



Validasi Spesies Undur-Undur Laut Berdasarkan Penanda Molekuler 16s rRNA dari Perairan Bantul dan Purworejo

(*Species Validation of Mole Crabs Based on Molecular Marker of 16s rRNA from Bantul and Purworejo waters*)

Nurlisa A Butet, Inge Anggraeni Bela Putri Dewi, Zairion, Agus Alim Hakim*

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

ARTIKEL INFO

Article History

Received: 08 September 2019

Accepted: 09 November 2019

Kata Kunci:

16S rRNA, gen, identifikasi, jarak genetik, pohon filogenik.

Keywords:

16S rRNA, gene, identification, genetic distance, phylogenetic tree.

Korespondensi Author

Agus Alim Hakim,
Departemen Manajemen
Sumberdaya Perairan, Fakultas
Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor.
Email:
agusalimhakim0@gmail.com

ABSTRAK

Undur-undur laut hidup pada habitat intertidal pantai berpasir. Identifikasi spesies akuatik sering mengalami kesalahan yang diakibatkan oleh fenomena *cryptic* spesies, sehingga diperlukan teknik identifikasi dengan pendekatan molekuler yaitu DNA *barcoding*. Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi dan menganalisis hubungan kekerabatan dari undur-undur laut berdasarkan marka molekuler gen 16S rRNA dari perairan Bantul dan Purworejo. Kit komersil berupa *Gene Aid* digunakan untuk isolasi dan ekstraksi DNA dan dihasilkan tiga DNA total dari setiap lokasi. DNA total dengan kualitas baik dilanjutkan pada proses amplifikasi menggunakan teknik PCR dengan primer 16S rRNA. Hasil sekuen gen 16S rRNA sampel undur-undur laut disejajarkan dengan beberapa sekuen dengan spesies lain dari genus *Emerita*, *Scylla*, dan *Portunus* yang berasal dari *GeneBank*. Validasi spesies dilakukan dengan menggunakan BLASTn. Jarak genetik dan pohon filogenik didapatkan dari program MEGA 5.0. Sampel undur-undur laut yang berasal dari Bantul dan Purworejo tidak berbeda nyata dan sampel berasal dari sumber genetik yang sama.

ABSTRACT

*Mole crabs live in intertidal areas of sandy beaches. Identification of aquatic species is often due misidentification cause by the cryptic phenomenon, so it is needed identification technique with a molecular approach by DNA barcoding. The study was purposed to validity and analyze kinship of the mole crabs based on 16S rRNA molecular marker from Bantul and Purworejo waters. Commercial kit of Gene Aid was used to isolation and extraction of DNA and was produced three total DNA from each location. DNA total with good quality was continued to amplified process using PCR technique with a primer of 16S rRNA. Sequence products of 16S rRNA gene were aligned with several sequences of species other from genus *Emerita*, *Scylla*, and *Portunus* that was found from GenBank. Species validation was performed using BLASTn. Genetic distance and phylogenetic tree were obtained MEGA 5.0 program. The samples of mole crab from Bantul and Purworejo were insignificantly different and the samples were from the same genetic sources.*

PENDAHULUAN

Undur-undur laut adalah salah satu jenis *crustacea* anggota famili Albuneidae dan Hippidae (Boyko dan Harvey 1999) dari ordo decapoda. Menurut Mashar dan Wardiatno (2013), undur-undur laut hidup pada daerah intertidal pantai berpasir. Undur-undur laut memiliki kebiasaan menggali dan masuk ke dalam pasir dalam mempertahankan hidup dari predator (Muzammil *et al.* 2015). Kelompok spesies ini memiliki peran ekologi di ekosistem intertidal sebagai salah satu konsumen tingkat pertama (Nugraha *et al.* 2018). Selain itu, undur-

undur laut memiliki peran ekonomi yaitu dijadikan sebagai umpan untuk memancing ataupun dapat diolah menjadi makanan (Bhagawati *et al.* 2016). Salah satu spesies undur-undur laut yang biasa digunakan sebagai bahan dasar olahan makanan yaitu undur-undur laut beton (*Emerita emeritus*).

Undur-undur laut dapat ditemukan di beberapa perairan Indonesia seperti Barat Sumatera dan selatan Jawa (Mashar dan Wardiatno 2016). Di pantai selatan Jawa, undur-undur laut tersebar di beberapa wilayah diantaranya yaitu Kebumen (Mashar dan Wardiatno 2013), Yogyakarta (Mursyidin 2007),

dan Purworejo (Nugraha *et al.* 2018).

Undur-undur laut juga terdapat di pantai Purworejo dan Bantul. Di pantai berpasir Purworejo telah ditemukan tiga spesies undur-undur laut yaitu *Albunea symmysta*, *Hippa adactyla*, dan *Emerita emeritus* (Nugraha *et al.* 2018). *Emerita emeritus* merupakan spesies yang memiliki kelimpahan tertinggi dibandingkan dengan spesies lain yang ditemukan di Purworejo.

Identifikasi spesies pada biota laut sering mengalami kesalahan yang disebabkan oleh fenomena *cryptic species*. Menurut Bickford *et al.* (2006), *cryptic species* adalah dua atau lebih spesies yang sebenarnya berbeda namun diklasifikasikan menjadi satu nama spesies yang diakibatkan oleh karakter morfologi yang samar atau mirip. Identifikasi berdasarkan morfologi merupakan identifikasi yang umum dan sering digunakan. Akan tetapi, metode ini dikhawatirkan memunculkan hasil yang tidak akurat. Oleh sebab itu, diperlukan identifikasi dengan pendekatan lain untuk mendapat hasil yang akurat.

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai Maret hingga April 2019. Sampel undur-undur laut diambil dari perairan Pantai Bantul dan Purworejo yang ditunjukkan pada Gambar 1. Identifikasi secara morfologi maupun molekuler dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Akuatik, MSP, FPIK, IPB.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel undur-undur laut dilakukan secara manual dan menggunakan alat

tangkap serok dibantu oleh nelayan lokal. Sampel undur-undur laut kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel dan diawetkan dengan alkohol 96%. Selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dilakukan analisis morfologi dan molekuler.

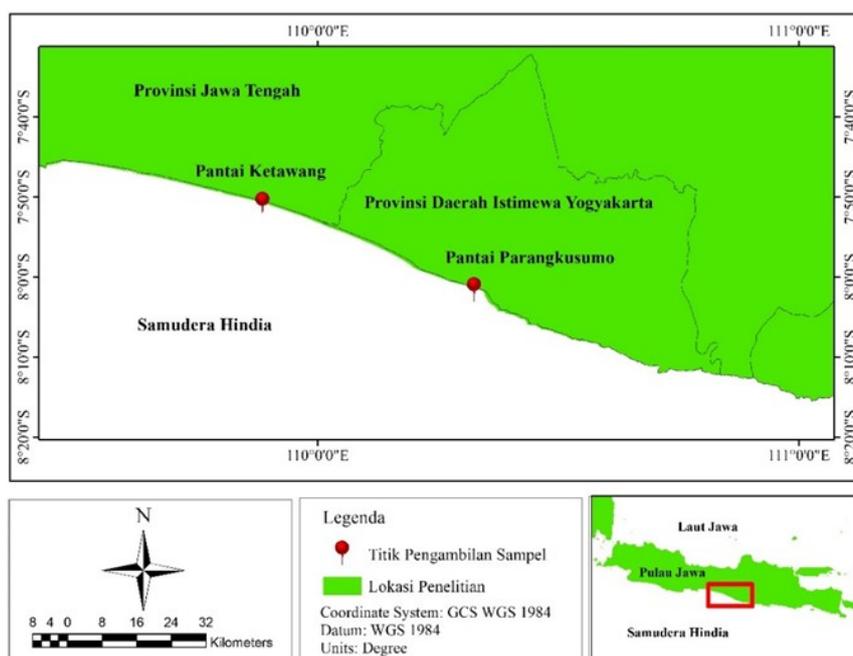
Identifikasi morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan dengan mengacu pada Boyko dan Harvey (1999). Karakteristik morfologi diamati untuk melihat kemiripan maupun kesamaan ciri morfologi sampel untuk memastikan kesamaan sampel tersebut dengan spesies yang telah diidentifikasi sebelumnya oleh Boyko dan Harvey (1999).

Analisis molekuler

Sebanyak 5 sampel diambil dari masing-masing lokasi untuk dilakukan analisis molekuler. Preparasi sampel dilakukan untuk menghilangkan pengaruh alkohol dengan menggunakan akuades. Jaringan yang digunakan untuk analisis berasal dari otot kaki. Isolasi dan ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan kit komersil berupa *Gene Aid* dengan protocol sesuai manual pabrik. Bobot jaringan yang digunakan sebanyak 30 mg.

DNA total hasil ekstraksi dilakukan pengujian kualitas dengan metode elektroforesis. Tahap elektroforesis menggunakan *agarose* 1,2% yang terdiri dari *agarose* (1,2 gram), larutan *buffer* TAE 1x (100ml), dan larutan *fluorescence* (5 µL). Proses elektroforesis digunakan pemberat (*loading dye*) sebanyak 0,5 µL yang telah dicampur dengan DNA total sebanyak 2,5 µL. Setelah dimasukkan ke dalam gel (sumur), mesin dinyalakan dengan tegangan sebesar 100v selama



Gambar 1 Lokasi pengambilan sampel undur-undur laut di Pantai Bantul dan Purworejo

25 menit. Kemudian dilakukan visualisasi menggunakan sinar UV (ultraviolet) sehingga pita DNA dapat dibaca.

Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan hasil elektroforesis pada sampel dengan kualitas DNA yang baik. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan fragmen gen 16S rRNA melalui teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan kit komersil *My Tag HS Red Mix*. Proses amplifikasi mengacu pada penelitian Hakim (2014) dengan beberapa modifikasi. Tahap amplifikasi meliputi predenaturasi dengan suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi dengan suhu 94°C selama 45 detik, *annealing* dengan suhu 46°C selama 45 detik, *elongasi* dengan suhu 72°C selama 1 menit, *pascaelongasi* dengan suhu 72°C selama 5 menit. Dalam proses *annealing*, primer yang digunakan berupa primer universal untuk biota akuatik (Butet 2013, *unpublish data*).

Produk PCR dilakukan elektroforesis menggunakan gel agaros (1,2%) dan divisualisasi menggunakan mesin ultraviolet (UV). Hasil pita DNA dengan hasil baik selanjutnya dapat dijadikan sebagai cetakan pada proses sekuensing. Sekuensing basa nukleotida untuk mendapatkan gen target dilakukan dengan mengirim produk PCR yang berkualitas ke perusahaan jasa sekuensing First Base.

Analisis Data

Hasil sekuensing diedit dan diolah berupa pensejajaran, perhitungan jarak genetic, dan kontruksi pohon filogeni menggunakan aplikasi MEGA 5 (Tamura *et al.* 2011). Pensejajaran urutan nukleotida dilakukan dengan menggunakan metode Clustal W (Thompson *et al.* 1994). Sekuen DNA gen 16S rRNA dihasilkan dari runtutan nukleotida dengan menempelkan urutan basa primer *forward* dan *reverse*.

Urutan basa nukleotida yang telah dihasilkan kemudian divalidasi menggunakan BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool – nucleotide*) yang berada di GenBank. BLASTn merupakan menu yang digunakan untuk membandingkan

urutan basa nukleotida hasil penelitian dengan data yang terdapat di situs NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Situs tersebut mencocokkan dan menampilkan spesies dengan karakteristik yang mendekati hasil basa nukleotida sampel.

Sekuen gen 16S rRNA undur-undur laut dilakukan pensejajaran antar sampel dari Bantul dan Purworejo sebagai *ingrup*. Selain itu, sekuen gen 16S rRNA sampel disejajarkan dengan beberapa spesies undur-undur laut dari genus *Emerita*, *Portunus*, dan *Scylla*. Sekuen tersebut meliputi *Emerita talpoida* (KT959521.1), *E. emeritus* (AY583898.1), *E. benedicti* (KP091501.1), *E. brasiliensis* (KP091484.1), *Scylla olivacea* (AF109321.1), *S. paramamosain* (AY841366.1), *Portunus trituberculatus* (FJ919807.1), dan *P. pelagicus* (DQ388052.1).

Perhitungan jarak genetik dihasilkan melalui analisis persamaan dan perbedaan basa nukleotida dengan metode *pairwise distance*. Hasil dari analisis tersebut berupa data yang jarak genetik yang berbentuk matriks. Data tersebut digunakan sebagai dasar kontruksi pohon filogeni yang digunakan dalam menentukan hubungan kekerabatan. Pohon filogeni dikonstruksi berdasarkan metode *Neighbour Joining* dengan *Bootstrap* 1000 kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Identifikasi morfologi

Secara morfologi, contoh undur-undur laut dari perairan Bantul dan Purworejo (Gambar 2) adalah spesies *Emerita emeritus* (Linnaeus, 1767). Spesies tersebut memiliki ruas kaki pertama berbentuk sederhana yang digunakan untuk berjalan. Selain itu mempunyai alat gerak berbentuk sungut dengan panjang setidaknya sama dengan karapas, dengan bulu padat menutupi bagian perut. Lebar ruas kaki pertama kurang dari 2 kali panjang punggung yang dilindungi dengan liki duri. Pereopod I memiliki duri sepanjang



a



b

Gambar 2 Pereopod I (a) bagian kanan dan (b) bagian kiri

Setengah dari batas perut (Gambar 2). Hasil dari penelitian ini didapatkan rasio badan dan Pereopod I sebesar 3 : 2 cm.

DNA total

Isolasi dan ekstraksi DNA lima contoh dari masing-masing lokasi menghasilkan tiga contoh dari perairan Bantul maupun perairan Purworejo dengan kualitas DNA yang baik maupun kurang baik. Pengujian kualitas DNA total untuk dilakukan dengan gel agarose (1,2%). Contoh dengan kode Pur001, Pur002, Pur003, Ban001, Ban002, dan Ban003 memiliki kualitas yang baik. Hal ini ditunjukkan melalui kemunculan pita DNA yang terang, (Gambar 3). Kualitas DNA total yang baik layak dilanjutkan untuk proses amplifikasi melalui teknik PCR.

Amplifikasi dan visualisasi fragmen DNA gen 16S rRNA

Amplifikasi fragmen DNA pada gen 16S rRNA melalui penempelan primer dengan suhu optimum, yaitu 46°C (Gambar 4). 6 contoh unduryang terdiri dari tiga contoh pada masing-

masing lokasi yang sudah berhasil diamplifikasi dengan ditunjukkan adanya pita DNA yang berwarna putih terang, yang selanjutnya dilakukan proses sekuensing. Ukuran produk PCR berkisar yang dihasilkan berkisar antara 500 -600 bp.

Pensejajaran sekuen nukleotida

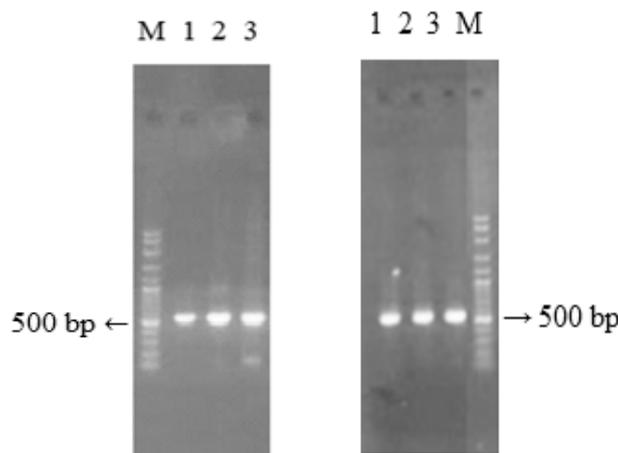
Hasil dari pensejajaran sekuen-sekuen nukleotida pada gen 16S rRNA dari penelitian ini didapatkan panjang nukleotida sebesar 514 bp. Pensejajaran sekuen nukleotida juga dilakukan pada gen 16S rRNA contoh dengan *Emerita emeritus*, *E. brasiliensis*, *E. talpoida*, *E. benedicti*, *Scylla olivacea*, *S. paramamosain*, *Portunus trituberculatus*, dan *P. pelagicus* menghasilkan *singleton* sebesar 8,75% (45/514), *variable* sebesar 36,38% (187/514), dan *conserved* sebesar 63,42% (326/514).

Validasi urutan basa nukleotida

Sekuen nukleotida gen 16s rRNA contoh yang diunggah ke *Basic Alignment Search Tool nucleotide* (BLASTn) yang terdapat di situs



Gambar 3 Visualisasi DNA total contoh pada gel agarose 1,2% (1: Pur001, 2: Pur002, 3: Pur003, 4: Ban001, 5: Ban002, dan 6: Ban003) (a) Purworejo dan (b) Bantul



Gambar 4 Visualisasi produk PCR gel agarose 1,2% (M: marker, 1: Pur001, 2: Pur002, dan 3: Pur003), Pur (Purworejo); (1: Ban001, 2: Ban002, 3: Ban003, dan M: marker), Ban: Bantul

National Center for Biotechnology Information (NCBI) telah dipastikan kebenaran nama spesies hewan contoh. Contoh dari penelitian memiliki kedekatan dengan spesies *Emerita emeritus* (AY583898.1) sebesar 95,43%

Jarak genetik

Jarak genetik fragmen gen 16S rRNA pada contoh penelitian pada kedua lokasi (Bantul dan Purworejo) mempunyai hubungan kekerabatan yang sangat dekat, hal tersebut ditunjukkan oleh nilai jarak genetik sebesar 0,0000-0,0021. Jarak genetik contoh dengan *E. emeritus* (AY583898.1) sebesar 0,0293. Jarak genetik contoh dengan *E. brasiliensis* (KP091484.1), *E. talpoida* (KT959521.1), dan *E. benedicti* (KP091501.1) berturut-turut dengan nilai 0,0983; 0,1088; dan 0,0941. Jarak genetik contoh dengan spesies *outgroup* terjauh dihasilkan nilai sebesar 0,2531 yaitu dengan *P. pelagicus* (DQ388052.1) (Tabel 1).

Pohon filogeni

Pohon filogenik yang dikonstruksikan menggunakan MEGA 5.0 didasarkan oleh jarak genetik dengan *bootsrapp* 1000 kali, menunjukkan hasil *ingroup* antar spesies yaitu contoh dari lokasi Bantul dan Purworejo memiliki hubungan kekerabatan yang sangat erat. Hal tersebut menunjukkan bahwa contoh dari Bantul tidak terpisah secara nyata dengan Purworejo (Gambar 5). Hubungan kekerabatan antara contoh dengan *E. emeritus* (AY583898.1) memiliki nilai

jarak genetik sebesar 0,0293. Hasil dari pohon filogenik contoh dengan *E. benedicti*, *E. talpoida*, *E. brasiliensis* terpisah nyata, sedangkan hasil *outgroup* antara undur-undur laut terpisah nyata dengan genus *Portunus* dan genus *Scylla*.

Nukleotida spesifik gen 16S rRNA

Hasil pensejajaran urutan nukleotida gen 16S rRNA contoh dari Bantul dengan Purworejo tidak memiliki nukleotida spesifik. Munculnya nukleotida spesifik pada pensejajaran antara contoh dari kedua lokasi dengan *E. emeritus* (AY583898.1) sebanyak 13 nukleotida spesifik. Nukleotida tersebut berada pada situs ke 4, 42, 90, 91, 99, 142, 220, 257, 262, 270, 336, 496 dan 499. Beberapa situs spesifik tersebut menunjukkan adanya penciri khusus pada populasi, individu maupun spesies.

Situs mutasi gen 16S rRNA undur-undur laut

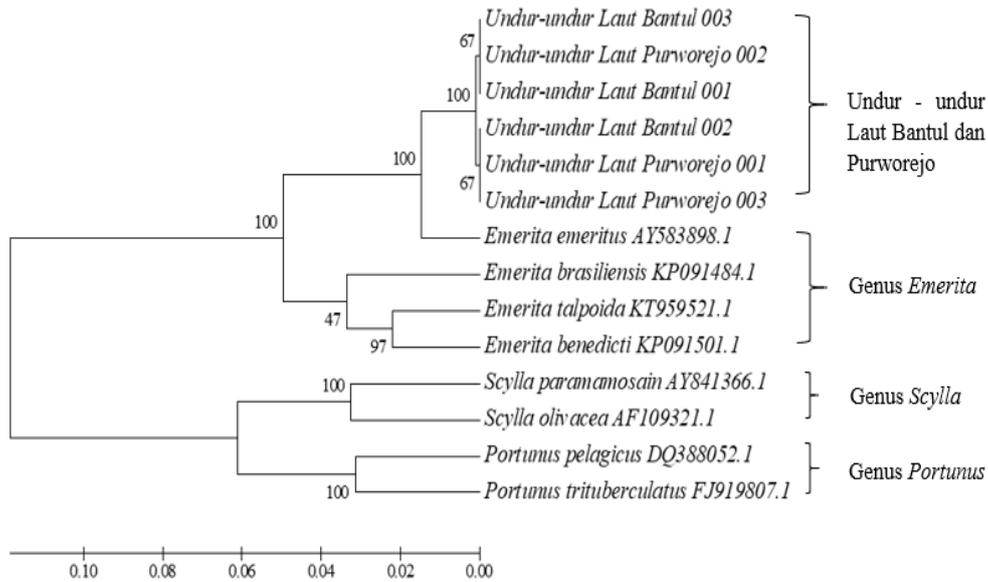
Hasil pensejajaran urutan nukleotida gen 16S rRNA contoh dengan *E. emeritus* terdapat 7 situs mutasi yaitu pada situs ke 33, 467, 481, 488, 500, 501, dan 502.

Pembahasan

Identifikasi spesies merupakan tahapan awal yang penting dalam menentukan kepastian taksonomi suatu jenis spesies, karena kepastian spesies sangat diperlukan dalam pengelolaan dan konservasi sumberdaya (Triapriyanti 2016). Identifikasi secara morfologi didapatkan bahwa contoh undur-undur laut pada lokasi penelitian

Tabel 1 Jarak genetik gen 16S rRNA pada contoh undur-undur laut, *Emerita emeritus*, *E. brasiliensis*, *E. benedicti*, *E.talpoida*, *S. olivacea*, *S. paramamosain*, *Portunus trituberculatus*, dan *P. pelagicus* dengan menggunakan metode *pairwise distance*

Spesies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
(1) <i>S. paramamosain</i> AY841366.1														
(2) <i>Scylla olivacea</i> AF109321.1	0,0649													
(3) <i>P. pelagicus</i> DQ388052.1	0,1318	0,1423												
(4) <i>P. trituberculatus</i> FJ919807.1	0,1046	0,1109	0,0628											
(5) <i>E. brasiliensis</i> KP091484.1	0,2050	0,2092	0,2427	0,2218										
(6) <i>E. talpoida</i> KT959521.1	0,2155	0,2218	0,2427	0,2197	0,0753									
(7) <i>E. benedicti</i> KP091501.1	0,1987	0,2029	0,2280	0,2071	0,0586	0,0439								
(8) <i>E. emeritus</i> AY583898.1	0,2301	0,2448	0,2552	0,2406	0,0900	0,1088	0,0900							
(9)Undur-undur Laut Bantul 001	0,2427	0,2510	0,2531	0,2406	0,0983	0,1088	0,0941	0,0293						
(10)Undur-undur Laut Bantul 002	0,2406	0,2490	0,2510	0,2385	0,0962	0,1067	0,0921	0,0293	0,0021					
(11)Undur-undur Laut Bantul 003	0,2427	0,2510	0,2531	0,2406	0,0983	0,1088	0,0941	0,0293	0,0000	0,0021				
(12)Undur-undur Laut Purworejo 001	0,2406	0,2490	0,2510	0,2385	0,0962	0,1067	0,0921	0,0293	0,0021	0,0000	0,0021			
(13)Undur-undur Laut Purworejo 002	0,2427	0,2510	0,2531	0,2406	0,0983	0,1088	0,0941	0,0293	0,0000	0,0021	0,0000	0,0021		
(14)Undur-undur Laut Purworejo 003	0,2406	0,2490	0,2510	0,2385	0,0962	0,1067	0,0921	0,0293	0,0021	0,0000	0,0021	0,0000	0,0021	



Gambar 5 Kontruksi pohon filogeni berdasarkan gen 16S rRNA pada contoh Undur-undur Laut, *Emerita emeritus*, *Emerita benedicti*, *Emerita talpoida*, *Emerita brasiliensis*, *Scylla paramamosain*, *Scylla olivacea*, *Portunus pelagicus*, dan *Portunus trituberculatus*

adalah spesies *Emerita emeritus* (Linnaeus 1767). Hasil identifikasi morfologi dilakukan dengan mengacu pada Boyko dan Harvey (1999). Hasil identifikasi morfologi tersebut dilakukan validasi melalui basa nukleotida fragmen gen 16S rRNA menggunakan BLASTn pada situs NCBI sehingga fragmen tersebut telah dipastikan kedekatannya dengan spesies yang ada di *GenBank*.

Hebert *et al.* (2003) menyatakan bahwa spesies dikatakan berbeda apabila memiliki jarak genetik lebih besar dari 3%. Hasil BLASTn sekuen nukleotida gen 16S rRNA contoh memiliki kedekatan dengan spesies *Emerita emeritus* (AY583898.1) dari *Genbank* sebesar 95,43%. Hal ini diduga karena adanya mutasi pada basa nukleotida antara contoh dengan data yang berada pada *GenBank*. Penelitian Ramadhan (2019) menggunakan penanda genetik COI pada undur-undur laut dari lokasi yang sama (Bantul dan Purworejo), didapatkan kemiripan 96% dengan *E. emeritus* dengan akses nomor (AF246159.1). Contoh pada penelitian ini memiliki potensi sebagai spesies yang tidak sama dari spesies *E. emeritus* (AY583898.1).

Jarak genetik dapat digunakan untuk menentukan kedekatan antar spesies maupun intraspecies (Sahara *et al.* 2015). Jarak genetik contoh dari perairan Bantul dan Purworejo menunjukkan nilai dengan kisaran 0,0000-0,0021. Hubungan genetik antar populasi digambarkan melalui nilai jarak genetik, dimana jarak genetik yang rendah menggambarkan adanya kedekatan hubungan genetik (Kusuma 2014). Oleh karena itu, contoh dari perairan Bantul dan Purworejo

diduga berasal dari satu unit populasi yang sama. Nilai jarak genetik antara contoh penelitian dengan *E. emeritus* (AY583898.1) sebesar 0,0293. Penelitian ini didapatkan potensi kedekatan spesies yang berbeda, namun tidak menutup kemungkinan bahwa spesies contoh adalah *E. emeritus*. Nilai tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan geografis maupun sumber genetik. Wirdateti *et al.* (2016) menyatakan bahwa perbedaan letak geografis dapat mempengaruhi kondisi genetik. Nilai jarak genetik antara contoh dengan *outgroup* terjauh yaitu sebesar 0,2531, sehingga contoh penelitian dengan *outgroup* adalah spesies yang berbeda. *Outgroup* digunakan dalam menyusun hubungan kekerabatan dengan fungsi sebagai kontrol dan pembandingan (Subositi dan Widodo 2010).

Pohon filogeni dibangun dari nilai jarak genetik yang kemudian dapat menggambarkan hubungan kekerabatan antar spesies maupun subspecies. Menurut Lubis (2014), hubungan kekerabatan antar spesies dapat diduga melalui pohon filogenetik. Berdasarkan konstruksi pohon filogeni, contoh dari Bantul dan Purworejo berada dalam satu *clade* atau tidak terpisah secara nyata. Hal ini menunjukkan bahwa populasi dari Bantul dan Purworejo mempunyai hubungan kekerabatan yang sangat erat. Populasi di Bantul dan Purworejo diduga berasal dari satu sumber genetik yang sama, sehingga masih membawa karakter asli dari nenek moyangnya.

Tingkat kepercayaan pohon filogeni ditentukan berdasarkan jumlah *bootstrap* yaitu 100 hingga 1000 (Hall 2001 in Pangestika *et al.* 2015). Menurut Ubaidillah dan Sutrisno (2009) in

Pangestika *et al.* (2015), nilai *bootstrap* yang tinggi menyebabkan tingginya nilai kepercayaan topologi dari hasil pohon yang direkonstruksi. Nilai *bootstrap* 100 memiliki hubungan kekerabatan yang erat (Muzammil 2015). Hal ini menggambarkan populasi contoh di Bantul menghasilkan hubungan kekerabatan yang dekat dengan di Purworejo. Konstruksi pohon filogenik contoh dengan *outgroup*, menunjukkan terjadinya pemisahan yang jelas antar contoh dengan *E. emeritus* pada *GenBank*. Selain itu, hasil konstruksi pohon filogenik menggambarkan pemisahan yang jelas antara genus *Emerita* dengan genus *Portunus* dan genus *Scylla*.

Perbandingan urutan nukleotida gen 16S rRNA contoh dengan *E. emeritus* terdapat tujuh situs mutasi. Situs mutasi tersebut adalah basa nukleotida yang mengalami perubahan berupa insersi yang memunculkan situs spesifik pada individu. Sehingga terdapat situs spesifik pada perbandingan contoh dengan *E. emeritus* (AY583898.1).

Urutan basa nukleotida pada contoh dari Bantul dan Purworejo tidak memiliki situs spesifik. Hal ini menunjukkan tidak ada penciri pembeda antara contoh pada kedua perairan tersebut. Hal tersebut juga memperkuat perkiraan bahwa contoh dari Bantul dan Purworejo adalah satu unit populasi yang sama.

Kemiripan sekuen basa nukleotida yang tinggi/jarak genetik yang rendah antara contoh dari Bantul dan Purworejo, menandakan kedua populasi berasal dari satu sumber genetik nenek moyang yang sama. Kemiripan karakteristik sekuen basa nukleotida gen 16S rRNA Bantul dan Purworejo menunjukkan populasi yang sama, sehingga dapat ditentukan pengelolaan yang sama seperti konservasi maupun pengelolaan sumberdaya undur-undur laut lainnya. Undur-undur laut yang berasal dari kedua lokasi yang berbeda tersebut dapat saling ditranslokasikan melalui prasyarat apabila terjadi penurunan atau berkurangnya populasi di salah satu lokasi.

KESIMPULAN

Karakteristik morfologi undur-undur laut dari perairan Bantul dan Purworejo memiliki kemiripan dengan *Emerita emeritus*. Hasil validasi molekuler dengan penanda gen 16S rRNA menunjukkan kemiripan 95,43% dengan *E. emeritus* (AY583898.1), sehingga contoh berpotensi sebagai spesies yang tidak sama. Kemiripan yang tinggi pada undur-undur laut di kedua lokasi mengindikasikan bahwa kedua populasi memiliki kesamaan asal sumber genetik.

DAFTAR PUSTAKA

Bhagawati D, Anggoro S, Zainuri M, Sya'rani L.

2016. Ethnotaxonomical study of mole crab (Crustace: Hippidae) on coastal community of Cilacap. *biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 8(2): 222-231.
- Bickford D, Lohman DJ, Sodhi NS, Ng PKL, Meier R, Winker K, Ingram KK, Das I. 2006. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*. 22(3): 148-155.
- Boyko CB, Harvey AW. 1999. Crustacea Decapoda: Albuneidae and Hippidae of the tropical Indo-West Pacific region, in Crosnier A. (ed.), *Resultats des campagnes MUSORSTOM. Memoires du Museum national d'Histoire naturelle*. 20(180): 379-406.
- Hakim AA. 2014. Identifikasi molekuler undur-undur laut dari perairan pantai Cilacap Berdasarkan Marka Gen Cytochrome Oxidase Subunit I (COI) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, De Waard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 270: 313-321.
- Kusuma AB. 2014. Konektivitas dan keragaman genetik pada karang lunak *Sarcophyton trocheliophorum* serta implikasinya terhadap kawasan konservasi laut [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Lubis K. 2014. Cara pembuatan pohon filogeni. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. 20 (75): 66-69.
- Mashar A, Wardiatno Y. 2013. Aspek pertumbuhan undur-undur laut, *Emerita emeritus* dari pantai berpasir Kabupaten Kebumen. *Jurnal Biologi Tropis*. 13(1): 29-38.
- Mashar A, Wardiatno Y. 2016. Biomassa sesaat perikanan undur-undur laut (Crustacea: Decapoda: Hippidae) di pantai berpasir Cilacap dan Kebumen Jawa Tengah. *Marine Fisheries*. 7(2): 211-218.
- Mursyidin DH. 2007. Kandungan asam lemak omega 6 pada ketam pasir (*Emerita* spp) di pantai Selatan Yogyakarta. *BIOSCIENTIAE*. 4(2) : 79-84.
- Muzammil W. 2015. Analisis populasi undur-undur laut *Hippa adactyla* Fabricius, 1787 (Crustacea: Hippidae) berdasarkan pendekatan morfometrik dan genetik dipantai berpasir Cilacap dan Kebumen [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Muzammil W, Wardiatno Y, Butet NA. 2015. Rasio panjang-lebar karapas, pola pertumbuhan, faktor kondisi, dan faktor kondisi relatif kepiting pasir (*Hippa adactyla*) di pantai berpasir Cilacap dan Kebumen. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 20(1): 78-84.

- Nugraha OT, Suryanti, Rodyanti S. 2018. Karakteristik habitat dan kelimpahan undur-undur laut (Hippoidea) di pantai Puworejo. *Journal of Fisheries and marine Science*. 2 (2): 56-67.
- Pangestika Y, Budiharjo A, Kusumaningrum HP. 2015. Analisis filogenik *Curcuma zedoaria* (Temu Putih) berdasarkan gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Biologi*. 4 (4): 8-13.
- Ramadhan BF. 2019. Analisis hubungan filogenetik undur-undur laut di Perairan Pantai Ketawang dan Parangkusumo [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sahara A, Prastowo J, Widayanti R, Kurniasih, Nurcahyo W. 2015. Kekerabatan genetik caplak *Rhiphcephalus* (Boophilus) *microplus* asal Indonesia berdasarkan sekuen internal transcribed spacer-2. *Jurnal Veteriner*. 16(3): 310-319.
- Subositi D, Widodo H. 2010. Hubungan kekerabatan filogenik interspesifik anggota genus *Stevia* berdasarkan gen Maturase K (matK). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 3 (1): 33-41.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Glen S, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28(10): 2731–2739.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix Choice. *Nucleic Acids Research*. 22(22): 4673–80.
- Triapriyanti W. 2016. Identifikasi molekuler gen Cytochrome Oxidase Subunit I (COI) lobster genus *Panulirus* di Yogyakarta: sebagai dasar pengelolaan sumberdaya [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wirdateti, Indriana E, Handayani. 2016. Analisis sekuen DNA mitokondria Cytochrome Oxidase I (COI) mtDNA pada kukang Indonesia (*Nycticebu* spp) sebagai penanda guna pengembangan identifikasi spesies. *Jurnal Biologi Indonesia*. 12(1): 119-128.