

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan sidat (*Anguilla bicolor*) merupakan salah satu jenis ikan yang banyak diminati oleh masyarakat diberbagai dunia (Napitupulu & Heni, 2011). Salah satu alasannya adalah karena ikan sidat (*Anguilla bicolor*) memiliki kandungan gizi yang baik. Daging sidat memiliki kandungan protein tinggi, vitamin, asam lemak, serta unsur mikro seperti Zn (Roy, 2013). Menurut Pratomo (2015) tercatat pada tahun 2015 permintaan ikan sidat di pasar luar negeri cukup besar, yakni hingga 300.000 ton per tahun, adanya permintaan pasar yang tinggi tersebut tentunya mendorong aktivitas penangkapan ikan sidat yang tidak terkontrol menyebabkan terancamnya ketersediaan benih sidat di alam. Hasil tangkapan sidat Eropa (*Anguilla Anguilla*) hanya tinggal 5-10% saja (Alato *et al.*, 2016). Selain itu jenis benih sidat pada spesies sidat Amerika (*Anguilla rostrata*) dan sidat Jepang (*Anguilla japonica*) juga telah mengalami penurunan hasil tangkapan secara drastis (Harrison *et al.*, 2014).

Di Indonesia pemanfaatan sumberdaya ikan sidat dalam usaha budidaya untuk memproduksi benih ikan sidat masih sangat jarang untuk dilakukan (Koroh & Lumenta, 2014). Padahal dari 18 jenis ikan sidat yang ada di dunia 6 jenisnya terdapat di Indonesia. Adapun spesies yang dikenal di Indonesia, diantaranya yaitu *Anguilla marmorata*, *Anguilla bicolor*, *Anguilla celebesensis*, *Anguilla borneonsis*, *Anguilla ancertalis* dan *Anguilla mauritina* (Topan & Riawan, 2015). Dari keenam spesies tersebut *Anguilla bicolor* merupakan salah satu jenis ikan sidat yang memiliki distribusi luas sehingga mudah untuk ditemui (Fahmi & Hirnawati, 2010).

Selain usaha budidaya yang masih jarang, informasi genetik seperti *database* sikuen *housekeeping gene* dari ikan sidat asal Indonesia khususnya *Anguilla bicolor* juga masih sedikit, tidak sebanyak informasi genetik pada spesies *Anguilla* lainnya. Survey pendahuluan pada laman *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) tanggal 7 Oktober 2018 *database* sikuen *housekeeping gene* dari *Anguilla*

bicolor baru terdapat dua jenis yaitu 16s rRNA dan 12s rRNA. Pada penelitian yang dilakukan oleh Politis *et al.* (2017) dan Cauderc *et al.* (2016) spesies *Anguilla anguilla* telah diketahui beberapa *database* sikuen *housekeeping gene* seperti *Beta Actin*, *GAPDH*, *EF1A*, *18S*, *40S*. Sementara itu pada penelitian Yi *et al.* (2013) *database housekeeping gene* pada *Anguilla japonica* yang telah diketahui adalah *gyrB* dan *rpoD* dan menurut Setiawan & Lokman (2010) pada *Anguilla australis* *database housekeeping gene* yang diketahui adalah *ODC1*, *I36* dan *NOP14*.

Housekeeping gene merupakan gen konstitutif yang diperlukan dalam menjaga fungsi sel dan diekspresikan pada semua sel organisme dalam kondisi normal (Pampel, 2017). Ekspresi dari *housekeeping gene* bersifat stabil, sehingga *housekeeping gene* ini juga sering digunakan dalam menganalisis ekspresi gen (Roslim, 2017) serta sebagai kontrol internal untuk normalisasi ekspresi gen tertentu (Yang *et al.*, 2014; Sinha *et al.*, 2015). *Housekeeping gene* yang banyak digunakan diberbagai studi diantaranya adalah gen *18s Ribosomal RNA* (18S rRNA), *Elongation Factor 1-Alpha* (EF1A) (Setiawan & Lokman, 2010), *Beta Actin* (ACTB) dan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH) (McCurley & Callard, 2008). Gen *18s Ribosomal RNA* (18S rRNA) dan *Elongation Factor 1-Alpha* (EF1A) merupakan gen yang paling stabil di seluruh sampel yang dianalisis pada penelitian Politis *et al.* (2017). Adapun gen *Beta Actin* (ACTB) dan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH) juga merupakan gen yang paling stabil diekspresikan dan karena kestabilannya Gen *Beta Actin* (ACTB) dan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH) digunakan untuk normalisasi ekspresi gen pada penelitian yang dilakukan oleh Filby & Tayler (2007).

Informasi genetik seperti *database* sikuen dari keempat *housekeeping gene* tersebut belum diketahui pada ikan sidat (*Anguilla bicolor*). Informasi sikuen *housekeeping gene* dapat digunakan untuk memahami transkriptom (Lin *et al.*, 2017). Sikuen dari *housekeeping gene* dapat diperoleh dengan menggunakan metode *Nested PCR* yaitu modifikasi PCR yang dirancang untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas (Carr *et al.*, 2010). Pada *Nested PCR* digunakan dua set primer (Hoy, 2013). Adapun primer yang digunakan pada proses amplifikasi adalah primer

degenerate karena gen targetnya belum spesifik atau tidak diketahui (Hogg, 2016). Menurut Linhart dan Shamir (2004) primer *degenerate* biasa digunakan untuk mengidentifikasi gen yang memiliki informasi minim atau belum diketahui sikuennya.

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian yang dilakukan dimaksudkan untuk mensikuensing hasil isolasi *housekeeping gene* pada ikan sidat (*Anguilla bicolor*) dengan cara melakukan perancangan primer *degenerate* terlebih dahulu. Primer *degenerate* yang telah dirancang digunakan untuk mengamplifikasi *housekeeping gene* menggunakan metode *Nested PCR*. Kemudian hasil amplifikasi *housekeeping gene* dilakukan sikuensing secara langsung (*direct PCR*) untuk menentukan urutan sikuen gen. Adapun sikuen yang diperoleh dapat dijadikan sebagai sumber untuk merancang primer spesifik pada penelitian selanjutnya. Data yang diperoleh juga diharapkan dapat melengkapi dan memperkaya *database* yang telah ada sebelumnya.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah “Bagaimana mendapatkan sikuen spesifik dari *housekeeping gene 18s Ribosomal RNA* (18S rRNA), *Beta Actin* (ACTB), *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH) dan *Elongation Factor 1-Alpha* (EF1A) pada ikan sidat (*Anguilla bicolor*) ?”

1.3. Pertanyaan Penelitian

Dari rumusan masalah tersebut, dapat dikembangkan menjadi beberapa pertanyaan penelitian diantaranya, yaitu :

1. Bagaimana karakteristik primer *degenerate* yang baik untuk mengamplifikasi *housekeeping gene 18s Ribosomal RNA* (18S rRNA), *Beta Actin* (ACTB), *Elongation Factor 1-Alpha* (EF1A) dan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH) pada ikan sidat (*Anguilla bicolor*) ?
2. Apakah primer *degenerate* yang telah dirancang mampu mengamplifikasi *housekeeping gene 18s Ribosomal RNA* (18S rRNA), *Beta Actin* (ACTB), *Elongation Factor 1-Alpha* (EF1A) dan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH) pada DNA genom ikan sidat (*Anguilla bicolor*) ?

3. Apakah analisis sikuen *housekeeping gene 18s Ribosomal RNA (18S rRNA)*, *Beta Actin (ACTB)*, *Elongation Factor 1-Alpha (EF1A)* dan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)* hasil sikuensing menunjukkan hasil yang homolog dengan gen target ?

1.4. Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian yang akan dilakukan yaitu :

1. Primer *degenerate* dirancang dari beberapa sikuen *housekeeping gene* ikan yang sekerabat dengan *Anguilla bicolor* pada class Actinopterygii
2. Kandidat *housekeeping gene* yang digunakan untuk mendesain primer *degenerate* adalah *18s Ribosomal RNA (18S rRNA)*, *Beta Actin (ACTB)*, *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)* dan *Elongation Factor 1-Alpha (EF1A)* pada *Anguilla bicolor*.

1.5. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mensikuensing hasil isolasi *housekeeping gene 18s ribosomal RNA (18S rRNA)*, *Beta Actin (ACTB)*, *Elongation Factor 1-Alpha (EF1A)* dan *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)* dari ikan sidat (*Anguilla bicolor*).

1.6. Manfaat Penelitian

Manfaat dari yang diharapkan dari hasil penelitian ini, yaitu :

1. Mendapatkan sikuen spesifik DNA genom ikan sidat (*Anguilla bicolor*) sehingga dapat memperkaya *database* sikuen yang telah ada sebelumnya.
2. Sikuen spesifik yang diperoleh dapat digunakan sebagai sumber untuk merancang primer spesifik pada penelitian selanjutnya.
3. Sikuen spesifik yang diperoleh juga diharapkan dapat menjadi sumber genetik untuk program pemuliaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*).

1.7. Struktur Organisasi

Secara garis besar isi dari skripsi ini meliputi lima bagian, diantaranya yaitu Bab I Pendahuluan, Bab II Kajian Pustaka, Bab III Metode Penelitian, Bab IV Temuan

dan Pembahasan serta Bab V Simpulan, Implikasi Dan Rekomendasi. Adapun uraian dari setiap babnya sebagai berikut :

1. Bab I

Pada bagian Bab I dijelaskan pendahuluan yang berisi latar belakang penelitian, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, batasan masalah, tujuan dari penelitian serta manfaat yang didapat dari penelitian yang dilakukan.

2. Bab II

Pada bagian Bab II dipaparkan mengenai kajian pustaka yang relevan dengan penelitian yang dilakukan. Kajian pustaka tersebut meliputi ikan sidat (*Anguilla bicolor*), *housekeeping gene 18s Ribosomal RNA (18S rRNA)*, *Beta Actin(ACTB)*, *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)* dan *Elongation Factor 1-Alpha (EF1A)* yang ada pada *Anguilla bicolor*, primer *degenerate*, perancangan primer, isolasi DNA, *nested PCR* sikuensing dan analisis dendrogram

3. Bab III

Pada bagian Bab III diuraikan mengenai jenis penelitian yang digunakan pada penelitian, waktu dan tempat penelitian, prosedur penelitian yang meliputi tahap persiapan, tahap penelitian dan tahap analisa data.

4. Bab IV

Pada Bab IV berisi tentang temuan serta pembahasan mengenai penelitian yang dilakukan. Pembahasan tersebut tentunya didukung dengan teori-teori dari penelitian relevan yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya.

5. Bab V

Pada Bab V dijelaskan mengenai kesimpulan, implikasi dan rekomendasi guna kepentingan pada penelitian selanjutnya, sehingga temuan yang didapat dari penelitian ini dapat lebih dikembangkan pada penelitian berikutnya.