BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Harimau sumatra (*Panthera tigris sumatrae*) termasuk satwa yang berstatus *critically endangered species* berdasarkan IUCN Red List (*The International Union for Conservation of Nature Red List of Threatened Specie)* (IUCN, 2008). Degradasi habitat serta perburuan ilegal menjadi ancaman utama bagi populasi harimau sumatra (WWF Indonesia, 2021). *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna* (CITES) mengkategorikan harimau sumatra dalam kategori Appendix I yang berarti jenis ini dilarang untuk diperdagangkan dalam bentuk apapun (Soehartono *et al*., 2007). Namun, sampai saat ini masih banyak laporan tentang kasus perdagangan bagian tubuh harimau sumatra (Alacs *et al.*, 2010). Barang bukti yang ditemukan dalam kasus perdagangan dan perburuan ilegal harimau sumatra seringkali hanya berupa potongan kuku, daging, kulit, rambut, serta materi biologis lainnya (Kamarcharya *et al*., 2018). Sehingga perlu dilakukan identifikasi yang komprehensif untuk mengetahui profil sampel atau barang bukti harimau sumatra yang ditemukan.

Upaya identifikasi untuk tujuan konservasi harimau sumatra membutuhkan banyak informasi, salah satunya informasi rasio jenis kelamin populasi harimau sumatra (McEwing *et al*., 2011). Rasio jenis kelamin penting untuk mengetahui informasi perkiraan jumlah jantan dan betina yang tertangkap dalam perburuan ilegal. Selain itu, informasi tentang rasio jenis kelamin juga penting dalam studi ekologi (Clutton, 1985). Salah satu teknik yang digunakan

untuk identifikasi jenis kelamin secara molekuler adalah amplifikasi gen *amelogenin* (Sullivan *et al.,* 1993; Fernando dan Melnick, 2001).

Gen *amelogenin* merupakan gen pengkode protein amelogenin yang berfungsi sebagai matriks utama penyusun enamel gigi (Shimokawa dan Sasaki, 1995). Interpretasi hasil amplifikasi gen *amelogenin* ditandai dengan dua pita DNA pada individu jantan dan satu pita pada individu betina dari hasil visualisasi (Nakahori *et al.,* 1991). Penelitian identifikasi jenis kelamin mamalia menggunakan gen *amelogenin* telah banyak dilaporkan. Diantaranya, Pilgrim *et al.* (2005) telah mendesain primer untuk amplifikasi gen *amelogenin* pada beberapa spesies dalam famili Felidae (*Lynx*, kucing hutan, kucing domestik dan puma).

Pandhee *et al.* (2016) melaporkan bahwa primer yang dirancang oleh Pilgrim *et al.* (2005) berhasil mengamplifikasi gen *amelogenin* pada lima spesies dari famili Felidae yaitu *Felis catus* (Kucing domestik), *Felis chaus* (kucing hutan), *Pardofelis temminckii* (kucing emas Asia), *Panthera tigris* (harimau) dan *Prionailurus viverrinus* (kucing liar/ kucing bakau). Kamarcharya *et al.* (2018) juga melaporkan bahwa primer tersebut dapat mengamplifikasi gen *amleogenin* pada harimau benggala (*Panthera tigirs tigris*). Selain itu, primer yang dirancang oleh Pilgrim *et al.* (2005) juga berhasil mengamplifikasi wilayah AMELX dan AMELY pada harimau sumatra (*Panthera tigris sumatrae*) (Asrori *et al,.* 2022). Berdasarkan laporan tersebut, maka dapat diketahui bahwa primer yang dirancang oleh Pilgrim *et al.* (2005) kemungkinan merupakan primer universal yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen *amelogenin* pada famili Felidae.

Asrori *et al.* (2022) melaporkan bahwa gen *amelogenin* dengan target amplifikasi berdasarkan primer Pilgrim *et al*. (2005) dapat dijadikan penanda untuk identifikasi jenis kelamin harimau sumatra. Namun pita hasil amplifikasi gen *amelogenin* harimau sumatra pada kromosom X dan kromosom Y pada sampel jantan sulit dibedakan karena perbedaan panjang DNA yang dihasilkan kira-kira hanya 20 basa (214 bp dan 194 bp) (Pilgrim *et al*., 2005). Hal ini dikarenakan perbedaan berat molekul AMELX dan AMELY pada harimau sumatra sangat kecil, sehingga molekul AMELX dan AMELY bermigrasi secara bersamaan saat proses visualisasi, dan kemudian mempengaruhi panjang DNA yang dihasilkan (Pilgrim *et al*., 2005; Pfeiffer dan Brenig, 2005). Kesulitan membedakan pita tersebut berdampak terjadinya kesalahan saat mendeteksi sampel individu jantan dan betina. Mengetahui perbedaan dari AMELX dan AMELY dapat dilakukan dengan analisis pengurutan basa nukleotida (*sequencing*) AMELX dan AMELY, sehingga diketahui urutan basa nukleotida spesifik dari AMELX dan AMELY (Farahvash *et al*., 2016).

Sekuen pada intron gen *amelogenin* menjadi pembeda antara *amelogenin* pada kromosom X dan kromosom Y. Pfeiffer dan Brenig (2005) melaporkan pada rusa merah (*Cervus elaphus*) dan kambing pada AMELY mengalami delesi 55 bp dibandingkan dengan AMELX. Fontanesi *et al*. (2008) juga melaporkan analisis sekuen pada daerah intron 3 gen *amelogenin* babi (*Sus scrofa*) menunjukkan adanya delesi 9 -10 bp pada gen AMELY dibandingkan dengan sekuens AMELX. Selain itu, Pilgrim *et al*. (2005) juga melaporkan bahwa terdapat delesi 20 bp di wilayah intron

AMELY jika dibandingkan dengan salinan kromosom X (AMELX) pada kucing domestik (*Felis catus*).

Berdasarkan kajian perbedaan antara AMELX dan AMELY yang telah dilaporkan, diketahui bahwa sekuen intron gen *amelogenin* Y pada setiap spesies hewan kemungkinan berbeda. Analisis mengenai sekuen gen *amelogenin* dapat menjadi salah satu alternatif untuk meningkatkan kualitas dalam identifikasi jenis kelamin secara lebih tepat dan akurat (Santos *et al.*, 1998). Analisis sekuen gen *amelogenin* harimau sumatra penting dilakukan untuk mengetahui perbedaan sekuen AMELX dan AMELY harimau sumatra, dan mengetahui perbedaan sekuen gen *amelogenin* harimau sumatra dengan spesies lainnya. Desain primer berdasarkan AMELY dan menargetkan amplifikasi pada sekuen AMELY harimau sumatra dapat menjadi alternatif untuk meminimalisir kelasalahan identifikasi karena perbedaan AMELX dan AMELY pada harimau sumatra yang terlalu kecil. Untuk itu dilakukanlah penelitian ini untuk menganalisis sekuen pada intron gen *amelogenin* sampel harimau sumatra serta merancang primer berdasarkan sekuen AMELY pada intron gen *amelogenin* harimau sumatra.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana urutan basa nukleotida pada intron gen *amelogenin* harimau sumatra?

2. Apakah dapat dilakukan desain primer untuk identifikasi jenis kelamin harimau sumatra yang dirancang berdasarkan urutan basa nukleotida pada intron gen *amelogenin*?
3. Bagaimana perbedaan primer hasil desain dibandingkan dengan primer yang pernah dilaporkan sebelumnya?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menganalisis urutan basa nukleotida pada intron gen *amelogenin* harimau sumatra.
2. Mendesain primer untuk identifikasi jenis kelamin harimau sumatra berdasarkan urutan basa nukleotida pada intron gen *amelogenin.*
3. Membandingkan primer hasil desain dengan primer yang pernah dilaporkan sebelumnya.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat ilmiah : penelitian ini yaitu memberikan informasi yang akurat sebagai acuan identifikasi jenis kelamin pada harimau sumatra (*Panthera tigris sumatrae*).
2. Manfaat aplikasi : Hasil dari penelitian ini dapat mempermudah dan memperpendek proses kerja untuk identifikasi sampel harimau sumatra karena tidak diharuskan melakukan proses sekuensing.

UNIVERSITAS ANDALAS
UNTUK
KEDJAJAAN
BANGSA