

## Kajian Keragaman Genetik *Catfish* Asli Indonesia Berdasar Sekuen Nukleotida Gen ND1

### *Study of Genetic Diversity of Native Indonesian Catfish Based on Nucleotide Sequences of the ND1 Gene*

Rini Widayanti<sup>1\*</sup>, Siti Qiorotun Naimah<sup>2</sup>, Rahma Prihutami<sup>3</sup>, Trini Susmiati<sup>4</sup>

<sup>1,4</sup>Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

<sup>2,3</sup> Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

Jl. Fauna, Nomor 2, Karangmalang, Yogyakarta 55281, Indonesia

\*Email: [rini\\_widayanti@ugm.ac.id](mailto:rini_widayanti@ugm.ac.id)

Diterima: 31 Desember 2020, direvisi: 4 Oktober 2022, disetujui: 24 Oktober 2022

#### Abstract

One of the native catfish to Indonesia is the baung fish (*Hemibagrus*). Baung fish are found in rivers in Sumatra, Kalimantan and Java. The catfish population is declining, thus conservation is needed to prevent extinction. To conduct an effective conservation efforts, molecular studies are needed to confirm the fish species from the three islands. Mitochondrial DNA is one of the markers that is often used to see the lineage and kinship of animals for conservation purposes. The purpose of this study is to determine the genetic diversity of the NADH Dehydrogenase Subunit I (ND1) gene catfish from each of these locations, can be used as a genetic marker. Samples were obtained from their natural habitat, namely Magelang (5), Palembang (3), Riau (2), Samarinda (2), 2 from Sintang, and 3 from Banjarmasin. The DNA of the fish sample was then isolated and then used as a template for amplification of DNA fragments using PCR techniques. Amplikon (PCR product) was then purified by gel extraction and then sequenced to determine the DNA sequence. The potential of DNA sequences as catfish genetic markers was proven by analyzing genetic diversity between species using the MEGA version 7.0 program (Kumar et al., 2016). The sequencing results 972 nucleotides composing the ND gene, and found differences in 268 nucleotide sites and 47 amino acid sites. Based on the nucleotide sequence of the ND1 gene, catfish from the Progo river (Magelang, Central Java), the Musi river (Palembang, Sumatra), the Kampar river (Riau), the Kapuas river (Sintang, Kalimantan), the Martapura river (Banjarmasin), the Mahakam river (Kalimantan) is included in the *Hemibagrus* sp.; catfish from the Elo river (Magelang, Central Java) belongs to the genus *Mystus* sp.; catfish from the Bengawan Solo river (Bojonegoro, East Java) belongs to the *Pangasius* sp.

**Key words:** biodiversity; catfish; Indonesia; ND1; sequencing

#### Abstrak

Salah satu *catfish* yang merupakan ikan asli Indonesia adalah ikan baung (*Hemibagrus*). Ikan baung banyak terdapat di sungai di daerah Sumatra, Kalimantan, dan Jawa. *Catfish* tersebut sudah semakin sedikit populasinya sehingga diperlukan pelestarian untuk mencegah kepunahan. Agar upaya pelestarian berhasil guna maka diperlukan kajian molekuler untuk peneguhan dari spesies ikan dari ke tiga pulau tersebut. DNA mitokondria merupakan salah satu marker yang sering digunakan untuk melihat silsilah dan kekerabatan dari satwa-satwa untuk tujuan konservasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya keragaman genetik Gen NADH Dehydrogenase Subunit I (ND1) mitokondria *catfish* dari masing-masing lokasi tersebut dan diharapkan dapat dijadikan sebagai penanda genetik. Sampel diperoleh dari habitat aslinya, yaitu Magelang (5ekor), Palembang (3 ekor), Riau (2 ekor), Samarinda (2 ekor), 2 ekor dari Sintang, dan 3 ekor dari Banjarmasin. Sampel kemudian diisolasi DNANYa untuk selanjutnya digunakan sebagai cetakan untuk

amplifikasi fragmen DNA dengan teknik PCR. Amplikon (produk PCR) kemudian dimurnikan dengan ekstraksi gel dan selanjutnya disekuensing untuk menentukan sekuen DNANYa. Potensi sekuen DNA sebagai penanda genetik *catfish* dibuktikan dengan menganalisis keragaman genetik antar spesies menggunakan program MEGA versi 7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Hasil sekuensing diperoleh 972 nukleotida penyusun gen ND, terdapat 268 situs nukleotida yang dan 47 situs asam amino yang berbeda. Berdasar sekuen nukleotida gen ND1, *catfish* asal sungai Progo (Magelang, Jawa Tengah), sungai Musi (Palembang, Sumatra), sungai Kampar (Riau), sungai Kapuas (Sintang, Kalimantan Barat), sungai Martapura (Banjarmasin), sungai Mahakam (Samarinda, Kalimantan Timur) adalah termasuk ke dalam *Hemibagrus nemurus*; *catfish* asal sungai Elo (Magelang, Jawa Tengah) termasuk ke dalam genus *Mystus sp.*; *catfish* asal sungai Bengawa Solo (Bojonegoro, Jawa Timur) termasuk ke dalam kelompok *Pangasius sp.*

**Kata kunci:** *catfish*; Indonesia; keragaman; ND1; sekuensing

## Pendahuluan

Salah satu *catfish* yang merupakan ikan asli Indonesia adalah ikan baung (*Hemibagrus*). Ikan baung banyak terdapat di sungai di daerah Sumatra, Kalimantan, dan Jawa. Saat ini, jumlah ikan baung sudah semakin berkurang karena beberapa alasan, misalnya banyak diburu masyarakat karena memiliki citarasa yang enak, adanya ikan invasif maupun ikan invasif asing, berkurangnya ketersediaan pakan, atau adanya polusi pencemaran pada aliran sungai. Pelestarian *catfish* asli Indonesia ini sangat diperlukan untuk mencegah kepunahan. Agar upaya pelestarian berhasil guna maka diperlukan kajian molekuler dari ikan tersebut untuk peneguhan spesies ikan dari ke tiga pulau tersebut. DNA mitokondria merupakan salah satu marker yang sering digunakan untuk melihat silsilah dan kekerabatan hingga tingkat spesies dan bahkan dapat untuk menentukan keragaman genetik antar individu dalam suatu populasi. Hal ini karena DNA mitokondria (mtDNA) memiliki kemampuan mutasi yang lebih cepat dari DNA inti, hanya dapat diwariskan dari induk (*maternally inherited*), berukuran kecil (hanya sekitar 16.000 pasang basa), jumlahnya copy dalam sel banyak, dan tidak mengalami

rekombinasi (Kolesnikov and Gerasimov, 2012). Salah satu gen mtDNA yang dapat digunakan untuk melihat adanya keragaman genetik adalah gen *NADH dehydrogenase* subunit I (ND1). Menurut Kankilic *et al.* (2018) dengan menggunakan sekuen nukleotida gen ND1 dapat untuk identifikasi spesies *Dryomys nitedula* and *Dryomys laniger*. Penelitian Fukuyama *et al.* (2019) dengan melihat bentuk morfologi kadal scincid *Larutia Böhme* dan sekuen nukleotida gen ND1 dapat mendeteksi adanya spesies baru. Penelitian menggunakan gen ND1 pada *catfish* asli Indonesia belum pernah dilakukan, sehingga pada penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya keragaman genetik gen ND1 pada *catfish* asli Indonesia dari beberapa daerah di Jawa, Sumatra, dan Kalimantan. Harapannya dengan diketahuinya secara pasti spesies *catfish* tersebut dapat membantu pelestarian plasma nutfah, serta keberhasilan budidaya *catfish* untuk pemenuhan protein hewani.

## Materi dan Metode

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium, dengan tahapan sebagai berikut: Ekstraksi dan pemurnian DNA, amplifikasi gen ND1, sekuensing, dan analisis data.

**Tabel 1.** Daftar sampel *catfish*, asal sungai dan daerah asal

No.	Sungai	Daerah asal	Jumlah sampel
1	Progo	Magelang, Jawa Tengah	3
2	Elo	Magelang, Jawa Tengah	2
3	Bengawan Solo	Bojonegoro, Jawa Timur	3
4	Musi	Palembang, Sumatra Selatan	3
5	Kampar	Riau	2
6	Mahakam	Samarinda, Kalimantan Timur	2
7	Kapuas	Sintang, Kalimantan Barat	2
8	Martapura	Banjarmasin, Kalimantan Selatan	3

**Koleksi sampel.** Sampel jaringan *catfish* telah diambil sebanyak 20 dari habitat aslinya. Daftar sampel *catfish*, asal sungai dan daerah asal pengambilan sampel *catfish* disajikan pada Tabel 1. Pada penelitian ini hanya diambil 2 atau 3 sampel dari masing-masing sungai diharapkan sudah dapat mewakili karena sudah semakin langka di habitatnya dan belum ada ikan yang dibudidayakan.

**Isolasi DNA Total.** DNA total diekstraksi dari biopsi jaringan (30 mg). Isolasi dan purifikasi DNA menggunakan DNA Isolation Kit (Genaid). DNA hasil isolasi dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1% dengan menggunakan buffer 1xTBE dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hofer, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ( $\lambda = 260\text{nm}$ ) setelah gel diwarnai dengan DNA staining (Genaid). DNA hasil isolasi kemudian disimpan pada suhu  $-20^\circ\text{C}$  sebelum dipergunakan untuk tahap berikutnya.

**Desain Primer.** Primer didisain menggunakan Program primer 3 output ([http://www-genome.wi.mit.edu/cgi.bin/primer3.cgi/results\\_from-primer3](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi.bin/primer3.cgi/results_from-primer3)) berdasar data sekuen genom mitokondria *Hemibagrus nemurus* (Nomor akses KJ573466.1) dan *Mystus vittatus* (KX177968.1). Urutan basa primer untuk amplifikasi gen ND1 dari sampel *catfish* disajikan pada Tabel 2.

**Amplifikasi gen ND1 dengan PCR.** DNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Amplifikasi DNA dengan PCR pada penelitian ini menggunakan mesin PCR (Infinigen). Amplifikasi gen ND1 masing-masing menggunakan sepasang primer yang telah didisain sendiri berdasar sekuen genom mitokondria mitokondria *Hemibagrus nemurus* (Nomor akses KJ573466.1) dan *Mystus vittatus* (KX177968.1) seperti terlihat pada Tabel 2. Amplifikasi DNA dilakukan dengan kondisi sebagai berikut: denaturasi awal selama 2 menit pada suhu  $94^\circ\text{C}$  selanjutnya diikuti dengan

$94^\circ\text{C}$  selama 30 detik untuk denaturasi,  $51^\circ\text{C}$  selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*),  $72^\circ\text{C}$  selama 1 menit 30 detik untuk pemanjangan (*elongation*); amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri 5 menit pada  $72^\circ\text{C}$ . Produk PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1% dengan menggunakan buffer 1xTBE dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hofer, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ( $\lambda = 260\text{nm}$ ) setelah gel diwarnai dengan DNA staining (Genaid). Penanda DNA dengan ukuran 1000 pb digunakan sebagai penunjuk berat molekul.

**Sekuensing DNA.** Produk PCR hasil amplifikasi dimurnikan dengan menggunakan *GFX Column purification kit*, selanjutnya dipergunakan sebagai DNA cetakan untuk reaksi sekuensing DNA. Masing-masing sampel dilakukan dua reaksi sekuensing yaitu menggunakan primer forward dan primer reverse. Sekuensing dilakukan pada semua produk PCR gen ND1. Hasil sekuensing yang bagus ditandai dengan grafik spektrofotogram yang *single peak*, tanpa adanya *noise*.

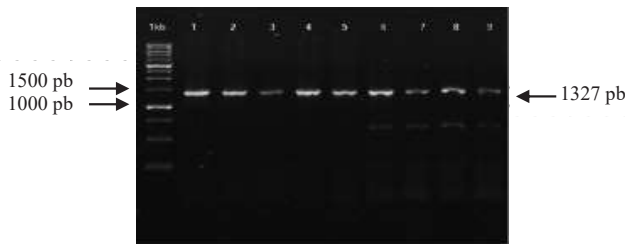
**Analisis Data.** Penjajaran berganda sekuen nukleotida gen ND1 dianalisis dengan bantuan perangkat lunak Clustal W (Thompson et al., 1994). Analisis hasil berdasarkan sekuen nukleotida gen ND1 dengan bantuan perangkat lunak MEGA versi 7.0. Jarak genetik dianalisis dengan metode Kimura dengan dua parameter (Kumar et al., 2006). Pohon filogenetik dianalisis berdasarkan sekuen nukleotida dengan metode *Neighbor joining* dengan nilai bootstrap 1000 x. *Catfish* yang digunakan sebagai pembandingan diambil dari data *Genbank* antara lain *Hemibagrus nemurus* (KJ573466.1), *Hemibagrus guttatus* (KJ458934.1), *Hemibagrus macropterus* (JF834542.1), *Hemibagrus* sp. (KM507291.1), *Hemibagrus spilopterus* (JQ343983.1), *Hemibagrus wyckioides* (KJ624624.1), *Mystus vittatus* (KX177968.1), *Mystus cavasius* (KU870465.1), *Mystus rhegma* (JQ343984.1), dan *Pelteobagrus eupogon* (JQ734476.1).

**Tabel 2.** Urutan basa primer untuk mengamplifikasi gen ND1

Nama primer	Target gen	Urutan basa	Tm ( $^\circ\text{C}$ )	Panjang produk
BaungND1F	ND1	5' TGATCTGAGTTCAGACCGGAG 3'	56,96	1327 pb
BaungND1R		5' CTCCAGAATATGGGTTTCGAGTC 3'	56,98	

**Hasil dan Pembahasan**

Sepasang primer pada penelitian ini didesain untuk mengamplifikasi gen *NADH Dehydrogenase Subunit 1* (ND1). Amplikon yang diperoleh dengan menggunakan primer BaungND1F dan BaungND1R adalah 1327 pasang basa (pb). Amplikon selanjutnya dimigrasikan pada elektroforesis gel agarose 1% yang telah diwarnai dengan DNA staining (Genaid) (Gambar 1).



Gambar 1. Amplikon gen ND1 beberapa sampel *catfish* menggunakan primer Baung ND1F dan BaungND1R pada gel agarose 1%.  
Keterangan: 1-9 produk PCR dengan ukuran 1327 pb; 1kb adalah DNA Ladder ukuran 1kilo basepair

Berdasarkan sekuen genom DNA mitokondria *Hemibagrus nemurus* (NC\_044863.1) fragmen DNA pada penelitian ini adalah 1327 pb, yang terletak pada urutan basa ke-2595 sampai

dengan ke-3921 (Wu et al., 2016). Amplikon pada penelitian ini setelah diplotkan dengan sekuen *Hemibagrus nemurus* (NC\_044863.1) terdiri dari 174 pb fragmen gen 16SrRNA, 75 pb gen tRNA-Leu, 972 pb gen ND1, 1 pb intron, 72 pb gen tRNA-Ile, dan 34 pb fragmen gen tRNA-Gln (komplemen).

Analisis keragaman nukleotida dan asam amino dilakukan setelah dilakukan editing dan *multiple alignment* dengan data *catfish* yang diambil dari genbank. *Multiple alignment* menggunakan Clustal W yang ada di dalam MEGA versi 7.0 (Kumar et al., 2016). Hasil sekuensing sepanjang 1327 nukleotida (nt), selanjutnya dipilih 972nt yang merupakan sekuen nukleotida gen ND1 yang akan menyandi 324 asam amino. Hasil *multiple alignment* gen ND1 terlihat adanya mutasi dalam bentuk substitusi transisi dan transversi serta adanya mutasi dalam bentuk insersi dan delesi. Adanya delesi tiga nukleotida pada kelompok sampel *catfish* dari Magelang (Sungai Progo), Sumatra, dan Kalimantan apabila dibandingkan dengan sampel dari Sungai Elo (Magelang) dan sampel dari Bengawan Solo (Bojonegoro) mengakibatkan perbedaan satu asam amino penyusun protein ND1, yaitu

Situs ke-	1 1 1 1 1 1 1 1 1																								
	2 3 6 7 8 9 1 4 9 5 9 2 6 0 3 7 1 2 3 4 6 9 1 9 1																								
Kampar 1	M	S	I	I	Y	V	S	T	V	I	A	V	T	L	A	F	L	I	S	I	V	V	V	Q	F
Kampar 2	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Musi 1	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Musi 2	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Musi 3	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kapuas 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kapuas 2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Mahakam1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	I	.
Mahakam2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	I	.
Martapura 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Martapura 2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	I	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Martapura 3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	I	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Progo 1	.	.	.	.	.	.	N	A	.	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Progo 2	.	.	.	.	.	.	N	A	.	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Progo 3	.	.	.	.	.	.	N	A	.	.	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Elo 1	.	Y	.	T	.	L	N	A	I	V	.	I	A	.	.	L	M	T	.	.	I	I	.	K	L
Elo 2	.	Y	.	T	.	L	N	A	I	V	.	I	.	.	.	L	M	T	.	.	I	I	.	K	L
B. Solo 3	I	T	V	T	H	.	N	A	I	V	.	M	.	M	.	I	V	T	A	L	I	I	.	.	.
B. Solo 1	I	T	V	T	H	.	N	A	I	V	.	M	.	M	.	I	V	T	A	L	I	I	.	.	.
B. Solo 2	I	T	V	T	H	.	N	A	I	V	.	M	.	M	.	I	V	T	A	L	I	I	.	.	.

Gambar 2. Situs asam amino beragam ke-2 sd. 171 sampel *catfish*

menjadi 323 asam amino. Delesi nukleotida berada di urutan nukleotida ke 763, 764 dan 765, sedangkan asam amino yang mengalami delesi ada di urutan asam amino ke-255. Hal ini berbeda dengan penelitian Widayanti et al. (2019) tentang keragaman genetik catfish asli Indonesia menggunakan gen COIII dan Megarani

et al. (2020) menggunakan gen Cytochrome B, disebutkan bahwa pada gen-gen tersebut hanya terjadi mutasi substitusi transisi dan transversi saja tanpa adanya delesi dan insersi.

Hasil analisis nukleotida antar sampel *catfish* pada penelitian ini terdapat 268 situs nukleotida yang berbeda dan terdapat 47 situs

Situs ke-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
	7	7	7	7	8	8	8	2	2	4	5	5	5	5	5	5	6	6	9	0	0	1	1	1	
	2	3	7	8	2	4	9	7	9	5	2	3	4	5	6	7	1	5	5	2	7	1	7	8	
Kampar 1	N	M	T	M	I	A	T	A	F	T	A	H	N	-	M	F	V	I	V	L	I	V	F	A	
Kampar 2	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Musi 1	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	M	.	.	.	.	.	
Musi 2	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Musi 3	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Kapuas 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Kapuas 2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Mahakam 1	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	I	.	.	
Mahakam 2	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	I	.	.	
Martapura 1	.	T	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	M	.	.	.	.	.	
Martapura 2	.	T	.	.	.	.	.	.	L	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Martapura 3	.	T	.	.	.	.	.	.	L	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Progo 1	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Progo 2	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Progo 3	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Elo 1	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T	
Elo 2	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T	
B. Solo 3	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M	
B. Solo 1	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M	
B. Solo 2	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M	

Gambar 2. Situs asam amino beragam ke-2 sd. 171 sampel catfish

Situs ke-	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
	7	7	7	7	8	8	8	2	2	4	5	5	5	5	5	5	6	6	9	0	0	1	1	1	
	2	3	7	8	2	4	9	7	9	5	2	3	4	5	6	7	1	5	5	2	7	1	7	8	
Kampar 1	N	M	T	M	I	A	T	A	F	T	A	H	N	-	M	F	V	I	V	L	I	V	F	A	
Kampar 2	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Musi 1	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	M	.	.	.	.	.	
Musi 2	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Musi 3	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Kapuas 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Kapuas 2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
Mahakam 1	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	I	.	.	
Mahakam 2	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	I	.	.	
Martapura 1	.	T	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	M	.	.	.	.	.	
Martapura 2	.	T	.	.	.	.	.	.	L	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Martapura 3	.	T	.	.	.	.	.	.	L	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Progo 1	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Progo 2	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Progo 3	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	I	.	.	.	.	.	.	.	
Elo 1	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T	
Elo 2	S	.	A	V	L	.	A	.	.	A	T	Y	.	T	.	.	A	T	.	.	.	I	L	T	
B. Solo 3	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M	
B. Solo 1	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M	
B. Solo 2	.	.	.	I	F	.	A	.	.	.	T	Y	T	P	T	T	A	.	.	M	L	A	.	M	

Gambar 3. Situs asam amino beragam ke-172 sd. 318 sampel catfish

**Tabel 4.** Matriks perbedaan nukleotida (972 nt) dan asam amino (324 aa) ND1 dari sampel *catfish* penelitian dengan pembandingan *catfish* dari Genbank

No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	Kampar_1		4	5	4	5	0	0	7	5	5	5	29	28	28	31	31	38
2	Kampar_2	42		1	0	1	4	4	5	3	1	3	28	27	27	31	31	36
3	Musi_1	45	3		1	2	5	5	6	2	2	4	29	28	28	32	32	37
4	Musi_2	42	0	3		1	4	4	5	3	1	3	28	27	27	31	31	36
5	Musi_3	44	2	3	2		5	5	6	4	2	4	29	28	28	31	31	36
6	Kapuas_1	1	41	44	41	43		0	7	5	5	5	29	28	28	31	31	38
7	Kapuas_2	2	40	43	40	42	1		7	5	5	5	29	28	28	31	31	38
8	Mahakam_1_2	47	21	24	21	23	46	45		6	6	8	31	30	28	35	35	40
9	Martapura_1	44	8	9	8	10	43	42	23		4	6	31	30	30	34	34	39
10	Progo_1_2_3	46	6	9	6	8	45	44	23	12		4	27	26	26	30	30	35
11	H_nemurus*	47	26	29	26	28	46	47	37	30	30		28	27	25	32	32	37
12	Elo_1	171	162	165	162	164	170	169	171	165	161	161		1	16	29	29	31
13	Elo_2	170	161	164	161	163	169	168	170	164	160	160	1		15	28	28	30
14	M_cavasius*	171	176	179	176	178	172	171	177	179	176	175	131	130		31	31	31
15	B_Solo_1	181	179	181	179	181	182	181	192	183	179	185	157	156	171		0	10
16	B_Solo_2_3	180	178	180	178	180	181	180	191	182	178	184	157	156	171	1		10
17	P_pangasius*	203	191	191	191	191	202	201	196	195	191	193	164	163	179	101	102	

\*=*H\_nemurus*\_KJ573466.1; *M\_cavasius*\_KU870465.1; *P\_pangasius*\_KC572135.1

Kolom kiri bawah: matriks perbedaan nukleotida

Kolom kanan atas: matriks perbedaan asam amino

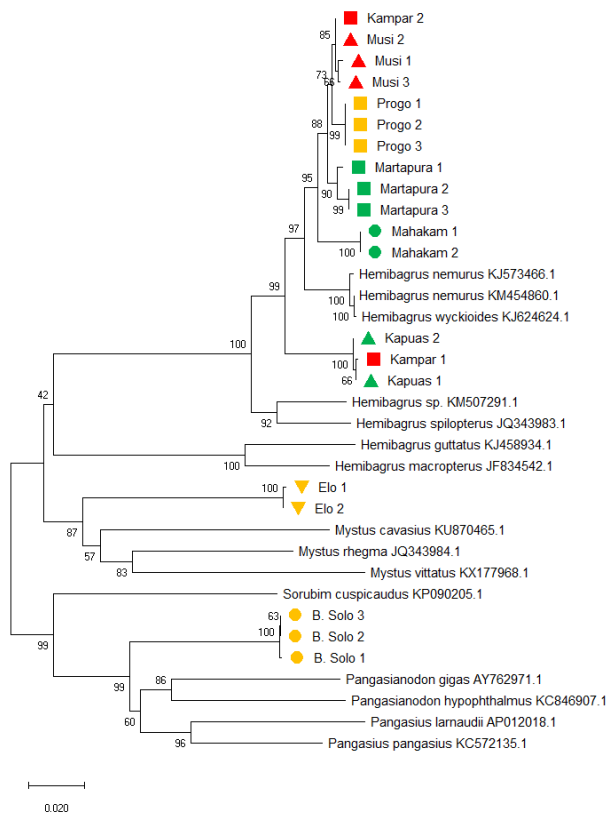
asam amino yang berbeda. Situs asam amino yang berbeda antar sampel *catfish* disajikan pada Gambar 2 dan 3. Tanda titik (.) pada Gambar 2 dan 3 menunjukkan sekuen asam amino yang sama (identik) dengan asam amino *catfish* Kampar 1.

Matriks perbedaan nukleotida dan asam amino ND1 dari sampel *catfish* pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4. Sebagai pembandingan digunakan sekuen nukleotida dari Genbank yang mempunyai homologi paling besar dengan sampel *catfish* penelitian ini setelah dilakukan *alignment* dengan program BLAST pada situs NCBI. Sekuen nukleotida tersebut adalah *Hemibagrus nemurus* (KJ573466.1), *Mystus cavasius* (KU870465.1), dan *Pangasius pangasius* (KC572135.1).

Pada Tabel 4. Menunjukkan bahwa *catfish* dari sungai Kampar, Musi, Kapuas, Mahakam, Martapura, dan Progo memiliki perbedaan nukleotida dan asam amino paling sedikit apabila dibandingkan dengan *Hemibagrus nemurus* (KJ573466.1), yaitu 26-47 nukleotida dan 3-8 asam amino. Bila dibandingkan dengan *Mystus cavasius* (KU870465.1) *catfish* dari sungai Elo memiliki perbedaan yang paling sedikit, yaitu

130-131 nukleotida dan 15-16 asam amino, sedangkan bila dibandingkan dengan *Pangasius pangasius* (KC572135.1) *catfish* dari sungai Bengawan Solo memiliki perbedaan nukleotida dan asam amino paling sedikit yaitu berturut-turut 101-102 nukleotida dan 10 asam amino. Hasil analisis ini sesuai dengan hasil penelitian Megarani et al. (2019) yang menyebutkan bahwa dengan menggunakan sekuen nukleotida gen Cyt B *catfish* asal sungai Kampar, Musi, Kapuas, Mahakam, Martapura, dan Progo memiliki kekerabatan paling dekat dengan *Hemibagrus, catfish* asal sungai Elo berkerabat dekat dengan *Mystus* dan *catfish* asal Bengawan Solo berkerabat dekat dengan *Pangasius*.

Keragaman nukleotida dan asam amino di antara sampel *catfish* pada penelitian ini dan terhadap data dari Genbank selanjutnya dibuat suatu filogram untuk menggambarkan pohon filogenetik (*phylogenetic tree*) atau kekerabatannya. Pohon filogenetik dibuat menggunakan metoda *Neighbour joining, bootstrap* 1000 kali pada software MEGA versi 7.0. (Kumar et al., 2016). Pohon filogenetik berdasar sekuen nukleotida gen ND1 *catfish* hasil penelitian dengan pembandingan beberapa



Gambar 4. Pohon filogenetik berdasar sekuen nukleotida gen ND1(972 nt) *catfish* hasil penelitian dengan pembandingan beberapa *catfish* dari Genbank

*catfish* dari Genbank disajikan pada Gambar 4.

Pohon filogenetik (Gambar 4) terlihat bahwa *catfish* asal sungai Kampar (Riau), sungai Musi (Palembang), sungai Progo (Magelang), sungai Martapura (Banjarmasin), sungai Kapuas (Sintang) berada dalam subcabang yang sama dengan *Hemibagrus*, menunjukkan bahwa *catfish* dari sungai-sungai tersebut digolongkan dalam genus *Hemibagrus*, dengan nilai *bootstrap* 100%. Hal ini didukung dengan perbedaan nukleotida yang hanya 26-47 nukleotida dan 3-8 asam amino. Hal serupa sama dengan penelitian Ng dan Dodson (1999) dengan melihat morfologi *catfish* dan deskripsi sekuen nukleotida gen Cyt B bahwa *catfish* yang berasal dari sungai Musi dan Kapuas adalah tergolong genus *Hemibagrus* (Gambar 5).

*Catfish* asal sungai Elo (Magelang) terlihat pada cabang yang sama dengan *Mystus* sp., dengan nilai *bootstrap* 87%, dan didukung dengan perbedaan nukleotida dan asam aminonya yaitu berturut-turut 130-131 nukleotida dan 15-16 asam amino. *Mystus* pada penelitian kemungkinan sekali berbeda dengan spesies *Mystus* yang ada di Genbank apabila melihat perbedaan

jumlah nukleotida dan asam amino yang besar, tidak seperti sampel yang termasuk dalam kelompok *Hemibagrus* yang perbedaan nukleotida dan asam aminonya sangat kecil. Hasil ini sesuai dengan yang dinyatakan Darshan et al. (2019) yaitu ditemukannya spesies *Mystus* prabini yang baru di India dengan jarak genetik 8,6-22,1% menggunakan gen COI. Ng (2002) juga telah melakukan penelitian tentang *Mystus nigriceps* di Asia Tenggara yang menyebutkan bahwa *Mystus* sp. juga ditemukan di Jawa dan Sumatra dengan ciri utama adanya sirip lemak yang panjang seperti sampel *catfish* yang berasal dari sungai Elo, Magelang, Jawa Tengah (Gambar 5). Vijayakrishnan dan Praveenraj (2022) berdasarkan morfologi telah menemukan spesies *Mystus* baru yaitu *Mystus irulu* di Western Ghats of Karnataka, India. Selanjutnya Esmaili et al. (2022) berdasar morfologi dan molekuler menemukan spesies baru *Mystus cyrusi* di Timur Tengah. Demikian juga untuk *catfish* asal sungai Bengawan Solo (Bojonegoro) dikelompokkan dalam genus *Pangasius* karena perbedaan nukleotida dan asam amino berturut-turut 101-102 nukleotida dan 10 asam amino, dan didukung dengan nilai *bootstrap* 99%. Berdasar morfologi, menurut Dwivedi et al. (2017) bahwa *catfish* asal sungai Bengawan Solo masuk dalam kelompok *Pangasius* sp.

### Kesimpulan

Berdasar sekuen nukleotida dan asam amino ND1:

1. *Catfish* asal sungai Progo (Magelang, Jawa Tengah), sungai Musi (Palembang, Sumatra), sungai Kampar (Riau), sungai Kapuas (Sintang, Kalimantan), sungai Martapura (Banjarmasin), sungai Mahakam (Kalimantan) adalah termasuk ke dalam *Hemibagrus* sp.
2. *Catfish* asal sungai Elo (Magelang, Jawa Tengah) termasuk ke dalam genus *Mystus* sp.
3. *Catfish* asal sungai Bengawa Solo (Bojonegoro, Jawa Timur) termasuk ke dalam kelompok *Pangasius* sp.
4. Gen ND1 dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk tujuan konservasi dalam usaha membantu pelestarian plasma nutfah, serta keberhasilan budidaya *catfish* untuk pemenuhan protein hewani.

### Ucapan Terima Kasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada Fakultas Kedokteran Hewan UGM yang telah memberikan dana penelitian melalui Skema Penelitian Pengembangan Departemen Tahun 2020 dengan Perjanjian Pelaksanaan Kegiatan Nomor : 1352/UN1/FKH/HK4/2020 Tanggal 20 Mei 2020.

### Daftar Pustaka

- Darshan, A., Abujam, S., Kumar, R., Parhi, J., Singh, Y.S., Vismanath, W., Das, D.N., Pandey, P.K. (2019). *Mystus prabini*, a new species of catfish (Siluriformes: Bagridae) from Arunachal Pradesh, north-eastern, India. *Zootaxa*. 4648(3). [Abstract].
- Dwivedi, A.K., Gupta, B.K., Singh, R.K., Mohindra, V., Chandra, S., Easawarn, S., Jena, J. and Lal, K.K. (2017). Cryptic Diversity in the Indian Clade of the Catfish Family Pangasiidae Resolved by the Description of A New Species. *Hydrobiologia*.797: 357-370.
- Esmaeili, H.R., Sayyadzadeh, G., Zarei, F., Eagderi, S., Mousavi-Sabet, H. (2022). *Mystus cyrusi*, a new species of bagrid catfish (Teleostei: Bagridae) from Middle East. *Zootaxa*. 5099(3):325-343.
- Fukuyama, I., Hikida, T., Hossman, M.Y., Nishikawa, K. (2019). A new species of the genus *Larutia* (Squamata: Scincidae) from Gunung Penrissen, Sarawak, Borneo. *Zootaxa*. 4661(3).[Abstract].
- Kankılıç, T., Seker, P.S., Erdik, A.C., Kankılıç, T., Selvi, E., Yigit, N., Çolak, E. (2018). Determination of genetic variations in the genus *Dryomys* Thomas, 1906 (Rodentia: Gliridae) distributed in Turkey using NADH dehydrogenase 1 (ND1) gene. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*. 29(6):933-942.
- Kolesnikov, A.A. and Gerasimov, E.S. (2012). Diversity of mitochondrial genome organization. *Biochemistry. Biokhimiia*.77(13): 1424–35.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33(7):1870-1874.
- Megarani, D.V., Nugroho, H.A., Andarini, Z.P., Surbakti, Y.D.R.B.R. and Widayanti, R. (2020). Genetic characterization and phylogenetic study of Indonesian indigenous catfish based on mitochondrial cytochrome B gene. *Veterinary World*. 13(1): 96-103.
- Ng, H.H. (2002). The identity of *Mystus nigriceps* (Valenciennes in Cuvier & Valenciennes, 1840), with the description of a new bagrid catfish (TELEOSTEI: SILURIFORMES) from Southeast Asia. *The Raffles Bulletin of Zoology*. 50: 161-168.
- Ng, H.H. and Dodson, J.J. (1999). Morphological and genetic descriptions of a new species of catfish, *Hemibagrus chrysops*, from Sarawak, East Malaysia, with an assessment of phylogenetic relationships (Teleostei: Bagridae). *The Raffles Bulletin of Zoology*. 47(1): 45–57.
- Vijayakrishnan, B. dan Praveenraj, J. (2022). *Mystus irulu*, a new species of bagrid catfish from the Western Ghats of Karnataka, India (Teleostei: Bagridae). *Zootaxa*. 5120(3):443-448.
- Widayanti, R., Haryanto, A., Artama, W.T. and Pakpahan, S. (2019). Genetic variation and phylogenetic analysis of Indonesian indigenous catfish based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit III gene. *Veterinary World*. 12(6): 896-900.
- Wu, Y.P., He, Q.S., Xie, J.L., Guo, X.F. and Li, H.Y. (2016). The complete mitochondrial genome sequence of *Hemibagrus nemurus* (Siluriformes: Bagridae). *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*. 27(3): 1829-1830.