

Aplikasi *DNA barcoding* ikan julung-julung (*Hemirhampus* sp.) di Perairan Laut Maluku Utara

[DNA barcoding application of garfish (*Hemirhampus* sp.) in North Maluku Sea]

M. Janib Achmad¹, Martini Djamhur¹, M. Abjan Fabanyo², Nebuchadnezzar Akbar³

¹Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, FPK. Universitas Khairun, Ternate

²Manajemen Sumberdaya Perairan, FPK. Universitas Khairun, Ternate

³Ilmu Kelautan, FPK. Universitas Khairun, Ternate

Surel: mjachmad@yahoo.com, martinidjamhur@gmail.com, dhani.haliyorag@gmail.com, nezzarnebuchad@yahoo.co.id

Diterima: 30 April 2019; Disetujui: 8 Oktober 2019

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies ikan julung-julung (*Hemirhampus* sp.) di perairan Maluku Utara melalui aplikasi *DNA barcoding*. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah desain primer, ekstraksi dan isolasi DNA serta amplifikasi DNA dengan PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa analisis gen Cyt b yang diamplifikasi diperoleh ampikon sebesar 350 bp, dan analisis penyejajaran menunjukkan bahwa sekuen sampel ampikon memiliki similaritas dengan sekuen gen Cyt b isolat *Hemiramphus balao* sebesar 97%. Analisis lanjut menunjukkan bahwa keenam sampel memiliki jarak genetik yang tergolong sangat rendah. Dapat disimpulkan bahwa sampel isolat ikan julung-julung dalam penelitian ini masih memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat.

Kata penting : *barcoding*, *cytochrome*, julung-julung, molekuler

Abstract

The purpose of this study was to identify the species of garfish in the waters of north Maluku by applying DNA barcoding techniques. The method used in the study was the primary design of DNA extraction and isolation, and DNA amplification through polymerase chain reaction. The results showed that Gen Cyt b analysis amplified $\pm$ 350 bp amplicon and for the alignment analysis showed that the amplification sample sequence had similarity with the Cyt b gene sequence of *Hemiramphus balao* with value of 97%. Sequence analysis showed that the six specimens had very low genetic distances. It can be concluded that the isolate samples of garfish have a very close kinship.

Keyword: *barcoding*, *cytochrome*, *garfish*, *molecular*

Pendahuluan

Ikan julung-julung (*Hemirhampus* sp.) tergolong ikan pelagis kecil yang hidup di lapisan atas perairan laut. Daerah persebaran ikan tersebut berada di permukaan pantai dan lepas pantai di wilayah Indonesia bagian Timur yaitu Laut Flores, Selat Makasar, Laut Sulawesi, laut Maluku, Laut Halmahera dan laut Banda. Ikan julung-julung memiliki nilai ekonomi tinggi. Tingginya aktivitas penangkapan ikan julung-julung berpengaruh besar terhadap populasi ikan dan berdampak pada turunnya kualitas keseimbangan ekosistem (Carrier *et al.* 2010). Karena itu diperlukan suatu upaya untuk menjaga kelestarian ikan julung-julung agar tidak

terancam punah. Sebagai langkah awal dari upaya tersebut, perlu dilakukan identifikasi baik secara morfologis maupun secara molekuler. Identifikasi dengan teknik biologi molekuler sangat efektif, karena membantu keberlanjutan dan mengetahui sumber daya hayati yang semakin terancam. Identifikasi morfologi selanjutnya diikuti dengan identifikasi molekuler berdasarkan potongan DNA pendek yang disebut DNA Barcode (Hebert *et al.* 2003).

DNA *barcoding* merupakan metode yang sering digunakan dalam forensik taksonomi karena efektif dalam mengidentifikasi berbagai kondisi sampel (Wong 2011). Teknik DNA *barcoding* dipakai untuk mendapatkan infor-

masi genetik dan metode untuk memperoleh urutan basa nukleotida pada molekul DNA (Sanger *et al.* 1977, Wong 2011). Analisis DNA adalah mengimplifikasi segmen DNA dari *cytochrome b* dan menentukan sekuensing. Menurut Freeland (2005), DNA sekuensing merupakan satu-satunya metode untuk mengidentifikasi pasangan basa dengan tepat antara individu yang berbeda dan memungkinkan untuk menyimpulkan hubungan evolusi. Selain itu teknik ini sangat mudah, cepat, efisien sehingga banyak digunakan sebagai aplikasi dasar (Graham & Hill 2001). DNA *barcode* merupakan suatu teknik identifikasi spesies, aplikasinya mirip dengan teknologi pemindaian *barcode* pada hewan. DNA *barcoding* dapat mengkarakteristik spesies dengan menggunakan arbitrase pendek sekuensing DNA. Oleh karena itu DNA *barcoding* adalah metode favorit dalam forensik taksonomi karena efektif dalam mengidentifikasi sampel uji dan menghasilkan data yang valid (Wong 2011, Tamura *et al.* 2011).

Pendekatan yang digunakan untuk analisis DNA adalah mengamplifikasi segmen DNA dari *Cytochrome b* (Cyt b) dan menentukan sekuennya (Mackie *et al.* 1999). *Cytochrome b* adalah bagian dari DNA mitokondria (mtDNA) yang terlibat dalam transportasi elektron dalam mitokondria. Adanya variasi urutan pada Cyt b menyebabkan gen ini banyak digunakan untuk membandingkan spesies dalam genus atau famili yang sama, berdasarkan jajaran urutan basa gen Cyt b, daerah tersebut dapat memberikan informasi filogenetik pada tingkat intraspecies sampai pada tingkat antargenus (Faizah 2008). Perbandingan sekuen gen Cyt b kemudian dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan melihat

hubungan kekerabatan antar spesies ikan julung-julung yang ada di wilayah perairan Maluku dan daerah lain.

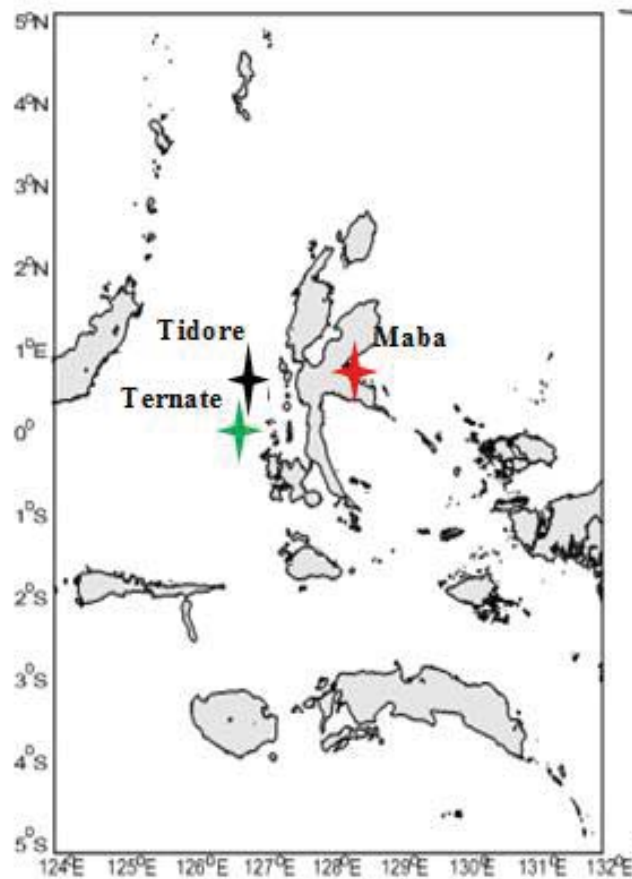
Penelitian genetik ikan di perairan Maluku Utara yang dilakukan Akbar *et al.* (2014) tentang keragaman genetik ikan tuna sirip kuning di Laut Maluku, Aris *et al.* (2017) melihat keragaman genetik ikan tuna sirip kuning di perairan Maluku Utara, Akbar *et al.* (2018a) tentang filogenetik ikan tuna di Indonesia dilaporkan di perairan Maluku Utara, Akbar & Aris (2018b) mengenai struktur populasi genetik tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*), sebagai basis data konservasi ikan di perairan Maluku Utara dan Akbar *et al.* (2018c) tentang genetik populasi dan filogeografi ikan tuna mata besar di laut Maluku, Indonesia. Namun informasi morfologi dan mengimplikasi teknik DNA *barcoding* ikan julung-julung (*Hemirhampus* sp.) di perairan Maluku Utara belum tersedia, sehingga penelitian ini penting dilakukan.

Penelitian bertujuan untuk menganalisis DNA *barcoding* ikan julung-julung (*Hemirhampus* sp.) di Perairan Laut Maluku Utara. Informasi yang diperoleh dijadikan sebagai langkah awal untuk menjaga kelestarian sumber daya ikan.

Bahan dan metode

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Juli 2018, di tiga lokasi yaitu, Ternate (Tt1 dan Tt2), Tidore (Tt3-Tt4), dan Maba (Tt5-Tt5) (Gambar 1). Identifikasi DNA dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Penyakit Ikan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada.



Gambar 1 Peta lokasi penelitian (Bintang hitam = Pulau Tidore, bintang hijau = Pulau Ternate dan bintang merah = Desa Maba)

Pengukuran morfometrik

Morfometrik merupakan metode yang umum dalam studi iktiologi untuk identifikasi dan mendeskripsikan bentuk tubuh ikan (Cahyono *et al.* 2018, Asiah *et al.* 2019). Pengukuran morfometrik menggunakan kaliper digital dengan nilai akurasi 0,1 mm. Karakteristik morfologi yang diamati adalah panjang total, panjang baku, panjang kepala, tinggi kepala, tinggi badan, lebar badan, tinggi batang ekor, panjang batang ekor, panjang sirip dorsal, lebar dasar sirip dorsal, panjang sirip ventral, lebar dasar sirip ventral, panjang sirip pectoral, lebar dasar sirip pectoral, panjang sirip anal, lebar dasar sirip anal, panjang sirip kaudal bagian atas, panjang sirip kaudal bagian tengah, panjang

sirip kaudal bagian bawah, lebar dasar sirip kaudal, panjang moncong, diameter mata, dan jarak antara dua mata.

Prosedur analisis DNA

Ekstraksi DNA

Proses ekstraksi DNA dalam penelitian ini menggunakan metode TNES (Sambrook & Russel 2001). Sampel ditimbang 10-25 mg, dipotong kecil kemudian disimpan dalam tabung mikrosentrifuse 1,5 ml, yang telah berisi 180 µl bufer ATL dan 20 µl proteinase k. Tabung yang telah berisi dicampur dengan bantuan vortex dan diinkubasi 56 °C selama 1-2 jam. Selama inkubasi dilakukan homogenasi menggunakan vortex setiap 15 menit, 200 µl Buffer ATL kemudian

spin column 2 ml dan dicampurkan dengan mesin sentrifus selama satu menit pada kecepatan 8000 rpm. DNA diekstraksi dengan menambahkan 200 µl buffer AE pada bagian tengah membran pada spin column yang baru, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama satu menit (15-25°C), kemudian disentrifugasi pada 8000 rpm selama satu menit.

Amplifikasi DNA dengan PCR (Polymerase Chains Reaction)

Sampel hasil ekstraksi DNA yang digunakan untuk PCR adalah 2 µL. Bahan yang digunakan untuk PCR adalah PCR kit komersial yang didapatkan dari qiagen. DNA *template* 1 µL ditambahkan primer yang telah didesain yakni 25 µL PCR 0,25 µL *forward* dan 0,25 µL primer *reverse*. Amplifikasi DNA dilakukan dengan target panjang 750-100 pasang basa. Proses PCR terdiri atas predenaturasi, denaturasi, pengenalan primer terhadap DNA target (*annealing*), pemanjangan primer (*extention*). Tahap denaturasi merupakan pemutusan untai ganda menjadi untai tunggal pada suhu 94°C selama 1 menit. Primer akan membentuk jembatan hidrogen dengan DNA untai tunggal pada suhu 50-58°C selama 30 detik, kemudian dapat ditingkatkan menjadi 27°C selama 60 detik ketika pengenalan primer terhadap DNA target (*annealing*) untuk proses polimerasi. Proses polimerasi dilakukan pada suhu 27 °C selama 7 menit.

Proses polimerasi dilakukan sebanyak 35 siklus untuk mendapatkan banyak salinan DNA. Setelah proses polimerasi, suhu diturunkan menjadi 4 °C, siklus untuk mendapatkan ribuan salinan DNA. Elektroforesis DNA untuk mendapatkan basa purin dan pirimidin yang membentuk polinukleotida menggunakan Klugs &

Cumming (1994). Sekuen DNA gen Cyt b dari beberapa sampel dianalisis dengan pohon filogeni melihat hubungan kekerabatan di dalam level spesies.

Analisis data

Data sekuen yang diperoleh dilakukan pengeditan, kemudian di *Basic Local Alligment Search Tool (BLAST)* untuk memastikan akurasi sampel. Hubungan kekerabatan antarpopulasi ditentukan berdasarkan parameter jarak genetik (Nei 1972). Selanjutnya analisis statistik terhadap perbedaan jarak genetik (Nei 1987), identifikasi spesies, dan rekonstruksi pohon filogenetik pada sampel. Keseluruhan menggunakan metode *Neighbor joining* dan model evolusi *Kimura 2-parameter model* yang dilakukan dengan aplikasi MEGA5 (Tamura *et al.* 2011).

Analisis Penjajaran (alignment analysis)

Analisis penjajaran digunakan untuk membandingkan dua sekuen atau lebih. Sekuen yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis dengan penjajaran data sekuen sampel dengan data serupa yang telah dipublikasikan sebelumnya di *genbank*. Program yang digunakan untuk analisis penyejajaran yaitu program BLAST (*Basic Local Alligment Search Tools*). Program ini dapat diakses melalui laman *National Center for Biotechnology Information at The National Library of Medicine in Washington, DC* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Hasil

Morfologi ikan julung-julung

Ikan julung-julung (*Hemiramphus* sp.) yang ditemukan pada lokasi perairan Ternate (2 sampel), Tidore (2 sampel) dan Maba (2 sam-

pel) memiliki bentuk tubuh yang memanjang (*fusiform*) dengan warna putih keabu-abuan, dan bentuk kepala simetris. Ikan ini memiliki tipe mulut berbentuk paruh (*beak like*), di mana rahang bawah lebih panjang daripada rahang atas. Pada rahang atas terdapat lubang hidung dan memiliki lekukan yang menonjol sedangkan pada rahang bawah bergerigi. Panjang total 23,5-28 cm, letak sirip punggung lebih panjang dari pada sirip lainnya dengan panjang sirip dorsal 2,3-4,7 cm dan sirip anal 1,4-4,7 cm. Letak

awal sirip ventral ikan ini berada di depan sirip dorsal (Tabel 1).

Amplifikasi gen Cyt b

Hasil amplifikasi gen *Cyt b* yang dilakukan dengan metode PCR dengan primer Cyt b1 dan Cyt b2 diperoleh ampikon sebesar 350 bp (Gambar 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa ampikon dapat diuji lebih lanjut sekuennya, untuk mengetahui identitas molekuler dan hubungan filogenik.

Tabel 1. Ukuran morfologis ikan julung-julung

No	Karakteristik morfologis	cm
1	Panjang Total (PT)	25-29
2	Panjang Baku (PB)	21-24
3	Panjang Kepala (PK)	7,5-10,8
4	Tinggi Kepala (TK)	2,9-5,3
5	Tinggi Badan (TB)	5,7-6,2
6	Lebar Badan (LB)	1,4-3,5
7	Tinggi Batang Ekor (TBE)	1,5-1,8
8	Panjang Batang Ekor (PBE)	0,8-1,6
9	Panjang Sirip Dorsal (PSD)	2,3-4,7
10	Lebar Dasar Sirip Dorsal (LDSD)	0,8-1,6
11	Panjang Sirip Ventral (PSV)	2,7-4,5
12	Lebar Dasar Sirip Ventral (LDSP)	0,8-1,0
13	Panjang Sirip Pektoral (PSP)	2,3-3,6
14	Lebar Dasar Sirip Pektoral (LDSP)	0,5-1,1
15	Panjang Sirip Anal (PSA)	1,4-4,7
16	Lebar Dasar Sirip Anal (LDSA)	0,3-1,0
17	Panjang Sirip Kaudal Bagian Atas (PSKA)	1,4-3,4
18	Panjang Sirip Kaudal Bagian Tengah (PSKT)	0,3-1,4
19	Panjang Sirip Kaudal Bagian Bawah (PSKB)	2,3-5,6
20	Lebar Dasar Sirip Kaudal (LDSK)	0,8-1,3
21	Panjang Moncong (PM)	1,8-2,1
22	Diameter Mata (DM)	0,3-0,5
23	Jarak Antara Dua Mata (JAM)	0,5-1,8

Sumber: Hasil identifikasi sampel ikan julung-julung

Sekuensing

Hasil sekuensing menunjukkan enam sampel amplikon yang diteliti memiliki panjang nukleotida sebesar 362 bp (Tabel 2).

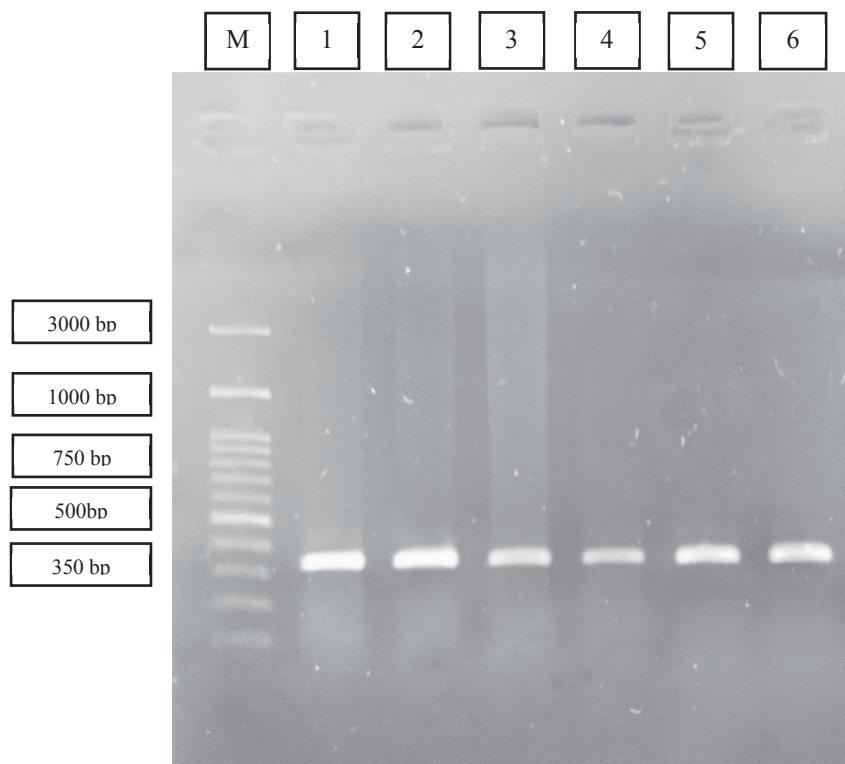
Penjajaran DNA

Hasil analisis penjajaran menunjukkan bahwa sekuen sampel amplikon memiliki similaritas dengan sekuen gen Cyt b isolat *Hemiramphus balao* sebesar 97% (Accession no. AF243873.1). Berdasarkan angka similaritas tersebut dapat disimpulkan bahwa benar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah gen Cyt b dari ikan julung-julung (*Hemiramphus balao*), dan terdapat variasi sebesar 3% yang menunjukkan adanya perbedaan karakter gen ikan julung-julung dengan gen isolat yang sudah didepositkan di *genbank*. Hal ini menunjukkan

ikan julung-julung Maluku Utara memiliki ke-khasan tersendiri baik secara genetik maupun secara morfologis yang merupakan kekayaan plasma nutfah yang potensial.

Pohon filogenik

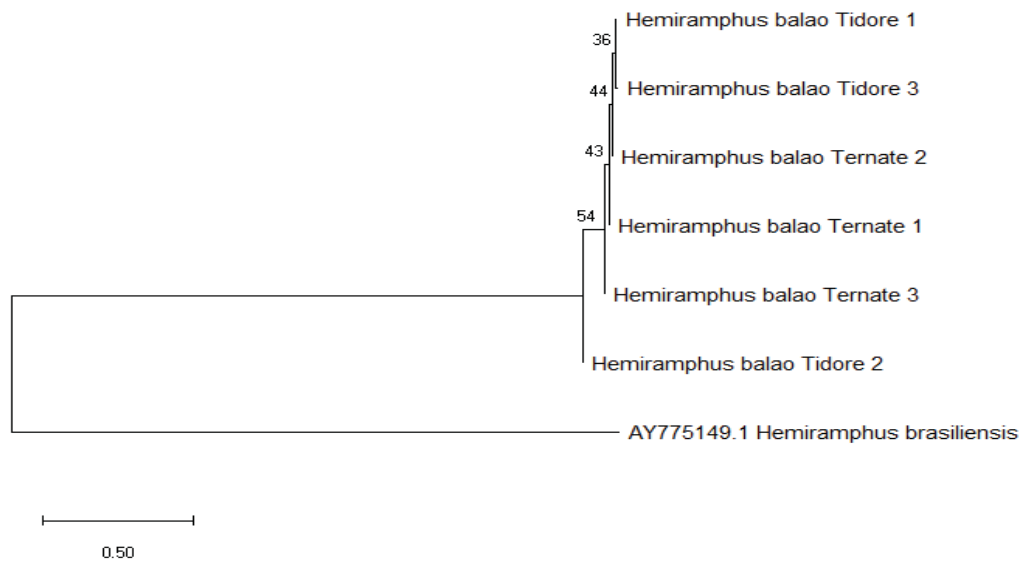
Untuk mengetahui tingkat kekerabatan antarsampel ikan julung-julung yang digunakan dalam penelitian ini maka dilakukan analisis pohon filogenik. Pohon filogenik dapat merepresentasikan hipotesis hubungan secara evolusioner di antara kelompok organisme. Pohon filogenik direkonstruksi dengan menyajajarkan sekuen sampel penelitian (6 sampel). Rekonstruksi pohon filogenik menggunakan program MEGA dengan model UPGMA (Gambar 3).



Gambar 2 Visualisasi gel agarose 1% amplifikasi gen Cyt b. Keterangan: M = Marker 100 bp, 1-6 Sampel dengan urutan Tt1, Tt2, Tt3, Td1, Td2, Td3.

Tabel 2 Panjang nukleotida pada setiap sampel

Sikuen	Hasil Sekuensing
Sampel Tt1 (Ternate)	TTGCCCCTCAGGATGATATTTGTCCTCATGGAAGTACGTAGCCGACAAATG CTGTCATCATTACTAAGAGTAGGAGAACTACCCCTACGTTTCATGTTTCTT TGTTAAGGTATGAGCCGTAGTATAATCCTCGCCCGATGTGCATGTAGATAC AGATGAAGAAGAATGAAGCTCCATTGGCGTGCATGTTTCGGATTAGTCAA CCGTAGTTAACATCACGGCAAATATGGGCCACGGAGGAGAATGCCATTGA AATGTGCGCAGTGTAATGTATAGCGAGGAAAAGACCTGTTAGGATTTGGG CGATTAAGCAGAGTCCTAGGAGGGAGCCGAAATTTTCATCATGCTGAGATG TTGGATGG
Sampel Tt2 (Ternate)	TTGCCCCTCAGGATGATATTTGTCCTCATGGAAGTACGTAGCCGACAAATG CTGTCATCATTACTAAGAGTAGGAGAACTACCCCTACGTTTCATGTTTCTT TGTTAAGGTATGAGCCGTAGTATAATCCTCGCCCGATGTGCATGTAGATAC AGATGAAGAAGAATGAAGCTCCATTGGCGTGCATGTTTCGGATTAGTCAA CCGTAGTTAACATCACGGCAAATATGGGCCACGGAGGAGAATGCCATTGA AATGTGCGCAGTGTAATGTATAGCGAGGAAAAGACCTGTTAGGATTTGGG CGATTAAGCAGAGTCCTAGGAGTGAGCCGAAATTTTCATCATGCTGAGATG TTGGATGGA
Sampel Tt3 (Tidore)	TTGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCATGGAAGTACGTAGCCGACAAATG CTGTCATCATTACTAAGAGTAGGAGAACTACCCCTACGTTTCATGTTTCTT TGTTAAGGTATGAGCCGTAGTATAATCCTCGCCCGATGTGCATGTAGATAC AGATGAAGAAGAATGAAGCTCCATTGGCGTGCATGTTTCGGATTAGTCAA CCGTAGTTAACATCACGGCAAATATGGGCCACGGAGGAGAATGCCATTGA AATGTGCGCAGTGTAATGTATAGCGAGGAAAAGACCTGTTAGGATTTGGG CGATTAAGCAGAGTCCCAGGAGTGAGCCGAAATTTTCATCATGCTGAGATG TTGGATGGAG
Sampel Tt4 (Tidore)	TTGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCATGGAAGTACGTAGCCGACAAATG CTGTCATCATTACTAAGAGTAGGAGAACTACCCCTACGTTTCATGTTTCTT TGTTAAGGTATGAGCCGTAGTATAATCCTCGCCCGATGTGCATGTAGATAC AGATGAAGAAGAATGAAGCTCCATTGGCGTGCATGTTTCGGATTAGTCAA CCGTAGTTAACATCACGGCAAATATGGGCCACGGAGGAGAATGCCATTGA AATGTGCGCAGTGTAATGTATAGCGAGGAAAAGACCTGTTAGGATTTGGG CGATTAAGCAGAGTCCTAGGAGTGAGCAGAAATTTTCATCATGCTGAGATG TTGGATGGA
Sampel Tt5 (Maba)	TGCCCCTCATGATGATATTTGTCCTCATGGAAGTACGTAGCCAACAAATGC TGTCATCATTACTAAGAGTAGGAGAACTACCCCTACGTTTCATGTTTCTT GTAAAGGTATGAGCCGTAGTATAATCCTCGCCCGATGTGCATGTAGATACA GATGAAGAAGAATGAAGCTCCATTGGCGTGCATGTTTCGGATTAGTCAAC CGTAGTTAACATCACGGCAAATATGGGCCACGGAGGAGAATGCCATTGAA ATGTGCGCAGTGTAATGTATAGCGAGGAAAAGACCTGTTAGGATTTGGG GATTAAGCAGAGTCCTAGAAGTGAGCCGAAATTTTCATCATGCTGAGATGT TGGATGGAA
Sampel Tt6 (Maba)	ATTGCCCCTCAGGATGATATTTGTCCTCATGGAAGTACGTAGCCGACAAAT GCTGTCATCATTACTAAGAGTAGGAGAACTACCCCTACGTTTCATGTTTCTT TGTTAAGGTATGAGCCGTAGTATAATCCTCGCCCGATGTGCATGTAGATAC AGATGAAGAAGAATGAAGCTCCATTGGCGTGCATGTTTCGGATTAGTCAA CCGTAGTTAACATCACGGCAAATATGGGCCACGGAGGAGAATGCCATTGA AATGTGCGCAGTGTAATGTATAGCGAGGAAAAGACCTGTTAGGATTTGGG CGATTAAGCAGAGTCCTAGGAGTGAGCCGAAATTTTCATCATGCTGAGATGT TTGGATGGAG



Gambar 3 Pohon filogenik sampel ikan julung-julung (*Hemiramphus balao*)

Pada hasil analisis pohon filogenik terlihat bahwa sampel Td1, Td3, dan Tt2 berada pada kluster yang sama dengan jarak genetik 0,0000; yang menunjukkan ketiga isolat tersebut memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Sampel Tt1 memiliki jarak genetik sekitar 0,0005 dengan sampel Td1, Td3 dan Td2. Sampel Tt3 memiliki jarak genetik sekitar 0,0000-0,0015 dari sampel Tt3 dan sampel Td1, Td3 dan Tt2. Sampel Td2 memiliki jarak genetik sekitar 0,0005-0,0035 dengan sampel lainnya.

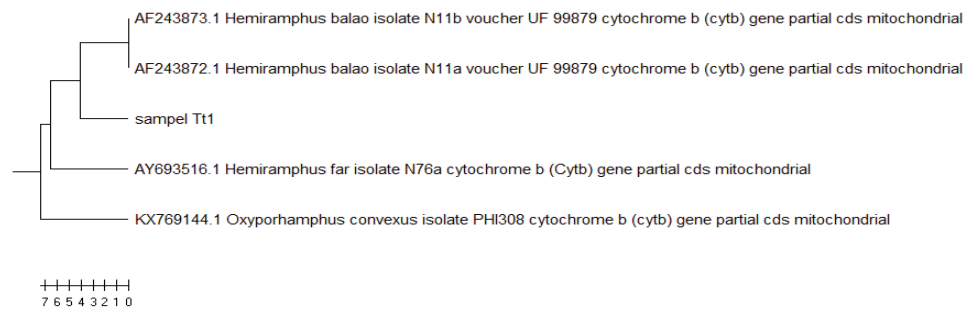
Pembahasan

Karakter morfologis ikan julung-julung di perairan Maluku Utara memiliki panjang total yang tidak jauh berbeda dengan yang ada di perairan lainnya. Wuaten *et al.* (2011) mendapatkan sebaran panjang ikan julung-julung dengan rata-rata panjang total 16,7 cm sampai dengan 18 cm di Kepulauan Sangihe pada ekosistem terumbu karang.

Panjang total maksimum ikan julung-julung dapat mencapai 45 cm, dan umumnya mencapai 30 cm (Genisa 1999, Carpenter &

Niem 1999). Jika dicermati lebih jauh, panjang total ikan julung-julung yang berada di perairan Maluku Utara dan lokasi lain masih merupakan ikan kecil yang sedang mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Penelitian Varghese (2005) juga melaporkan bahwa hanya 50% sebaran panjang pada ikan famili Hemiramphidae sudah mencapai dewasa terletak pada selang panjang 12,5-14,5 cm dan 100% pada sebaran panjang 19,5-22,5 cm. Ikan julung-julung di daerah perairan Maluku Utara pada penelitian ini membuktikan bahwa ikan julung-julung yang terdapat di lokasi merupakan ikan yuwana. Hal ini sejalan dengan Phil & Heemstra (2004) yang melaporkan bahwa ukuran panjang total yuwana famili ikan Hemiramphidae berkisar antara 9-12 cm.

Nilai jarak genetik tersebut masih tergolong sangat rendah sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel isolat ikan julung-julung yang digunakan masih memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat. Menurut Tallei *et al.* (2016), semakin sedikit nilai jarak genetik antara dua



Gambar 4. Pohon filogeni ikan julung-julung di beberapa wilayah negara

organisme, semakin dekat pula hubungan kekerabatan keduanya. Akbar & Aris (2018b) mengatakan bahwa genetika yang terhubung antara lain menunjukkan bahwa semua populasi berkerabat dekat. Kedekatan hubungan kekerabatan antarpopulasi mungkin disebabkan oleh antarpopulasi mempunyai asal usul induk yang sama dan hubungan kedekatan genetika (Kusuma *et al* 2016, Akbar & Aris 2018b). Rekonstruksi filogenetik antara jenis ikan julung-julung dari berbagai perairan dilakukan dengan menggunakan sekuen berkode Tt1 (Gambar 4).

Sejarah evolusi disimpulkan menggunakan metode UPGMA (Sneath & Sokal 1973). Pohon optimal dengan jumlah panjang cabang = 25,51236403 ditampilkan. Pohon itu ditarik ke skala, dengan panjang cabang dalam satuan yang sama dengan jarak evolusioner yang digunakan untuk menyimpulkan pohon filogenetik. Jarak evolusioner dihitung menggunakan metode *Maximum Composite Likelihood* (Tamura *et al.* 2011) dan berada dalam satuan jumlah substitusi dasar per situs.

Hasil analisis pohon filogeni menunjukkan sampel Indonesia berada satu kluster dengan *Hemiramphus balao* isolate N11a dan b (Acc no. AF243872.1 dan AF243873.1), lalu menjadi sub kluster *Hemiramphus far* isolat N76a (Acc no. AY693516.1), dan sub-sub kluster dengan *Oxyporamphus convexus* isolat PHI308 (Acc

no KX769144.1). Ikan julung-julung sampel Indonesia menunjukkan keragaman yang berbeda dibandingkan dengan daerah lain. Hal itu merupakan kekayaan plasma nutfah yang potensial.

Simpulan

Berhasilnya gen sitokrom diamplifikasi dari sampel ikan julung-julung dengan panjang nukleotida sebesar 362 bp, sekuen sampel ampikon memiliki similaritas dengan sekuen gen Cyt b isolat *Hemiramphus balao* sebesar 97% (Acces no. AF243873.1) melalui analisis penjajaran (*alignment*) BLAST dan dekatnya kekerabatan di antara sampel ikan julung-julung yang diperoleh di perairan Indonesia ditunjukkan dengan rendahnya nilai jarak genetika pada analisis pohon filogenik yaitu sebesar 0,000-0,005. Ikan julung-julung sampel Indonesia memiliki keragaman yang tinggi dibandingkan dengan ikan julung-julung yang berada di daerah lain (*genbank*). Hal itu merupakan kekayaan plasma nutfah yang potensial.

Persantunan

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Khairun Ternate, Program Pasca Sarjana yang telah memberikan biaya penelitian melalui program hibah.

Daftar pustaka

- Akbar N, Zamani NP, Madduppa HH. 2014. Genetic diversity of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) from two populations in the Moluccas Sea, Indonesia. *Depik*, 3(1): 65-73.
- Akbar N, Aris N, Irfan M, Tahir I, Baksir A, Surahman, Madduppa HH, dan Kotta R. 2018a. Filogenetik ikan tuna (*Thunnus* spp.) di Perairan Maluku Utara, Indonesia. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 18(1): 1-11.
- Akbar N, Aris M. 2018b. Genetic population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) as based data of fish conservation in North Moluccas sea. *Omni Akuatika*, 14(3): 75-85.
- Akbar N, Irfan M, Aris M. 2018c. Population genetics and phylogeography of bigeye tuna in Moluccas Seas, Indonesia. *Ilmu Kelautan*, 23(4): 145-155.
- Aris M, Akbar N, Labenua R. 2017. Genetic and phylogenetic variations of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) as a basis for sustainable fishery resources management in North Moluccas. *International Journal of Pharma Bio Science*, 8(4): 419-426.
- Asiah N, Sukendi, Junianto, Yustiati A, Windarti. 2019. *Truss* morfometrik dan karakter meristik ikan kelabau (*Osteochilus melanopleurus* Bleeker, 1852) dari tiga populasi di Sungai Kampar, Sungai Siak, dan Sungai Rokan, Provinsi Riau. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 19(2): 283-295.
- Cahyono RN, Budiharjo A, Sugiyanto. 2018. Keragaman dan pengelompokan ikan berdasarkan karakter morfologi di ekosistem Bendungan Colo Sukoharjo Jawa Tengah. *Depik*, 7(1): 9-21.
- Carpenter KE, Niem VH (eds). 1999. *FAO species identification guide for fishery purpose*. The living marine resources of the Western Central Pacific. Volume 3. FAO, Roma. pp. 1397-2068.
- Carrier JC, Musick JA, Heithaus MR. 2010. *Shark and Their Relatives II: Biodiversity, Adaptive Physiology and Conservation*. CRC Press Boca Raton London New York. 746 p.
- Faizah U. 2008. Karakteristik marka genetik DNA mitokondria sebagai acuan konservasi genetik harimau Sumatera. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Freeland JR. 2005. *Molecular ecology*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England. 402 p.
- Genisa AS. 1999. Pengenalan jenis-jenis ikan laut ekonomi penting di Indonesia. *Oseana*, 24(1): 17-38.
- Graham CA, Hill AJM. 2001. *DNA sequencing protocols*. Second edition. Humana Press. Totowa, New Jersey. 239 p.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. In: Barret SFRS (ed.). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*, 270 (Suppl 1): S96-S99.
- Klug WS, Cummings MR. 1994. *Concept of genetics*. 4th ed. Prentice Hall, Englewood. 779 p.
- Kusuma AB, Bengen DG, Madduppa HH, Subhan B, Arafat D. 2016. Keanekaragaman genetik karang lunak *Sarcophyton trocheliophorum* pada populasi Laut Jawa, Nusa Tenggara dan Sulawesi. *Jurnal Enggano*, 1(1): 89-96.
- Mackie IM, Pryde SE, Gozales-Sotelo C, Medina I, Perez-Martin R, Quinteiro J, Rey Mendez M, Rehbein H. 1999. Challenges in the identification of species of canned for fish. *Trends in Food Science and Technology*, 10 (1): 9-14.
- Nei M. 1972. Genetic distance between population. *American Naturalist*, 106(949): 283-292.
- Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. 512 p.
- Heemstra P, Heemstra E. 2004. *Coastal fishes of Southern Africa*. National Inquiry and Service Centre. Grahamstown, South Africa. 488 p.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12): 5463-5467.

- Sambrook J, Russel DW. 2001. *Molecular Cloning a Laboratory Manual 1st edition*. Publisher Cold Spring Harbor Laboratory Press. 999 p.
- Sneath PH, Sokal RR. 1973. *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification*. 1st edition. WH Freeman and Company, San Francisco. 573 p.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731-2739.
- Tallei, TE, Rembet RE, Palealu JJ, Kolondam BJ. 2016. Sequence variation and phylogenetic analysis of *Sansevieria trifasciata* (Asparagaceae). *Bioscience Research*, 13(1): 1-7.
- Varghese AS. 2005. Systematics and biology of fishes of the family Hemiramphidae of Cochin Coast. *Thesis*. School of Industrial Fisheries. Cochin University of Science and Technology. Cochin. 360 p.
- Wuaten JF, Reppie E, Labar LI. 2011. Kajian perikanan tangkap ikan julung-julung (*Hyporhamphus affinis*) di Perairan Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*, 7(2): 80-86.
- Wong LL. 2011. *DNA barcoding and related molecular markers for fish species authentication*. Phylogenetic Assessment and Population Studies. Auburn University. Auburn. Alabama. 118 p.