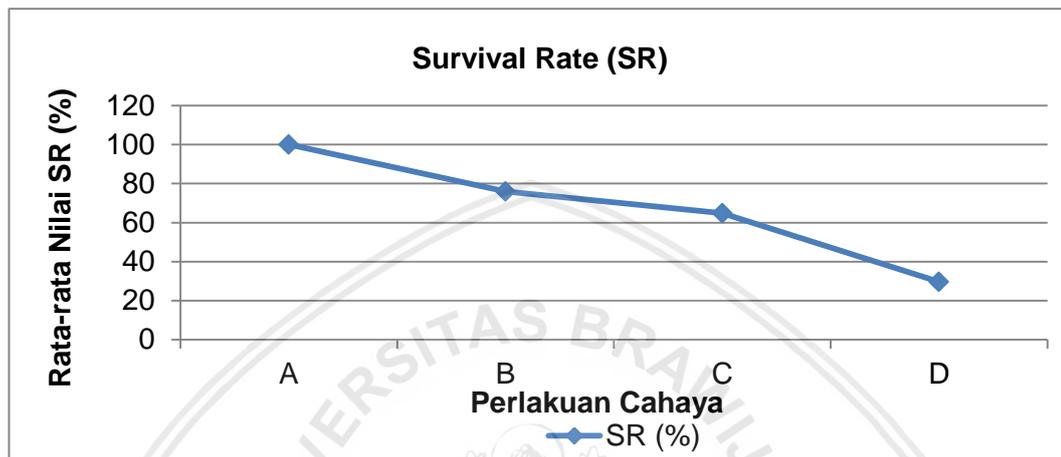
Berdasarkan hasil penelitian, P38MAPK_s minggu ke-2 terendah pada perlakuan A (kontrol) yaitu dengan IHK (%) sebesar $59,23 \pm 3,57$ dan tertinggi pada perlakuan D yaitu dengan IHK (%) sebesar $97,3 \pm 1,1$ terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan B dan C, dengan nilai ($p < 0,05$). Kenaikan presentase p38MAPK_s menunjukkan bahwa ikan lele mengalami stress dan ikan lele mendeteksi intensitas cahaya sebagai stressor.

Enzim p38 MAPK merupakan salah satu anggota famili MAP serin/threonin protein kinase, selain *extracellular signal-regulated protein kinase* (ERK1 atau p44MAPK), ERK2 (p42MAPK), dan c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) atau *stress-activated protein kinase* (SAPK). Aktifasi p38 MAPK diinduksi oleh berbagai stimulus stress endogen maupun eksogen, antara lain hiperglikemia, ROS, stress osmotik, sitokin-sitokin proinflamasi, *heat shock* dan radiasi sinar ultra violet. Diantara beberapa stimulator aktifasi p38 MAPK tersebut, ROS yang sangat kuat dalam mengaktifasi p38 MAPK. Penelitian pada sel tubular ginjal dilaporkan bahwa pajanan glukosa tinggi dapat meningkatkan produksi ROS dan mengaktifasi p38 MAPK. Pada penelitian ini terbukti bahwa pajanan glukosa tinggi pada kultur adiposit, yaitu pada konsentrasi glukosa 11 mM dan 25 mM dapat meningkatkan aktifitas enzim p38 MAPK, melalui peningkatan kadar enzim p38 MAPK yang terfosforilasi (Firani and Indra, 2015).

Secara alami sel-sel pada ikan merespon kehadiran stressor lingkungan dengan memproduksi protein stress seperti *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs) (Santoso,2010).

5.5 Survival Rate (SR)

Hasil penelitian pengaruh intensitas cahaya yang berbeda terhadap nilai *Survival Rate* (SR) ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) selengkapnya dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Rata-rata Survival Rate Benih Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Keterangan:

A = 0 lux

B = 400lux

C = 800 lux

D = 1.200 lux

Berdasarkan hasil penelitian, SR atau kelulushidupan pada akhir penelitian minggu ke-3 nilai tertinggi pada perlakuan A (kontrol) yaitu sebesar 100% dan terendah pada perlakuan D yaitu dengan SR (%) sebesar $29,62 \pm 3,21$ yang dimana terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan B dan C, dengan nilai ($p < 0,05$). Sedangkan nilai SR pada perlakuan A berbeda nyata terhadap perlakuan B, C dan D : ^d $p < 0,05$. Perlakuan B berbeda nyata terhadap perlakuan A, C dan D : ^c $p < 0,05$. Perlakuan C berbeda nyata terhadap perlakuan A, B dan D : ^b $p < 0,05$. Perlakuan D berbeda nyata terhadap perlakuan A, B dan C: ^a $p < 0,05$. Disimpulkan bahwa dari faktor B (perlakuan cahaya) sangat mempengaruhi terhadap nilai SR pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Hal tersebut sependapat dengan hasil yang diperoleh dalam penelitian mengenai kelulushidupan dengan intensitas cahaya rendah pada larva ikan patin

(*Pangasianodon hypophthalmus*) oleh Mukai *et al.*, (2011), bahwa larva bersifat lebih aktif pada perlakuan kondisi cahaya redup dibandingkan dengan kondisi terang. Hal tersebut terjadi kemungkinan besar karena larva bersifat nokturnal. Larva yang dipelihara pada kondisi terang terlihat lebih suka beristirahat di dasar akuarium, larva tersebut adalah yang sering digigit oleh larva lainnya. Di sisi lain, larva pada pemeliharaan dengan kondisi gelap menunjukkan tingkah laku lebih aktif dan lebih sedikit yang beristirahat di dasar akuarium. Oleh karena itu, kondisi cahaya redup menunjukkan kelulushidupan lebih tinggi disebabkan oleh rendahnya tingkah laku kanibalistik.

5.6 Kualitas Air

Ada pun salah satu faktor yang mempengaruhi kelangsungan hidup ikan lele (*C. gariepinus.*) adalah kualitas air. Hasil pengamatan kualitas air selama penelitian yang mencakup data Ph, Suhu dan DO dapat di lihat dapat **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Parameter Kualitas Air Selama Penelitian Benih Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus.*)

PERLAKUAN (Lux)	ULANGAN	KUALITAS AIR					
		PAGI (07:00)			SORE (16:00)		
		SUHU (°C)	pH	DO (mg/l)	SUHU (°C)	pH	DO (mg/l)
0	1	27	6.9	6.4	31	6.8	7.1
	2	26	7.3	6.4	30	7.3	7.2
	3	28	7.3	6.9	30	7.2	6.9
400	1	25	7.1	7.2	31	7.3	7.1
	2	24	6.8	7.2	31	7.3	6.7
	3	27	7.1	7.1	29	7.4	6.7
800	1	27	7.2	6.3	30	7.0	6.8
	2	26	7.3	6.9	31	7.0	6.4
	3	25	7.1	7.5	31	7.2	6.5
1200	1	27	7.0	6.3	31	6.9	7.5
	2	26	6.9	7.6	31	7.1	7.3
	3	25	7.2	6.2	30	7.2	6.6

Kualitas air merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan budidaya. Air media budidaya yang memiliki kualitas baik dan jumlah yang cukup sangat menunjang keberhasilan budidaya. Kondisi kualitas air

yang buruk dapat menyebabkan stres sampai kematian pada ikan yang dibudidayakan.

Berdasarkan data kualitas air yang diperoleh, suhu air pemeliharaan ikan lele (*C. gariepinus.*) berada pada kisaran toleransi ikan yang baik selama penelitian yaitu perlakuan A, B,C dan D dengan kisaran suhu 24 – 31°C. Menurut Lubis (2015), suhu yang optimal untuk memelihara ikan lele adalah 20-30 °C. Suhu perairan yang tinggi dapat menyebabkan ikan stres dan dalam jangka panjang dapat menyebabkan kematian pada ikan.

Nilai oksigen terlarut (DO) selama penelitian adalah 6,4 – 7,6 mg/l. berdasarkan hasil pengukuran tersebut maka dapat dikatakan bahwa oksigen terlarut dalam air pemeliharaan juga berada dalam kisaran toleransi benih ikan lele (*C. gariepinus.*) Hal ini sesuai dengan pendapat Hardjamulia et al (1986) menyatakan bahwa kisaran oksigen terlarut yang tidak membahayakan kehidupan ikan adalah 5,7 – 6,4 mg/l. Untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan, oksigen terlarut yang dianjurkan tidak kurang dari 5 mg/l.

Nilai pH air selama pemeliharaan benih ikan lele (*C. gariepinus.*) selama penelitian berkisar antara 6,8 - 7,3. berdasarkan hasil pengukuran tersebut maka dapat dikatakan bahwa ph air pemeliharaan berada pada kisaran normal. hal ini sesuai dengan pendapat Trisnawati (2014), pH yang baik untuk budidaya ikan lele berkisar antara 6,5 sampai 8,5. pH yang tinggi atau di atas 8,5 dapat menyebabkan meningkatnya kandungan racun pada perairan, namun jika pH rendah atau di bawah 6,5 dapat menghambat laju pertumbuhan ikan lele.

6. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK_s) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda didapat kesimpulan sebagai berikut :

- Respon retina pada intensitas cahaya A 0 lux perkembangan sel konnya mengalami keterlambatan dikarenakan tidak adanya rangsangan cahaya berbeda dengan perlakuan B 400 lux, C 800 lux dan D 1200 lux, sel fotoreseptor yaitu sel kon pada saat minggu ke-3 mengalami adaptasi penuh yang artinya sel kon sudah mencapai titik membran pembatas luar hal ini sesuai dengan hasil uji glukosa dan uji kortisol dimana pada minggu ke-3 kadar glukosa dan kortisol mengalami penurunan stress.
- Intensitas cahaya mempengaruhi respon stress meliputi glukosa darah, hormon kortisol dan enzim P38MAPK_s. Puncak tertinggi dicapai pada perlakuan intensitas cahaya 1200 lux minggu ke-2. Dengan nilai kadar glukosa darah sebesar $120 \pm 3,4^b$ mg/dL, hormon kortisol sebesar $34,27 \pm 1,50^b$ ng/mL dan enzim p38MAPK_s sebesar $97,3 \pm 1,1^b$ %.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Ekspresi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK_s) dan Hormon Kortisol Pada Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Intensitas Cahaya yang Berbeda disarankan dalam melakukan budidaya pembenihan di indoor menggunakan intensitas cahaya di bawah 1200 lux masih dapat dikatakan tidak mengganggu kelulushidupan dan pertumbuhan benih ikan lele dumbo. Respon stress pada penelitian ini berlangsung

selama 14 hari dan sudah beradaptasi pada hari ke-21 yang dimana dilihat dari adaptasi retina, namun perlu adanya riset intensitas cahaya yang lebih tinggi untuk mengetahui seberapa besar efek intensitas cahaya terhadap ikan lele dumbo.



DAFTAR PUSTAKA

- Adelbert, R.M. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea Bogor. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Abdiguna, A.Limin, S.Wardiyanto dan Suparmono. 2013. Penggunaan tepungdaging dan tulang sebagai alternatif sumber protein hewani pada pakanikan nila merah (*oreochromis niloticus*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **2**(1) : 192-196.
- Al-Attar, A. M. 2005. Changes in Hematological Parameters of the Fish *Oreochromis niloticus* Treated With Sublethal Concentration of Cadmium. *Pakistan Journal of Biological Science*. **8** (3) : 421-424.
- Hardjamulia. A., Cholik, F dan R. Arifudin. 1986. Budidaya Perikanan. BLPP SUPM Negeri, Bogor.
- Aslamyah, S. 2006. Penggunaan Mikroflora Saluran Pencernaan sebagai Probiotik untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Bandeng. (desertasi). Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Anderson, D.P. 1993. Disease of Fishies. Book 4: Fish Immunology. Edited by S. Snieszcke and R. Axelrod, TFH Publication Ltd. Neptune City.
- Ando, H., Hasegawa, M., Ando, J., Urano, A., 1999. Expression of salmon corticotropin-releasing hormone precursor gene in the preoptic nucleus in stressed rainbow trout. *Gen. Comp.Endocrinol.* **113**: 87-95.
- Ariandana, R. 2010. Pertumbuhan Benih Ikan Black Ghost (*Apteronotus albifrons*) pada Intensitas Cahaya dan Lama Penyinaran yang Berbeda. Skripsi Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung. 58 hlm.
- Arimoto, T., N.Watanabe and N. Okamoto. 1988. Retinomotor Respon of Jack Mackerel, *Trachurus japonicus* to Light Condition. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* **75**(2):333-341.
- Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrated Comparative Biology*, **42**, 517–525.
- Barton, B. A. and G. K. Iwama. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Ann. Rev. Fish Dis.* **1**:3–26.
- Bernier, N.J., Lin, X-W., Peter, R.E. 1999. Differential expression of corticotropin-releasing factor (CRF) and Urotensin I precursor genes, and evidence of

- CRF gene expression regulated by cortisol in goldfish brain. *Gen. Comp. Endocrinol.* 116: 461-477.
- Blaxhall, P.C. 1973. The Haemotological Assessment of The Health of Fresh Water Fish. A Review of Selected Literature. *Journal of Fish Biology.* 4 : 593-604.
- Boeuf, G., Le Bail, P.Y. 1989. Does light have an influence on fish growth. *Aquaculture.* 177: 129–152.
- Boyd CE. 1982. *Water Quality Management for Pond Fish Culture.* Elsevier Scientific Publishing Co, New York, p: 6-50.
- Brownlee, M. 2005. The Pathobiology Of Diabetic Complications : A Unifying Mechanism, *Diabetes*, 54.1615. 24 pp.
- Brown, J. A. 1993. Endocrine Responses to Environmental Pollutions, p: 276 292. *In* J.F. Rankin & F.B. Jemsen (Eds.). *Fish Ecology*. Chapman & Hall, London.
- Cowan, Kyra J. and Storey, Kenneth B. 2003. Mitogen Activated Protein Kinases: New Signaling Pathway Functioning in Cellular Responses to Environmental Stress. *The journal of Experiment Biology.* 206: 1107-1115.
- Effendie, M. I. 1985. *Biologi Perikanan. Bagian I: Studi Natural History.* Fakultas Perikanan, IPB. Bogor.109-111.
- Effendie, M.I. 1997. *Biologi Perikanan.* Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusatama.
- Effendi, I. 2004. *Pengantar Akuakultur.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA and Grodsky GM. 2002. Oxidative stress and stress activated signaling pathway: A unifying Hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine Review.* 23 (5):599-622.
- Flik. G., Klaren, P.H.M., Van den Burg, E.H., Metz, J.R., Huising, M.O. 2006. CRF and stress in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 146: 36-44.
- Forteach N. 1993. Types of Recirculating Systems. *In:* P. Hart and D. O' Sullivan (eds.). *Recirculation Systems: Design, Construction and Management.* University of Tasmania at Launceston, Australia, p: 33-39.
- Fujaya, Y. 2004. *Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik. Perikanan.* Cetakan pertama. Rineka Putra. Jakarta. 56 hlm.
- Gunarso, W. 1985. *Tingkah Laku Ikan Dalam Hubungannya Dengan Alat, Metode, Dan Taktik Penangkapan.* Fakultas Perikanan. Jurusan Adaptasi Fisiologis Retina Mata Dan Tingkah Laku Ikan Terhadap Cahaya (Syam, A.R. Dan Satria, H.) 224 *Pemanfaatan Sumber Daya Perikanan.* Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Hajar, M.A.I, Hiroshi Inada, Masahide Hasobe and Arimoto, T. 2008, Visual Acuity of Pasifis Saury *Cololabis saira* for Understanding Capture Process.
- Hastuti, S. 2004. Respon fisiologis ikan gurame (*O. gouramy*) yang diberi pakan mengandung kromium-ragi terhadap penurunan suhu lingkungan [Disertasi]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 104 hal.
- Hastuti, S Dan Subandiyono. 2011. Performa Hematologis Ikan Lele Dumbo "Sangkuriang" (*Clarias Gariepinus, Burch*) Yang Diberi Pakan Mengandung Kromium-Organik. *Jurnal Saintek Perikanan*. 7(1): 56 – 62.
- Hastuti, S., E. Supriyono, I. Mokoginta Dan Subandiyono. 2003. Respon Glukosa Darah Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy, Lac.*) Terhadap Stres Perubahan Suhu Lingkungan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 2(2): 73-77.
- Hastuti, S. 2004. Respon fisiologis ikan gurame (*O. gouramy*) yang diberi pakan mengandung kromium-ragi terhadap penurunan suhu lingkungan [Disertasi]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 104 hal.
- Herve, M., Mairi, C., John, T., Hugh,W.F. 2007. The effect of spectral composition and light intensity on melatonin stress and retinal damage in post-smolt Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 270, 390–404.
- Ismail, K. 1994. *Kiat Mengatasi Stres pada Ikan*. Surakarta: Mediatama.
- Iwama, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Joan, E.R. 1995. Visible light induced changes in the immune response through an eyebrian mechanism (photoneuroimmunology). *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 29 B, 3–15.
- Junquiera and Carneiro. 2007. *Basuc Histology*. The Mc Graw-Hill Companies.
- Kyriakis and Avruch. 2012. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: a 10 year update. *Physiol Rev*. 92(2):689-737.
- Lubis, M., S. Usman dan R. Amanta. 2015. Pengaruh Kombinasi Pakan Alami dengan Pakan Buatan terhadap Pertumbuhan Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal Aquacoastmarine*. 8(3): 1-1.
- Maishela, Belly., Suparmono ., Rara Diantar Dan Moh Muhaemin. 2013. Pengaruh Fotoperiode Terhadap Pertumbuhan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*). *E-Jurnal Rekayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan* Volume I No 2 Februari 2013.
- Mahyudin K. 2008. *Panduan Lengkap Agribisnis Lele*. Jakarta : Penebar Swadaya.

- Mukai, Y. 2011. Remarkably High Survival Rates Under Dim Light Conditions in Sutchi Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) Larvae. *J. of Fisheries Science*. 77. 107-111.
- Nurmasida .2014. Perbandingan Kadar serum p38 Mitogen Activated Protein kinass (MAPK), Trombosit dan Asam Urat pada penderita Preeklamsia Berat dan Sindroma Hells. *Tesis*.
- Nikonorov IV. 1975. Interaction of Fishing Gear With Fish Aggregations. Keter Publishing House. Jerusalem Ltd. Israel 216 p.
- Nur Lina M. Nabiu., Mulyono S. Baskoro., Zulkarnain., Roza Yusfiandayani. 2018. Adaptasi Retina Ikan Selar (*Selaroides leptolepsis*) Terhadap Intensitas Cahaya Lampu. *Jurnal Teknologi Perikanan Dan Kelautan* Vol. 9 No. 1 Mei 2018: 97-102.
- Pickering, A.D., Pottinger, T.G. 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol. Biochem.* 7: 253-258.
- Porchas, M.M., L. R. M. Cordova and R. R Enriquez. 2009. Cortisol and glucose reliable indicators of fish stress. *Pan American Jurnal of Aquatic Sciences*. 4 (2): 158-178.
- Rakhmawati, J. M. B. Rietje dan J. Nursandi. 2011. Pengaruh taurin dalam pakan dengan kadar protein rendah pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi IV*. Lampung
- Rahardjo, M. F., Sjafei, D. S., Affandi, R., & Sulistiono. 2011. *Ikhtologi*. Jakarta : Lubuk Agung.
- Ryer, A. 1998. Light Measurement Handbook Technical Publication Dept. International LIGHT, Inc. 17 Graft Road Newburyport, MA. USA pp 29-32.
- Saanin H. 1984. *Taksonomi dan kunci identifikasi ikan*. Jakarta: Bina Cipta.
- Saraswati, E. 2014. Status kesehatan udang *Litopennaeus vannamei* yang diinjeksi ekstrak *Chaetoceros ceratosporum*. *Penyakit Ikan dan Kesehatan Lingkungan*. 77-86.
- Santoso, Priyo. 2010. Peran protein Stres MAPK δ dalam regulasi inos pada ikan sebagai respon terhadap stressor di lingkungan Perairan. *Media Exacte*. 9 (1):1-9.
- Silaban, F. T., L. Santoso dan Suparmono. 2012. Dalam Peningkatan Kinerja Filter Air Untuk Menurunkan Konsentrasi Amonia Pada Pemeliharaan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perikanan*. 1(1): 47-56.
- Strange, R.J., Schreck, C.B. 1978. Anesthetic and handling stress on survival and cortisol concentration in yearling Chinooksalmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 35: 345–349.

- Stickney RR. 1979. *Principles of Warmwater Aquaculture*. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, Inc. New York, p: 1-125.
- Stryer, L. 2000. *Biokimia*. Edisi IV. Vol. 2. Jakarta: EGC.
- Suarez, M.D., A Sanz, J. Bazoco, & M.G. Gallego. 2002. Metabolic effects of changes in the dietary protein: carbohydrate ratio in eel (*Angilla anguilla*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International* 10: 143–156.
- Tatangindatu, F. Ockstan K dan Robert Rompas. 2013. Studi parameter fisika kimiaair pada areal budidaya ikan di Danau Tondano, Desa Paleloan, KabupatenMinahasa. *Jurnal Budidaya Perairan*. 1 (2) : 8-19.
- Taqwa, F. H. 2008. Pengaruh Penambahan Kalium pada Masa Adaptasi Penurunan Salinitas pada Waktu Penggantian Pakan Alami oleh Pakan Buatan Terhadap Performa Pasca larva Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Tian. Hong-Yan., Ding-Dong Zhang., Chao Xu, Fei Wang, Wen-Bin Liu. 2015. Effects of light intensity on growth, immune responses, antioxidant capability and disease resistance of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. *Fish & Shellfish Immunology*. 47: 674-680
- Trisnawati, Y., Suminto dan A. Sudaryono. 2014. Pengaruh Kombinasi Pakan Buatan dan Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan, Pertumbuhan dan Kelulushidupan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal Aquaculture Management and Technology*. 3(2): 86-93.
- Utami Eva. 2006. Analisis Respons Tingkah Laku Ikan Pepetek (*Secutor insidiator*) Terhadap Intensitas Cahaya Berwarna. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Van Den Oever, Inge AM., Hennie G Rayeman, Mike T Nurmohammed and Suat Simsek. 2010. Endothelial Dysfunction, Imflammation and Apoptosis in Diabetes Melitus. *Article Mediators of Inflammation*.
- Vihtelic, T.S., Hyde, D.R. 2000. Light-Induced Rod And Cone Cell Death And Regeneration In The Adult Albino Zebrafish (*Danio Rerio*) Retina. *Journal Of Neurobiology* 44, 289–307.
- Volpato GL dan Barreto RE. 2001. Environmental Blue Light Prevents Stress in The Fish Nile Tilapia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 1041-1045.
- Wang Tao., Cheng Yongzhou, Liu Zhaopu., Yan Shaohua., Long Xiaohua. 2013. Effects of light intensity on growth, immune response, plasma cortisol and fatty acid composition of juvenile *Epinephelus coioides* reared in artificial seawater. *Aquaculture*. 414–415: 135–139.
- Wendelaar, B.S.E. 1997. The Stress Response in Fish *Physiol. Rev.* 77:591-625.

Wedemeyer G.A and W.T. Yatsuke. 1977. Clinical Method For The Assessment of the Effect of Environmental Stress on Fish Health. Technical Paper Of The U.S. Fish and Wildlife Service. Vol. 89. U.S. Department of the Interior Fish and Wildlife service, Wasngington, D.C., USA. 18 pp.

Wedemeyer GA. 1996. Physiology of Fish in Intensive Culture Systems. Chapman and Hall, New York, 232 p.

Zulnaldi. 2007. *Metode Penelitian*. Universitas Sumatera Utara. Medan.

