

Hubungan filogenetik ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi berdasarkan DNA *Barcode*

[Phylogenetic relationships of stress resistant fish in Harapan Rainforest Jambi based on DNA barcode]

Tedjo Sukmono¹, Winda Dwi Kartika²

¹ Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi

² Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jambi

Surel: sukmonotedjo@gmail.com, windadwikartika@unja.ac.id

Diterima: 7 Oktober 2020; Disetujui: 20 Mei 2021

Abstrak

DNA *barcode* sebagai alat efektif identifikasi dan mengungkap hubungan filogenetik pada ikan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis runutan DNA, jarak genetik dan hubungan filogenetik ikan tahan cekaman (*blackfish*) di Hutan Harapan Jambi berdasarkan DNA *barcode*. Penelitian dilakukan pada April-Agustus 2016 di Hutan Harapan Jambi, Laboratorium Terpadu Universitas Jambi dan Laboratorium Pusat Studi Satwa Primata IPB Bogor. Ekstraksi DNA dilakukan pada lima spesies ikan tahan cekaman dari Hutan Harapan Jambi yaitu kerapu rawa (*Nandus nebulosus*), sepatung (*Pristolepis grootii*), sepat mutiara (*Trichopodus leerii*), gabus (*Channa striata*), dan toman (*Channa micropeltes*). Sebagai kelompok pembanding digunakan ikan yang tidak tahan cekaman (*whitefish*) dari Hutan Harapan Jambi yaitu ridiangus (*Balantiocheilos melanopterus*), dan dari *gen-bank* NCBI yaitu baung (*Hemibagrus nemurus*) nomor akses KT001040,1. Ekstraksi DNA berdasarkan *Quick-Star Protocol* jaringan dari Qiagen. Amplifikasi gen COI dengan modifikasi pada suhu penguraian DNA dan penempelan primer. Visualisasi pita DNA menggunakan mesin elektroforesis horizontal dari *Bio Rad*. *Sequencing* DNA dikirim ke *1st Base* Malaysia. Analisis DNA menggunakan perangkat lunak Bioedit dan MEGA X. Hasil pensejajaran pita DNA pada MEGA X menghasilkan runutan DNA sepanjang 588 bp, terdiri atas *conserve* 350 bp dan *variable* 238 bp. Komposisi basa nukleotida (T/U) =29%, C=28,6%, A=25%, dan G=17,3%. Jarak genetik terdekat pada *Channa striata* dan *Channa micropeltes* 0,190 dan terjauh pada *Nandus nebulosus* dan *Hemibagrus nemurus* 0,303. Berdasarkan pohon filogeni menunjukkan bahwa kelompok *blackfish* (*ingroup*) terpisah dengan kelompok *whitefish* (pembanding), pada *blackfish* terbagi atas Channidae (*Channa striata*, *Channa micropeltes*) dan non Channidae (*Nandus nebulosus*, *Trichopodus leerii*, *Pristolepis grootii*).

Kata penting: Hutan Harapan, DNA *barcode*, ikan tahan cekaman

Abstract

DNA barcode as an effective tool for identification and reveal phylogenetic relationships in fish. The purpose of this study was to analysis DNA sequence, genetic distance and reveal phylogenetic relationships of stress resistance fish (*blackfish*) in Harapan Rainforest Jambi base on DNA barcode. The research was conducted form April to August 2016 in Harapan Rainforest Jambi, Integrated Laboratory, Jambi University and Biotechnology Laboratory of the Primate Study Centre-IPB University. DNA extraction was done on five blackfish species from Harapan Rainforest Jambi, namely *Nandus nebulosus*, *Pristolepis grootii*, *Trichopodus leerii*, *Channa striata* and *Channa micropeltes*. As a comparison, we used stress intolerance fish (*whitefish*) from Harapan Rainforest Jambi, i.e., *Balantiocheilos melanopterus* and *Hemibagrus nemurus* from the *gene-bank* NCBI with accession number KT001040,1. DNA Extraction was performed according to *Quick-Star Tissue Protocol* from Qiagen. COI gene amplification with modification at denaturation and aneling temperatures. Visualization DNA band using a horizontal electrophoresis machine from *Bio Rad*. *Sequencing* DNA send to *1st Base* Malaysia. DNA sequence used Biodit and MEGA X software. The alignment of the DNA bands in MEGA X produces DNA sequence along 588 bp, where 350 bp *conserve* and 238 bp *variable* sites. The composition of the base nucleotides were (T/U) =29%, C=28.6%, A=25%, and G=17.3%. The closest genetic distance was between *Channa striata* and

Channa micropeltes (0.190) and the farthest was found on *Nandus nebulosus* and *Hemibagrus nemurus* (0.303). The phylogeny tree shows that the blackfishes are separated from whitefishes. The group of blackfish is divided into Channidae group (*Channa striata*, *Channa micropeltes*) and non-Channidae group (*Nandus nebulosus*, *Trichopodus leerii*, *Pristolepis grootii*).

Keywords: blackfishes, DNA barcode, Harapan Rainforest

Pendahuluan

Hutan Harapan Jambi merupakan areal restorasi ekosistem yang pertama di Indonesia, berada di Pulau Sumatra meliputi Provinsi Jambi dan Sumatra Selatan dengan luas saat ini \pm 100.000 ha. Berbagai tipe ekosistem seperti hutan sekunder tinggi dan rendah serta perairan umum daratan (sungai dan rawa) dapat ditemukan di Hutan Harapan. Menurut Sukmono *et al.* (2013), perairan umum daratan di Hutan Harapan meliputi 4 subdaerah aliran sungai (DAS) yaitu: Sungai Kandang, Sungai Meranti, Sungai Lalan, dan Sungai Kapas. Sungai-sungai tersebut bertipe sungai rawa banjir. Pada musim hujan air bisa meluap masuk ke daerah paparan banjir sehingga di sepanjang sungai bermunculan rawa-rawa banjir, namun pada saat kemarau rawa-rawa tersebut terpisah dengan sungai utama sehingga terbentuk beberapa area bertahan ikan (*refuge area*) dengan saluran-saluran bersifat sementara (Sukmono *et al.* 2020)

Menurut Welcomme (2001) dan Elvira (2010), rawa banjir merupakan habitat berbagai jenis ikan. Terdapat dua kelompok utama ikan yaitu ikan yang sepanjang hidupnya ada di sungai atau terkadang beruaya ke paparan banjir, namun harus kembali ke sungai utama untuk menghindari kondisi lingkungan yang kualitas airnya menurun.

Kelompok ikan ini tidak tahan terhadap cekaman pada saat kemarau yang dikenal sebagai ikan tidak tahan cekaman (*whitefish*). Kelompok kedua adalah ikan yang mampu bertahan pada air menggenang dan tahan terhadap cekaman atau kualitas air yang menurun seperti: kandungan oksigen terlarut rendah, suhu yang tinggi, partikel terlarut tinggi, serta perubahan air menjadi coklat kehitaman, dikenal sebagai ikan tahan cekaman (*blackfish*). Ikan anggota ikan tahan cekaman umumnya dilengkapi dengan organ tambahan yang mampu mengambil oksigen langsung dari udara (Welcomme 2001). Ikan tidak tahan cekaman dan ikan tahan cekaman ditemukan hidup alami di perairan Hutan Harapan Jambi.

Anggota ikan tahan cekaman umumnya berasal dari famili Channidae, Anabantidae, Siluridae, dan Osphronemidae (Elvira 2010). Famili tersebut memiliki beberapa kesamaan karakter seperti: mampu beradaptasi terhadap oksigen rendah, hidup pada habitat yang sempit, memiliki *organolfactory* dan *electrosensory*, serta warna badan kehitaman. Organ-organ dengan bentuk dan fungsi yang hampir sama umumnya diekspresikan dari gen dengan runutan DNA yang hampir sama dan terdapat hubungan filogenetik. Sebagai contoh, pada kelompok *catfish* yang memiliki kelenjar racun berdasarkan analisis filogeni

memiliki hubungan kekerabatan lebih dekat dibandingkan *catfish* yang tidak memiliki kelenjar racun, hal ini didasarkan pada kesamaan polipeptida yang terdapat dalam kelenjar racun tersebut (Wright 2009). Kesamaan adanya organ pernafasan tambahan pada ikan tahan cekaman sebagai salah satu indikasi adanya kedekatan runutan DNA. Menurut Luca *et al.* (2008), kesamaan habitat dan perilaku adaptasi pada ikan menimbulkan pertanyaan yang menarik dan relevan terkait dengan studi evolusi untuk mengetahui hubungan filogeni dan nenek moyangnya. Kevin *et al.* (2009) menyatakan bahwa *Cytochrome oxidase I* (COI) atau DNA *barcode* dapat digunakan untuk diagnosis molekular hubungan kekerabatan spesies. DNA *barcode* merupakan runutan DNA pendek dengan ukuran ± 650 bp yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi berbagai spesies hewan secara cepat (Prasanna *et al.* 2011). Menurut Herbert *et al.* (2003) dan Ward *et al.* (2009), DNA *barcode* dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies secara cepat, dan akurat dengan membandingkan data DNA yang sudah tersimpan di *gen-bank*. DNA *barcode* telah berhasil digunakan dalam berbagai penelitian untuk mengungkapkan kekerabatan berbagai spesies, seperti biodiversitas Mugilidae dari Indo-Australia (Erwan *et al.* 2020).

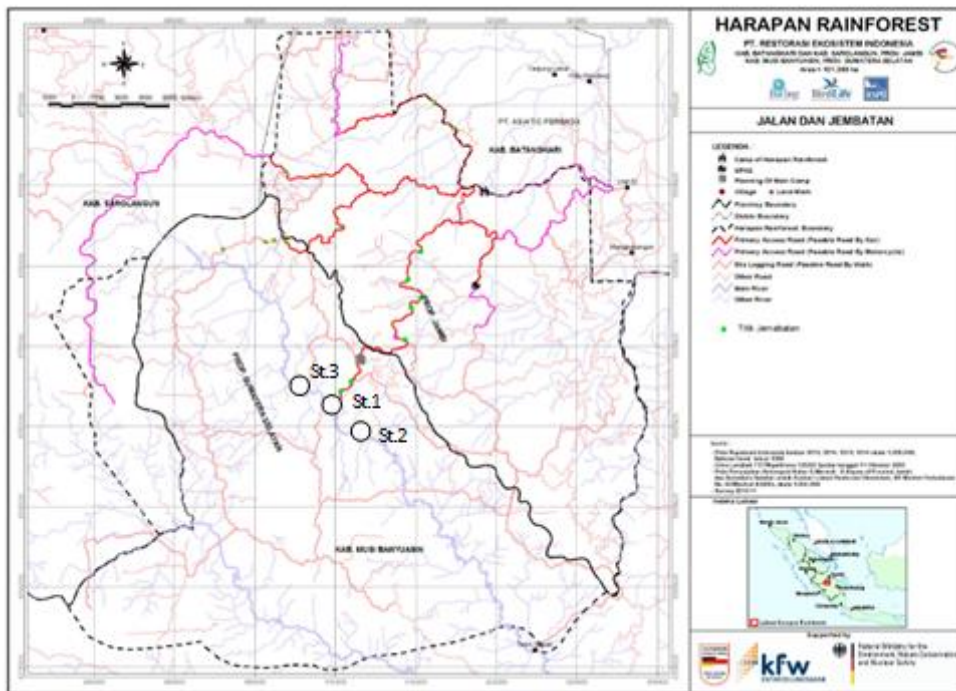
Hingga saat ini belum dilakukan penelitian untuk mengetahui hubungan filogenetik ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi. Penentuan kekerabatan, hubungan filogenetik, dan jarak genetik tidak bisa dilakukan

dengan identifikasi secara morfologi, sehingga diperlukan identifikasi molekuler, salah satunya menggunakan DNA *barcoding* (Prasanna *et al.* 2011; Sukmono *et al.* 2015). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis komposisi nukleotida, jarak genetik, dan hubungan filogenetik ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi berdasarkan DNA *barcode*.

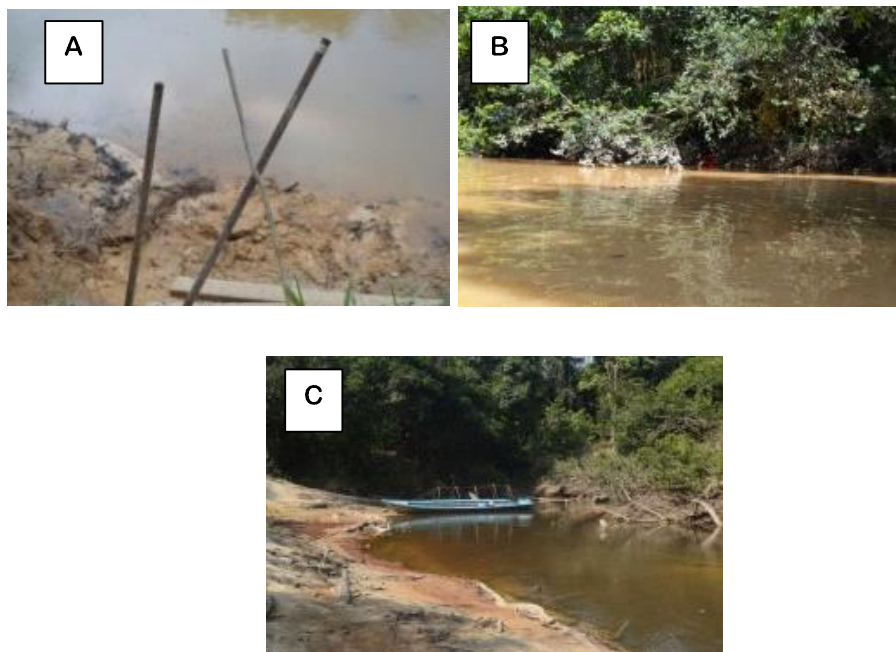
Bahan dan metode

Pengambilan sampel ikan tahan cekaman dilakukan di Sungai Kapas, Hutan Harapan Jambi (Gambar 1), pada musim kemarau (April-Agustus) 2016 yang meliputi tiga stasiun (Gambar 2). Stasiun satu (St.1) pos patrol; koordinat S $02^{\circ}14.860'$ dan E $103^{\circ}17'22.4$, stasiun dua (St. 2) pintasan Ubay merupakan rawa banjir koordinat S $02^{\circ}15.112'$ dan E $103^{\circ}17'22.5$ dan stasiun tiga (St. 3) Muara Bato koordinat S $2^{\circ}14.15$ dan E $1,3^{\circ}17'20.5$.

Penangkapan ikan menggunakan jaring insang ukuran panjang 30 m, lebar 120 cm dan mata jaring ukuran 0,5-1,5 inci. Pancing exory dengan ukuran panjang 1,2 m dan mata pancing karbonno 5, 7, 9, dan 11. Untuk menangkap ikan tahan cekaman digunakan umpan katak, jangkrik, dan cacing. Alat tangkap lain adalah jala lempar dengan panjang 3 m dan bukaan 2 m^2 . Sampel ikan yang didapatkan dilakukan identifikasi cepat di lapangan menggunakan beberapa buku identifikasi seperti: Kottelat *et al.* (1993), Kottelat & Whitten (1996), dan Rachmatika (2004), serta secara daring dengan *Fishbase* (Froese



Gambar 1 Peta lokasi pengambilan sampel di Hutan Harapan Jambi



Gambar 2 Stasiun pengambilan sampel di Sungai Kapas Hutan Harapan. A. Areal Pos Patrol (Stasiun 1), B. Pintasan Ubay (Stasiun 2), C. Muaro Bato (Stasiun 3)

& Pauly 2016). Identifikasi ikan lebih lanjut dilakukan di Laboratorium Dasar Terpadu

Universitas Jambi. Pengambilan jaringan untuk analisis DNA dilakukan di lapangan de-

ngan cara memotong pangkal sirip dada sebelah kanan menggunakan gunting, selanjutnya disimpan pada tabung *ependorf* 15 ml yang sudah berisi alkohol 96%. Beberapa spesimen dengan kondisi baik didepositkan di *Museum Zoological Bogoriens* (MZB) LIPI Cibinong untuk mendapatkan nomor katalog museum.

Analisis DNA dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) Institut Pertanian Bogor. Setiap spesies dianalisis DNA sebanyak 3 individu, kecuali *Nandus nebulosus* dan *Balentiochelos melanopterus* hanya satu individu karena sampel yang terbatas. Proses ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *DNeasy* dari *Qiagen* dan diproses dalam *Biosafety Cabinet* (BSC). Jaringan sirip dengan ukuran $\pm 0,5$ cm dicacah sampai halus menggunakan pisau bedah steril dan ditambahkan 250 μ l *phosphat buffer saline* (PBS), buffer ATL 180 μ L, dan prot K 20 μ L, selanjutnya di vortex dan inkubasi pada suhu 56°C selama lima menit. Berikutnya ditambahkan buffer A1 dan Ethanol absolut @ 200 μ L dan di ambil filtrat DNA kemudian dipindahkan ke tabung *ependorf* 1,5 μ L ditambahkan AW 1 dan AW 2 @ 200 μ L, kemudian ditambah 100 μ L buffer AE dan diinkubasi pada suhu kamar selama dua menit, selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 8000 rpm selama satu menit, maka didapatkan DNA 100 μ L.

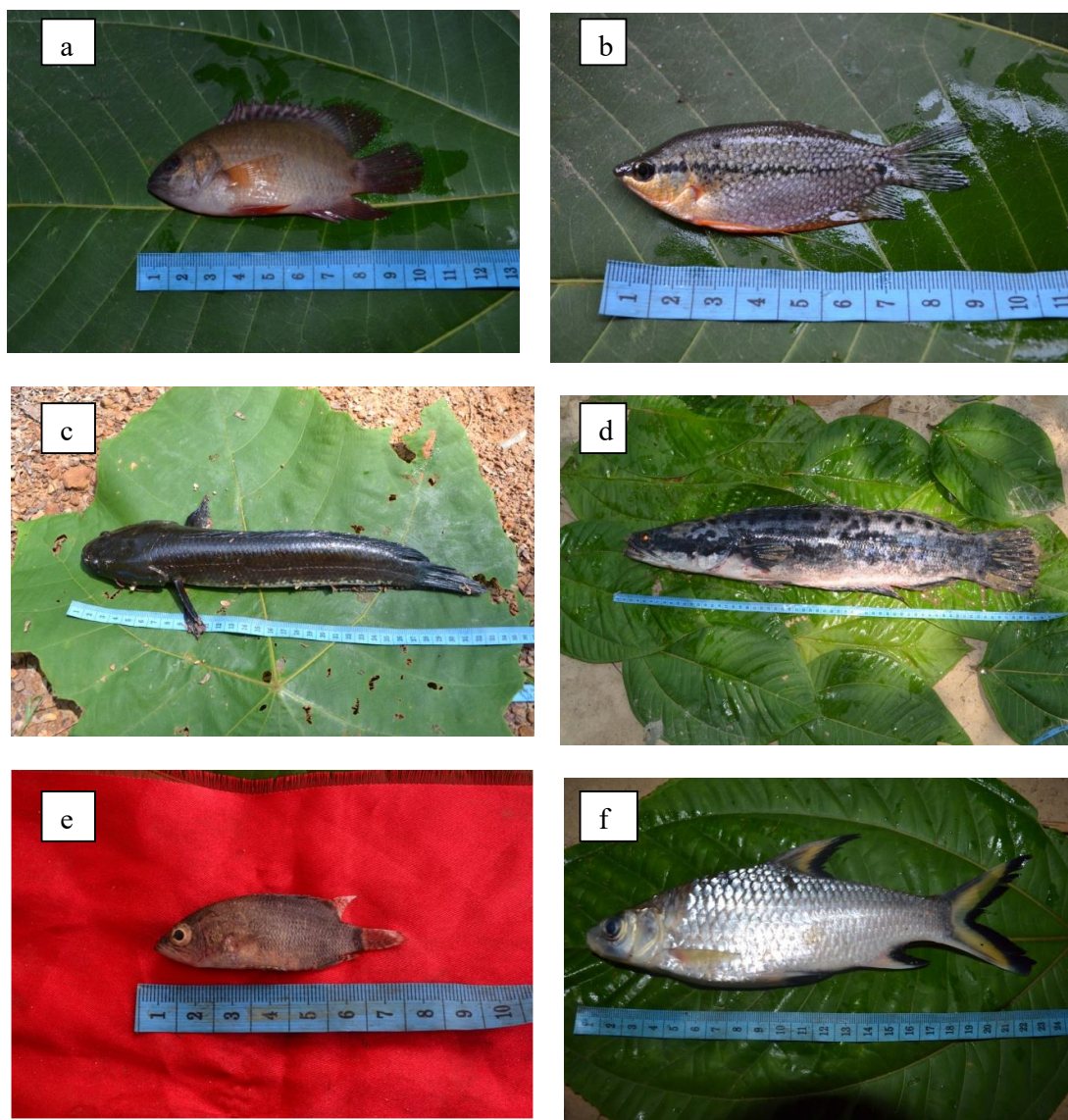
Proses PCR dilakukan berdasarkan metode Ward *et al.* (2009) yang dimodifikasi suhu dan waktu saat pelepasan ikatan double helix DNA (*denaturasi*) dan suhu penempelan primer (*annealing*). PCR menggunakan

master mix PCR *goteq* dengan primer *FishF1* (*forward*) 5'TCAACCAACCACAAAGAC-ATTGGCAC3'dan *FishR1* (*reverse*) 5'TAGACTTCTGG GTGGCCAAAGAA-TCA3' yang akan menghasilkan segmen ± 650 bp sebagai ciri runutan DNA barcode. Komposisi reaksi PCR meliputi: primer *FishF1* dan *FishR1* masing-masing 1 μ L, *master mix qotaq* 12.5 μ L, *nuclease free water* 5.5 μ L, dan DNA sampel 5 μ L, total volume PCR 25 μ L. Kondisi suhu PCR meliputi: *denaturasi* pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 52°C selama 30 detik dan ekstensi pada suhu 72°C selama 30 detik, selanjutnya *post PCR* pada suhu 72°C selama 5 detik (Sukmono *et al.* 2015). Visualisasi pita DNA dengan *elektroforesis* dari *bio rad*, komposisi saat *elektroforesis* meliputi: *gel agarosa* 1,8 %, DNA ladder dari *vivantis* 100 bp, sampel DNA 20 μ L, voltase 100 watt dan waktu 45 menit. Proses *sequencing* dikirim ke 1stbase Malaysia melalui PT Genetika Science Jakarta dengan target panjang basa nukleotida ± 650 bp.

Hasil perunutan DNA dianalisis panjang basa nukleotidanya menggunakan program *bioedit*, selanjutnya dilakukan cek penempelan primer pada program *MEGAX*, hingga didapatkan konsensus runutan DNA ikan tahan cekaman. DNA konsesus selanjutnya dicocokkan dengan DNA ikan yang sejenis pada *genbank* NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) dengan cara di *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Untuk membuat *kladogram* hubungan filogenetik ikan tahan cekaman, runutan DNA disejajarkan pada

program MEGA X. Rekonstruksi pohon filogeni menggunakan *neighbor joining* (NJ) dan *bootstrap* 1000 X. Selain itu juga dilakukan analisis komposisi nukleotida, jumlah basa nukleotida yang urutannya tidak berubah (*conserve*) dan basa nukleotida yang urutannya berubah (*variable*), perubahan mutasi titik pada ikan tahan cekaman dan pembanding (*outgroup*), serta pengukuran

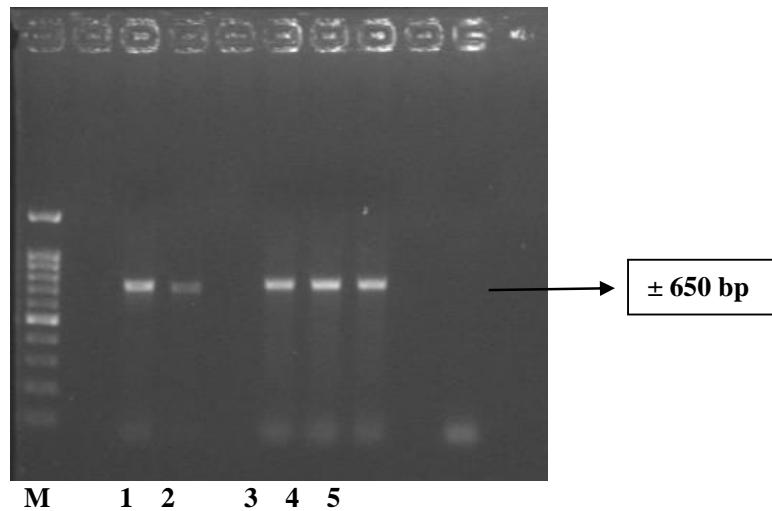
jarak genetik dengan metode jarak berpasangan (*pairwise distance*). Pada proses penyusunan filogenetik ikan tahan cekaman, sebagai pembanding (*outgroup*) digunakan jenis ikan yang tidak tahan cekaman karena tidak memiliki alat nafas tambahan yaitu: ridiangus (*Balantiocheilos melanopterus*) dan baung (*Hemibagrus nemurus*).



Gambar 3 Spesies ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi: a. sepatung (*Pristolepis grootii*), b. sepat mutiara (*Trichopodus leerii*), c. gabus (*Channa striata*), d. toman (*Channa micropeltes*), e. kerapu rawa (*Nandus nebulosus*), f. Ridiangus (*Balantiocheilos melanopterus*) sebagai pembanding (*outgroup*).

Tabel 1 Data deposit spesimen ikan tahan cekaman Hutan Harapan Jambipada MZB LIPI

No	Spesies	Nama lokal	Famili	MZB
1	<i>Channa striata</i>	Gabus	Channidae	22214
2	<i>Channa micropeltes</i>	Toman	Channidae	-
3	<i>Trichopodus leerii</i>	Sepat Mutiara	Osphronemidae	22237
4	<i>Nandus nebulosus</i>	Kerapu rawa	Nandidae	22196
5	<i>Pristolepis grootii</i>	Sepatung	Pristolepididae	22205

**Gambar 4** Visualisasi pita DNA ikan tahan cekamanpada Gel Doc, M. Marka:

1. *Channa striata*, 2. *Channa micropeltes*, 3. *Trichopodus leerii*, 4. *Nandus nebulosus*, 5. *Pristolepis grootii*

Tabel 2 Hasil BLAST pada *Gen-bank* NCBI ikan tahan cekamandi Hutan Harapan Jambi

No	Spesies	Data gen bank	Identify (%)	Ac. number
1	<i>Channa striata</i>	<i>Channa striata</i>	99,08	MF496938.1
2	<i>Channa micropeltes</i>	<i>Channa micropeltes</i>	99,54	KM213040.1
3	<i>Trichopodus leerii</i>	<i>Trichopodus leerii</i>	98,14	KR029983.1
4	<i>Nandus nebulosus</i> *	<i>Nandus oxyrhynchus</i>	88,42	MK448149.1
5	<i>Pristolepis grootii</i>	<i>Pristolepis fasciata</i>	95,05	MH721176.1
6	<i>Balantiocheilosmelanopterus</i>	<i>Balantiocheilosmelanopterus</i>	100	KU568765.1
7	-	<i>Hemibagrus nemurus</i>	100	KT001040.1

Keterangan * belum ada di data *gen-bank* NCBI

Hasil

Berdasarkan identifikasi secara morfologi didapatkan lima spesies ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi, yaitu: kerapu rawa (*Nandus nebulosus*), sepatung

(*Pristolepis grootii*), sepat mutiara (*Trichopodus leerii*), gabus (*Channa striata*), dan toman (*Channa micropeltes*). Sebagai pembanding (*outgroup*) untuk penyusunan filogenetik berbasis runutan DNA digunakan

Tabel 3 Komposisi basa nukleotida ikan tahan cekaman dan pemnading (*outgroup*)

Species	T(U)	C	A	G	Total
<i>Channa striata</i>	29,1	29,9	24,3	16,7	588,0
<i>Channa micropeltes</i>	25,5	31,6	25,2	17,7	588,0
<i>Nandus nebulosus</i>	30,1	27,9	23,8	18,2	588,0
<i>Balantiocheilos melanopterus</i> (outgrup)	29,8	25,9	28,1	16,3	588,0
<i>Trichopodus leerii</i>	31,3	27,0	24,5	17,2	588,0
<i>Pristolepis grootii</i>	27,9	31,1	23,3	17,7	588,0
<i>Hemibagrus nemurus</i> (outgrup)	29,6	26,5	26,2	17,7	588,0
Rata-rata (%)	29,0	28,6	25,0	17,3	588,0

Tabel 4 Jarak genetik dengan pairwise distance ikan tahan cekaman dan outgroup

Species	1	2	3	4	5	6
1. <i>Channa striata</i>						
2. <i>Channa micropeltes</i>	0,190					
3. <i>Nandus nebulosus</i>	0,251	0,246				
4. <i>Balantiocheilos melanopterus</i> *	0,275	0,263	0,288			
5. <i>Trichopodus leerii</i>	0,232	0,240	0,245	0,294		
6. <i>Pristolepis grootii</i>	0,244	0,198	0,254	0,290	0,195	
7. <i>Hemibagrus nemurus</i> *	0,246	0,258	0,303	0,247	0,258	0,279

Keterangan * *outgroup* (*whitefish*)

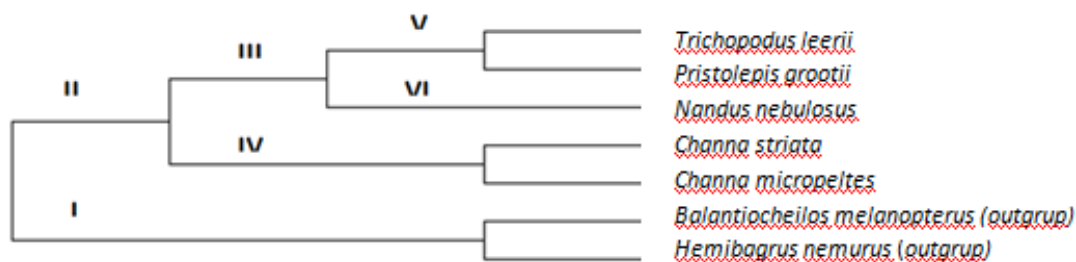
ikan dari kelompok ikan tahan cekaman yang memiliki sifat berbeda dengan ikan tahan cekaman. *Outgroup* yang digunakan yaitu rudiangus (*Balantiocheilos melanopterus*) dari Hutan Harapan Jambi dan baung (*Mystus nemurus*) dengan penamaan yang valid saat ini *Hemibagrus nemurus* dari *gen bank* NCBI. Foto ikan tahan cekaman dari Hutan Harapan disajikan pada Gambar 3.

Beberapa spesimen didepositkan di *Museum Zoological Bogoriensis* (MZB) LIPI Cibinong (Tabel 1), selanjutnya dilakukan

analisis molekular menggunakan DNA *barcode* dengan marka gen COI.

Hasil visualisasi pita DNA menunjukkan ukuran panjang pita rata-rata secara kuratif ± 650 bp (Gambar 3). Selanjutnya sampel DNA dikirim ke *1stbase* Malaysia untuk proses perunutan DNA.

Hasil perunutan DNA dari *1stbase* Malaysia, selanjutnya dikoreksi pada program Bioedit untuk memastikan panjang urutan basa nukleotida yang didapat sesuai dengan target yaitu ± 650 bp. Selanjutnya dilakukan pengoreksian penempelan primer *FishF1* dan



Gambar 5 Rekonstruksi pohon filogeni ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi dengan NJ

FishR1 pada Program MEGA X sehingga didapatkan DNA konsensus setiap spesies. Penentuan spesies dilakukan dengan mencocokkan pada *Gen-bank* NCBI dengan BLAST (Tabel 2).

DNA konsensus yang didapat digunakan untuk analisis DNA, penghitungan jarak genetik dan penyusunan pohon filogenetik. Analisis DNA dilakukan dengan proses *alignment* (pensejajaran) pada program MEGA X, dilakukan editing runutan DNA menyesuaikan dengan panjang sequence yang terpendek yaitu *Hemibagrus nemurus* (588 bp). Hasil analisis didapatkan runutan DNA *ikan tahan cekaman* dengan panjang 588 bp, terdiri atas basa nukelotida *conserve* 359 bp dan *variable* 238 bp, *pharsimony* 153 bp, *single* 85 bp. Komposisi rata-rata basa nukleotida T/U =29%, C=28,6%, A=25%, dan G=17,3% (Tabel 3).

Hasil analisis mutasi titik ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi dibandingkan dengan outgrup menunjukkan terdapat 12 titik substitusi pasangan basa yaitu pada urutan nukleotida ke- 30 (A ↔G),

41 (G ↔ C), 106 (G↔A), 108 (A↔ C), 111 (A↔G), 225 (A ↔G), 244 (C ↔T), 261 (T↔A), 456 (A↔G), 499 (C↔T), 379 (C ↔ T). Proses substitusi /penggantian basa nitrogen bersifat sejenis dari basa purin ke purin atau pirimidin ke pirimidin (*transisi*) dan tidak sejenis dari purin ke pirimidin atau sebaliknya (*tranversi*). Pengukuran jarak genetik dilakukan dengan metode jarak berpasangan (*pairwise distance*) disajikan pada Tabel 4.

Hasil rekontruksi pohon filogeni menggunakan metode *neighbour joining* (NJ) dengan bootstrap 1000x, dengan ikan tidak tahan cekaman *Balantiocheilos melanopterus* dan *Mystus nemurus* dari *gen-bank* NCBI, saat ini nama valid *Hemibagrus nemurus* sebagai pembanding (*outgroup*) disajikan pada Gambar 5. Pohon filogeni pada ini menunjukkan bahwa spesies pembanding (*outgroup*) (I) terpisah dengan *ingrup* (II). Pada in grup terbagai atas dua clade yaitu; III (*Trichopodusleeri*, *Pristolepis grootii* bergabung dengan *Nandus nebulosus*), dan IV

(*Channa striata*, dengan *Channa micropeltes*).

Pembahasan

Gambar 2 dan Tabel 1 pada hasil menunjukkan bahwa terdapat lima spesies ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi yaitu: kerapu rawa (*Nandus nebulosus*), sepatung (*Pristolepis grootii*), sepat mutiara (*Trichopodus leerii*), gabus (*Channa striata*), dan toman (*Channa micropeltes*). Spesies tersebut tergolong dalam famili Channidae, Osphronemidae, Nandidae, dan Pristolepididae. Anggota famili tersebut mampu mengambil oksigen langsung dari udara karena memiliki alat pernafasan tambahan berupa organ *suprabranchia* dan hidup alami di rawa banjiran, rawa gambut atau sungai berarus lemah (Elvira 2010, Sukmono & Margaretha 2017). Sungai Kapas Hutan Harapan Jambi, bertipe sungai rawa banjiran. Pada saat musim penghujan areal paparan banjir menyatu dengan sungai utama, namun dan pada saat kemarau akan terpisah dengan sungai utama membentuk putusan sungai atau rawa-rawa banjiran, yang berperan sebagai habitat berbagai spesies ikan seperti anggota ikan tahan cekaman (Sukmono *et al.* 2020).

Setelah proses identifikasi, selanjutnya spesimen ikan tahan cekaman dari Hutan Harapan didepositkan di *Museum Zoological Bogoriens* (MZB) LIPI Cibinong. Hal ini dimaksudkan agar spesimen dapat dilacak kembali karena di MZB LIPI spesimen tersimpan dengan baik dan setiap spesimen akan memiliki nomor katalog untuk memudahkan

pelacakan. Menurut Hebert *et al.* (2003), syarat baku untuk DNA *barcode* adalah: terdapat foto spesies, spesimen, voucher spesimen, identifikator, lokasi koordinat, dan pencocokan dalam genbank.

Berdasarkan koreksi penempelan primer Fish F1 dan Fish F2 dan pensejajaran pada program MEGA X dihasilkan konsensus runutan sepanjang 588 bp. Panjang runutan tersebut masih dalam batas standar barcode untuk hewan; 500-700 bp (Hajibabeiet *al.* 2007). Hasil pencocokan runutan DNA dengan BLAST pada Tabel 2 menunjukkan hasil kesamaan spesies 88,42-100%. Menurut Makino *et al.* (2017), jika dalam BLAST perbedaan lebih dari 7% menunjukkan spesies yang berbeda, dan hal ini juga sejalan dengan Hebert *et al.* (2003) bahwa kesamaan identitas $\geq 97\%$ menunjukkan spesies yang sejenis. Kesamaan 88,42% dengan spesies pada genbank ditemukan pada *Nandus nebulosus*, yang menunjukkan bahwa untuk runutan DNA *Nandus nebulosus* belum terdapat di genbank. Komposisi basa nukleotida ikan tahan cekaman rata-rata (T/U) =29%, C=28,6%, A=25%, dan G=17,3%. Komposisi tersebut mendekati komposisi nukleotida famili Cyprinidae didapatkan T(U) =29,7% C=26,1%, A=27,4% dan G=16,0% (Luca *et al.* 2008, Sukmono *et al.* 2015). Kedekatan komposisi nukleotida tersebut dimungkinkan karena ikan ikan tahan cekaman dan ikan tidak tahan cekaman masih dalam satu ordo yang sama yaitu Actinopterygii (Froese & Pauly 2016).

Berdasarkan hasil analisis mutasi titik antara ikan tahan cekaman (ingrup) dengan outgrup terdapat 12 substitusi nukleotida bersifat transisi (8 titik) dan transversi (4 titik). Substitusi transisi berarti perubahan basa nukleotida dari basa purin ↔ purin (A ↔ G) atau pirimidin ↔ pirimidin (T ↔ C). Substitusi transversi berarti perubahan basa nukleotida dari purin ↔ pirimidin (A ↔ T, C ↔ A, C ↔ G dan T ↔ G). Setiap ada perubahan nukleotida ini menunjukkan karakter pembeda dari spesies tersebut dan hal ini bersifat unik. Pada saat pewarisan keturunan dari nenek moyang maka ada yang bersifat conserve (tetap) dan ada yang berubah (unik). Menurut Ubaidillah & Sutrisno (2009), jika nenek moyang yang sama maka runutan DNA muncul yang diturunkan secara bertahap akan terpisah melalui perbedaan nukleotida karena adanya mutasi ataupun mutasi titik.

Hasil rekonstruksi pohon filogeni (Gambar 5) menunjukkan terdapat dua clade utama yaitu ikan tahan cekaman (ingrup) dan ikan tidak tahan cekaman (outgrup). Pada ingrup, ikan tahan cekaman mengelompok berdasarkan kesamaan bentuk badan (morfologi) yaitu *Channa striata* dan *Channa micropeltes* terpisah dengan *Trichopodus leerii*, *Pristolepis grootii* dan *Nandus nebulosus*. Bentuk morfologi merupakan ekspresi fenotip dari gen yang dimiliki oleh spesies, sehingga spesies dengan kesamaan morfologi lebih banyak, maka kekerabatannya akan lebih dekat, karena DNA penyusunnya memiliki kesamaan lebih banyak. Hal ini juga membuktikan bahwa DNA barcoding sesuai untuk

identifikasi ikan dan mengetahui hubungan filogeni (Ward *et al.* 2009). Lebih lanjut berdasarkan Luca *et al.* (2008), DNA *barcode* bisa mengungkapkan hubungan filogeni pada famili Cyprinidae dengan menghasilkan dua garis keturunan utama yaitu Cyprininae dan Leuciscynae. DNA barcode juga telah berhasil digunakan membedakan spesies anggota famili Mugilidae di Indo-Pasific dengan menghasilkan konsesus-konsesus DNA yang berbeda (Erwan *et al.* 2020)

Simpulan

Runutan konsensus DNA ikan tahan cekaman dari Hutan Harapan Jambi berdasarkan DNA barcode adalah 588 bp, terdiri atas *conserve* 350 bp dan variabel 238 bp. Pharsimony 153 bp dan single 85 bp. Komposisi rata-rata basa nukleotida ikan tahan cekaman (T/U) = 29%, C = 28,6%, A = 25%, dan G = 17,3%. Jarak genetik terdekat terdapat pada *Channa striata* dan *Channa micropeltes* 0,190. Adapun jarak genetik terjauh terdapat pada *Nandus nebulosus* dan *Hemibagrus nemurus* 0,303. Pohon filogeni menunjukkan ikan tahan cekaman di Hutan Harapan Jambi terbagi atas anggota Channidae (*Channa striata*, *Channa micropeltes*) dan non Channidae (*Nandus nebulosus*, *Trichopodus leerii*, *Pristolepis grootii*).

Persantunan

Dengan selesainya penelitian ini kami menyampaikan terima kasih kepada Rektor dan Ketua LPPM Universitas Jambi yang

telah mendukung dan membiayai penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada direktur PT REKI-Hutan Harapan Jambi, Kepala Laboratorium Dasar Terpadu Universitas Jambi dan Kepala Laboratorium PSSP IPB Bogor. Secara khusus terima kasih kami sampaikan pada Musadat dan Samsul yang telah membantu pengambilan sampel di Sungai Kapas Hutan Harapan Jambi.

Daftar Pustaka

- Elvira R. 2010. Kajian keragaman genetik dan biologi reproduksi ikan lais di Sungai Kampar Riau. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor. 145 p
- Erwan DT, Jean D, Gino L, Sukmono T, Kadarusman, Hagi Y, Wei-Jen C, Frédéric B, Philippe B, Hadi D, Sopian S, Yuli F, Mochamad S, Régis H, Laurent P, PhilippeK, Daisy W, Dirk S, Robert H, Nicolas H. 2020. Biodiversity inventory of the greymulletts (Actinopterygii: Mugilidae) of the Indo-Australian Archipelago through the iterative use of DNA-based species delimitation and specimen assignment methods. *Evolutionary Application*, 13(6): 1451-1467
- Froese R, Pauly D. Editors. 2016. Fishbase. A global information system on fishes. <http://www.fishbase.org/>. [15 November 2020].
- Hajibabei M, Singer G, Elizabeth C, Paul D. 2007 Design and applicability of DNA barcodes in Biodiversity monitoring. *Journal of Bioorganic Medicinal Chemistry*. 5 (1): 1-7
- Hebert PN, Cywinska A, Ball S. de Ward Jr. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *The Royal Society London*. 27 (1): 313-321
- Kevin CR, Sharon M, Mikhail V, Yaroslav A, Eugeny A, Paul DN. 2009. Filling the gap - COI barcode resolution in eastern Palearctic birds. *Frontiers in Zoology*, 6 (29): 1-13
- Kottelat M, Whitten AJ, Kartikasari SN, Wirjoatmodjo S. 1993. *The Freshwater Fishes of western Indonesia and Sulawesi*. Periplus Edition & EMDI Project. Jakarta. 293 p.
- Kottelat M, Whitten AJ. 1996. *Freshwater fishes of Western Indonesia and Sulawesi addition and correction*. Periplus Edition Ltd. Jakarta. 56 p.
- Luca C, Angelica A, Andrian L, Anca M. 2008. Phylogenetic relationships of *Cyprinidae* (Teleostei: Cypriniformes) inferred from the *cox1* gene sequence. *Journal of Life Science Series*, 18 (1): 175-180
- Makino, W., Maruoka, N., Nakagawa, M. 2017. DNA barcoding of freshwater zooplankton in Lake Kasumigaura, Japan. *Molecular Ecology Resources* 32(2): 481–493 .
- Prasanna K, Akbar J, Ajmal K, Murugan, Rozihan M, Jalal K. 2011. Efficiency of universal barcode gen (Coxi) on morphologically cryptic mugilidae fishes delineation. *Trends in Applied Science*, 6(9): 1028-1036.
- Rachmatika I. 2004. *Fish Fauna of the Gunung Halimun National Park, West Java*. Binamitra. Jakarta. 126 p.
- Sukmono T, Duryadi D, Rahardjo MF, Affandi R. 2013. Iktiofauna di perairan hutan tropis dataran rendah, Hutan Harapan Jambi. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 13(2): 161-174
- Sukmono T, Duryadi D, Rahardjo MF, Affandi R. 2015. Fish diversity of *Cyprinidae* family based on DNA barcodes in Harapan Rainforest, Jambi. *Proceeding The First International Conference on Life Science and Biotechnology (Icolib)*. Jember University. p. 134-138.
- Sukmono T, Kurniawan W, Wulandari T. 2020. Biodiversitas ikan di refuge

- areasungai kapas tengah hutan harapan Jambi sebagai database aplikasi go Iwak. *Biospecies*, 13(1): 29-36.
- Sukmono T dan Margaretha M. 2017. Ikan Air Tawar di Ekosistem Taman Nasional Bukit Tigapuluh. Yayasan Konservasi Ekosistem Hutan Sumatera & Frankfurt Zoological Society. 104 p
- Ubaidilah R, Sutrisno H. 2009. *Pengantar Biosistemika (teori dan praktek)*. Museum Zoologi Bogoriensis- LIPI. 198 p.
- Welcomme R. 2001. *Inland Fisheries. Ecology and Management*. FAO Fishing News. 380 p.
- Wright, J.J. 2009. Diversity, phylogenetic distribution, and origins of venomous catfishes. *Evolution Biology*, 282 (9): 1-12
- Ward RD, Hanner R, Herbert DN.2009. Review paper the campaign to DNA barcode allfishes, *Journale of Fish Biology*. 74 (2): 329-356