

## Keragaman mutasi nukleotida mtDNA varian ikan arwana lokal pada wilayah perairan selatan Papua: Studi pada daerah D-loop

Richardo Ubyaan,<sup>1</sup> Epiphani Imelda Yosephin Palit,<sup>2</sup> dan Yohanis Ngili<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua

<sup>2</sup> Jurusan Matematika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua

<sup>3</sup> Kelompok Riset Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua  
e-mail: joe\_ngili@yahoo.com

### ABSTRAK

Wilayah selatan provinsi Papua yang meliputi Kabupaten Merauke dan Kabupaten Boven Diegul, memiliki potensi sumber daya alam yang besar dalam bidang perairan darat. Salah satu spesies ikan yang banyak mendatangkan keuntungan finansial adalah ikan arwana. Ikan ini banyak terdapat pada wilayah selatan Papua dan harganya yang cukup mahal untuk varian tertentu. Pola penangkapan ikan secara tradisional dan berbasis kearifan lokal masyarakat perlu terus diupayakan agar dapat meningkatkan produktivitas ikan arwana. Keberadaan ikan arwana di Provinsi Papua banyak terdapat di wilayah selatan karena banyaknya aliran anak sungai dan sungai-sungai besar di wilayah tersebut. Keberadaan ikan arwana yang hanya terdapat pada wilayah selatan Papua tersebut mempengaruhi keanekaragaman genetik ikan tersebut. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis dan mengkarakterisasi pola mutasi nukleotida secara biomolekuler ikan arwana pada daerah hipervariabel. Primer yang telah dirancang untuk amplifikasi ikan arwana sepanjang 1 kb pada daerah D-loop mitokondria. Berdasarkan hasil analisis diperoleh urutan nukleotida DNA mitokondria manusia daerah D-loop melalui *direct sequencing* untuk sampel-sampel ikan arwana. Jumlah mutasi dominan pada ikan arwana Papua sebanyak 9 posisi pada daerah D-loop mtDNA ikan. Analisis variabilitas urutan nukleotida sampel ikan arwana pada perairan selatan Papua memberikan informasi identitas mutasi yang sangat bervariasi baik posisi, jumlah, maupun jenis mutasi yang terjadi. Hasil-hasil penelitian yang telah didapatkan pada penelitian ini adalah menggambarkan varian-varian ikan arwana yang berada pada perairan lokal Papua, di wilayah selatan Papua; telah berhasil menggambarkan peta genetik ikan melalui perancangan primer yang efisien dan komprehensif pada keseluruhan mitokondria ikan arwana. Dari keseluruhan mutasi yang terjadi, terjadi mutasi yang unik yakni mutasi substitusi transversasi pada posisi  $n+2$ , terjadi perubahan nukleotida adenin menjadi sitosin, A→c. Luaran dari keseluruhan data yang didapat dari penelitian ini sangat bermanfaat bagi pengembangan bioteknologi perikanan khususnya metode perancangan primer dan teknik isolasi DNA ikan *reproducible*.

**Kata Kunci:** Keragaman, Genetik, DNA, Ikan Arwana, Papua

### PENDAHULUAN

Hampir semua hewan mempunyai genom mitokondria yang terdiri dari 37 gen, yang terdiri dari 13 gen pengkode protein (*protein-coding genes*), 2 ribosomal RNA (rRNA) and 22 transfer RNA (tRNA), yang diperlukan untuk translasi protein yang dikode oleh mtDNA (Boore, 1999). Mereka juga mempunyai suatu daerah pengontrol gen

utama yang menginisiasi replikasi mtDNA dan transkripsi mtRNA. Genom mitokondria secara umum mengalami mutasi 5-10 kali lebih cepat dibanding dengan DNA pada gen inti (kromosom).

Asian arowana (dragonfish; *Scleropages formosus*, *Osteoglossidae*) adalah salah satu jenis ikan yang hidup pada habitat air tawar. Ikan ini termasuk salah satu jenis ikan hias termahal di dunia dan didaftar dalam

*Convention on International Trades in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES) sebagai spesies "highly endangered". Ikan arwana ini mempunyai tiga varietas warna dasar dari Asian arowana: hijau, keemasan, dan merah dengan beberapa subvarietas yang hampir punah.

Berdasarkan studi taksonomi, ordo *Osteoglossiformes* terdiri atas dua suordo yakni *Osteoglossoidei* dan *Notopteroidei*. Subordo *Orteoglossoidei* memiliki dua famili: *Osteoglossidae* dan *Pantodontidae*. Famili *Osteoglossidae* terdiri atas 7 spesies: *Scleropages formosus* (wilayah Asia tenggara), *S. jardini* (Australia utara dan Papua Nugini), *S. leichardti* (Australia timur), *Osteoglossum bicirrhosum* (Amerika selatan), *O. ferreirai* (Amerika Selatan), *Arapaima gigas* (Amerika selatan) dan *Heterotis niloticus* (Afrika Barat). Famili *Pantodontidae* hanya memiliki satu spesies, ikan kupu-kupu, *Pantodon buchholzi* (Afrika barat). Di antara 8 spesies *Osteoglossoidae*, genom mitokondria-nya yang telah berhasil disekuensi hanya 2 spesies, yakni *O. bicirrhosum* dan *P. buchholzi*. Sedangkan subordo *Notopteroidei* mempunyai 3 famili dengan 56 spesies, sekuen mtDNA lengkapnya hanya terdapat untuk spesies tunggal, yang bermata keemasan (*Hiodon alosoides*, *Hiodontidae*).

Meskipun ikan Arowana Asia merupakan salah satu ikan hias paling mahal di dunia, tetapi masih relatif sedikit publikasi ilmiah yang mempublikasi tentang studi genomik dengan menganalisis varian gen pada genom mitokondria ikan arwana. Kebanyakan publikasi tentang ikan arwana hanya berhubungan dengan studi klasik yang berhubungan dengan taksonomi, dan fisiologi dari suatu spesies arwana. Tujuan khusus penelitian ini adalah Menggambarkan profil-profil genetik dan varian mutasi ikan arwana lokal Papua pada daerah pengkode gen (*coding region*) pada genom mitokondria dan analisis mutasi nukleotidnya. Mengkarakterisasi keragaman genetik varian ikan arwana yang ada di wilayah selatan Papua dan mengkaji pola polimorfisme DNA dan jarak genetiknya serta membuat analisis kekerabatan ikan arwana pada data GenBank.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di wilayah selatan Provinsi Papua, yang merupakan daerah ekosistem ikan arwana beraneka varian. Daerah tempat penelitian di Distrik Muting dan Distrik Ulilin pada wilayah Kabupaten Merauke dan Distrik Waropko yang merupakan wilayah Kabupaten Boven Diegul. Sedangkan analisis keragaman genetik dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Cenderawasih.

### Ekstraksi DNA ikan arwana

Metode yang digunakan dalam ekstraksi DNA ialah metode phenolchloroform, dengan langkah-langkah sebagai berikut: Bagian dari tubuh ikan yang akan diekstraksi adalah potongan sirip ikan dengan berat 5-10 mg. Lalu dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi 500 µl larutan NTES urea, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 15 µl/ml protein kinase. Proses berikutnya, diaduk dengan vorteks dan diinkubasi pada suhu 55 °C selama 1 jam. Selanjutnya, campuran tersebut diaduk dengan vorteks dan ditambahkan dengan larutan *phenolchloroform* sebanyak 1000 µl. Kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dipindahkan ke dalam tabung baru lalu ditambahkan 1000 µl larutan etanol 90% dan natrium asetat 10 µl. Setelah itu campuran disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk endapan berwarna putih. Dari campuran tersebut dipisahkan antara DNA dan larutan. DNA yang telah terpisah dikeringkan dalam suhu kamar, Selanjutnya, DNA ditambah dengan 50-100 µl larutan rehidrasi DNA (larutan rehidrasi) (Boore *et al.*, 1999; Inoue *et al.*, 2001; Yue *et al.*, 2001; Machida *et al.*, 2002,).

### Pengujian Kualitas dan Kuantitas DNA serta amplifikasi DNA ikan

Gel agarose 1% diletakkan dalam larutan buffer 1X TBE (triborate 0,001 M EDTA), kemudian DNA *template* sebanyak 3 µl dicampur dengan 3 µl *loading dye*. Campuran

tersebut lalu diambil sebanyak 3  $\mu$ l dan dimasukkan ke dalam gel agarose 1 %. Proses elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 V selama 20 menit. Hasil dari elektroforesis tersebut, dilihat dengan menggunakan transilluminator. Mencampurkan 1 unit *dry taq* (Promega), 2  $\mu$ l *DNA template*, 2  $\mu$ l primer dan 21  $\mu$ l air dengan volume total PCR 25  $\mu$ l.

### **Elektroforesis dan analisis data hasil sekuensing**

Hasil dari proses amplifikasi dilihat dengan menggunakan gel agarose 1%. Pada tiap-tiap proses elektroforesis digunakan DNA hasil PCR sebanyak 9  $\mu$ l dan marker sebanyak 3  $\mu$ l dengan kisaran pasangan basa 100 pb hingga 1500 pb. Hasil elektroforesis diamati dengan menggunakan UV transilluminator dan didokumentasi dengan kamera film polaroid. Proses sekuensing, dilakukan juga dengan menghitung heterozy-gote dan jarak genetik. Heterozygote merupakan perpaduan dari alel-alel yang berbeda pada lokus yang sama, dihitung dengan menggunakan persamaan (Nei dan Kumar, 2000). Sedangkan jarak genetik, dihitung berdasarkan hasil foto polaroid lalu diterjemahkan menjadi data berdasarkan ada atau tidaknya pita DNA. Keragaman genetik dilihat dengan menganalisis jarak genetik berdasarkan program UPGMA dan Inference Bayes (Huelsenbeck *et al.*, 2001).

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Ikan arwana merupakan ikan hias air tawar yang cukup populer, dan merupakan salah satu ikan kebanggaan negara Indonesia karena harganya yang cukup mahal dan digunakan sebagai ikan hias. Dapat dikatakan bahwa sampai saat ini hanya ikan arwana satu-satunya produk lokal yang mampu bersaing dengan ikan hias populer yang dikembangkan di luar negeri untuk jadi *the best ornamental fish*. Kepopuleran ikan arwana dikarenakan bentuk tubuhnya yang indah, gaya renang yang gagah tapi anggun, dan warna yang menarik perhatian. Itulah kelebihan ikan arwana dari ikan hias air tawar jenis lainnya.

Berdasarkan data, jika dilihat dari perkembangan ekspor ikan arwana secara keseluruhan dari tahun 2005-2014, dapat

diketahui bahwa permintaan akan ikan arwana dari pasar mancanegara sangatlah tinggi dan memiliki tren yang meningkat dari tahun ke tahun. Pertumbuhan penjualan ekspor ikan arwana dari tahun ke tahunnya hampir meningkat sebesar 40 persen. Belum lagi pasar ikan arwana yang sudah mulai menjajaki pasar Eropa. Selama ini pasar luar negeri ikan arwana umumnya berasal dari negara-negara di Asia seperti Jepang, China, Taiwan, Hongkong, Korea, dan Singapura, bila pasar arwana telah menembus pasar Eropa maka nilai ekspor ikan arwana akan semakin meningkat. Nilai ekspor ikan arwana juga cukup memberikan peranan dalam pendapatan devisa negara.

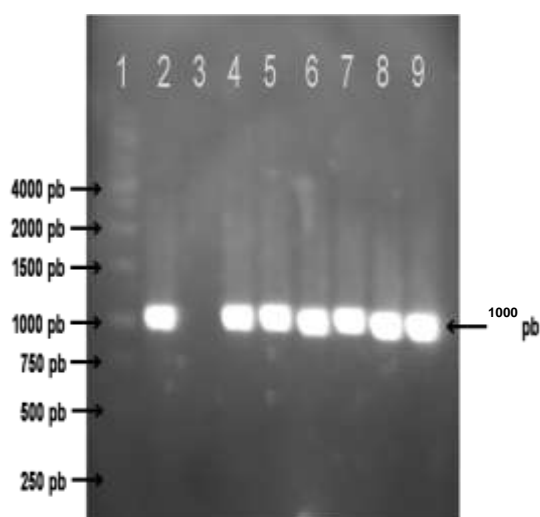
Ikan arwana adalah salah satu jenis ikan yang hidup pada habitat air tawar dan sangat tidak toleran terhadap air laut (*intolerant of saltwater*). Ikan arwana ini mempunyai tiga varitas warna dasar dari asian arowana: hijau, keemasan, dan merah dengan beberapa subvarian yang hampir punah (Broughton *et al.*, 2001; Hilton *et al.*, 2003; Roberts *et al.*, 1989; Yue *et al.*, 2006). Ikan arwana hijau merupakan jenis ikan pada umumnya yang terdapat di hampir seluruh wilayah Asia tenggara. Varitas lainnya yang hampir punah dan terpisah secara wilayah geografis adalah "*super red*", yang hanya terdapat pada bagian atas sungai Kapuas (Danau lindung Sentarum, Kalimantan Barat) (Natalia *et al.*, 2004; Pouyaud *et al.*, 2003; Roberts *et al.*, 1989). Ikan arwana lainnya yakni berwarna keemasan (*cross back golden*) atau berwarna biru (*blue malayan*), banyak terdapat pada wilayah Pahang dan Danau Bukit merah (Semenanjung malay, Malaysia). Ikan arwana yang ekornya berwarna merah keemasan berasal dari wilayah Pekanbaru dan Jambi (Kumazawa *et al.*, 2000; Pouyaud *et al.*, 2003).

### **Hasil amplifikasi teknik PCR sepanjang 1 kb**

Penyiapan templat DNA untuk PCR diawali dengan pengambilan sampel berupa DNA ikan pada daerah sirip ikan dan pada bagian ekor. Jumlah sampel masing-masing tempat (Merauke dan Boven Diegul) sebanyak 6 varian ikan. Selanjutnya dilakukan lisis sel untuk mendapatkan DNA mitokondria menggunakan prosedur standar tanpa melalui pemurnian terlebih dahulu [22]. Ekstrak DNA

hasil lisis merupakan templat untuk proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pada gambar 1 diperlihatkan fragmen 1 kb daerah D-loop diperoleh melalui amplifikasi mtDNA manusia secara *in vitro* menggunakan sepasang primer ARfor dan ARrev. Hasil deteksi DNA memperlihatkan bahwa sampel memberikan hasil amplifikasi fragmen berukuran sekitar 1 kb yang ditunjukkan dengan adanya satu pita yang terletak diantara pita 1000 pb dan pita 1500 pb (Gambar 1). Hasil ini sesuai dengan yang diharapkan, yakni mengamplifikasi daerah D-loop dengan panjang sekitar 1 kb.

Tahapan kondisi PCR yang digunakan untuk amplifikasi DNA ikan arwana adalah sebagai berikut: Tahap I (denaturasi awal, pada 95 °C selama 3 menit) dan dilanjutkan dengan tahap II: denaturasi, pada suhu 94 °C, selama 1 menit; proses annealing pada suhu 50 °C selama 1 menit, dan proses elongasi/-polimerisasi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Proses pada tahap kedua diulang selama 30 siklus. Tahapan akhir dari proses amplifikasi ini adalah ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit.



Gambar 1. Fragmen PCR. Amplifikasi menggunakan primer ARfor and ARrev. garis 1: ladder marker 1 kb, garis 2: kontrol (+), garis 3 adalah kontrol (-), dan garis 4-9 merupakan sampel (1 kb) ikan arwana Papua.

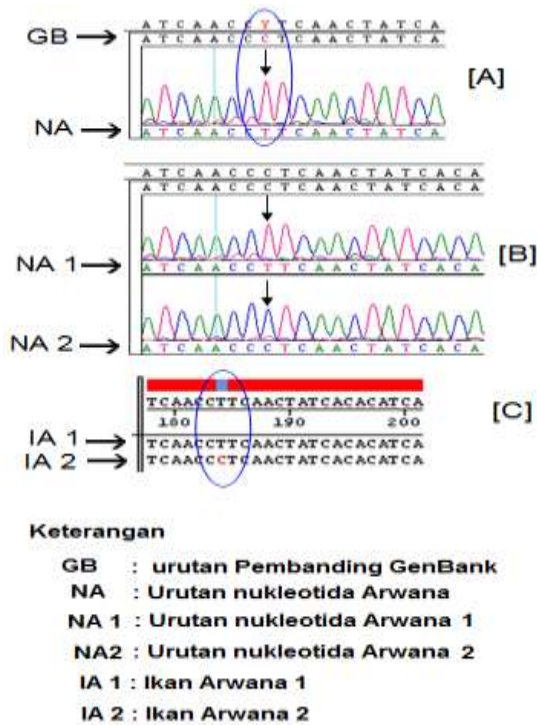
Pada hasil tersebut memperlihatkan adanya fragmen DNA pada posisi 1 kb untuk sampel yang menunjukkan bahwa amplifikasi terjadi pada templat mtDNA dengan primer

ARfor dan ARrev. Fungsi kontrol positif dalam proses PCR ini adalah untuk mengetahui jalannya proses PCR. Munculnya pita pada kontrol positif membuktikan bahwa proses PCR berjalan dengan baik serta pita yang muncul pada sampel adalah pita dari fragmen daerah D-loop. Hal ini diperkuat dengan keikutsertakannya kontrol negatif dalam proses PCR. Kontrol negatif dalam proses PCR bertujuan untuk mengetahui kemungkinan adanya kontaminan dalam campuran reaksi PCR. Tidak munculnya pita pada kontrol negatif membuktikan bahwa dalam campuran reaksi tidak terdapat kontaminan yang dapat mengganggu proses PCR. Diperolehnya fragmen pita 1 kb yang diperlihatkan pada hasil elektroforesis menunjukkan bahwa pada sirip ikan dan bagian ekor ikan, DNA mitokondria ditemukan cukup banyak. Fungsi utama suborganel mitokondria adalah penghasil energi dalam bentuk ATP di dalam sel ikan. Proses regenerasi sel memerlukan energi yang diperoleh dari proses oksidasi makanan di dalam mitokondria, oleh karena itu dalam sel darah ini ditemukan cukup banyak mitokondria. Dalam jumlah banyak, mitokondria ditemukan pada sel yang memiliki aktivitas metabolisme tinggi seperti sperma pada bagian ekornya yang aktif membelah dan epidermis di bawah kulit ikan arwana [25].

### Hasil analisis direct sequencing

Analisis terhadap daerah 1 kb mtDNA dilakukan pada daerah D-loop dan sebagai standar digunakan urutan ikan arwana di GenBank [2]. Untuk mengetahui urutan nukleotida yang mengalami mutasi dilakukan analisis menggunakan program *Seqman* dan *MegAlign DNASTAR* dengan menempatkan posisi nukleotida sampel sejajar (*align*) dengan urutan nukleotida CRS. Pada program ini juga dapat dilihat bentuk tampilan elektroforegram yang dilingkari menunjukkan perbedaan antara urutan nukleotida sampel dengan urutan nukleotida *Cambridge* (Gambar 2).

Berdasarkan analisis mutasi daerah D-loop mtDNA terhadap 12 sampel ikan arwana asal Papua: Bagian Merauke dan Bagian Boven Digul, ditemukan beberapa jumlah, jenis, dan posisi mutasi pada daerah D-loop mtDNA.



Gambar 2. Pada [A] merupakan hasil analisis mutasi dari sekuen ikan Arwana 1 (Merauke) pada daerah D-loop melalui tampilan elektroforegram mutasi dengan menggunakan Program Seqman DNASTAR. Pada gambar tampak pada posisi tertentu terjadi perbedaan mutasi antara urutan pembanding GenBank dengan sekuen ikan Arwana 1, yakni basa Sitosin berubah menjadi Timin (C→t). Sedangkan [B] merupakan hasil analisis perbandingan mutasi pada posisi tersebut. Pada gambar di atas terlihat pada posisi ini urutan nukleotida pada ikan Arwana 1 adalah basa Timin (T) yang ditunjukkan dengan puncak spektrum berwarna merah, sedangkan pada Papua 2 menunjukkan basa Sitosin (C) yang spektrumnya berwarna biru, sama dengan urutan pembanding GenBank. Pada Gambar [C], merupakan hasil penjajaran (*alignment*) urutan nukleotida pada posisi tertentu dengan menggunakan program *MegAlign* DNASTAR. Pada gambar di atas terlihat pada posisi tersebut urutan nukleotida pada Ikan Arwana 1 adalah Timin (T) sedangkan pada Ikan Arwana 2 menunjukkan basa Sitosin (C).

Pada tabel 1 ditunjukkan bahwa mutasi yang terjadi pada seluruh sampel bervariasi baik posisi, jenis maupun jumlahnya. Jenis mutasi yang terjadi diantaranya mutasi transisi dan mutasi transversi. Hasil analisis pola genetik keseluruhan sampel seperti yang dirinci pada tabel memperlihatkan adanya jenis-jenis mutasi nukleotida yang terdapat

pada populasi ikan Arwana Papua, bagian Merauke dan bagian Boven Diegul.

Tabel 1. Jumlah dan jenis varian mutasi D-loop ikan Arwana Papua yang berasal dari kabupaten Merauke dan kabupaten Boven Diegul.

Posisi nukleotida pada D-loop	Urutan pembanding	Ikan Arwana di Papua Selatan												Perubahan nukleotidis	
		Ikan Arwana Merauke						Ikan Arwana Boven Diegul							
		Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3	Sampel 4	Sampel 5	Sampel 6	Sampel 7	Sampel 8	Sampel 9	Sampel 10	Sampel 11	Sampel 12		
n	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T? c
n+1	C	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	C? t
n+2	A	.	C	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	A? c
n+3	T	.	C	C	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	T? c
n+4	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	T? c
n+5	T	.	C	C	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	T? c
n+6	C	t	.	t	.	t	.	.	.	.	.	.	t	.	C? t
n+7	C	t	.	t	t	t	.	t	t	.	t	t	t	t	C? t
n+8	A	g	.	g	g	g	.	g	.	.	.	.	g	.	A? g
n+9	C	.	.	.	.	.	.	.	t	.	.	.	.	.	C? t
n+10	C	t	.	t	t	t	.	t	t	.	t	t	t	t	C? t
n+11	G	a	.	a	a	a	.	a	a	.	a	a	a	a	G? a
n+12	A	g	.	g	g	g	.	g	.	.	.	.	g	.	A? g
n+13	T	.	.	.	C	.	.	C	C	.	C	.	C	.	T? c
n+14	A	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	A? g
n+15	T	C	.	C	C	C	.	C	C	.	C	C	C	C	T? c
n+16	T	.	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	T? c
n+17	A	g	.	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	A? g
n+18	T	.	C	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	T? c
n+19	G	.	.	.	.	.	.	a	.	.	.	.	.	.	G? a
n+20	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	T? c
n+21	A	g	.	g	g	g	.	g	.	.	g	g	g	g	A? g
n+22	A	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	A? g

Pada tabel 1 ditunjukkan bahwa mutasi yang terjadi pada seluruh sampel bervariasi baik posisi, jenis maupun jumlahnya. Jenis mutasi yang terjadi diantaranya mutasi transisi dan mutasi transversi. Hasil analisis pola genetik keseluruhan sampel seperti yang dirinci pada tabel memperlihatkan adanya jenis-jenis mutasi nukleotida yang terdapat pada populasi ikan Arwana Papua, bagian Merauke dan bagian Boven Diegul.

Dari data yang disajikan pada tabel 1 tersebut terlihat bahwa mutasi yang terjadi pada ikan arwana Papua yang berasal dari bagian perairan Kabupaten Merauke dan Kabupaten Boven Diegul sangat bervariasi (hipervariabel). Mutasi yang terjadi tidak memperlihatkan pola tertentu terhadap DNA pembanding. Hasil analisis lebih lanjut dan uji komparasi pada daerah D-loop terhadap data pembanding memperlihatkan adanya mutasi

baru pada ikan arwana pada kedua tempat di bagian selatan Papua (Tabel 2). Jumlah mutasi nukleotida keseluruhan pada daerah D-loop mtDNA sepanjang 1 kb terhadap CRS adalah sebanyak 23 varian mutasi. Dari keseluruhan mutasi yang terjadi, terjadi mutasi yang unik yakni mutasi substitusi transversi pada posisi  $n+2$ , terjadi perubahan nukleotida adenin menjadi sitosin, A→c.

Tabel 2. Analisis pola-pola mutasi pada Populasi ikan arwana Papua: Kabupaten Merauke dan Kabupaten Boven Diegul.

	Ikan Arwana di Kabupaten Merauke							Ikan Arwana di Kabupaten Boven Diegul				
	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3	Sampel 4	Sampel 5	Sampel 6	Sampel 7	Sampel 8	Sampel 9	Sampel 10	Sampel 11	Sampel 12
Jumlah varian per sampel ikan arwana <sup>a</sup>	12	8	7	12	10	12	8	10	10	8	10	12
Presentase varian <sup>b</sup> (dalam persen)	52	35	30	52	43	52	35	43	43	35	43	52
Jumlah varian yang tidak mutasi	11	15	16	11	13	11	15	13	13	15	13	11
Varian terbanyak dalam D-loop <sup>c</sup>	1	3	1	1	3	1	2	3	1	3	3	1
Perbandingan varian mutasi dengan yang tak termutasi <sup>d</sup>	1,09	0,33	0,43	1,09	0,77	1,09	0,53	0,77	0,77	0,53	0,77	1,09
Identitas mutasi terbanyak <sup>e</sup>	6A ? G	4T ? C	3T ? C	6A ? G	4A ? G	6A ? G	3A ? G	4T ? C	4A ? G	3T ? C	4T ? C	4A ? G
Jenis mutasi substitusi yang terjadi <sup>f</sup>	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi	transisi

(jumlah varian mutasi ikan arwana Merauke adalah 59, sedangkan ikan arwana Boben Diegul sebanyak 58) [jumlah mutasi nukleotida pada semua individu di semua posisi D-loop mtDNA ikan Arwana].

<sup>b</sup> Persen jumlah varian per sampel ikan (di hitung per varian total ikan arwana, yakni per 23)

<sup>c</sup> Perbandingan varian D-loop (1 adalah HVS1, 2 adalah HVS2, sedangkan jumlah varian HVS1/HVS2 sama)

<sup>d</sup> Hasil perhitungan jika lebih dari 1 maka varian yang termutasi lebih banyak daripada

yang homologi dengan pembandingan dan sebaliknya

<sup>e</sup> Hasil analisis jumlah dan jenis mutasi yang terjadi pada suatu sampel ikan arwana tanpa memperhatikan posisi mutasi

<sup>f</sup> Jenis mutasi nukleotida ikan arwana yang terjadi hanya dilihat berdasarkan jumlah mutasi terbanyak

### SIMPULAN

Dari tahapan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ikan arwana di wilayah selatan Provinsi Papua, yang merupakan daerah ekosistem ikan arwana, terdapat beraneka varian. Daerah tempat atau habitat ikan arwana cukup banyak terdapat di Distrik Muting dan Distrik Ulilin pada wilayah Kabupaten Merauke dan Distrik Waropko yang merupakan wilayah Kabupaten Boven Diegul. Primer yang telah dirancang untuk amplifikasi ikan arwana sepanjang 1 kb pada daerah D-loop mitokondria yang mengamplifikasi sekitar 600 pb pada sekuen *forward* dan 600 pb pada sekuen *reverse*. Berdasarkan hasil analisis diperoleh urutan nukleotida DNA mitokondria manusia daerah D-loop melalui *direct sequencing* untuk sampel-sampel ikan arwana Papua bagian selatan. Jumlah mutasi dominan pada ikan arwana Papua sebanyak 9 posisi pada daerah D-loop mtDNA ikan. Dari keseluruhan mutasi yang terjadi, terjadi mutasi yang unik yakni mutasi substitusi transversi pada posisi  $n+2$ , terjadi perubahan nukleotida adenin menjadi sitosin, A→c. Analisis variabilitas urutan nukleotida sampel ikan arwana pada perairan selatan Papua memberikan informasi identitas mutasi yang sangat bervariasi baik posisi, jumlah, maupun jenis mutasi yang terjadi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dana penelitian Masterpan Percepatan dan Perluasan Pembangunan Ekonomi Indonesia (MP3EI) kepada YN dari Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM), Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi-Republik Indonesia. (Grant No. 0094/E5.1/PE/2015-Batch 1)

## DAFTAR PUSTAKA

- Boore, J.L. Animal Mitochondrial Genome. 1999. *Nucleic Acids Res*, 27: 1767-1780.
- Broughton, R.E., Milam, J.E., and Roe, B.A. 2001. The Complete Sequence of the Zebrafish (*Danio rerio*) Mitochondrial Genome and Evolutionary Patterns in Vertebrate Mitochondrial DNA. *Genome Res*, 11: 1958-1967.
- Briolay, J., Galtier, N., Brito, R.M., and Bouvet, Y. 1998. Molecular Phylogeny of Cyprinidae Inferred From Cytochrome b DNA Sequence. *Mol. Phyl. Evol*, 9: 100-108.
- Hilton, E.J. 2003. Comparative Osteology and Phylogenetic Systematics of Fossil and Living Bony-Tongue Fishes (Actinopterygii, Teleostei, Osteoglossomorpha). *Zool. J. Linn. Soc.*, 137: 1-100
- Huelsenbeck, J.P., and Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian Inference of Phylogenetic Tree, *Bioinformatics*, 17: 754-755
- Inoue, J.G., Miya, M., Tsukamoto, K., and Nishida, M. 2001. A Mitogenomic Perspective on the Basal Teleostean Phylogeny: Resolving Higher Level Relationship With Longer DNA Sequences. *Mol. Phyl. Evol*, 20(2): 275-285.
- Kumazawa, Y., and Nishida, M. 2000. Molecular Phylogeny of Osteoglossoids: A New Model for Gondwanian Origin and Plate Tectonic Transportation of the Asian Arowana, *Mol Biol Evol*, 17: 1869-1878
- Machida, R.J., Miya, M.U., Nishida, M., and Nishida, S. 2002. Complete Mitochondrial DNA Sequence of *Tigriopus Japonicus* (Crustacea: Copepoda), *Mar Biotechnol*, 4: 406-417
- Meyer, A. 1993. Evolution of Mitochondrial DNA in Fishes. In *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Edited by: Hochachka, P.W and Mommsen, T.P. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1-38
- Natalia, Y., Hashim, R., Ali, A., and Chong, A. 2004. Characterization of Digestive Enzymes in A Carnivorous Ornamental Fish, the Asian Bony Tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae), *Aquaculture*, 233: 305-320.
- Nelson, J.S. 1994. *Fishes of the World*. 3<sup>rd</sup> ed, 600 p. New York: J. Wiley & Sons.
- Pouyaud, L., Sudarto, and Teugels G.G. 2003. The Different Colour Varieties of the Asian Arowana *Scleropages formosus* (Osteoglossidae) Are Distinct Species: Morphologic and Genetic Evidence, *Cybiurn*, 27(4): 287-305.
- Roberts, T.R. 1989. The Freshwater Fishes of Western Borneo (Kalimantan Barat). *Mem. Calif. Acad. Sci*, 14: 1-210.
- Voris, H.K. 2000. Map of Pleistocene Sea Levels in Southeast Asia: Shorelines, River System and Time Durations. *J. Biogeogr.*, 27: 1153-11667.
- Yue, G.H., Liew, W.C., and Orban, L. 2006. The Complete Mitochondrial Genome of A Basal Teleost, the Asian Arowana (*Scleropages formosus*, Osteoglossidae), *BMC Genomics*, 7: 242
- Yue, G.H., Chen, F., and Orban, L. 2000. Rapid Isolation and Characterization of Microsatellites From the Genome of Asian Arowana (*Scleropages formosus*, Osteoglossidae, Pisces). *Mol. Ecol*, 9: 1007-1009.
- Yue, G.H., Li, Y., Lim, L.C., and Orban, L. 2004. Monitoring the Genetic Diversity of Three Asian Arowana (*Scleropages formosus*) Captive Stocks Using AFLP and Microsatellites, *Aquaculture*, 237: 89-102.
- Yue, G.H., and Orban, L. 2001. Rapid Isolation of DNA From Fresh and Preserved Fish Scale for Polymerase Chain Reaction. *Mar Biotechnol*, 3: 199-204