

## FILOGENETIK IKAN SUMATRA (*Puntius tetrazona*) ALAM DAN BUDIDAYA BERDASARKAN GEN COI

Elydia Rossanty dan Mochamad Syaifudin<sup>#</sup>

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Sumatra Selatan

(Naskah diterima: 16 Juli 2023; Revisi final: 02 Februari 2024; Disetujui publikasi: 02 Februari 2024)

### ABSTRAK

Ikan sumatra (*Puntius tetrazona*) memiliki beberapa varietas, meliputi *tiger barb*, hijau, albino, dan balon., Namun, belum diketahui karakter genetiknya menggunakan DNA *barcoding* terhadap spesies asal perairan di Sumatra Selatan. Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase kemiripan sekuen gen *cytochrome oxidase c subunit I* (COI) DNA mitokondria, jarak genetik dan filogenetik ikan sumatra alam serta budidaya. Penelitian *barcoding* DNA pada ikan sumatra dilakukan dengan beberapa tahap terdiri atas isolasi DNA, perbanyakan DNA berdasarkan *polymerase chain reaction* (PCR), elektroforesis, dan sekuensing gen COI pada mtDNA. Ikan sumatra dari alam berasal dari Sungai Lematang (n=2), Sungai Musi (n=2), dan dari budidaya komersial (n=7) dikoleksi di wilayah Palembang. Produk gen COI mtDNA berhasil diperoleh menggunakan metode PCR dengan suhu penempelan primer 51°C selama 30 detik dalam 35 siklus. Sekuensing gen COI menghasilkan panjang nukleotida 604 bp. BLAST-N menunjukkan ikan sumatra dari alam (Sungai Lematang dan Sungai Musi) memiliki persentase kemiripan lebih kecil (94,56-95,16%) dibandingkan dari budidaya (99,55-100%) terhadap *P. tetrazona* yang diperoleh dari pusat data *Genbank*. Konstruksi filogenetik terbentuk dua *subcluster* yang terpisah antara ikan sumatra alam dan budidaya dengan jarak genetik  $0,046 \pm 0,00$ , menunjukkan perbedaan genetik antara kedua populasi.

**KATA KUNCI:** alam; budidaya; filogenetik, gen COI; ikan sumatra

### **ABSTRACT: Phylogenetic of Wild and Cultured Sumatra Barb (*Puntius tetrazona*) Based on COI Gene**

*Sumatra barb (Puntius tetrazona) had several strains, including tiger barb, green tiger barb, albino tiger barb, and balloon tiger barb. However, its genetic characteristics are not yet known using DNA barcoding in species from waters in South Sumatra. This study aimed to analyse similarity percentage, genetic distance, and phylogenetic construction of wild and cultured sumatra barb based on the sequence of cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene on the mitochondrial DNA. The methods conducted in barcoding DNA were performed with several steps consisting of DNA isolations, DNA amplification based on polymerase chain reaction (PCR), electrophoresis, and sequencing of COI of mtDNA. The wild sumatra barb*

<sup>#</sup>Korespondensi: Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Sumatra Selatan  
Email: msyaifudin@fp.unsri.ac.id

were obtained from Lematang River ( $n=2$ ), Musi River ( $n=2$ ), and those from commercial fish farmings ( $n=7$ ) were collected in Palembang. The mtDNA COI gene were acquired from PCR with an annealing temperature of  $51^{\circ}\text{C}$  for 30 seconds in 35 cycles. The COI gene of sumatra barb had a nucleotide length of 604 bp. BLAST-N indicated that the wild sumatra barb (Lematang and Musi Rivers) had a lower similarity (94.56-95.16%) than the cultured samples (99.55-100%) to *P. tetrazona* obtained from Genbank database. The phylogenetic construction formed two separated subclusters between the wild and cultured sumatra barb with a genetic distance of  $0.046 \pm 0.001$ , indicatedting a genetic difference between two populations.

**KEYWORDS:** COI gene; cultured fish; phylogenetic; sumatra barb; wild fish

## PENDAHULUAN

Ikan sumatra (*Puntius tetrazona*) adalah salah satu ikan hias asli Indonesia yang tersebar di perairan umum Pulau Sumatra dan Kalimantan. Ikan ini mempunyai beberapa strain antara lain, ikan sumatra (tiger barb), ikan sumatra hijau (green tiger barb), ikan sumatra albino (albino tiger barb), dan ikan sumatra balon (balloon tiger barb) (Fadhullullah, 2018). Ikan sumatra memiliki tubuh berwarna pucat dengan empat pita tegak berwarna gelap; pita yang pertama melewati mata dan yang terakhir pada pangkal ekor. Strain albino memiliki warna tubuh kekuningan hingga putih keperakan dan mempunyai garis vertikal putih pada bagian tubuhnya (Tania et al., 2018).

Variasi strain yang terjadi pada ikan sumatra disebabkan karena adanya keragaman genetik, yang selanjutnya mengakibatkan perbedaan morfologi dan perilaku pada populasi ikan (Fahmi et al., 2018). Penggunaan genetik dapat menjadi metode yang bermanfaat guna memperoleh informasi berkaitan dengan varietas ikan. Selain itu bermanfaat untuk mengetahui dan mengawasi keanekaragaman, konservasi serta perubahan yang terjadi di alam (Kusuma et al., 2016). Pendekatan molekuler untuk mengidentifikasi spesies menjadi populer saat ini karena identifikasi berdasarkan pendekatan morfologi mempunyai keterbatasan akibat adaptasi yang konvergen dan divergen yang menyebabkan perubahan ciri morfologi spesies ikan

(Bingpeng et al., 2018). DNA barcoding adalah salah satu marka molekuler pada mitokondria DNA yang digunakan untuk autentikasi spesies secara molekuler dengan cepat dan presisi menggunakan urutan gen pendek dari genom organisme (Kress et al., 2015), dan sudah digunakan untuk berbagai jenis ikan, seperti tilapia (Sogbesan et al., 2017; Syaifudin et al., 2019), ikan baung (Syaifudin et al., 2017), ikan hias introduksi (Fahmi et al., 2017), ikan gabus dan ikan serandang (Syaifudin et al., 2020), ikan cupang aduan (Fahmi et al., 2020), ikan betutu (Dahrudin et al., 2016; Panprommin et al., 2020; Syaifudin et al., 2022), dan ikan sepatung (Syaifudin et al., 2023). Gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI) adalah gen yang terdapat di DNA mitokondria yang berperan dalam proses respirasi (Pierron et al., 2012). Gen COI dapat digunakan sebagai DNA barcoding pada beberapa spesies karena memiliki sifat *conserve* (lestari). Selain itu, gen COI dapat digunakan dalam mengidentifikasi karakteristik genetik dikarenakan jarang sekali terjadi delesi dan insersi pada sekuennya (Hebert et al., 2003).

Penelitian barcoding DNA ikan sumatra telah dilakukan di perairan gambut Riau (Fahmi et al., 2016), Selangor, Malaysia (kode akses HQ610586.1) dengan total pasang basa 501 bp (Yazdani et al., 2012), Singapura (kode akses JF915651.1) dengan 684 bp (Collins et al., 2012), namun belum dilakukan barcoding terhadap ikan sumatra asal perairan di Sumatra Selatan. Untuk itu perlu dilakukan barcoding DNA ikan sumatra dari Sungai Lematang di

Muara Enim dan Sungai Musi di Banyuasin serta dari budidaya komersial ikan sumatra di Palembang. Tujuan dari penelitian adalah untuk menganalisis sekuen gen COI DNA mitokondria, persentase kemiripan, jarak genetik, dan kekerabatan genetik ikan sumatra.

## BAHAN DAN METODE

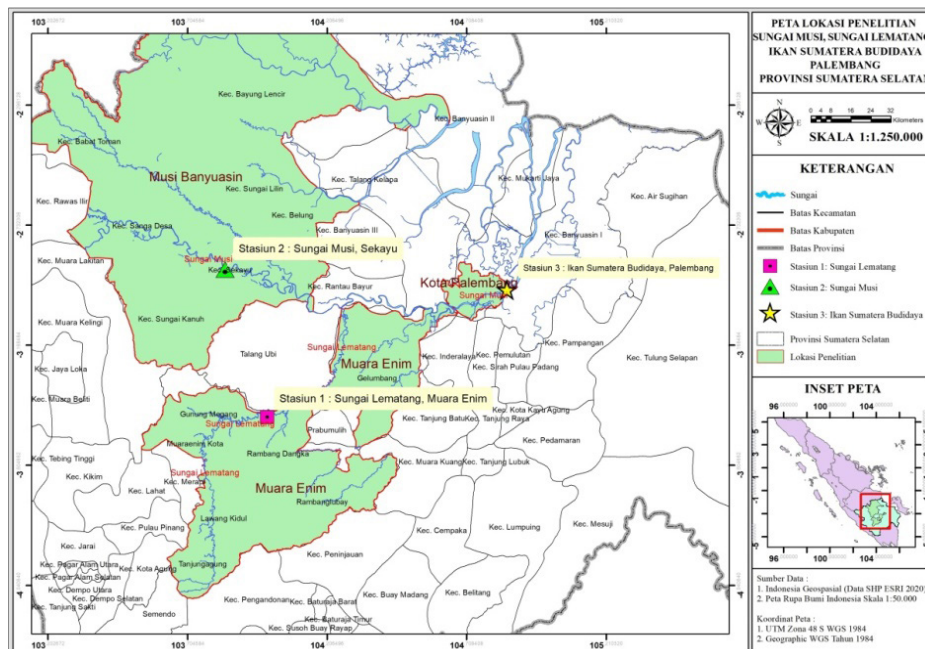
### Pengambilan Sampel

Sampel ikan sumatra diambil dari tiga lokasi, yaitu dua lokasi dari alam, meliputi Sungai Musi di Desa Serasan Jaya, Kabupaten Musi Banyuasin dan Sungai Lematang di Desa Belimbing, Kabupaten Muara Enim serta satu lokasi hasil budidaya yang berasal dari penjual ikan hias di Palembang. Lokasi pengambilan sampel dari alam dan budidaya disajikan pada Gambar 1. Sampel sirip ikan yang diambil sebanyak dua ekor dari Sungai Lematang, dua ekor dari Sungai Musi, dan tujuh ekor ikan sumatra hasil budidaya (mewakili empat *strain*). Morfologi ikan sampel yang digunakan dapat dilihat pada

Gambar 2. Sampel ikan asal Sungai Lematang diberi kode sampel (PTL); ikan asal Sungai Musi dengan kode sampel (PTS); sedangkan untuk sampel asal budidaya komersial untuk *albino tiger barb* dengan jumlah sampel ( $n=2$ ), diberi kode sampel (PTA), *green tiger barb* (PTH) ( $n=2$ ), *balloon tiger barb* (PTB) ( $n=1$ ), dan untuk *tiger barb* ( $n=2$ ) diberi kode sampel (PTK). Sampel sirip kemudian disimpan ke dalam larutan etanol 96%, diberi label dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga dilakukan isolasi DNA.

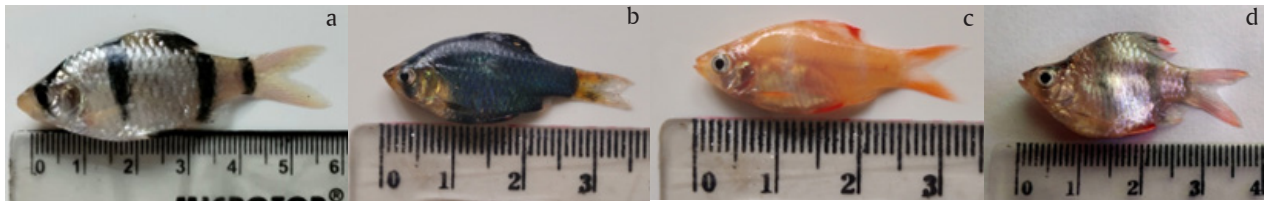
### Ekstraksi DNA

Sampel sirip ikan sumatra yang digunakan berukuran sekitar  $2 \times 2 \text{ mm}^2$ . Total genom DNA diekstraksi dengan menggunakan kit ekstraksi DNA genom (*GeneAid*) melalui lima tahap yaitu, preparasi, lisis sel, penambahan RNase, presipitasi DNA, pencucian DNA, dan pelarutan DNA. Sampel DNA selanjutnya disimpan ke dalam *freezer* dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai DNA hasil ekstraksi digunakan untuk tahap selanjutnya.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel ikan sumatra alam (Sungai Musi dan Sungai Lematang) dan budidaya di Palembang

Figure 1. Sampling sites of wild (Musi River and Lematang River) and farmed sumatra barb in Palembang



Gambar 2. Jenis-jenis ikan sumatra : (a) sumatra; (b) sumatra hijau; (c) sumatra albino; (d) sumatra balon

Figure 2. Type of sumatra barb : (a) tiger barb; (b) green tiger barb; (c) albino tiger barb; (d) balloon tiger barb

### Amplifikasi DNA

Proses penggandaan (amplifikasi) DNA dilakukan menggunakan PCR dengan tiga tahapan meliputi: 1) inisiasi pada suhu 94°C selama 1 menit; 2) 35 siklus untuk tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 52°C selama 45 detik, dan *extension* atau elongasi pada suhu 72°C selama 15 detik; serta 3) perpanjangan akhir (*post extension*) pada suhu 72°C selama 4 menit untuk sampel asal Sungai Lematang. Sampel Sungai Musi dan budidaya diamplifikasi dengan tahap-tahap meliputi: 1) inisiasi dengan suhu 95°C selama 2 menit; 2) 35 siklus untuk tahapapan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 5°C selama 30 detik, dan *extension* pada suhu 72°C selama 1 menit; serta 3) perpanjangan akhir (*post extension*) pada suhu 72°C selama 10 menit untuk. Produk PCR diprediksi ukuran fragmennya dengan menggunakan *marker* 1 kb. Sampel ikan sumatra yang berhasil diamplifikasi pada wilayah gen COI selanjutnya disekuensing di Malaysia melalui jasa Lembaga Genetika Science di Jakarta.

### Analisis Data

Sekuen gen COI ikan sumatra disimpan dalam bentuk format FASTA, kemudian dilakukan *alignment* menggunakan software MEGA X, lalu dilakukan *editing* urutan basa bagian awal dan akhir. Selanjutnya dianalisis BLAST (*basic local alignment search tool*) nukleotida yang berguna untuk menentukan homologi suatu urutan DNA dengan data yang ada di GenBank NCBI (*National Center*

*for Biotechnology Information*). Semua sekuen nukleotida dilakukan *alignment* untuk dianalisis jarak genetik dan pohon filogenetiknya. Jarak genetik dianalisis berdasarkan metode *pairwise distance*, (Kimura, 1980) sedangkan konstruksi filogenetik antara spesies ikan sumatra dilakukan menggunakan metode *neighbor joining* (NJ) model *maximum composite likelihood* (Kumar *et al.*, 2018; Stecher *et al.*, 2020), dengan *bootstrap* 1.000 kali ulangan.

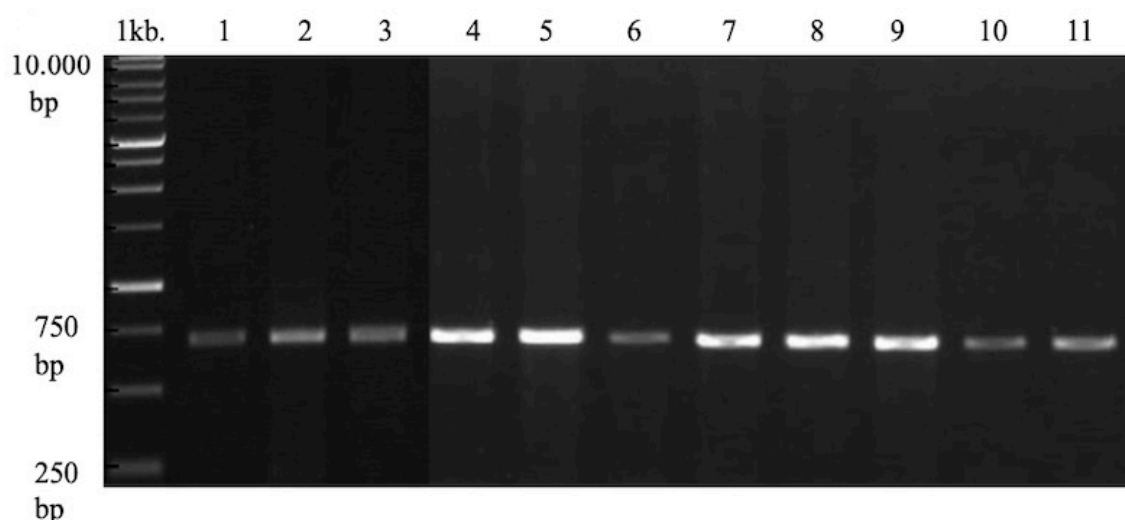
## HASIL DAN BAHASAN

### Amplifikasi dan Visualisasi DNA

Visualisasi hasil amplifikasi DNA gen COI ikan sumatra dari Sungai Lematang, Sungai Musi, dan budidaya di Palembang menggunakan gel agarosa 1% disajikan pada Gambar 3.

Gen COI hasil PCR sampel ikan sumatra asal Sungai Lematang (PTL 2 dan PTL 4), Sungai Musi (PTS 1 dan PTS 2) serta sampel asal budidaya di Palembang (PTH 1, PTH 2, PTK 1, PTK 2, PTB 2, PTA 1, dan PTA 3) memiliki ukuran nukleotida sekitar 700 bp (*basepair* atau pasang basa). Visualisasi hasil amplifikasi gen COI pada ikan sumatra dilakukan pada suhu *annealing* 51°C selama 30 detik dengan 35 siklus. Suhu penempelan primer (*annealing*) adalah suhu yang optimal saat menempelnya primer pada *template* DNA. Suhu yang digunakan dapat diketahui berdasarkan nilai *melting temperature* (Tm) dari masing-masing primer. Langkah penting dalam PCR adalah penempelan (*annealing*) primer, di mana suhu yang optimal menentukan spesifisitas penempelan primer pada utas





Gambar 3. Visualisasi produk PCR dari gen COI ikan Sumatra

Figure 3. PCR product visualization of COI gene of sumatra barb

Keterangan: 1 kb: marker; 1 = PTL 2; 2 = PTL 4; 3 = PTH 1; 4 = PTH 2; 5 = PTK 1; 6 = PTK 2; 7 = PTB 2; 8 = PTS 1; 9 = PTS 2; 10 = PTA 1; 11 = PTA 3

DNA. Suhu yang digunakan tergantung pada suhu leleh (*melting temperature*) primer dan spesifisitas yang diinginkan. Tingkat lipid yang tinggi dari sampel suatu spesies dapat menghambat polimerase, sehingga pemilihan enzim dan primer yang tepat juga merupakan faktor yang mempengaruhi keberhasilan PCR disamping penyesuaian suhu penempelan primer (Soliman *et al.*, 2017).

#### Persentase Similaritas Nukleotida Ikan Sumatra

Sekuen nukleotida gen COI setelah melalui proses *editing* menggunakan *software* Mega X pada ikan sumatra yang berasal dari Sungai Lematang, Sungai Musi serta budidaya komersial di Palembang berukuran 604 bp. Hasil analisis BLAST-N ikan sumatra asal Sungai Lematang, Sungai Musi, dan budidaya dengan spesies lain yang terdapat di *GenBank* disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan analisis BLAST, sekuens nukleotida gen COI sampel ikan sumatra asal Sungai Lematang (PTL 2 dan PTL 4) dan Sungai Musi (PTS 1 dan PTS 2) memiliki presentase kemiripan tertinggi (95,16-95,31%) dengan *P. tetrazona* asal USA dan Singapura, sedangkan

sampel asal budidaya (PTA 1, PTA 3, PTB 2, PTH 1, PTH 2, PTK 1, dan PTK 2) menunjukkan persentase kemiripan yang mencapai 99,55%-100% dengan *P. tetrazona* USA, Bangladesh, Singapura, Afrika Selatan, dan India. BLAST nukleotida digunakan untuk menemukan wilayah kesamaan lokal di antara urutan nukleotida dengan cara membandingkan sekuens nukleotida dengan sekuens *database* dan menghitung signifikansi statistik dari kecocokan urutan nukleotida. BLAST dapat digunakan untuk menyimpulkan hubungan fungsional dan evolusi antara urutan nukleotida serta membantu mengidentifikasi anggota dari famili gen (Altschul *et al.*, 1990). Dalam penentuan tingkat homologi suatu sekuens pada data *GenBank* dapat diketahui berdasarkan nilai *max score* dan *total score* sama, *query coverage* mendekati 100%, *E-value* mendekati 0 dan *percent identity* (%) mendekati 100% (Tindi *et al.*, 2017). Sekuen nukleotida yang memiliki kemiripan tinggi merupakan sekuens yang paling dekat dengan sampel.

Keragaman genetik pada suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi serta migrasi gen (Arifin *et al.*, 2017). Mutasi dapat menjadi penyebab utama terjadinya perbedaan variasi nukleotida pada

Tabel 1. BLAST-Nukleotida ikan sumatra asal Sungai Lematang, Sungai Musi, dan budidaya  
 Table 1. BLAST-Nucleotide of sumatra barb captured from Lematang River, Musi River, and farmed from Palembang fish farming

No	Kode sampel Sample code	Spesies Species	Query cover (%)	Kemiripan (%) Similarity (%)	Kode akses Accession code	Asal sampel Sample origin
1	PTL 2	<i>Puntius tetrazona</i>	100	95,31	NC_010110.1	USA
		<i>Puntius tetrazona</i>	99	95,30	JF915651.1	Singapura
		<i>Puntius tetrazona</i>	98	95,24	OP604403.1	India
2.	PTL 4	<i>Puntius tetrazona</i>	100	94,56	JF915651.1	Singapura
			99	95,13	NC_010110.1	USA
			98	95,08	OP604403.1	India
3.	PTS 1	<i>Puntius tetrazona</i>	100	95,16	JF915651.1	Singapura
			100	95,16	NC_010110.1	USA
			98	95,11	OP604403.1	India
			98	95,11	MW591158.1	Malaysia
4.	PTS 2	<i>Puntius tetrazona</i>	100	95,16	JF915651.1	Singapura
			100	95,16	NC_010110.1	USA
			98	95,11	OP604403.1	India
5.	PTA 1	<i>Puntius tetrazona</i>	100	99,55	MT483480.1	USA
			100	99,55	JF915650.1	Singapura
			100	99,55	NC_010110.1	USA
			98	99,85	HQ557071.1	Amerika Utara
6.	PTA 3	<i>Puntius tetrazona</i>	100	100	MN171362.1	Bangladesh
			100	100	JF915650.1	Singapura
			100	100	NC_010110.1	USA
7.	PTB 2	<i>Puntius tetrazona</i>	100	100	JF915651.1	Singapura
			100	100	NC_010110.1	Oklahoma, USA
			98	100	MN171362.1	India
8.	PTH 1	<i>Puntius tetrazona</i>	100	100	KU569014.1	Afrika Selatan
			100	100	OP604403.1	India
			100	100	MW591158.1	Malaysia
9.	PTH 2	<i>Puntius tetrazona</i>	100	100	MN171362.1	India
		<i>Puntius partipentazona</i>	100	100	MT483480.1	USA
		<i>Puntius tetrazona</i>	100	100	JF915650.1	Singapura
10.	PTK 1	<i>Puntius tetrazona</i>	100	100	MT483480.1	USA
			100	100	JF915650.1	Singapura
			100	100	NC_010110.1	USA
11.	PTK 2	<i>Puntius tetrazona</i>	99	99,56	NC_010110.1	USA
			99	99,41	JF915650.1	Singapura
			98	99,70	MT483480.1	USA

Keterangan: analisis BLAST-N dilakukan pada tanggal 30 November 2023

Note: BLAST-N analysis was carried out on November 30, 2023

gen COI yang dapat mengakibatkan variasi pada susunan basa nukleotida, di mana variasi yang kecil dapat mempengaruhi keidentikan suatu spesies dan bahkan dapat memengaruhi susunan asam amino yang mengkode protein (Matern *et al.*, 2009). Ikan sumatra mempunyai dua mutan yang alami yaitu ikan sumatra albino dan ikan sumatra hijau (Li *et al.*, 2012).

### Jarak dan Pohon Genetik

Jarak genetik menunjukkan tingkat perbedaan genomik (gen) suatu spesies atau populasi yang diukur menggunakan kuantitas numerik. Hal ini dapat menggambarkan kedekatan suatu spesies atau populasi. Jarak genetik ikan sumatra dengan database *Genbank* dapat dilihat pada Gambar 4. Jarak genetik sampel ikan sumatra dari alam (Sungai Musi dan Lematang) adalah 0,000-0,002 ( $0,00005 \pm 0,01$ ), sedangkan ikan sumatra yang berasal dari budidaya di Palembang (PTA 1, PTA 3, PTB 2, PTH 1, PTH 2, PTK 2, dan PTK 1) memiliki nilai sebesar 0,000. Nilai jarak genetik ikan sumatra alam dengan budidaya adalah 0,045-0,047 ( $0,046 \pm 0,001$ ), *Puntius* sp. dari Amerika Utara (HQ557071.1) sebesar 0,045; sedangkan dengan *P. tetrazona* asal USA (NC010110.1) sebesar 0,047, India (OP604403.1), Afrika Selatan (KU569014.1), dan Malaysia (MW591158.1) sebesar 0,048; dan *P. tetrazona* asal Singapura (JF915651.1) sebesar 0,049. *P. tetrazona* dari alam mempunyai jarak genetik dengan nonspesies *P. partipentazona* asal USA, Thailand, dan Malaysia berturut-turut sebesar 0,086; 0,088; dan 0,089. Jarak genetik yang paling jauh yaitu dengan spesies *outgroup* *Oreochromis niloticus* (KM438536.1) (ikan nila) dengan jarak genetik sebesar 0,198.

Jarak genetik dalam satu kelompok yang sama ikan sumatra menunjukkan nilai yang rendah, yaitu 0,0017 pada Sungai Lematang dan 0,0477 pada kelompok *Puntius partipentazona*, bahkan nilai jarak genetik adalah 0 untuk kelompok Sungai Musi, budidaya, dan *P. tetrazona* dari data *Genbank*, sedangkan pada Tabel 3, jarak genetik antarkelompok ikan sumatra asal Sungai Lematang menunjukkan

nilai terendah dengan sampel asal Sungai Musi (0,001), selanjutnya dengan ikan sumatra budidaya (0,046), *P. tetrazona* dari data *Genbank* (0,046), *P. partipentazona* (0,075) dan terjauh dengan spesies *outgroup* (0,200).

Spesies *outgroup*, yang memiliki kekerabatan kurang erat dengan spesies yang diteliti berfungsi dalam menentukan posisi root dan memahami evolusi yang terjadi pada analisis hubungan kekerabatan (Horiike, 2016). Nilai jarak genetik menggambarkan adanya kemungkinan efek isolasi geografis yang terjadi dalam populasi, semakin tinggi nilai jarak genetik (*p-distance*) dalam suatu individu atau populasi, maka semakin terisolasi antara suatu individu atau populasi dengan yang lainnya (Laltanpui *et al.*, 2014). Semakin kecil nilai jarak genetik maka akan semakin kecil juga keragaman antar spesies atau populasi tersebut, begitu juga sebaliknya. Keanekaragaman genetik mengacu pada interpretasi hasil isolasi secara ekologis, perilaku dan fisik, yang meliputi terbatasnya jumlah individu dan pemilihan sifat-sifat tertentu (Mignon-Grasteau *et al.*, 2005).

Konstruksi pohon genetik digunakan untuk mengetahui kekerabatan antarspesies dengan sekuen pembandingan yang berasal dari data *GenBank* NCBI. Konstruksi pohon genetik ikan sumatra (*P. tetrazona*) asal Sungai Lematang, Sungai Musi, dan budidaya disajikan pada Gambar 4. Filogenetik ikan sumatra menunjukkan tiga klaster utama. Klaster pertama terdiri dari spesies sampel ikan budidaya, sampel asal Sungai Lematang dan Sungai Musi serta *P. tetrazona* dari data *Genbank*. Klaster kedua terdiri dari spesies *P. partipentazona* dan klaster ketiga merupakan spesies *outgroup* yaitu *O. niloticus* (ikan nila).

Klaster pertama terdiri dari dua subklaster. Subklaster pertama terdiri dari dua subklaster yaitu klaster ikan budidaya komersial Palembang (PTH1, PTK2, PTK1, PTH2, PTA3, PTB2, dan PTA1) dengan *P. tetrazona* dari *Genbank*, sedangkan subklaster dua merupakan sampel asal Sungai Lematang (PTL4 dan PTL2) dan Sungai Musi (PTS1 dan PTS2) dengan nilai *bootstrap* diantara subklaster sebesar 94%. Semakin

Tabel 2. Jarak genetik ikan sumatra

Table 2. Genetic distance of sumatra barb

No.	Kode Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1	PTL2																							
2	PTL4	0,002																						
3	PTS1	0,000	0,002																					
4	PTS2	0,000	0,002	0,000																				
5	PTB2	0,045	0,047	0,045	0,045																			
6	PTH1	0,045	0,047	0,045	0,045	0,000																		
7	PTH2	0,045	0,047	0,045	0,045	0,000	0,000																	
8	PTK1	0,047	0,050	0,049	0,049	0,000	0,000	0,000																
9	PTK2	0,047	0,059	0,049	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000															
10	PTA1	0,047	0,060	0,049	0,049	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000														
11	PTA3	0,045	0,047	0,046	0,045	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000													
12	NC_010110.1	0,047	0,059	0,049	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,003	0,000												
13	JF915651.1	0,049	0,059	0,049	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,003	0,000	0,003											
14	OP604403.1	0,048	0,060	0,049	0,049	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000										
15	MW591158.1	0,048	0,060	0,049	0,049	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000									
16	MN171362.1	0,045	0,047	0,045	0,045	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,003	0,000	0,000								
17	HQ557071.1	0,048	0,060	0,049	0,049	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000							
18	KU569014.1	0,048	0,060	0,049	0,049	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000						
19	MT483480.1	0,049	0,059	0,049	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,003	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000					
20	JF764678.1	0,089	0,086	0,088	0,087	0,085	0,086	0,084	0,084	0,085	0,085	0,084	0,085	0,084	0,085	0,085	0,085	0,085	0,085	0,084				
21	KP712083.1	0,086	0,094	0,085	0,084	0,079	0,079	0,078	0,080	0,083	0,082	0,078	0,080	0,078	0,081	0,081	0,079	0,081	0,081	0,078	0,006			
22	MK628358.1	0,088	0,085	0,087	0,086	0,084	0,085	0,083	0,083	0,086	0,084	0,083	0,086	0,082	0,084	0,084	0,090	0,084	0,085	0,083	0,014	0,014		
23	KM438536.1	0,198	0,198	0,198	0,198	0,209	0,209	0,207	0,210	0,211	0,211	0,208	0,211	0,211	0,211	0,211	0,208	0,211	0,211	0,211	0,204	0,201	0,214	

Keterangan/note: 1-11 (*Puntius tetrazona*-Indonesia); 12-16 (*Puntius tetrazona*-USA, Singapura, India, Malaysia, India; 17 (*Puntius* sp. asal Amerika Utara); 18 (*Puntius tetrazona* asal Afrika Selatan); 19-22 (*Puntius partipentazona*-USA, Malaysia, USA, Thailand, UK); 23 (*Oreochromis niloticus*-UK)

Note: 1-11 (*Puntius tetrazona*-Indonesia); 12-16 (*Puntius tetrazona*-USA, Singapore, India, Malaysia, India; 17 (*Puntius* sp. obtained from North America); 18 (*Puntius tetrazona* obtained from South Africa); 19-22 (*Puntius partipentazona*-USA, Malaysia, USA, Thailand, UK); 23 (*Oreochromis niloticus*-UK)

Tabel 3. Jarak genetik antargrup ikan sumatra

Table 3. Genetic distance between groups of sumatra barb

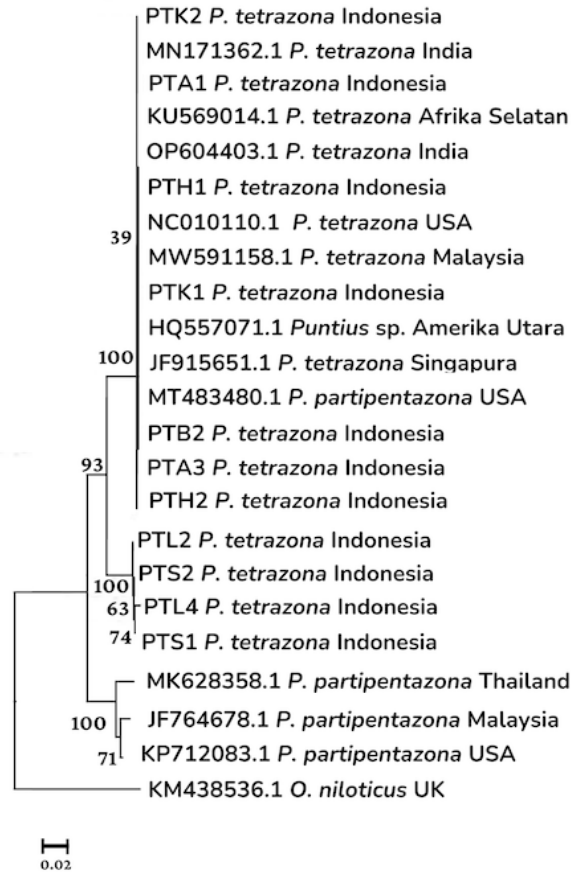
Kelompok Group	Sungai Lematang Lematang River	Sungai Musi Musi River	Budidaya Culture	<i>Puntius tetrazona</i>	<i>Puntius partipentazona</i>	Outgroup
Sungai Lematang Lematang River						
Sungai Musi Musi River	0,001					
Budidaya Cultured sample	0,046	0,045				
<i>Puntius tetrazona</i>	0,046	0,045	0,000			
<i>Puntius partipentazona</i>	0,075	0,075	0,063	0,063		
Outgroup	0,200	0,200	0,208	0,208	0,208	

tinggi persentase *bootstrap* menunjukkan semakin tinggi tingkat kepercayaan topologi pada pohon hasil rekonstruksi. Nilai *bootstrap* pada pohon filogenetik dikategorikan stabil jika lebih dari 95%, dan dikatakan tidak stabil jika nilai *bootstrap* <70% (Nakano & Ozawa, 2004). Dua subklaster tersebut menunjukkan kedekatan spesies secara genetik berdasarkan gen COI. Hal ini ditunjukkan dengan nilai jarak

genetik <3% untuk ikan sumatra dari alam, dan <5% untuk ikan budidaya. Nilai selisih jarak genetik kurang dari atau sama dengan 3% menggambarkan spesies yang identik secara molekuler (Hebert *et al.*, 2003).

Klaster kedua terdiri dari spesies *P. partipentazona* asal USA (KP712083.1), Malaysia (JF764678.1), dan Thailand (MK628358.1). Ikan Sumatra asal Sungai Musi dan Lematang





Gambar 4. Filogenetik ikan sumatra asal Sungai Lematang, Sungai Musi, dan budidaya komersial Palembang

Figure 4. Phylogenetic of sumatra barb captured from Musi River, Lematang River, and farmed from commercial fish farming in Palembang

menempati klaster terpisah dengan kelompok ikan tersebut. Hal ini dikarenakan jarak genetik yang cukup jauh yaitu  $>8\%$ . Klaster ketiga merupakan spesies *outgroup* yaitu *O. niloticus*, koleksi dari Universitas Stirling di UK (KM438536.1). Pada penelitian ini pohon filogenetik menunjukkan *scale bar* 0,02 yang berarti terjadi perubahan nukleotida sebanyak dua kali dalam setiap 100 bp. Filogenetik pada ikan sumatra telah dilakukan berdasarkan gen 16S-rRNA yang menunjukkan bahwa ikan sumatra dengan enam pita dari Cagar Hutan Rawa Gambut Raja Musa Malaysia mempunyai *clade* yang sama dengan *Puntius hexazona* (Norhisyam *et al.*, 2014), sedangkan berdasarkan DNA mitokondria menunjukkan bahwa *P. tetrazona* muncul lebih awal selama spesiasi subfamili Barbinae (Cui *et al.*, 2020).

Ikan sumatra budidaya menunjukkan persentase kemiripan lebih tinggi dengan jarak genetik lebih kecil dengan basis data di *GenBank*. Hal ini menunjukkan keragaman genetik yang lebih rendah dibandingkan dengan ikan Sumatra dari Sungai Musi dan Lematang. Hibridisasi ikan sumatra mutan transparan dengan mutan albino yang dilanjutkan hibridisasi generasi F1 ( $n=307$ ) menghasilkan 17 ekor mutan ganda transparan dan albino dengan mutan transparan sebanyak 58 ekor dan nontransparan sebanyak 232 ekor (Li *et al.*, 2012). Pada studi ini, ikan sumatra nontransparan hasil budidaya menunjukkan jarak genetik yang rendah dengan mutan albino, sumatra hijau, dan balon. Peningkatan variasi keragaman genetik dapat dilakukan dengan hibridisasi dengan induk ikan sumatra dari alam sehingga meningkatkan peluang terjadinya rekombinasi yang lebih tinggi.

## KESIMPULAN

Ikan sumatra *P. tetrazona* asal alam dari Sungai Lematang dan Sungai Musi mempunyai persentase kemiripan sebesar 94,56-95,31% dengan *P. tetrazona* asal Singapura dan USA, sedangkan ikan sumatra asal budidaya di Palembang memiliki persentase similaritas sebesar 99,50-100% dengan *P. tetrazona* dari data Genbank. Konstruksi filogenetik yang terbentuk antara ikan sumatra asal Sungai Lematang dan Sungai Musi terhadap budidaya komersial menghasilkan dua *subcluster* yang terpisah namun keduanya masih berada pada *cluster* yang sama.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Dasar Perikanan, Program Studi Budidaya Perairan pada Fakultas Pertanian. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR ACUAN

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Arifin, O. Z., Imron, Muslim, N., Hendri, A., Aseppendi, & Yani, A. (2017). Karakteristik fenotipe dan genotipe ikan gurami, *Osphronemus goramy*, strain galunggung hitam, galunggung putih, dan hibridanya. *Jurnal Riset Akuakultur*, 12(2), 99-110. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15578/jra.12.2.2017.99-110>
- Bingpeng, X., Heshan, L., Zhilan, Z., Chunguang, W., Yanguo, W., & Jianjun, W. (2018). DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. *PLOS ONE*, 13(6), e0198109. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198109>
- Collins, R. A., Armstrong, K. F., Meier, R., Yi, Y., Brown, S. D. J., Cruickshank, R. H., Keeling, S., & Johnston, C. Barcoding and border biosecurity: Identifying cyprinid fishes in the aquarium trade. *PLOS ONE*, 7(1), e28381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028381>
- Cui, W., Zhou, L., Yang, J., Xiong, J., Li, W., & Ren, J. (2020). Embryonic development and phylogenetic analysis of *Puntius tetrazona*. *Journal of Fisheries of China*, 44(8), 1286-1295. <https://doi.org/10.11964/jfc.20190411725>
- Dahrudin, H., Hadiaty, R. K., & Hubert, N. (2016). DNA barcoding: Foundations and applications for Southeast Asian freshwater fishes. *Treubia*, 43, 1-16. <https://doi.org/10.14203/treubia.v43i0.2968>
- Fadhlullah, A. K. (2018). Pengaruh jumlah kepadatan yang berbeda pada sistem transportasi tertutup ikan hias sumatra (*Puntius tetrazona*) terhadap sintasan dan kualitas air media [Skripsi, Universitas Muhammadiyah Malang]. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Fahmi, M. R., Hayuningtyas, E. P., Zamroni, M., Nur, B., & Sinansari, S. (2018). Keragaman genetik ikan tiger fish (*Datnioides* sp.) asal Kalimantan dan Sumatera. *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(3), 191-199. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.13.3.2018.191-199>
- Fahmi, M. R., Kusriani, E., Hayuningtyas, E. P., Sinansari, S., & Gustiano, R. (2020). DNA barcoding using COI gene sequences of wild betta fighting fish from Indonesia: Phylogeny, status and diversity. *Indonesian Fisheries Research Journal*, 26(2), 83-96. <http://dx.doi.org/10.15578/ifrj.26.2.2020.97-105>
- Fahmi, M. R., Kusumah, R. V., Ardi, I., Sinansari, S., & Kusriani, E. (2017). DNA barcoding ikan hias introduksi. *Jurnal Riset Akuakultur*, 12(1), 29-40. <https://doi.org/10.15578/jra.12.1.2017.29-40>

- Fahmi, M. R., Prasetyo, A. B., Kusumah, R. V., Hayuningtyas, E. P., & Ardi, I. (2016). Barcoding DNA ikan hias lahan gambut. *Jurnal Riset Akuakultur*, 11(2), 137-145. <https://doi.org/10.15578/jra.11.2.2016.137-145>
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., & de Waard, J. R. (2003). *Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1), S96-S99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
- Horiike, T. (2016). An introduction to molecular phylogenetic analysis. *Reviews in Agricultural Science*, 4, 36-45. <https://doi.org/10.7831/ras.4.36>
- Kress, W. J., Garcia-Robledo, C., Uriarte, M., & Erickson, D. L. (2015). DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(1), 25-35. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.008>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kusuma, A. B., Bengen, D. G., Madduppa, H., Subhan, B., Arafat, D., & Negara, B. F. S. P. (2016). Close genetic connectivity of soft coral *Sarcophyton trocheliophorum* in Indonesia and its implication for marine protected area. *Aceh Journal of Animal Science*, 1(2), 50-57. <https://doi.org/10.13170/ajas.1.2.4867>
- Laltanpuui, Kumar, N. S., & Mathai, M. T. (2014). Molecular and phylogenetic analysis of the genus *Orthetrum* (Odonata: Anisoptera: Libellulidae) using mitochondrial COI gene. *Science Vision: Journal of the Mizuoka Academy of Sciences (MAS)*, 14(3), 152-157.
- Li, K. B., Chang, O. Q., Wang, F., Liu, C., Wang, Q., Liang, F. L., Ma, B. Y., & Wu, S. Q. (2012). Identification of a transparent mutant tiger barb *Puntius tetrazona* and its use for *in vivo* observation of a *Pleistophora* sp. (Microsporidia) infection. *Journal of Fish Biology*, 80(7), 2393-2404. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2012.03280.x>
- Matern, A., Desender, K., Drees, C., Gaublomme, E., Paill, W., & Assmann, T. (2009). Genetic diversity and population structure of the endangered insect species *Carabus variolosus* in its western distribution range: Implications for conservation. *Conservation Genetics*, 10, 391-405. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9606-1>
- Mignon-Grasteau, S., Boissy, A., Bouix, J., Faure, J.-M., Fisher, A. D., Hinch, G. N., Jensen, P., Le Neindre, P., Mormède, P., Prunet, P., Van de Putte, M., & Beaumont, C. (2005). Genetics of adaptation and domestication in livestock. *Livestock Production Science*, 93(1), 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.11.001>
- Nakano, T., & Ozawa, T. (2004). Phylogeny and historical biogeography of limpets of the order Patellogastropoda based on mitochondrial DNA sequences. *Journal of Molluscan Studies*, 70(1), 31-41. <https://doi.org/10.1093/mollus/70.1.31>
- Norhisyam, M. S., Roshani, O., Akmal, S. N., Mageswaran, M., Syahril, M. Z. M., & Harmin, S. A. (2014). Species identification of six-banded tiger barb in Raja Musa Peat Swamp Forest Reserve using 16S rRNA gene. *Conference: Asian Fish Biodiversity Conference*.
- Panprommin, D., Soontomprasit, K., Tuncharoen, S., & Iamchuen, N. (2020). The utility of DNA barcoding for the species identification of larval fish in the lower Inng river, Thailand. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(9), 671-679. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20\\_9\\_02](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_9_02)
- Pierron, D., Wildman, D. E., Hüttemann, M., Markondapatnaikuni, G. C., Aras, S., & Grossman, L. I. (2012). Cytochrome c oxidase: Evolution of control via nuclear subunit addition. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1817(4), 590-597. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.07.007>
- Sogbesan, O., Sanda, M. K., Ja'afar, J. N., & Adedeji, H. (2017). DNA barcoding of tilapia species (Pisces: Cichlidae) from North-Eastern Nigeria. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 7(4), 1000277. <https://doi.org/10.4172/2155-952x.1000277>

- Soliman, T., Abbas, E. M., & Fahim, R. M. (2017). Impact of enzymes and primers on the PCR amplification of some goatfishes. *Genetics of Aquatic Organisms*, 1(1), 21–26. [https://doi.org/10.4194/2459-1831-v1\\_1\\_04](https://doi.org/10.4194/2459-1831-v1_1_04)
- Stecher, G., Tamura, K., & Kumar, S. (2020). Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution*, 37(4), 1237-1239. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz312>
- Syaifudin, M., Bekaert, M., Taggart, J. B., Bartie, K. L., Wehner, S., Palaikostas, C., Khan, M. G. Q., Selly, S.-L. C., Hulata, G., D'Cotta, H., Baroiller, J.-F., McAndrew, B. J., & Penman, D. J. (2019). Species-Specific marker discovery in tilapia. *Scientific Reports*, 9, 13001. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48339-2>
- Syaifudin, M., Gultom, E. T., & Wijayanti, M. (2023). DNA authentication of Indonesian leaf fish *Pristolepis grooti* from Kelekar River and Ogan River in South Sumatra based on *cytochrome c oxidase subunit I (COI)* gene. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 08(02), jtbb74133. <https://doi.org/10.22146/jtbb.74133>
- Syaifudin, M., Jubaedah, D., Muslim, & Daryani, A. (2017). DNA authentication of Asian redtail catfish *Hemibagrus nemurus* from Musi and Penukal River, South Sumatra Indonesia. *Genetics of Aquatic Organisms*, 1(2), 43–48. [https://doi.org/10.4194/2459-1831-v1\\_2\\_01](https://doi.org/10.4194/2459-1831-v1_2_01)
- Syaifudin, M., Jubaedah, D., Taqwa, F. H., & Octaviani, R. (2022). Phylogenetic of marble goby (*Oxyeleotris marmorata* Blkr.) in South Sumatra based on cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene. *Genetics of Aquatic Organisms*, 6(1), GA433. <https://doi.org/10.4194/GA433>
- Syaifudin, M., Wijayanti, M., Dwinanti, S. H., Muslim, Mahendra, M., & Marlina, S. (2020). Short Communication: DNA barcodes and phylogenetic of striped snakehead and ocellated snakehead fish from South Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(3), 1227–1235. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210350>
- Tania, N., Sukarman, Permana, A., & Supiyani, A. (2018). Total karotenoid ikan sumatra albino (*Puntius tetrazona*) yang diberi pakan tambahan tepung kepala udang. *Bioma*, 14(1), 1–9. [https://doi.org/10.21009/Bioma14\(1\).1](https://doi.org/10.21009/Bioma14(1).1)
- Tindi, M., Mamangkey, N. G. F., & Wullur, S. (2017). DNA barcode dan analisis filogenetik molekuler beberapa jenis bivalvia asal perairan Sulawesi Utara berdasarkan gen COI. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 5(2), 32-38. <https://doi.org/10.35800/jplt.5.2.2017.15050>
- Yazdani, M. F. (2012). *Phylogenetic relationships among Malaysian Puntius and its allies (pisces: cyprinidae)* [Disertasi, Universiti Putra Malaysia]. Universiti Putra Malaysia Institutional Repository.