

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tikus-tikusan atau Muridae merupakan mamalia yang termasuk dalam Ordo Rodentia atau hewan pengerat (Musser dan Newcomb, 1983). Tikus dapat hidup di beberapa habitat dan bersifat kosmopolit, menandakan bahwa tikus mempunyai kemampuan adaptasi tinggi (Suyanto, 2006). Keberadaan hewan ini seringkali dianggap masalah bagi manusia, karena perannya sebagai hama tanaman agrikultura dan sebagai sumber sekaligus penyebar penyakit (Banks dan Hughes, 2012; Himsworth dkk., 2013). Berbagai cara dilakukan untuk mengendalikan populasi tikus dalam suatu ekosistem. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengendalikan populasi tikus adalah menggunakan agen pengendali biologi.

Garangan jawa (*Herpestes javanicus*) termasuk dalam kelompok *mongoose* memiliki peran ekologi sebagai mesopredator. Mesopredator memiliki peran penting dalam mengendalikan ekosistem. Kondisi populasi predator puncak yang menurun drastis di seluruh dunia, menyebabkan mesopredator berperan sebagai pengendali utama dalam suatu ekosistem (Prugh dkk., 2009). Selain itu, garangan jawa juga memiliki peran sebagai agen pengendali biologi. Sebagian besar garangan (*mongoose*) termasuk garangan jawa banyak digunakan sebagai agen pengendali biologi untuk tikus (Messing dan Wright, 2006). Bahkan garangan sengaja diintroduksi ke suatu daerah untuk mengendalikan tikus, seperti yang terjadi di Pulau Fijian (Gorman, 1975), Pulau Amami-Oshima (Watari dkk., 2008),

dan Puerto Rico (Pimentel, 1955). Di Indonesia garangan jawa juga dikenal sebagai penyeimbang ekosistem terutama sebagai predator terhadap mamalia kecil (terutama tikus) (Gunawan dkk., 2016; Maryanto dkk., 2012). Walaupun demikian, di Indonesia belum ditemukan adanya penelitian secara khusus yang mengkaji tentang peran dan pengaruh garangan jawa sebagai agen pengendali biologi.

Salah satu cara untuk mengetahui kemampuan garangan jawa sebagai agen pengendali biologi terhadap populasi tikus adalah dengan mengkonfirmasi keberadaan tikus sebagai salah satu mangsa yang dimakan oleh garangan jawa. Hal tersebut dapat dilakukan dengan mengidentifikasi mangsa pada pakan garangan jawa. Identifikasi mangsa merupakan salah satu bagian yang dilakukan dalam menganalisis pakan suatu pemangsa. Hal ini penting dilakukan untuk mengetahui jenis-jenis mangsa yang dimakan oleh pemangsa, sehingga dapat diketahui interaksi antara pemangsa dengan mangsanya. Pengetahuan tentang interaksi antara pemangsa dan mangsa sangat penting untuk memahami fungsi dan mengendalikan populasi suatu spesies dalam suatu ekosistem (Boitani dan Powell, 2012; Sheppard dan Harwood, 2005).

Di lapangan, identifikasi mangsa sering kali tidak dapat ditentukan atau dikuantifikasi secara langsung, sehingga pada umumnya identifikasi mangsa dilakukan secara tidak langsung. Identifikasi variasi mangsa secara tidak langsung dapat dilakukan dengan menggunakan feses sebagai sampel (Boitani dan Powell, 2012; Mahmood dan Adil, 2016). Feses digunakan sebagai sampel, karena feses

merupakan produk akhir dari pencernaan sehingga dapat mengindikasikan mangsa yang dimakan oleh suatu spesies. Selain itu, penggunaan feses sebagai sampel bersifat non-invasif dan mudah untuk diperoleh (Idaghdour dkk., 2003).

Pendekatan yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi mangsa yang dimakan oleh pemangsa dapat dilakukan secara konvensional, molekuler, maupun gabungan dari keduanya. Menurut Pompanon dkk. (2012), metode-metode analisis pakan konvensional (terutama mikroskopis) sangat bergantung pada bagian mangsa yang belum dicerna (bagian-bagian keras sisa makanan seperti tulang), pengetahuan ahli tentang morfologi mangsa, umumnya memakan waktu yang lama, dan seringkali tidak dapat memberikan identifikasi spesies yang dimangsa secara tepat. Pendekatan lainnya yang dapat digunakan untuk analisis pakan adalah pendekatan secara molekuler, salah satu caranya menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Pendekatan secara molekuler dapat memberikan hasil yang lebih efektif dan akurat, walaupun mangsa yang diidentifikasi secara visual tidak dapat dikenali akibat proses pencernaan, serta pendekatan ini dapat digunakan untuk analisis pakan yang sangat kompleks dan efisien untuk memproses sampel dalam skala besar. Sampel yang biasa digunakan adalah DNA yang diisolasi dari feses pemangsa (King dkk., 2008; Xiong dkk., 2017).

Identifikasi mangsa secara molekuler biasanya menggunakan *metabarcoding* DNA yang menggunakan teknologi *next generation sequence* (NGS) untuk proses identifikasi. Namun hal ini sulit untuk dilakukan karena membutuhkan biaya yang relatif mahal dan ketersediaan alat yang terbatas

(terutama di Indonesia). Identifikasi mangsa juga dapat dilakukan menggunakan primer spesifik yang menggunakan metode sekuensing Sanger untuk proses identifikasinya. Metode ini lebih murah, terutama apabila sampel yang dianalisis dalam jumlah yang tidak terlalu besar. Selain itu, metode ini dapat bersifat lebih umum sehingga lebih mudah dan ketersediaan alat yang lebih banyak dibandingkan NGS (Lacoste dkk., 2013; Lopes dkk., 2015; Metwally dkk., 2014). Oleh karena itu, peneliti melakukan desain primer spesifik untuk identifikasi jenis tikus pada pakan garangan jawa. Efisiensi dan spesifitas menjadi faktor penting yang perlu dipertimbangkan dalam penggunaan suatu primer, sehingga desain primer spesifik yang dihasilkan harus diuji. Uji terhadap primer spesifik pada penelitian ini dilakukan secara *in silico* dan *in vitro*.

B. Keaslian Penelitian

Penelitian yang berkaitan dengan garangan jawa (*Herpestes javanicus*) lebih banyak mengarah pada manajemen konservasi, terutama mengenai pengaruh garangan jawa sebagai spesies invasif pada suatu ekosistem (Beard dan Pitt, 2006; Hays dkk., 2007; Watari dan Takatsuki, 2008). Selain itu, jenis penelitian lainnya yang banyak dilakukan adalah mengenai kemampuan garangan jawa sebagai agen pengendali biologi (dalam rantai makanan) terutama terhadap keberadaan tikus yang dianggap merugikan dalam suatu ekosistem (Khoobdel dkk., 2016; Messing dan Wright, 2006). Penelitian lainnya yang juga mengarah pada manajemen konservasi yang belum banyak dilakukan terhadap garangan jawa adalah yang

berkaitan dengan identifikasi jenis mangsa pada pakan, identifikasi mangsa ini merupakan bagian dari penelitian terkait analisis pakan.

Sejauh ini analisis pakan yang sudah dilakukan terhadap garangan jawa menggunakan pendekatan secara konvensional dan molekuler dengan proses identifikasi pakan menggunakan NGS. Analisis pakan garangan jawa dengan pendekatan secara konvensional dilakukan oleh Mahmood dan Adil (2016), dalam penelitiannya analisis pakan yang dilakukan menggunakan feses sebagai sampel dan dilakukan pendekatan secara makroskopis dan mikroskopis, untuk mengetahui jenis mangsa yang dimakan oleh garangan jawa. Hasil dari penelitian tersebut menyatakan bahwa garangan jawa memiliki variasi mangsa yang sangat bervariasi dan secara keseluruhan garangan jawa lebih banyak memakan hewan (58%) dibandingkan tumbuhan (8%). Analisis pakan garangan jawa dengan pendekatan molekuler dengan proses identifikasi menggunakan NGS juga menggunakan feses sebagai sampel. Penelitian tersebut berfokus pada analisis jenis hewan yang dimangsa oleh Garangan Jawa. Hasil dari penelitian tersebut garangan jawa diketahui memangsa hewan yang termasuk dalam famili Muridae, Accipitridae, Lepidoptera, Diptera, Orthoptera, dan Hymenoptera (*unpublished data*).

Penelitian terkait identifikasi mangsa dilakukan untuk mengetahui jenis-jenis mangsa yang dimakan oleh pemangsa, sedangkan kajian mengenai analisis pakan tidak hanya mengetahui jenis mangsanya saja melainkan dilakukan analisis lanjutan sehingga diketahui nilai *frequency of occurrence* (FOC) dari masing-masing mangsa. Penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian terkait

sebelumnya, pada penelitian ini dilakukan identifikasi jenis mangsa pada pakan garangan jawa dilakukan secara molekuler menggunakan *single primer* yang berkerja secara spesifik dan dilanjutkan dengan proses sekuensing menggunakan metode Sanger. Primer spesifik yang digunakan pada penelitian ini didesain, kemudian diuji dengan tujuan untuk mengetahui spesifitas dan efisiensi secara *in silico* dan *in vitro*. Primer spesifik yang ideal memiliki spesifitas dan efisiensi yang baik (Henriques dkk., 2012; Shen dkk., 2010). Spesifitas diartikan sebagai ketepatan primer dalam mengenali DNA target, sedangkan efisiensi terkait dengan jumlah amplicon yang dihasilkan dari proses PCR (Dieffenbach dkk., 1993; Thornton dan Basu, 2011). Identifikasi jenis mangsa pada pakan garangan jawa pada penelitian ini dibatasi pada identifikasi jenis tikus.

Uji terhadap primer secara *in silico* dan *in vitro* perlu dilakukan terhadap primer yang didesain untuk menghindari kegagalan PCR akibat primer. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Henriques dkk. (2012) dan Shen dkk. (2010), dalam penelitiannya mereka melakukan desain primer spesifik untuk keperluan penelitiannya dan mereka melakukan uji *in silico* dan *in vitro* terhadap desain primer spesifik tersebut untuk mengetahui efisiensi dan spesifitas dari primer. Henriques dkk. (2012) melakukan desain primer untuk deteksi bakteri patogen (*Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, dan *Lactobacillus* spp); sedangkan Shen dkk. (2010) melakukan desain primer untuk multiplex PCR untuk mendeteksi 5 gen tikus (*b-aktin*, *B2m*, *Pgk1*, *GAPDH*, dan *Rp113a*).

C. Masalah Penelitian

1. Bagaimana spesifitas dan efisiensi primer spesifik secara *in silico* untuk identifikasi jenis tikus?
2. Bagaimana spesifitas dan efisiensi primer spesifik secara *in vitro* untuk identifikasi jenis tikus pada pakan garangan jawa?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui spesifitas dan efisiensi dari hasil desain primer spesifik secara *in silico* untuk identifikasi jenis tikus.
2. Mengetahui spesifitas dan efisiensi dari hasil desain primer spesifik secara *in vitro* untuk identifikasi jenis tikus pada pakan garangan jawa.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan awal untuk identifikasi jenis tikus secara molekuler yang menggunakan ampikon dengan ukuran relatif pendek, terutama apabila DNA yang dianalisis bersumber dari feses. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi dalam mendesain primer spesifik yang ditujukan untuk mendeteksi sampel DNA yang bersumber dari feses.