

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Anisakidae menginfeksi ikan adalah dalam bentuk larva, sehingga sulit membedakan antara genus yang satu dengan yang lainnya tanpa bantuan mikroskop dan analisis molekuler (Saputra, 2011). Penentuan spesies Anisakis secara morfologi cukup sulit dilakukan karena hanya dapat membedakan Anisakis tipe I dan tipe II berdasarkan ventrikulus dan mucron, sehingga digunakan identifikasi secara molekuler. Selama pemeriksaan, morfologi kutikula, kerongkongan, ventrikulus dan pori ekskretoris penting untuk diamati (Grabda and Okulewicz, 2005). Diferensiasi morfologis tidak seakurat analisis genetik. Teknik molekuler yang dikembangkan berdasarkan studi penanda genetik, khususnya gen COX-2, ITS1 dan ITS2 sangat baik untuk mengetahui perbedaan spesies dari genus Anisakis, Pseudoterranova, maupun Contracaecum (Zajac, Rózycki, and Karamon 2015). Selama ini metode identifikasi molekuler yang telah sering digunakan untuk menentukan spesies Anisakis adalah *Polymerase Chain Reaction* dan sekuensing DNA (Mattiucci *et al.*, 2011; Anshary *et al.*, 2014 ; Sari, 2018). Metode tersebut sering digunakan karena memiliki tingkat keakuratan yang tinggi dalam amplifikasi produk dan penentuan spesies, mikroorganisme yang dideteksi tidak harus hidup, selain itu proses PCR dan sekuensing DNA tidak memakan waktu yang lama (Sari, 2018).

Penelitian oleh Zuo *et al.*, (2017) tentang *Contracaecum* sp. dengan menggunakan metode PCR dan sekuensing gen mtDNA COX2 diamplifikasi menggunakan primer 211F (5' TTT TCT A TTA TAT AGA TTG RTT. YA T-3')

and 210R (5'CAC CAA CTC TTA AAA TTA TC-3') menghasilkan 519 bp nukleotida dan menunjukkan kemiripan sebesar 99-100% dengan *Contraecum osculatum* sp. D. Penelitian oleh Anshary (2011) tentang *Anisakis* sp. di Perairan Makassar dengan metode *Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphis* (PCR-RFLP). Ekstraksi dan amplifikasi DNA menggunakan Universal primer yang meliputi region ITS-1, 5.8S dan ITS-2, yaitu Primer F: (5'-GTA GGT GAA CCT GCG GAA GGA TCA TT -3') dan R: (5'-TTA GTT TCT TTT CCT CCG CT-3'). Hasil optimasi PCR menunjukkan bahwa *Anisakis* sp. dapat teramplifikasi menghasilkan 965 bp nukleotida dan menunjukkan kemiripan dengan *Anisakis typica* dari *Auxis thazard*.

Manusia dapat menderita Anisakiosis apabila mengkonsumsi ikan laut mentah atau setengah matang yang terinfeksi larva stadium III Anisakidae (Puspitarini, Subekti, dan Kismiyati 2018). Dampak yang ditimbulkan akibat infeksi larva stadium III (L3) dari famili Anisakidae pada umumnya meliputi gangguan pada saluran pencernaan dengan rasa nyeri di bagian perut, kadang-kadang disertai dengan muntah, reaksi alergi, urtikaria, anafilaksis, gastroenteritis sampai gejala asma (Pozio, 2013). Anisakiasis atau Anisakiosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh cacing parasit dari famili Anisakidae (Batara, 2008). Nematoda dari famili Anisakidae yang paling umum menyerang ikan laut adalah genus *Anisakis*, *Pseudoterranova*, *Contraecum*, dan *Phocascaris*. Larva stadium III (L3) dari cacing Anisakidae berada di *intermediate host* (krustasea) atau Teleostean, termakan oleh ikan yang lebih besar, kemudian menembus dinding

lambung untuk mencari tempat tinggal di rongga peritoneum, otot atau hati (Buchmann and Mehrdana, 2016).

Kakap merah tergolong dalam ikan karnivora, oleh karena itu berpotensi sebagai inang antara (*intermediet host*) dari Anisakidae jika memakan krustasea, ikan kecil atau cephalopoda yang terinfeksi cacing tersebut (Muttaqin dan Abdulgani, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Muttaqin dan Abdulgani (2013) di Tempat Pelelangan Ikan Brondong Lamongan menunjukkan angka prevalensi larva *Anisakis* sp. pada ikan kakap merah (*Lutjanus malabaricus*) mencapai 80 %. Penelitian yang dilakukan oleh Paremme, Salosso, dan Sunadji (2018), prevalensi ikan kakap merah yang terinfeksi *Anisakis* sp. yang diambil dari organ pencernaan di perairan Teluk Kupang adalah 36,67%. Prevalensi infeksi *Contracaecum osculatum* pada ikan bleam perak (*Blicca bjoerkna*) di Iran adalah 17,95% . Penelitian pada perairan di Indonesia tentang jenis spesies *Contracaecum osculatum* jarang dilaporkan.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa produk perikanan laut memiliki resiko besar dalam penyebaran penyakit pada manusia. Jawa Timur diketahui merupakan salah satu dari lima provinsi dengan pertumbuhan konsumsi ikan tertinggi dengan persentase sebesar 14,02 % (Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia 2016 ; Sari 2018). Lamongan merupakan kabupaten yang memberikan kontribusi untuk bidang perikanan sebesar 15 - 25% dari total produksi ikan di Jawa Timur (Apriliani dkk 2015 ; Azkia, Fitri, dan Triarso 2015). Produksi ikan laut di Kota Tuban mencapai 36.087,8 ton (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2013). Hal ini menjadi latar belakang penelitian tentang identifikasi

molekuler Anisakidae pada ikan kakap merah di Tempat Pelelangan Ikan Brondong Lamongan dan Tempat Pelelangan Ikan Tuban diperlukan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* pada target molekuler gen mtDNA COX2.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana gambaran morfologi dan identifikasi molekuler larva stadium III (L3) Anisakidae pada ikan kakap merah di TPI Brondong Lamongan dan TPI Tuban menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction*?

## **1.3 Tujuan**

Menganalisis gambaran morfologi dan mengidentifikasi secara molekuler larva stadium III (L3) Anisakidae yang menginfeksi ikan kakap merah di TPI Brondong Lamongan dan TPI Tuban dengan metode *Polymerase Chain Reaction*

## **1.4 Manfaat Hasil Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat teoritis penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi data tentang adanya infeksi dan jenis spesies *Contracecum*, *Anisakis*, dan *Pseudoterranova* pada ikan kakap merah yang diambil dari TPI Brondong Lamongan dan TPI Tuban. Data dari penelitian ini juga dapat dipergunakan sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut mengenai penyakit yang disebabkan oleh cacing Anisakidae di Indonesia.

### **1.4.2 Manfaat praktis penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi masyarakat agar dapat mengambil langkah efektif dalam pencegahan dan antisipasi terjadinya

penyakit zoonosis yang dapat timbul akibat mengkonsumsi ikan kakap merah yang terinfeksi cacing Anisakidae.

### 1.5 Landasan Teori

Kopulasi dan perletakan telur cacing dewasa *Anisakis* sp. berada di saluran pencernaan mamalia laut, khususnya paus. Telur keluar dari tubuh mamalia laut dan berada di perairan. Berbagai invertebrata dapat bertindak sebagai inang perantara. Telur berkembang dari larva stadium II menjadi larva stadium III di dalam tubuh inang antara. *Pseudoterranova decipiens* merupakan parasit yang berada pada anjing laut sebagai inang terakhir atau *definitive host* dan sejumlah invertebrata, termasuk krustasea, berfungsi sebagai pembawa transportasi untuk larva cacing. Ikan karnivor dapat terinfeksi larva stadium III *Pseudoterranova* apabila memakan pada invertebrata ini. *Contracaecum osculatum* menggunakan copepod dan ikan karnivor sebagai inang antara, sedangkan anjing laut sebagai inang terakhirnya (Haarder *et al.*, 2014).

*Anisakis typica* memicu reaksi inflamasi pada salmon (Haarder *et al.*, 2013). *Pseudoterranova decipiens* melakukan enkapsulasi di jaringan otot ikan cod dan *Contracaecum osculatum* dalam hati ikan cod dan diyakini bahwa hanya keberadaan larva dalam jaringan mempengaruhi fungsi normal organ-organ ini. Larva anisakidae dapat memengaruhi keadaan fisiologis, kesehatan, dan kelangsungan hidup inang. Infeksi larva stadium III pada otot ikan dapat mengurangi kinerja berenang yang dapat menyebabkan peningkatan kematian ikan (Buchman and Mehrdana, 2016). *Anisakis* dalam tubuh ikan dapat mengurangi kualitas dan nilai ekonomis ikan kakap merah (Muttaqin dan Abdulgani, 2013).

Identifikasi larva *Anisakis* sp. secara akurat sangat diperlukan untuk kepentingan diagnosa yang tepat sehingga dapat meningkatkan keamanan pangan. Identifikasi molekuler salah satunya dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Deoxyribonucleate* (DNA) yang berada di organel sel mitokondria disebut dengan DNA mitokondria (mtDNA). DNA mitokondria memiliki jumlah yang sangat banyak di dalam sel, pewarisan secara maternal, ukuran relatif kecil, mengandung sedikit intron dan tidak ada rekombinasi gen sehingga sering digunakan untuk studi filogenetik (Hidayat, 2011). Gen MT-COII atau disebut gen COX2, CO2, atau COXII adalah gen mtDNA yang mengkode sintesis protein *Cytochrome C Oxidase* subunit 2. Gen COX2 dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk mengetahui struktur genetika populasi spesies tertentu (Low *et al.*, 2014).

Prinsip kerja dari PCR yaitu menggunakan *reaction mixture* dengan memanfaatkan DNA polimerase yang bersifat termostabil dan fragmen DNA pendek disebut primer. DNA polimerase diisolasi dari *Thermus aquaticus* (Taq) yang tumbuh pada suhu lebih dari 110 °C. Enzim Taq dapat bertahan pada pemanasan berulang mencapai 94 °C. Primer yang digunakan terdiri dari 20 – 30 nukleotida. Siklus PCR terdiri dari tiga tahapan yaitu denaturasi (pemisahan untai ganda DNA) pada suhu 90 – 97 °C, *annealing* (pelekatan primer) pada suhu 50 – 60°C, dan polimerisasi (pemanjangan DNA) pada suhu 72 °C (Handoyo dan Ari, 2001). Produk PCR kemudian diidentifikasi berdasarkan berat molekulnya dengan menggunakan elektroforesis gel agarose (Sari, 2018).