

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ikan gurame yang memiliki nama ilmiah *Osphronemusgouramy* merupakan ikan air tawar yang termasuk ke dalam anggota *Infraclassis Teleostei*. Menurut Yahyadanusa (2015) salah satu jenisikan yang berasal dari perairan Indonesia inimerupakanikan kandengan nilai ekonomi penting yang sudah dibudidayakan secara luas sebagai lahan bisnis. Ikan gurame memiliki harga jual yang tinggi di pasar dan dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya, ikan ini juga banyak diminati oleh masyarakat karena rasanya yanglezat dan gurih, sehingga dengan memburdaya ikan gurame relatif menguntungkan. Meski telah banyak dibudidayakan, produksi ikan gurame terbilang masih kurang, hal ini dikarenakan laju pertumbuhan gurame lebih lambat jika dibandingkan dengan ikan-ikan air tawar lainnya. Dibutuhkan waktu lama sampai gurame mencapai bobot minimal konsumsi sebesar 500 gram, sementara semakin besar usia ikan maka laju pertumbuhannya pun akan semakin lambat. Ketersediaan ikan gurame yang tidak sebanding dengan permintaan konsumen yang tinggi menjadi salah satu penyebab harga ikan gurame terbilang mahal. Selain itu dalam pembudidayaan ikan gurame, banyak faktor-faktor penghambat pertumbuhan yang dapat menyebabkan kematian atau menurunkan produktivitasikan, kendala tersebut biasanya disebabkan oleh masalah lingkungan dan serangan penyakit terhadap ikan gurame.

Pada ikan dan semua organisme lainnya terdapat gen *housekeeping* untuk mengatur keberlangsungan hidupnya, baik yang mengatur fisiologi maupun morfologi. Menurut Chang *et al.* (2011) gen *housekeeping* adalah sekumpulan gen yang diekspresikan secara terus menerus dan diperlukan untuk menjaga fungsi-fungsi dasar sel. Gen *housekeeping* senantiasa bekerja sepanjang waktu, contohnya gen-gen yang berhubungan dengan metabolisme metabolit primer, kontraksi otot jantung, pemompaan darah dan lain sebagainya. Menurut Eisenberg

Sylviani Aulia Rahma, 2018

*IDENTIFIKASI GEN HOUSEKEEPING PADA DNA GENOM IKAN GURAME (*Osphronemusgouramy*)*

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

&Levanon (2013) gen *housekeeping*akan diekspresikan dalam semua sel dari suatu organisme baik dalam kondisi normal maupun eksperimental, terlepas dari jenis jaringan, tahap perkembangan, siklus sel, atau sinyal eksternal. Gen *housekeeping*digunakanuntuktujuaneksperimental, ekspresidarisatuatauberapa gen *housekeeping*digunakansebagaikontrol internaluntukanalisisingkatekspresi gen lainnya,selainitu gen *housekeeping*adalah instrumental untukkalibrasi di banyak aplikasi bioteknologi dan penelitian genom.

Gen *housekeeping* sebagai kontrol internal yang digunakan dalam analisis ekspresi gen diperlukan dalam jumlah yang banyak, hal ini bertujuan untuk mengetahui gen *housekeeping* mana yang tepat digunakan. Menurut Ohl *et al.* (2005) pemilihan kontrol internal yang tepat merupakan hal yang sangat penting. Penggunaan gen *housekeeping* yang tidak tepat sebagai kontrol internal terbukti mempengaruhi hasil analisis ekspresi gen dengan menggunakan *Real Time PCR* (RT-PCR). Kriteria dasar kontrol internal yaitu gen tidak berubah secara signifikan dalam ekspresi saat dikenai kondisi yang digunakan dalam penelitian. Karena gen *housekeeping* terlibat dalam proses biologis yang mendasar, sehingga gen-gen tersebut diasumsikan secara konstitutif diekspresikan dan dipengaruhi secara minimal ekspresinya oleh berbagai variabel eksperimental (Yan *et al.* 2012). Menurut Zheng dan Sun (2011) menyatakan bahwa kemungkinan ikan dari jenis yang berbeda memiliki pola ekspresi gen yang berbeda pula sehingga diperlukan kontrol internal yang berbeda. Hal tersebut ditunjukkan dengan beberapa penelitian tentang gen *housekeeping* pada ikan seperti berikut, gen *Mediator of RNA Polymerase II Transcription Subunit 8* (MPRT) dan β -*Actin* (ACTB) menurut Zhang *et al.* (2014) merupakan kontrol internal yang paling stabil diekspresikan pada ikan *rock bream* (*Oplegnathus fasciatus*), sedangkan pada ikan *three-spined stickleback* (*Gasterosteus aculeatus*) menurut Hibbeler *et al.* (2008) yaitu gen *L13A Ribosomal Binding Protein* (RPL13A) dan *Ubiquitin* (UBC) sebagai kontrol internal dalam analisis ekspresi gen.

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa beberapa gen *housekeeping* bervariasi pula dengan kondisi eksperimental, tahap perkembangan, dan jenis jaringan. Hal tersebut ditunjukkan pada beberapa penelitian berikut, menurut McCurley & Callard (2008) dalam

penelitiannya terhadap *zebrafish* (*Danio rerio*) menyatakan bahwa gen *Ribosomal 18S RNA* (18S rRNA), β -2-*Microglobulin* (B2M), dan *Elongation Factor-1- α* (EF1A) sebagai gen yang paling stabil diekspresikan selama tahap perkembangan, sementara α -*Tubulin* (TUBA), ACTB, dan EF1A adalah gen yang paling stabil setelah diberi perlakuan kimiawi. Penelitian pada ikan *fathead minnow* (*Pimephales promelas*) oleh Filby & Tyler (2007) merekomendasikan 18S rRNA, RPL8, *Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase 1* (HPRT1), dan *TATA-Box Binding Protein* (TBP) sebagai gen kontrol internal yang tepat digunakan dalam kondisi perlakuan estrogen. Penelitian lainnya yaitu pada ikan *flounder* Jepang (*Paralichthys olivaceus*) menurut Zheng & Sun (2011) menyatakan bahwa gen yang stabil diekspresikan pada jaringan limpa, jantung, dan insang ikan di bawah kondisi perlakuan infeksi oleh bakteri yaitu TUBA, sedangkan pada jaringan hati dan usus yaitu gen *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH).

Gen *housekeeping* ini belum diketahui secara pasti pada ikan gurame (*Osteogaster mossambicus*), karena sampai saat ini *database* sikuennya gen *housekeeping* dari ikan gurame masih sangat minim. Adapun *database* gen *housekeeping* ikan gurame yang dapat ditemukan pada *GenBank* hanya ada tiga yaitu ACTB, GAPDH dan EF1A (Kusumawaty *et al.* 2016), sedangkan dibutuhkan banyak pustaka gen *housekeeping* pada setiap organisme dalam analisis ekspresi gen lainnya. Menurut Wang *et al.* (2017) untuk mendapatkan kontrol internal yang sesuai, diperlukan koleksi-koleksi gen *housekeeping* dalam jumlah yang banyak.

Para peneliti umumnya menggunakan pasangan primer *degenerate* untuk identifikasi suatu gen yang tidak diketahui sikuennya atau sedikit informasi terkait suatu gen. Primer *degenerate* dapat digunakan untuk mengamplifikasi DNA dimana hanya urutan protein gen yang diketahui atau dimana tujuannya adalah untuk mengisolasi gen serupa dari berbagai *species*. Pasangan primer *degenerated* dirancang menggunakan sikuennya *species* sekerabat yang memiliki kemiripan informasi genetik dalam mendukung hasil temuan organisme target. Pasangan primer *degenerate* sering melibatkan amplifikasi fragmen DNA ortolog dalam kelompok taksonomi yang sama (Linhart & Shamir, 2005). Sebagaimana yang telah diketahui bahwa dalam analisis ekspresi gen diperlukan kontrol internal seperti gen *housekeeping*, sehingga sudah dilakukan penelitian isolasi gen-gen *housekeeping* ikan gurame sebagai pustaka kandidat kontrol internal terkait analisis ekspresi gen. Primer *degenerate* dirancang dari sikuennya yang dilaporkan terkait dengan gen *housekeeping* pada *species* ikan lain yang diketahui

berkerabatdekatdenganikangurame, dan untuk mendapatkan semua pasangan ortologinya dalam *Infraclassis* Teleoste. Adapun kandidat gen *housekeeping* yang dipilih merupakan gen yang umumdigunakansebagai gen referensipadabanyak*species*,dansaatiniterdiadalam*database*.

B. RumusanMasalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah penelitian adalah “Apakah pasangan-pasangan primer *degenerate* gen *housekeeping* yang dirancang dari sikuen beberapa *species* ikan *Infraclassis* Teleosteidapat mengamplifikasi tujuh gen *housekeeping* 18S rRNA, ODC1, TBP, HPRT1, UBC, G6PD, dan TAF2 pada DNA genom ikan gurame?”

C. PertanyaanPenelitian

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

1. Bagaimana kriteria primer PCR yang baik untuk mengamplifikasi gen *housekeeping* 18S rRNA, ODC1, TBP, HPRT1, UBC, G6PD, dan TAF2 pada DNA genom ikan gurame dengan primer *degenerate* yang telah dirancang sebelumnya?
2. Apakah isolat DNA ikan gurame yang dihasilkan sudah memenuhi kriteria isolat DNA yang baik sebagai salah satu parameter keberhasilan dalam amplifikasi PCR?
3. Apakah amplifikasi DNA genom ikan gurame dengan primer *degenerate* gen *housekeeping* 18S rRNA, ODC1, TBP, HPRT1, UBC, G6PD dan TAF2 yang dirancang sebelumnya menunjukkan hasil yang positif?
4. Bagaimana identifikasi gen *housekeeping* pada DNA genom ikan gurame yang ditunjukkan dengan uji homologi BLAST dan konstruksi pohon filogenetik dengan organisme dari *Infraclassis* Teleoste?
5. Apakah primer spesifik yang dirancang berdasarkan sikuen gen *housekeeping* hasil *sequencing* sudah spesifik gen target pada DNA ikan gurame?

D. Batasan Masalah

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

1. Primer *degeneratedirancangberdasarkankonsensussikuen gen housekeeping* dirancang berdasarkan konsensus sikuen gen *housekeeping* dari beberapa ikan sekerabat ikan gurame *Infraclassis Teleostei* yang terdapat pada *database* sikuen *GenBank*.
2. Identifikasi gen yang dilakukan merupakan analisis *multiple alignment*, *BLAST sequence*, hingga proses mengetahui kelompok genetik ikan gurame dengan kelompok ikan sekerabatnya melalui konstruksi pohon filogenetik.
3. Primer spesifik yang dirancang merupakan hasil *sequencing* isolasi DNA genom dari gen *housekeeping*.

E. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan pasangan primer *degenerate* gen *housekeeping* 18S rRNA, ODC1, TBP, HPRT1, UBC, G6PD, dan TAF2 yang dapat mengamplifikasi gen *housekeeping* pada ikan gurame, berdasarkan konsensus sikuen gen dari beberapa ikan sekerabat ikan gurame pada *Infraclassis Teleostei*.
2. Mengidentifikasi gen *housekeeping* untuk mengetahui kelompok genetik ikan gurame dengan kelompok ikan sekerabatnya melalui konstruksi pohon filogenetik.
3. Mendapatkan pasangan primer spesifik gen *housekeeping* dari DNA genom ikan gurame yang dirancang dari sikuen gen melalui hasil *sequencing*.

F. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan memiliki beberapa manfaat sebagai berikut:

1. Koleksi gen *housekeeping* sebagai kontrol internal pada analisis ekspresi gen ikan gurame.
2. Sebagai studi referensi gen dalam analisis ekspresi gen pada penelitian-penelitian tentang ikan gurame
3. Penemuan sikuen partial dari gen *housekeeping* dapat memberikan kontribusi bagi peneliti selanjutnya, sebagai pustaka awal untuk mengembangkan penelitian lanjut.

G. Struktur Organisasi Skripsi

Secara umum isi dari skripsi ini terdiri dari lima bagian yaitu pendahuluan, kajian pustaka, metode penelitian, temuan dan pembahasan, terakhir yaitu simpulan, implikasi dan rekomendasi. Adapun pada bagian I yaitu bab pendahuluan berisi latar belakang penelitian secara umum, rumusan masalah, pertanyaan penelitian secara terperinci, batasan masalah, tujuan dari penelitian sampai manfaat dari penelitian yang dilakukan. Bab II berisi tentang kajian pustaka sebagai literatur tambahan yang dikutip dan diambil dari berbagai sumber yang berkaitan dengan penelitian ini. Pada bab III berisi tentang pemaparan metode penelitian yang dilakukan, diawali dengan tahap persiapan, tahap prapenelitian, tahap pelaksanaan penelitian, sampai analisis data. Pada Bab IV berisi tentang temuan yang didapat pada penelitian yang telah dilakukan. Temuan-temuan dianalisis dan dibahas secara detail berdasarkan teori yang ada dan hasil pada penelitian-penelitian sebelumnya. Terakhir, pada bab V didapatkan kesimpulan dari penelitian ini, selain itu bab ini berisi implikasi atau perluasan untuk penelitian selanjutnya, bab ini juga berisi rekomendasi yang dituliskan sebagai upaya untuk perbaikan pada penelitian-penelitian selanjutnya.