

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

## STATUS GENETIK IKAN LELE MUTIARA BERDASARKAN SEKUEN GEN *Cytochrome C Oxidase Subunit I* (COI)

Rommy Suprpto<sup>\*)#</sup>, Bambang Iswanto<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Pusat Riset Perikanan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

(Naskah diterima: 11 November 2022, Revisi final: 23 April 2023, Disetujui publikasi: 29 April 2023)

### ABSTRAK

Ikan lele Mutiara merupakan salah satu strain unggul hasil pemuliaan di Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari status genetik ikan lele Mutiara (*Clarias* sp.) dari variasi sekuen parsial gen COI dari mitokondria. Ikan uji yang digunakan berupa 15 ekor ikan lele Mutiara. DNA genom ikan lele Mutiara diekstraksi dari sirip ekor, kemudian fragmen DNA diamplifikasi dengan primer spesifik COI dan selanjutnya dilakukan sekuensing. Hasil sekuens yang diperoleh kemudian dianalisis estimasi substitusi nukleotida, pohon filogenik, estimasi jarak genetik, dan komposisi asam amino residu dengan membandingkan data hasil sekuens dari ikan lele *C. macrocephalus*, *C. batrachus*, *C. fuscus*, dan *C. gariepinus* yang tersedia di database GenBank. Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa ikan lele Mutiara terpisah dengan kelompok ikan lele yang lain. Parameter lainnya memperkuat analisis sebelumnya bahwa ikan lele Mutiara tidak hanya memiliki perbedaan genetik dengan spesies ikan lele lainnya, tetapi juga dengan jenis ikan lele Afrika (*C. gariepinus*).

**KATA KUNCI:** *Clarias gariepinus*; COI; DNA barcoding; lele Mutiara.

**ABSTRACT :** GENETIC STATUS OF MUTIARA CATFISH BASED ON THE SEQUENCE OF CYTOCHROME C OXIDASE SUBUNIT I (COI) GENE.

Mutiara catfish is one of the superior strains resulting from breeding program in Indonesia. This study aims to assess the genetic status of the Mutiara catfish (*Clarias* sp.) by looking at the diversity in the partial sequence of mitochondrial COI gene and to add genetic data of economically important freshwater fish in Indonesia. The sample fish used were a collection of 15 Mutiara catfish. Data analysis consisted of estimation of nucleotide substitution, phylogenetic tree, estimation of genetic distance, and amino acid composition by comparing secondary data from sequences of *C. macrocephalus*, *C. batrachus*, *C. fuscus*, and *C. gariepinus* which was available at Genbank NCBI. The results of the phylogenetic tree analysis showed that Mutiara catfish were separated from other catfish groups. Other parameters also show that Mutiara catfish not only have genetic differences with other *Clarias* species, but also with *C. gariepinus* there are also genetic differences.

**KEYWORDS:** *Clarias gariepinus*; COI; DNA barcoding; Mutiara catfish.

---

# Korespondensi: Rommy Suprpto.  
Pusat Riset Perikanan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)  
E-mail: [rommy.suprpto@brin.go.id](mailto:rommy.suprpto@brin.go.id)

## PENDAHULUAN

Ikan lele Afrika (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu spesies ikan lele yang sudah lama dibudidayakan di Indonesia. Introduksi ikan lele Afrika ke Indonesia telah beberapa kali dilakukan (Iswanto *et al.* 2015a), namun demikian seiring berjalannya waktu mutu genetis ikan tersebut telah menurun karena manajemen induk yang tidak sesuai protokol yang telah ditetapkan. Telah banyak upaya yang dilakukan dalam rangka program pemuliaan ikan lele Afrika di Indonesia, dan salah satunya telah menghasilkan jenis induk unggul ikan lele Mutiara yang dibentuk melalui program seleksi (Iswanto *et al.*, 2015b; Gustiano *et al.*, 2021).

Aktivitas budidaya ikan lele di Indonesia yang semakin meningkat dalam satu dekade terakhir berpotensi terhadap penurunan sumber daya genetik. Salah satu kebiasaan dari beberapa praktisi budidaya ikan lele adalah ada kecenderungan penggunaan secara terus-menerus galur hasil budidaya, yang berpotensi menyebabkan penurunan performa karena perkawinan sedarah (*inbreeding*) (Barasa *et al.*, 2017). Kajian tentang ikan lele Mutiara terkait teknologi budidaya telah banyak dilakukan di Indonesia, namun demikian penelitian pada tingkat molekuler masih sangat terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian pada tingkat molekuler untuk menambah informasi genetik tentang ikan lele Mutiara.

Salah satu pendekatan yang banyak diterapkan dewasa ini pada penelitian-penelitian terkait informasi genomik adalah DNA *barcoding* menggunakan gen COI mitokondria. Gen Cytochrome c Oxidase I (gen COI atau gen COX1) mitokondria merupakan penanda gen universal untuk identifikasi spesies (Hebert *et al.*, 2003), termasuk untuk mempelajari biodiversitas ikan. Selain itu, analisis sekuens COI yang dihasilkan adalah untuk menghitung jarak genetik dan jumlah haplotipe antara kedua populasi. Hasil-hasil penelitian telah menunjukkan efektivitas DNA barcoding pada ikan air tawar (Hubert *et al.*, 2008; Kadarusman *et al.*, 2012) maupun ikan laut (Alcantara dan Yambot, 2016; Andriyono *et al.* 2020; Bingpeng *et al.*, 2018; Lakra *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012). Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari status genetik ikan lele Mutiara dengan melihat keragaman dalam gen COI dari mitokondria dibandingkan dengan jenis ikan lele lainnya yang ada di bank data.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Genetika dan Fisiologi BRPI Sukamandi, menggunakan koleksi ikan Lele Mutiara sebagai ikan uji sebanyak 15 ekor.

Ekstraksi DNA dari sirip ikan uji dilakukan menggunakan kit GeneJet Genomic DNA Purification (Thermo Scientific, USA). Amplifikasi sekuens gen COI menggunakan kit Maxima hot start green PCR master Mix (2X) (Fermentas, Thermo Scientific) pada PCR mycycler (Biorad, USA) dengan primer COI Fish-F2 (5'-TCG-ACT-AAT-CAT-AAA-GAT-ATC-GGC-AC-3') dan Fish-R2 (5'-ACT-TCA-GGG-TGA-CCG-AAG-AAT-CAG-AA-3') (Ward *et al.* 2005). Komposisi pereaksi PCR terdiri dari 1  $\mu$ L primer forward; 1  $\mu$ L primer reverse; 2  $\mu$ L DNA; 12,5  $\mu$ L kit Master mix PCR, dan 8,5  $\mu$ L nuclease-free water. Amplifikasi PCR menggunakan program pre-denaturasi pada suhu 95°C selama dua menit; 35 siklus PCR dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, annealing pada suhu 54°C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama satu menit; dan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama sepuluh menit. Selanjutnya elektroforesis menggunakan gel agarosa 2% (w/v), pada tegangan 60 volt selama 50 menit. Visualisasi DNA menggunakan gel red (Biotum Inc. California, USA) dan gel doc UV transiluminator, dan dilanjutkan dengan sekuensing DNA di 1<sup>st</sup> BASE DNA, Singapura.

Pada Tabel 1 tersaji nomor akses sekuens gen COI (*Cytochrome Oxidase sub unit I*) dari beberapa spesies ikan lele yang didepositkan di GenBank yang selanjutnya akan disandingkan dengan hasil sekuens dari ikan lele Mutiara.

## Analisis Data

Sekuens DNA dari ikan lele Mutiara selanjutnya disejajarkan dengan data sekunder dari GenBank (Tabel 1) menggunakan program Clustal W dalam piranti lunak Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA X) (Kumar *et al.*, 2018). Parameter yang dianalisis meliputi pohon filogenetik, estimasi jarak genetik, dan komposisi asam amino residu. Konstruksi pohon filogenetik menggunakan pendekatan *Minimum Evolution* (Rzhetsky & Nei, 1992) dan *Maximum Likelihood* (Tamura & Nei, 1993) menggunakan model statistik Kimura-2-P dengan nilai bootstrap 1000 (Kimura, 1980). Nilai bootstrap menunjukkan banyaknya ulangan pohon filogenetik yang dikonstruksi dengan dua pendekatan diatas supaya menghasilkan pohon yang valid.

Estimasi substitusi nukleotida dianalisis dengan metode Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) menggunakan *Maximum Likelihood* dengan persamaan  $HKY + G + I$ ; G = laju evolusi gamma antar situs, dan I = laju evolusi antar situs yang tidak berubah. Rasio laju substitusi transisi dan transversi dihitung dengan persamaan  $R = [A^*G^*k_1 + T^*C^*k_2] / [(A+G)^*(T+C)]$ ,  $k_1$  = substitusi purin dan  $k_2$  = substitusi pirimidin (Tamura *et al.*, 2004).

Tabel 1. Nomor akses sekuen gen COI dari beberapa spesies ikan lele yang didepositkan di GenBank

Table 1. Accession numbers of COI gene sequence from some clariids catfish species deposited in GenBank

No	Species	Nomer Akses	Ukuran (bp)
<i>No</i>	<i>Species</i>	<i>Accession Number</i>	<i>Size (bp)</i>
1	<i>Clarias gariepinus</i>	MW591039.1	652
2	<i>Clarias gariepinus</i>	MK074109.1	652
3	<i>Clarias gariepinus</i>	MK074106.1	652
4	<i>Clarias gariepinus</i>	MK074105.1	652
5	<i>Clarias gariepinus</i>	KX946613.1	652
6	<i>Clarias gariepinus</i>	MF189951.1	658
7	<i>Clarias batrachus</i>	MK577976.1	654
8	<i>Clarias batrachus</i>	MG407373.1	652
9	<i>Clarias batrachus</i>	MG407372.1	652
10	<i>Clarias batrachus</i>	MG407364.1	652
11	<i>Clarias batrachus</i>	KU692432.1	633
12	<i>Clarias batrachus</i>	KU692431.1	624
13	<i>Clarias fuscus</i>	MT884512.1	603
14	<i>Clarias fuscus</i>	MT884511.1	603
15	<i>Clarias fuscus</i>	MT884510.1	603
16	<i>Clarias fuscus</i>	MG981075.1	551
17	<i>Clarias fuscus</i>	KF011505.1	655
18	<i>Clarias fuscus</i>	KF011504.1	655
19	<i>Clarias macrocephalus</i>	MG407382.1	652
20	<i>Clarias macrocephalus</i>	MG407381.1	652
21	<i>Clarias macrocephalus</i>	MG407378.1	653
22	<i>Clarias macrocephalus</i>	KU495728.1	652
23	<i>Clarias macrocephalus</i>	KU495727.1	652
24	<i>Clarias macrocephalus</i>	KU495726.1	652

## HASIL DAN BAHASAN

Hasil amplifikasi dan sekuensing gen COI ikan lele strain Mutiara pada penelitian ini tersaji pada Gambar 1 dan Gambar 2. Dari 15 ikan uji yang dianalisis menunjukkan ukuran pita DNA yang sama, yaitu sekitar 700 bp. Penelitian yang lain juga menunjukkan ukuran pita DNA dari *C. gariepinus* yang teramplifikasi oleh gen COI tidak jauh berbeda, yaitu 658 bp (Prasanna & Pillai, 2017) dan 652 bp (Patil *et al.*, 2018).

Analisis 39 sekuens nukleotida menurut Model Tamura-Nei menunjukkan komposisi masing-masing nukleotida, yaitu Adenin (A) 27,48%, Timin (T) 28,03%, Sitosin (C) 23,60%, dan Guanin (G) 20,89% dengan pola T > A > C > G (GC content 44,49%). Beberapa spesies ikan yang lain memiliki pola yang berbeda dari pola yang diperoleh dalam penelitian ini, seperti pada *family* Cyprinidae di India dengan pola T > C > A > G (Mohanty *et al.*, 2013) dan pada ikan *Catla catla* (Bej *et al.*, 2012); dan ada pula spesies ikan yang memiliki pola yang sama, misalnya pada ikan Kalabau (*Osteochilus spp.*) dengan pola T > A > C > G (Asiah *et al.*, 2020).

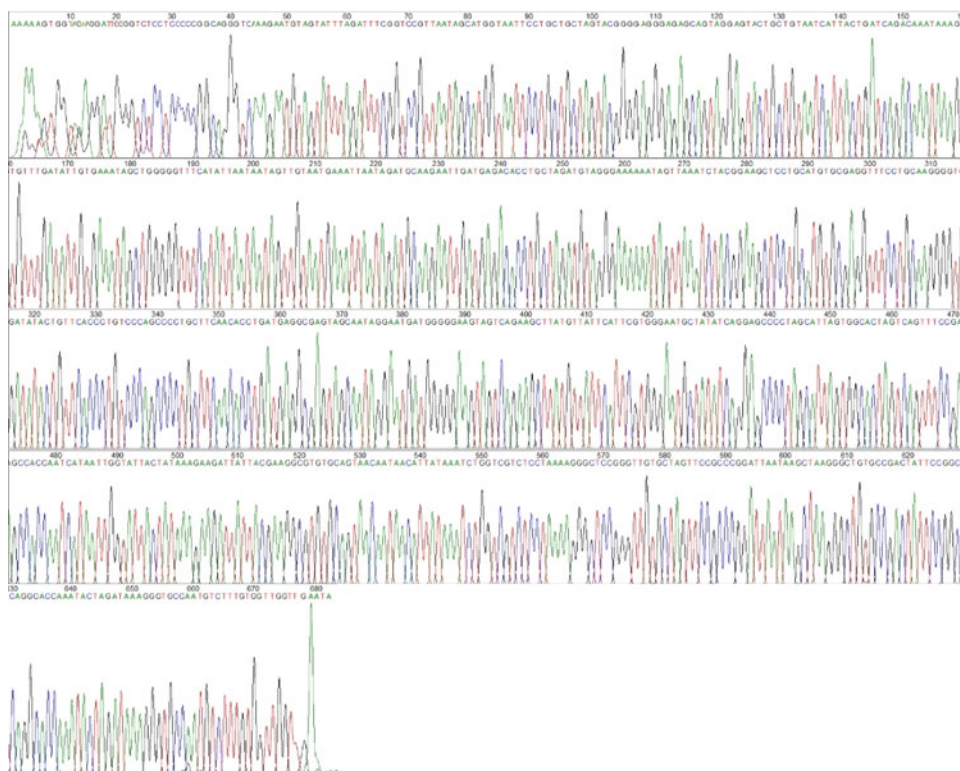
Pendugaan pola substitusi antar nukleotida yang ditentukan dengan menggunakan metode *Maximum Composite Likelihood* disajikan pada Tabel 2. Perbandingan substitusi transisi dan transversi adalah  $k_1 = 29,12$  (untuk purin) dan  $k_2 = 23,254$  (untuk pirimidin), dengan nilai bias sebesar  $R = 12,853$ . Penelitian Mohanty *et al.*, (2013) juga menjelaskan laju transisi dan transversi meningkat seiring saturasi gen COI yang muncul pada jarak 0,1287–0,1544, dan variasi ini tampaknya informatif di tingkat spesies sehingga dapat disimpulkan bahwa COI berfungsi sebagai penanda yang lebih baik untuk identifikasi spesies dalam kasus Cyprinidae daripada 16 S rRNA.

Jarak genetik ikan lele Mutiara terhadap spesies ikan lele yang lain disajikan pada Tabel 3. Jarak terpendek adalah antara ikan lele Mutiara dengan spesies *C. batrachus* sebesar 1, 2311; dan jarak terjauh yaitu antara ikan lele Mutiara dengan spesies *C. gariepinus* sebesar 1, 3441. Hasil konstruksi pohon filogenetik dengan dua metode yang berbeda, *maximum likelihood* dan *minimum*



Gambar 1. Pita amplifikasi gen COI ikan lele Mutiara

Figure 1. The bands of amplified COI gene of Mutiara catfish



Gambar 2. Hasil sekuens gen COI ikan lele Mutiara menggunakan piranti lunak MEGA X

Figure 2. The results of the COI gene sequence of Mutiara catfish using the MEGA X software

*evolution* memperlihatkan hasil yang konsisten, yakni ikan lele Mutiara (kotak merah) berada pada klade yang terpisah dari spesies ikan lele lainnya (Gambar 3).

Polimorfisme gen COI yang tinggi menjadi salah satu sebab ikan lele Mutiara terpisah dengan kelompok yang ikan lele lainnya. Hal tersebut mempertegas penelitian Imron *et al.*, (2015) yang menunjukkan bahwa seleksi selama tiga generasi telah mengubah variabilitas genetik dengan tanda-

tanda paling signifikan dapat diamati pada populasi dasar dan populasi seleksi. Hasil penelitian Iswanto *et al.*, (2015) juga menegaskan bahwa ikan lele Mutiara memiliki keragaman genetik yang relatif lebih tinggi daripada populasi pembentuknya. Parvez *et al.*, (2022) melaporkan pola serupa ikan *C. batrachus* asli Bangladesh terpisah dari klade *C. batrachus* dari negara lain, dan membentuk klade dengan *C. gariepinus* asal Afrika.



Tabel 2. Estimasi substitusi nukleotida ikan lele Mutiara

Table 2. The nucleotide substitution estimated of Mutiara catfish

	A	T	C	G
A	-	1	0,84	<b>21,65</b>
T	0,98	-	<b>19,53</b>	0,74
C	0,98	<b>23,21</b>	-	0,74
G	<b>28,49</b>	1	0,84	-

Catatan: berdasarkan *Maximum Composite Likelihood* substitusi transisi (nilai dicetak tebal) dan substitusi transversi (nilai dicetak miring).

Note: based on *Maximum Composite Likelihood* transition substitution (values in bold) and transversion substitution (values in italic).

Komposisi residu asam amino esensial dan non-esensial dari ikan lele Mutiara, *C. batrachus*, *C. fuscus*, *C. gariepinus*, dan *C. macrocephalus* ditunjukkan pada Gambar 4. Frekuensi Threonine dan Valin (Gambar 4a) dan Alanin (Gambar 4b) ikan lele Mutiara berbeda dari ikan lele lainnya. Hal ini memperkuat analisis sebelumnya yang menunjukkan bahwa ikan lele Mutiara memiliki perbedaan secara genetik dibandingkan dengan ikan lele lainnya, terutama dengan spesies *C. gariepinus*.

Threonin (Thr) adalah asam amino yang terlibat dalam banyak proses fisiologis dan biokimia, termasuk dalam pertumbuhan, efisiensi pakan, fungsi kekebalan tubuh (Habte-Tsion *et al.*, 2015), dan berperan penting dalam mengobati berbagai gangguan sistem saraf (Hyland, 2007). Defisiensi threonin mengakibatkan penurunan konsumsi pakan dan resesi pertumbuhan pada beberapa spesies ikan, seperti ikan lele (Ozorio *et al.*, 2002), ikan lele India (Ahmed, 2007) dan ikan mas India (Abidi & Khan, 2008). Hasil penelitian Dong *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa defisiensi threonin melemahkan fungsi penghalang kekebalan dengan penurunan resistensi penyakit insang, produksi senyawa antimikroba, peningkatan sitokin pro-inflamasi dan penurunan ekspresi gen sitokin anti-inflamasi. Namun demikian pada ikan lele Mutiara walaupun frekuensi threonin paling kecil dibandingkan dengan spesies lainnya, tetapi penelitian Marnis *et al.*, (2014) melaporkan bahwa ikan lele Mutiara ini memiliki daya resistansi yang baik terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophilla* dengan tingkat mortalitas 30%.

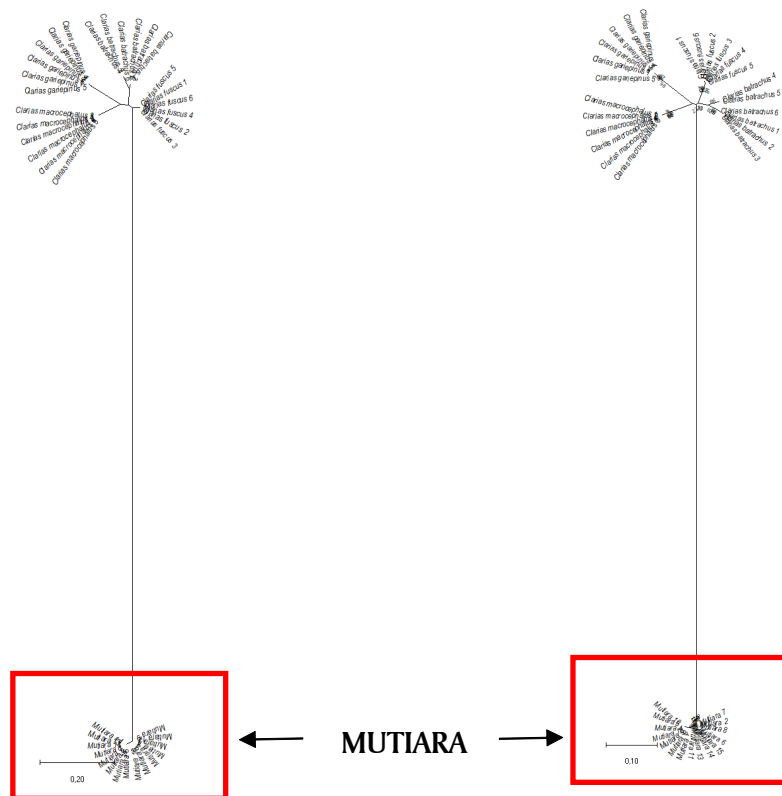
Valin diketahui memiliki peran penting dalam beberapa reaksi fisiologis dan metabolisme, juga terlibat dalam beberapa proses seperti sintesis protein, perbaikan jaringan dan keseimbangan nitrogen pada ikan (Ahmad *et al.*, 2021). Valin bersama dengan leusin dan isoleusin berperan penting dalam sintesis protein dan pertumbuhan ikan yang optimal. Ahmed & Khan (2006) menjelaskan fungsi utama valin adalah untuk memproduksi propionil-KoA, prekursor glikogenik dari

suksinil-KoA; selain itu juga terlibat dalam tubuh untuk menghasilkan beberapa senyawa biokimia yang terutama membantu dalam produksi energi. Frekuensi threonin dan valin pada ikan lele Mutiara memiliki pola yang paling berbeda dibandingkan dengan spesies yang lainnya, dimana frekuensi threonin lebih banyak dibandingkan dengan valin, sehingga perlu investigasi lebih lanjut apakah hal tersebut berkorelasi dengan tingkat resistansi ikan lele Mutiara terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang sering menyerang ikan lele. Penelitian Xiao *et al.*, (2017) juga menyimpulkan bahwa suplementasi Valin yang tepat dapat secara positif mempengaruhi reaksi imun non-spesifik pada juvenil ikan nila. Asam amino nonesensial alanin sangat bermanfaat untuk mendukung glukoneogenesis dan metabolisme leukosit (Kudsk, 2006). Osibona *et al.*, (2009) juga menyebutkan bahwa alanin bersama dengan asam amino esensial lainnya membentuk polipeptida yang akan mendorong pertumbuhan kembali dan penyembuhan jaringan.

Serangkaian analisis genotipe yang telah dilakukan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ikan lele Mutiara berada dalam kelompok tersendiri dan memiliki perbedaan dari spesies ikan lele lainnya. Hal ini perlu untuk diteliti lebih dalam karena secara fenotipe ikan lele Mutiara serupa dengan spesies ikan lele Afrika *C. gariepinus* (Iswanto *et al.*, 2015b), tetapi analisis secara genotipenya membuktikan bahwa ikan lele Mutiara memiliki perbedaan dari spesies ikan lele Afrika *C. gariepinus*. Tingginya variasi genetik pada ikan lele Mutiara diperoleh dari variasi genetik tetuanya, dimana merupakan gabungan persilangan dua arah (*diallele cross*) populasi Mesir, Paiton, Sangkuriang dan Dumbo (BPPI, 2014). Hasil penelitian Na-Nakorn *et al.*, (2004) juga menjelaskan bahwa terdapat dua alasan tingginya variasi genetik meskipun memiliki sejarah domestikasi yang panjang, yaitu variasi genetik yang tinggi dari populasi tetua dan

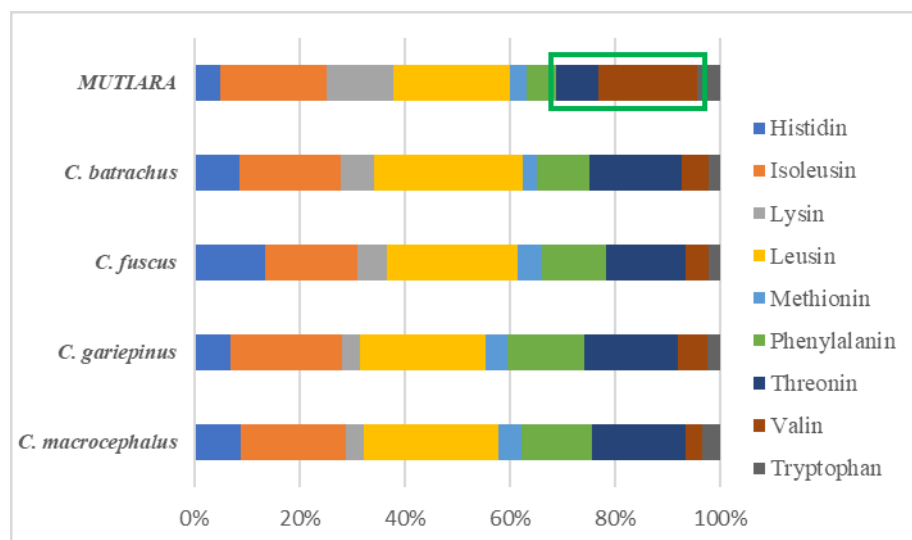
Tabel 3. Estimasi jarak genetik ikan Lele Mutiara

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39				
1. <i>Clarias macrocephalus</i> 1	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0185	0.0186	0.0186	0.0186	0.0184	0.0185	0.0156	0.0154	0.0154	0.0152	0.0161	0.0160	0.0160	0.0160	0.0160	0.0174	0.0174	0.0159	0.1665	0.1533	0.1665	0.1665	0.1665	0.1604	0.1553	0.1553	0.1665	0.1738	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	
2. <i>Clarias macrocephalus</i> 2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0185	0.0186	0.0186	0.0186	0.0186	0.0184	0.0185	0.0156	0.0154	0.0154	0.0152	0.0161	0.0160	0.0160	0.0160	0.0160	0.0174	0.0174	0.0159	0.1665	0.1533	0.1665	0.1665	0.1665	0.1604	0.1553	0.1553	0.1665	0.1738	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	
3. <i>Clarias macrocephalus</i> 3	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0185	0.0186	0.0186	0.0186	0.0186	0.0184	0.0185	0.0156	0.0154	0.0154	0.0152	0.0161	0.0160	0.0160	0.0160	0.0160	0.0174	0.0174	0.0159	0.1665	0.1533	0.1665	0.1665	0.1665	0.1604	0.1553	0.1553	0.1665	0.1738	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	
4. <i>Clarias macrocephalus</i> 4	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0185	0.0186	0.0186	0.0186	0.0186	0.0184	0.0185	0.0156	0.0154	0.0154	0.0152	0.0161	0.0160	0.0160	0.0160	0.0160	0.0174	0.0174	0.0159	0.1665	0.1533	0.1665	0.1665	0.1665	0.1604	0.1553	0.1553	0.1665	0.1738	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	
5. <i>Clarias macrocephalus</i> 5	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0185	0.0186	0.0186	0.0186	0.0186	0.0184	0.0185	0.0156	0.0154	0.0154	0.0152	0.0161	0.0160	0.0160	0.0160	0.0160	0.0174	0.0174	0.0159	0.1665	0.1533	0.1665	0.1665	0.1665	0.1604	0.1553	0.1553	0.1665	0.1738	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	
6. <i>Clarias macrocephalus</i> 6	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0185	0.0186	0.0186	0.0186	0.0186	0.0184	0.0185	0.0156	0.0154	0.0154	0.0152	0.0161	0.0160	0.0160	0.0160	0.0160	0.0174	0.0174	0.0159	0.1665	0.1533	0.1665	0.1665	0.1665	0.1604	0.1553	0.1553	0.1665	0.1738	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	0.1533	0.1553	0.1665	
7. <i>Clarias gariepinus</i> 1	0.1565	0.1565	0.1565	0.1565	0.1565	0.1565	0.0029	0.0029	0.0029	0.0048	0.0075	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0182	0.0182	0.0182	0.0182	0.0182	0.0182	0.0185	0.0185	0.0161	0.1947	0.1807	0.1807	0.1807	0.1847	0.1944	0.1913	0.1807	0.1807	0.1847	0.1944	0.1807	0.1847	0.1807	0.1807	0.1807	0.1807	0.1807	
8. <i>Clarias gariepinus</i> 2	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.0052	0.0029	0.0176	0.0174	0.0174	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0185	0.0185	0.0185	0.0163	0.1832	0.1793	0.1832	0.1832	0.1827	0.1885	0.1793	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832
9. <i>Clarias gariepinus</i> 3	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.0052	0.0029	0.0176	0.0174	0.0174	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0185	0.0185	0.0185	0.0163	0.1832	0.1793	0.1832	0.1832	0.1827	0.1885	0.1793	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832
10. <i>Clarias gariepinus</i> 4	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.1567	0.0052	0.0029	0.0176	0.0174	0.0174	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0184	0.0185	0.0185	0.0185	0.0163	0.1832	0.1793	0.1832	0.1832	0.1827	0.1885	0.1793	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832	0.1921	0.1793	0.1832
11. <i>Clarias gariepinus</i> 5	0.1541	0.1541	0.1541	0.1541	0.1541	0.1541	0.0048	0.0048	0.0048	0.0055	0.0155	0.0048	0.0170	0.0168	0.0168	0.0188	0.0166	0.0177	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161	0.0161
12. <i>Clarias gariepinus</i> 6	0.1565	0.1565	0.1565	0.1565	0.1565	0.1565	0.0051	0.0051	0.0051	0.0051	0.0137	0.0175	0.0175	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	0.0173	
13. <i>Clarias fuscus</i> 1	0.1156	0.1156	0.1156	0.1156	0.1156	0.1156	0.1440	0.1502	0.1502	0.1502	0.1332	0.1373	0.1480	0.0017	0.0017	0.0017	0.0024	0.0026	0.0127	0.0127	0.0127	0.0127	0.0138	0.0126	0.1615	0.1596	0.1615	0.1615	0.1603	0.1655	0.1596	0.1596	0.1615	0.1693	0.1615	0.1693	0.1596	0.1615	0.1596	0.1615	0.1596	0.1615	
14. <i>Clarias fuscus</i> 2	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1458	0.1480	0.1480	0.1480	0.1352	0.1352	0.1458	0.0017	0.0017	0.0017	0.0024	0.0026	0.0127	0.0127	0.0127	0.0127	0.0138	0.0126	0.1615	0.1596	0.1615	0.1615	0.1603	0.1655	0.1596	0.1596	0.1615	0.1693	0.1615	0.1693	0.1596	0.1615	0.1596	0.1615	0.1596		
15. <i>Clarias fuscus</i> 3	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1458	0.1480	0.1480	0.1480	0.1352	0.1352	0.1458	0.0017	0.0017	0.0017	0.0024	0.0026	0.0127	0.0127	0.0127	0.0127	0.0138	0.0126	0.1615	0.1596	0.1615	0.1615	0.1603	0.1655	0.1596	0.1596	0.1615	0.1693	0.1615	0.1693	0.1596	0.1615	0.1596	0.1615	0.1596		
16. <i>Clarias fuscus</i> 4	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1136	0.1458	0.1480	0.1480	0.1480	0.1352	0.1352	0.1458	0.0017	0.0017	0.0017	0.0024	0.0026	0.0127	0.0127	0.0127	0.0127	0.0138	0.0126	0.1615	0.1596	0.1615	0.1615	0.1603	0.1655	0.1596	0.1596	0.1615	0.1693	0.1615	0.1693	0.1596	0.1615	0.1596	0.1615	0.1596		
17. <i>Clarias fuscus</i> 5	0.1115	0.1115	0.1115	0.1115	0.1115	0.1115	0.1458	0.1458	0.1458	0.1458	0.1331	0.1437	0.0034	0.0017	0.0017	0.0017	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	0.0018	
18. <i>Clarias fuscus</i> 6	0.1139	0.1139	0.1139	0.1139	0.1139	0.1139	0.1475	0.1499	0.1499	0.1499	0.1358	0.1475	0.0037	0.0019	0.0019	0.0019	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	0.0037	
19. <i>Clarias batrachus</i> 1	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1345	0.1366	0.1366	0.1366	0.1346	0.1345	0.0854	0.0834	0.0834	0.0834	0.0815	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	
20. <i>Clarias batrachus</i> 2	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1345	0.1366	0.1366	0.1366	0.1346	0.1345	0.0854	0.0834	0.0834	0.0834	0.0815	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	
21. <i>Clarias batrachus</i> 3	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1280	0.1345	0.1366	0.1366	0.1366	0.1346	0.1345	0.0854	0.0834	0.0834	0.0834	0.0815	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	
22. <i>Clarias batrachus</i> 4	0.1468	0.1468	0.1468	0.1468	0.1468	0.1468	0.1621	0.1688	0.1688	0.1688	0.1600	0.1621	0.0969	0.0949	0.0949	0.0969	0.1045	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	
23. <i>Clarias batrachus</i> 5	0.1468	0.1468	0.1468	0.1468	0.1468	0.1468	0.1621	0.1688	0.1688	0.1688	0.1600	0.1621	0.0969	0.0949	0.0949	0.0969	0.1045	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	0.0533	
24. <i>Clarias batrachus</i> 6	0.1259	0.1259	0.1259	0.1259	0.1259	0.1259	0.1345	0.1366	0.1366	0.1366	0.1346	0.1345	0.0854	0.0834	0.0834	0.0834	0.0815	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	0.0831	
25. <i>Mutia</i> 1	0.3053	0.3053	0.3053	0.3053	0.3053	0.3053	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292	0.3292</							

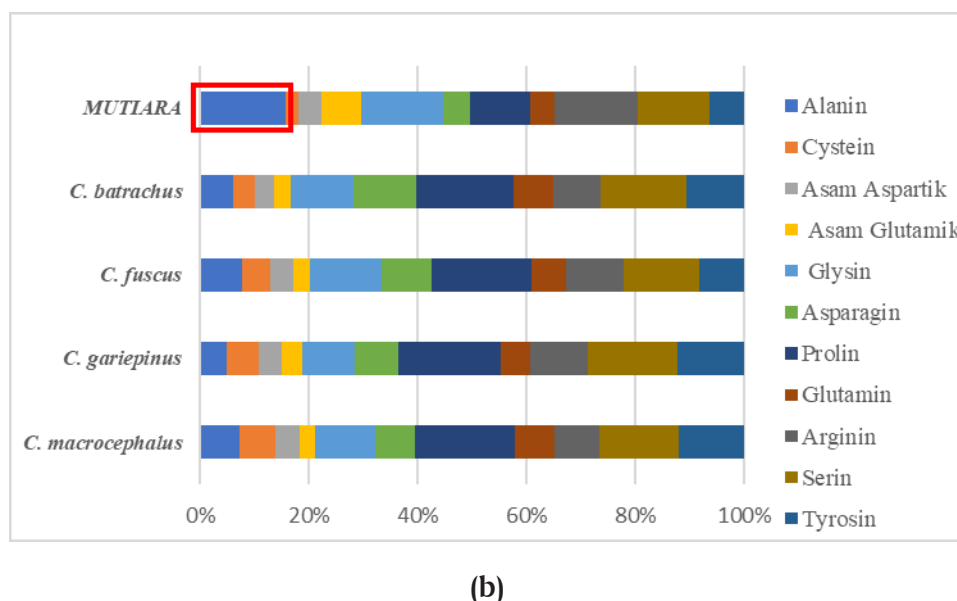


Gambar 3. Pohon filogenetik gen CO1 berdasarkan metode *Maximum Likelihood* (kiri) dan *Minimum Evolution* (kanan).

Figure 3. The phylogenetic tree of COI gene was constructed based on *Maximum Likelihood* (left) and *Minimum Evolution* (right) methods.



(a)



Gambar 4. Komposisi residu asam amino esensial (a) dan non-esensial (b) penyusun COI ikan lele Mutiara  
Figure 4. Essential (a) and non-essential (b) amino acid residues composition of Mutiara catfish

terkadang terjadi persilangan antar populasi.

#### KESIMPULAN

Pada penelitian ini ikan lele Mutiara terkonfirmasi memiliki beberapa perbedaan secara genotipe dari spesies ikan lele yang lain, baik spesies ikan lele Afrika (*C. gariepinus*) maupun spesies ikan lele lainnya (*C. macrocephalus*, *C. fuscus*, dan *C. batrachus*). Diperlukan penelitian lebih lanjut yang lebih tajam dan spesifik untuk menentukan tingkat kekerabatan ikan lele Mutiara sebagai salah satu strain ikan lele unggul di Indonesia.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada BRPI Sukamandi atas fasilitasi yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada para teknisi penelitian ikan lele BRPI Sukamandi atas bantuan teknis dalam pelaksanaan penelitian ini.

#### DAFTAR ACUAN

- Abidi, S. F., & Khan, M. A. (2008). Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquac. Res.* 39, 1498–1505.
- Ahmad, I., Ahmed, I., & Dar, N. A. (2021). Dietary valine improved growth, immunity, enzymatic activities and expression of TOR signaling cascade genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fingerling. *Nature*. 11: 22089. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01142-4>.

- Ahmed, I. & Khan, M. A. (2006). Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Br. J. Nutr.* 96, 450–460.
- Ahmed, I. (2007). Dietary amino acid L-threonine requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) estimated by growth and biochemical parameters. *Aquacult. Int.* 15, 337–350.
- Alcantara, S. G., & Yambot, A. V. (2016). DNA barcoding of commercially important grouper species (Perciformes, Serranidae) in the Philippines. *Mitochondrial DNA Part A*, 27(6):3837–3845.
- Andriyono, S., Alam, M. J., Kim, H. W. (2020). The Jawa and Bali Island marine fish molecular identification to improve 12S rRNA-tRNA Valin-16S rRNA partial region sequences on the GenBank Database. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 36:343–356.
- Asiah, N., Junianto, J., Yustiati, A., Sukendi, S., Fahmi, M. R., Muchlisin, Z. A., Kadapi, M., & Windarti, W. (2020). Biometric and genetic differences in Kelabau (*Osteochilus* spp.) as revealed using cytochrome c oxidase subunit 1. *F1000 Research* 2020, 8:177. DOI: 10.12688/f1000research.17319.3.
- Balai Penelitian Pemuliaan Ikan [BPPI]. (2014). Petunjuk teknis budidaya ikan lele Mutiara. Balai Penelitian Pemuliaan Ikan (BPPI). Sukamandi, (52 hlm).
- Barasa, J.E., Mdyogolo, S., Abila, R., Grobler, J.P., Skilo,



- R.A., Bindeman, H., Ndotono, N.M., Chemoiwa, E.J., Dangasuk, O.G., Kaunda-Arara, B., & Verheyen, E. (2017). Genetic diversity and population structure of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) in Kenya: implication for conservation and aquaculture. *Belgian Journal of Zoology*, 147 (2), 105-127.
- Bej, D., Sahoo, L., Das, S. P., Swain, S., Jayasankar, P., Das, P. C., Routray, P., Swain, S. K., Jena, J. K., & Das, P. (2012). Complete mitochondrial genome sequence of *Catla catla* and its phylogenetic consideration. *Mol Biol Rep* 39:10347–54. DOI: 10.1007/s11033-012-1912-5.
- 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.
- Dong, Y. W., Feng, L., Jiang, W. D., Liu, Y., Wu, P., Jiang, J., Kuang, S. Y., Tang, L., Tang, W. N., Zhang, Y. A., & Zhou, X. Q. (2018). Dietary threonine deficiency depressed the disease resistance, immune and physical barriers in the gills of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) under infection of *Flavobacterium columnare*. *Fish and Shellfish Immunology*. 72: 161-173.
- Gustiano, R., Prakoso, V.A., Radona, D., Dewi, R.R.S.P.S., Saputra, A., Nurhidayat. (2021). A sustainable aquaculture model in Indonesia: multibiotechnical approach in *Clarias* farming. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 718 (012039), 1-10.
- Habte-Tsion, H. M., Liu, B., Ren, M., Ge, X., Xie, J., Zhou, Q., Miao, L., Pan, L., & Chen, R. (2015). Dietary threonine requirement of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture*. 437: 304-311.
- Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., and de Waard, J.R. (2003). Biological Identifications through DNA Barcodes. *Proceedings of Royal Society Biological sciences*, 270 (1512): 313–321.
- Hubert, N., Hanner, R., Holm, E., Mandrak, N. E., Taylor, E., BurrIDGE, M., Watkinson, D., Dumont, P., Curry, A., & Bentzen, P. (2008). Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *PLoS One*, 3(6):e2490.
- Hyland, K. (2007). Inherited disorders affecting dopamine and serotonin: critical neurotransmitters derived from aromatic amino acids. *Journal of Nutrition*, vol. 137(6) 1568–1572.
- Imron, Iswanto, B., Marnis, H., Suprpto, R., and Ridzwan, N. S. (2015). The dynamics of genetic variability in three generations of mass selection for fast growth in African catfish, *Clarias gariepinus* assessed by microsatellite markers. *Indonesian Aquaculture Journal*. 10 (2): 113-123. <http://dx.doi.org/10.15578/iaj.10.2.2015.113-123>.
- Iswanto, B., Imron, Suprpto, R., Marnis, H. (2015a). Morphological characterization of the African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) strains introduced to Indonesia. *Indonesian Aquaculture Journal*, 10(2): 91-99.
- Iswanto, B., Suprpto, R., Marnis, H., Imron. (2015b). Karakteristik Morfologis dan Genetis Ikan Lele Afrika (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) Strain Mutiara. *Jurnal Riset Akuakultur*. Volume 10(3):325-334.
- Kadarusman, N. H., Hadiaty, R. K., Sudarto, E. P., & Pouyaud, L. (2012). Cryptic diversity in Indo-Australian rainbow fishes revealed by DNA barcoding: implications for conservation in a biodiversity hotspot candidate. *PLoS One*, 7(7):e40627.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.
- Kudsk, K. A. (2006). Immunonutrition in surgery and critical care. *Annu Rev Nutr* 26, 463–479.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Lakra, W., Verma, M., Goswami, M., Lal, K. K., Mohindra, V., Punia, P., Gopalakrishnan, A., Singh, K., Ward, R. D., & Hebert, P. (2011). DNA barcoding Indian marine fishes. *Molecular Ecology Resources*, 11(1):60-71.
- Marnis, H., Iswanto, B., & Suprpto, R. (2014). Uji ketahanan ikan lele Mutiara *Clarias gariepinus* hasil seleksi individu terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Prosiding Seminar Nasional Perikanan Indonesia 2014*. Jilid 2: Budidaya Perairan. ISBN : 978-602-72574-0-5 (jil.2).
- Mohanty, M., Jayasankar, P., & Sahoo, L. (2013). A comparative study of COI and 16 SrRNA genes for DNA barcoding of cultivable carps in India. *Mitochondrial DNA*. 26 (1): 1-9. DOI: 10.3109/19401736.2013.823172.
- Na-Nakorn, U., Kamonrat, W., & Ngamsiri, T. (2004). Genetic diversity of walking catfish, *Clarias macrocephalus*, in Thailand and evidence of genetic introgression from introduced farmed *C. gariepinus*. *Aquaculture*. 240 :145-163. DOI : 10.1016/j.aquaculture.2004.08.001.

- Osibona, A. O., Kusemiju, K., & Akande, G. R. (2009). Fatty acid composition and amino acid profile of two freshwater species African catfish (*Clarias gariepinus*) and Tilapia (*Tilapia zillii*). *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.* Vol.9. 608-621.
- Ozorio, R.O.A., Booms, G.H.R., Huisman, E.A., & Verreth, I.A.J. (2002). Changes in amino acid composition in the tissues of African catfish (*Clarias gariepinus*) as a consequence of dietary L-carnitine supplements. *J. Appl. Ichthyol.* 18, 140–147.
- Patil, T. S., Jamdade, R. A., Patil, S. M., Govindwar, S. P., & Muley, D. V. (2018). DNA barcode based delineation of freshwater fishes from northern Western Ghats of India, one of the world's biodiversity hotspots. *Springer: Biodiversity and Conservation* 27 (12). DOI:10.1007/s10531-018-1604-0.
- Parvez, I., Rumi, R.A., Ray, P.R., Hassan, M.M., Sultana, S., Pervin, R., Suwanno, S., & Pradit, S. (2022). Invasion of African *Clarias gariepinus* Drives Genetic Erosion of the Indigenous *C. batrachus* in Bangladesh. *Biology* 11, 252. <https://doi.org/10.3390/biology11020252>
- Prasannan, K. and Pillai, P. M. (2017). Barcoding of selected fishes of high altitude ranges of southern Western Ghats, Kerala, India. *Clarias gariepinus* isolate CGAM cytochrome oxidase subunit I (COI) gene - Nucleotide - NCBI (nih.gov) (Accessed on 17/10/2022).
- Rzhetsky, A. and Nei, M. (1992). A simple method for estimating and testing minimum evolution trees. *Molecular Biology and Evolution* 9:945-967.
- Tamura, K. and Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- Tamura K., Nei M., & Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101:11030-11035. <https://doi.org/10.1073/pnas.0404206101>.
- Wang, Z. D., Guo, Y. S., Liu, X. M., Fan, Y. B., & Liu, C. W. (2012). DNA barcoding South China Sea fishes. *Mitochondrial DNA*, 23(5):405-410.
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., & Hebert, P.D.N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, (1462), 1847-1857. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1716>.
- Xiao, W., Li, D. Y., Zhu, J. L., Zou, Z. Y., Yue, Y. R., & Yang, H. (2017). Dietary valine requirement of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquacult Nutr.* 00:1–9. <https://doi.org/10.1111/anu.12562>.