

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Amphibia merupakan vertebrata yang tersebar di seluruh dunia kecuali daerah kutub dengan jumlah spesies 7521 spesies. Amphibia merupakan kelompok hewan dengan pertumbuhan jumlah spesies yang tinggi karena disebabkan oleh banyaknya deskripsi jenis baru. Tercatat sejak tahun 1985 total jumlah jenis meningkat sebesar 60 %. Dalam 5 tahun terakhir telah dideskripsikan sebanyak 734 spesies baru. (Mistar, 2008; Frost, 2016; Amphibiaweb, 2016).

Di Indonesia terdapat 365 spesies Amphibia (IUCNRedlist, 2017), 55% dari jumlah tersebut merupakan spesies endemik yang hanya ditemukan di pulau-pulau di wilayah Indonesia (Amphibiaweb, 2016). Hal tersebut disebabkan oleh kepulauan Indonesia mempunyai asal usul geologi yang kompleks dan berada di antara benua Asia dan Australia serta antara Samudra Pasifik dan Hindia (Iskandar dan Erdelen, 2006; Kementerian Sekretariat Negara Republik Indonesia, 2010). Selain kaya akan spesies endemik, di Indonesia juga banyak ditemukan spesies kompleks (Inger, Stuart, Iskandar, 2009; Riyanto, Mumpuni, McGuire, 2011; Brown dan Siler, 2013)

Hylarana chalconata merupakan salah satu spesies kompleks yang di temukan di Indonesia, karena *H. chalconata* merupakan spesies dengan penyebaran yang luas di Asia Tenggara. Di Indonesia *H.chalconata* dapat ditemukan di beberapa pulau besar, antara lain Sumatra, Jawa, Bali, Kalimantan, dan Sulawesi. *H. chalconata* telah direvisi menjadi beberapa spesies dan di Pulau Sumatra dideskripsikan menjadi *Hylarana rufipes* dan *Hylarana parvaccola* (Inger, Stuart dan Iskandar, 2009).

Hylarana parvaccola merupakan *H. chalconata* berukuran kecil, berkisar antara 32-41 mm, ukuran timpanum sekitar dua pertiga diameter mata pada betina

dan lebih besar pada jantan. Katak ini juga memiliki jari panjang, dengan panjang jari ketiga kurang dari jarak belakang mata ke lubang hidung. *Hylarana rufipes* merupakan *H. chalconota* berukuran besar, antara 45-61 mm, ukuran timpanum sama dengan diameter mata pada betina dan sedikit lebih besar pada jantan dengan bagian dalam sedikit tertekan. Katak ini memiliki jari yang panjang dengan panjang jari ketiga sama dengan jarak dari belakang mata ke lubang hidung. (Inger, Stuart dan Iskandar, 2009).

Hylarana rufipes dan *H. parvaccola* merupakan spesies yang sulit dibedakan secara morfologi (kriptik) dan dapat ditemukan pada habitat yang sama (simpatrik) serta sulit untuk diidentifikasi secara morfologi dan membutuhkan banyak waktu (Inger, Stuart dan Iskandar, 2009; Kurniati, 2012). Oleh karena itu, perlu digunakan metoda identifikasi spesies yang relatif mudah dan lebih cepat. Salah satu metode identifikasi yang cepat dengan tingkat keakuratan yang tinggi adalah dengan menggunakan metode molekular.

Identifikasi secara molekular dapat dilakukan dengan memanfaatkan hasil sekuens potongan gen 16S rRNA dengan cara mengkonstruksi pohon filogenetik (Matsui *et al.*, 2006; Djong, Iskandar dan Gusman, 2010; Sutrisno, Zein dan Sulandari, 2013; Biju *et al.*, 2014; Matsui, Nishikawa, Eto, 2014; Matsui, Hamidy, Kuraishi, 2014; Oliver *et al.*, 2015). Sekuens gen 16S rRNA digunakan karena sekuens gen 16S rRNA merupakan marker molekular standar untuk identifikasi amfibi (Vences *et al.*, 2005). Akan tetapi, identifikasi dengan menggunakan sekuensing DNA membutuhkan lebih banyak waktu dan dana (Igawa *et al.*, 2015).

Selain menggunakan pengujian dengan DNA hasil sekuensing gen, identifikasi spesies secara molekular dapat dilakukan menggunakan penanda PCR-RFLP atau disebut juga *Cleaved Amplified Polymorphism Sequence (CAPS)* (Palo dan Merilä, 2003; Jamsari, 2007; Rasmussen, 2012; Igawa *et al.*, 2015).

Kelebihan penanda PCR-RFLP dibandingkan dengan pengujian sekuensing gen adalah relatif lebih murah dan tidak membutuhkan waktu yang panjang karena penanda PCR-RFLP hanya sampai pada tahap PCR (Rasmussen, 2012).

Penelitian-penelitian mengenai identifikasi menggunakan metode PCR-RFLP telah dilakukan oleh beberapa peneliti antara lain: Palo dan Merilä (2003) mengenai identifikasi dua jenis katak genus *Hylarana* dengan metoda PCR-RFLP berdasarkan fragmen gen Cytochrome *b*; Patrelle *et. al.* (2011) mengenai analisis terhadap afiliasi katak sungai Eropa; Cunha *et al.* (2013) mengenai identifikasi spesies katak genus *Rhinella*; serta Igawa *et. al.*, (2015) mengenai validasi metode PCR-RFLP untuk mengidentifikasi tiga jenis Katak Coklat Jepang. Banyaknya spesies kompleks, kriptik, dan simpatrik serta perlunya identifikasi secara cepat dan tepat, maka dilakukanlah penelitian mengenai identifikasi dan autentifikasi *Hylarana chalconota* kompleks.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan yang ingin dijawab pada penelitian ini antara lain

1. Enzim apa yang dapat digunakan untuk memotong gen 16S rRNA pada *H. parvaccola* dan *H. rufipes* secara spesifik?
2. Apakah metoda PCR-RFLP dapat digunakan untuk mengidentifikasi *H. parvaccola* dan *H. rufipes*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Enzim yang dapat di gunakan untuk memotong gen 16S rRNA pada *H. parvaccola* dan *H. rufipes* serta untuk mengetahui keefektifan metoda PCR-RFLP untuk mengidentifikasi *H. parvaccola* dan *H. rufipes*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khazanah ilmu pengetahuan dalam hal biologi molekular dan identifikasi spesies.

