

**REVIEW OPTIMALISASI *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) RNA PCP
DENGAN ENZIM RESTRIKSI *HindIII* PADA MIKROALGA LAUT
Nannochloropsis oculata YANG DI KULTUR SECARA *IN VIVO***

**ARTIKEL SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

VAVA ARDIKA HARNAWAN

NIM. 125080107111008



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**REVIEW OPTIMALISASI *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) RNA PCP
DENGAN ENZIM RESTRIKSI *HindIII* PADA MIKROALGA LAUT
Nannochloropsis oculata YANG DI KULTUR SECARA *IN VIVO***

**ARTIKEL SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

VAVA ARDIKA HARNAWAN

NIM. 125080107111008



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

ARTIKEL SKRIPSI

OPTIMALISASI *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) RNA PCP
DENGAN ENZIM RESTRIKSI *HindIII* PADA MIKROALGA LAUT
Nannochloropsis oculata YANG DI KULTUR SECARA *IN VIVO*

Oleh :

VAVA ARDIKA HARNAWAN

NIM. 125080107111008

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 4 Agustus 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat



Dr. Ir. Agung Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : 16 AUG 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to Dr. Ir. Muhammad Musa, MS.

Dr. Ir. Muhammad Musa, MS
NIP. 19570507 198602 1 002

Tanggal : 16 AUG 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi.

Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi
NIP. 19730404 200212 2 001

Tanggal : 16 AUG 2016

**REVIEW OPTIMALISASI *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) RNA PCP
DENGAN ENZIM RESTRIKSI *HindIII* PADA MIKROALGA LAUT
Nannochloropsis oculata YANG DI KULTUR SECARA *IN VIVO***

**REVIEW OPTIMAZITON *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR) RNA *PERIDININ
CHLOROPHYLL PROTEIN* (PCP) WITH RESTRICTION ENZYME *HindIII* ON
MARINE MICROALGAE *Nannochloropsis oculata*
WITH *IN VIVO* CULTURED SYSTEM**

Vaya Ardika Harnawan¹, Muhammad Musa², Uun Yanuhar³
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Nannochloropsis oculata memiliki pigmen *Peridinin chlorophyll protein* (PCP) yang berperan dalam proses fotosintesis dan berpotensi sebagai zat antioksidan. Untuk mendeteksi dan mengembangkan PCP secara cepat dan akurat dapat dilakukan secara molecular menggunakan teknik *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR). Optimalisasi perlu dilakukan untuk mengefisienkan penggunaan bahan dan waktu. Penelitian ini bertujuan untuk untuk mengetahui metode yang tepat dalam mengoptimalkan RT-PCR sehingga proses deteksi dan pengembangan PCP dapat dilakukan dengan cepat dan tepat. Selain itu, juga untuk mengetahui tingkat kecocokan situs pemotongan enzim restriksi *HindIII* terhadap target panjang basa PCP 310 bp pada *Nannochloropsis oculata*. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif dan eksploratif, optimalisasi RT-PCR dilakukan dengan menggunakan 3 primer, pengujian gradient suhu *annealing*, dan penggunaan enzim restriksi *HindIII*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu *annealing* yang optimal pada suhu 52 °C sehingga hasil visualisasi cDNA terlihat jelas. Sedangkan hasil pemotongan fragmen RNA PCP menggunakan enzim restriksi *HindIII* menghasilkan 3 fragmen yaitu 200 bp, 250 bp, dan 310 bp. Pada salah satu situs pemotongan menunjukkan terdapat kecocokan dengan menghasilkan situs pemotongan 310 bp, hal ini sesuai dengan target panjang basa PCP yaitu 310 bp pada *Nannochloropsis oculata*.

Kata kunci: *optimalisasi, RT-PCR, PCP, Nannochloropsis oculata*

ABSTRACT

Nannochloropsis oculata has *Peridinin pigment chlorophyll protein* (PCP) that play a role in the process of photosynthesis and potential as antioxidants. For detecting and develop the PCP quickly and accurately can be performed using the molecular technique of *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR). The optimization be needed to efficiency of time and material usage. This research aims to find out the appropriate methods in optimizing RT-PCR so that the detection process and the development of PCP can be done quickly and accurately. Moreover, it is also to determine the compatibility of *HindIII* restriction enzyme cutting site to the target 310 bp of PCP *N. oculata*. This research use descriptive and exploratory method, optimization of RT-PCR was performed using three primers, testing gradient annealing temperature, and use restriction enzymes *HindIII*. The results show that the optimal annealing temperature at 52 °C so the result of cDNA visualization can be seen clearly. While, the result of cutting RNA PCP fragments using restriction enzymes *HindIII* produce three fragments of 200 bp, 250 bp and 310 bp. One of the cutting site shows a match with produce cutting site 310 bp, that suitable with the target base pairs PCP 310 bp of *N. oculata*.

Keyword: *optimization, RT-PCR, PCP, Nannochloropsis oculata*

¹ Mahasiswa Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan

² Dosen Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nannochloropsis oculata merupakan salah satu mikroalga dari golongan alga hijau *chlorophyceae*. *N. oculata* merupakan salah satu jenis dari mikroalga yang telah banyak dibudidayakan dan digunakan sebagai pakan alami dalam usaha pembenihan ikan dan udang (Atmadja, 1996 dalam Burtin, 2003). *Nannochloropsis oculata* memiliki pigmen *Peridinin chlorophyll protein* (PCP) yang berperan dalam proses fotosintesis dan berpotensi sebagai zat antioksidan. PCP hanya ditemukan pada sebagian jenis mikroalga tertentu (Weis *et al.*, 2001). Selain itu peridinin juga terlibat pada proses transfer energy dan dapat berperan dalam mengurangi resiko kanker jika dikonsumsi dalam bentuk karotenoid (Hirschberg *et al.*, 1994).

Untuk mendeteksi PCP dapat dilakukan dengan cara modern menggunakan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR). RT-PCR merupakan salah satu varian dari teknik PCR. Dalam proses RT-PCR menggunakan enzim *reverse transcriptase* untuk mentranskripsikan RNA menjadi cDNA, selanjutnya dilakukan proses amplifikasi menggunakan PCR. Penggunaan enzim *reverse transcriptase* ini dilakukan karena dalam proses PCR enzim DNA polymerase hanya dapat bekerja pada cetakan DNA, maka dari itu RNA harus ditranskripsikan menjadi cDNA. Molekul cDNA selanjutnya dapat digunakan sebagai cetakan dalam amplifikasi yang meliputi denaturasi, *annealing*, dan elongasi pada proses PCR (Auerkari, *et al.*, 1998).

Terdapat beberapa komponen yang harus ada dalam proses RT-PCR antara lain cDNA cetakan yang akan digandakan, primer yaitu suatu potongan dari oligonukleotida pendek yang

digunakan untuk mengawali proses sintesis cDNA, deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) dan enzim DNA polymerase yaitu enzim yang mampu menggabungkan cDNA, enzim ini membutuhkan primer serta cDNA cetakan untuk membentuk untaian molekul cDNA yang panjang (Erllich, 1989).

Mengingat *Peridinin chlorophyll protein* (PCP) didalam *Nannochloropsis oculata* memiliki peran dan potensi yang besar, hal ini memicu permintaan yang semakin bertambah memungkinkan PCP ini untuk dapat dikembangkan lebih lanjut. Salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengembangkan PCP ini yaitu melalui teknik *Reverse Transcriptase polymerase chain reaction* (PCR). Dalam proses amplifikasi pada saat berlangsungnya RT-PCR sering dihasilkan visualisasi amplifikasi cDNA yang belum optimal sehingga pita cDNA tidak terlihat. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bagaimana mengoptimalkan metode RT-PCR RNA PCP pada *N. oculata* menggunakan enzim restriksi *HindIII* yang dikultur secara *in vivo*.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui metode yang tepat dalam mengoptimalkan RT-PCR RNA peridinin chlorophyll protein (PCP) pada *Nannochloropsis oculata*
2. Untuk mengetahui tingkat kecocokan situs pemotongan enzim restriksi *HindIII* terhadap target panjang basa *peridinin chlorophyll protein* (PCP) 310 bp pada *Nannochloropsis oculata* menggunakan teknik RT-PCR.

1.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo untuk melakukan kultur mikroalga *Nannochloropsis oculata* secara *in vivo*, dan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang untuk melakukan proses *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) pada bulan Maret-Mei 2016.

2. MATERI DAN METODE

2.1 Materi Penelitian

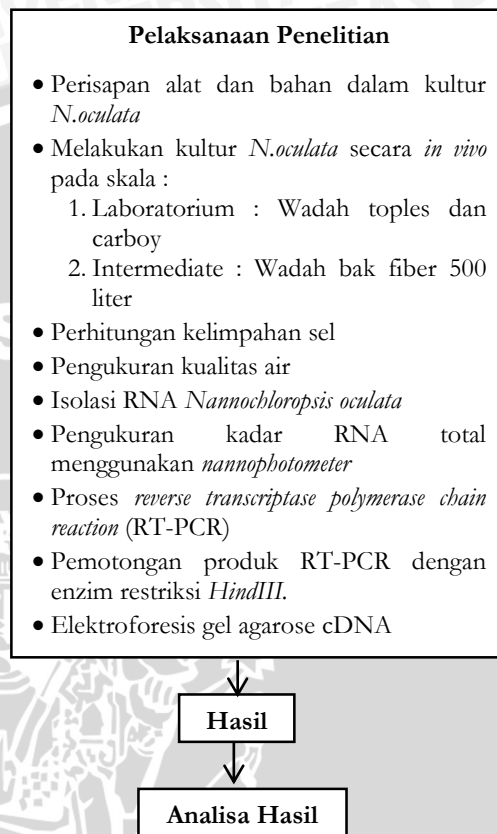
Materi dalam penelitian ini adalah optimalisasi *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) RNA *peridinin chlorophyll protein* (PCP) menggunakan enzim restriksi *HindIII* pada mikroalga laut *Nannochloropsis oculata* yang dikultur secara *in vivo*. Sebagai data pendukung dalam penelitian ini juga dilakukan pengamatan kepadatan sel dan pengamatan parameter kualitas air kultur *N. oculata*.

2.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif dan eksploratif. Metode deskriptif dalam penelitian ini bertujuan untuk melaporkan hasil optimalisasi RT-PCR RNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) pada *Nannochloropsis oculata*. Metode eksploratif pada penelitian ini bertujuan untuk mencari metode yang tepat dalam mengoptimalkan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) RNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) pada *N. oculata* dan untuk mengetahui tingkat kecocokan situs pemotongan enzim restriksi *HindIII* terhadap target panjang basa PCP (310 bp) pada *N. oculata* menggunakan teknik RT-PCR.

2.3 Prosedur Penelitian

Berikut merupakan tahapan penelitian yang tersaji dalam gambar 1.



Gambar 1. Bagan Tahapan Penelitian

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Kepadatan *Nannochloropsis oculata*

Untuk mengetahui pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* dalam kegiatan kultur maka perlu dilakukan pengamatan. Pengamatan pertumbuhan dapat dilakukan dengan melihat perubahan warna yang terjadi dari awal penebaran bibit. Namun pengamatan paling baik adalah dengan melakukan perhitungan kepadatan dengan menggunakan *haemocytometer* yang diamati dibawah mikroskop. Dari hasil perhitungan kepadatan *N. oculata* yang dikultur di BBAP Situbondo dapat diketahui bahwa pada awal pertumbuhan *N.oculata* peningkatan kepadatan sel berlangsung bertahap, hal ini sesuai

dengan pendapat Fogg (1987) dalam Bahua (2015), yang menyatakan bahwa sel fitoplankton membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan yang baru. Pertumbuhan *N. oculata* yang dibudidayakan dapat dilihat hasil perhitungan kepadatan yang tersaji pada Tabel 1.

Usia (Hari)	Kepadatan (10^4 Sel/ml)		
	Erlenmeyer	Carboy	Bak Fiber
1	260	264	80
2	332	324	104
3	396	472	188
4	416	520	260
5	552	644	216
6	628	684	-
7	696	756	-
8	728	772	-
9	644	-	-
10	532	-	-

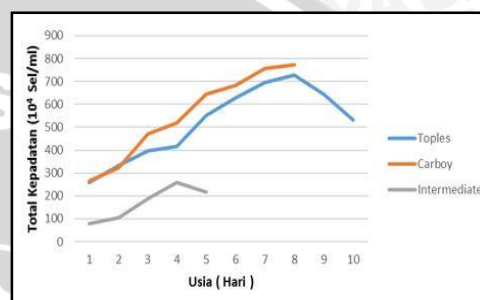
Tabel 1. Kepadatan *Nannochloropsis oculata*

Usia yang baik untuk panen dapat diketahui berdasarkan pola pertumbuhan fitoplankton tersebut. Panen dilakukan pada hari ke 5-7 untuk selanjutnya dimanfaatkan sebagai bibit dan pakan. Menurut Sari (2012) pemanenan harus dilakukan pada saat fitoplankton telah mencapai puncak populasi atau fase akhir eksponensial.

3.1.1 Pertumbuhan *Nannochloropsis Oculata* Skala Laboratorium

Pada kultur *Nannochloropsis oculata* skala laboratorium wadah erlenmeyer kepadatan awal adalah 260×10^4 dan mencapai puncaknya pada hari ke-8 728×10^4 sel/ml. Kepadatan *N. oculata* meningkat pesat pada saat memasuki fase eksponensial. *N. oculata* yang di kultur mengalami fase puncak pada hari ke 8 yaitu dengan kepadatan 728×10^4 sel/ml.

Kepadatan awal kultur *N. oculata* wadah carboy yaitu 264×10^4 sel/ml. Kepadatannya mengalami puncak atau fase eksponensial pada hari ke 8 yaitu 756×10^4 sel/ml. Pada hari ke-9 kultur *N. oculata* pada carboy dilakukan subkultur pada bak fiber 500 liter. Di bawah ini merupakan grafik pertumbuhan kultur *N. oculata* pada skala laboratorium dan intermediate.



Gambar 2. Grafik Pertumbuhan *Nannochloropsis oculata*

3.1.2 Analisis Kualitas Air

Setiap organisme membutuhkan beberapa syarat agar dalam pertumbuhan dan perkembangannya dapat berlangsung dengan optimal. Seperti pada organisme *N. oculata* salah satu syarat tersebut adalah kualitas air. Parameter yang digunakan dalam kultur mikroalga *N. oculata* antara lain suhu, derajat keasaman, dan salinitas. Berikut merupakan hasil pengukuran kualitas air dalam kegiatan kultur *N. oculata* yang tersaji dalam tabel 2.

	Toples	Carboy	Intermediate
Suhu	22 °C	22 °C	28 °C
pH	8	8	8.5
Salinitas	33	33	34

Tabel 2. Kualitas air pada kultur *Nannochloropsis oculata*

Dari hasil pengukuran parameter kualitas air pada kultur *N. oculata* menunjukkan hasil yang masih tergolong baik dan dapat menunjang pertumbuhan mikroalga selama prose kultur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tjahjo (2002) dan Cahyaningsih (2009), yang menyatakan bahwa pH optimal bagi *N. oculata* berkisar 8-8,5. Sedangkan salinitas optimal berada pada kisaran 30-35 ppt.

3.2 Isolasi RNA Total

Isolasi RNA menggunakan RNA *kit plant GeneAid*. Dalam melakukan isolasi RNA, DNA dan protein dipisahkan untuk memisahkan molekul RNA dari molekul-molekul lain yang tidak diinginkan. Terdapat tiga tahap utama dalam ekstraksi RNA dalam isolasi molekul RNA *N. oculata* berdasarkan RNA purification kit yang digunakan dalam penelitian, yaitu pemecahan dinding sel (lisis), pengikatan RNA, pencucian dan pemurnian RNA. Tahap pertama dari proses isolasi ini adalah pemecahan dinding sel dan pengikatan RNA menggunakan larutan lysis buffer (RB Buffer), kemudian dilakukan inkubasi selama 5 menit pada suhu 60 °C yang bertujuan untuk memecah dinding sel mikroalga dan mengikat RNA. Larutan lysis buffer dapat melisis sampel dan mematikan *RNase* yang mengandung zat guanidine tiosianat (Fermentas, 2011)

Setelah dilakukan penambahan lysis buffer, kemudian sampel ditambahkan wash buffer ke dalam RB kolom yang berfungsi untuk menghilangkan sisa kotoran protein yang terikat pada RNA. Setelah tahap pencucian, kemudian ditambahkan Rnase-free water ke dalam matrik kolom yang berfungsi untuk mensterilkan RNA sehingga diperoleh isolat murni RNA. Zat kontaminan yang masih tersisa pada membran

kolom dibersihkan dengan serangkaian pencucian dan sentrifugasi menggunakan larutan wash buffer. Molekul RNA kemudian disterilkan dengan menggunakan nuclease-free water (Fermentas, 2011). Isolat RNA kemudian dianalisis konsentrasinya dengan menggunakan *nanophotometer*.

3.3 Kandungan Total RNA

Hasil isolasi RNA yang telah dilakukan sebetulnya diukur kemurnian dan konsentrasinya menggunakan *nanophotometer* untuk mengukur kadar RNA total. Kandungan total RNA diukur pada panjang gelombang 260, 280 dan 320 nm. Berdasarkan hasil pengukuran total RNA diperoleh kadar RNA total sebesar 23,6 mg/ml.

3.4 Optimalisasi Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

Dalam metode RT-PCR ini terdapat dua tahapan utama yaitu sintesis cDNA dari RNA total menggunakan primer dan amplifikasi cDNA dengan teknik PCR. Hal ini dilakukan karena isolat RNA tidak dapat digunakan langsung sebagai cetakan dalam proses PCR, sehingga RNA harus ditranskripsikan balik menjadi komplemen cDNA.

Komplemen DNA (cDNA) dapat terbentuk karena bantuan dari primer oligo (dT) dan enzim transcriptase balik. Ekor 3' poli-A mRNA dihibridasi oleh primer oligo (dT). Proses inkubasi RNA mix pada suhu 65 °C selama 10 menit merupakan proses denaturasi, selanjutnya proses *annealing* pada suhu 4 °C selama 50 menit. Pada saat primer oligo (dT) melekat pada untai RNA, enzim *reverse transcriptase* mulai mengkonstruksi untai pertama cDNA serta mengubah basa urasil menjadi basa timin. Hasil

dari sintesis ini berupa DNA untai tunggal. Setelah DNA untai tunggal terbentuk, DNA polymerase akan mensintesis untai DNA pasangannya sehingga dihasilkan DNA untai ganda. Molekul cDNA ini yang selanjutnya digunakan sebagai cetakan dalam proses PCR.

3.4.1 Amplifikasi cDNA *peridinin chlorophyll protein* (PCP)

Keberhasilan proses amplifikasi dalam PCR ditentukan oleh kesesuaian primer yang digunakan serta optimasi dan efisiensi dalam proses PCR. Penggunaan primer yang tidak spesifik dan kurang tepat dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain didalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau tidak terdapat daerah genom yang teramplifikasi. Maka dari itu, diperlukan optimasi khusus terutama pada optimasi cetakan DNA dan primer yang akan digunakan dalam masing-masing proses PCR (Grunenwald 2003).

Dalam penelitian ini terdapat faktor yang diuji untuk mengoptimalkan RT-PCR yaitu suhu penempelan primer dan primer. Primer yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan primer yang spesifik didesain untuk gen *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) dari *N. oculata*, dimana perancangan primer dilakukan dengan merujuk pada data cDNA dari gen PCP yang terdapat pada database GenBank dengan panjang pita 310 bp. Primer yang digunakan yaitu primer P1 inisiated 5'-GCATGAAGCCACTTCGAAAC-3', primer 2 nested 5'-TAACGCTGGGATGCTTTGAC-3' dan RNA adapter.

Penempelan primer *annealing* merupakan proses pelekatan primer pada cDNA cetakan. Proses tersebut memerlukan suhu yang berkisar pada *melting temperature* (T_m). Menurut fatchiyah

et al., (2011) Untuk mendapatkan *melting temperature* (T_m) yang tepat dapat menggunakan rumus sebagai berikut,

$$T_m = 2(A + T) + 4(G + C)$$

Selain itu penentuan *melting temperature* (T_m) pada saat proses *annealing* dapat diketahui melalui situs insilico.ehu.eus dan BioPHP minitools/melting_temperature. Pada penelitian ini dilakukan perlakuan gradient suhu untuk mendapatkan hasil amplifikasi yang maksimal, dengan menggunakan 6 level suhu yang berbeda yaitu pada suhu 44°C, 48°C, 50°C, 52°C, 55°C, dan 58°C.

Dalam penelitian ini suhu penempelan primer *annealing* yang optimal yaitu pada suhu 52 °C selama 1 menit. Perlakuan suhu penempelan primer *annealing* yang tepat dan penggunaan primer yang sesuai dengan panjang gen *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) yang dijadikan referensi GenBank, dapat menghasilkan amplifikasi cDNA secara optimal. Perlakuan suhu *annealing* yang terlalu tinggi dan terlalu rendah mengakibatkan primer yang digunakan tidak dapat melekat pada tempat yang spesifik sehingga tidak diperoleh hasil amplifikasi cDNA target. Hal ini sesuai dengan pernyataan Roux, (2009) yang menyatakan bahwa, untuk menghasilkan karakter yang diinginkan diperlukan optimalisasi PCR, yaitu dengan melakukan optimasi suhu *annealing* cDNA dalam proses PCR. Selanjutnya hasil amplifikasi dipotong menggunakan enzim restriksi *HindIII* untuk menghasilkan pemotongan RNA PCP yang spesifik pada *N. oculata*

3.5 Pola Pemotongan RNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) *Nannochloropsis oculata* dengan Enzim Restriksi *HindIII*

Pada penelitian ini menggunakan enzim restriksi tipe II yaitu enzim restriksi *HindIII*. Enzim restriksi mempunyai ciri utama yaitu setiap enzim mengenal urutan spesifik pada molekul RNA yang akan dipotong. Pada enzim restriksi tertentu dapat memotong fragmen RNA dalam konsentrasi pH, suhu, dan garam yang sesuai dengan karakter enzim restriksi yang digunakan (Roberts dan Macelis 2001).

Hasil pemotongan RNA PCP *N. oculata* menggunakan enzim restriksi *HindIII* dilihat menggunakan gel agarose. Hasil situs pemotongan fragmen RNA PCP *N. oculata* menggunakan enzim restriksi *HindIII* dihasilkan situs pemotongan RNA pada ukuran 200 bp, 250 bp, dan 310 bp. Pada salah satu situs pemotongan oleh enzim restriksi *HindIII* menunjukkan terdapat kecocokan dengan menghasilkan situs pemotongan 310 bp, hal ini sesuai dengan target panjang basa *peridinin chlorophyll protein* (PCP) yaitu 310 bp pada *N. oculata*.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Metode yang tepat dalam mengoptimalkan RT-PCR dilakukan dengan menggunakan kit yang tepat dalam proses isolasi RNA, yaitu RNA *kit plant GeneAid*. Dalam penelitian ini suhu penempelan primer annealing yang optimal yaitu pada suhu 52 oC selama 1 menit.
2. Jumlah fragmen RNA *peridinin chlorophyll protein* (PCP) pada *Nannochloropsis oculata*

yang dipotong menggunakan enzim restriksi *HindIII* menghasilkan 3 fragmen, yang berukuran 200 bp, 250 bp, dan 310 bp. Pada salah satu situs pemotongan oleh enzim restriksi *HindIII* menunjukkan terdapat kecocokan dengan menghasilkan situs pemotongan 310 bp, hal ini sesuai dengan target panjang basa PCP yaitu 310 bp pada *N. oculata*.

4.2 Saran

Saran dari penelitian ini yaitu perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai kualitas dari sintesis RNA *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) mengenai sequencing dan cloning cDNA PCP *N. oculata* sehingga selanjutnya dapat dilakukan produksi PCP yang dapat digunakan sebagai salah satu solusi pencegahan terhadap serangan penyakit pada ikan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai riset ini. Terimakasih kepada Dr. Ir. Muhammad Musa, MS dan Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Atmadja WS, Kadi A, Sulistijo, Rachmaniar. 1996. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanologi-LIPI, Jakarta.
- Auerkari, E.I, Sunarto H, A. Djaiz. 1998. RT-PCR (Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction) : Suatu Cara Pendeteksi Perubahan-perubahan Ekspresi Gen pada Penyakit. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia: 5 (3): 162-165.
- Bahua, H., Y. Hendrawan dan R. Yulianingsih. 2015. Pengaruh Pemberian Auksin Sintetik Asam Naftalena Asetat Terhadap Pertumbuhan Mikroalga (*Nannochloropsis oculata*). Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem. 3(2) : 179-186.
- Burtin P. 2003. Nutritional value of seaweeds. *EJEAF Che* 2: 498-503.
- Cahyaningsih, S., A.N.M. Muchtar, S.J. Purnomo, I. Kusumaningrum, Pujiati, A. Haryono, Slamet dan Asniar. 2009. Jurnal Produksi Pakan Alami. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
- Erllich, H.A. 1989. Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Immunology* 9: 437–447.
- Fatchiyah., Arumingtyas, E. L., Widyarti, S., Rahayu, S. 2011. Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis. Jakarta: Erlangga.
- Fermentas. 2011. GeneJet RNA purification kit. Fermentas Inc., New York: 17 hlm.
- Grunenwald H. Optimization of Polymerase Chain Reactions. Di Dalam: JMS Bartlett and D Stirling (Eds). 2003. *Methods in Molecular Biology: PCR Protocol* second edition. Totowa: Humana press. 89-99.
- Hirschberg J, Chamovitz D. 1994. “Carotenoids in cyanobacteria.” In: *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, Bryant DA, ed. (Dordrecht: Kluwer) pp 559–579.
- Isnansetyo, A. dan Kusniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Roberts, R. J., and Macelis, D. 2001. REBASE-restriction enzymes and methylases. *Nucl. Acids Res.* 29:268–269.
- Roux KH. 2009. Optimization and Troubleshooting in PCR. Cold Spring Harbour Laboratory Press 4(4): 1-6.
- Sari IP, Abdul M. 2012. Pola pertumbuhan *Nannochloropsis oculata* pada skala laboratorium, intermediet dan masal. *Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(2) : 123-127.
- Tjahjo, W. L. Erawati dan Hanung, S. 2002. Biologi Fitoplankton dalam Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Balai Budidaya Laut, Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan. Bandar Lampung
- Weis, V.M., E. A. Verde, W.S. Reynolds. 2001. Characterization of a Short Form *Peridinin Chlorophyll Protein* (PCP) cDNA and Protein from The Symbiotic Dinoflagellate *Symbiodinium Muscatinei* (Dinophyceae) From The Sea Anemone *Anthopleura Elegantissima* (Cnidaria). *J. Phycol.* 38 : 157–16

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

