

# Identifikasi Molekuler Ikan Gurame (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) Berdasarkan Marka Gen COI

Nurlisa Alias Butet\*, Rahmat Kurnia, Agus Alim Hakim

Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

\*Email: n.butet@gmail.com

## ABSTRAK

Ikan gurame merupakan organisme air tawar dengan persebarannya yang luas, bahkan hampir ke seluruh penjuru Indonesia. Penelitian ini bertujuan guna mengidentifikasi spesies ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) serta menentukan spesies asli ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) berdasarkan marka molekuler gen COI. Hasil visualisasi elektroforesis menunjukkan hasil yang negatif atau tidak terdapat pita yang muncul. Jarak genetik antara ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dengan *Macropodus erythropterus* yang diperoleh adalah sebesar 0 atau susunan basa nukleotidanya identik. Struktur pohon filogenik antara ikan gurame (*O. gourami*), *T. trichopterus*, dan *A. testudineus* menunjukkan percabangan yang berdekatan (*in group*). Basa timin (T) dan sitosin (C) mendominasi komposisi keseluruhan basa nukleotida dengan nilai masing-masing 32,6 dan 26,9.

Kata kunci: COI, gen, gurame, molekuler

## PENDAHULUAN

Dunia mengenal Indonesia sebagai negara dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi atau dikenal dengan julukan megabiodiversitas. Melekatnya julukan tersebut, membawa Indonesia menempati posisi kedua setelah Brazil sebagai negara dengan tingkat keanekaragaman hayati tertinggi di dunia (Widjaja *et al.* 2014). Sejalan dengan hal tersebut, proporsi wilayah Indonesia yang sebagian besar didominasi oleh perairan, menjadikannya kaya akan sumber daya akuatik. Menurut Napitupulu *et al.* (2019), organisme-organisme perairan memiliki potensi yang besar untuk diteliti dan dimanfaatkan. Salah satunya, yakni ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) yang tergolong ke dalam komoditas ikan air tawar penting di Indonesia (Budiardi *et al.* 2011).

Ikan gurame merupakan organisme air tawar dengan persebarannya yang luas, bahkan hampir ke seluruh penjuru Indonesia. Berasal dari perairan yang berada di daerah Jawa Barat, ikan gurame menyebar hingga ke Thailand, Malaysia, dan Australia (Suharyanto *et al.* 2016). Dari segi ekonomi, gurame merupakan komoditas perikanan yang potensial, sebab banyak diminati konsumen karena rasanya yang enak serta kandungan gizinya yang tinggi (Martawijaya 2020). KKP (2020) menuturkan bahwa konsumsi gurame terus mengalami peningkatan, hal tersebut tercatat di tahun 2014 nilainya berada pada angka 0,68% yang kemudian meningkat menjadi 0,86% di tahun 2018. Namun, peningkatan tersebut berbanding terbalik dengan pertumbuhan ikan gurame yang tergolong lambat (Saparinto 2008 dalam Dastin *et al.* 2021).

Penyediaan benih ikan gurame yang memiliki laju pertumbuhan cepat, diperlukan dalam mengatasi permasalahan lambatnya pertumbuhan gurame secara alami (Suharyanto *et al.* 2016). Mengacu pada penelitian terdahulu, gen penyandi hormon pertumbuhan yang dimiliki oleh setiap individu dalam suatu populasi memiliki korelasi positif dengan variasi ukuran tubuh individu tersebut (Hua *et al.* 2009 dalam Azizah *et al.* 2015). Analisis terkait keberagaman

genetik ikan gurame perlu dikaji agar dapat memperoleh informasi benih unggul khususnya untuk program budidaya, sehingga gurame dapat tumbuh lebih cepat dengan pemeliharaan yang lebih efektif dan efisien (Sembiring *et al.* 2013). Guna mendukung hal tersebut, identifikasi secara molekuler terhadap gurame dapat dilakukan dengan menggunakan marka genetik berupa gen COI. Identifikasi secara molekuler dipilih sebab memiliki tingkat ketelitian yang tinggi jika dibandingkan dengan jenis identifikasi lainnya. COI sendiri merupakan gen yang diperuntukkan sebagai marka dalam melakukan identifikasi spesies (Azizah *et al.* 2015).

Sebagai komoditas perikanan yang potensial, laju pertumbuhan ikan gurame menjadi hal penting yang perlu diperhatikan. Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan, maka diperlukan adanya identifikasi molekuler ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) menggunakan marka gen COI. Kajian yang berkaitan dengan DNA, meliputi letak gen, modifikasi pemindahan gen, serta hal lainnya yang berkorelasi dengan DNA, RNA, maupun asam amino perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan guna mengidentifikasi spesies ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) serta menentukan spesies asli ikan gurame (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) berdasarkan marka molekuler gen COI.

## **METODE**

### **Waktu dan Tempat**

Praktikum ini dilakukan pada bulan Juni 2022 di Laboratorium Biologi Molekuler Akuatik, Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

### **Alat dan Bahan**

Sebelum memasuki laboratorium harus memakai SOP yaitu jas lab bersih, alas kaki yang menutupi kaki dan bersih, masker dan sarung tangan latex. Alat - alat yang digunakan untuk pengambilan sampel dan preparasi saat isolasi dan ekstraksi DNA yaitu incubator digunakan untuk menjaga suhu dan kelembaban sampel, vortex untuk menghomogenkan larutan atau sampel, GD Column untuk sentrifuge natan dan supernatant, *microcentrifuge* untuk memekatkan, mengendapkan dan memisahkan natan dan supernatan, mikropipet tip untuk mengambil sampel atau memindahkan sampel, gelas piala untuk mencampur, memanaskan dan mengaduk cairan. Alat – alat yang digunakan saat uji kualitas DNA yaitu mesin UV untuk melihat DNA yang ada di gel agarose, mikropipet untuk mengambil cairan atau larutan dengan jumlah yang sangat sedikit, mesin elektroforesis untuk memisahkan komponen bermuatan berdasarkan tempat migrasinya pada medan listrik, hot plate untuk memanaskan cairan atau larutan, magnetic stirrer untuk memanaskan dan menghomogenkan larutan secara mekanik dan magnetik, spatula untuk mengaduk atau mengambil bahan, cetakan gel untuk membuat sumur pada gel agarose yang dimana sumur tersebut sebagai tempat meletakkan sampel DNA, dan gelas ukur untuk mengukur volume cairan. Alat – alat yang digunakan saat amplifikasi DNA yaitu pipet berjumlah tiga buah yang berukuran 200 $\mu$ L, 100 $\mu$ L, 100 $\mu$ L).

Bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel dan preparasi saat isolasi dan ekstraksi DNA yaitu alkohol, sampel ikan gurame, GT buffer, prot-k untuk menghancurkan protein dan mengikat lipid, GBT buffer untuk membantu dalam proses menghancurkan jaringan, ETOH untuk pelarut, preheat EB untuk emulsi, W1 buffer dan W2 buffer. Bahan yang digunakan untuk uji kualitas DNA yaitu gel agarose untuk tempat sampel DNA yang akan di elektroforesis, larutan TAE untuk mempertahankan pH, loading dye untuk menambah densitas dan sampel DNA yang akan digunakan untuk analisis. Bahan yang digunakan untuk amplifikasi DNA yaitu TAQ merupakan enzim untuk menduplikasi rangkaian potongan DNA, H<sub>2</sub>O, primer COI untuk pembatas fragmen DNA target, dan sampel.

## **Prosedur Kerja**

### ***Isolasi dan Ekstraksi***

Sebelum melakukan isolasi dan ekstraksi DNA pertama - tama ambil sampel yang ingin dianalisis, sebelum di ambil sampelnya ukur bobot, panjang, lebar ikan, setelah di ukur ambil daging ikan yang berada bawah dekat sirip karena di situ terdapat otot gerak yang di mana di otot gerak mengandung DNA yang banyak, sampel daging ikan diambil menggunakan alat bedah yang sudah dicuci dengan alkohol, setelah sampel diambil masukkan ke tube yang berisi formalin.. Lalu selanjutnya langkah – langkah yang dilakukan pada isolasi dan ekstraksi DNA yaitu mula – mula sebelum melakukan isolasi DNA sampel di preparasi. Sampel di preparasi dengan aquades dengan cara sampel dimasukan ke tube dan aquades lalu di vortex langkah ini di ulang sampai 5 kali. Setelah preparasi sampel tahap isolasi DNA bisa dilakukan. Sambal sampel sebanyak 0,03gram lalu masukkan ke tube berukuran 1,5 mL dan tambahkan 200 mL Gt buffer. Homogenkan sampel dengan vortex setelah di vortex tambahkan 20 $\mu$ L prot K dengan mikropipet lalu kocok sampai 30 detik. Inkubasi sampel dengan suhu 60° dengan waktu 30 sampai 60 menit. Lalu invert 30 kali setiap 5 menit. Tambahkan GBT buffer sebanyak 300 $\mu$ L lalu kocok selama 5 detik. Inkubasi kembali dengan suhu 20°C sampai 20 menit. Lalu invert lagi 30 kali tiap 5 menit. tambahkan preheat EB sebanyak 200 $\mu$ L pada tiap sampel dengan suhu 60°C sebagai emulsi.

Kemudian tambahkan 200 $\mu$ L ETOH ke sampel dan kocok 10 sampai 30 detik setelah itu sampel disimpan ke dalam freezer selama 30 menit sampaisetengah hari (12 jam). Setelah itu ambil sampel dan transfer ke spin GD Column. Sentrifuse 14.000-16.000 gram sampai 2 menit lalu buang cairan yang ada dibawah. Tambahkan W1 buffer sebanyak 400 $\mu$ L dan di sentrifuse kembali 14.000-16.000 gram sampai 30 detik lalu buang cairan yang ada di bawah. Tambahkan W2 buffer sebanyak 600 $\mu$ L dan sentrifuse kembali 14.000-16.000 gram sampai 30 detik lalu buang cairan yang ada di bawah. Kemudian sentrifuse kembali sampai 3 menit dan sampel dipindahkan ke tube berukuran 1,5mL dari GD Column. Tambahkan Preheat EB sebanyak 50mL Lalu didiamkan dalam waktu 10 menit. Kemudian yang terakhir sentrifuse kembali 14.000-16.000 gram sampai 30 detik.

### ***Uji Kualitas DNA***

Sebelum melakukan uji kualitas DNA, diperlukan pembuatan gel agarose yang akan digunakan sebagai media pergerakan DNA. Sebanyak 1,2 gr gel agarose dimasukkan ke dalam gelas ukur. Gel dilarutkan menggunakan 100 mL TAE buffer dan diaduk menggunakan stire. Gelas ukur diletakkan di atas hotplate yang bertujuan untuk mendidihkan gel. Heat diatur menjadi 10 lalu atur kembali menjadi 0 setelah 10 menit. Gel dibiarkan hingga hangat kukuh serta limbah gel yang terdapat di permukaan diambil memakai spatula. Fluoresence 5  $\mu$ L ditambahkan ke dalam gelas ukur. Kemudian gel dituang ke dalam cetakan dan didiamkan hingga padat selama 45 menit.

Gel agarose yang telah memadat dipindahkan dari cetakan ke mesin elektroforesis. Sampel dan *loading dye* disiapkan di atas *dry ice*. Kemudian plastik alas ditaruh di dekat mesin elektroforesis. *Loading dye* sebanyak 0,5  $\mu$ L dan sampel 2,5  $\mu$ L dicampur di atas plastik alas tadi. Kedua campuran tersebut lalu dimasukkan ke dalam sumur-sumur gel agarose dengan mencatat urutan sampel. Mesin elektroforesis dinyalakan dan diatur pada voltase 100 V serta waktu *running* 25 menit. Tombol 'run' ditekan dan apabila telah selesai, sumber arus dimatikan. Gel agarose diangkat dan diletakkan di atas mesin UV. Mesin UV dinyalakan dengan selubung penutup terpasang.

### ***Amplifikasi dan Visualisasi***

Untuk amplifikasi dan visualisasi DNA menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Tahap pertama dalam melakukan PCR yaitu siapkan tiga pipet dengan ukuran

200L, 100L, 100L. Primer (PB atau 16sRNA) dan H<sub>2</sub>O disentrifuse 14.000 gram dengan waktu 5 detik. Primer diencerkan dengan H<sub>2</sub>O sebanyak 90µL dan primer sebanyak 10µL lalu di homogenkan dengan vortex dengan waktu 5 detik. Kemudian sentrifuse sampel 14.000 gram dengan waktu 5 detik. Lalu bahan di masukan ke dalam tube berukuran 1,5mL. Masukan sampel setelah bahan di masukkan agar tidak terjadi kontaminasi. Kemudian Swing atau sentrifuse sampel dengan waktu 5 detik. Setelah itu ambil dan lihat sampel pastikan tidak ada gelembung, jika ada gelembung sentrifusi kembali. Mesin PCR digunakan menggunakan suhu dan waktu dengan menyesuaikan. Jika primer COI, yaitu tahap predenaturasi menggunakan suhu 94°C dengan waktu 5 menit, denaturasi menggunakan suhu 94°C dengan waktu 45 detik, *annealing* menggunakan 54°C dengan waktu 1 menit, elongasi menggunakan suhu 72°C dengan waktu 1 menit, pasca elongasi menggunakan suhu 72°C dengan waktu 5 menit, dan terakhir tahap penyimpanan dengan suhu 15°C dengan waktu 10 menit. Primer 16sRNA juga hampir sama dengan COI yang berbeda *annealing* pada 16sRNA menggunakan suhu 46°C dengan waktu 45 detik dan penyimpanan menggunakan suhu 6°C dengan waktu 10 detik.

## **Analisis Data**

### ***Pensejajaran Sekuen Nukleotida Gen COI***

Analisis keanekaragaman nukleotida dapat dilakukan melalui pensejajaran sekuen nukleotida gen COI. Penggunaan analisis data dapat dilakukan dengan bantuan software Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA), dengan data basa nukleotida gen COI dari beberapa individu ikan sejenis diambil dari GenBank untuk disejajarkan susunan sekuen nukleotidanya. Format susunan basa nukleotida diubah menjadi *merged multiple lines* dengan bantuan *text file* sehingga menjadi satu baris susunan basa nukleotida. Beberapa susunan sekuen basa nukleotida disejajarkan melalui fitur *Alignment Clustal W*, dengan menghapus bagian yang kosong sehingga didapatkan susunan sekuen nukleotida sejajar. Sekuen basa nukleotida homolog yang telah disejajarkan tersebut dapat mengindikasikan kesamaan dan kesejajaran sekuen nukleotida antar individu (Martiningsia *et al.* 2017).

### ***Jarak Genetik***

Pensejajaran sekuen nukleotida yang telah dilakukan dapat dikonversi untuk menganalisa jarak genetik antar spesies terkait. Melalui software MEGA X pada menu *compute pairwise distances*, sekuen basa nukleotida homolog yang telah disejajarkan dapat menunjukkan jarak genetik antar spesies. Semakin kecil nilai jarak genetik yang dihasilkan, maka dapat dibuktikan kekerabatan antar spesies semakin dekat. Perhitungan jarak genetik menjadi suatu tolak ukur frekuensi *genotype* dan *haplotype* mtDNA, dalam membuktikan keanekaragaman genetic antar spesies (Wibowo 2012).

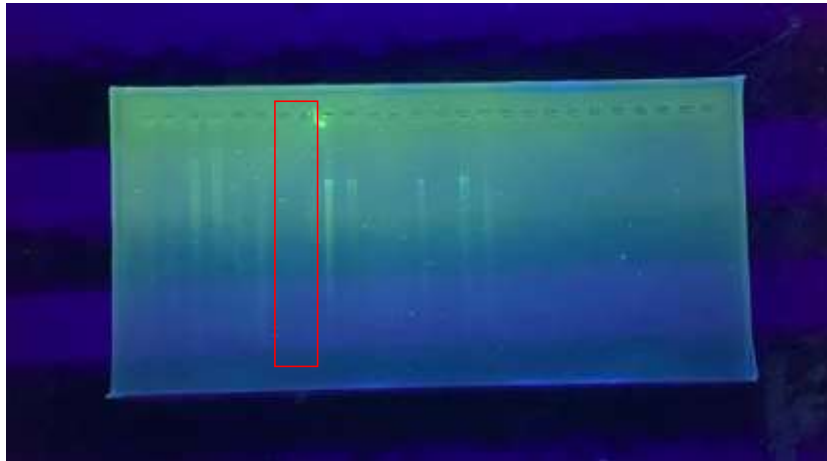
### ***Analisis Filogeni***

Susunan sekuen nukleotida homolog yang telah disejajarkan, menjadi dasar bagi analisis filogeni dari beberapa spesies terkait. Data basa nukleotida yang telah disejajarkan dianalisis menggunakan opsi Phylogenetic analysis pada software MEGA X melalui Construct/Text Neighbor joining tree, yang akan menghasilkan representasi hubungan kekerabatan melalui diagram pohon filogeni. Percabangan pohon filogeni mengindikasikan hubungan kekerabatan yang menjadi dasar evolusi dan variasi genetik suatu spesies (Hidayat dan Pancoro 2018 dalam Anafarida dan Badruzdaufari 2020). Garis percabangan pohon dapat menjadi dasar identifikasi kekerabatan antar spesies dari yang terdekat hingga terjauh (Monalisa *et al.* 2019).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Elektroforesis

Elektroforesis merupakan tahapan memisahkan komponen DNA yang didasarkan pada berat dan struktur molekul menggunakan suatu media seperti gel agarosa. Melalui teknik ini dapat diperoleh kehadiran plasmid, DNA serta produk PCR. Teknik ini juga berdasarkan prinsip migrasi/ pergerakan DNA menggunakan listrik menuju kutub positif dari kutub negatif (Parizad *et al.* 2016).



Gambar 3 Hasil uji elektroforesis ikan gurame (*Osphronemus goramy*)

Pada gambar ditunjukkan visualisasi hasil elektroforesis ikan gurame. Hasil negatif gel agarose menunjukkan bahwa tidak terdapat pita DNA yang muncul. Ketidakhadiran pita DNA dengan garis yang jelas menunjukkan adanya beberapa faktor yang mempengaruhi kemurnian DNA. Adanya kontaminan pada sampel DNA akan mempengaruhi hasil akhir pita DNA. Proses penghancuran sampel DNA yang kurang baik dan suhu yang tidak sesuai, akan mempengaruhi proses lisis yang tidak maksimal sehingga pita DNA tidak tersaji dengan baik (Setiati *et al.* 2019). Selain itu, hasil uji yang tidak maksimal dapat disebabkan oleh konsentrasi gel agarose yang digunakan. Gel agarose yang sedikit akan berpengaruh terhadap kecilnya matriks gel dan jauhnya fragmen DNA yang terbentuk (Fahlevi *et al.* 2017). Ukuran molekul pasangan basa serta volume DNA hasil amplifikasi juga berperan terhadap visualisasi pita. Ukuran molekul yang besar menyebabkan pergerakannya terhadap arus listrik semakin kecil, begitu pulasebaliknya (Tilawah 2019).

### Jarak Genetik

Berdasarkan analisis jarak genetik yang telah dilakukan, diketahui *Osphronemus goramy* memiliki nilai jarak genetik terkecil dengan spesies *Trichopodus trichopterus* senilai 0,174141035 dan terbesar dengan *Helostomatemminckii* senilai 1,6188730668. Jarak genetik antara spesies *Macropodus erythropterus* dan *Osphronemus septemfasciatus* diketahui memiliki nilai 0, atau dapat dikatakan kedua spesies memiliki susunan basa nukleotida yang identik. Sedangkan dari ketujuh spesies yang dianalisis, diketahui jarak genetik terbesar dimiliki oleh spesies *Anabas testudineus* dan *Helostoma temminckii* senilai 1,6898224899.

Tabel 1 Jarak genetik ikan gurame (*Osphronemus goramy*)

Spesies	1	2	3	4	5	6
<i>Osphronemus gorami</i>						
<i>Osphronemus exodon</i>	1,3243					
<i>Osphronemus septemfasciatus</i>	1,2304	0,2291				
<i>Macropodus erythropterus</i>	1,2304	0,2291	0,000			
<i>Trichopodus trichopterus</i>	0,1741	1,3910	1,2276	1,2276		
<i>Anabas testudineus</i>	0,2178	1,2914	1,2508	1,2508	0,2523	
<i>Helostomatemminckii</i>	1,6188	1,6427	1,5374	1,5374	1,6722	1,6898

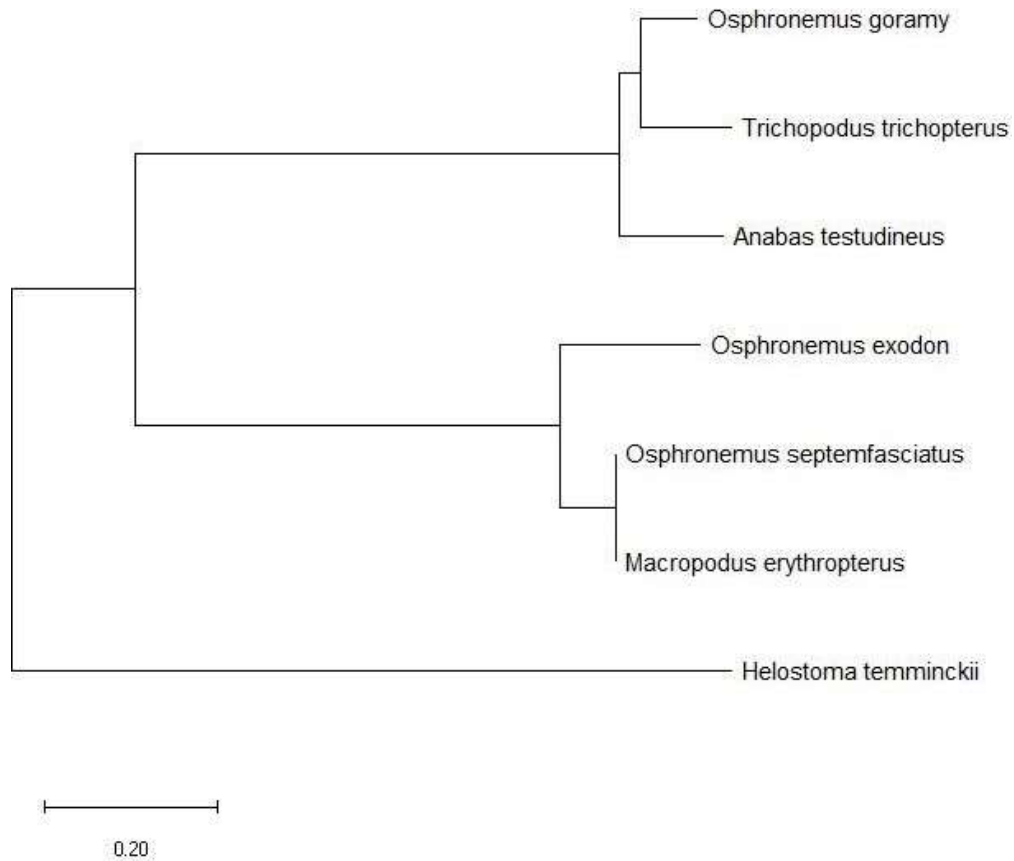
Analisis jarak genetik dilakukan dalam rangka mengetahui seberapa dekat kekeluargaan antar spesies. Nilai jarak genetik yang semakin kecil mengindikasikan bahwa antar spesies memiliki kemiripan genetik yang ditunjukkan berdasarkan perbedaan gen yang dimiliki (Tallei *et. al.* 2016 dalam Irawan *et. al.* 2016). Hasil jarak genetik pada Tabel 1 menunjukkan bahwa *O. gouramy* memiliki kekerabatan genetik tertinggi dengan *T. trichopterus* dibandingkan dengan spesies lainnya. Pada umumnya, semakin dekat kesamaan taksonomi maka akan semakin dekat pula jarak genetik antar spesies, seperti spesies *O. gourami* dan *T. trichopterus* yang berada pada satu family sama. Namun terkadang kedekatan jarak genetik turut dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kemiripan bentuk tubuh, karakter morfologi, hingga kesamaan tingkah laku, sehingga meskipun tidak berada pada satu genus ataupun family yang sama jarak genetik antar spesies dapat lebih kecil dan kekerabatan antar spesies dekat (Cahyono *et. al.* 2018). Sedangkan nilai jarak genetik yang dimiliki antara *H. temminckii* dengan spesies lainnya yang cenderung memiliki nilai yang besar, diduga dipengaruhi oleh perbedaan family meskipun berada pada ordo yang sama serta bentuk tubuh serta karakter morfologi yang berbeda. Keragaman dan kekerabatan antar spesies erat kaitannya dengan keberagaman *haplotype* yang dimiliki oleh setiap individu (Rachmat *et al.* 2016). Variasi pewarisan alel akan mendorong terbentuknya variasi spesies, yang dipengaruhi oleh faktor seleksi alam, mutasi, perubahan genetik, dan aliran gen (Adams *et al.* 2019). Namun, penelitian mengenai analisis jarak genetik antar individu khususnya individu sejenis yang berada pada lingkungan sama, dapat menjadi acuan dalam pengetahuan mengenai evolusi molekuler, rekonstruksi filogenetik, hingga perkiraan periode evolusi (Sohpal 2013 dalam Saleky dan Dailami 2021).

### Pohon Filogenetik

Berdasarkan hasil analisis pohon filogenetik yang dilakukan, diketahui hasil analisis pohon filogenetik sejalan dengan hasil analisis jarak genetik yang diperoleh. Terdapat 2 kelompok *in group* dan satu kelompok *out group* yang kekerabatannya dibuktikan dengan letak dan panjang cabang. *O. gouramy*, *T. trichopterus*, dan *A. testudineus* diketahui berada pada satu *in group* dengan percabangan yang berdekatan. Selain itu, kelompok *in group* lainnya diisi oleh *O. exodon*, *O. septemfasciatus*, dan *M. erythropterus* yang memiliki percabangan saling berdekatan. Sedangkan spesies *H. temminckii*, diketahui memiliki percabangan paling jauh dibanding spesies lainnya sehingga termasuk ke dalam *out group*.

Analisis jarak genetik yang direpresentasikan melalui pohon filogenetik, menunjukkan secara sederhana hubungan kekerabatan yang merujuk pada proses perubahan evolusi susunan gen yang terjadi antar spesies (Pangestika *et al.* 2015). Hubungan kekerabatan yang ditunjukkan dalam bentuk percabangan pohon mengindikasikan semakin dekat percabangan maka kekerabatan akan semakin dekat pula (Lubis 2014 dalam Anafarida dan Badruzsauhari 2020). Pewarisan sifat genetik yang diturunkan dari satu leluhur yang sama, menjadi interpretasi dari pohon filogenetik setiap percabangan pohon filogenetik yang menjadikan antar spesies pada

cabang sama memiliki kemiripan yang dekat. Kelompok *in group* yang terlihat dari pohon filogenetik menunjukkan bahwa spesies memiliki kekerabatan lebih dekat dibandingkan spesies group lainnya, yang dibuktikan dengan kesamaan taksonomi seperti genus ataupun family (Anafarida dan Badruzsaufari 2020) Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh *O. exodon*, *O. septemfasciatus*, dan *M. erythropterus* yang berada pada satu kelompok *in group* sama diakibatkan kesamaan genus dan family. Sedangkan *H. temminckii* berada pada *out group* yang terpisah diakibatkan perbedaan taksonomi yang jauh dengan spesies ikan gurami lainnya.



Gambar 4 Pohon filogenetik

### Komposisi basa

Berdasarkan dari hasil tabel 2 diketahui bahwa komposisi basa nukleotida yang paling besar berada di Timin (T) dengan nilai 31, lalu sitosin dengan nilai 29, adenin dengan nilai 24,4 dan guanin dengan nilai 15,6. Nukleotida didapatkan dari proses pensejajaran sekuen menggunakan primer *forward* dan *reverse*. Sebelum melakukan pensejajaran gen harus diisolasi dan diamplifikasi terlebih dahulu. Hasilnya akan ada pita - pita gen yang tersusun dan dilihat berdasarkan warna gelap-terangnya (Erwyansyah *et al.* 2018). Morfologi dan struktur suatu spesies tidak bisa langsung dipengaruhi oleh komposisi basa nukleotida pada pewarisan sifat (Suprianto *et al.* 2020). Empat situs basa yang dianalisa dari komposisi basa nukleotida yaitu ada timin (T), adenin (A), Guanin (G), dan sitosin (C) (Wibowo 2012). Pada basa nukleotida yang telah di uji pada gen-gen didapatkan rata-rata nilai T(U); A; G dan C dari tujuh spesies yaitu 31; 24,4; 15,6 dan 29. Komposisi basa nukleotida yang mendominasi *Osphronemus gouramy* yaitu timin (T) dan sitosin (C) yang masing-masing bernilai 32,6 dan 26,9.

Tabel 2 Komposisi basa nukleotida

```

Data Filename: PhyloAnalysis.meg
Data Title: Phylogenetic Analysis
Nucleotide Frequencies
Sites Used: All selected
All frequencies are given in percent.
Domain: Data

```

	T(U)	C	A	G	Total
<i>Osphronemus goramy</i>	32.6	26.9	24.0	16.4	475
<i>Osphronemus exodon</i>	28.2	34.7	25.2	11.8	507
<i>Osphronemus septemfasciatus</i>	31.4	30.2	25.0	13.4	507
<i>Macropodus erythropterus</i>	31.4	30.2	25.0	13.4	507
<i>Trichopodus trichopterus</i>	32.6	26.7	22.9	17.9	476
<i>Anabas testudineus</i>	30.9	30.0	22.9	16.2	476
<i>Helostoma temminckii</i>	30.5	23.8	25.3	20.4	466
Avg.	31.0	29.0	24.4	15.6	487.7

Jumlah komposisi basa nukleotida timin (T) dari ikatan purin yang lebih banyak, berkaitan dengan ikatan hidrogen yang mengikat basa tersebut. Hal ini diduga erat kaitannya dengan karakteristik dari ikatan purin dan pirimidin, sehingga memungkinkan terjadinya transisi lebih besar dari transversi. Komposisi basa nukleotida terbagi menjadi dua berdasarkan jenis basanya yaitu pirimidin dan purin (Maulid *et al.*, 2016). Ikatan pirimidin terdiri dari guanin dan sitosin sementara itu purin terdiri dari timin dan adenin (Anisa *et al.* 2016). Dari hasil yang telah didapatkan bahwa nilai purin lebih besar dibandingkan nilai pirimidin.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Penelitian mengenai identifikasi spesies ikan gurame melalui markamolekuler gen COI memberikan informasi elektroforesis, jarak genetik, pohon filogenik serta komposisi basa nukleotida. Hasil visualisasi elektroforesis menunjukkan hasil yang negatif atau tidak terdapat pita yang muncul. Jarak genetik antara ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dengan *Macropodus erythropterus* yang diperoleh adalah sebesar 0 atau susunan basa nukelotidanya identik. Struktur pohon filogenik antara ikan gurame (*O. gourami*), *T. trichopterus*, dan *A. testudineus* menunjukkan percabangan yang berdekatan (*in group*). Basa timin (T) dan sitosin (C) mendominasi komposisi keseluruhan basa nukleotida dengan nilai masing-masing 32,6 dan 26,9.

### Saran

Penelitian mengenai analisis DNA ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) masih sedikit sehingga informasinya masih sedikit. Oleh karena itu, diperlukan lebih banyak penelitian mengenai DNA ikan gurami, sehingga informasi DNAdari spesies tersebut akan lebih mudah didapatkan dan dapat dijadikan acuan serta pembanding untuk penelitian yang serupa. Selain itu, kajian lebih lanjut mengenai DNA ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dapat digunakan sebagai dasar pengambilan keputusan atau kebijakan terkait ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dalam rangka pengelolaan maksimal secara berkelanjutan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adams CIM, Knapp M, Gemmell NJ, Jeunen GJ, Bunce M, Lamare MD, Taylor HR. 2019. Beyond biodiversity: Can environmental DNA (eDNA) cut it asa population genetics tool. *Genes*. 10(3): 192 – 201.
- Anafarida O, Badrizsaufari. 2020. Analisis filogenetik mangga (*Mangifera* spp.) berdasarkan gen 5,8s rRNA. *Ziraa'ah*. 45(2): 120-126
- Anisa, Jaya AK, Sunarti. 2016. Analisis *hidden markov model* untuk segmentasi barisan DNA. *Jurnal Matematika, Statistika, & Komputasi*. 13(1): 55-65.
- Azizah SN, Nuryanto A, Pramono H. 2015. Karakterisasi molekuler ikan gurami soang (*Osphronemus goramy* Lac.) berbeda ukuran menggunakan PCR- RFLP gen sitokrom c oksidase I. *Biosfera*. 32(3): 185 – 193.
- Budiardi T, Ginting RAN, Hadiroseyani Y. 2011. Produksi benih gurami *Osphronemus goramy* Lac. dengan tingkat pergantian air berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 10(2): 144–153.
- Cahyono RN, Budiharjo A, Sugiyarto. 2018. Keanekaragaman dan kekerabatan ikan famili Cyprinidae pada ekosistem bendungan Colo Sukoharjo Jawa Tengah. *EnviroScienteeae*. 14(2):137-146.
- Dastin IL, Nugroho RA, Hariani N, Aryani R, Manurung H, Rudianto. 2021. Prevalence, intensity, and dominance of ectoparasites in the gourami (*Osphronemus goramy* Lacepède, 1801) reared in the floating net cage in Cirata Reservoir, West Java, Indonesia. *Aceh Journal of Animal Science*. 6(1): 27 – 33.
- Erwyansyah, Wardiatno Y, Kurnia R, Butet NA. 2018. Kepastian taksonomi dan sebaran belangkas *Tachypleus tridentatus* Leach 1819 di Perairan Balikpapan Timur. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 10(3): 547-559.
- Fahlevi MR, Bakti D, Sitepu SF. 2017. Karakterisasi molekuler *Elaeidobius kamerunicus* Faust. (coleoptera: curculionidae) asal Sumatera Utaramenggunakan metode amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Jurnal Agroekoteknologi FP USU*. 5(4): 941-953.
- Irawan PD, Tallei TE, Kolondam BJ. 2016. Analisis sekuens dan filogenetikbeberapa tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae) di Sulawesi Utara berdasarkan gen MatK. *Jurnal Ilmiah Sains*. 16(2): 41-50
- Martawijaya EI 2020. *Bisnis pembenihan ikan gurame dalam galon*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Maulid D Y, Nurilmala M, Nurjanah, Maduppa H. 2016. Karakteristik molekuler cytochrome b untuk DNA barcoding ikan tenggiri. *Jurnal JPHPI*. 19(1): 9-16.
- Napitupulu HG, Rumengan IFM, Wullur F, Ginting EL, Rimper JRTSL, Toloh BH. 2019. *Bacillus* sp. sebagai agensia pengurai dalam pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang menggunakan ikan mentah sebagai sumbernutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*. 7(1): 158-169.
- Pangestika Y, Budiharjo A, Kusumaningrum HP. Analisis filogenetik *Curcuma zedoaria* (Temu Putih) berdasarkan gen *internal transcribed spacer* (ITS). *Jurnal Biologi*. 4(4): 8-13.
- Parizad EG, Parizad EG, Valizadeh A. 2016. The application of pulsed field gel electrophoresis in clinical studies. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 10(1):1-4.
- Rachmat HH, Subiakto A, Kamiya K, 2016. Short Communication: Genetic diversity and conservation strategy considerations for highly valuable medicinal tree of *Taxus sumatrana* in Indonesia. *Biodiversitas*. 17(2): 487–491
- Rahmawati D. 2018. Aplikasi DNA *barcoding* dalam identifikasi ikan buntal (famili tetraodontidae) Danau Singkarak [skripsi]. Padang: Universitas Andalas.

- Saleki D, Dailami M. 2021. Konservasi genetik ikan kakap putih (*Lates calcarifer*, Bloch, 1790) melalui pendekatan DNA *Barcoding* dan analisis filogenetik di Sungai Kumbe Merauke Papua. *Jurnal Kelautan Tropis*. 24(2): 141-150.
- Setiati N, Partaya, Hidayah N. 2019. The use of two pairs primer for CO1 gene amplification on traded stingray at fish auction Tasik Agung Rembang. *Journal of Physics: Conference Science*. 1567:1-6.
- Suprianto, Trianto M, Alam N, Kirana NGAGC. 2020. Karakter morfologi dan analisis daerah *conserved* gen *elongation factor 1 $\alpha$*  (EF1 $\alpha$ ) pada *Lepidotrigona terminata*. *Jurnal Metamorfosa*. 7(2): 172-181.
- Tilawah S. 2019. Optimasi volume DNA marker dan volume DNA hasil amplifikasi gen tetL resistensi antibiotik tetrasiklin dari bakteri *Bacillus cereus* pada pasien ulkus diabetik. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4(1): 1-7.
- Sembiring, SBM, Tridjoko, Haryanti. 2013. Keragaman genetik ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) generasi F1 dan F3. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5(1): 103-111.
- Suharyanto, Febrianti R, Sularto. 2016. Karakterisasi empat populasi ikan gurami (*Osporonemus goramy* Lac.) dan persilangannya berdasarkan metode trussmorfometriks. *Jurnal Riset Akuakultur*. 11(2): 125-135.
- Wibowo A. 2012. Keragaman genetik ikan semah (*Tor tambroides* Bleker 1854) di sungai Manna, Bengkulu dan sungai Semangka, Lampung. *BAWAL*. 4(2):105-112.
- Widjaja EA, Rahayuningsih Y, Rahajoe JS, Ubaidillah R, Maryanto I, Walujo EB, Semiadi G. 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia 2014*. Jakarta: LIPI Press.