

**KOMPOSISI NUKLEOTIDA GEN MITOKONDRIA *D-LOOP* IKAN GLODOK
(*Periophthalmus argentilineatus* Valenciennes, 1837) DARI PANTAI BAROS BANTUL,
D.I. YOGYAKARTA**

**COMPOSITION OF MITOCHONDRIAL *D-LOOP* NUCLEOTIDE OF BARRED
MUDSKIPPER (*Periophthalmus argentilineatus* Valenciennes, 1837) FROM BAROS
BEACH, BANTUL, SPECIAL REGION OF YOGYAKARTA**

Sofia Juniananta Susan Maiseka¹, Dra. Tuty Arisuryanti, M.Sc., Ph.D.^{1*}

¹Faculty of Biology, Universitas Gadjah Mada, Jl. Tehnika Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281, Indonesia.

*Corresponding Author: tuty-arisuryanti@ugm.ac.id

Abstrak

Indonesia merupakan negara yang memiliki luas wilayah perairan lebih luas daripada wilayah daratannya, namun demikian data keragaman genetik ikan, khususnya ikan glodok spesies *Periophthalmus argentilineatus* masih sangat terbatas. Ikan glodok spesies *P. argentilineatus* umumnya hidup di habitat hutan mangrove, salah satunya di hutan mangrove Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk menganalisis komposisi nukleotida sekuen gen *D-loop* mitokondria ikan *P. argentilineatus* yang disampling dari hutan mangrove Pantai Baros. Gen *D-loop* bersifat *hypervariable* sehingga sering digunakan untuk deteksi keragaman genetik suatu spesies pada suatu habitat dan analisis komposisi nukleotida merupakan data awal ada tidaknya indikasi variasi genetik *P. argentilineatus* di hutan mangrove Pantai Baros. Pada penelitian ini tujuh sampel ikan *P. argentilineatus* diisolasi dan diamplifikasi menggunakan primer L15995 dan H16498. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan program GeneStudio, Mesquite dan MEGA11. Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi komposisi nukleotida T, A, C, dan G dari ketujuh sampel ikan glodok yang diteliti. Perbedaan komposisi nukleotida A, C, dan G antar sampel ikan *P. argentilineatus* yang diteliti yaitu berkisar 0-1,64%, sedangkan perbedaan komposisi nukleotida T cukup tinggi yaitu 0-2,04%. Adanya perbedaan komposisi nukleotida antar sampel mengindikasikan adanya keragaman genetik intrapopulasi *P. argentilineatus* di hutan mangrove Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta.

Kata kunci: gen *D-loop*; komposisi nukleotida; *Periophthalmus argentilineatus*

Abstract

Indonesia is a country with a larger area of water than land. However, genetic variation of fish, especially barred mudskipper (*Periophthalmus argentilineatus*) is limited. Barred mudskipper is commonly inhabited in mangrove forest including mangrove forest in Baros Beach, Bantul, Special Region of Yogyakarta. Therefore, the aim of this research was to analyse composition of mtDNA *D-loop* nucleotide of barred mudskipper collected from mangrove forest in Baros Beach. *D-loop* gene is hypervariable and commonly used to determine genetic variation of species in their habitat. In addition, composition of mtDNA *D-loop* nucleotide can be used as a preliminary data to demonstrate intrapopulation genetic variation of barred mudskipper in mangrove forest in Baros Beach. The DNA of seven barred mudskippers were isolated and amplified using universal primers, L15995 dan H16498. Data gained in this study was then analysed using GeneStudio, Mesquite and MEGA11. The results revealed the difference in the mtDNA *D-loop* nucleotide among the seven barred mudskipper samples was similar between A, C, and G composition (0-1.64%) whereas the T composition was high (0-2.04%). This result revealed the indication of intrapopulation genetic variation among seven barred mudskipper samples examined in this study based on composition of mtDNA *D-loop* nucleotide.

Keywords: *D-loop* gene; nucleotide composition; *Periophthalmus argentilineatus*

Pendahuluan

Indonesia memiliki keragaman hayati pada wilayah perairan yang cukup tinggi dikarenakan kondisi geografis Indonesia yang memiliki luas wilayah perairan yang lebih luas dari wilayah daratan. Wilayah perairan yang luas ini menjadikan Indonesia sebagai negara dengan keragaman spesies ikan yang tinggi. Keragaman spesies ikan laut sebanyak 3.476 spesies dan keragaman spesies ikan air tawar sebanyak 1.248 (Widjaja *et al.* 2015). Salah satu ikan air tawar yang banyak ditemukan di perairan Indonesia adalah ikan glodok. Ikan glodok masuk ke dalam famili Oxudercidae (McCraney *et al.*, 2020) yang terdiri dari 86 genus dan 596 spesies (Nelson *et al.*, 2016). Genus yang paling luas distribusinya di wilayah Indo-Pasifik adalah *Periophthalmus* (Nelson *et al.*, 2016). Selain itu, *Periophthalmus* adalah genus dengan spesies paling beragam dalam famili Oxudercidae, dengan 20 spesies yang dianggap valid (McCraney *et al.*, 2020), salah satunya adalah *Periophthalmus argentilineatus*.

Ikan glodok spesies *Periophthalmus argentilineatus* umumnya hidup di habitat hutan mangrove. Pada ekosistem ini ikan glodok dihadapkan dengan pasang surutnya air laut dan juga lingkungan yang berlumpur (Rake and Sullivan, 2015). Ikan glodok *P. argentilineatus* beradaptasi dengan lingkungan tempatnya tinggal secara morfologi seperti bernafas melalui kulit tubuh, lapisan lendir di mulut dan kerongkongannya serta mampu mempertahankan kelembaban insangnya dengan menyimpan air di rongga insangnya pada saat air surut (Sunarni dan Maturbongs, 2017). Mata menonjol pada ikan glodok memungkinkannya melihat ke segala arah. Di bawah mata terdapat kantung air yang membasahi mata saat berkedip untuk mencegah kekeringan saat mengintai mangsa. Mulutnya, yang terletak di bawah kepala, memudahkan ikan glodok mengambil makanan dari lumpur, sesuai dengan habitatnya. Sirip pectoralnya memiliki sendi siku yang memungkinkannya bergerak di atas lumpur dan melompat hingga 60 cm ke udara (Al-Behbehani dan Ebrahim, 2010; Piper, 2007). Toleransi ikan glodok terhadap cekaman lingkungan dan polutan organik maupun anorganik yang ekstrem

membuat ikan ini masuk dalam kategori spesies bioindikator (Ansari *et al.*, 2014).

Ikan glodok tersebar hampir di seluruh kawasan pesisir pantai yang memiliki hutan mangrove. Salah satu kawasan pesisir pantai yang memiliki hutan mangrove di Pulau Jawa adalah Pantai Baros, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Hasil penelitian sebelumnya menggunakan gen mitokondria *COI* sebagai DNA *barcoding* yang dilakukan oleh Aji dan Arisuryanti (2021) menunjukkan bahwa di Pantai Baros ditemukan tiga spesies yang termasuk dalam genus *Periophthalmus* yaitu *P. argentilineatus*, *P. kalolo*, dan *P. novemradiatus*. Namun demikian belum ada data informasi komposisi nukleotida gen mitokondria *D-loop* spesies *P. argentilineatus* dari Hutan Mangrove di Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta. Data komposisi nukleotida suatu gen dapat memberikan gambaran indikasi adanya variasi genetik intra maupun interpopulasi suatu spesies, seperti pada ikan gabus (Kombong dan Arisuryanti, 2018), ikan kotes (Ilmi dan Arisuryanti, 2018), dan ikan bilih (Oktavia dan Arisuryanti, 2018). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi komposisi nukleotida sekuen gen *D-loop* mitokondria spesies *P. argentilineatus* dari Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta.

Bahan dan Metode

Pengambilan sampel dan penyimpanan sampel ikan glodok

Penelitian ini menggunakan sampel ikan glodok yang disampling dari Hutan Mangrove di Pantai Baros dengan koordinat 8°00'28.9"S 110°16'59.6"E (Gambar 1). Ikan glodok diambil dengan menggunakan jaring/net. Ikan glodok yang ditangkap kemudian didokumentasikan (Gambar 2). Selanjutnya, sampel ikan glodok dimasukkan ke dalam vial dengan diberikan etanol 99% dan diberi label. Sampel kemudian dibawa ke Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada dan disimpan pada suhu 4°C untuk dilakukan proses selanjutnya.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel ikan glodok di Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta



Gambar 2. Ikan glodok *Periophthalmus argentilineatus* yang dikoleksi dari Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta (Garis bar = 1 cm)

Isolasi DNA dan Amplifikasi DNA Ikan Glodok

Isolasi DNA, amplifikasi DNA serta elektroforesis ikan glodok dilakukan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi UGM. Isolasi DNA filet ikan glodok yang dikoleksi dari Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta menggunakan Qiagen DNeasy blood and tissue kit (QIAGEN). Selanjutnya hasil isolasi DNA dari tiap sampel ikan glodok diamplifikasi dengan menggunakan primer L15995 (5'-CTCCACTATCAGCACCCAAAG-3') (Taberlet dan Bouvet, 1994), primer H16498 (5'-CCT GAAGTAAGAACCAGATG-3') untuk sekuensing gen *D-loop* mitokondria (Fumagalli *et al.*, 1996). Selanjutnya untuk amplifikasi DNA pada penelitian ini digunakan *MyTaq HS Red Mix PCR kit* (Bioline). Amplifikasi dilakukan dengan reaksi 25 μ l yang terdiri dari 12,5 μ l PCR Mix; 1 mM $MgCl_2$; 5,5 μ l ddH_2O ; 0,6 μ M untuk

masing-masing primer dan 3 μ L sampel DNA. Semua bahan tersebut kemudian dicampurkan dicampurkan dalam sebuah *tube* dan dimasukkan ke mesin *Thermal Cycle* (Biorad T-100) dengan pengaturan siklus sebagai berikut : satu siklus pre-denaturasi pada suhu 95 °C selama 5 menit yang diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari tahap denaturasi pada suhu 95 °C selama 35 detik, *annealing* pada suhu 50 °C selama 30 detik, dan *extension* pada suhu 72 °C selama 30 detik dan bagian akhir dilakukan satu siklus dengan suhu 72 °C selama 7 menit yang diikuti dengan *hold* pada suhu 4 °C selama 4 menit.

Visualisasi Hasil Amplifikasi

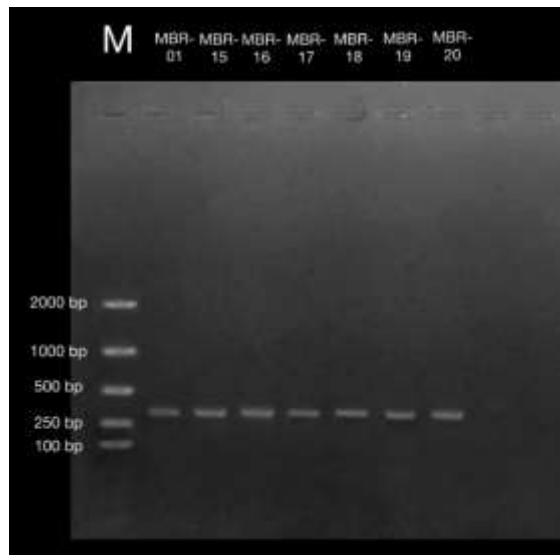
Selanjutnya produk PCR sebanyak 2 μ L dielektroforesis pada gel agarose 1% menggunakan buffer TAE 1x yang ditambahkan dengan *FloroSafe* untuk staining. Adapun DNA ladder (Bioline) digunakan sebagai marker untuk mendeteksi panjang fragmen PCR produk. Selanjutnya elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 V dengan arus 400 mA selama 12 menit. Visualisasi fragmen DNA dilakukan dengan menggunakan UV lamp transilluminator (Daihan, Korea) dan pita-pita yang terlihat didokumentasi dengan GelDoc camera. Sampel selanjutnya dikirim ke LPPT UGM untuk dipurifikasi dan disekuensing secara *bi-direction* menggunakan alat *Genetic Analyzer 3500* (Illumina).

Analisis Data

Data yang diperoleh dari sekuensing DNA dalam format ab1 kemudian dibaca menggunakan perangkat lunak GeneStudio dan divalidasi dengan SeqMan dan EditSeq pada program DNASTAR (DNASTAR Inc., Madison, USA). Selanjutnya, data sekuen gen *D-loop* sampel ikan glodok yang diteliti disimpan dalam file notepad dengan format txt. Data sekuen ini kemudian diubah ke format FASTA menggunakan software MESQUITE v.3.5 (Maddison dan Maddison, 2018). Data sekuen ikan glodok disejajarkan (*alignment*) menggunakan Opal pada program MESQUITE v.3.5 (Madison dan Madison, 2018) dan ClustalW dengan program MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021). Selanjutnya, komposisi nukleotida dari data sekuen gen *D-loop* masing-masing sampel dihitung menggunakan program MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021).

Hasil dan Pembahasan

Hasil amplifikasi pada ketujuh sampel ikan glodok yang diteliti menghasilkan panjang fragmen sekitar 300 bp (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil Amplifikasi gen D-loop mitokondria ikan glodok (*P. argentilineatus*) dari Pantai Baros, Bantul, Yogyakarta (Kode MBR) M adalah marker yang menggunakan DNA ladder (Bioline)

Setelah dilakukannya pensejajaran (*alignment*) dan pemotongan pada bagian ujungnya diperoleh panjang fragmen 245 bp. Selanjutnya data tersebut dianalisis menggunakan MEGA11 dan diperoleh data komposisi nukleotida yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase (%) komposisi nukleotida intrapopulasi *P. argentilineatus* dari Pantai

Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta berdasarkan mitokondria *D-loop*

Sampel	T(U)	C	A	G	A + T	G + C
MBR-01	25,31	27,76	21,22	25,71	46,53	53,47
MBR-15	25,31	27,76	21,22	25,71	46,53	53,47
MBR-16	25,31	27,76	21,22	25,71	46,53	53,47
MBR-17	25,31	27,76	21,22	25,71	46,53	53,47
MBR-18	25,31	27,76	21,22	25,71	46,53	53,47
MBR-19	26,53	26,53	22,86	24,08	49,39	50,61
MBR-20	27,35	26,12	21,22	25,31	48,57	51,43
Rata-rata	25,77	27,35	21,46	25,42	47,23	52,77

Rata-rata komposisi nukleotida hasil analisis ketujuh sampel menunjukkan bahwa rata-rata komposisi nukleotida T, A, C, dan G dari ketujuh sampel ikan glodok dari Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta berturut-turut adalah 25,77%, 27,35%, 21,46%, dan 25,42%. Rata-rata komposisi nukleotida A+T yaitu 47,2% sedangkan G+C yaitu 52,77% (Tabel 1). Pada sampel MBR-01, MBR-15, MBR-16, MBR-17, dan MBR-18 memiliki hasil analisis komposisi nukleotida yang sama yakni T=25,31%, C=27,76%, A=21,22%, dan G=25,71%. Adapun sampel lainnya yakni MBR-19 dan MBR-20 memiliki perbedaan pada hasil analisis komposisi nukleotidanya. Perbedaan komposisi nukleotida A, C, dan G antar sampel ikan *P. argentilineatus* yang diteliti yaitu berkisar 0-1,64%, sedangkan perbedaan komposisi nukleotida T cukup tinggi yaitu 0-2,04%. Perbedaan tersebut mengindikasikan adanya variasi genetik intrapopulasi *P. argentilineatus* dari hutan mangrove Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta.

Kesimpulan

Analisis komposisi nukleotida gen *D-loop* mitokondria ketujuh sampel ikan glodok spesies *P. argentilineatus* yang diteliti dari panjang fragmen 245 bp yang disampling dari Pantai Baros, Bantul, D.I. Yogyakarta menunjukkan adanya perbedaan. Perbedaan tersebut mengindikasikan adanya variasi genetik intrapopulasi ikan glodok spesies *P. argentilineatus* yang diteliti

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada

Kepala Laboratorium Genetika dan Pemuliaan yang telah menyediakan fasilitas bagi berlangsungnya penelitian ini. Ucapan terima kasih kepada Katon Waskito Aji, S.Pd., M.Sc. yang membantu dan mendampingi dalam melakukan penelitian di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Fakultas Biologi UGM.

Referensi

- Al-Behbehani, B.E. & Ebrahim, H.M.A. 2010. Environmental studies on the mudskippers in the intertidal zone of Kuwait Bay. *Nature and Science*, **8**(5): 79-89.
- Aji, K. W. & Arisuryanti, T. 2021. Molecular Identification of Mudskipper Fish (*Periophthalmus* spp.) from Baros Beach, Bantul, D.I. Yogyakarta. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, **6**(3): 1-13.
- Ansari, A.A., Trivedi, S., Saggi, S., Rehman, H. 2014. Mudskipper: A biological indicator for environmental monitoring and assessment of coastal waters. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **2**(6): 22-33.
- Froese, R. & Pauly, D. 2014. Assesment of Diversity of Macro Aquatic Species in Amburayan River in Kapangan, Benguet in the Phillipines. *Open Journal of Marine Science*, **8**(3).
- Ilmi, W. & Arisuryanti, T. 2018. Composition of Mitochondrial DNA 16S Nucleotide of Dwarf Snakehead (*Channa gachua* Hamilton, 1822) from Keji River, Magelang, Central Java. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology* **3** (2): 57-61
- Kombong, C. & Arisuryanti, T. 2018. Komposisi Nukleotida Sekuen Gen Mitokondria 16S dan COI Ikan Gabus (*Channa striata* Bloch, 1793) dari Danau Sentani, Jayapura, Papua. *Jurnal Perikanan UGM* **20** (2): 57-62
- Maddison, W.P. & D.R. Maddison. 2018. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 3.51 (<http://www.mesquiteproject.org>)
- McCraney, W.T, Thacker, C.E., & Alfaro, M.E. 2020. Supermatrix phylogeny resolves goby lineages and reveals unstable root of Gobiaria. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **151**: 106862
- Nelson, J. S., Grande, T. C., and Wilson, M. V. H. 2016. *Fishes of the World*. 5th ed. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. P. 348
- Oktavia, L., Arisuryanti, T. 2018. Komposisi Nukleotida Sekuen Gen Mitokondria 16S rRNA Ikan Bilih (*Mystacoleucus padangensis* Bleeker, 1852) Danau Singkarak, Solok, Sumatera Barat. *Biogenesis* **6** (2): 98-104
- Piper, R. 2007. *Extraordinary Animals*. Greenwood Press. London:
- Rake, J. Sullivian. 2015. *Mudskippers and other extreme fish adaptations*. Capstone Press. Minnesota. p. 32.
- Pinasti, R., Ilmi, W., Arisuryanti, T. Genetic characterization of dwarf snakehead, *Channa gachua* (Hamilton, 1822) from two population based on 16S rRNA gene. *Indonesian Fisheries Research Journal* **27** (2): 109-116
- Sunarni, Maturbongs, M.R. 2017. Biodiversitas dan kelimpahan ikan gelodok (*Mudskipper*) di daerah intertidal Pantai Payumb, Merauke. *Prosiding Seminar Nasional dan Sumberdaya Pulau-Pulau Kecil*, **1**(1), 125-131.
- Taberlet P. & Bouvet J. 1994 Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear (*Ursus arctos*) in Europe. *Proc. R. Soc. Lond. B* **255**,195– 200
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. 2021. MEGA11: Molecular evolutionary genetic analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, **38**(7): 3022- 3027.
- Widjaja, E., Rahayuningsih, Y., Rahajoe, J.S., Ubaidillah, R., Maryanto, I., Walujo, E.B., Semiadi, G. 2015. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia 2014*. 2nd. ed. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Press, Jakarta.