

**Runutan gen cytochrome C oxydase 1
ikan lais janggut, *Kryptopterus limpok* (Bleeker, 1852)
dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri, Provinsi Riau**

[Cytochrome C oxydase 1 gene sequences long-barbel sheatfish, *Kryptopterus limpok* (Bleeker, 1852) from Kampar River and Indragiri River of Riau Province]

Roza Elvyra^{1✉}, Dedy Duryadi Solihin²

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Riau,
Kampus Binawidya Jl. HR. Soebrantas Km 12.5 km Panam Pekanbaru 28293

²Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor,
Jalan Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

Diterima: 11 Desember 2014; Disetujui: 22 September 2015

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis runutan gen cytochrome c oxydase 1 (Cox-1) DNA mitokondria ikan lais janggut, *Kryptopterus limpok*. Gen Cox-1 *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri, Provinsi Riau telah diamplifikasi menggunakan teknik PCR. Runutan gen Cox-1 yang diperoleh sepanjang 655 bp, dengan sembilan situs substitusi nukleotida, meliputi empat substitusi transisi dan lima substitusi transversi basa. Frekuensi nukleotida yang sedikit ditemukan pada guanin (G:17,2%), sedangkan frekuensi sitosin, thimin, adenin kurang lebih sepadan (C: 29,5%, T: 27,5%, A: 25,8%), dan kandungan G+C (46,7%). Jarak genetik runutan gen Cox-1 antara *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri adalah 0,01. Pohon filogeni memperlihatkan bahwa *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dengan Sungai Indragiri membentuk satu kelompok dengan nilai *bootstrap* 100%.

Kata penting: Cox-1, genetika, *Kryptopterus limpok*, Riau

Abstract

This study aimed to analyze the sequence of mitochondrial DNA cytochrome c oxydase 1 (Cox-1) gene of the long barbel sheatfish, *Kryptopterus limpok*. The Cox-1 gene of *Kryptopterus limpok* from Kampar and Indragiri Rivers, Riau Province was amplified using PCR technique. The length of the Cox-1 gene sequence was 655 bp containing nine nucleotide sites substituted. Four base substitutions were transition and five base was transversion. Nucleotide frequencies of guanine was a few (G:17.2%) and approximately equal in frequencies of cytosine, thymine, adenine (C: 29.5%, T: 27.5%, A: 25.8%), and G+C content (46.7%). The genetic distance of mtDNA Cox-1 gene sequences between *Kryptopterus limpok* from Kampar and Indragiri river was 0.01. Phylogenetic tree showed that *Kryptopterus limpok* from Kampar and Indragiri Rivers are in one cluster with 100% bootstrap value.

Keywords: Cox-1, genetic, *Kryptopterus limpok*, Riau

Pendahuluan

Ikan lais janggut, *Kryptopterus limpok* (Bleeker, 1852) merupakan ikan khas ekosistem sungai rawa banjiran yang bernilai ekonomis tinggi. Salah satu daerah penyebaran ikan lais janggut di Indonesia adalah di Sungai Kampar dan Indragiri di Provinsi Riau. Ikan ini disebut sebagai ikan lais janggut karena keunikannya mempunyai sungut rahang atas dan bawah yang panjang.

Untuk pengembangan sumber daya genetik ikan-ikan khas sungai rawa banjiran, perlu dilakukan penelitian genetika populasinya. Penelitian molekuler yang sudah berkembang pesat dapat diterapkan pada ikan lais janggut dari Provinsi Riau. Informasi yang didapat dari penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk meningkatkan potensi sumber daya hayati sungai rawa banjiran.

Dewasa ini runutan gen cytochrome c oxydase 1 (Cox-1) DNA mitokondria, telah digunakan sebagai *barcode* untuk pengidentifikasian spesimen (Ward *et al.* 2005 dan Hajibabaei *et al.*

✉ Penulis korespondensi
Alamat surel: roza_elvyra@yahoo.com

2006). Keberhasilan *barcode* yang digunakan untuk pengidentifikasian ditunjukkan oleh runutan DNA yang lebih seragam satu sama lain secara intra spesies. DNA *barcode* berguna untuk melengkapi pengidentifikasian spesies secara morfologis (Ward *et al.* 2005).

Berdasarkan data *GenBank* (2014), data gen Cox-1 DNA mitokondria *K. limpok* belum dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis sumber daya genetik *K. limpok* dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri di Provinsi Riau, dengan runutan gen Cox-1 DNA mitokondria.

Bahan dan metode

Penelitian dilaksanakan dari bulan Juni 2013 hingga April 2014. Sampel ikan lais janggut diperoleh dari tangkapan nelayan dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri di Provinsi Riau. Pengidentifikasian jenis ikan secara morfologi menggunakan kunci identifikasi Kottelat *et al.* (1993). Penelitian dilakukan di laboratorium Genetika Jurusan Biologi Universitas Riau, dan laboratorium Biologi Molekuler, Pusat Penelitian Sumber daya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Isolasi dan purifikasi DNA total.

Otot ikan lais janggut dalam bentuk potongan kecil dimasukkkan dalam tabung ependorf, dicacah halus dengan menambahkan larutan *digestion buffer* {1% (W/V) SDS; 0,5 M Tris-HCl, pH 9,0; 0,5 M EDTA, pH 8,0; 1 M NaCl; 20 mg/ml Proteinase K} dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 55°C selama semalam (Duryadi, 1993). Sampel yang sudah diinkubasi, dipurifikasi dengan fenol dan kloroform:isoamil alkohol (24:1). Selanjutnya DNA dipresipitasi dengan alkohol absolut dan dicuci dengan alkohol 70% (Elvyra *et al.* 2009).

Amplifikasi dan perunutan Gen Cox-1.

DNA total hasil purifikasi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reactions (PCR)*. Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi gen Cox-1 DNA mitokondria adalah primer Fish F2 dan Fish R2 (Ward *et al.* 2005). Strategi PCR yang digunakan adalah: *pra PCR* dengan suhu 94°C selama 5 menit, *PCR*: denaturasi dengan suhu 94°C selama 30 detik, penempelan dengan suhu 57°C selama 45 detik, pemanjangan dengan suhu 72°C selama 1 menit (sebanyak 35 siklus) dan *post PCR* dengan suhu 72°C selama 5 menit. Gen Cox-1 yang teramplifikasi dilakukan perunutan DNANYa dengan mesin perunutan (*sequencer*) DNA.

Analisis data.

Runutan basa nukleotida gen Cox-1 DNA mitokondria yang diperoleh kemudian disejajarkan (*multiple alignment*) dengan data runutan gen Cox-1 utuh dari ordo Siluriformes yaitu *Silurus asotus* (*GenBank* 2014, nomor akses JN116720) dan *Ictalurus punctatus* (NC003489). Data runutan gen Cox-1 parsial dalam famili Siluridae juga digunakan yaitu *Kryptopterus apogon* (EF609377) dan *Ompok pabo* (FJ230018). Analisis data menggunakan program MEGA versi 3,0 (Kumar *et al.* 2004) dengan metode *Bootstrap Neighbor-Joining* 1000 kali pengulangan.

Hasil

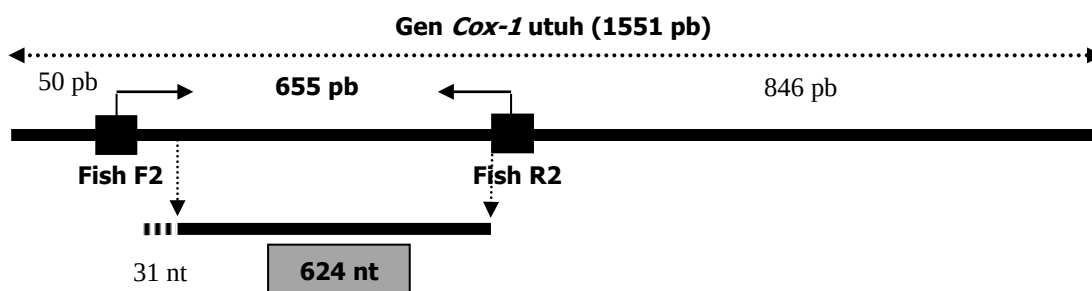
Gen Cox-1 ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Indragiri telah diamplifikasi menggunakan primer *Fish F2* dan primer *Fish R2* menghasilkan fragmen berukuran 655 pb, yaitu terletak pada basa ke 51 sampai dengan basa ke 705 (acuan gen Cox-1 utuh *Silurus asotus* sepanjang 1551 pb (*GenBank* 2014, nomor akses JN116720). Penjajaran berganda dilakukan terha-

dap runutan gen Cox-1 yang diperoleh dengan menggunakan runutan pembandingan yaitu runutan gen Cox-1 ikan-ikan dalam Ordo Siluriformes (*Silurus asotus*, *Kryptopterus apogon*, *Ompok pabo* dan *Ictalurus punctatus*) yang ada di *GenBank*. Runutan DNA yang diperoleh dari hasil penjajaran berganda adalah 624 nukleotida, yaitu pada posisi ke 82 sampai dengan posisi ke 705 (berdasarkan acuan gen Cox-1 utuh *Silurus asotus* (JN116720)). Bagian runutan fragmen yang tidak terbaca yaitu 31 nukleotida dari ujung 5' primer *Fish F2* (Gambar 1).

Rata-rata nukleotida C dan T lebih banyak ditemukan pada komposisi nukleotida gen Cox-1 parsial ikan lais janggut dan ikan-ikan lainnya dalam Ordo Siluriformes (Tabel 1) yaitu C (29,5%) dan T (27,5%), diikuti oleh nukleotida A (25,8%), sedangkan rata-rata yang paling sedikit

ditemukan adalah G (17,2 %). Rata-rata komposisi nukleotida A+T adalah lebih banyak (53,3%) daripada rata-rata nukleotida G+C (46,7%). Komposisi nukleotida yang mempunyai keragaman terbesar dari keseluruhan kodon triplet gen Cox-1 parsial ikan-ikan dalam Ordo Siluriformes terletak pada nukleotida ketiga, sedangkan komposisi nukleotida pada kodon kedua adalah yang paling tidak beragam (Tabel 1).

Enam ratus dua puluh empat nukleotida hasil penjajaran berganda gen Cox-1 parsial ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri dengan data pembandingan jenis-jenis ikan dalam ordo Siluriformes (*GenBank*), ditranslasikan dengan menggunakan program MEGA versi 3,0 (Kumar *et al.* 2004) menghasilkan 208 asam amino. Posisi 208 asam amino ini terletak pada



Gambar 1. Skema posisi primer Fish F2 dan Fish R2 untuk mengamplifikasi gen Cox-1 parsial ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Indragiri di Provinsi Riau, dengan pembandingan gen Cox-1 utuh *Silurus asotus* (*GenBank*)

Tabel 1. Komposisi nukleotida gen Cox-1 parsial DNA mitokondria *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau dengan pembandingan data *GenBank*

Jenis	T(U)	C	A	G	T-1	C-1	A-1	G-1	T-2	C-2	A-2	G-2	T-3	C-3	A-3	G-3
1 <i>S. asotus</i> *	28,2	28,7	25,5	17,6	17,3	26	25,5	31,3	42,3	28,8	15,4	13,5	25	31,3	35,6	8,2
2 <i>K. limpok</i> (Kam)	27,7	29,6	26	16,7	16,8	27	25	31,3	42,3	28,8	15,4	13,5	24	33,2	37,5	5,3
3 <i>K. limpok</i> (Ind)	27,2	29,6	26,1	17	16,8	26,4	25,5	31,3	41,3	28,8	15,9	13,9	23,6	33,7	37	5,8
4 <i>K. apogon</i> *	26,9	30	26,3	16,8	16,8	27	25,5	30,8	42,3	28,8	15,4	13,5	21,6	34,1	38	6,3
5 <i>O. pabo</i> *	26,1	29,6	27,7	16,5	15,4	27,9	25,5	31,3	42,3	28,8	15,4	13,5	20,7	32,2	42,3	4,8
6 <i>I. punctatus</i> *	28,7	29,8	23,1	18,4	16,3	27	25,5	31,3	41,8	28,8	15,9	13,5	27,9	33,7	27,9	10,6
Rata-rata	27,5	29,5	25,8	17,2	16,6	26,8	25,4	31,2	42,1	28,8	15,5	13,5	23,8	33	36,4	6,8

Keterangan: *Data *GenBank*

Enam ratus dua puluh empat nukleotida hasil penjajaran berganda gen Cox-1 parsial ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri dengan data pembandingan jenis-jenis ikan dalam ordo Siluriformes (*GenBank*), ditranslasikan dengan menggunakan program MEGA versi 3,0 (Kumar *et al.* 2004) menghasilkan 208 asam amino. Posisi 208 asam amino ini terletak pada posisi ke 28 sampai dengan asam amino ke 235, dengan acuan asam amino hasil translasi gen Cox-1 utuh *Silurus asotus* (*GenBank*).

Dari 208 situs asam amino, terdiri atas 157 (75%) situs penyandi keragaman dan 51 situs (25%) *conserve* (kekal). Dari 157 situs penyandi beragam tersebut terdiri atas situs asam amino sinonimous (nukleotida penyandi berubah, asam amino sama) yaitu 150 situs (72%), dan asam amino non sinonimous (nukleotida penyandi berubah, asam amino berubah) yaitu 7 situs (3%) (Tabel 2).

Seratus lima puluh tujuh situs penyandi dikategorikan sebagai ragam situs karena terjadi-

nya substitusi transisi dan transversi nukleotida. Dari 157 situs beragam tersebut kejadian substitusi paling sering terjadi pada basa ketiga dari kodon triplet yaitu sebanyak 136 kali (86,62%). Substitusi yang paling sedikit terjadi pada basa kesatu, kedua, dan ketiga kodon triplet yaitu satu kali (0,64%) (Tabel 3).

Tujuh situs asam amino non sinonimous didapatkan dari 157 situs penyandi beragam (Tabel 4). Dari tujuh situs asam amino non sinonimous tersebut, tiga asam amino dapat dijadikan penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Kampar yaitu V pada situs ke 28, G pada situs ke 29, dan V pada situs ke 30. Tiga asam amino dapat dijadikan penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Indragiri yaitu E pada situs ke 28, T pada situs ke 173, dan G pada situs ke 201. Asam amino S pada situs ke 187 merupakan penanda genetik genus *Kryptopterus* karena dipunyai oleh *K. limpok* (Kampar dan Indragiri) maupun *K. Apogon* (*GenBank*), sementara tidak dipunyai oleh data pembandingan lainnya.

Tabel 2. Rasio antara situs asam amino kekal, asam amino sinonimous dan asam amino non sinonimous dengan asam amino total hasil translasi gen Cox-1 *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau berdasarkan acuan *Silurus asotus* (*GenBank*)

Situs Asam Amino	Rasio
Conserve / total	51 / 208 = 0,25
Sinonimous / total	150 / 208 = 0,72
Non sinonimous / total	7 / 208 = 0,03
Non sinonimous / sinonimous	7 / 150 = 0,05

Tabel 3. Posisi ragam basa dan jumlah situs kodon penyandi yang mengalami perubahan pada gen Cox-1 *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau dengan pembandingan data *GenBank*

Ragam basa pada kodon penyandi	Jumlah situs kodon penyandi dan persentase (%)
Ke 1	3 (1,91%)
Ke 3	136 (86,62%)
Ke 1 dan 3	13 (8,28%)
Ke 2 dan 3	4 (2,55%)
Ke 1, 2 dan 3	1 (0,64%)
Total	157 situs

Tujuh situs asam amino non sinonimous didapatkan dari 157 situs penyandi beragam (Ta-

bel 4). Dari tujuh situs asam amino non sinonimous tersebut, tiga asam amino dapat dijadikan

penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Kampar yaitu V pada situs ke 28, G pada situs ke 29, dan V pada situs ke 30. Tiga asam amino dapat dijadikan penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Indragiri yaitu E pada situs ke 28, T pada situs ke 173, dan G pada situs ke 201. Asam amino S pada situs ke 187 merupakan penanda genetik genus *Kryptopterus* karena dipunyai oleh *K. limpok* (Kampar dan Indragiri) maupun *K.*

Apogon (GenBank), sementara tidak dipunyai oleh data pembandingan lainnya.

Kejadian substitusi transisi dan transversi pada nukleotida gen Cox-1 parsial jenis-jenis ikan dalam Ordo Siluriformes disajikan pada Tabel 5 dan Tabel 6. Substitusi transisi di antara jenis ikan dalam ordo Siluriformes sebanyak 4-75 nukleotida. Substitusi transversi di antara jenis ikan dalam ordo Siluriformes sebanyak 5-44 nukleotida

Tabel 4. Situs kodon penyandi dan asam amino yang mengalami perubahan pada gen Cox-1 parsial DNA mitokondria *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau dengan pembandingan data GenBank

Jenis	Situs kodon ke						
	1 (28)	2 (29)	3 (30)	31 (58)	146 (173)	160 (187)	174 (201)
<i>S. asotus</i> (JN116720)	ATA	GTC	GGC	GTT	CCC	GCC	GTC
<i>K. limpok</i> (Kampar)	G..	.GT	.TA	...	...	T..	..G
<i>K. limpok</i> (Indragiri)	GA.	...	..A	...	A..	T..	.GG
<i>K. apogon</i> (EF609377)	...	..T	...	..A	...	T..T	...
<i>O. pabo</i> (FJ230018)	..G	..T	..T	..C	..A	...	..G
<i>I. punctatus</i> (NC003489)	...	..G	..T	.A.	...	...	..T
Jenis	Situs asam amino ke						
	1 (28)	2 (29)	3 (30)	31 (58)	146 (173)	160 (187)	174 (201)
<i>S. asotus</i> (JN116720)	M	V	G	V	P	A	V
<i>K. limpok</i> (Kampar)	<u>V</u>	<u>G</u>	<u>V</u>	.	.	S	.
<i>K. limpok</i> (Indragiri)	<u>E</u>	.	.	.	<u>T</u>	S	<u>G</u>
<i>K. apogon</i> (EF609377)	.	.	.	.	.	S	.
<i>O. pabo</i> (FJ230018)	.	.	.	.	.	.	.
<i>I. punctatus</i> (NC003489)	.	.	.	D	.	.	.

Keterangan: Angka dalam tanda kurung () = urutan situs berdasarkan runutan gen Cox-1 utuh *S. asotus* (GenBank); tanda titik = runutan yang sama dengan *S. asotus* (GenBank); huruf tebal bergaris bawah = perubahan non sinonimous

Tabel 5. Substitusi transisi berdasarkan runutan nukleotida gen Cox-1 parsial *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau dengan pembandingan data GenBank

Jenis	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]
[1] <i>S. asotus</i> (JN116720)						
[2] <i>K. limpok</i> (Kampar)	63					
[3] <i>K. limpok</i> (Indragiri)	62	4				
[4] <i>K. apogon</i> (EF609377)	75	50	50			
[5] <i>O. pabo</i> (FJ230018)	63	56	58	52		
[6] <i>I. punctatus</i> (NC003489)	63	46	49	63	63	

Keterangan: Rata-rata transisi = 54 nukleotida

Jarak genetik (*p-distance*) berdasarkan runutan nukleotida gen Cox-1 parsial ikan lais

janggut, *K. limpok* (Kampar) dengan *K. limpok* (Indragiri) dengan pembandingan jenis-jenis ikan

dalam Ordo Siluriformes dari data *GenBank* disajikan pada Tabel 7. Jarak genetik di antara jenis ikan dalam Ordo Siluriformes yaitu 0,01-0,17.

Analisis hubungan kekerabatan dilakukan antara ikan lais janggut (Kampar dan Indragiri), de-ngan pembandingan jenis-jenis ikan dalam Ordo Siluriformes (*GenBank*) disajikan pada Gambar 2. Filogram berdasarkan runutan nukleotida gen

Cox-1 parsial memperlihatkan bahwa antara ikan lais janggut *K. limpok* (Kampar) dan *K. limpok* (Indragiri) membentuk hubungan kekerabatan yang didukung dengan nilai *bootstrap* 100%. Pengelompokan hubungan kekerabatan ini ditunjang oleh nilai substitusi transisi dan transversi nukleotida serta jarak genetiknya.

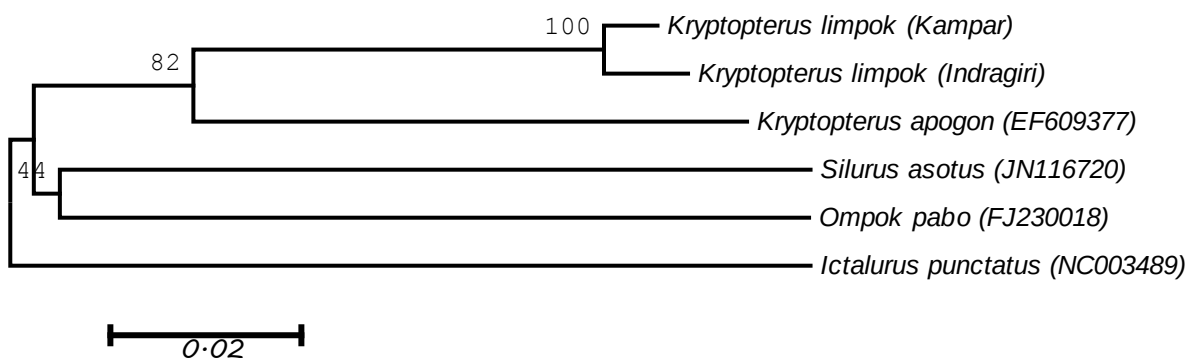
Tabel 6. Substitusi transversi berdasarkan runutan nukleotida gen Cox-1 parsial *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau dengan pembandingan data *GenBank*

Jenis	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]
[1] <i>S..asotus</i> (JN116720)						
[2] <i>K. limpok</i> (Kampar)	29					
[3] <i>K. limpok</i> (Indragiri)	30	5				
[4] <i>K. apogon</i> (EF609377)	26	17	18			
[5] <i>O. pabo</i> (FJ230018)	35	40	41	37		
[6] <i>I. punctatus</i> (NC003489)	40	43	44	42	43	

Keterangan: Rata-rata transversi = 33 nukleotida

Tabel 7. Jarak genetik (*p-distance*) berdasarkan runutan nukleotida gen Cox-1 parsial *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau dengan pembandingan data *GenBank*

Jenis	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]
[1] <i>S..asotus</i> (JN116720)						
[2] <i>K. limpok</i> (Kampar)	0,15					
[3] <i>K. limpok</i> (Indragiri)	0,15	0,01				
[4] <i>K. apogon</i> (EF609377)	0,16	0,11	0,11			
[5] <i>O. pabo</i> (FJ230018)	0,16	0,15	0,16	0,14		
[6] <i>I. punctatus</i> (NC003489)	0,17	0,14	0,15	0,17	0,17	



Gambar 2. Filogram menggunakan metode *Bootstrap Neighbor-Joining* berdasarkan runutan nukleotida gen Cox-1 parsial *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dan Indragiri Riau dengan pembandingan data *GenBank*

Pembahasan

Amplifikasi gen Cox-1 ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Indragiri menggunakan primer *Fish F2* dan primer *Fish R2* menghasilkan fragmen 655 pb. Panjang fragmen gen Cox-1 yang diperoleh dalam penelitian ini sesuai dengan yang didapatkan Ward *et al.* (2005) pada jenis-jenis ikan Genus *Thunnus* dan *Squalus*, dan Elvyra & Duryadi (2013) pada jenis *K. apogon* dari Sungai Indragiri. Penjajaran berganda dilakukan terhadap runutan gen Cox-1 yang diperoleh dengan menggunakan runutan pembandingan yang ada di *GenBank* dan menghasilkan runutan DNA sepanjang 624 nukleotida. Hasil penjajaran berganda sepanjang 624 nukleotida ini lebih panjang daripada yang diperoleh Elvyra & Duryadi (2013) pada gen Cox-1 *K. apogon* dari Sungai Indragiri yaitu 615 nukleotida.

Rata-rata nukleotida G paling sedikit ditemukan pada komposisi nukleotida gen Cox-1 ikan lais janggut dan ikan-ikan lainnya dalam Ordo Siluriformes (Tabel 1). Kecenderungan frekuensi nukleotida G lebih sedikit juga ditemukan oleh Ward & Holmes (2007) pada jenis-jenis ikan genus *Urolophus*. Azlina *et al.* (2013) juga menemukan rata-rata nukleotida G yang lebih rendah dibandingkan nukleotida lainnya pada ikan-ikan famili Pangasiidae di Malaysia yang sama-sama termasuk ordo Siluriformes.

Secara keseluruhan, komposisi nukleotida yang mempunyai keragaman terbesar dari keseluruhan kodon triplet gen Cox-1 ikan-ikan dalam Ordo Siluriformes terletak pada nukleotida ketiga (Tabel 1). Keragaman terbesar pada nukleotida ketiga dari kodon triplet juga ditemukan pada penelitian Ward & Holmes (2007) dan Azlina *et al.* (2013).

Enam ratus dua puluh empat nukleotida hasil penjajaran berganda gen Cox-1 ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri

ditranslasikan menjadi 208 asam amino. Situs asam amino tersebut, terdiri atas situs penyandi keragaman yang lebih banyak (75%) dibandingkan situs *conserve* (25%). Dari 157 situs penyandi keragaman tersebut terdiri atas situs asam amino sinonimous yang lebih banyak (72%) daripada asam amino non sinonimous (3%) (Tabel 2). Azlina *et al.* (2013) juga menemukan nilai situs beragam yang lebih tinggi pada famili Pangasiidae. Ward & Holmes (2007) juga menemukan laju substitusi sinonimous lebih tinggi dibandingkan laju substitusi nonsinonimous. Ada banyak kodon yang menyandikan asam amino yang sama. Kodon-kodon yang menyandikan asam amino yang sama disebut kodon sinonimous. Substitusi nukleotida yang menghasilkan kodon sinonimous disebut substitusi tersembunyi (*silent substitution*), sedangkan substitusi yang menghasilkan perubahan asam amino disebut kodon non sinonimous (Nei & Kumar 2000).

Asam amino non sinonimous terletak pada situs ke 28, 29, 30, 58, 173, 187 dan 201 (Tabel 4). Tiga asam amino dapat dijadikan penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Kampar yaitu V pada situs ke 28, G pada situs ke 29 dan V pada situs ke 30. Tiga asam amino lainnya juga dapat dijadikan penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Indragiri yaitu E pada situs ke 28, T pada situs ke 173, dan G pada situs ke 201.

Kejadian substitusi transisi lebih banyak terjadi (rata-rata 54 nukleotida) daripada substitusi transversasi (rata-rata 33 nukleotida) pada gen Cox-1 parsial jenis-jenis ikan dalam Ordo Siluriformes (Tabel 5 dan 6). Kejadian substitusi transisi yang lebih banyak dibandingkan transversasi juga didapatkan pada ikan-ikan Pangasiid (Azlina *et al.* 2013). Substitusi transisi antara ikan lais janggut *K. limpok* (Kampar) dengan *K. limpok* (Indragiri) terjadi paling sedikit yaitu empat nukleotida, sedangkan substitusi transisi antara *K.*

apogon (GenBank) dengan *K. limpok* (Kampar dan Indragiri) terjadi sebanyak 50 nukleotida. Substitusi transisi nukleotida antara *K. apogon* (GenBank) dengan *S. asotus* (GenBank) terjadi paling banyak yaitu 75 nukleotida.

Kejadian substitusi transversi paling sedikit adalah lima nukleotida, yaitu antara ikan lais janggut *K. limpok* (Kampar) dengan *K. limpok* (Indragiri). Substitusi transversi antara *K. apogon* (GenBank) dengan *K. limpok* (Kampar dan Indragiri) sebanyak 17-18 nukleotida. Substitusi transversi nukleotida antara *K. limpok* (Kampar dan Indragiri) dengan *I. punctatus* (GenBank) terjadi paling banyak yaitu 43-44 nukleotida.

Jarak genetik antara ikan lais janggut *K. limpok* (Indragiri) dengan *K. limpok* (Kampar) mempunyai nilai yang kecil yaitu 0,01; sedangkan nilai jarak genetik antara *K. apogon* (GenBank) dengan *K. limpok* (Kampar dan Indragiri) yaitu 0,11. Jarak genetik terbesar antara *I. Punctatus* (GenBank) dengan *S. asotus* (GenBank), *K. apogon* (GenBank) dan *O. pabo* (GenBank) yaitu 0,17%.

Hasil filogram berdasarkan runutan nukleotida gen Cox-1 (Gambar 2) memperlihatkan antara ikan lais janggut *K. limpok* (Kampar) dan *K. limpok* (Indragiri) membentuk hubungan kekerabatan dengan nilai *bootstrap* 100%. Antara *K. limpok* (Kampar dan Indragiri) dengan *K. apogon* (GenBank) membentuk hubungan kekerabatan dengan nilai *bootstrap* 82%. Pengelompokan genus *Kryptopterus* memisah kelompoknya dari kelompok *S. asotus* dan *O. pabo*. Hubungan kekerabatan antara kelompok *K. limpok* (Kampar), *K. limpok* (Indragiri), *K. apogon* (GenBank), *S. asotus* (GenBank) dan *O. pabo* (GenBank) membentuk satu kelompok besar karena sama-sama dalam satu famili yaitu Siluridae, yang memisah dengan *Ictalurus punctatus* (GenBank) dari fami-

li Ictaluridae, tetapi semuanya termasuk ke dalam ordo yang sama yaitu Siluriformes.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa gen Cox-1 ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Indragiri Provinsi Riau dapat teramplifikasi sepanjang 655 pb, dengan empat substitusi transisi dan lima substitusi transversi nukleotida. Frekuensi nukleotida guanin sangat sedikit dibandingkan cytosin, thymine, adenin. Tiga asam amino dapat dijadikan penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Kampar, dan tiga asam amino lainnya juga dapat dijadikan penanda genetik ikan lais janggut dari Sungai Indragiri. Ikan lais janggut dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri membentuk kelompok hubungan kekerabatan dengan nilai *bootstrap* 100 %.

Persantunan

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Kompetensi Tahun 2013-2014.

Daftar Pustaka

- Azlina ZM, Daud SK, Siraj SS, Aliabadian M, Moghaddam FY. 2013. Molecular phylogeny of Malaysian Pangasiid based on cytochrome C oxidase I (COI) DNA sequences. *Iranian Journal of Animal Biosystematics (IJAB)* 9(1): 17-28.
- Duryadi D. 1993. Role possible du comportement dans l'évolution de deux souris *Mus macedonicus* et *Mus spicilequus* en Europe Centrale. *Thesis Doctorat*. Faculte des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier II, France.
- Elvyra R, Duryadi D, Affandi R, Junior Z, Yus Y. 2009. Keanekaragaman genetik dan

- hubungan kekerabatan *Kryptopterus lim-pok* dan *Kryptopterus apogon* dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri Riau berdasarkan Gen Sitokrom b. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, 16(1): 55-61.
- Elvyra R, Duryadi D. 2013. The characteristic of mitochondrial Cytochrome C Oxydase 1 Gene of *Kryptopterus apogon* (Bleeker, 1851). In: Hutaeruk R, Efizon D, Karnila R, Nasution S, Syawal H, Windarti, Sami-aji J, Heltonika B, Junaidi R (eds.). *Proceeding 2nd International Seminar of Fisheries and Marine*. UR Press, Pekanbaru. pp. 124-127.
- GenBank. 2014. Genomes. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (15 Maret 2014).
- Hajibabaei M, Smith MA, Janzen DH, Rodriguez JJ, Whitfield JB, Hebert PDN. 2006. A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology Notes* 6(4): 959-964.
- Kottelat M, Whitten AJ, Kartikasari SN, Wirjoatmodjo S. 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Periplus edition. Hongkong. 293 p.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA 3.0: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5(2): 150-163.
- Nei M, Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York. 333 p.
- Ward RD, Holmes BH. 2007. An analysis of nucleotide and amino acid variability in the barcode region of cytochrome c oxydase 1 (cox 1) in fishes. *Molecular Ecology Notes* 7(6): 899-907.
- Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360(1462): 1847-1857.