

**Polimorfisme Gen Mitokondria 16S Kepiting Biola, *Gelasimus borealis* (Crane, 1975), dari Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta**

**Mitochondrial 16S Gene Polymorphism of Fiddler Crab, *Gelasimus borealis* (Crane, 1975) from Kulon Progo, Special Region of Yogyakarta**

Laura Silka Karawina Rokhmat<sup>1</sup>, Tuty Arisuryanti<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Selatan Sekip Utara, Sleman 55281, Yogyakarta, Indonesia

\*Corresponding Author: [tuty-arisuryanti@ugm.ac.id](mailto:tuty-arisuryanti@ugm.ac.id)

**Abstrak:** Kepiting biola (*Gelasimus borealis* (Crane, 1975)) hidup pada zona intertidal berlumpur atau berpasir di muara sungai atau hutan mangrove yang banyak ditemukan di Indonesia. Namun, penelitian mengenai kelimpahan dan keragaman genetik *G. borealis* di Indonesia, terutama terkait gen mitokondria 16S, masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman genetik *G. borealis* dari Kulon Progo berdasarkan gen mitokondria 16S. Metode yang digunakan adalah metode PCR dengan primer 16Sar dan 16Sbr, melalui tahapan isolasi, amplifikasi, elektroforesis, dan sekuensing. Analisis data dilakukan untuk memperoleh data komposisi nukleotida, jarak genetik, variasi genetik, dan jejaring haplotype serta menganalisis rekonstruksi pohon filogenetik dengan menggunakan program GeneStudio, BLAST, MESQUITE, MEGA, DnaSP, BEAST, NETWORK, dan GenAIEx. Hasil penelitian menunjukkan bahwa analisis intrapopulasi tidak menunjukkan keragaman genetik, sedangkan analisis interpopulasi dengan populasi Hong Kong dan Taiwan dari *database GenBank* menunjukkan adanya keragaman genetik berupa lima *haplotype* dan lima situs polimorfik dengan dua *parsimony informative sites*. Nilai keragaman *haplotype* dan nukleotida secara berurutan adalah  $0,857 \pm 0,108$  dan  $0,00368 \pm 0,00055$ . Analisis filogenetik menunjukkan bahwa *G. borealis* dari Kulon Progo membentuk *clade* tersendiri, terpisah dari Hong Kong dan Taiwan dengan jarak genetik 0,45% namun masih berada dalam satu spesies yang sama dan didukung tidak adanya *sharing haplotype* antarpopulasi tersebut berdasarkan analisis jejaring *haplotype* dan *Principal Coordinate Analysis* (PCoA). Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk menyusun pustaka gen 16S kepiting biola spesies *G. borealis* dari Kulon Progo yang berguna dalam proses identifikasi sehingga dapat dimanfaatkan untuk program konservasi spesies kepiting biola tersebut.

**Kata kunci:** *Gelasimus borealis*; gen mitokondria 16S; keragaman genetik

**Abstract:** The fiddler crab (*Gelasimus borealis* (Crane, 1975)) inhabits muddy or sandy intertidal zones in river estuaries or mangrove forests and is commonly found throughout Indonesia. However, studies on the abundance and genetic diversity of *G. borealis* in Indonesia, particularly regarding the mitochondrial 16S gene, remain limited. This study aims to analyze the genetic diversity of *G. borealis* from Kulon Progo based on the mitochondrial 16S gene. This study used a PCR method using 16Sar and 16Sbr primers, with stages comprising DNA isolation, amplification, electrophoresis, and sequencing. Data analysis was conducted to obtain nucleotide composition, genetic distance, genetic variation, haplotype network, and phylogenetic tree reconstruction using software programs such as GeneStudio, BLAST, MESQUITE, MEGA, DnaSP, BEAST, NETWORK, and GenAIEx. The results showed no genetic variation within the Kulon Progo population (intrapopulation analysis). However, interpopulation analysis using 16S sequence data of *G. borealis* from Hong Kong and Taiwan available in the GenBank database revealed genetic diversity, consisting of five haplotypes and five polymorphic sites, including two parsimony-informative sites. The haplotype and nucleotide diversity values were  $0.857 \pm 0.108$  and  $0.00368 \pm 0.00055$ , respectively. Phylogenetic analysis indicated that the *G. borealis* population from Kulon Progo formed a distinct clade, separate from the Hong Kong and Taiwan populations, with a genetic distance of 0.45% but all are still conspecifics. This separation was also supported by the absence of haplotype sharing among the populations, as demonstrated by haplotype network and Principal Coordinate Analysis (PCoA). This study is

expected to contribute to the development of a *16S* gene reference library for the fiddler crab species *G. borealis* from Kulon Progo, which will be useful for species identification and conservation programs of this crab species.

Copyright: © 2025, J. Berkala Ilmiah Biologi (CC BY 4.0)

**Keywords:** *Gelasimus borealis*; mitochondrial *16S* gene; genetic variation

Dikumpulkan: 4 Maret 2025    Direvisi: 15 Juli 2025    Diterima: 8 Desember 2025    Dipublikasi: 31 Desember 2025

## Pendahuluan

Indonesia memiliki zona intertidal dengan daerah berlumpur atau berpasir, seperti muara sungai atau hutan mangrove, yang tersebar pada setiap wilayahnya. Wilayah tersebut merupakan habitat yang cocok bagi kepiting biola (*Gelasimus borealis* (Crane, 1975)) (Jones and Morton, 1994). Di dalam habitat tersebut, *G. borealis* memiliki peran vital dalam mengatur siklus nutrisi dan struktur sedimen di habitatnya (Barnwell and Thurman, 1984). *G. borealis* memiliki ciri khas berupa dimorfisme seksual pada *G. borealis* jantan dengan adanya satu capit besar (*major cheliped*) dan satu capit kecil (*minor cheliped*) (Crane, 1975). Namun, belum ada penelitian terkait *G. borealis* di Indonesia.

Kepiting biola termasuk dalam famili Ocypodidae yang terbagi dalam 2 subfamili yaitu subfamili Ocypodinae yang terdiri dari 2 genus dan subfamili Gelasiminae yang terdiri dari 9 genus (Shih and Chan, 2022). Kepiting biola umumnya merupakan spesies kriptik dan pemisahannya menggunakan metode molekuler yaitu dengan marka gen mitokondria *16S* dan *COI* serta gen inti *28S* (Shih et al., 2015; Shih and Chan, 2022). Di Indonesia, spesies kepiting biola dari genus *Gelasimus* yang telah diteliti antara lain yaitu *G. jocelynae* yang ditemukan di Pulau Kaledupa, Taman Nasional Wakatobi, Sulawesi Tenggara oleh Michie et al. (2021) berdasarkan karakter morfologinya. Selanjutnya Nur dan Kuntjoro (2020) meneliti kemelimpahan *G. vocans*, *G. vomeris*, dan *G. tetragon* yang ditemukan di Pantai Selatan Kabupaten Bangkalan, Madura. Berikutnya, Baksir et al. (2022) meneliti keragaman genetik kepiting biola (*Uca* spp.) di Pesisir Pantai Jailolo. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman genetik kepiting *Uca* spp. pada keseluruhan

daerah sampling tergolong tinggi yaitu sebesar 0,867 dan keragaman nukleotida sebesar 0,094.

Berdasarkan penelitian yang telah ada menunjukkan bahwa belum ada penelitian terkait keberadaan dan keragaman genetik *G. borealis* di Indonesia, khususnya di Kulon Progo. Padahal, pada daerah tersebut memiliki wilayah yang cocok sebagai habitat *G. borealis*, seperti pada Muara Sungai Progo dan Muara Bogowonto. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi dan menganalisis keragaman genetik kepiting biola spesies *G. borealis* yang terdapat di Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. Analisis keragaman genetik tersebut menggunakan penanda molekuler berupa gen mitokondria *16S*. Gen mitokondria *16S* bersifat konservatif (*conserved*) dengan laju mutasi yang stabil sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi keragaman genetik terutama keragaman genetik intraspesifik (Cawthorn et al., 2012). Dengan demikian, penelitian terkait keragaman genetik kepiting biola spesies *G. borealis* di Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta, dapat digunakan dalam penyusunan pustaka gen mitokondria *16S* yang lebih komprehensif serta menjadi landasan bagi upaya konservasi, pemanfaatan yang berkelanjutan, dan penelitian lebih lanjut mengenai kepiting biola spesies *G. borealis* di Indonesia.

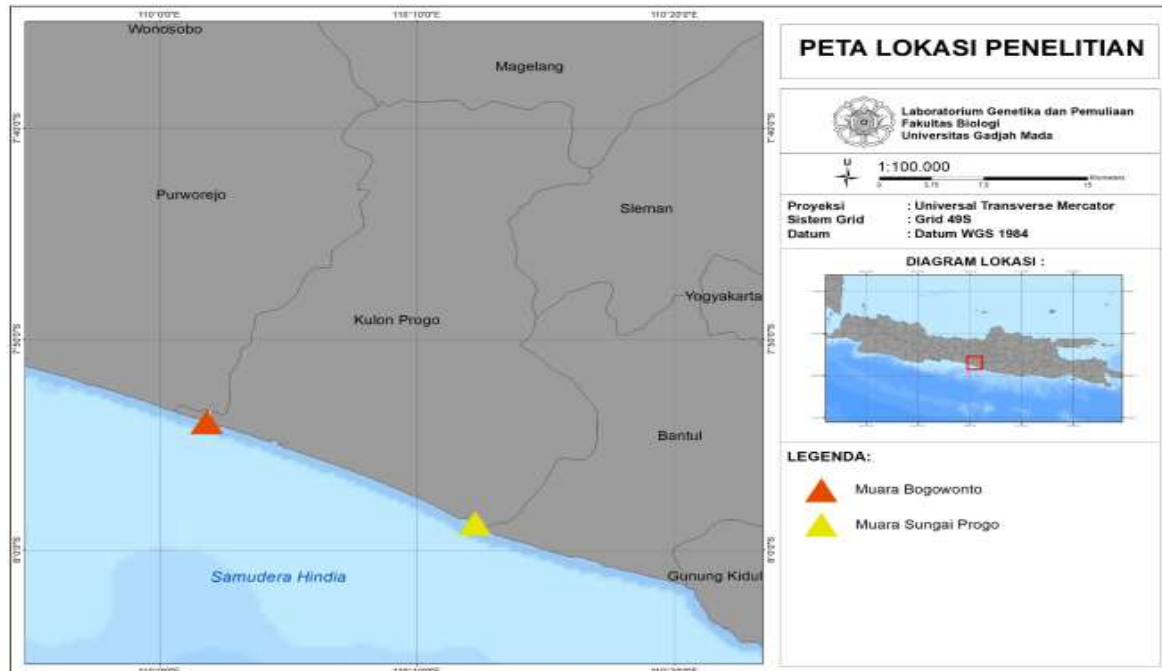
## Bahan dan Metode

### 1. Koleksi dan Penyimpanan Sampel

Pada penelitian ini, tiga sampel spesies *G. borealis* dikoleksi dari Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. Sampel terdiri atas dua sampel (KPG1\_21 dan KPG3\_25) dari Muara

Sungai Progo dengan koordinat 7°58'44.0"S 110°12'15.4"E dan satu sampel (KBG5\_5) dari Muara Bogowonto dengan koordinat 7°53'56.0"S 110°01'50.0"E (Gambar 1). Sampel yang diperoleh kemudian dipreservasi dengan etanol 99%, kemudian sampel-sampel *G. borealis* tersebut dibawa ke Laboratorium

Genetika dan Pemuliaan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, dan disimpan pada suhu 4°C untuk proses penelitian lebih lanjut.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel kepiting biola di Kulon Progo

## 2. Isolasi DNA, Amplifikasi, dan Sekuensing Gen Mitokondria 16S rRNA

DNA sampel *G. borealis* dari Kulon Progo diekstraksi dengan menggunakan *Qiagen DNEasy Blood and Tissue Kit* (Qiagen, USA). Hasil isolasi DNA diamplifikasi dengan menggunakan primer *16Sar* (5'-CGCCTGTTTATCAAAA ACAT-3') dan *16Sbr* (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') untuk sekuensing gen mitokondria 16S rRNA (Palumbi, 1996). Selanjutnya amplifikasi DNA dilakukan dengan kit *MyTaq HS Red Mix PCR* (Bioline). Pada proses amplifikasi, 25 µl dari campuran reagen disiapkan, terdiri dari 12,5 µl campuran PCR, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 5,5 µl ddH<sub>2</sub>O, 1,5 µM untuk setiap primer, dan 3 µl DNA *template*. Sampel tersebut kemudian dimasukkan pada alat *Thermal Cycler* (Biorad-T100, 14 USA) untuk menjalankan siklus amplifikasi sesuai dengan pengaturan berupa satu siklus *predenaturation* pada suhu 95°C selama 1 menit, 35 siklus

*denaturation* pada suhu 95°C selama 15 detik, 35 siklus *annealing* pada suhu 50°C selama 30 detik, 35 siklus *extension* pada suhu 72°C selama 30 detik, satu siklus *postextension* pada suhu 72°C selama 5 menit, serta *hold* pada suhu 4°C. Selanjutnya, 2 µl dari setiap sampel hasil produk PCR dielektroforesis pada gel agarose 1% yang telah ditambahkan 1 µl *FloroSafe* sebagai pewarna (*staining*). DNA *ladder* (Bioline) digunakan untuk marker. Proses elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 volt dan arus 400 mA selama 15 menit. Selanjutnya visualisasi DNA dilakukan dengan *UV lamp transilluminator* (Daihan, Korea) dan dokumentasi pita-pita DNA dengan *Gel-Doc*. Hasil proses amplifikasi PCR berupa *amplicon* dikirim ke LPPT UGM untuk dilakukan sekuensing lebih lanjut.

### 3. Analisis Data

Data sekuens gen *16S* ketiga sampel *G. borealis* yang didapatkan dari hasil sekuensing selanjutnya dianalisis dengan program GeneStudio. Data sekuens *16S* kepiting biola spesies *G. borealis* yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan data yang ada di *GenBank* menggunakan Nucleotide BLAST pada NCBI untuk verifikasi spesies. Selanjutnya sekuens gen mitokondria *16S* sampel-sampel tersebut dikonversi ke fasta format dengan program MESQUITE v.3.81 (Maddison and Maddison, 2023) dan dilakukan pensejajaran (*alignment*) menggunakan OPAL pada program MESQUITE v.3.81 (Maddison and Maddison, 2023) dan ClustalW pada program MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021).

Pada proses analisis filogenetik, digunakan tiga data sekuens gen *16S* sampel *G. borealis* yang diteliti ditambah dengan lima data dari *GenBank* sebagai pembanding (dua sampel kepiting biola *G. borealis* dari Hong Kong (LC053359 dan AB535404) dan tiga sampel kepiting biola *G. borealis* dari Taiwan (AB535403, AB535402, AB491162)). Penggunaan data pembanding dari database *GenBank* adalah untuk menguatkan validitas identifikasi spesies dan analisis keragaman intraspesifik. Selanjutnya tiga data dari *GenBank* digunakan sebagai *outgroup* meliputi *Tubuca coarctata* (*accession number* LC150377), *Tubuca dussumieri* (*accession number* LC150381) dan *Gelasimus jocelynae* (*accession number* AB535394). Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ) dan *Maximum Likelihood* (ML) menggunakan model substitusi Kimura-2 Parameter (K2P) dengan *bootstrap* 1000 menggunakan program MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021). Analisis filogenetik lainnya menggunakan

metode *Bayesian Inference* dengan program BEAST (Suchard *et al.*, 2018). Model substitusi optimal ditentukan dengan *Akaike Information Criterion* (AIC) pada program jModelTest 2.1.10 (Darriba *et al.*, 2012). Model terbaik yang diperoleh pada penelitian ini yaitu GTR+I. (*General time Reversible with Invariant Sites*). Selanjutnya untuk analisis MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*), dibutuhkan 10 juta generasi dan sampling dilakukan setiap 1000 generasi untuk memperkirakan distribusi *probabilitas posterior*. Sampel yang diperoleh dari 25% pertama dari pohon sampel diabaikan sebagai *burn-in* dan pohon konsensus mayoritas menggunakan sampel yang tersisa. Selanjutnya, pohon konsensus divisualisasi dengan menggunakan FigTree 1.4.4 (Rambaut, 2019).

Berikutnya, dalam analisis variasi genetik intrapopulasi dan interpopulasi, digunakan berbagai program terkait. Komposisi nukleotida dan jarak genetik dianalisis dengan MEGA11. Analisis jarak genetik menggunakan metode Kimura 2-Parameter dengan dukungan *bootstrap* 1000 kali. Hasil visualisasi jarak genetik dilakukan menggunakan analisis *Principal Coordinate Analysis* (PCoA) dengan program GenAIEx 6 (Peakall and Smouse, 2012). Keragaman genetik seperti jumlah *haplotype* (h), *haplotype diversity* (Hd), *nucleotide diversity* ( $\pi$ ), jumlah *polymorphic sites* yang terdiri dari *parsimony informative sites* dan *singleton sites* dianalisis menggunakan program DnaSP versi 6 (Rozas *et al.*, 2017). Selanjutnya pembuatan jejaring *haplotype* dilakukan menggunakan NETWORK versi 10 (<https://www.fluxus.engineering.com/sharenet.htm>) untuk memperoleh gambaran ada atau tidak ada *sharing haplotype* antar populasi yang dianalisis.

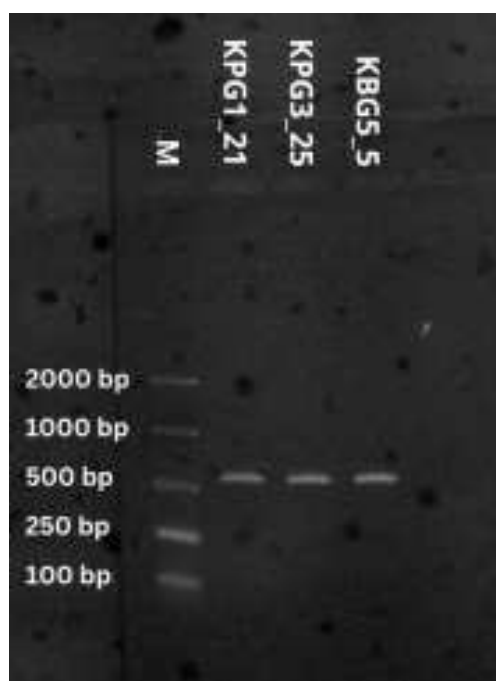
## Hasil dan Pembahasan

### A. Hasil

#### 1. Hasil Amplifikasi dan Similaritas

Hasil amplifikasi diperoleh panjang fragmen amplikon 500-600 bp dan setelah dilakukan analisis dengan program GeneStudio dan pensejajaran (*alignment*) antar sampel

menggunakan program Mesquite diperoleh panjang fragmen 495 bp. Selanjutnya analisis *Nucleotide* BLAST dari NCBI menunjukkan bahwa ketiga sampel (KPG1\_21, KPG3\_25, dan KBG5\_5) yang diteliti terverifikasi sebagai spesies *Gelasimus borealis* dengan *accession number* NC\_038177 dengan nilai *persentase identity* tertinggi yaitu 99,61%.

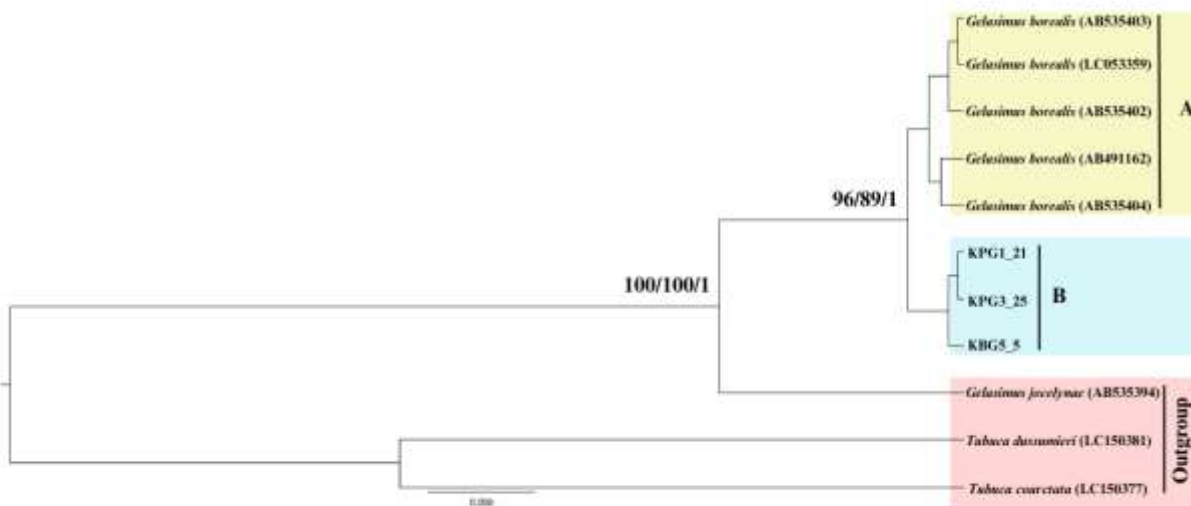


Gambar 2. Hasil amplifikasi gen mitokondria *16S* kepiting biola (*G. borealis*) dari Kulon Progo (Muara Sungai Progo dan Muara Bogowonto) dengan menggunakan marker DNA *ladder* (Bioline-2kb). M adalah marker

#### 2. Analisis Filogenetik

Rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan topologi *Neighbor Joining* (NJ), *Maximum Likelihood* (ML), dan *Bayesian Inference* (BI) dari ketiga sampel penelitian, 5 sampel kepiting biola *G. borealis* dari *GenBank*, dan 3 sampel *outgroup* menunjukkan ada 2 *clade*. Sampel-sampel kepiting biola (*G. borealis*) yang diteliti pada penelitian ini berada pada *clade* yang

sama yaitu pada *clade* B, sedangkan sampel-sampel kepiting biola (*G. borealis*) dari Hong Kong (LC053359 dan AB535404) dan Taiwan (AB535403, AB535402, dan AB491162) terpisah pada *clade* lainnya yaitu *clade* A (Gambar 3). Berdasarkan analisis yang dilakukan, jarak genetik antara *clade* A dan *clade* B adalah 0,45%.



Gambar 3. Rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan topologi NJ, ML, BI kepiting biola *G. borealis* berdasarkan sekuen gen mitokondria *16S*. Angka bootstrap secara berurutan dari paling kiri adalah NJ, ML, dan BI

### 3. Analisis Intrapopulasi

Hasil analisis intrapopulasi pada sampel KBG5\_5, KPG1\_21, dan KPG3\_25 yang berasal dari Kulon Progo dengan panjang fragmen 516 bp menunjukkan nilai *Haplotype Diversity* ( $H_d$ ) dan *Nucleotide Diversity* ( $\pi$ ) adalah 0. Selain itu, ada kesamaan komposisi persentase basa nukleotida setiap sampel yaitu T(U)=35,08%, C=11,24%, A=34,88%, G=18,80%, A+T=69,96%, dan G+C=30,04%. Jarak genetik antar sampel juga 0,00%. Hal ini menunjukkan tidak ada variasi genetik intrapopulasi.

### 4. Analisis Interpopulasi

#### a. Komposisi Nukleotida

Hasil analisis komposisi nukleotida sekuens gen mitokondria *16S* antara sampel *G. borealis* dari Kulon Progo dengan sampel *G. borealis* dari *GenBank* dengan panjang fragmen 495 bp dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Persentase (%) komposisi nukleotida sekuen gen mitokondria 16S *G. borealis* yang didapatkan dari Kulon Progo (penelitian ini) dan dari *GenBank* dengan panjang fragmen 495 bp

Sampel	T(U)	C	A	G	A+T	G+C
KBG5_5*	35,15	10,71	34,95	19,19	70,10	29,90
KPG1_21*	35,15	10,71	34,95	19,19	70,10	29,90
KPG3_25*	35,15	10,71	34,95	19,19	70,10	29,90
LC053359**	34,95	10,91	34,75	19,39	69,70	30,30
AB535403***	34,95	10,91	34,75	19,39	69,70	30,30
AB535402***	34,95	10,91	34,55	19,60	69,49	30,51
AB491162***	35,35	10,51	34,75	19,39	70,10	29,90
AB535404**	34,95	10,71	34,95	19,39	69,90	30,10

**Keterangan :**

- \* Dari Kulon Progo (penelitian ini)
- \*\* Dari Hong Kong (*GenBank*)
- \*\*\* Dari Taiwan (*GenBank*)

**b. Jarak Genetik**

Hasil analisis jarak genetik interpopulasi kepinging biola *G. borealis* yang didapatkan dari Kulon Progo, Hong Kong, dan Taiwan

didapatkan hasil bahwa jarak genetik antar sampel berkisar antara 0,00% sampai 0,61% (Tabel 2).

**Tabel 2.** Persentase (%) jarak genetik sekuen gen mitokondria 16S *G. borealis* yang didapatkan dari Kulon Progo (penelitian ini) dan dari *GenBank* dengan panjang fragmen 495 bp

	1	2	3	4	5	6	7	8
1. KBG5_5*	-							
2. KPG1_21*	0,00	-						
3. KPG3_25*	0,00	0,00	-					
4. LC053359**	0,41	0,41	0,41	-				
5. AB535403***	0,41	0,41	0,41	0,00	-			
6. AB535402***	0,61	0,61	0,61	0,20	0,20	-		
7. AB491162***	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,61	-	
8. AB535404**	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,61	0,41	-

**Keterangan :**

- \* Dari Kulon Progo (penelitian ini)
- \*\* Dari Hong Kong (*GenBank*)
- \*\*\* Dari Taiwan (*GenBank*)

**a. Keragaman Genetik Interpopulasi**

Berdasarkan analisis keragaman genetik interpopulasi kepiting biola *G. borealis* yang didapatkan dari Kulon Progo, Hong Kong, dan Taiwan didapatkan hasil bahwa nilai *Haplotype Diversity* (Hd) sebesar  $0,857 \pm 0,108$  dan nilai *Nucleotide Diversity* ( $\pi$ ) yaitu  $0,00368 \pm$

$0,00055$ . Selanjutnya terdapat 5 *haplotype* serta 5 *polymorphic sites* dengan 2 *parsimony sites* (sekuens 129 dan 234) dan 3 *singleton sites* (sekuens 271, 318, 365) yang dapat dilihat pada Tabel 3. Lima *polymorphic sites* tersebut terjadi transisi pada sekuens 129, 234, 271, dan 365, serta transversi pada sekuens 318.

**Tabel 3.** Situs polimorfisme interpopulasi *G. borealis* yang didapatkan dari Kulon Progo (penelitian ini) dan dari *GenBank* dengan panjang fragmen 495 bp.

Kode Sampel	Haplotype	Polymorphic Sites				
		129	234	271	318	365
KBG5_5*	H1	A	T	A	T	C
KPG1_21*	H1	.	.	.	.	.
KPG3_25*	H1	.	.	.	.	.
LC053359**	H2	G	C	.	.	.
AB535403***	H2	G	C	.	.	.
AB535402***	H3	G	C	G	.	.
AB491162***	H4	G	.	.	.	T
AB535404**	H5	G	.	.	A	.

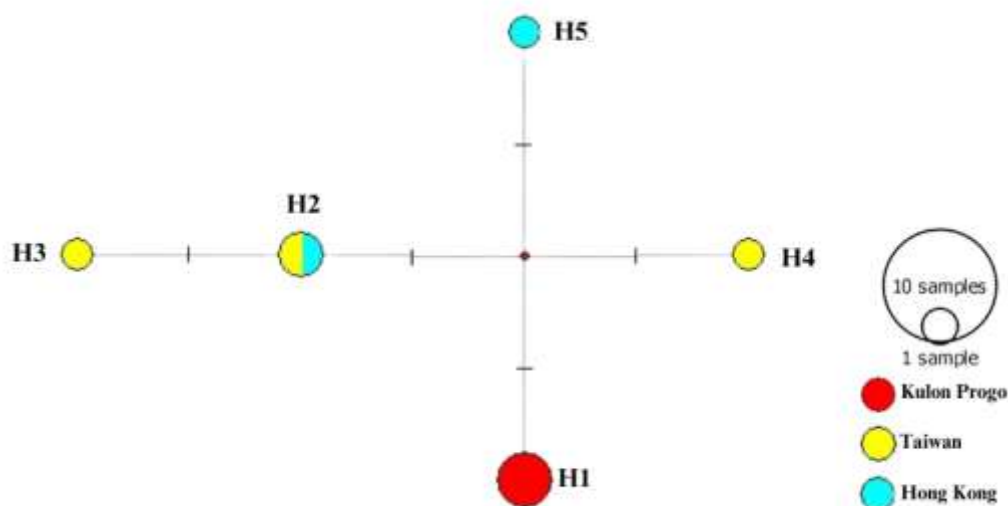
Keterangan :

- \* Dari Kulon Progo (penelitian ini)
- \*\* Dari Hong Kong (*GenBank*)
- \*\*\* Dari Taiwan (*GenBank*)

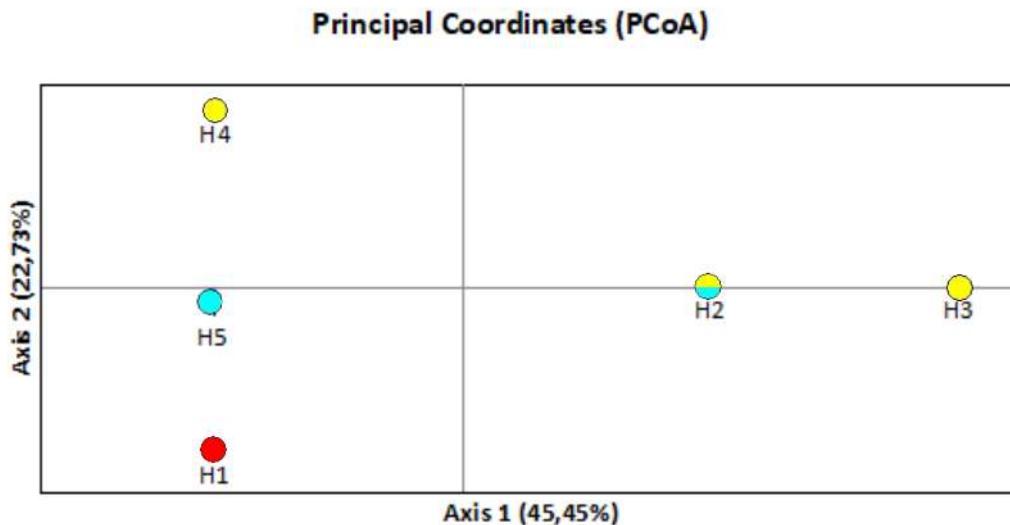
**b. Haplotype Network dan Principal Coordinates Analysis (PCoA)**

Jejaring haplotype dan PCoA (Gambar 4 & 5) menunjukkan bahwa terdapat 5 *haplotype*

yang menunjukkan terbentuknya kelompok-kelompok dengan kesamaan komposisi nukleotida dan jarak genetik pada setiap anggota kelompok *haplotype*.



**Gambar 4.** Haplotype network *G. borealis* berdasarkan gen mitokondria *16S*



**Gambar 5.** PCoA *G. borealis* berdasarkan gen mitokondria *16S* (warna merah : berasal dari Kulon Progo, warna biru : berasal dari Hong Kong, warna kuning : berasal dari Taiwan)

## B. Pembahasan

Dari hasil ini menunjukkan adanya 2 *clade* yang berbeda (*clade* A dan B) antara sampel-sampel *G. borealis* yang diteliti pada penelitian ini dengan sampel *G. borealis* dari Hong Kong dan Taiwan dari data *GenBank*. Jarak genetik antara *clade* A dan *clade* B sebesar 0,45%. Ambang batas untuk menentukan spesies yang berbeda yaitu  $\geq 3,5\%$  (Zemlak *et al.*, 2009). Hal tersebut menunjukkan bahwa anggota *clade* A dan *clade* B adalah *conspecific* atau merupakan spesies yang sama.

Hasil analisis keragaman genetik intrapopulasi pada sampel *G. borealis* dari Kulon Progo menunjukkan bahwa tidak adanya variasi genetik di dalamnya. Hal tersebut diakibatkan karena ukuran populasi yang kecil sehingga mengurangi keragaman alel dalam populasi, isolasi geografis, dan rendahnya tingkat migrasi sehingga aliran gen antar populasi menjadi terbatas (Hartl and Clark, 2006). Faktor-faktor tersebut secara keseluruhan mengakibatkan berkurangnya peluang terjadinya perkawinan silang dan pencampuran gen sehingga terjadi homogenisasi genetik pada suatu populasi. Gen mitokondria *16S* bersifat stabil (*conserved*), yang berarti gen ini cenderung serupa atau identik di antara berbagai individu dalam satu spesies. Namun, ketika terdapat variasi nukleotida antara

sampel-sampel dalam suatu populasi, maka hal ini menunjukkan adanya indikasi variasi genetik di dalam kelompok tersebut (Yang *et al.*, 2014).

Komposisi nukleotida dan jarak genetik interpopulasi antara sampel *G. borealis* yang diteliti pada penelitian ini dari Kulon Progo dengan sampel *G. borealis* dari Hong Kong dan Taiwan dari data *GenBank* menunjukkan adanya variasi genetik. Hal tersebut didukung dengan nilai *Haplotype Diversity* ( $H_d$ ) yaitu  $0,857 \pm 0,108$  dan nilai *Nucleotide Diversity* ( $\pi$ ) yaitu  $0,00368 \pm 0,00055$ . Penggolongan nilai  $H_d$  mencakup nilai keragaman *haplotype* tinggi ( $0,5 < H_d \leq 1$ ) dan nilai keragaman *haplotype* rendah ( $0 \leq H_d < 0,5$ ), serta penggolongan nilai  $\pi$  mencakup nilai keragaman nukleotida tinggi ( $\geq 1\%$  atau  $\geq 0,01$ ) dan nilai keragaman nukleotida rendah ( $< 0,5\%$  atau  $< 0,005$ ) (Grant and Bowen, 1998). Hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai  $H_d$  tergolong tinggi, sedangkan nilai  $\pi$  tergolong rendah. Nilai  $H_d$  tinggi dan nilai  $\pi$  rendah menggambarkan bahwa populasi mengalami *bottleneck* diikuti oleh ekspansi cepat (Grant and Bowen, 1998). Terjadinya *bottleneck* populasi, yaitu populasi mengalami penurunan drastis sehingga hanya beberapa individu yang bertahan, menyebabkan pengurangan variasi genetik. Namun, setelah *bottleneck*, populasi berkembang pesat dan mutasi baru mulai terakumulasi

sehingga mutasi ini dapat muncul sebagai *haplotype* baru. Oleh karena itu, populasi memiliki banyak variasi *haplotype* yang menunjukkan hubungan genetik antar sampel dari populasi berbeda, yaitu Kulon Progo (H1), Taiwan (H2, H3, H4), Hong Kong (H2, H5). Dominasi H1 di Kulon Progo menunjukkan populasi yang homogen secara genetik, sedangkan *haplotype* lainnya dari Taiwan dan Hong Kong mencerminkan sejarah genetik yang lebih dinamis pada populasi tersebut. Secara keseluruhan, jejaring *haplotype* yang terbentuk menggambarkan *gene flow* yang rendah. Selain itu jarak genetik yang rendah antara *haplotype* menunjukkan rendahnya variasi genetik yang mungkin diakibatkan karena rendahnya migrasi genetik antara populasi Kulon Progo, Taiwan, dan Hong Kong. Hubungan variasi genetik antarindividu atau populasi berdasarkan jarak genetik juga direpresentasikan oleh PCoA. H1 memiliki perbedaan yang lebih jauh dengan H3 dibandingkan dengan H2, H4, dan H5; H4 memiliki perbedaan yang lebih jauh dengan H3 dibandingkan dengan H1, H2, dan H5; H5 memiliki perbedaan yang lebih jauh dengan H3 dibandingkan dengan H1, H2, dan H4; serta H3 paling dekat dengan H2 sehingga menunjukkan bahwa H3 memiliki perbedaan yang lebih jauh dengan H1, H4, dan H5.

## Kesimpulan

Hasil analisis dari gen mitokondria *16S* menunjukkan bahwa tidak ada variasi genetik intrapopulasi pada kepiting biola (*G. borealis*) dari Kulon Progo. Seluruh sampel yang dianalisis termasuk dalam satu *haplotype* spesifik yang dapat dijadikan penanda molekuler untuk kepiting biola di Kulon Progo.

## Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Fakultas Biologi UGM yang telah membantu menyediakan fasilitas bagi terlaksananya penelitian ini.

## Referensi

- Baksir, A., Akbar, N. and Ismail, F. (2022). Keragaman genetik dan filogenetik kepiting biola (*Uca* spp.) di Pesisir Pantai Jailolo, Kabupaten Halmahera Barat. *Jurnal Kelautan Tropis*, 25 (1): 57–59.
- Barnwell, F.H. and Thurman, C.L. (1984). Taxonomy and biogeography of the fiddler crabs (Ocypodidae: Genus *Uca*) of the atlantic and gulf coasts of eastern North America. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 81 (1): 23–87. doi: 10.1111/j.1096-3642.1984.tb02558.x
- Cawthorn, D.M., Steinman, H.A. and Witthuhn, R.C. (2012). Evaluation of the *16S* and *12S* rRNA genes as universal markers for the identification of commercial fish species in South Africa. *Gene*, 491 (1): 40–48.
- Crane, J. (1975). *Fiddler crabs of the world, Ocypodidae: genus Uca*. New Jersey: Princeton University Press.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. and Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Grant, W.S. and Bowen, B.W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *The Journal of Heredity*, 89 (5): 415–426.
- Hartl, D.L. and Clark, A.G. (2006). *Principles of population genetics 3th ed.* USA: Sinauer Associates.
- Jones, D. S. and Morton, B. (1994). The fiddler crabs (Ocypodidae: *Uca*) of Hong Kong. *Asian Marine Biology*, 11: 9–40.
- Maddison, W.P., and Maddison, D.R. (2023). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.81. Accessed at <https://www.mesquiteproject.org/>
- Michie, L.A., Barnes, R.S.K, Clark, P.F., Bennett, W.A. and Cragg, S.M. (2021).

- Distinguishing ten sympatric species of fiddler crab (Decapoda: Ocypodidae) using a suite of phenotypic characteristics. *Zootaxa*, 5026 (4): 480–506. doi: 10.11646/zootaxa.5026.4.2
- Nur, B.A. and Kuntjoro, S. (2020). Keanekaragaman dan kelimpahan kepiting biola (Crustacea: Ocypodidae) di Pantai Selatan Kabupaten Bangkalan, Madura. *LenteraBio*, 9 (3): 176–184.
- Palumbi, S.R. (1996). *Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. in: Molecular systematics*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28 (19): 2537–2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Rambaut, A. (2019). ‘FigTree v 1.4.4.’, in *Molecular Evolution, Phylogenetics and Epidemiology*. Accessed at <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rozas, J, Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E. and Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34 (12): 3299–3302. doi: 10.1093/molbev/msx248
- Shih, H.T. and Chan, B.K.K. (2022). Systematics and biogeography of fiddler crabs. *Zoological Studies*, 61(64): 2-5. doi:10.6620/ZS.2022.61-64.
- Shih HT, Ng PKL, Davie PJF, Schubart CD, Türkay M, Naderloo R, Jones DS, Liu MY. (2016). Systematics of the family Ocypodidae Rafinesque, 1815 (Crustacea: Brachyura), based on phylogenetic relationships, with a reorganization of subfamily rankings and a review of the taxonomic status of *Uca* Leach, 1814, sensu lato and its subgenera. *Raffles Bulletin of Zoology* 64:139–175
- Suchard, M.A., Lemey, P., Baele, G., Ayres, D.L., Drummond, A.J. and Rambaut, A. (2018). Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*, 4 (1): 1–5. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>
- Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology Evolution*, 38 (7): 3022–3027.
- Yang, L., Tan, Z., Wang, D., Xue, X., Guan, M., T., H. and Li, R. (2014). Species identification through mitochondrial rRNA genetic analysis. *Scientific Reports*, 4089 (4): 1–11. DOI: 10.1038/srep04089
- Zemlak, T.S., Ward, R.D., Connell, A.D., Holmes, B.H. and Hebert, P.D.N. (2009). DNA barcoding reveals overlooked marine fishes. *Molecular Ecology Resources*, 9: 237–242. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02649.x>