

KERAGAMAN GENETIK IKAN GLODOK (*Periophthalmus* sp.) DI SUNGAI PADANG KABUPATEN BATU BARA MENGGUNAKAN GEN *COI*

Supita Ningsih^{*1)}, Zahratul Idami²⁾, Kartika Manalu³⁾

^{1,2,3)} Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sumatera Utara, Deli Serdang, Sumatera Utara 203553, Indonesia.

^{*}Corresponding author

e-mail: supitaningsih845@gmail.com

Article history:

Submitted: May 31th, 2024; Revised: June 24th, 2024; Accepted: July 19th, 2024; Published: Oct. 10th, 2024

ABSTRAK

Glodok memiliki ciri fisik mata menonjol mirip hewan kodok. Gen mitokondria pendekatan molekuler yang digunakan secara luas untuk identifikasi spesies. Tujuan penelitian untuk mendapatkan sekuen gen, keragaman genetik, dan hubungan kekerabatan genus *Periophthalmus* menggunakan fragmen gen sitokrom oksidase sub unit 1. Metode yang digunakan isolasi DNA dengan kit *favorPrep Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit*, lokus gen *COI* pada genom jaringan *Periophthalmus* di amplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer FISH-BCH dan FISH-BCL. Hasil penelitian ketiga sampel *Periophthalmus* menghasilkan sekuen sepanjang 541 bp dengan analisis aplikasi mega 11. *Periophthalmus* ditemukan tiga spesies yaitu *Periophthalmus minutus*, *Periophthalmus chrysospilus*, *Periophthalmus magnupinnatus* di Sungai Padang Kabupaten Batu Bara. Tingkat keragaman genetik melakukan perhitungan *pairwise distance*. Sampel yang memiliki hubungan kekerabatan terdekat *Periophthalmus minutus* dengan *Periophthalmus magnupinnatus* dilihat dari pohon filogenetik metode *Neighbor-Joining* dan perhitungan model *Kimura-2-Parameter*. Dapat disimpulkan bahwa barcode DNA menggunakan *COI* dapat digunakan sebagai metode dalam mengidentifikasi *Periophthalmus* secara molekuler efisien menentukan hubungan kekerabatannya dengan spesies lain.

Kata Kunci: *Periophthalmus* sp.; keragaman genetic; gen *COI*

PENDAHULUAN

Metode molekuler dan perkembangan teknologi semakin berkembang untuk mendapatkan informasi secara akurat dan presisi seperti metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), sekuensing, dan *microarray* (Dewantoro, et al., 2020). Prinsip metode molekuler dalam mendeteksi filogenetik hewan dengan mengamplifikasikan DNA *enzyme polymerase* dengan suhu tertentu secara berulang. Dimulai dengan primer DNA yang suhunya sudah turun akan menempel pada untai tunggal DNA. Kelebihan dari metode molekuler adalah akurat, memiliki sensitivitas yang tinggi,

analisis waktu cepat, dan menggunakan DNA sampel yang sedikit (Dewi, et al., 2022).

Ikan yang memiliki banyak nama lokal pada setiap daerah belahan dunia seperti ikan kodok, glodok atau gelodok, belodog atau blodog, blodok atau belodok, kemudian timpul atau belaca, tembakul atau tempakul, gabus laut atau lanjat. Ciri fisik yang dimiliki ikan ini berupa matanya yang menonjol mirip dengan hewan kodok. Nama populer dari ikan glodok ialah Mudskipper (Muhtadi, et al., 2016). Pada jurnal Pramunandar dan Hartati (2023) mengatakan bahwa sebutan mudskipper disematkan karena

kemampuan untuk bergerak cepat serta lincah di atas substrat yang berlumpur. Ikan glodok yang bersifat amfibi lebih banyak menghabiskan waktu pada permukaan dan timbul saat pasang surut guna mencari makanan dan pasangan. Glodok dapat di temukan di hutan mangrove serta di atas lumpur di Indo-Pasifik Barat juga pantai tropis Afrika. Arisuryanti (2018) menyatakan bahwa spesies ini umumnya samar. Hal tersebut di karenakan spesies ini sangat mirip secara morfologis sehingga sulit dibedakan atau tidak mungkin dibedakan berdasarkan karakter morfologi saja. Penemuan identifikasi yang jelas dari ikan glodok yang sedang berlangsung menunjukkan bahwa keragaman dalam kelompok ikan masih kurang diketahui karena belum banyak yang tertarik dengan keanekaragaman ikan itu sendiri. Hal tersebut dikarenakan masyarakat tidak banyak mengetahui tentang manfaat ikan glodok. Oleh karena itu penelitian ini menggunakan *barcoding* DNA untuk mengetahui keragaman genetik ikan glodok yang masih samar.

Analisis *barcoding* DNA dilaksanakan dengan memakai fragmen gen sitokrom oksidase sub unit 1 sebagai penunjuk genetik yang kerap dipakai untuk mengetahui diversitas genetik hingga kekerabatan organisme. Kecakapan dan kesuksesan amplifikasi pada fragmen gen sitokrom oksidase sub unit 1 sangat penting untuk studi mengenai kekerabatan, evolusi, dan identifikasi spesies (Mustikasari et al., 2021). Fragmen gen sitokrom oksidase sub unit 1 salah satu dari 13 gen penyanggah yang mengkode enzim CO1 (sitokrom oksidase sub unit 1) yang dapat ditemukan didalam mitokondria sel eukariotik. CO1 mempunyai beberapa

keunggulan diantaranya sebagai primer *universal* yang kuat karena mampu mengenali sebagian besar filum hewan dan mampu menunjukkan jarak yang besar dalam filogenetik makhluk hidup. Selain itu karena perubahan asam amino pada gen CO1 lebih rendah memungkinkan gen ini untuk menemukan spesies baru sehingga dapat dibuatkan sistem takson yang baru (Abidin, et al., 2021). Metode molekuler memiliki prinsip dengan cara mengandalkan amplifikasi. Amplifikasi adalah proses pengambilan gen tertentu dari DNA kromosom lalu dilaksanakan secara *in vitro* dengan teknik PCR. Cara ini mampu memperbanyak sekuen fragmen DNA secara melimpah dan dapat digunakan untuk memperkuat gen sebelum diklon. Amplifikasi bekerja dengan menggunakan teknologi PCR. Proses PCR haruslah menggunakan primer spesifik agar DNA polimerase menambahkan basa nukleotida pada DNA cetakan sehingga fragmen gen DNA dapat diperbanyak dengan proses yang cepat. Salah satu primer yang digunakan adalah Fish-BCH dan Fish BCL untuk proses amplifikasi DNA untuk analisis fragmen gen sitokrom oksidase sub unit 1. Primer tersebut sudah digunakan beberapa peneliti dengan metode CO1. Amplifikasi DNA dengan gen CO1 menghasilkan panjang sekuen DNA 656 bp dengan hasilnya identifikasi yang diuji memiliki tingkat kemiripan 100% pada masing-masing spesies (Putri et al., 2022; Dailami, et al., 2018).

METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2023.

Pengoleksian sampel diambil di Sungai Padang Kabupaten Batu Bara. Proses DNA *barcoding* sampel dilakukan di Laboratorium Bioselmolekuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan mikropipet, kamera digital, freezer, ice box, labu erlenmeyer 100ml, spidol permanen, GPS, timbangan analitik, Mini Horizontal electrophoresis HU 10 (*SCIE-PLAS*), alat gel dokumentasi (*BIOSTEP*), vortex (*Biosan Multi-Vortex V-32*), hotplate (*Benchmark*), PCR (*SENSQUEST*), sentrifuse (*Eppendorf*), mortal dan alu, gelas ukur, gelas kimia, gunting.

Bahan yang digunakan berupa bagian sirip ikan glodok, ice gel, aluminium foil, alkohol 70%, tissue, DNA Leader 1 kb, gloves dan masker, Kit Isolasi DNA (Favorgen), Kit Mix PCR with dye, aquabides, aquadest, ddH₂O, ethanol PA 90%, serbuk agarose, kertas parafilm, DNA Gel Stain dan Loading dye, tip mikro pipet putih, kuning dan biru, tube (*Eppendorf*) 1,5 ml, tube PCR 0,2 ml, larutan TBE (TrisBorasEDTA) 10X 1st Base, *primer forward* Fish-BCH dan *primer reverse* Fish-BCL.

Metode Penelitian

Sampel dibawa menggunakan cool box yang terisi ice gel dari Sungai Padang Kec. Medang Deras Kabupaten Batu Bara.

Ekstraksi DNA, PCR dan elektroforesis

Teknik molekuler diawali mengisolasi atau mengekstraksi DNA menggunakan sampel jaringan sirip ikan sebanyak 50 mg dengan menggunakan *favorgen FavorPrep*

TM Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit dengan mengikuti panduan cara ekstraksi dari (www.favorgen.com).

Reaksi PCR menggunakan volume 50 µl dengan jumlah template DNA 6 µl dan terdiri dari 25 µL kit pcr, 2,5 µl *primer forward* dan *reverse*, dan 14 ddH₂O. PCR bertujuan memperbanyak DNA di daerah lokus yang digunakan untuk proses *barcoding*. Suhu yang digunakan yaitu : *Pre-denaturasi* 94C 15 detik, *denaturasi* 94C 30 detik, penempelan (*annealing*) 50C 30 detik sebanyak 40 siklus, pemanjangan (*extension*) 72C 45 detik, dan *final extension* 72C 10 menit. *Primer forward* yang digunakan FISH-BCH 5'-TCAACCAACCACCACAAAGACA-3' dan *primer reverse* FISH-BCL 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAA-3' (Saleky et al., 2021).

Elektroforesis gel agarosa menggunakan Mini Horizontal Electrophoresis-HU10 (DNA) genom total maupun amplifikasi DNA. Amplifikasi diawali dengan pembuatan gel agarosa 1% yaitu melarutkan 1 gr agarosa kedalam 10 ml larutan TBE buffer dan 90 ml aquades. Larutan dipanaskan pada suhu medium hingga muncul gelembung atau mendidih. Larutan agarosa yang telah bersuhu hangat, kemudian ditambahkan *red gel stain* sebanyak 4 µl.

Terlebih dahulu marker DNA ladder 100 bp dimasukkan sebanyak 5 µl kedalam sumur yang berada pada bagian paling kiri. Larutan sampel DNA yang sudah diamplifikasi diambil sebanyak 10 µl dan dimasukkan kedalam sumur elektroforesis. Setelah semua sampel berhasil dimasukkan. Mesin elektroforesis di *running* kan selama 45 menit dengan 70 volt. Proses visualisasi hasil elektroforesis DNA dilakukan dengan bantuan *Gel documentation*.

Sekuensing DNA ikan glodok berguna untuk memperoleh data urutan nukleotida pada lokus gen yang diambil dari sampel ikan glodok. Sekuensing pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jasa perusahaan Biologi Molekuler 1st BASE Malaysia. Produk hasil amplifikasi DNA ikan glodok dijadikan sebagai sampel dalam reaksi *sekuensing*.

Analisis Data

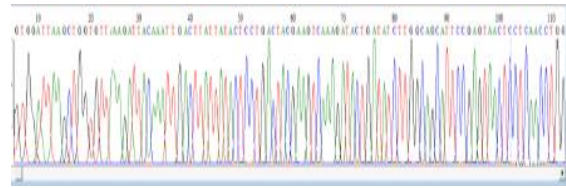
Hasil sekuensing DNA yang telah diperoleh kemudian diedit menggunakan model *ClustalW* dengan menggunakan program MEGA 11 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*). Data yang telah diedit kemudian dicocokkan dengan data genetik pada GeneBank di NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) dengan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Kemudian dibuat pohon filogenetik dengan menggunakan aplikasi Mega 11 dengan metode Neighbour-Joining (JN).

HASIL DAN PEMBAHASAN

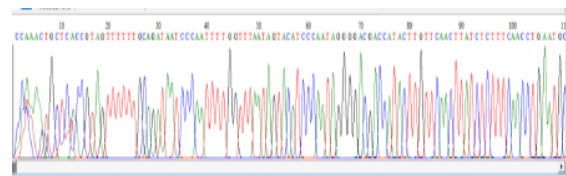
Sekuen gen *Periophthalmus* sp.

Sampel *Periophthalmus* sp. yang telah didapat dan diteliti diberi kode dengan kode GH, GC, dan GCT. Kemudian setelah proses pengerjaan teknik molekuler di laboratorium Bioselmolekuler dilakukan tahapan sekuensing dengan menggunakan bantuan dari perusahaan penyedia jasa sekuensing 1st base di Malaysia. Sampel ikan glodok melewati tahap purifikasi dan sekuensing dengan menggunakan sepasang primer. *Primer forward* FISH-BCH (5'-TCAACCAACCACAAAGACA-3') (Saleky et al., 2021) dan sebagai *primer reverse* FISH-BCL (5'-

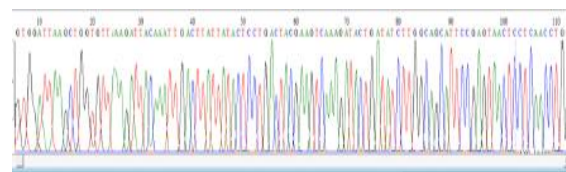
TAGACTTCTGGGTGGCCAA-3') (Saleky et al., 2021).



Gambar 1. Kromatogram sampel DNA *Periophthalmus* sp. kode GH



Gambar 2. Kromatogram sampel DNA *Periophthalmus* sp. kode GC



Gambar 3. Kromatogram sampel DNA *Periophthalmus* sp. kode GCT

Hasil dari tahapan *sekuensing* sampel *Periophthalmus* sp. dengan kode GH, GC, GCT dikirimkan dalam bentuk file dengan format. Ab1 yang berisi kromatogram dari pembacaan dua arah primer *forward* dan *reverse* secara terpisah. Kromatogram DNA sampel dalam bentuk grafik elektroferogram yang mewakili semua nukleotida hasil pembacaan mesin lab sekuensing 1st base Malaysia. Basa nitrogen pada DNA (A,T,G,C) diterjemahkan menjadi puncak atau disebut *peak* untuk analisis hasil dari sekuens. Kualitas DNA yang baik adalah saat peak pada grafik yang tidak saling bertumpukan dan tinggi.

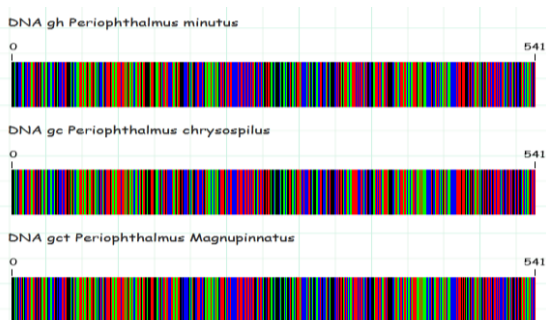
Berikut adalah hasil dari *sekuensing* pada sampel *Periophthalmus* GH, GC dan GCT menunjukkan urutan dan komposisi nukleotida.

Tabel 1. Sekuens gen *Periophthalmus* sp. pada sampel GH, GC dan GCT.

Sampel	Urutan Sekuens
DNA <i>Periophthalmus</i> sp. sampel GH	GGGACGGCCCTAAGCCTC CTAATTCGTGCTGAACTA AGCCAACCTGGAGCCCTC CTTGGGGACGACCAAATT TATAATGTAATTGTAACA GCCCATGCTTTTGTAAATA TTTTCTTTATAGTAATACC AATTATGATTGGGGGATT TGGA AATTGACTTATTCCC CTAATGATTGGGGCCCT GACATGGCCTTCCCTCGA ATAAATAACATAAGCTTC TGACTTCTTCCCCCTCCT TCCTCCTCCTCTTAGCCTC CTCAGGTGTTGAAGCAGG GGCAGGAACAGGCTGAAC AGTTTATCCCCACTAGCA GGCAACCTTGCCCATGCA GGGGCCTCTGTAGATTTA ACAATTTTCTCTCTTCATC TGGCCGGAATTTCTTCAAT TCTGGGGGCCATTAACTTT ATTACAACAATTTTGAAT ATGAAACCCCTGCCATC TCACAATATCAAACCCCT CTCTTTGTTTGGGCTGTCC TAATTACAGCTGTACTTCT CCTTCTCTCCTTACCAGTC CTAGCTGCCGGTATCACA ATACTGCT
DNA <i>Periophthalmus</i> sp. sampel GC	GGGACAGCTTTAAGCCTT CTAATTCGTGCTGAACTA AGCCAACCAGGTGCCCTC CTTGGTGATGACCAAATTT ATAATGTAATTGTAACAG CTCATGCTTTTGTAAATAAT TTTCTTTATAGTAATAACA ATCATGATTGGAGGGTTT GGAAACTGACTTGTCCCC CTAATGATTGGTGCCCTG

	ACATGGCCTTCCCTCGTAT AAACAACATAAGpCTTTTG ACTCCTTCCCCCTTCTTTC CTTCTTCTCTTAGCATCTT CTGGTGTGAGGCAGGGG CAGGAACAGGTTGAACAG TTTATCCTCCCCTTGCAGG GAACCTTGCCCATGCTGG GGCCTCTGTTGACCTAAC AATTTTTTCCCTTCACCTG GCCGGAATCTCTTCAATTT TAGGGGCCATTAAC TTTAT TACAACAATTCTAAATAT AAAACCCCTGCCATTTTC ACAGTATCAAACCCCT TTTTGTTTGTAGCAGTGCTA ATTACAGCTGTGCTGCTGC TTCTTTCACTGCCTGTTCT GGCTGCTGGCATCACAAT GCTTCT
DNA <i>Periophthalmus</i> sp. sampel GCT	GGGACAGCTCTGAGCCTT CTAATTCGTGCTGAAATTA GCCAACCTGGCGCCCTTCT TGGGGACGATCAAATTTA TAATGTAATTGTAACAGC TCATGCTTTTGTAAATAATT TTCTTTATAGTAATAACAA TTATGATTGGAGGGTTTG GGA ACTGACTTATTCCCTT AATAATTGGCGCCCCCGA CATGGCCTTTCCTCGAATA AATAACATAAGCTTTTGA CTCCTCCCCCTTCTTTCC TTCTTCTCTTGGCATCTTC AGGCGTTGAAGCAGGGGC AGGGACAGGCTGAACAGT TTATCCCCACTAGCAGG CAACCTCGCCCATGCAGG GGCCTCTGTTGATCTCACA ATCTTTTCTCTTACCTGG CCGGGATTTCTTCAATTCT GGGGGCCATTAAC TTCAT TACA ACTATTTTAAATATA AAACCACCTGCAATTTCA CAATATCAAACCCCTCT TTGTGTGAGCAGTCTTAAT TACAGCTGTTCTTCTGCTT CTCTCCCTCCCAGTACTGG CTGCTGGTATTACAATACT CCT

Barcode DNA sangat bergantung pada informasi yang dikodekan dalam urutan nukleotida. Barcode DNA diakui sebagai salah satu metode dalam identifikasi dan menemukan kekarabatan genetik pada makhluk hidup. Identifikasi melalui molekuler dengan menggunakan metode barcode DNA telah berhasil dilakukan pada hewan dari genus *Periophthalmus*.



Gambar 4. Ilustrasi Nukleotida DNA dengan Warna Hijau (A), Merah (T), Biru (C), dan Hitam (G) dan Angka yang Menunjukkan Panjang dari Sekuens DNA.

Penelitian ini menghasilkan panjang urutan nukleotida pada fragmen DNA amplicon yang terlihat berdasarkan barcode DNA *Periophthalmus* sp. dengan kode sampel GH, GC, dan GCT 541 bp. Ketiga sampel memiliki panjang yang sama yaitu 541 bp karena sudah di sejajarkan (*Alignment*) menggunakan aplikasi MEGA 11. Pembuatan barcode DNA ini dilakukan dengan website <http://bioradads.com/>.

Morfologi Ikan Glodok (*Periophthalmus* sp.)

Ikan glodok merupakan ikan yang jarang di konsumsi dan belum banyak di ketahui manfaatnya oleh masyarakat, umumnya ikan ini dapat ditemukan di lumpur dan hutan mangrove saat keadaan pasang surut. Ditemukan di Desa Lalang, Kec. Medang Deras, Kabupaten Batu Bara

, Sumatera Utara. Pengambilan sampel dapat dilihat pada titik koordinat yang tertera di dalam foto dibawah ini.

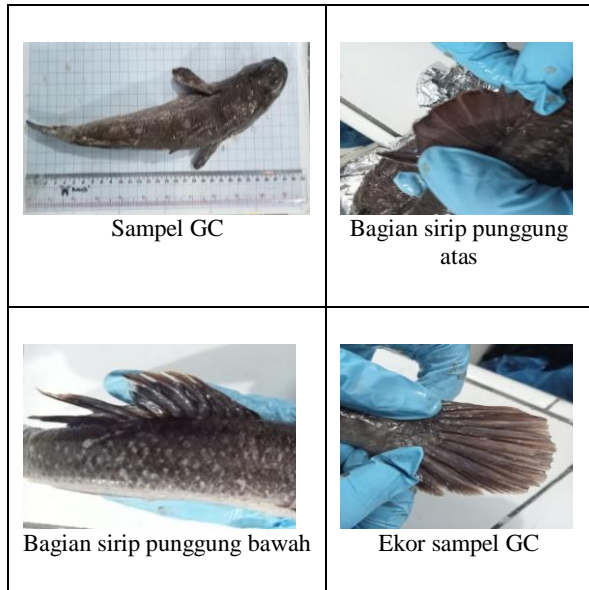
Identifikasi ikan menggunakan bantuan aplikasi FishBase dan juga pengamatan langsung melalui ciri – ciri dari referensi jurnal. Maka dari sampel yang di ambil dari lokasi di atas ditemukan tiga jenis ikan dengan morfologi yang berbeda.

Tabel 2. Bagian – bagian *Periophthalmus* sp. kode GH



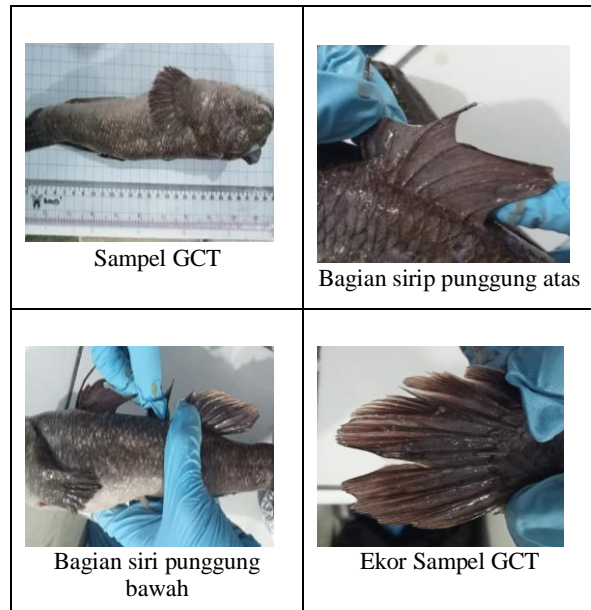
Ikan ini memiliki panjang tubuh 22 cm, memiliki warna insang yang terang, lendir yang benih, sisik kuat dan aroma yang khas cukup amis. Tidak memiliki lipatan antara duri sirip perut bagian belakang sirip disatukan membran, sirip punggung depan berwarna hitam dengan pinggiran berwarna putih dan ujung atasnya berwarna kuning. Sirip punggung belakang berwarna keabu – abuan dengan garis hitam yang terang dan di pinggiran ujung sirip berwarna putih. Tubuh berwarna abu – abu dengan bintik – bintik putih, dan bentuk ekor yang beruas – ruas maka dari mengamati ciri – ciri morfologi ikan diatas merujuk pada spesies *Periophthalmus minutus* (Lonika, 2019).

Tabel 3. Bagian – bagian *Periophthalmus* sp. kode GC



Ikan glodok (*Periophthalmus* sp.) dengan kode sampel GC memiliki tubuh yang memanjang dengan ekor yang membulat, warna tubuh kecoklatan dengan spot keemasan, bagian sirip punggung depan berwarna hitam kemerahan, dengan bentuk membulat dan terdapat satu tulang yang keras dan memanjang, dan bagian sirip punggung belakang terdapat warna hitam pada bagian tengah siripnya dengan warna pangkal sirip oranye, serta memiliki mata dibagian atas kepala yang dapat berputar mengelilingi (Umami, 2022; Muhtadi, 2016; Hidayat, 2020). Pada aplikasi fishbase dan website <http://mudskipper.it/> ciri morfologi yang telah disebutkan merujuk pada spesies *Periophthalmus chrysospilus*.

Tabel 4. Bagian – bagian *Periophthalmus* sp. kode GCT



Sampel dengan Ikan glodok memiliki dua jari-jari keras pertama dan sirip punggung spesies *Periophthalmus magnuspinnatus* memiliki epidermis yang lebih tipis yang diduga merupakan bagian yang paling efektif dalam pernapasan (Latuconsina, 2020). Panjang tubuh sampel GCT sepanjang 29 cm. Tubuh berwarna coklat muda, sirip punggung depan berwarna coklat kemerahan dengan terdapat dua tulang keras dan berbentuk segitiga. Sirip punggung belakang berwarna coklat dengan garis tengah berwarna hitam dan ujung sirip berwarna oranye. Sirip punggung belakang terpisah dengan pangkalnya sehingga terlihat seperti ada tiga sirip. Pada aplikasi fishbase dan juga website <http://mudskipper.it/> ciri ikan di atas meruk pada spesies *Periophthalmus magnupinnatus*.

Keragaman Genetik ikan glodok (*Periophthalmus* sp.)

Berdasarkan penelusuran dari NCBI (*National Center For Biotechnology*

Information) hingga didapat hasil sekuens pada beberapa spesies dari genus *Periophthalmus*. Hasil analisis sekuens yang diperoleh dari NCBI kemudian dilakukan pensejajaran atau alignment di aplikasi Mega 11 dengan sampel penelitian ikan glodok dengan kode GH, GC, GCT demikian dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik dari seluruh sampel yang telah diamati. Berdasarkan hasil yang telah didapatkan, selanjutnya dilakukan analisis keragaman genetik dengan melihat dua parameter yakni analisis variasi serta persentase *GC content* dan *AT content* yang dimiliki dan melihat nilai similaritas atau jarak genetik sampel serta out-groups (*Pairwise Distance*).

Berdasarkan sampel ikan glodok (*Periophthalmus* sp.) dengan penanda sampel GH, GC, dan GCT selanjutnya dianalisis untuk melihat komposisi nukleotida dari seluruh sampel. Maka didapatkan bahwa hasil analisis persentase komposisi pada tabel berikut ini.

Tabel 5. Variasi dan persentase *AT content* dan *GC content*

Spesies	Komposisi Nukleotida (%)					
	A	T	G	C	A+T	G+C
GH	23,61	30,62	17,71	28,04	54,23	45,75
GC	22,50	33,21	18,26	26,01	55,71	44,27
GCT	23,24	32,10	17,89	26,75	55,34	44,64
Avg.	23,11	31,97	17,95	26,93	55,09	44,88

Pada tabel diatas terlihat persentase yang paling tinggi adalah *AT content* lebih tinggi daripada *GC content*. Hal tersebut terjadi dikarenakan komposisi karakter basa nukleotida pada gen mitokondria sebagian besar terdiri atas basa nukleotida

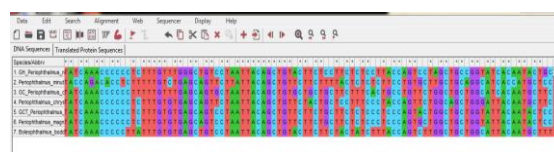
Adenin (A) dan Timin (T). Dari ketiga sampel dapat dilihat bahwa yang memiliki persentase paling tinggi adalah sampel dengan kode GC pada *AT content* (55,71%) dan *GC content* yang paling tinggi adalah sampel dengan kode GH (45,75%). Analisis komposisi nukleotida dihitung untuk melihat tingkat keprimitifan makhluk hidup dengan melihat tingkat laju mutasi dan laju evolusi.

Hubungan filogenetik *Periophthalmus* sp.

Pohon Filogenetik

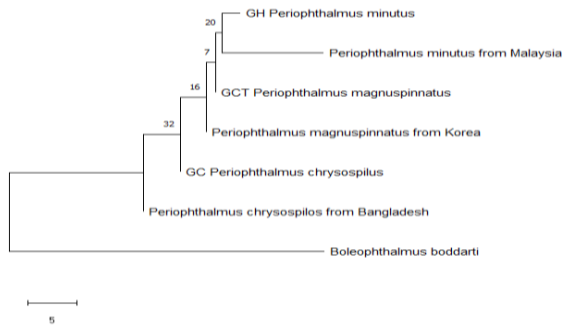
Analisis filogenetik merupakan analisis dengan tujuan menyusun hubungan filogenetik yang umumnya digambarkan dalam suatu garis yang bercabang – cabang seperti pohon hingga disebut pohon filogenetik. Analisis filogenetik dengan menggunakan data molekuler seperti DNA atau protein dapat menggambarkan hubungan evolusi antar spesies (Subari et al., 2021).

Analisis filogenetik pada *Periophthalmus* sp. dimulai dengan alignment atau penjajaran sampel dengan spesies lain dengan bantuan aplikasi mega.



Gambar 5. Hasil *alignment* sekuens CO1 dari genus *Periophthalmus* sp. dengan spesies lain dari database GenBank

Pohon filogenetik didapatkan berdasarkan hasil alignment semua sekuens DNA. Pohon filogenetik menggunakan metode neighbor-joining. Hasil susunan pohon filogenetik akan melalui uji statistik dengan menggunakan metode *bootstrap*.



Gambar 6. Pohon filogenetik *Periophthalmus* sampel dengan kode GH, GC, GCT dengan kerabat dekatnya berdasarkan gen CO1 disusun dengan menggunakan metode Neighbour-Joining pada model *kimura-2-parameter*

Susunan pohon filogenetik dilaksanakan dengan menambahkan spesies dari hasil sekuensing data penelitian yang telah didapatkan dan juga dari data base NCBI yang berasal dari berbagai negara yang akan menjadi kelompok out-group pada pohon filogenetik.

Kekerabatan antar spesies *Periophthalmus* juga bisa dilihat pada pohon filogenetik yang telah di susun. Hasil susunan pohon filogenetik dengan menggunakan gen CO1 menunjukkan bahwa semua spesies pada pohon membentuk 4 klad. Hal ini menunjukkan sifat yang diturunkan sehingga menggumpulkan bilangan basa pada klad 1 terdiri atas *Periophthalmus minutus* kode GH dengan *Periophthalmus minutus* dari Malaysia, klad 2 terdiri atas *Periophthalmus magnuspinnatus* dengan kode GCT dengan *Periophthalmus magnuspinnatus* dari Korea, dan klad 3 terdiri atas *Periophthalmus chrysospilus* dengan kode GC dengan *Periophthalmus chrysospilus* dari Bangladesh. Kemudian klad 4 berupa (out group) *Boleophthalmus boddarti*. Dari ketiga sampel *Periophthalmus minutus* berada dalam memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan *Periophthalmus*

magnuspinnatus. Sedangkan *Periophthalmus chrysospilus* berada dalam klad yang berbeda namun tidak memiliki jarak yang jauh tidak jauh dan masih dalam satu nenek moyang sama tidak keluar dari garis keturunan yang lain atau out group.

Spesies di pohon filogenetik yang berasal dari berbagai negara seperti Malaysia, Korea, dan Bangladesh didapatkan dari GenBank (NCBI) sebagai spesies pembanding. Begitupun dengan spesies yang menjadi out group yaitu *Boleophthalmus boddarti* yang memiliki jarak genetik yang jauh dengan sampel *Periophthalmus minutus*, *Periophthalmus magnuspinnatus*, dan *Periophthalmus chrysospilus*.

Jarak Genetik Sampel dan Out groups (*Pairwise Distance*)

Perbedaan nukleotida antar sekuens yang menunjukkan perubahan antara A dengan G atau C dengan T dan perubahan dari basa purin menjadi basa pirimidin atau sebaliknya dapat kita analisis dengan menggunakan metode *pairwise distance*. Pada penelitian ini model yang digunakan yaitu *Kimura-2-Parameter*. Jarak genetik antar spesies yang lebih dari 3,0% merupakan jenis spesies yang berbeda jauh dan tidak masuk dalam populasi takson. Sementara jarak genetik antar populasi yang sama umumnya hanya berkisar dibawah 2,0%.

Tabel 6. Jarak Genetik Sampel dan Out groups (*Pairwise Distance*)

Spesies	1	2	3	4	5	6
<i>Periophthalmus minutus</i> (GH)						
<i>Periophthalmus minutus</i> Malaysia	0,002					
<i>Periophthalmus chrysospilus</i> (GC)	0,006	0,005				
<i>Periophthalmus chrysospilus</i> Bangladesh	0,008	0,008	1,311			
<i>Periophthalmus magnupinnatus</i> (GCT)	0,001	0,003	0,032	0,224		
<i>Periophthalmus magnupinnatus</i> Korea	0,003	0,022	0,010	0,202	0,010	
<i>Boleophthalmus boddarti</i>	21,176	26,820	26,860	12,249	11,061	11,061

Pada tabel 6. menunjukkan nilai jarak genetik (*Pairwise Distance*) pada seluruh spesies *Periophthalmus* sp. yang dianalisis diperoleh nilai berkisar dari 0.002 sampai dengan 1,311. Nilai pada jarak genetik sampel *Periophthalmus minutus* dengan negara Malaysia 0,002. Pada sampel *Periophthalmus chrysospilus* dengan negara Bangladesh berkisar 0,005 sampai 1,311. Pada sampel *Periophthalmus magnupinnatus* dengan spesies negara Korea berkisar dari 0,001 sampai 0,224. Hal tersebut menunjukkan bahwa seluruh sampel dengan kode GH, GC, dan GCT similar, tidak ada jarak genetik dan masuk kedalam populasi takson yang sama sedangkan sampel *Boleophthalmus boddarti* (*out group*) tidak similar, ada jarak yang jauh dan tidak masuk ke dalam populasi takson yang sama dengan *Periophthalmus minutus*, *Periophthalmus chrysospilus*, dan *Periophthalmus magnupinnatus*.

KESIMPULAN

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil sekuens masing masing sampel *Periophthalmus* sp. dengan panjang 541 bp dengan urutan nukleotida yang sama

karena sudah dilakukan alignmen terlebih dahulu menggunakan aplikasi Mega 11. Pada genus *Periophthalmus* ditemukan 3 spesies yaitu *Periophthalmus minutus*, *Periophthalmus chrysospilus*, dan *Periophthalmus magnupinnatus*.

2. Sekuens *Periophthalmus* dianalisis menggunakan Mega 11 guna mengetahui tingkat keragaman genetik. Dilakukan perhitungan jarak genetik (*pairwise distance*). Perhitungan AT content dan GC content dari ketiga sampel memiliki persentase GC content yang lebih rendah dari pada AT content (55,09%). Maka dapat di simpulkan bahwa *Periophthalmus minutus*, *Periophthalmus chrysospilus*, dan *Periophthalmus magnupinnatus* memiliki sifat yang lebih primitif.
3. Berdasarkan hasil dari susunan pohon filogenetik didapatkan hubungan kekerabatan dari genus *Periophthalmus* terbagi menjadi 4 klad. Sampel *Periophthalmus* yang memiliki kekerabatan paling dekat adalah *Periophthalmus minutus* dengan *Periophthalmus magnupinnatus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada semua rekan yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan juga artikel ilmiah ini.

REFERENSI

Arisuryanti, T., Hasan, R. L., & Koentjana, J. P. (2018, August). Genetic identification of two mudskipper species (Pisces: Gobiidae) from Bogowonto Lagoon (Yogyakarta, Indonesia) using COI mitochondrial gene as a DNA

- barcoding marker. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2002, No. 1, p. 020068). AIP Publishing LLC.
- Mustikasari, D., & Agustiani, R. D. (2021). DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12(1), 86-95.
- Muhtadi, A., fi Ramadhani, S., & YUNASFI, Y. (2016). Identifikasi dan Tipe Habitat Ikan Gelodok (Famili: Gobiidae) di Pantai Bali Kabupaten Batu Bara Provinsi Sumatera Utara. *Biospecies*, 9(2).
- Pramunandar, N., Tamti, H., & Wulandari, S. (2023). Kelimpahan ikan glodok (*Boleophthalmus boddarti* Pallas 1770) pada ekosistem mangrove di ekowisata Lantebung Kota Makassar. *Agrokompleks*, 23(1), 62-91.
- Putri, N. P., Munasik, M., Yuneni, R. R., Alghozali, F. A., & Mahardini, A. (2022). Mitochondrial COI Haplotype Diversity of *Rhynchobatus australiae* Collected from Ketapang Fish Port, Bangka Belitung Islands. *Indonesian Journal of Marine Sciences/Ilmu Kelautan*, 27(2).
- Dewi, M. F. S., Rusdi, B., & Arumsari, A. (2022, August). Studi Literatur Identifikasi Kandungan Babi dengan Metode Molekuler dan Metode Immunoassay. In Bandung Conference Series: Pharmacy (Vol. 2, No. 2, pp. 1019-1026).
- Abidin, N., Moge, R., & Binur, R. (2021). Filogenetik Bulu Babi *Tripneustes gratilla* menggunakan Gen Sitokrom Oksidase Subunit.
- Saleky, D., Sianturi, R., Dailami, M., & Kusuma, A. B. (2021). Kajian Molekuler Ikan *Oreochromis* spp. dari Perairan Daratan Merauke-Papua, Berdasarkan DNA Mitokondria Fragmen Gen Sitokrom Oksidase Subunit I. *Jurnal Perikanan Universitas Gajah Mada*, 23(1), 37-43.
- Dailami, M., Santi, D., Abubakar, H., & Toha, A. H. (2018). Analisis genetik fragmen gen sitokrom oksidase sub unit 1 dari *Cirrhitilabrus cf. ryukyuensis* Ishikawa 1904 (Labridae) asal Teluk Cenderawasih dan Raja Ampat.
- Umami, M. (2022). Karakteristik Morfologi Ikan Gelodok (*Periophthalmus chrysospilos*) Di Area Hutan Mangrove Mundu, Kabupaten Cirebon. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya (JB&P)*, 9(1), 48-54.
- Hidayat, S. (2020). Kajian Ikan Gelodok di Indonesia Bermuatan Unity of Science. *Alinea Media Dipantara*.
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic analysis of *Rasbora* spp. based on the mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89-94.
- Abdullah, A., Nurilmala, M., & Sitaresmi, K. P. (2019). DNA mini-barcodes sebagai penanda molekuler untuk ketertelusuran label pangan berbagai produk ikan layur. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(1), 33-40.
- Aisyah, S., & Farhaby, A. M. (2021). Identifikasi Molekuler Dan Status Konservasi Ikan Pari Hiu (*Rhinidae*) Yang Didaratkan Di Pulau Bangka. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, 5(1), 61-69.
- Elviana, S., & Sunarni, S. (2018). Komposisi dan Kelimpahan Jenis Ikan Gelodok Kaitannya dengan Kandungan Bahan Organik di Perairan Estuari Kabupaten Merauke. *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 11(2), 38-43.
- Fietri, W. A., Rasak, A., & Ahda, Y. (2021). Analisis Filogenetik Ikan Tuna (*Thunnus* Spp) Di Perairan Maluku Utara Menggunakan Coi (Cytochrome Oxydase I). *BIOMA*:

JURNAL BIOLOGI
MAKASSAR, 6(2), 31-39.

- Hartatik, T. (2021). Analisis Genetika Molekuler Sapi Madura. UGM PRESS.
- Hikam, A. M., Mubarakati, N. J., Dailami, M., & Toha, A. H. (2021). DNA barcoding pada invertebrata laut.
- Irawan, D., Warsidah, W., Nurdiansyah, S. I., Safitri, I., & Kushadiwijayanto, A. A. (2020). Identifikasi, Kelimpahan dan Tipe Karakteristik Habitat Ikan Tembakul Desa Pasir Kabupaten Mempawah Kalimantan Barat. *Barakuda 45: Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*, 2(2), 43-49.
- Ismaun, I., & Hikmah, N. (2021). Deteksi Molekuler Bakteri Escherichia Coli Sebagai Penyebab Penyakit Diare dengan Menggunakan Tehnik PCR. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 6(2), 1-9.
- Juniar, A. E., Rosyada, S., & Rahayu, D. A. (2020). Kebiasaan makan ikan gelodok (Famili: Gobiidae) lokal Jawa Timur. *Jurnal Biologi Udayana*.
- Yuwono, Triwibowo. 2002. *Biologi Molekuler*. Jakarta : Erlangga
- Zein, M. S. A., & Prawiradilaga, D. M. (2013). *DNA barcode fauna Indonesia*. Prenada Media.
- Zuhdi, M. F., & Madduppa, H. (2020). Identifikasi *Caesio cuning* berdasarkan Karakterisasi Morfometrik dan DNA Barcoding yang didaratkan di Pasar Ikan Muara Baru, Jakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*, 23(2), 199-206.
- Yanuhar, U., & Caesar, N. R. (2021). *Teknologi Rekombinan Vaksin untuk Ikan*. Universitas Brawijaya Press.
- Yaqin, K. (2019). *Petunjuk Praktis Aplikasi Biomarker Sederhana*. Upt Unhas Press.