

FILOGENI POPULASI *Haliotis squamata* REEVE, 1846 DARI PANTAI SELATAN PULAU JAWA DAN BALI BERDASARKAN SEKUEN CYTOCHROME B DNA MITOKONDRIA

PHYLOGENETIC OF *Haliotis squamata* REEVE, 1846 POPULATION FROM THE SOUTHERN COAST OF JAVA AND BALI ISLAND IN INDONESIA BASED ON CYTOCHROME B MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCE

Syamsul Bachry^{1*}, Dedy D. Solihin¹, Rudhy Gustiano²,
Kadarwan Soewardi³, & Nurlisa A. Butet³

¹Departemen Biologi, FMIPA, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

²Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan, Bogor, 16129, Indonesia

³Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, FPIK, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

*E-mail: syamsulbachry69@yahoo.com

ABSTRACT

Abalone Haliotis squamata Reeve 1846 is an abalone that has distribution on the southern coast of Java and Bali in Indonesia. The purpose of this study was to analyze the phylogenetic relationship of *H. squamata* from the southern coast of Java and Bali based on the cytochrome b (Cyt b) mitochondrial DNA sequence. A total of 38 samples were collected from Java (Binuangeun, Pangandaran, Banyuwangi, and Bali (Buleleng)). Samples were extracted, applied using method PCR, and sequencing the method Sanger sequencing di 1st BASE Malaysia. Using primary sequences to applied namely forward primers forward AB-Cytb DivF (5'-TAAGCCAATTCGTAAGGTTC-3') dan primer reverse AB-Cytb DivR (5'-AAAATACCACTCTGGCTGAA-3'). Genetic distance was analyzed using the Kimura 2-parameter method and phylogenetic tree construction was carried out by Neighbor-Joining using the MEGA 7. The result showed that a specific nucleotide difference of 81 bp to 820 bp. The genetic distance between *H. squamata* intraspecies from the southern coast of Java and Bali is 0.96%-1.06%. This genetic distance is high enough to separate the two populations and form their clusters based on phylogenetic trees. The population of Bali seems to form new subpopulations. The data obtained in this study will be very useful for the management of *H. squamata* abalone genetic resources related to their sustainability and utilization.

Keywords: abalone, Cyt b gen, *Haliotis*, Indonesia, Phylogenetic

ABSTRAK

Abalon *Haliotis squamata* Reeve, 1846 adalah jenis abalon yang memiliki sebaran di perairan laut selatan Jawa dan Bali Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis hubungan filogenetik *H. squamata* asal Pantai Selatan Pulau Jawa dan Bali berdasarkan sekuen gen *Cytochrome b* (Cyt b) DNA mitokondria. Sebanyak total 38 sampel dikoleksi dari Jawa (Binuangeun, Pangandaran, Banyuwangi) dan Bali (Buleleng). Sampel diekstraksi, diamplifikasi menggunakan metode PCR, dan sekuensing dilakukan dengan metode *Sanger sequencing* di 1st BASE Malaysia. Urutan primer yang digunakan dalam amplifikasi yaitu primer *forward* AB-Cytb DivF (5'-TAAGCCAATTCGTAAGGTTC-3') dan primer *reverse* AB-Cytb DivR (5'-AAAATACCACTCTGGCTGAA-3'). Jarak genetik dianalisis menggunakan metode Kimura 2-parameter dan konstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan *Neighbour-Joining* dengan menggunakan program MEGA 7. Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa perbedaan nukleotida spesifik sebesar 81 bp dari 820 bp. Jarak genetik intraspecies *H. squamata* asal perairan selatan Jawa dan Bali sebesar 0,96%-1,06%. Jarak genetik antar populasi asal Jawa dan Bali cukup tinggi sehingga kedua populasi ini memisah dan membentuk klaster sendiri berdasarkan pohon filogenetik. Dengan demikian, populasi Bali sudah mulai membentuk subpopulasi yang baru. Data yang diperoleh dalam penelitian akan sangat berguna untuk pengelolaan sumber daya genetik abalon jenis *H. squamata* terkait dengan kelestarian dan pemanfaatannya.

Kata kunci: abalon, filogenetik, Gen Cyt b, *Haliotis*, Indonesia

I. PENDAHULUAN

Abalon merupakan satu diantara komoditas hasil laut yang memiliki nilai ekonomis penting dengan permintaan dalam jumlah besar terutama di Negara-negara Asia yaitu Jepang, China, Taiwan, Indonesia dan lainnya (Sales & Britz, 2000). Abalon adalah salah satu makanan populer kerajaan China yang mengandung protein tinggi (Dharma, 2009). Hingga saat ini, di Indonesia produksi siput abalon saat ini masih mengandalkan hasil tangkapan di alam.

Terdapat 7 spesies abalon di perairan Indonesia yaitu *Haliotis asinina*, *H. squamata*, *H. varia*, *H. ovina*, *H. glabra*, *H. planata* dan *H. crebrisculpta* (Geiger, 2000; Dharma, 2005). Salah satu spesies abalon Indonesia yang menarik ditelaah adalah *H. squamata*. Spesies ini memiliki sebaran di wilayah perairan selatan Jawa, Bali, Sumbawa (Dharma, 2005; 2009; Susanto *et al.*, 2008), dan Australia (Geiger, 2000). Tersebaranya *H. squamata* di perairan Indonesia diduga karena pengaruh faktor arus yang menyebabkan terjadinya fragmentasi populasi (Palumbi, 1994). Arus memiliki peran penting dalam penyebaran (dispersal) hewan-hewan akuatik seperti abalon karena larva abalon bersifat planktonis yang hidup dengan mengikuti gerakan arus (Nontji, 2005). Adanya gerakan arus menyebabkan larva abalone bergerak atau berpindah ke tempat yang jauh dari populasi utama. Proses terjadinya pemisahan populasi yang besar (induk) dari sub-populasi menjadi populasi tersebut terfragmentasi dan terisolasi reproduksi. Kelompok populasi yang terpisah akan beradaptasi secara fisiologi dan genetik, hal ini seiring dengan perubahan kondisi lingkungan. Hallerman (2003) menyatakan bahwa keragaman fenotipe dipengaruhi oleh faktor interaksi genetik dan lingkungan.

Teknik biologi molekuler merupakan salah satu ilmu yang berkembang pesat saat ini dan sudah banyak digunakan dalam identifikasi spesies. DNA mitokondria (mtDNA) adalah genom yang sering digu-

nakan dalam studi keragaman genetik karena genom ini berevolusi sangat cepat dan dapat digunakan untuk membedakan interspesies dan intraspesies hewan yang berkerabat dekat (Solihin, 1994). Salah satu gen yang sering digunakan dalam identifikasi spesies dan “DNA Barcoding” adalah gen *cytochrome oxydase subunit I* (COI) (Hebert *et al.*, 2003; Hajibabaei *et al.*, 2007). Beberapa penelitian penggunaan gen COI telah berhasil memvalidasi spesies abalon yang diduga mirip dengan spesies abalon yang lain (An *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2004; Gruenthal & Burton, 2008; Wormhoudt *et al.*, 2009). Hasil penelitian Bachry *et al.* (2019) membuktikan perbedaan secara genetik dengan jarak genetik sebesar 16,1% sampai 16,62% pada spesies *H. squamata* asal Jawa dan Bali-Indonesia dan *H. diversicolor* asal Sanya-China. Namun gen COI hanya dapat digunakan sebagai identifikasi spesies (Hebert *et al.*, 2003). Oleh karena itu, dibutuhkan suatu penanda genetik yang dapat membedakan intraspesies dari sebaran wilayah yang berbeda. Adapun syarat kandidat penanda genetik yang akan digunakan dalam membedakan intraspesies adalah bersifat konservatif/lestari dalam spesiesnya dan juga harus menunjukkan kemungkinan pembeda/variabel bagi antar populasinya. Dengan demikian, perbedaan intraspesies yang berasal dari populasi yang berbeda dapat diamati dan diketahui dengan jelas (Bradley & Baker, 2001). Salah satu penanda mtDNA yang berpeluang untuk digunakan dalam penelitian ini adalah gen *cytochrome b* (Cyt b). Penanda genetik ini dapat memberikan informasi perubahan runutan basa-basa nukleotida yang terjadi tidak saja pada tingkatan interspesies tetapi juga pada tingkatan intraspesies (Kirk & Freeland, 2011). Beberapa penelitian yang sudah menggunakan penanda genetik Cyt b dari genom mtDNA pada intraspesies (genus *Haliotis*) (Gruenthal & Burton, 2005; Wormhoudt *et al.*, 2009). Beberapa studi penelitian abalon yang sudah dilakukan dengan menggunakan penanda Cyt b dian-

taranya *H. marmorata* dan *H. tuberculata* (Wormhoudt *et al.*, 2009). *H. sorenseni* (Gruenthal & Burton, 2005). Namun, data genetik spesies *H. squamata* dengan menggunakan Cyt b DNA mitokondria belum pernah dilaporkan di dalam GenBank. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji keragaman genetik interpopulasi *H. squamata* yang ada di perairan Pulau Jawa dan Bali berdasarkan *Cytochrome b* (Cyt b) DNA mitokondria sebagai “DNA Barcoding”.

II. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan dari bulan Desember 2014 sampai Agustus 2016. Sampel *H. squamata* dikoleksi dari perairan selatan Jawa dengan empat populasi, yaitu

Binuangeun, Banten (HSBN, $n=9$); Pangandaran (HSPN, $n=10$); Jawa Barat; Banyuwangi, Jawa Timur (HSBW, $n=9$), sedangkan untuk sampel abalon asal Buleleng, Bali (HSBL, $n=10$) merupakan koleksi dari Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BBRBLPP) Gondol-Bali (*Figure 1*).

2.2. Identifikasi dan Ekstraksi DNA Total

Identifikasi morfologi *H. squamata* mengacu pada Buku Identifikasi *Siput dan Kerang Indonesia (Indonesian shell)* (Dharma, 1988). Sampel yang digunakan adalah bagian jaringan epipodium (antara kaki dan mantel) yang diawetkan dengan menggunakan *ethanol absolute*. Selanjutnya sampel dicuci menggunakan Low TE untuk menghilangkan *ethanol absolute*.

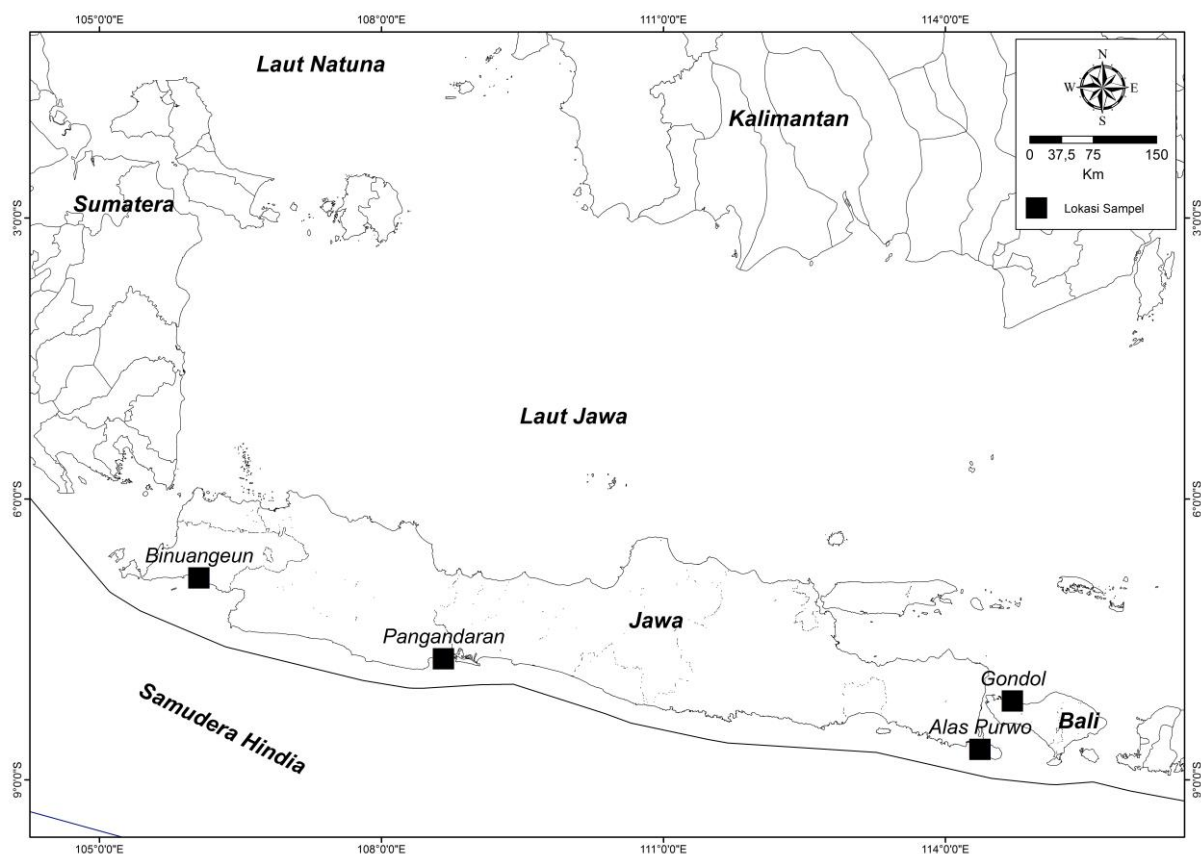


Figure 1. Sampling Location of *Haliotis squamata* population in the southern waters of Java and Bali.

Isolasi DNA total dilakukan dengan menggunakan kit *Dneasy® Blood dan Tissue Kit cat* no 69504 (50) hal ini sesuai dengan prosedur *Spin-Column Protocol* dari Qiagen (2003) dengan modifikasi yaitu pada penambahan *buffer* ATL sebanyak 200 µl, proteinase K 25 µl, *buffer* AL sebanyak 200 µl, dan *ethanol absolute* sebanyak 200 µl. Tahap inkubasi sampel dengan suhu 56 °C dilakukan selama 2 jam.

2.3. Amplifikasi DNA dan Sekuensing

Proses replikasi DNA target melalui amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan primer spesifik yang didesain berdasarkan gen Cyt b parsial *H. diversicolor* (916 bp) dengan menggunakan program Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3>) secara *online*. Hasil desain primer spesifik gen Cyt b, yaitu: AB-Cytb DivF (5'-TAAGCCAATTCGTAAGGTTC-3') dan AB-Cytb DivR (5'-AAAATACCACTCTGGCTGAA-3') dengan target 820 bp.

Amplifikasi DNA dilakukan dengan beberapa tahapan, predenaturasi 95 °C selama 3 menit, dengan 35 siklus untuk denaturasi 95 °C selama 45 detik, *annealing* 49 °C selama 45 detik, *extention* 72 °C selama 1 menit dan final *extention* 72 °C selama 6 menit. Produk PCR dideteksi melalui elektroforesis pada gel agarosa 1,2% menggunakan *buffer* TBE-1x. Produk PCR yang menunjukkan pita *single band* dengan target 820 bp yang kemudian dilanjutkan proses sekuensing di “1st BASE Sekuensing, Malaysia”. Terdapat total 38 sampel yang dilakukan sekuensing

2.4. Analisis Data Genetik

Data sekuensing dikoreksi dan disejajarkan menggunakan *software* MEGA 7.0 (Kumar *et al.*, 2016). Sekuen yang terbaik dari masing-masing populasi dibandingkan dengan sekuen lain pada *Basic Local Alignment Search Tool-nucleotide* (BLASTn) di situs NCBI. Konstruksi jarak

genetik dan rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan metode *Neighbor-joining* dengan *model Kimura 2-parameter* yang diulang dengan menggunakan *bootstraps* 1000 kali. Sekuen *outgrup* dari GenBank yang digunakan adalah *H. diversicolor* (kode akses: BEU244334) asal China. Berdasarkan beberapa informasi menyatakan bahwa spesies abalon *H. squamata* dan *H. diversicolor* memiliki kemiripan secara morfologi (Dharma, 2009; Suriawan *et al.*, 2009; Bachry, 2019). Selain itu dalam situs *World Register of Marine Species* (WoRMS) kedua spesies ini masih dituliskan *H. diversicolor squamata* Reeve, 1846.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil

3.1.1. Identifikasi Berdasarkan Morfologi

Berdasarkan hasil identifikasi dengan acuan Dharma (1988) secara morfologi menunjukkan bahwa sampel abalon dari keempat lokasi (Binuangen, Pangandaran, Banyuwangi dan Buleleng) adalah jenis *H. squamata*.

3.1.2. Analisis Hasil BLASTn

Hasil sekuensing dari 38 sampel melalui *BLASTn* di NCBI menunjukkan rata-rata kemiripan (*identity*) dari empat populasi sebesar 89% dengan *query cover* sebesar 100% (*Table 1*).

3.1.3. Karakteristik dan Variasi Situs Nukleotida Gen Cyt b dari Empat Populasi

Hasil penyejajaran berganda (*multiple alignment*) dari empat populasi *H. squamata* dan *outgrup H. diversicolor* berdasarkan gen Cyt b menghasilkan situs konservatif 730 bp (89,0%), situs bervariasi 90 bp (10,98%), situs parsimoni 9 bp (1,10%) dan situs *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) 81 bp (9,88%).

Dari 90 situs yang bervariasi ditemukan 7 situs penanda genetik, yaitu populasi Banten, Jawa Barat dan Jawa Timur

dicirikan dengan SNP C-C-T, sedangkan Bali dengan SNP T-T-A-C-C. Selain itu, terdapat posisi nukleotida pada tiga lokasi asal Jawa yang terletak pada C442, C508 dan T772 dan Bali terletak pada posisi T442, T508, A553-C595, dan C772 (Table 2). Situs penanda genetik pada kedua populasi tersebut merupakan situs nukleotida spesifik lokasi (*location-specific nucleotide*).

3.1.4. Jarak Genetik

Rata-rata persentase perbedaan jarak genetik pada intraspesies asal Jawa dan Bali dengan menggunakan gen Cyt b adalah sebesar 0,96% sampai 1,06%. Persentase rata-rata jarak genetik pada intraspesies asal Jawa sebesar 0,00% sampai 0,10% dan intrapopulasi asal Bali menghasilkan 0,00% sampai 0,53%. Persentase rata-rata jarak genetik pada interspesies asal Jawa dan China dengan menggunakan gen Cyt b sebesar 11,2% sampai 11,4%, sedangkan persentase jarak genetik gen Cyt b pada interspesies asal Bali dan China sebesar 11,8% (Table 3).

3.1.5. Hubungan Kekkerabatan

Topologi pohon filogenetik gen Cyt b pada interpopulasi *H. squamata* dan *outgrup H. diversicolor* menunjukkan dua klaster. Klaster pertama (I) terdiri dari populasi *H. squamata* asal Jawa (I-a) dan Populasi *H. squamata* asal Buleleng (I-b), sedangkan klaster kedua (II) hanya terdiri dari *outgrup H. diversicolor* yang telah disajikan pada (Figure 2). Pohon filogenetik interpopulasi *H. squamata* menunjukkan dua sub klaster. Sub klaster populasi asal Jawa (I-a) dengan dua haplotipe, terdiri dari populasi asal Banten dan populasi Pangandaran. Haplotipe dua (II-a) terdiri dari populasi asal Banyuwangi. Sub klaster kedua terdiri dari populasi asal Bali (I-b) dengan dua haplotipe. Haplotipe satu (I-b) terdiri dari individu 1, 2, 4 dan 5, sedangkan haplotipe dua (II-b) terdiri dari individu 3, 6, 7, 8, 9 dan 10. Individu-individu asal Banten dan Pangandaran menunjukkan kekerabatan yang dekat dengan individu-individu asal Banyuwangi. Kelompok populasi asal Bali menunjukkan terpisah dengan populasi asal Jawa.

Table 1. BLASTn results from National Center of Biotechnology Information (NCBI).

Number	Location	Province	Number of sample	Query cover (%)	Ident. (%)
1	Binuangeun	Banten	9	100	89
2	Pangandaran	West Java	10	100	89
3	Banyuwangi	East Java	9	100	89
4	Buleleng	Bali	10	100	89

Table 2. Polymorphism nucleotide sites of *H. squamata* abalone populations from Java and Bali.

Species	Access code / sample	The position of nucleotide site							
		11	202	442	508	553	595	772	
<i>Haliotis diversicolor</i>	EU244334	C	C	T	T	G	T	G	
<i>H. squamata</i> (Banten-1)	HSBN-1	.	.	C	C	.	.	T	
<i>H. squamata</i> (Banten-2)	HSBN-2	.	.	C	C	.	.	T	
<i>H. squamata</i> (Banten-8)	HSBN-3	.	.	C	C	.	.	T	
<i>H. squamata</i> (Banten-3)	HSBN-4	.	.	C	C	.	.	T	
<i>H. squamata</i> (Banten-4)	HSBN-5	.	.	C	C	.	.	T	
<i>H. squamata</i> (Banten-5)	HSBN-6	.	.	C	C	.	.	T	
<i>H. squamata</i> (Banten-6)	HSBN-4	.	.	C	C	.	.	T	
<i>H. squamata</i> (Banten-7)	HSBN-5	.	.	C	C	.	.	T	

Species	Access code / sample	The position of nucleotide site						
		11	202	442	508	553	595	772
<i>H. squamata</i> (Banten-9)	HSBN-6	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-1)	HSPN-1	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-2)	HSPN-2	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-3)	HSPN-3	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-4)	HSPN-4	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-5)	HSPN-5	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-6)	HSPN-6	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-7)	HSPN-7	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-8)	HSPN-8	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-9)	HSPN-9	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Pangandaran-10)	HSPN-10	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-1)	HSBW-1	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-2)	HSBW-2	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-3)	HSBW-3	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-4)	HSBW-4	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-5)	HSBW-5	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-6)	HSBW-6	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-7)	HSBW-7	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-8)	HSBW-8	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Banyuwangi-9)	HSBW-9	.	.	C	C	.	.	T
<i>H. squamata</i> (Buleleng-1)	HSBL-1	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng-2)	HSBL-2	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng-4)	HSBL-4	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng-5)	HSBL-5	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng-3)	HSBL-3	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng -6)	HSBL-6	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng -7)	HSBL-7	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng -8)	HSBL-8	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng -9)	HSBL-9	T	T	.	.	A	C	C
<i>H. squamata</i> (Buleleng -10)	HSBL-10	T	T	.	.	A	C	C

Table 3. The average genetic distance of intrapopulation of *H. Squamata*.

Location of Sample	Banten (HSBN)	Pangandaran (HSPN)	Banyuwangi (HSWB)	Buleleng (HSBL)	China (EU244334)
Banten (HSBN)	0.00*	0.00	0.10	1.06	11.2
Pangandaran (HSPN)	0.00	0.00*	0.10	1.06	11.2
Banyuwangi (HSBW)	0.10	0.10	0.00*	0.96	11.4
Buleleng (HSBL)	1.06	1.06	0.96	0.53*	11.8
China (EU244334)	11.2	11.2	11.4	11.8	0.00*

*Genetic distance between individuals in the population (Intraspecies).

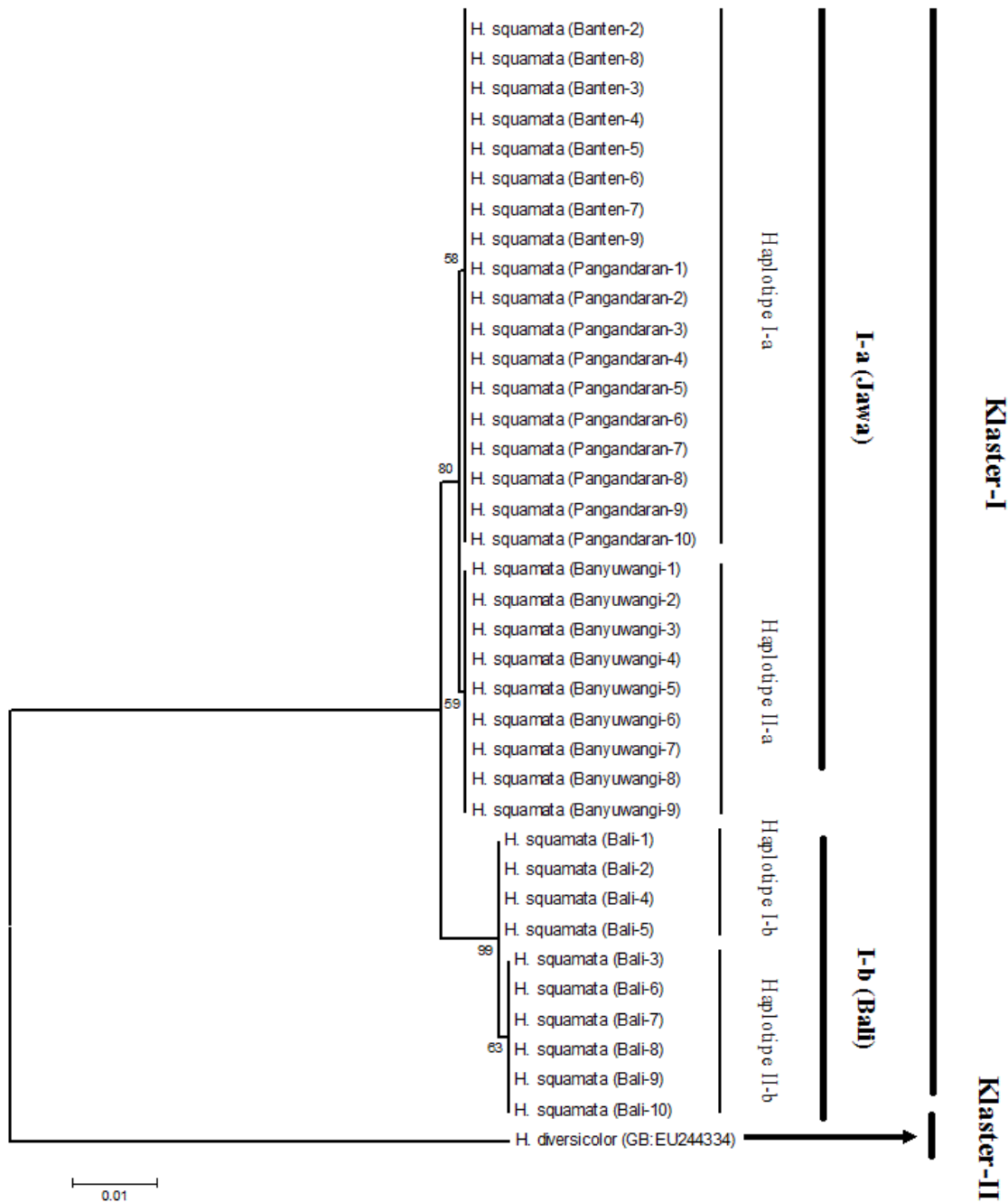


Figure 2. Phylogenetic reconstruction of *H. squamata* populations.

3.2. Pembahasan

Berdasarkan hasil identifikasi morfologi abalon dari ke-empat lokasi menunjukkan bahwa sampel tersebut adalah spesies *H. squamata* (Dharma, 1988). Hal ini juga didukung dari penelitian Bachry *et al.* (2019b) yang menghasilkan bahwa karak-

teristik morfologi spesies *H. squamata* dari ke-empat lokasi menunjukkan ciri khas tertentu seperti pola warna, tekstur dan corak.

Berdasarkan sifatnya, fase larva abalon bersifat planktonis yang mampu melayang di kolom air selama dua minggu, hal ini sesuai dengan kondisi lingkungan

perairan dan aliran arus (Cox, 1962). Umumnya penyebaran larva dapat berada disekitar pemijahan atau terbawa oleh aliran arus ke tempat yang sangat jauh. Larva yang terbawa oleh aliran arus menyebabkan larva terfragmentasi dengan populasi utama menjadi subpopulasi. Dengan demikian, populasi-populasi yang terisolasi tersebut akan mengalami perubahan secara fisiologis dan genetik, seiring dengan kondisi lingkungan.

Hasil identifikasi abalon berdasarkan gen COI menunjukkan bahwa tingkat kesamaan identitas antara interpopulasi *H. squamata* dengan spesies *H. diversicolor superteksta* asal Sanya-China sebesar 86% dengan perbedaan sebesar 14% (Bachry *et al.*, 2019a). Menurut Hebert *et al.* (2003) jika identitas genetik spesies tersebut menunjukkan perbedaan diatas 3% maka spesies tersebut adalah spesies yang berbeda. Hasil tersebut juga didukung dengan penggunaan gen Cyt b dalam penelitian ini yang menunjukkan kesamaan (*similarity*) sebesar 89%. Selain itu ditemukan perbedaan nukleotida atau *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) dari kedua spesies tersebut sebesar 81 bp (9,88%), situs nukleotida parsimoni 9 bp (1,10%) dan situs nukleotida konservatif (89,02%, sepanjang 730 bp) dengan panjang sekuen 820 bp. Hasil penelitian di California telah menemukan tujuh situs informatif pada spesies *H. rufescens* dari tiga populasi (Burton & Tegner, 2000). Wormhoudt *et al.* (2009) pada spesies *H. marmorata* asal Senegal Afrika Barat menemukan enam situs informatif. Tingginya persentase situs konservatif diduga karena individu/sampel tersebut masih berasal dari keturunan nenek moyang (*acentral*) yang sama yaitu *H. squamata*, sehingga situs nukleotida yang lestari (*conserve*) tersebut tetap diturunkan pada generasi berikutnya. Penelitian ini menemukan 7 situs penanda genetik yang membedakan interpopulasi *H. squamata* asal Jawa dan Bali. Posisi situs dan penciri nukleotida tersebut yaitu pada situs ke 11 (C-

T), 202 (C-T), 443 (C-T), 508 (C-T), 553 (G-A), 595 (T-C), dan 772 (T-C). Penelitian An *et al.* (2005) telah menemukan situs nukleotida spesifik pada spesies *H. discus discus* dan *H. madaka* asal Asia-Pasifik. Situs nukleotida spesifik juga ditemukan pada dua spesies yang dibandingkan yaitu *H. sorenseni* dan *H. assimilis* oleh (Gruenthal & Burton, 2005). Munculnya variasi dan situs nukleotida spesifik pada kelompok populasi *H. squamata* diduga karena adanya adaptasi secara fisiologi maupun genetik yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti habitat, ketersediaan makanan dan temperatur (Wang *et al.*, 2004). Selain itu, isolasi reproduksi juga menyebabkan pembentukan struktur genetik pada abalon. Dengan demikian, situs nukleotida spesifik lokasi (*location-specific nucleotide*) ini dapat dijadikan sebagai identitas genetik intra-populasi *H. squamata* asal lokasi Jawa dan Bali.

Berdasarkan jarak genetik menunjukkan bahwa rata-rata jarak genetik intraspesies asal Jawa dan Bali sebesar 0,96% -1,06%. Hal ini menunjukkan bahwa jarak genetik populasi asal Jawa dan Bali cukup tinggi sehingga kedua populasi ini memisah dan membentuk klaster sendiri berdasarkan pohon filogenetik. Perbandingan jarak genetik interpopulasi *H. squamata* dan *outgroup H. diversicolor* sebesar 11,39% atau $\geq 3\%$ karena keduanya merupakan spesies yang berbeda. Pohon filogenetik menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan antara kelompok populasi asal Jawa dan Bali sangat dekat, hal ini diduga karena kedua populasi tersebut berasal dari turunan yang sama. Namun kedua populasi tersebut membentuk dua subklaster yang terpisah. Subklaster pertama terdiri dari populasi asal Jawa yang menghasilkan dua haplotipe. Begitupun dengan populasi asal Bali menunjukkan dua haplotipe. Yuan *et al.* (2009) menemukan tiga haplotipe dominan dari tujuh populasi *Chlamys nobilis* asal perairan Cina selatan dan satu populasi asal Thailand berdasarkan gen 16SrRNA dan COI. Penelitian Gruenthal

& Burton (2008) menemukan satu haplotipe umum dengan susunan haplotipe tunggal dari 11 populasi *H. cracherodii* yang dibandingkan. Terbentuknya dua klaster pada populasi *H. squamata* diduga karena adanya faktor fragmentasi habitat antar populasi yang menyebabkan terjadinya perubahan secara genetik, fisiologi, morfologi dan karakteristik tingkah laku. Faktor tingginya variasi genetik dalam suatu populasi dapat juga dipengaruhi oleh isolasi reproduksi, hal ini karena terjadi kawin secara acak tanpa adanya silang dalam (*inbreeding*). Dengan demikian, populasi Bali sudah mulai membentuk subpopulasi yang baru. Selain itu morfologi abalon asal Jawa dan Bali sudah menunjukkan ciri khas tertentu seperti tekstur, pola warna, dan corak cangkang. Allendorf *et al.* (1987) menyatakan bahwa satu unit reproduksi yang memiliki ciri-ciri genetik yang tidak sama dengan bagian populasi yang lain dikatakan subpopulasi.

Penelitian ini memperlihatkan bahwa individu-individu dalam populasi *H. squamata* yang terpisah berdasarkan gen Cyt b sudah mulai mengalami divergensi genetik, hal ini didukung dengan ditemukan situs nukleotida spesifik lokasi (*location-specific nucleotide*) pada kedua populasi. Dengan demikian, keragaman genetik berdasarkan gen Cyt b pada kedua lokasi tersebut menunjukkan sedikit bervariasi. Asumsi tersebut didukung oleh hasil dari kajian morfometrik dengan analisis PCA menunjukkan bahwa populasi Jawa terpisah dari populasi Bali dengan garis singgungan irisan yang tipis pada grafik kuadran PCA (Bachry *et al.*, 2019b). Saat ini data genetika molekuler gen Cyt b spesies *H. squamata* belum pernah dilaporkan ke dalam situs GenBank-NCBI. Dengan demikian, data genetika molekuler spesies *H. squamata* yang didapatkan akan digunakan sebagai referensi dalam mengkonfirmasi spesies *H. squamata* secara genetik berdasarkan gen Cyt b. Selanjutnya data yang diperoleh

dalam penelitian akan sangat berguna untuk pengelolaan sumber daya genetik abalon jenis *H. squamata* terkait dengan kelestarian dan pemanfaatannya. Lebih lanjut dikatakan bahwa dengan mengetahui identitas genetik dan fenotip spesifik pada abalon tersebut maka pemanfaatan sebagai indikator seleksi calon induk potensial dan strategi membiakkan (*breeding*) sangat penting. Hal ini berkaitan dengan upaya konservasi dan *breeding ex-situ* abalon di alam secara berkelanjutan.

IV. KESIMPULAN

Haliotis squamata dari perairan Indonesia memiliki kesamaan dengan spesies *outgroup H. diversicolor* dari GenBank sebesar 88%-0%. Perbedaan nukleotida spesifik sebesar 81 bp dari 820 bp. Jarak genetik intraspesies *H. squamata* asal perairan selatan Jawa dan Bali sebesar 0,96%-1,06%. Jarak genetik antar populasi asal Jawa dan Bali cukup tinggi sehingga kedua populasi ini memisah dan membentuk sendiri berdasarkan pohon filogenetik. Dengan demikian, populasi Bali sudah mulai klaster membentuk subpopulasi yang baru. Penelitian ini menemukan sembilan situs nukleotida dengan tujuh situs nukleotida spesifik lokasi (*location-specific nucleotide*) pada intraspesies asal Jawa dan Bali.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Pemerintah Indonesia melalui Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI), Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi (Beasiswa BPPDN No.: 1094/E4.4/2013). Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BBRBLPP) Gondol-Bali, serta nelayan, dan pengumpul abalon yang telah memberikan informasi mengenai keberadaan abalon di wilayah Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Allendorf, F.W., N. Ryman, & F. Utter. 1987. Population genetics and fishery management: Past, present, and future. *In*: N. Ryman, and F. Utter (ed). University of Washington Press. Seattle and London. 1-19 pp.
- An, H.S., Y.J. Jee, K.S. Min, B.L. Kim, & S.J. Han. 2005. Phylogenetic analysis of six species of pacific abalone (Haliotidae) based on DNA sequences of 16s rRNA and cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial genes. *Marine Biotechnology*, 7: 373-380. <https://doi.org/10.1007/s10126-004-4405-2>
- Bachry, S., D.D. Solihin, G. Rudhy, S. Kadarwan, & N.A. Butet. 2019a. Genetic diversity of the *Haliotis diversificolor squamata* from Southern Coastal Java (Banten, Pangandaran and Alas Purwo) and Bali Based on Mitochondrial CO1 Sequences. *Tropical Life Sciences Research*, 30(3): 83–93. <https://doi.org/10.21315/tlsr2019.30.3.6>
- Bachry, S., D.D. Solihin, G. Rudhy, S. Kadarwan, & N.A. Butet. 2019b. Morphometric Character and Morphology of Abalone *Haliotis squamata* REEVE 1864 in Coastal Southern Java and Bali. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 11(2): 273-284. <http://doi.org/10.29244/jitkt.v11i1.24672>
- Bradley, R.D. & R.J. Baker. 2001. A Test of the Genetic Species Concept: Cytochrome-B Sequences and Mammals. *J. Mammalogy*, 82(4): 960–973. [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2001\)082<0960:ATOTGS>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2001)082<0960:ATOTGS>2.0.CO;2)
- Burton, R.S. & M.J. Tegner. 2000. Enhancement of red abalone (*Haliotis rufescens*) stocks at San Miguel Island: Reassessing a success story. *Marine Ecology Progress Series*, 202: 303-308. <https://doi.org/10.3354/meps202303>
- Cox, K.W. 1962. *California Abalones, Family Haliotidae*. The Resources Agency of California. Marine Resources Operations Press. State of California. 118 p.
- Dharma, B. 1988. *Siput dan Kerang Indonesia (Indonesian shell)*. PT. Sarana Graha press. Jakarta. 111 p.
- Dharma, B. 2005. *Recent & Fossil, Indonesian Shells*. ConchBooks. Hackenheim-Germany. 424 p.
- Dharma, B. 2009. Moluska unggulan Indonesia sebagai sumber pangan. *Dalam*: Yulianda F *et al.* (edt). *Prosiding Seminar Nasional Moluska 2 "Moluska: peluang bisnis dan konservasi"*, 2009, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 11-12 Februari 2009. IV: 43-63 pp.
- Geiger, D.L. 2000. Distribution and Biogeography of the Recent Haliotidae (Gastropoda: Vetigastropoda) worldwide. *Bollettino Malacologico*, 35: 57-120.
- Gruenthal, K.M. & R.S. Burton. 2005. Genetic diversity and species identification in the endangered white Abalone (*Haliotis sorenseni*). *Conservation Genetic*, 6(6): 929-939. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9079-4>
- Gruenthal, K.M. & R.S. Burton. 2008. Genetic structure of natural populations of the California Black Abalone (*Haliotis cracherodii* Leach. 1814) a Candidate for Endangered Species Status. *J. Experimental Marine Biology Ecology*, 355(1): 47-58.

- <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.11.013>
- Hajibabaei, M., G.A.C. Singer, P.D.N. Hebert, & D.A. Hickey. 2007. DNA Barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *TRENDS in Genetics*, 23(4): 167-172. <http://doi.org/10.1016/j.tig.2007.02.001>
- Hebert, P.D.N., S. Ratnasingham, & J.R. deWaard. 2003. Barcoding Animal Life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London*, 270: S96-S99. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0025>
- Hallerman, E. 2003. *Population genetics: Principles and application for fisheries scientist*. American fisheries Society. USA. 475 p.
- Kirk, H. & J.R. Freeland. 2011. Applications and Implications of Neutral *versus* Non-neutral Markers in Molecular Ecology. *International J. Molecular Sciences*, 12: 3966-3988.
- Kumar, S., G. Stecher, & K. Tamura. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology Evolution*, 33(7): 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Nontji, A. 2005. *Laut Nusantara*. Penerbit Djambatan. Jakarta. 372 p.
- Palumbi, S.R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25: 547-72. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.25.110194.002555>
- Qiagen. 2003. *QIAamp DNA mini kit and DNA blood mini kit handbook*. Germany: Qiagen pr.
- Sales, J. & P.J. Britz. 2001. Research on abalone (*Haliotis midae* L.) cultivation in South Africa. *Aquaculture. Research*, 32(11): 863-874. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00629.x>
- Solihin, D.D. 1994. Peran DNA Mitokondria (mtDNA) dalam studi keragaman genetik dan biologi populasi pada Hewan. *Hayati*, 1(1): 1-4.
- Susanto, A.B., S.R.R. Aryani, & R. Hartati. 2008. *Abalon dan rumput laut*. Penerbit Navila Idea. Yogyakarta. 94 p.
- Wang, Z., K.C. Ho. D.H. Yu. C.H. Ke. W.Y. Mak, & K.H. Chu. 2004. Lack of genetic divergence in nuclear and mitochondrial DNA between subspecies of two *Haliotis* species. *J. Shellfish Research*, 23(4): 1143-1146.
- Wormhoudt, V.A., Y.L. Bras, & S. Huchette. 2009. *Haliotis marmorata* from Senegal; a sister species of *Haliotis tuberculata*: Morphological and molecular evidence. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37(6): 747-755. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.12.020>
- Yuan, T., M. He, & L. Huang. 2009. Intraspecific genetic variation in mitochondrial 16S rRNA and COI genes in domestic and wild populations of Huaguizhikong scallop *Chlamys nobilis* Reeve. *Aquaculture*, 289:19-25. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.004>

Received : 16 June 2020

Reviewed : 23 July 2020

Accepted : 30 August 2020

