

KEANEKARAGAMAN GENETIK, MORFOLOGI DAN MORFOMETRI IKAN ENDEMIK DI DANAU RAWA PENING DENGAN PENDEKATAN DNA *BARCODING*

Genetic Diversity, Morphology and Morphometry of Endemic Fish in Rawa Pening Lake with DNA Barcoding Approach

Nisrina Septi Haryani*, Agus Hartoko dan Diah Ayuningrum
Departemen Sumberdaya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Jl. Prof Soedarto SH, Tembalang, Semarang Indonesia 50275; Telephone/Fax: 024-76480685
Email: nisrin40@gmail.com

Diserahkan tanggal 27 Desember 2021, Diterima tanggal 5 Agustus 2022

ABSTRAK

Rawa Pening terletak di Jawa tengah adalah danau terbentuk alami melalui proses letusan vulkanik yang mengalurkan lava *basalt* dan menyumbat aliran Kali Pening daerah Tuntang yang berakibat lembah pening yang berhutan tropik berubah menjadi rawa. Ikan Endemik atau ikan asli yang terdapat di Rawa Pening yaitu ikan Wader. Penelitian di Danau Rawa Pening pada tahun 2006 diketahui memiliki keanekaragaman ikan Wader yaitu Wader Pari (*R. lateristriata*), Putih (*R. jacobsoni*), Andong (*B. canchonius*), Cakul (*P. binotatus*) dan Ijo (*O. vittatus*). Pentingnya untuk mengidentifikasi secara morfologi dan molekuler dikarenakan ikan Wader ini terdapat banyak jenis di Rawa Pening sebagai bahan inventarisasi data spesies ikan dan untuk mengetahui hubungan filogenetik pada area Danau Rawa Pening. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui informasi mengenai jenis spesies ikan Wader di Rawa Pening berdasarkan perbandingan morfologi teknik morfometri dan molekuler teknik DNA *Barcoding* dan hubungan filogenetik serta tingkat keragaman genetiknya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Oktober 2021. Metode yang dilakukan meliputi analisis morfologi dari morfometri dan meristiknya, analisis molekuler dengan DNA barcoding, serta analisis data menggunakan software MEGA-X dan dnaSP. Hasil penelitian didapatkan ikan 33 individu, kemudian analisis morfologi dan molekuler dapat diketahui 3 spesies ikan yaitu kode W.P yaitu ikan Lumajang (*Cycloceilichthys enoplos*) dengan kemiripan sebesar 97,65%, kode W.I yaitu ikan Wader Ijo (*Osteochilus vittatus*) dengan kemiripan sebesar 100%, dan kode W.B yaitu ikan Wader Bintik Dua (*Barbodes binotatus*) dengan kemiripan sebesar 99,83%. Nilai keragaman genetik sampel ikan wader yang didapatkan di Danau Rawa Pening sebesar 0,8333 termasuk kedalam kategori keragaman genetik tinggi.

Kata kunci: Endemik; Keanekaragaman; Rawa Pening; Wader

ABSTRACT

Rawa Pening is located in Central Java Province. is a lake formed lake through a volcanic eruption process that drains basalt lava and clogs the flow of the tuntang area. As a result, the tropical dizzy valley turned into a swamp. Research in Lake Rawa Pening in 2006 was known to have various Wader fish, namely Wader Pari (R. lateristriata), Putih (R. jacobsoni), Andong (B. canchonius), Cakul (P. binotatus) dan Ijo (O. vittatus). It is important to identify morphologically and molecularly because this Wader fish has many species found in Rawa Pening as an inventory of fish species data and to determine phylogenetic relationships in the Rawa Pening Lake area. This study aimed to find information about the Wader fish species in Rawa Pening based on the comparison of morphometric and molecular morphology of DNA Barcoding techniques and phylogenetic relationships and the level of genetic diversity. This research was conducted in March-October 2021. The methods used included morphological analysis of morphometry and meristics, molecular analysis using DNA barcodes, and data analysis using MEGA-X and dnaSP software. The results obtained 33 individual fish, then morphology and molecular can be identified 3 fish species, WP code namely Lumajang (Cycloceilichthys enoplos) with a per ident of 97.65%, WI code namely Wader Ijo fish (Osteochilus vittatus) with a per ident 100%, and WB code namely Wader Bintik Dua (Barbodes binotatus) with a per ident 99.83%. The value of genetic diversity of wader fish samples obtained in Rawa Pening Lake of 0.8333 is included in the category of high genetic diversity.

Keywords: Endemik; Diversity; Rawa Pening; Wader

PENDAHULUAN

Rawa Pening adalah danau terbentuk alami dan terletak di Provinsi Jawa tengah, meliputi 4 wilayah kecamatan dengan Luas Permukaan danau Rawa Pening yaitu mencapai 2.667 Ha. (Cahyono *et al.*, 2020). Danau adalah tempat berlangsungnya siklus hidup dari komponen air dan kehidupan

akuatik di dalamnya (Abimanyu *et al.*, 2016). Rawa Pening memiliki peran penting berfungsi sebagai pembangkit listrik, irigasi, perikanan dan pariwisata (Zulfia dan Aisyah, 2013). Menurut Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Semarang 2007, keanekaragaman jenis ikan air tawar yang hidup di Rawa Pening antara lain adalah ikan nila, koan, gabus, lele, wader, betutu, dan mujair. Keberadaan dan kepadatan ikan sangat

dipengaruhi oleh faktor kualitas air dan aktivitas nelayan maupun masyarakat lainnya (Weri dan Sucahyo, 2017).

Ikan Endemik atau ikan asli yang terdapat di Rawa Pening yaitu ikan Wader. Rawa Pening memiliki beragam ikan Wader yaitu Wader Pari (*Rasbora lateristriata*), Wader Putih (*Rasbora jacobsoni*), Wader Andong (*Barbus canchonius*), Wader Cakul (*Puntius binotatus*) dan Wader Ijo (*Osteochilus vittatus*) (Sari *et al.*, 2014). Pentingnya untuk mengidentifikasi secara morfologi dan molekuler dikarenakan ikan Wader ini memiliki banyak jenis yang terdapat di Rawa Pening sebagai bahan inventarisasi data spesies ikan untuk melakukan upaya konservasi genetik.

Keanekaragaman jenis ikan yang terdapat di Rawa Pening dapat terganggu apabila kondisi Rawa Pening semakin memburuk. Penurunan Sumberdaya ikan Wader di Rawa Pening erat kaitannya dengan usaha penangkapan yang mengalami peningkatan karena banyaknya nelayan yang melakukan penangkapan dengan jaring ukuran kecil; atau seringnya melakukan penangkapan sehingga ikan yang masih kecil ini tidak dapat berkembang biak (Rochmatin *et al.*, 2014). Sebuah riset yang dilakukan oleh Dinas Perikanan menyebutkan, populasi ikan khas atau endemik di perairan darat terbesar di pulau Jawa ini tak kurang dari 10 persen dari jumlah populasi ikan di Rawa Pening saat ini (Situmorang *et al.*, 2013).

Genus *Osteochilus* adalah ikan air tawar yang berukuran kecil, dapat ditemukan di sungai dan danau di daerah asia tenggara termasuk malaysia, brunei dan Indonesia (Subari *et al.*, 2021). Ketersediaan data dan informasi terkait sumberdaya ikan (SDI) di seluruh ekosistem perairan umum-darat (*inland waters*) adalah penting untuk mengetahui potensi, keanekaragaman dan status SDI tersebut yang selanjutnya dapat menjadi dasar untuk pemanfaatan dan pengelolaan secara optimal dan berkelanjutan.

Hubungan filogenetik ikan Wader dapat dilakukan melalui metode konvensional (morfologi) maupun molekuler. Identifikasi morfologi yaitu dengan bentuk tubuh dan susunan ikan. Salah satu teknik yang menjadi acuan adalah morfometri. Morfometrik adalah teknik untuk mengidentifikasi ikan dengan melakukan perhitungan bentuk tubuh untuk mengetahui

keanekaragaman (Fadhil *et al.*, 2016). Identifikasi molekuler adalah identifikasi mengacu pada urutan susunan basa nukleotida yang dimiliki suatu spesies (Triandiza dan Madduppa, 2018). DNA Barcoding yaitu teknik mengidentifikasi spesies menggunakan urutan gen pendek dari genom organisme (Kress *et al.*, 2015). Analisis sekuensing ini dilakukan dengan menggunakan seperangkat alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kemudian dilanjutkan dengan analisis menggunakan software MEGA-X dan dnaSP (Rinanda, 2011). Pentingnya untuk mengidentifikasi secara morfologi dan molekuler dikarenakan ikan Wader ini memiliki banyak jenis yang terdapat di Rawa Pening sebagai bahan inventarisasi data spesies ikan untuk melakukan upaya konservasi genetik. Upaya yang dapat dilakukan dalam pengelolaan supaya tidak terjadi kepunahan yaitu dengan perbaikan stok melalui restocking kemudian pemantauan dengan monitoring (Yusron, 2005). Penelitian ini memiliki tujuan untuk melihat jenis spesies ikan wader dengan analisis genetik, morfologi dan morfometri. melihat nilai keragaman genetik dan hubungan filogenetik spesies yang ditemukan

METODE PENELITIAN

Metode Sampling

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif-kuantitatif, yaitu untuk meneliti sampel dengan pengumpulan data, analisis data bersifat kuantitatif dengan tujuan menguji hipotesis yang telah ditetapkan dengan pendekatan deskriptif dilakukan untuk mengetahui keberadaan variabel baik variabel sendiri atau variabel bebas tanpa membuat adanya perbandingan dan mencari hubungan dengan variabel lainnya. Pengambilan sampel dilakukan 2 kali dan didapatkan 33 sampel ikan dari 1 titik pengumpulan sampel di Danau Rawa Pening (Gambar 1).

Semua sampel ikan disimpan dalam kondisi beku dan ditaruh dalam *freezer*, dalam perjalanan disipan dalam cool box. Sampel diberi label dan dianalisis di Laboratorium Tropical Marine Biotechnology Gedung J, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

Identifikasi Karakter Molekuler

Ekstraksi DNA Sampel Ikan

Sampel yang disimpan dalam etanol 96% kemudian diambil sampel hati pada ikan sampel. Ekstraksi DNA Ikan sampel menggunakan Kit Zymo sesuai petunjuk untuk jaringan sampel ikan. Organ sampel ikan yang diambil yaitu hati. Proses Amplifikasi menggunakan Gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI). Gen penanda yang digunakan adalah gen *cytochrom* yang telah teridentifikasi dengan panjang 700 basa yang digunakan untuk barcode fauna (Hebert *et al.*, 2003). Set primer yang digunakan adalah universal primer Fish yang mana urutan basanya adalah sebagai berikut: Forward FishF1: (5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3') dan Reverse FishR1: (5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3') (Ward *et al.*, 2005).

Komposisi campuran PCR cocktail yang digunakan untuk amplifikasi gen terdiri dari bahan-bahan sebagai berikut: MyTaq HS Red Mix (12,5 µl), primer FishF1 (1 µl), primer FishR1 (1 µl), *Nuclease-Free Water* (ddH₂O) sebanyak 9,5 µl. Sehingga total volume PCR cocktail yang digunakan saat amplifikasi adalah 25µ. Program yang dijalankan untuk amplifikasi PCR cocktail tersebut terdiri dari beberapa tahapan. Tahapan pre-denaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, diikuti oleh annealing sebanyak 35 siklus pada 54°C selama 30 detik, dan 72°C selama 1 menit (Ward *et al.*, 2005). Produk PCR kemudian dievaluasi untuk melihat keberadaan pita DNA menggunakan elektroforesis dan UVIDoc.

Sekuensing

Produk PCR yang telah diperjelas pada proses elektroforesis dalam agarose 1% dengan voltase 100 selama 2 menit dan divisualisasikan dengan UV-Doc. fragmen DNA sesuai target yaitu 650 bp kemudian dikirimkan ke 1st BASE Laboratories, Malaysia melalui PT. Genetika Science Indonesia untuk di sekuensing

Analisis Data

Hasil sekuensing selanjutnya dianalisis dengan program MEGA-X dengan menggabungkan urutan DNA kemudian dianalisis dalam website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Setelah proses pencarian dengan *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) kemudian membentuk pohon filogenetik. Indeks keanekaragaman genetik yang dianalisis berupa jumlah *haplotype*, *haplotype diversity* dan *nucleotide diversity* dengan menggunakan DnaSP v.6.12.01.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Sampel Ikan Wader

Berdasarkan hasil sampling diperoleh total sampel yang ikan Wader yang diperoleh dari Danau Rawa Pening adalah 33 sampel. Semua sampel diidentifikasi secara morfologi meliputi karakter morfometrik dan perhitungan meristik. setelah itu dilakukan analisis lebih lanjut melalui teknik molekuler sampai pada analisis keragaman genetiknya.



Gambar 2. Ikan Wader Ijo (*Osteochilus vittatus*)



Gambar 3. Ikan Wader Bintang Dua (*Barbodes binotatus*)



Gambar 4. Ikan Lumajang (*Cyclocheilichthys enoplos*)

Identifikasi Morfologi

Karakter morfologi yang diamati berdasarkan buku identifikasi “*The Fresh-Water Fishes of Siam, or Thailand*”, Smith (1945)” selanjutnya dilakukan pengukuran morfometrik dan perhitungan meristik sampel ikan.

Ikan Wader Ijo (*Osteochilus vittatus*)

Berdasarkan morfologinya Ikan Wader Ijo yang didapatkan memiliki bentuk tubuh Pipih (*Compressed*). Bentuk tubuh ini mempengaruhi habitat dan adaptasi terhadap lingkungannya. Menurut Bracciali *et al.* (2016), bentuk tubuh yang pipih dapat mengurangi hambatan air dan mengurangi pengeluaran energi yang dikeluarkan untuk berenang. Menurut Gerry *et al.* (2013), bahwa karakter bentuk ini memungkinkan untuk berenang cepat dalam memakan mangsa. Bentuk mulutnya Terminal, Bentuk ekornya emarginate, Warna kulitnya memiliki pigmen karotenoid; Melanosid; dan Pterin, Letak sirip perut terhadap sirip dada adalah Sub-abdominal. Ikan wader ijo memiliki sungut pada rahang atas, dengan sisik pada *linealateralis* sebanyak 34. Menurut Weber dan Beaufort (1916), bahwa Jumlah sisik melintang tubuh (*transverse*

scales) adalah 6 1/2 6. Karakter ini spesifik karakter penanda spesies *Osteochilus vittatus*.

Ikan Wader Bintik Dua (*Barbodes binotatus*)

Berdasarkan morfologinya Ikan Wader Bintik Dua yang didapatkan memiliki bentuk tubuh Pipih (*Compressed*), Bentuk mulutnya Terminal, Bentuk ekornya *forked*, Warna kulitnya memiliki pigmen purin, Letak sirip perut terhadap sirip dada adalah Sub-abdominal. Tubuh ditandai oleh pita melintang atau pelana. Spesies Ikan Wader Bintik Dua (*B. binotatus*) memiliki *Linea Lateralis* sebanyak 25. Hal ini diperkuat oleh Anggara P. (2020), Deskripsi meristik *Barbodes binotatus* yaitu D I, 8; A 4; Pv I, 6; P I, 8; SMB 4; SMBt 3; Li 22 dan deskripsi morfometrik yaitu PT 14; B 11. Habitat *B. binotatus* ditemukan di tengah sungai. Menurut Sukmono dan Margaretha (2017), ikan ini memiliki habitat hidup di berbagai kondisi lingkungan, mulai dari hulu hingga hilir sungai. Biasanya ikan ini ditemukan pada bagian tengah hingga dasar sungai yang dangkal.

Ikan Lumajang (*Cyclocheilichthys enoplos*)

Berdasarkan morfologinya Ikan Lumajang yang didapatkan memiliki bentuk tubuh Pipih (*Compressed*), Bentuk mulutnya Terminal, Bentuk ekornya *forked*, Warna kulitnya memiliki pigmen pterin, Letak sirip perut terhadap sirip dada adalah Sub-abdominal. Ikan lumajang diteliti karena memiliki kemiripan morfologi dengan ikan wader merah (*Puntius bramoides*). Kemiripan morfologi Ikan lumajang dilihat dari bentuk tubuh, mulut serta warna sirip ekor, dada dan anal berwarna merah. Menurut Menurut Sutardja (1980), menyatakan bahwa ciri dari ikan Wader merah memiliki ciri warna merah pada setiap pangkal siripnya, dan sisik berwarna perak. Ikan ini banyak ditemukan di sungai musi. ikan ini memiliki sifat diadrom, dimana ikan ini akan melakukan ruaya apabila memijah. Menurut Soeryono dan M. Badjoeri (2013), bahwa Intensitas ruaya juga dapat dipengaruhi oleh faktor arus sungai dan kondisi gelap-terang bulan Pengamatan Morfometri.

Tabel 3. Pengamatan Morfometrik Seluruh Sampel yang Didapatkan

No.	Pengamatan	(<i>O. vittatus</i>) n = 8	(<i>B. binotatus</i>) n = 1	(<i>C.enoplos</i>) n = 24
1	Panjang Total (TL)	11,24 - 16,6	11.37	8.15 - 17.3
2	Panjang standar (SL)	9,05 - 14,8	9.11	6 -13.44
3	Panjang kepala (HL)	1,22 - 3,05	2.24	1.62 - 2.92
4	Lebar kepala (HW)	1,2 - 1,91	1.34	0.75 -2.61
5	Tinggi kepala (HD)	1,72 - 2,51	1.8	1.1 - 2.72
6	Diameter mata (ED)	0,5 - 0,98	0.77	0.5 -1.13
7	Panjang moncong (SNL)	0,5 - 1,41	0.65	0.4 - 0.95
8	Jarak antar mata (IW)	0,3 - 1,03	0.3	0.14 -1.3
9	Panjang sebelum sirip anal (PAL)	6,9 - 10,02	6.76	4.61 - 9.76
10	Tinggi badan (BD)	2,87 - 4,22	2.87	2.05 -4.65
11	Lebar badan (BW)	1,54 - 2,7	1.49	0.91 - 2.05
12	Panjang sirip perut (PVL)	0,51 - 1,26	0.5	0.32 -2.83
13	Tinggi pangkal ekor (CPD)	1,3 - 2,07	1.51	0.19 - 1.98
14	Panjang pangkal ekor (CPL)	0,94 - 2,32	1.66	0.61 -2.66
15	Panjang dasar sirip dorsal (DBL)	3,23 - 4,52	1.41	1.22 - 2.72
16	Tinggi sirip dorsal (DFH)	0,83 - 2,21	1.19	0.75 -3.46
17	Panjang sirip dada (PCL)	0,43 - 4,72	0.03	0.2 - 0.9
18	Panjang sebelum sirip perut (PPL)	4,4 - 6,8	4.25	0.63 -6.8
19	Panjang dasar sirip anal (ABL)	0,94 - 1,95	1.6	0.94 - 2.29
20	Panjang sebelum sirip dorsal (PDL)	3,93 - 6,15	4.52	3.02 -8.37
21	Panjang sungut moncong (SNBL)	0,21 - 0,45	0.55	0.21 - 0.6
22	Panjang sungut rahang atas (MXBL)	0.41 - 0.71	0.36	0.2 -0.8
23	panjang sirip ekor bagian atas (LUCL)	2,15 - 3,91	0.61	1.15 - 3.91
24	Panjang sirip ekor bagian tengah (LMCL)	0,98 - 1,5	0.98	0.5 -2.2
25	Panjang sirip ekor bagian bawah (LCLL)	1,62 - 3,62	1.98	8.15 - 17.3

Tabel 4. Pengamatan meristik seluruh sampel yang didapatkan

No.	Pengamatan	Hasil n = 8	Hasil n = 1	Hasil n = 24
1	Jari-jari sirip punggung (<i>Dorsal Rays</i>)	D. III-VI. 5-16	D. I-9	D. I-II, 7-8
2	Jari-jari sirip dubur (<i>Anal Rays</i>)	A. II-V. 1-5	5	A. I-II, 5
3	Jari-jari sirip dada (<i>Pectoral Rays</i>)	P. I-VIII. 2-10	P. I-6	P. I, 8-11
4	Sisik sebelum sirip dorsal (<i>Predorsal Scale</i>)	11 - 14	9	12 -16
5	Sisik pada garis lateral atau gurat sisi (<i>Linea Lateralis</i>)	LL 34 - 36	LL 25	LL 33 -36
6	Sisik pada batang ekor (<i>Caudal Peduncle Scale</i>)	6 - 7	6	6 -8
7	Sisik melintang tubuh (<i>Transverse Scale</i>)	6 1/2 26 - 7 1/2 7	4 1/2 4	6 1/2 26 - 8 1/2 8

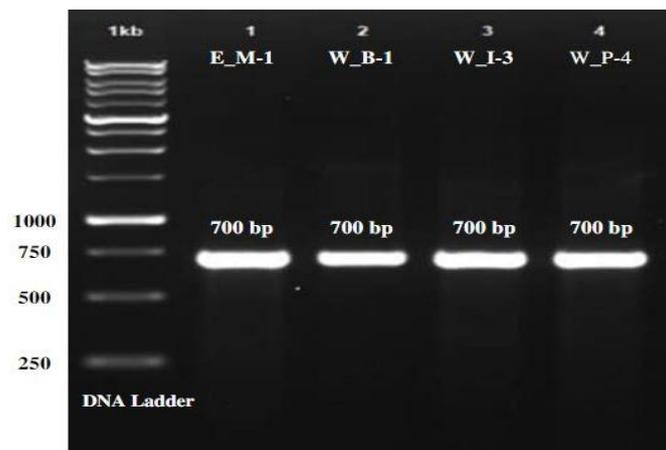
Identifikasi Molekuler

Konsentrasi DNA

Alat yang digunakan untuk mengukur konsentrasi DNA disebut Nanodrop. Nanodrop sangat penting dilakukan untuk mengetahui kemurnian dari DNA genome hasil ekstraksi, mengetahui derajat kontaminasi suatu sampel dari RNA, protein atau fenol dan untuk melanjutkan tahap selanjutnya. Hasil ekstraksi DNA terlihat sampel kurang murni dikarenakan konsentrasinya rendah, sekitar 0,6-1,6. Berdasarkan panduan Thermo Fisher Scientific (2012), Isolat DNA dikatakan murni jika rasio absorbansi A260/280 berada pada rentang 1,8 -2,0.

Amplifikasi Gen COI

Amplifikasi gen target dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan pasangan primer FISH R1 dan Fish F1 dan diperoleh band tunggal dengan ukuran 650 bp, rutan ini dapat melihat barcode genetik yang terdapat di setiap selnya (Hebert *et al.*, 2003) Hasil produk PCR divisualisasikan dengan gel elektroforesis. Hasil visualisasi dari proses amplifikasi fragmen gen *cytochrome* keempat sampel ikan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Amplifikasi DNA sampel E_M-1, W_B-1, W_I-3H dan W_P-4

Hasil Sekuensing dan BLAST

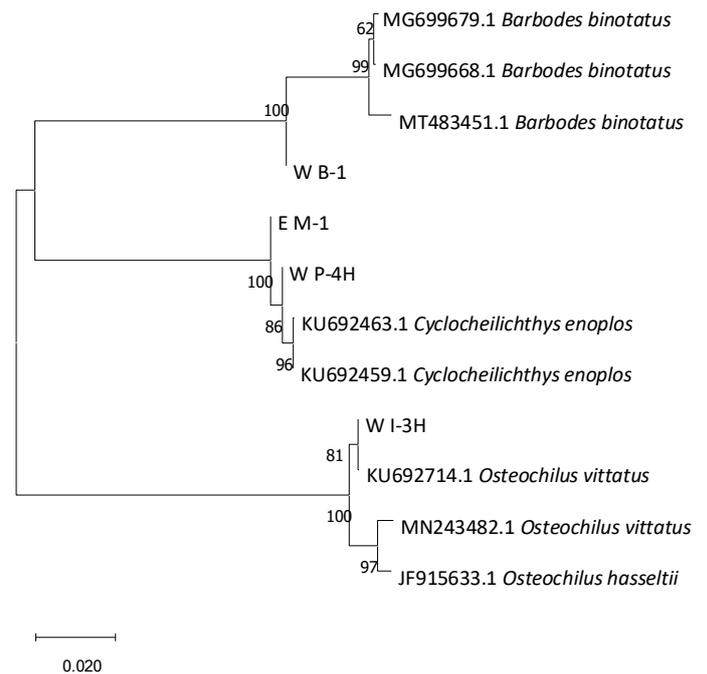
Hasil PCR yang dikirimkan ke PT. Genetika Science setelah di sekuensing menghasilkan urutan DNA Sampel untuk konfirmasi spesies. Hasil sekuens kemudian dilakukan BLAST melalui web NCBI. Hasil Penelusuran BLAST dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil BLAST

No.	Kode Sampel	Hasil Blast	No. Referensi	Per. Ident
1	E.M-1	<i>Cyclocheilichthys enoplos</i>	KU692463.1	99,83%
2	W.P-4 H	<i>Cyclocheilichthys enoplos</i>	KU692463.1	97,64%
3	W.I-1	<i>Osteochilus vittatus</i>	KU692714.1	100%
4	W.B-1	<i>Barbodes binotatus</i>	MG699601.1	99,83%

Pohon Filogenetik

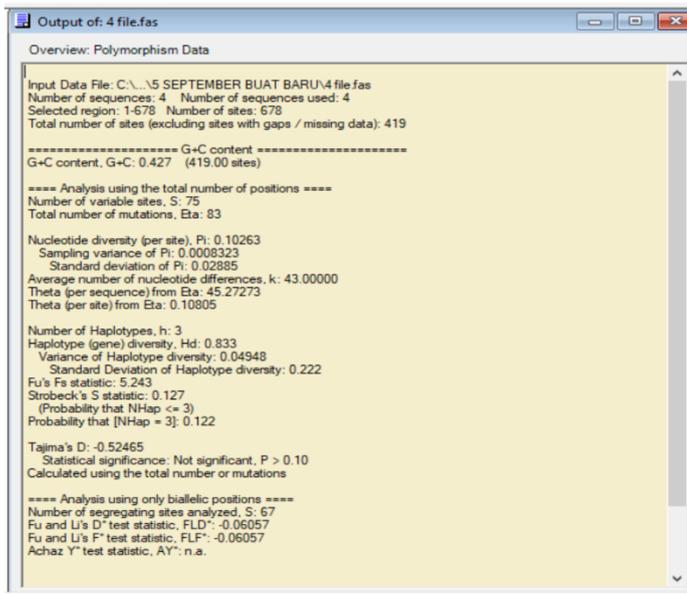
Pohon filogenetik dikonstruksi berdasarkan hasil konfirmasi DNA menggunakan MEGA-X. pohon filogenetik pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 13. Berdasarkan hasil pohon filogenetik diketahui bahwa sampel E.M-1 dan W.P-4H merupakan sampel dengan spesies sama. Nilai *bootstrap* yang didapatkan cukup tinggi dari 4 sampel sekitar 98-100. Menurut Zein dan Sri (2008), nilai bootstrap menjadi tolak ukur penentu tingkat kepercayaan pohon filogeni. Semakin besar/tinggi nilai bootstrap, maka semakin tinggi pula tingkat kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi tersebut (HILLIS *et al.*, 1996; NEI dan KUMAR, 2004; HALL, 2001).



Gambar 6. Pohon Filogenetik yang Dianalisis Menggunakan Metode Neighbor-Joining dan Analisis Bootstrap (1000 Replicates) pada Software MEGA-X

Keragaman Genetik

Keragaman genetic adalah tingkatan dari suatu biodiversitas yang mengacu pada total variasi gen. Informasi keragaman genetik dan penanda genetik dapat diperoleh dengan melakukan analisis sekuens DNA mitokondria (Wibowo, 2012). Indeks keragaman genetik adalah indeks keragaman molekuler yang digunakan untuk mengevaluasi suatu populasi dengan mengukur jumlah variasi mutasi antar anggotanya. dalam menghitung keragaman genetik di tingkat populasi biasanya dihitung jumlah *haplotype*, *haplotype diversity* dan *nucleotide diversity* (Nei, 1987) dan (de Jong *et al.*, 2011). Hasil analisis keragaman genetic menggunakan software dnaSP dapat dilihat pada Gambar 7



Gambar 7. Analisis Keragaman Genetik dengan Software dnASP

Pada Sampling danau Rawa Pening didapatkan 4 jenis ikan, namun terdapat 1 spesies yang sama dari 2 jenis ikan yang terlihat berbeda secara morfologi maka nilai $n=4$, sedangkan *Number of haplotype* (H_n) bernilai 3. *Haplotype diversity* atau keragaman *haplotype* bernilai 0,83333. Nilai *Nucleotide diversity* yang diamati tergolong rendah yaitu 0.1026. Berdasarkan hasil gambar 7. dapat diketahui kategori dari nilai keragaman genetik adalah sebagai berikut terlihat pada tabel 6.

Tabel 6. Analisis Kategori Tingkat Keragaman Genetik

Kategori	Rendah	Sedang	Tinggi	Sumber
Analisis Keragaman genetik (Hd)	0,1 - 0,4	0,5 - 0,7	0,8 - 1,00	Nei 1987 Excoffier et al., 1992

Berdasarkan kategori populasi menurut Grant dan Bowen (1998), apabila nilai $h > 0,5$ maka haplotype diversity tergolong tinggi, sedangkan untuk nilai nucleotide diversity dinyatakan rendah karena nilai $\pi < 0,5\%$. Grant dan Bowen (1998), menjelaskan korelasi nilai h dan π . Nilai h tinggi dan π rendah menandakan adanya suatu populasi yang berasal dari sebuah populasi nenek moyang tunggal berukuran kecil, dapat terjadi suatu kejadian bottleneck yaitu berekspansi secara cepat dan terjadi dalam waktu dekat. Pertumbuhan populasi yang cepat meningkatkan retensi mutasi baru (Avise *et al.*, 1984; Rogers dan Harpending 1987).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah Jenis ikan yang didapatkan di Danau Rawa Pening adalah Ikan Wader Ijo (*O. vittatus*), Ikan Wader Bintik Dua (*B. binotatus*), dan Ikan Lumajang (*C. enoplos*). Nilai Keragaman genetik yang didapatkan dari sampel yang diteliti sebanyak 4, menghasilkan 3-haplotype dengan nilai *haplotype diversity* 0,8333 dalam

kategori keragaman genetik tinggi. Kode sampel W.I-3H menghasilkan kemiripan 100% dengan Ikan Wader Ijo (*O. vittatus*). Kode sampel W.B-1 menghasilkan kemiripan 99,83% dengan Ikan Wader Bintik Dua (*B. binotatus*) dan kode sampel E.M-1 dan W.P-4H merupakan 1-jenis spesies yang sama yaitu Ikan Lumajang (*C. enoplos*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Bambang Sulardiono, M.Si dan Ir. Anhar Solichin, M.Si selaku dosen penguji atas segala bimbingan dan arahan yang diberikan untuk menyempurnakan penulisan penelitian ini dan Laboratorium *Tropical Marine Biotechnology* Universitas Diponegoro atas fasilitas yang tersedia sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggara, P. 2020. Keanekaragaman Jenis Ikan (Cypriniformes: Cyprinidae) di Sungai Batang Tembesi Kabupaten Merangin. *BIOCOLONY*, 3(1), 25-38.
- Avise, J. C., J.E. Neigel dan Arnold, J. 1984. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. *Journal of Molecular Evolution*, 20(2), 99-105.
- Barcaccia G., M.Lucchin, dan M.Cassandro . 2016. DNA barcoding as a molecular tool to track down mislabeling and food privacy. *Diversity*. 8(2):1-16
- De Jong, M.A., N.Wahlberg, M. Van Eijk, P.M. Brakefield dan B.J Zwaan. 2011. Mitochondrial DNA Signature for Range-Wide Populations of *Bicyclus anynana* suggest a rapid expansion from Recent Refugia. *PloS one*. 6(6):1-5
- Fadhil, R., Z. A Muchlisin, dan W. Sari. 2016. Hubungan Panjang-Berat Dan Morfometrik Ikan Julung-Julung (*Zenarchopterus dispar*) dari Perairan Pantai Utara Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Dan Perikanan Unsyiah*, 1(1), 146-159
- Firdaus, N., dan H. Hamdani. 2016. Pengaruh Pemberian Lemna Sp. Sebagai Pakan Dalam Budidaya Ikan Nilem Organik. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, VIII(1), 9-13.
- Gerry, S. P., M. Vogelzang, J.Ascher dan D. J. Ellerby. 2013. Variation in the diet and feeding morphology of polyphenic *Lepomis macrochirus*. *Journal of Fish Biology*, 82(1), 338-346.
- Grant, W. A. S., dan B.W. Bowen. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of heredity*, 89(5), 415-426.
- HALL, B.G. 2001. Phylogenetic trees made easy: A how-to manual for molecular biologists. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Haryono. 2001. Variasi Morfologi dan Morfometri Ikan Dokun (*Puntius Lateristriga*) di Sumatera. *Jurnal Biota* Vol. VI (3): 109-116. ISSN 0853-8670.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S.L. Ball dan J.R. DeWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes.

- Proceedings of the Royal Society B: *Biological Sciences*, 270(1512), 313–321.
- Hebert, P. D. N., E.H.Penton, J.M. Burns, D.H. Janzen dan W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fuligator*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(41), 14812–14817.
- HILLIS, D.M., B.K. MARBLE and C. MORITZ. 1996. Applications of molecular systematics: The state of the field and a look to the future. In: Hillis, D.M.C. MORITZ and B.K. MABLE (Eds.). 1996. Molecular systematics. 2nd Ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland. pp. 515- 543
- Kumar, S., K. Tamura dan M. Nei. 2004. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Briefings in bioinformatics, 5(2), 150-163.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary genetics. Columbia University Press.
- Rinanda, T. 2011. Analisis sekuensing 16S rRNA di bidang mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 11(3), 172-177.
- Rochmatin, S.Y., A. Solichin, S.W. Saputra. 2014. Aspek Pertumbuhan dan Reproduksi Ikan Nilem (*Osteochilus vittatus*) di Perairan Rawa Pening Kecamatan Tuntang Kabupaten Semarang. *Diponegoro Journal of Maquares*, 3(3), 153–159.
- Rogers, A. R., dan H. Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*, 9(3), 552-569
- Sittadewi, E. H. 2011. Kondisi Lahan Pasang Surut Kawasan Rawa Pening Dan Potensi Pemanfaatannya. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 9(3), 294–301.
- Situmorang, T. S., T.A. Barus dan H. Wahyuningsih. 2013. Studi Komparasi Jenis Makanan Ikan Keperas (*Puntius Binotatus*) Di Sungai Aek Pahu Tombak, Aek Pahu Hutamosu Dan Sungai Parbotikan Kecamatan Batang Toru Tapanuli Selatan Toberni. *Jurnal perikanan dan kelautan*, 18(2):48–58.
- Smith, H.M. 1945: The Freshwater Fishes of Siam or Thailand. Bull. U.S. Nat. Mus., 188, XI-622 pp.
- Subari, A., A. Razak dan R. Sumarmin. 2021. Phylogenetic Analysis of *Rasbora* spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89.
- Sukmono, T dan M. Margaretha. 2017. Ikan Air Tawar di Ekosistem Bukit Tiga Puluh. Yayasan Konservasi Ekosistem Hutan Sumatera dan Frankfurt Zoological Society. ISBN: 978-602-51102-0-7
- Sutardja, OS. 1980. Beberapa aspek biologi ikan lalawak *Puntius bramoides* (Cuvier & Valenciennes) di Waduk Jatiluhur Jawa Barat. Karya Ilmiah. Fakultas Perikanan IPB Bogor. 56 hal.
- Triandiza, T dan H. Madduppa, H. 2018. Aplikasi Analisa Morfologi dan DNA Barcoding pada Penentuan Jenis Kepiting Porcelain (*Pisidia* sp.) yang Berasal dari Pulau Tunda, Banten. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, 2(November), 81–90.
- Ward, R. D., T.S. Zemplak, B.H. Innes, P.R. Last dan P.D.N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1847–1857.
- Weber, M., dan L.F. de Beaufort. 1916. The Fishes of Indo Australian Archipleago (Ostariophys II: Cyprinidae, Apodes. Synbranchi). E.J. Brill Leiden Ltd.
- Wibowo, A. 2012. Keragaman Genetik ikan Semah (*Tor tambroides* BLEKER 1854) Di Sungai Manna , Bengkulu Dan Sungai Semanka , Lampung Genetic Diversity Of Masher (*Tor Tambroides* Bleker 1854) In Manna River , Bengkulu And Semanka River , Lampung. *Bawal*, 4(308), 105–112.
- Zein, M. S. A., dan Y.S. Fitriana. 2012. Teknik molekuler untuk identifikasi spesies ordo Cetartiodactyla menggunakan DNA barcode. *Zoo Indonesia*, 21(2), 1–8.
- Zulfia, N., dan Aisyah. 2013. Status Trofik Perairan Rawa Pening Ditinjau Dari Kandungan unsur hara (No3 dan PO4) serta klorofil-a. *Bawal*, 5(3), 189–199.