

**STATUS TAKSONOMI IKAN NOMEI DARI PERAIRAN TARAKAN,
KALIMANTAN UTARA BERDASARKAN GEN 16S rRNA SEBAGAI UPAYA
KONSERVASI IKAN LAUT LOKAL INDONESIA**

1) Endik Deni Nugroho, 2) Dwi Anggorowati Rahayu

*^{1,2)} Staf Pengajar Jurusan Biologi
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Borneo Tarakan
Jl. Amal Lama No.1, Tarakan. Kalimantan Utara. 77123.
Email: endwi.2011@gmail.com*

ABSTRACT

Tarakan waters have geographical and landscape that supported a wealth of abundant and diverse fish. One of the natural resources on the Tarakan Island is Nomei fish. This fish is known by local names of Pepija or Lembe-Lembe. Nomei fish catch has decreased since 2009. There has been no real effort in determining the fish conservation strategies. Data on Nomei taxonomy is still lacking, so far limited research has been conducted only on bio ecology aspect. The purposed of this study was to determine the taxonomic status of Nomei fish from Tarakan based on 16S rRNA gene sequences and determine relationship with closely related species. Genetic data collection were done by taking two individual pectoral fin from each fish from Amal and Juata waters. Total DNA isolated using Roche KIT with some modifications. 16S rRNA gene amplification were done by using a universal primer. Alignment results showed that there were several automorfi nucleotide characters distinguishing of this genus. Based on 16S rRNA gene sequences with consistency of phylogenetic topology is generated, it can be concluded that Nomei fish from Amal and Juata included in Harpodon genus, species Harpodon nehereus. This is consistent with the description of morphological characters were Harpodon nehereus. It is also strengthened by divergent sequences of Harpodon sp. Amal 1 and Harpodon sp. Amal 2 (0%); while Harpodon sp. Juata 1 and Harpodon sp. Juata 2 (0%).

Keywords : *taxonomic status, Nomei fish, 16S rRNA gene, conservation*

PENDAHULUAN

Ikan Demersal merupakan sumberdaya ikan yang cukup penting di Indonesia. Hasil penelitian oleh Komisi Ilmiah *Stock Assessment* tahun 2001 menunjukkan bahwa potensi lestari ikan demersal di Indonesia diduga sebesar 1.370,10 juta ton/tahun, sebesar 27% berada di Laut Jawa, yaitu sekitar 375,20 juta ton/tahun. Salah satu ikan demersal yang memiliki nilai ekonomis tinggi yaitu ikan Nomei.

Ikan Nomei hidup di dasar, lumpur, daerah pantai, muara sungai, memiliki panjang 40 cm, dan umumnya 10-25 cm.

Ikan Nomei tergolong buas, makanannya berupa binatang dasar, ikan-ikan kecil, penangkapan dengan *trawl*, macam-rnacam pukat tepi, jermal, dipasarkan dalam bentuk segar, kering tanpa garam, dan harga murah. Daerah penyebaran; Laut Jawa, Sumatera, sepanjang Kalimantan, Sulawesi Selatan, Laut Arafuru, Teluk Benggala dan sepanjang pantai Laut Cina Selatan.

Ikan Nomei merupakan ikan komersial yang banyak dipasarkan dalam bentuk ikan kering. Ikan Nomei menjadi salah satu makanan khas Kota Tarakan. Menurut DKP Tarakan (2002) Ikan ini mempunyai potensi yang cukup besar, yakni 10 ton per bulan dalam bentuk segar

atau \pm 3 ton ikan Nomei kering. KKP (2011) melaporkan bahwa penangkapan ikan Nomei pada tahun 2010 sekitar 149 ton di wilayah Kalimantan Timur, sedangkan pada wilayah perairan pantai barat Kalimantan, hasil tangkapan ikan Nomei pada tahun 2010 yaitu 44 ton, tetapi Direktorat Pengembangan Potensi Daerah BKPM tahun 2009 melaporkan potensi perikanan tangkap di Kalimantan Barat sebesar 807 ton. Dari data di atas hasil penangkapan ikan Nomei mengalami penurunan.

Firdaus (2010) menyatakan bahwa target tangkapan ikan Nomei di Tarakan Kalimantan Timur, nilai laju tangkap sebesar 16,10 kg/jam (*main catch*) dan 3,43 kg/jam (HTS), dengan rata-rata durasi waktu *towing* 3,04 jam/trip. Jika intensitas penangkapannya terus meningkat dan berlangsung terus menerus tanpa masa tenggang, maka dikhawatirkan populasi ikan Nomei akan semakin menurun. Hal ini terlihat dari beberapa hasil wawancara dengan nelayan setempat yang dikatakan bahwa hasil tangkapan Ikan Nomei mengalami penurunan (komunikasi pribadi).

Semakin berkembangnya teknologi, penggunaan sekuen DNA dalam penelitian taksonomi telah meningkat pesat dan telah dilakukan pada semua tingkatan taksonomi, misalnya famili, genus, dan spesies. Sekuen DNA yang sering digunakan dalam penelusuran hubungan kekerabatan, penelusuran evolusi, dan sistematika molekuler adalah genom mitokondria (Ward et al., 2005; Hidayat dan Pancoro, 2006). Hal ini dikarenakan genom mitokondria memiliki laju mutasi sepuluh kali lipat lebih tinggi daripada genom inti, tidak memiliki intron, jarang terjadi rekombinasi, genom mitokondria bersifat monofiletik, diturunkan secara maternal dalam bentuk haploid berdasarkan garis keturunan maternal. Analisis molekuler digunakan untuk memperkuat hasil identifikasi spesies dari karakter morfologi karena memiliki tingkat akurasi yang tinggi.

Gen yang digunakan sebagai marka untuk identifikasi spesies salah satunya adalah gen *16S rRNA*. Gen ini memiliki kemampuan untuk penelusuran kekerabatan pada kategori pertengahan yaitu ditingkat famili dan genus (Knowlton & Weight, 1998; Popa et al., 2007; Mitani et al., 2009; Cawthorn et al., 2012). Gen *16S rRNA* terbukti berpotensi dalam studi filogenetik serta menyediakan informasi sistematika vertebrata darat dan laut (Allard et al., 1992). Adanya mutasi pada beberapa daerah gen *16S rRNA* ini dapat menunjukkan variasi untuk membedakan spesies yang berbeda (Vences et al., 2005). Pondella dkk. (2003) menyatakan penggunaan gen *16S rRNA* berhasil menunjukkan hubungan kekerabatan dari kadal juga pada ikan, ketimun laut dan organisme lainnya (Byrne et al., 2010). Rahayu (2013) menyatakan bahwa dengan menggunakan partial gen *16S rRNA* mampu mengelompokkan ikan genus *Tor* yang berasal dari daerah yang berbeda, gen ini telah berhasil merekonstruksi filogenetik pada ikan laut, seperti *Centropomidae* dan *Epinephelinae* (Tringali et al., 1999), beberapa kelompok ikan di Afrika Selatan (Cawthorn et al., 2012) serta mampu membedakan populasi *Tor duoronensis* dan *Tor tambroides* dari Sarawak, Malaysia (Nguyen et al., 2006).

Data mengenai ikan Nomei masih kurang, belum ada penelitian dasar kearah sistematika ikan tersebut. Penelitian yang telah dilakukan terbatas pada aspek bioekologi dan biologinya. Penyebaran yang berbeda memungkinkan terjadi perbedaan morfologi dan genetik. Oleh karena itu, studi sistematika diperlukan untuk mengungkapkan status spesies ikan tersebut berdasarkan sekuen gen *16S rRNA* ikan Nomei dari perairan Tarakan, untuk memperkuat penelitian berdasarkan morfologi. Hasil penelitian ini digunakan sebagai *data base* ikan lokal Indonesia, khususnya Kota Tarakan yaitu berupa informasi status taksonomi Ikan Nomei, informasi variasi genetik Ikan Nomei, pengenalan kepada masyarakat terutama

mahasiswa dan pembelajaran berbasis potensi lokal dengan membuat bahan ajar yang disesuaikan dengan kurikulum sekolah dan perguruan tinggi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif. Penelitian dilaksanakan bulan Oktober – Desember 2014. Lokasi pengambilan sampel ikan Nomei (*Harpodon nehereus*) adalah di perairan Amal dan Juata Tarakan, Kalimantan Utara dan pengambilan data genetik dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Negeri Malang.

Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah isolasi DNA total dengan menggunakan Kit Roche dengan beberapa modifikasi. Setelah mendapatkan DNA total, segera dilakukan uji kuantitatif dengan menggunakan UV spektrofotometer *NANO DROP 2000*. Hasil isolasi DNA pada masing-masing sampel diambil sebanyak 3 µl dan di campur dengan 1 µl *loading dye* dengan 2 µl akuades steril. Campuran DNA sampel, akuades steril dan *loading dye* dimasukkan dalam sumuran gel agarosa dengan hati-hati menggunakan mikropipet. Running DNA dilakukan dengan menghubungkan katoda dan anoda pada sumber tegangan 100 V, 200 MA selama 1 jam. Pengamatan pita DNA yang terbentuk dilakukan dengan menggunakan *UV Transiluminator*. Setelah didapatkan DNA dengan konsentrasi tinggi dan tidak terkontaminasi RNA ataupun protein, langkah selanjutnya adalah tahap amplifikasi gen *16S rRNA* dengan primer universal (Palumbi *et al.*, 1991).

Tabel 1. Primer Gen *16S rRNA*

Gen	Nama Primer dan Sekuen	Ta
<i>16S rRNA</i>	16SarL (5'-CGCCTGTTATCAAA AACAT-3') 16SbrH (5'-CCG GTCTGAACTCAG ATCACGT-3')	55

Komposisi PCR untuk gen *16S rRNA* dengan volume total volume 30 µl yaitu 2x PCR Master Mix Solution 15µL, template

DNA 3 µL, Primer F (10 pmol/ µL) 3 µL, Primer R (10 pmol/ µL) 3 µL, dan ddH₂O 6 µL. Selanjutnya dimasukkan dalam mesin PCR dengan menggunakan program PCR yang sesuai untuk proses amplifikasi gen tersebut (Tabel 1). Verifikasi hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1% yang ditambahkan dengan 0,5 mg/ml EtBr (*ethidium bromide*). Hasil elektroforesis dipaparkan di atas UV-transiluminator dan difoto dengan kamera digital.

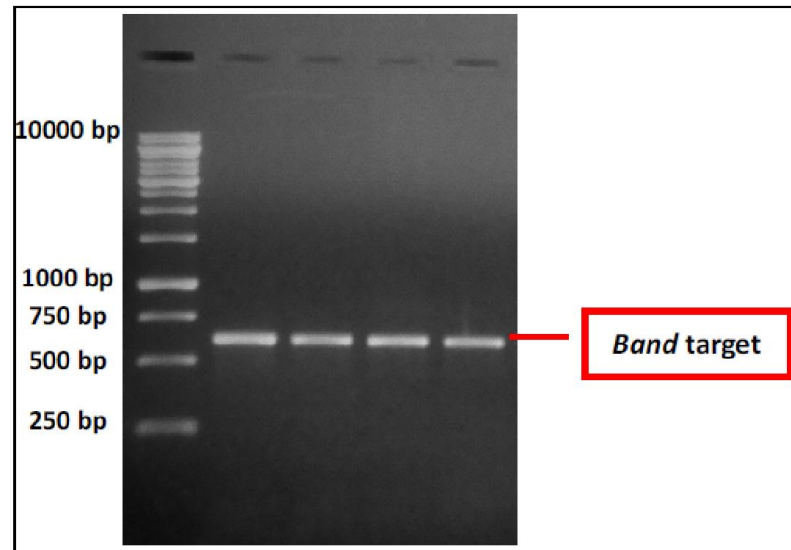
Analisis sekuen *barcode* gen *16S rRNA* dilakukan dengan menggunakan beberapa program komputer yaitu: DNA Baser untuk membuat *consensus sequence*; BLAST untuk mengetahui kecocokan gen target dengan *Query* yang diperoleh dari *Gene Bank*, *BOLD system*, dan *FISH-BOL*; Clustal-X untuk membuat *multiple alignment* antara gen *16S rRNA* sampel dengan *data base* dari kerabat dekat ikan Famili Synodontidae. Langkah selanjutnya yaitu pembuatan rekonstruksi topologi filogenetik dilakukan dengan menggunakan program komputer *MEGA 5* dengan metode *Maximum Parsimony* menggunakan model perhitungan algoritmik *CNI (Close Neighbor Interchange) onrandom tree* menggunakan *Random addition sequence* dilakukan sebanyak 10 kali pengulangan, *Minimum Evolution* dan *Neighbor Joining* dengan model perhitungan algoritmik parameter Kimura-2, dan *Maximum Likelihood* dengan menggunakan model perhitungan algoritmik *HKY (Hasegawa Kishino Yano)*. Evaluasi pohon dilakukan dengan menggunakan analisis *bootstrap* sebanyak 1000 kali pengulangan. Perhitungan nilai similaritas yaitu: **Persentase Similaritas = (1 - Jarak Genetik) x 100%**

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ikan Nomei dari dua lokasi perairan yaitu perairan Amal dan Juata, Tarakan, Kalimantan Utara diidentifikasi berdasarkan gen *16S rRNA*. Gen *16S rRNA* memiliki kemampuan untuk penelusuran kekerabatan

pada kategori pertengahan yaitu ditingkat famili dan genus (Knowlton & Weight, 1998; Popa et al., 2007). Gen *16S rRNA* dapat digunakan untuk menjelaskan hubungan kekerabatan dari ikan pada level taksonomi yang berbeda, hal ini

dikarenakan gen tersebut sangat *conserved* dan memiliki laju evolusi lambat (Dudu et al., 2011). Sekuen gen *16S rRNA* Ikan Nomei dari perairan Amal dan Juata sepanjang ± 550 bp.



Gambar 1. Hasil amplifikasi gen *16S rRNA* ikan Nomei (*Harpodon sp.*) Amal dan Juata pada gel Agarosa 1% (DNA Marker 1 Kb). Ket: M: marker; 1: ikan Nomei Amal 1; 2: ikan Nomei Amal 2; 3: ikan Nomei Juata 1; 4: ikan Nomei Juata 2

Setelah mendapatkan pita DNA yang sesuai dengan panjang gen target, langkah selanjutnya yaitu melakukan *sekuensing* untuk mengkonfirmasi hasil amplifikasi gen *16S rRNA* dari masing-masing sampel. Hasil *sekuensing* tersebut selanjutnya dikonfirmasi dengan *BLAST* untuk mengetahui apakah sekuen gen yang didapat adalah gen target dari ikan genus Harpodon. Setelah dilakukan konfirmasi dengan *BLAST* diketahui bahwa sekuen gen yang diperoleh adalah benar sekuen gen *16S rRNA*. Hal ini dapat dibuktikan dari tingkat homologi sekuen gen *16S rRNA* yang diperoleh dengan sekuen gen *16S*

rRNA Query dari Gene Bank yaitu *Saurida undosquamis* menunjukkan kecocokan yang tinggi yaitu 91%.

Hasil *alignment* menunjukkan bahwa didapatkan total sekuen gen *16S rRNA* ikan Nomei dari perairan Amal dan Juata adalah 628-629 bp. *Alignment* tersebut dilakukan untuk menentukan tingkat homologi dari urutan basa sekuen gen *16S rRNA* yang diperoleh antar sampel. Komposisi basa nukleotida antar sampel adalah basa nukleotida A=33.54%, C=26.76%, G=22.53% serta T=17.18%. Basa yang mendominasi yaitu basa T dan A.

Tabel 2. Alignment gen *16S rRNA* ikan Nomei dari Perairan Amal dan Juata dengan Genus *Saurida*

	10 20 30 40 50 60 70
Harpodon_sp._Amal_2	GCCCTGTGACTTAAGAGTTTAAACGGCCGCGGTATCTTGACCGTGCGAAGGTAGCGCAATCACTTGTCCCT
Harpodon_sp._Juata_1	GCCCTGTGACTTAAGAGTTTAAACGGCCGCGGTATCTTGACCGTGCGAAGGTAGCGCAATCACTTGTCCCT
Harpodon_sp._Amal_1	GCCCTGTGACTTAAGAGTTTAAACGGCCGCGGTATCTTGACCGTGCGAAGGTAGCGCAATCACTTGTCCCT
Harpodon_sp._Juata_2	GCCCTGTGACTTAAGAGTTTAAACGGCCGCGGTATCTTGACCGTGCGAAGGTAGCGCAATCACTTGTCCCT
Saurida_undosquamis	GCCCTGTGACTTAAGAGTTTAAACGGCCGCGGTATCTTGACCGTGCGAAGGTAGCGCAATCACTTGTCCCT
Saurida_wanieso	GCCCTGTGACTTAAGAGTTTAAACGGCCGCGGTATCTTGACCGTGCGAAGGTAGCGCAATCACTTGTCCCT
Clustal_Consensus	*****
	80 90 100 110 120 130 140
Harpodon_sp._Amal_2	TAAATGGGGACCCGTATGAATGGCATAACGAGGGCTCAACTGTCTCCCTCCCCAGTCAATGAAATTGAT
Harpodon_sp._Juata_1	TAAATGGGGACCCGTATGAATGGCATAACGAGGGCTCAACTGTCTCCCTCCCCAGTCAATGAAATTGAT
Harpodon_sp._Amal_1	TAAATGGGGACCCGTATGAATGGCATAACGAGGGCTCAACTGTCTCCCTCCCCAGTCAATGAAATTGAT
Harpodon_sp._Juata_2	TAAATGGGGACCCGTATGAATGGCATAACGAGGGCTCAACTGTCTCCCTCCCCAGTCAATGAAATTGAT
Saurida_undosquamis	TAAATGGGGACCCGTATGAATGGCATAACGAGGGCTCAACTGTCTCCCTCCCCAGTCAATGAAATTGAT
Saurida_wanieso	TAAATGGGGACCCGTATGAATGGCATAACGAGGGCTCAACTGTCTCCCTCCCCAGTCAATGAAATTGAT
Clustal_Consensus	*****
	150 160 170 180 190 200 210
Harpodon_sp._Amal_2	TTCCCGTGCAGAAGCGGGATTTAAACCATAAGACGAGAAGACCCTATGGAGCTTTAGACATTAAGCAGC
Harpodon_sp._Juata_1	TTCCCGTGCAGAAGCGGGATTTAAACCATAAGACGAGAAGACCCTATGGAGCTTTAGACATTAAGCAGC
Harpodon_sp._Amal_1	TTCCCGTGCAGAAGCGGGATTTAAACCATAAGACGAGAAGACCCTATGGAGCTTTAGACATTAAGCAGC
Harpodon_sp._Juata_2	TTCCCGTGCAGAAGCGGGATTTAAACCATAAGACGAGAAGACCCTATGGAGCTTTAGACATTAAGCAGC
Saurida_undosquamis	TTCCCGTGCAGAAGCGGGATTTAAACCATAAGACGAGAAGACCCTATGGAGCTTTAGACATTAAGCAGC
Saurida_wanieso	TTCCCGTGCAGAAGCGGGATTTAAACCATAAGACGAGAAGACCCTATGGAGCTTTAGACATTAAGCAGC
Clustal_Consensus	*****
	220 230 240 250 260 270 280
Harpodon_sp._Amal_2	CTACGACAAGCAGCCGTGTAAAACAG-CTACAAACAACGTT-AACCCTCCTGAAGTGTCTTTGGTTGGGG
Harpodon_sp._Juata_1	CTACGACAAGCAGCCGTGTAAAACAG-CTACAAACAACGTT-AACCCTCCTGAAGTGTCTTTGGTTGGGG
Harpodon_sp._Amal_1	CTACGACAAGCAGCCGTGTAAAACAG-CTACAAACAACGTT-AACCCTCCTGAAGTGTCTTTGGTTGGGG
Harpodon_sp._Juata_2	CTACGACAAGCAGCCGTGTAAAACAG-CTACAAACAACGTT-AACCCTCCTGAAGTGTCTTTGGTTGGGG
Saurida_undosquamis	CCACAAAAACAACCCATACCAATGGCCATAGAACCAACGTGGAATCCTGTGAAGTGTCTTTGGTTGGGG
Saurida_wanieso	CCACAAAAACAACCCATACCAATGG-CTTCGAAACAACGTGGAACCTGTCTGAAGTGTCTTTGGTTGGGG
Clustal_Consensus	*****
	290 300 310 320 330 340 350
Harpodon_sp._Amal_2	CGACCGTGGGATAAAATTAACCTCCCATGAGGACCGGAACCTAACCTTCCAGAACTAAGGGCCACTGCCCT
Harpodon_sp._Juata_1	CGACCGTGGGATAAAATTAACCTCCCATGAGGACCGGAACCTAACCTTCCAGAACTAAGGGCCACTGCCCT
Harpodon_sp._Amal_1	CGACCGTGGGATAAAATTAACCTCCCATGAGGACCGGAACCTAACCTTCCAGAACTAAGGGCCACTGCCCT
Harpodon_sp._Juata_2	CGACCGTGGGATAAAATTAACCTCCCATGAGGACCGGAACCTAACCTTCCAGAACTAAGGGCCACTGCCCT
Saurida_undosquamis	CGACCGTGGGATAAAATTAACCTCCCATGAGGACCGGAACCTAACCTTCCAGAACTAAGGGCCACTGCCCT
Saurida_wanieso	CGACCGTGGGATAAAATTAACCTCCCATGAGGACCGGAACCTAACCTTCCAGAACTAAGGGCCACTGCCCT
Clustal_Consensus	*****
	360 370 380 390 400 410 420
Harpodon_sp._Amal_2	AAGCAACAGAAACTCTGACCTAAATGATCCGGCCACC-CCGATCAACGGACCGAGTTACCTTAGGGAT
Harpodon_sp._Juata_1	AAGCAACAGAAACTCTGACCTAAATGATCCGGCCACC-CCGATCAACGGACCGAGTTACCTTAGGGAT
Harpodon_sp._Amal_1	AAGCAACAGAAACTCTGACCTAAATGATCCGGCCACC-CCGATCAACGGACCGAGTTACCTTAGGGAT
Harpodon_sp._Juata_2	AAGCAACAGAAACTCTGACCTAAATGATCCGGCCACC-CCGATCAACGGACCGAGTTACCTTAGGGAT
Saurida_undosquamis	AAGCAACAGAAACTCTGACCTAAATGATCCGGCCACC-CCGATCAACGGACCGAGTTACCTTAGGGAT
Saurida_wanieso	AAGCAACAGAAACTCTGACCTAAATGATCCGGCCACC-CCGATCAACGGACCGAGTTACCTTAGGGAT
Clustal_Consensus	*****
	430 440 450 460 470 480 490
Harpodon_sp._Amal_2	AACAGCGCAATCCCTCCTAGAGCCCCCATCGACGAGAGGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGACAT
Harpodon_sp._Juata_1	AACAGCGCAATCCCTCCTAGAGCCCCCATCGACGAGAGGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGACAT
Harpodon_sp._Amal_1	AACAGCGCAATCCCTCCTAGAGCCCCCATCGACGAGAGGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGACAT
Harpodon_sp._Juata_2	AACAGCGCAATCCCTCCTAGAGCCCCCATCGACGAGAGGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGACAT
Saurida_undosquamis	AACAGCGCAATCCCTCCTAGAGCCCCCATCGACGAGAGGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGACAT
Saurida_wanieso	AACAGCGCAATCCCTCCTAGAGCCCCCATCGACGAGAGGGTTTACGACCTCGATGTTGGATCAGGACAT
Clustal_Consensus	*****
	500
Harpodon_sp._Amal_2	CCTAATGGTGCAGCCGCT
Harpodon_sp._Juata_1	CCTAATGGTGCAGCCGCT
Harpodon_sp._Amal_1	CCTAATGGTGCAGCCGCT
Harpodon_sp._Juata_2	CCTAATGGTGCAGCCGCT
Saurida_undosquamis	CCTAATGGTGCAGCCGCT
Saurida_wanieso	CCTAATGGTGCAGCCGCT
Clustal_Consensus	*****

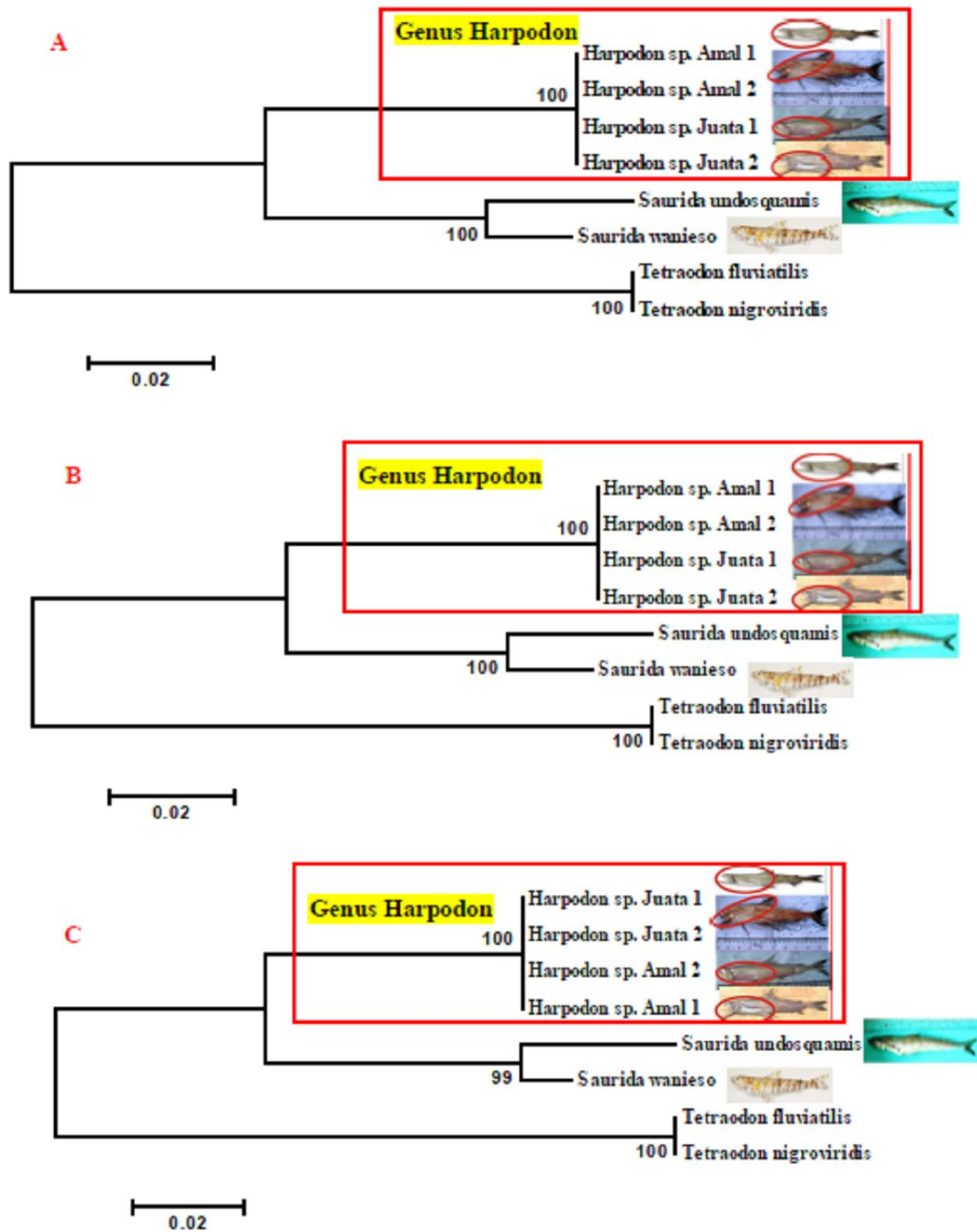
Tabel 3. Automorfi Sekuen Gen *16S rRNA* Ikan Nomei dari Perairan Amal dan Juata dengan Genus *Saurida*

Sampel/Spesies	Automorfi basa nukleotida ke-														
	69	77	119	122	143	160	164	203	215	217	220	223	227	229	230
Harpodon sp. Amal 1	C	G	T	C	C	G	T	T	G	C	G	G	T	T	A
Harpodon sp. Amal 2	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Harpodon sp. Juata 1	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Harpodon sp. Juata 2	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
<i>Saurida undosquamis</i>	T	A	C	T	T	A	C	C	A	A	A	A	A	A	C
<i>Saurida wanieso</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

Sampel/Spesies	Automorfi basa nukleotida ke-													
	231	234	235	240	242	251	259	272	297	298	318	320	321	372
Harpodon sp. Amal 1	A	C	A	A	A	T	C	T	T	T	A	C	T	A
Harpodon sp. Amal 2	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Harpodon sp. Juata 1	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Harpodon sp. Juata 2	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
<i>Saurida undosquamis</i>	C	T	G	T	G	G	G	C	A	A	G	A	A	T
<i>Saurida wanieso</i>	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•

Tabel 4. Persentase Jarak Genetik dengan Model Perhitungan Kimura 2 Parameter (Rata-rata ± SD) berdasarkan Sekuen Gen *16S rRNA* Sampel dengan Genus *Saurida*

	<i>Harpodon sp. Amal 1</i>	<i>Harpodon sp. Amal 2</i>	<i>Harpodon sp. Juata 1</i>	<i>Harpodon sp. Juata 2</i>	<i>Saurida undosquamis</i>	<i>Saurida wanieso</i>
<i>Harpodon sp. Amal 1</i>	0					
<i>Harpodon sp. Amal 2</i>	0	0				
<i>Harpodon sp. Juata 1</i>	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0			
<i>Harpodon sp. Juata 2</i>	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0	0		
<i>Saurida undosquamis</i>	10,9 ± 0,015	10,9 ± 0,015	10,9 ± 0,015	10,9 ± 0,015	0	
<i>Saurida wanieso</i>	10,00 ± 0,015	10,00 ± 0,015	10,00 ± 0,015	10,00 ± 0,015	0,3 ± 0,012	0



Gambar 2. Topologi filogenetik A. *Maximum Parsimony*, B. *Maximum Likelihood*, C. *Neighbour Joining* (*Bootstraps* 1000 X pengulangan) ikan Nomei (*Harpodon* sp.) Amal dan Juata berdasarkan sekuen gen *16S rRNA*. Kotak warna merah menunjukkan *sister spesies* ikan Nomei (*Harpodon* sp.) Amal dan Juata yang merupakan genus *Harpodon*.

Alignment tersebut tidak dapat dibandingkan dengan kerabatnya dalam satu genus dikarenakan belum ada *data base* yang merekam keberadaan ikan genus *Harpodon* dari segi molekularnya. Penelitian ini memberikan informasi status spesies ikan Nomei berdasarkan sekuen gen

16S rRNA. Pensejajaran sekuen tersebut dibuat berdasarkan hanya antar sampel yang diteliti dan genus yang berbeda yang masih dalam satu famili. Spesies pembanding yang berada dalam satu genus yaitu *Saurida undosquamis* (AB297971.1) dan *Saurida wanieso* (AB297972.1), serta

spesies *outgroup* yaitu *Tetraodon fluviatilis* (AB297972) dan *Tetraodon nigroviridis* (AB297972.1).

Basa nukleotida yang mengalami substitusi dapat digunakan sebagai penanda untuk membedakan spesies disebut basa nukleotida automorfi. Alignment basa nukleotida antar sampel (Harpodon sp. Amal 1 dan Amal 2) serta (Harpodon sp. Juata 1 dan Juata 2) sepanjang 613 bp. Basa nukleotida yang didapatkan menunjukkan *conserved* (ditunjukkan dengan tanda bintang, Tabel 2) dan terdapat 2 basa nukleotida yang automorfi, yaitu basa nukleotida no. 40 dan 604. Sampel Harpodon sp. Amal 1 dan Amal 2 pada basa nukleotida no. 40 memiliki basa Guanin (G), sedangkan Harpodon sp. Juata 1 dan Juata 2 memiliki basa Sitosin (C). Hal ini juga terjadi pada basa nukleotida no. 604 Sampel *Harpodon sp.* Amal 1 dan Amal 2 pada basa nukleotida no. 604 memiliki basa Timin (T), sedangkan *Harpodon sp.* Juata 1 dan Juata 2 memiliki basa Sitosin (C).

Hasil *alignment* menunjukkan ada beberapa basa nukleotida yang menunjukkan karakter basa automorfi pembeda genus. Hasil tersebut dianalisis berdasarkan sampel yang diperbandingkan dengan genus *Saurida*. Hal ini dikarenakan belum ada *database* genus *Harpodon*. Automorfi pembeda genus tersebut berjumlah 29 karakter basa nukleotida (Tabel 3). Salah satu basa nukleotida yang menunjukkan automorfi adalah basa nukleotida nomer 69, genus *Harpodon* memiliki basa nukleotida Sitosin (C), sedangkan genus *Saurida* memiliki basa nukleotida Timin (T).

Rekonstruksi topologi pohon filogenetik tersebut dibuat berdasarkan metode *ML*, *MP* dan *NJ* dengan (model perhitungan Kimura-2 Parameter). Model perhitungan kimura-2 parameter tersebut digunakan karena efektif untuk analisis *DNA Barcoding* (mempertimbangkan titik substitusi transisi dan transversasi) (Maralit et al., 2012). Ketiga metode perhitungan yang dipakai mendukung kekonsistenan bahwa ikan *Nomei* Amal dan Juata membentuk

sister spesies dan terpisah cluster dari *Saurida undosquamis* dan *Saurida wanieso*.

Hasil rekonstruksi topologi pohon filogenetik pertama yaitu dengan metode *MP* (*Maximum Parsimony*) diperoleh hasil yang tidak berbeda jauh dengan metode *ML* (*Maximum Likelihood*) dan *NJ* (*Neighbour Joining*) (Gambar 2. A, B C). Hal yang membedakan adalah nilai *bootstrapnya*. Nilai *bootstrap* pada kelompok monofiletik Ikan *Nomei* Amal maupun Juata, yaitu 100; dan genus *Saurida* membentuk cluster yang berbeda yang mengindikasikan berbeda genus dengan ikan *Nomei* yang ditemukan dari perairan Amal maupun Juata.

Sekuen divergen antara ikan *Nomei* (*Harpodon sp.*) Amal 1 dengan *Harpodon sp. Amal 2* adalah $0 \pm 0,000\%$; ikan *Nomei* (*Harpodon sp.*) Juata 1 dan Juata 2 dengan nilai $0 \pm 0,000\%$. Ikan *Nomei* yang ditemukan dari perairan Amal dan Juata merupakan kelompok monofiletik (satu *sister spesies*). Hal ini berbeda dengan nilai sekuen divergen dari genus *Saurida* jika dibandingkan dengan genus *Harpodon*. Nilai jarak genetik antara keduanya yaitu $10,9 \pm 0,015$ (Tabel 4). Jarak genetik yang tinggi mengindikasikan telah terjadi mutasi. Hal ini dapat dilihat pada banyaknya perbedaan basa nukleotida antara sampel dengan spesies *ingroup* yang masih dalam satu genus. Semakin besar jarak genetik antar sampel, maka kesamaan basa nukleotidanya semakin kecil (hubungan kekerabatannya semakin jauh).

Belum adanya sekuen gen *16S rRNA* genus *Harpodon* di *Gene Bank*, memberikan alternatif penelusuran status taksonomi ikan *Nomei* didasarkan pada *sister spesies* terdekatnya yang masih berada dalam satu family. Konstruksi topologi filogenetik juga dibuat dengan adanya spesies *outgroup*. Hal ini dapat memperkuat status taksonomi dan penelusuran kekerabatan ikan *Nomei* dari perairan Amal dan Juata dengan kekerabatan terdekatnya di *Gene Bank*. Konstruksi topologi filogenetik juga dibuat berdasarkan metode perhitungan algoritmik *ML*, *MP* dan *NJ* (Gambar 2 A, B, C).

Berdasarkan sekuen gen *16S rRNA* dengan kekonsistenan topologi filogenetik yang dihasilkan, maka dapat disimpulkan bahwa ikan Nomei dari perairan Amal dan Juata termasuk dalam genus *Harpodon*, spesies *Harpodon nehereus*. Hal ini sesuai dengan pendeskripsian karakter morfologi *Harpodon nehereus* (Weber dan Beaufort (1916), Bleeker (1858), Nugroho (2014), dimana sirip pektoral panjang (mencapai atau melebihi awal sirip dorsal), karakter tersebut dimiliki oleh *Harpodon sp.* Amal, *Harpodon sp.* Juata, dengan *Harpodon nehereus* (Weber & Beaufort, 1913). Hal ini juga diperkuat dengan sekuen divergen *Harpodon sp.* Amal 1 dan *Harpodon sp.* Amal 2 (0 %); sedangkan *Harpodon sp.* Juata 1 dan *Harpodon sp.* Juata 2 sebesar (0 %). Jarak genetik yang terbentuk dapat ditelusuri dari konstruksi topologi filogenetik dengan menggunakan 3 metode perhitungan algoritmik (ML, MP, dan NJ) menunjukkan kekonsistenan pembentukan cluster tersendiri antara genus *Harpodon* dan terpisah cluster dengan genus *Saurida* dan kelompok outgroup.

Penelitian serupa juga pernah dilaporkan oleh Maralit dkk. (2012) yang membuktikan bahwa ikan "Pigek" dan "Bulidao" di Filipina merupakan spesies yang sama yaitu *Mesopristes cancellatus* yang ditunjukkan dari hasil topologi pohon filogenetik berdasarkan sekuen gen *16S rRNA* bahwa keduanya membentuk *clade* yang sama dengan jarak genetik sebesar 0.004% antar sampel. Cawthorn dkk. (2012) juga melaporkan jarak genetik intraspesies ikan komersial yang diteliti di Afrika Selatan memiliki jarak genetik antara 0%-0.60%, satu genus 0.8-3.24% berada dalam satu famili sebesar 5.10%-14.5%. Rahayu (2013) menyatakan bahwa dengan menggunakan partial gen *16S rRNA* mampu mengelompokkan ikan genus *Tor* yang berasal dari daerah yang berbeda, gen ini telah berhasil merekonstruksi filogenetik pada ikan laut, seperti *Centropomidae* dan *Epinephelinae* (Tringali et al., 1999), beberapa kelompok ikan di Afrika Selatan (Cawthorn et al., 2012) serta mampu

membedakan populasi *Tor duoronensis* dan *Tor tambroides* dari Sarawak, Malaysia (Nguyen et al., 2006).

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian hasil penelitian dan pembahasan yang telah dikemukakan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut: Sekuen *barcode* gen *16S rRNA* Ikan Nomei yang ditemukan di Perairan Amal dan Juata memiliki panjang 628-629 bp terdapat karakter basa nukleotida automorfi pembeda genus dengan spesies pembanding; Berdasarkan sekuen *barcode* gen *COI* yang ditunjang dengan karakter morfologi Ikan Nomei yang ditemukan di perairan Amal dan Juata diduga adalah *Harpodon nehereus*; Berdasarkan sekuen gen *16S rRNA* Ikan Nomei yang ditemukan di perairan Amal dan Juata merupakan kelompok monofiletik.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti Eka, Abdul jabarsyah, Irawati.2005. Studi Aspek Kebiasaan Makanan Ikan Nomei (*Harpodon Nehereus*, Ham Buch,1822) Yang Tertangkap Di Perairan Juata Laut Tarakan. Jurnal Penelitian. 06 Mei 2012.
- Firdaus,M. 2010. Hasil Tangkapan Dan Laju Tangkap Unit Perikanan Pukat Tarik, Tugu Dan Kelong. *Makara, Teknologi*, Vol. 14, No. 1.
- Folmer, O., Hoeh, B. W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. 1994. DNA Primers For Amplification of Mitochondrial *Cytochrome-c Oxidase Subunit I* From Diverse Metazoan Invertebrates. *Molecular Marine Biology And Biotechnology*, 3(5): 294-299.
- Hubert, N., Hanner, R., Holm, E. M., Nicholas.E. 2008. Identifying Canadian Freshwater Fishes though

- DNA Barcodes. PLoS One*, 3(6):e2490.
- Jabarsyah, A., Astuti, Eka, Prihastuti, Dyah. 2005. Hubungan Panjang-Berat Dan Faktor Kondisi Ikan Nomei (*Harpodon nehereus* Ham Buch, 1822) Di Perairan Juata Laut Tarakan. *Jurnal Harpodon*, Vol 1 (1) 42-47.
- Genisa, Samad Abdul. 1999. Pengenalan Jenis - Jenis Ikan Laut Ekonomi Penting Di Indonesia. *Oseana, Volume XXIV, Nomor 1.17 – 38. ISSN 0216-1877*.
www.oseanografi.lipi.go.id .Pdf. Diunduh 03 Maret 2013.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2011. *Statistik Perikanan Tangkap Indonesia, 2010*. Jakarta: Direktorat Jendral Perikanan Tangkap.
- Miguel, L., Tango, J., Jay, R., Kendrich, I., Basiao, Z., Ong, P., and Quilang, J. 2011. DNA barcoding of fishes of Laguna de Bay, Philippines. *Mitochondrial DNA*. 22(4): 143–153.
- Mitani, T., Atsushi, A., Takuma, T., Sumitaka, Y., Yutaka, O & Manabu, Y. 2009. Identification of Animal Species Using The Partial Sequences in The Mitochondrial *16S rRNA* gene. *Legal Medicine*. 11: S449-S450.
- Popa, L. O., Popa, O. P., Gargarea, P. & Murariu, D. 2007. Sequence Analysis of the 5' COI Gene Region from *Dama dama* (Linnaeus, 1758) (Mammalia: Cervidae). *Travaux du Museum National d' Historie Naturelle*, L: 537-542.
- Nugroho, Endik Deni, dkk. 2014. Status Taksonomi Ikan Lokal Tarakan, Kalimantan Utara Sebagai Langkah Awal Konservasi. Prosedding Seminar Nasional Ikan VIII MII. IPB.
- Nugroho, Endik Deni, dkk. 2014. Variasi Morfologi dan Kekerabatan Ikan Nomei di Perairan Kalimantan Sebagai Upaya Konservasi Ikan Laut Lokal di Indonesia. Prosedding Seminar Nasional XI Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya. Surakarta.
- Rahayu Eka Putri, Joko Samiaji, Irvina Nurrachmi. 2012. Pola Pertumbuhan Dan Indeks Kematangan Gonad Pada Ikan Lomek (*Harpodon nehereus*) Di Perairan Dumai Provinsi Riau. Skripsi. Unri.
- Rahayu, Dwi Anggorowati., Listyorini, Dwi., Ibrohim. 2011. *Identifikasi Ikan Poeciliidae dari Telaga Sari Purwodadikabupaten Pasuruan Berdasarkan Karakter Morfologi dan DNA Barcode Cytochrome-Coxidase Subunit I (COI)*. (Skripsi). Malang: Universitas Negeri Malang.
- Rahayu, Dwi Anggorowati., Rodiyati, A., Kurniawan, Nia. *Status Taksonomi Ikan Lokal di Kabupaten Pasuruan Berdasarkan Karakter Morfologi dan DNA Mitokondria (gen 16S rRNA dan COI)*. (Tesis). Malang: Universitas Brawijaya.
- Rock, J., Costa, F. O., Walker, J. D, North, W. A., Hutchinson, F. W. & Carvalho, R. G. 2008. DNA Barcodes of Fish of The Scotia Sea, Antarctica Indicates Priority Groups For Taxonomic and Systematics Focus. *Antartic Science*, 20(3): 253-262.
- Weber, M. & L. F. de Beaufort, 1916. The fishes of the Indo-Australian Archipelago. II. Harpodon. Lesueur, *journ.Acad. Nat. Sc. V. 1825. P48*.
- www. ITIS. org. 2011. *Integrated Taxonomic Information System*.
- www. Fishbase. org. 2011. *A Global Information System on Fishes*.