

Mochamad Syaifudin Revised 2

By Diah Ayu Satyari Utami

WORD COUNT

3654

TIME SUBMITTED

19-FEB-2024 06:54AM

PAPER ID

106983139

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

ABSTRAK

1 Ikan sumatra (*Puntius tetrazona*) merupakan komoditas ikan hias air tawar yang mendiami habitat di Pulau Sumatra dan Kalimantan, Indonesia. Terdapat beberapa varietas memiliki nilai ekonomis, meliputi sumatra barb, hijau, albino dan balon. Tujuan di 1ksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase kemiripan sekuen gen *cytochrome oxidase c subunit I* (COI) DNA mitokondria, jarak genetik dan filogenetik ikan sumatra alam dan budidaya. Penelitian *barcoding* DNA pada ikan sumatra di 1kukan dengan tahapan, yaitu isolasi DNA, perbanyak DNA berdasarkan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), elektroforesis dan sekuensing gen COI pada mtDNA. Ikan sumatra yang berasal dari alam, meliputi Sungai Lematang (n=2), Sungai Musi (n=2) dan dari budidaya komersial (n=7) 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 menunjukkan adanya dua *subcluster* yang terpisah antara ikan sumatra alam dan budidaya dengan jarak genetik 0,045-0,047 (0,046 ± 0,001).

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

ABSTRACT

[PHYLO 1ENETIC OF SUMATRA BARB (*Puntius tetrazona*) BASED ON COI GENE] Sumatra barb is one of the native freshwater ornamental fish species scattered on the island 1 of Sumatra and Kalimantan. There are some strains, which is economically high, including tiger barb, green tiger barb, albino tiger barb, and balloon tiger barb. This study aimed to analyze similarity percentage 10 genetic distance, and phylogenetic construction of wild and culture sumatra barb based on the sequence of cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene on the mitochondrial DNA. The methods conducted 1 in barcoding DNA consisted of DNA isolations, DNA amplification based on Polymerase Chain Reaction (PCR), electrophoresis, and sequencing of COI of mtDNA. The fish were gathered from two differ 1 rivers, i.e. Lematang (n=2), Musi (n=2), and commercial culture (n=7) in Palembang. The fragment sequences of the COI gene were acquired from PCR with an annealing temperature of 51°C for 30 seconds in 35 cycles. The COI gene of sumatra barb had a nucleotide length of 604 base pairs (bp). BLASTn on the *Genbank* indicated that the wild sumatra barb had lower similarity (94.56%-

95.16%) than those from the culture of Sumatra barb (99.55%-100%) to *Puntius tetrazona* obtained from *Genbank* database. The phylogenetic construction showed two separate subclusters between the wild and commercial culture of sumatra barb with a genetic distance of 0.045-0,047 (0.046 ± 0.001).

KEYWORDS: *COI gene; culture; phylogenetic; sumatra barb; wild species*

7 PENDAHULUAN

Ikan sumatra (*Puntius tetrazona*) adalah salah satu ikan hias asli Indonesia yang tersebar di perairan umum Pulau Sumatera dan Kalimantan (Welcomme, 1988). 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*) (Fadhullah, 2018). Ikan Sumatra memiliki tubuh berwarna pucat dengan empat pita tegak berwarna gelap; pita yang pertama melewati mata dan yang terakhir pada pangkal ekor (Kottelat & Whitten, 1993). Strain albino memiliki warna tubuh kekuningan hingga putih keperakan dan mempunyai garis vertikal putih pada bagian tubuhnya (Tania et al., 2018). Strain sumatra hijau mempunyai tubuh berwarna hijau hingga hijau biru metalik, ikan sumatra hijau merupakan hasil mutasi dari ikan sumatra atau ikan *tiger barb* (Trisnadi, 1992).

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; Muchlisin et

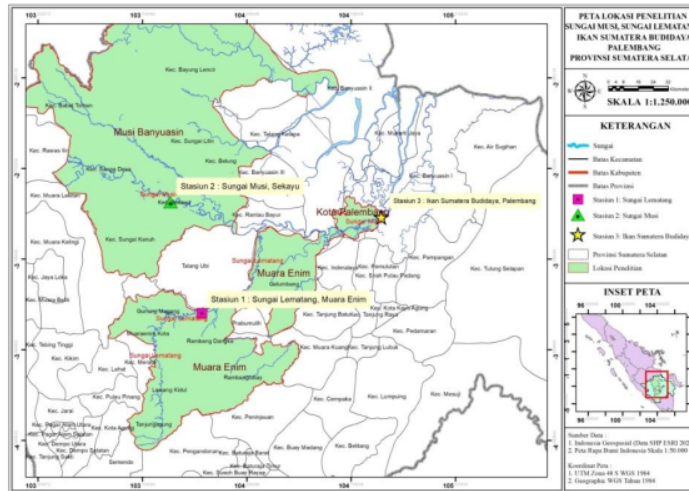
al., 2012). DNA *barcoding* adalah salah satu marka molekuler pada mitokondria DNA yang digunakan untuk autentikasi spesies secara molekuler dengan cepat dan presisi menggunakan urutan gen pendek dari genom organisme (Kress et al., 2015), dan sudah digunakan untuk berbagai jenis ikan, seperti tilapia (Sogbesan et al., 2017; Syaifudin et al., 2019), baung (Syaifudin et al., 2017), gabus dan serandang (Syaifudin et al., 2020), betutu (Dahrudin et al., 2016; Panprommin et al., 2020; Syaifudin et al., 2021), dan sepatung (Syaifudin et al., 2023). Gen *cytochrome oxidase subunit I (COI)* adalah gen yang terdapat di DNA mitokondria dimana berperan dalam proses respirasi (Pierron et al., 2011). 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 Selangor, Malaysia (kode akses HQ610586.1) dengan total pasang basa 501 bp (Yazdani et al., 2023), Singapura (kode akses JF915651.1) dengan 684 bp (Collins, 2023), 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. Adapun tujuan dari penelitian adalah untuk menganalisis sekuen gen COI DNA mitokondria, persentase kemiripan, jarak genetik dan kekerabatan genetik ikan sumatra.

BAHAN DAN METODE

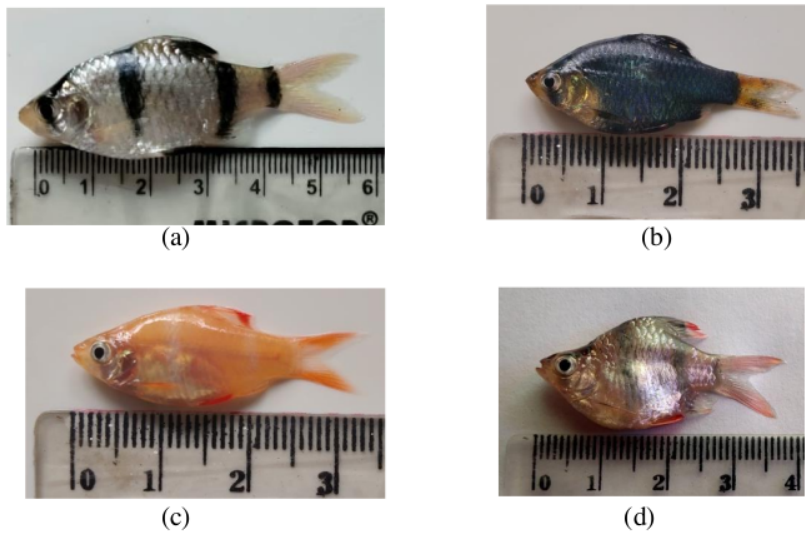
Pengambilan sampel

Sampel ikan sumatra diambil dari tiga lokasi, yaitu 2 lokasi dari alam, meliputi Sungai Musi di Desa Serasan Jaya Kabupaten Musi Banyuasin; Sungai Lematang di Desa Belimbing Kabupaten Muara Enim dan satu lokasi hasil budidaya yang berasal dari penjual ikan hias di Palembang. Lokasi pengambilan sampel dari alam dan dari budidaya disajikan pada Gambar 1. Sampel sirip ikan yang diambil sebanyak 2 ekor dari Sungai Lematang, 2 ekor dari Sungai Musi dan 7 ekor ikan sumatra hasil budidaya (mewakili 4 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 komersil untuk *albino tiger barb* (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°C hingga dilakukan isolasi DNA.



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

Figure 1. Site map of sumatra barb collection from Musi River, Lematang River, and culture in Palembang



Sumber: Dokumentasi Pribadi
 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

Ekstraksi DNA

Sampel sirip ikan sumatra yang digunakan berukuran sekitar 2 mm². Total genom DNA diekstraksi dengan menggunakan Kit Ekstraksi DNA genom (*GeneAid*) yang meliputi 5 tahapan yaitu, preparasi, lisis sel, penambahan RNase, presipitasi DNA, pencucian dan pelarutan DNA. Sampel DNA selanjutnya disimpan ke dalam *freezer* dengan suhu -20°C sampai DNA hasil ekstraksi digunakan untuk tahap selanjutnya.

Amplifikasi DNA

Proses penggandaan (amplifikasi) DNA dilakukan menggunakan PCR dengan tahapan meliputi: siklus inisiasi pada suhu 94°C selama 1 menit; tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 52°C selama 45 detik, *extension* atau *elongasi* pada suhu 72°C selama 15 detik dengan siklus 35; dan perpanjangan akhir (*post extension*) pada suhu 72°C selama 4 menit untuk sampel asal Sungai Lematang. Sedangkan sampel Sungai Musi dan budidaya diamplifikasi dengan tahapan: inisiasi dengan suhu 95°C selama 2 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 51°C selama 30 detik, *extension* pada suhu 72°C selama 1 menit dan 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

diampifikasi pada wilayah gen COI¹⁴ selanjutnya disekuensing di Malaysia melalui jasa Lembaga *Genetika Science* di Jakarta.

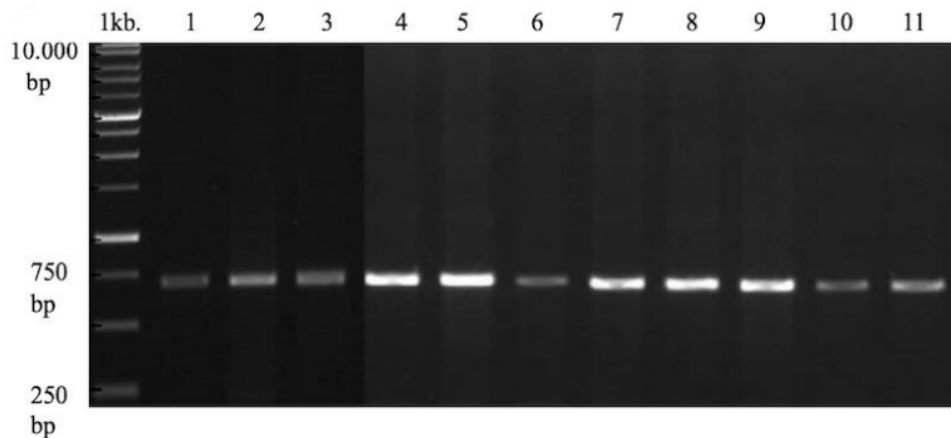
Analisis Data

Sekuen¹⁹ 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 BLAST³ (*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 sumatra¹ dari Sungai Lematang, Sungai Musi dan budidaya di Palembang menggunakan gel agarosa 1% disajikan pada Gambar 3.



1 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

Gambar 3. Visualisasi produk PCR dari gen COI ikan Sumatra

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

Gen COI hasil PCR sampel ikan Sumatra asal Sungai Lematang (PTL 2, PTL 4), Sungai Musi (PTS 1, PTS 2) serta sampel asal budidaya di Palembang (PTH 1, PTH 2, PTK 1, PTK 2, PTB 2, PTA 1, PTA 3) memiliki ukuran nukleotida sekitar 700 bp (*basepair*/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* (T_m) dari masing-masing primer (Asy'ari & Noer, 2005). Langkah penting dalam PCR adalah penempelan (*annealing*) primer, di mana suhu yang optimal menentukan spesifisitas penempelan primer pada utas DNA. Suhu penempelan dari protokol PCR standar adalah 55°C (Erllich, 1989) atau 60°C (McPherson & Hames, 1995). Suhu yang digunakan tergantung pada suhu leleh (*melting temperature*) primer dan spesifisitas yang diinginkan.

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.

Tabel 1. BLAST-Nukleotida ikan sumatra asal Sungai Lematang, Musi dan Budidaya

Table 1. BLAST-Nucleotide of sumatra barb captured from Lematang River, Musi River and culture

No	Kode sampel Sample Code	Spesies Species	Query Cover (%)	Kemiripan (%) Similarity (%)	Kode Akses Accession Code	Asal Sampel Sample Origin
1	PTL 2	<i>P. tetrazona</i>	100	95,31	NC_010110.1	USA
		<i>P. tetrazona</i>	99	95,30	JF915651.1	Singapura
2	PTL 4	<i>P. tetrazona</i>	98	95,24	OP604403.1	India
		<i>P. tetrazona</i>	100	94,56	JF915651.1	Singapura
3	PTS 1	<i>P. tetrazona</i>	99	95,13	NC_010110.1	USA
			98	95,08	OP604403.1	India
			100	95,16	JF915651.1	Singapura
			100	95,16	NC_010110.1	USA
			98	95,11	OP604403.1	India
4	PTS 2	<i>P. tetrazona</i>	98	95,11	MW591158.1	Malaysia
			100	95,16	JF915651.1	Singapura
			100	95,16	NC_010110.1	USA
			98	95,11	OP604403.1	India
5	PTA 1	<i>P. 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>P. tetrazona</i>	100	100	MN171362.1	Bangladesh
			100	100	JF915650.1	Singapura
			100	100	NC_010110.1	USA
7	PTB 2	<i>P. tetrazona</i>	100	100	JF915651.1	Singapura

			100	100	NC_010110.1	Oklahoma, USA
			98	100	MN171362.1	India
8.	PTH 1	<i>P. tetrazona</i>	100	100	KU569014.1	Afrika Selatan
			100	100	OP604403.1	India
			100	100	MW591158.1	Malaysia
9.	PTH 2	<i>P. tetrazona</i>	100	100	MN171362.1	India
		<i>P. partipentazona</i>	100	100	MT483480.1	USA
		<i>P. tetrazona</i>	100	100	JF915650.1	Singapura
10.	PTK 1	<i>P. tetrazona</i>	100	100	MT483480.1	USA
			100	100	JF915650.1	Singapura
			100	100	NC_010110.1	USA
11.	PTK 2	<i>P. 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

Berdasarkan analisis BLAST, sekuens nukleotida gen COI sampel ikan¹ sumatra asal Sungai Lematang (PTL 2, PTL 4) dan Sungai Musi (PTS 1, 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, PTK 2) menunjukkan persentase kemiripan yang mencapai 99,55%-100% dengan *P. tetrazona* USA, Bangladesh, Singapura, South Africa 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 (National Center for Biotechnology Information (NCBI), 2023). Dalam penentuan tingkat homologi suatu sekuen 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 ²⁰ sekuen yang paling dekat dengan sampel.

⁹ Keragaman genetik pada suatu populasi dapat terjadi karena adanya mutasi, rekombinasi serta migrasi gen ² (Arifin et al., 2017). Mutasi dapat menjadi penyebab utama terjadinya perbedaan variasi nukleotida pada gen COI yang dapat mengakibatkan variasi pada susunan basa nukleotida, dimana variasi yang kecil dapat mempengaruhi keidentikan suatu spesies dan bahkan dapat mempengaruhi 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 (Nei, 1987). 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 ¹ di Palembang (PTA 1, PTA 3, PTB 2, PTH 1, PTH 2, PTK 2, 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

mempunya jarak genetik dengan nonspesies *P. patripentazona* 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.

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	JP915651.1	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	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	JP764678.1	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	0,085	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:

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

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

Tabel 3. Jarak genetik antar grup ikan sumatra

Table 3. Genetic distance between group of sumatra barb

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

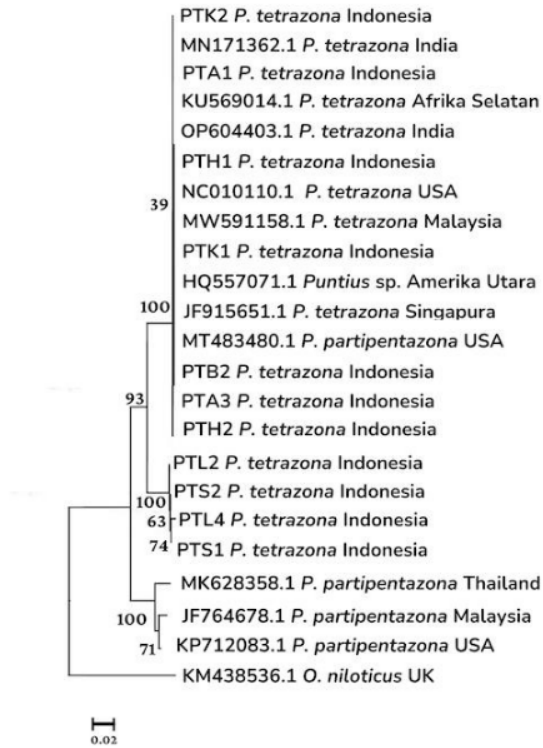
Spesies *outgroup*, yang memiliki kekerabatan kurang erat dengan spesies yang diteliti berfungsi dalam menentukan posisi root dan memahami evolusi yang terjadi pada analisis hubungan kekerabatan (Horiike, 2016). Nilai jarak genetik menggambarkan adanya kemungkinan efek isolasi geografis yang terjadi 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 (Laltanpuui 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 antar spesies 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 2 subklaster. Subklaster pertama terdiri dari dua subklaster yaitu klaster ikan budidaya komersil Palembang (PTH1, PTK 2, PTK1, PTH2, PTA3, PTB 2, PTA 1) dengan *P. tetrazona* dari Genbank, sedangkan subklaster dua merupakan sampel asal Sungai Lematang (PTL 4, PTL 2) dan Sungai Musi (PTS 1, PTS 2) dengan nilai *bootstrap* diantar subklaster sebesar 94%. Semakin 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).



Gambar 4. ¹ Filogenetik ikan sumatra (*Puntius tetrazona*) asal Sungai Lematang, Sungai Musi dan budidaya komersial Palembang

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

Klaster kedua terdiri dari spesies *P. partipentazona* asal USA (KP712083.1), Malaysia (JF764678.1) dan Thailand (MK628358.1). Ikan Sumatra asal Musi dan Lematang 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 2 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, transparan sebanyak 58 ekor dan non transparan sebanyak 232 ekor (Li et al., 2012). Pada studi ini, ikan sumatra non transparan 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

¹ 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 ¹ ikan sumatra asal Sungai Lematang dan Sungai Musi terhadap budidaya komersil menghasilkan dua *sub cluster* yang ¹² terpisah namun keduanya masih berada pada *cluster* yang sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala ¹³ Laboratorium Dasar Perikanan, Program Studi Budidaya Perairan pada Fakultas Pertanian dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian.

Mochamad Syaifudin Revised 2

ORIGINALITY REPORT

19%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	repository.unsri.ac.id Internet	448 words — 11%
2	www.neliti.com Internet	52 words — 1%
3	nanopdf.com Internet	37 words — 1%
4	etd.repository.ugm.ac.id Internet	29 words — 1%
5	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet	26 words — 1%
6	text-id.123dok.com Internet	24 words — 1%
7	jurnal.fp.unila.ac.id Internet	19 words — < 1%
8	etheses.uin-malang.ac.id Internet	17 words — < 1%
9	Otong Zenal Arifin, Wahyulia Cahyanti, Anang Hari Kristanto. "KERAGAMAN GENETIK TIGA GENERASI IKAN TAMBAKAN (<i>Helostoma temminkii</i>) DALAM PROGRAM DOMESTIKASI", Jurnal Riset Akuakultur, 2018	12 words — < 1%

-
- 10 pubmed.ncbi.nlm.nih.gov 12 words — < 1%
Internet
-
- 11 Anisah Mardiana, Kurnia Ritma Dhanti, Kurniawan Kurniawan, Retno Sulistyowati. "Optimasi Konsentrasi Primer Dan Suhu Annealing Dalam Mendeteksi Gen Blaz Pada Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Di Udara", Borneo Journal of Medical Laboratory Technology, 2023 11 words — < 1%
Crossref
-
- 12 jurnal.stokbinaguna.ac.id 11 words — < 1%
Internet
-
- 13 core.ac.uk 10 words — < 1%
Internet
-
- 14 jppipa.unram.ac.id 10 words — < 1%
Internet
-
- 15 media.neliti.com 9 words — < 1%
Internet
-
- 16 mazfanani.wordpress.com 8 words — < 1%
Internet
-
- 17 perbiol.files.wordpress.com 8 words — < 1%
Internet
-
- 18 semnasagrotek.uinsgd.ac.id 8 words — < 1%
Internet
-
- 19 ejournal.unsrat.ac.id 6 words — < 1%
Internet

20	ibnuforgunadarma.wordpress.com Internet	6 words — < 1%
21	journal.ipb.ac.id Internet	6 words — < 1%
22	repository.unj.ac.id Internet	6 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE SOURCES OFF

EXCLUDE MATCHES OFF