

STRUKTUR GENETIK DAN FILOGENI *YELLOWFIN TUNA* (*Thunnus albacares*) BERDASARKAN SEKUEN DNA MITKONDRIA CONTROL REGION SITOKROM OKSIDASE I PADA DIVERSITAS ZONE BIOGEOGRAFI

I Made Sara Wijana¹ dan I Gusti Ngurah Mahardika²

¹Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

²Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

Kampus Bukit Jimbaran Bali

E-mail:sarawijana@yahoo.co.id

Abstract

Genetic structure and phylogeni of 37 sequences control region DNA mitochondrial cytochrome oxidase I of yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) have been downloaded from GeneBank and analised using Maximum Likelihood (ML), Pairwise Genetic Distance and Bootstrapping Phylogeni Model of Kimura 2 Parameter. The result shows that the corrected value of the data was 5,5% and the mean of genetic distances was 3,7 %, where the shortest distance was 0.0% and the longest was 5%. The genetic distances with the out group (*Thunnus obesus*) ranged between 7,8 % – 9,8 % and with the *Thunnus thynnus* ranged between 10,4% – 12,5%. The value of bootstrap phylogeny of 37 sequences of yellowfin tuna was less than 50%. All those results shows that there was no significant genetic differences of 34 samples sourced from Philipines and 3 from Spain based on sequence region DNA mitochondrial cytochrome oxidase I.

Key word: *T. albacores*, control region DNA Mitochondrial cytochrome oxydase I; genetic structure; phylogeny.

1. Pendahuluan

Ikan tuna merupakan komoditi komersial yang sangat penting (FAO, 2004), maka telah terjadi penangkapan yang berlebihan (ICCAT, 2005 dalam Chiang, 2008). Akibatnya, populasi ikan tuna kini terancam. Dalam pertemuan *Convention on International Trade of Endangered Species on Wild Fauna and Flora* (CITES) pada tahun 1992, dinyatakan bahwa ikan tuna sirip biru yang banyak ditangkap di Samudera Pasifik merupakan spesies yang nyaris punah. Secara khusus dilaporkan dalam pertemuan dunia II tentang status *bigeye tuna* (*Thunnus obesus*) di Madrid Spanyol, bahwa telah terjadi penangkapan *bigeye tuna* yang berlebihan sehingga status ikan tersebut meningkat mendekati status kepunahan (ICCAT, 2005 dalam Chiang, 2008). Diantara jenis tuna, *yellowfin tuna* (*Thunnus albacares*) merupakan ikan migran yang memiliki distribusi kosmopolitan di perairan tropis dan subtropis dengan jumlah yang melimpah. Empat puluh persen keberadaan *yellowfin tuna* merupakan musiman (Ely *et. al.*, 2005).

Penelitian tentang tingkah laku dan adaptasi fisiologi ikan tuna dalam berbagai keadaan saat migrasi dilaporkan oleh Dickson dan Graham

(2004). Mereka mendapatkan bahwa *Thunnus albacores* memiliki kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan yang ekstrim seperti suhu air laut, kedalaman, kekuatan arus, arah putaran arus dan salinitas. Penelitian tentang kedudukan ikan tuna dalam taksonominya dengan menggunakan metode DNA mitokondria sitokrom oksidase I telah dilakukan oleh Ward *et.al.*, (2005). Sebagian sekuen DNA diperoleh dengan mengisolasi sampel spesimen dan sebagian diunduh dari *GeneBank* kemudian dianalisis dengan program MEGA 3.0. Dalam laporannya ditemukan bahwa rata-rata jarak genetik pada spesies sangat rendah yaitu 0,11 %. Demikian juga dengan jarak genetik interspesies yaitu 1,04%. Ely *et. al.*, (2005) menggunakan hasil sekuen yang diunduh dari *GeneBank* untuk mengetahui demografi *yellowfin tuna* dan *skipjack tuna* (ikan tongkol). Mereka menggunakan sekuen *DNA Mitochondrial Control Region* dengan panjang 333 bp antara sub-populasi lautan Atlantik dan lautan Pasifik. Keragaman haplotipe *yellowfin tuna* adalah $h=0,997$ dan nukleotidanya $\pi=3,5$ %. Keragaman haplotipe sub-populasi *skipjack tuna* sebesar $h=0,999$ dan nukleotidanya $\pi=8,4$ %. Secara

umum penelitian ini menunjukkan bahwa keragaman genetik berbeda antara individu dalam populasi dan memiliki sedikit variasi antara kedua sub-populasi. Mereka menyimpulkan bahwa tidak ditemukan bukti (fakta) adanya perbedaan genetik yang signifikan antara sub-populasi Atlantik dengan sub-populasi Indo-Pasifik. Berkaitan dengan hal tersebut, struktur genetik dan filogeni dari sekuen DNA mitokondria *control region* sitokrom oksidase I dianalisis 37 sampel *yellowfin tuna* dari Philipina dan Spanyol. Dalam tulisan ini hasil analisis dapat digunakan sebagai data dasar (*baseline*) untuk analisis ikan tuna di perairan Indonesia.

2. Metode

Metode Pengumpulan Data

Data berupa sekuen DNA Mitondria *control region* sitokrom oksidase I. Sekuen berasal dari 37 individu *yellowfin tuna* (*Thunnus albacares*) dimana 34 individunya dari Philipina dan 3 dari Spanyol, serta 2 out grup sekuen yaitu 1 sekuen *Thunnus obesus* dan 1 sekuen *Thunnus thynnus*. Semua data diunduh dari *GeneBank* dengan *accession number* seperti disajikan pada Table 1. Sekuen DNA mitokondria banyak digunakan dalam analisis pohon filogeni karena memiliki laju evolusi yang cepat (Unsled *et.al.* 1995 ; Bargelloni *et.al.* 1994).

Metode Analisis

Tiga puluh tujuh sekuen DNA tersebut dianalisis dengan program MEGA 4.0 (Tamura *et.al.*,2007) yaitu dengan menganalisa Probabilitas Maksimum *Likelihood* (ML), jarak genetik dan pohon phylogeni dengan metode *bootstrap neighbor-joining* Model Kimura 2 Parameter (Tamura *et.al.*,2004).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Struktur Genetik *Thunnus albacares*

Hasil analisis *maximum likelihood* (ML) untuk probabilitas substitusi nukleotida terhadap 37 sekuen *control region* DNA mitokondria sitokrom oksidase I *yellowfin tuna* (*Thunnus albacares*) diperoleh frekuensi basa A=38,7%; T/U=29,2%; C=20,1% dan G=12%. Penelitian Chiang *et al.*,(2006) mendapatkan hasil yang relatif sama dengan frekuensi basa A=38,2%; T/U=27,7%;

C=20,2% dan G=13,9% berdasarkan DNA D-loop mitokondria *bigeye tuna* (*Thunnus obesus*). Hasil analisis probabilitas substitusi nukleotida disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Accession number sekuen DNA mitokondria control region sitokrom oksidase I dari 37 individu *Thunnus albacares*, 1 *Thunnus obesus* dan 1 *Thunnus thynnus*

No	Accession number	Keterangan
1	AF301181	Philipina
2	AF301182	Philipina
3	AF301183	Philipina
4	AF301184	Philipina
5	AF301185	Philipina
6	AF301186	Philipina
7	AF301187	Philipina
8	AF301188	Philipina
9	AF301189	Philipina
10	AF301190	Philipina
11	AF301191	Philipina
12	AF301192	Philipina
13	AF301193	Philipina
14	AF301194	Philipina
15	AF301195	Philipina
16	AF301196	Philipina
17	AF301198	Philipina
18	AF301199	Philipina
19	AF301200	Philipina
20	AF301201	Philipina
21	AF301202	Philipina
22	AF301203	Philipina
23	AF301204	Philipina
24	AF301205	Philipina
25	AF301206	Philipina
26	AF301207	Philipina
27	AF301208	Philipina
28	AF301209	Philipina
29	AF301210	Philipina
30	AF301211	Philipina
31	AF301212	Philipina
32	AF301213	Philipina
33	AF301206	Philipina
34	AF301214	Philipina
35	DQ126343	Spanyol
36	DQ126344	Spanyol
37	DQ126345	Spanyol
38	AF095705	Spanyol
39	AF390391	Spanyol

Tabel 2. Probabilitas Substitusi Nukletida dengan Analisis *Maximum Likelihood (ML)*

	A	T	C	G
A	-	1.41*	0.98*	10.39**
T	1.88*	-	18.9**	0.58*
C	1.88*	27.35**	-	0.58*
G	33.66**	1.41*	0.98*	-

Keterangan :

** Probabilitas substitusi transisi

* Probabilitas substitusi transversi

Nilai probabilitas substitusi paling tinggi ditemukan pada basa A, diikuti oleh basa T, C dan G. Hal ini berkaitan erat dengan frekuensi masing-masing nukleotida. Makin tinggi frekuensi nukleotida bersangkutan maka kemungkinan untuk terjadinya substitusi semakin besar ($P_{A-T,A-C,A-G}$), lebih besar dari pada ($P_{T-A,T-C,T-G}$) dan seterusnya seperti pada Tabel 2. Probabilitas substitusi transisi lebih besar dari pada substitusi transversi, karena substitusi transverse yang terjadi antara nukleotida purin dengan purin dan antara pirimidin dengan pirimidin akan lebih mudah dari pada substitusi tranversi yang terjadi antara purin dengan pirimidin. Hal ini dipengaruhi oleh kemiripan struktur molekulnya. Oleh karena itu substitusi transversi probabilitasnya lebih kecil, yang disebabkan oleh nukleotida purin dan pirimidin memiliki perbedaan struktur molekul yang lebih besar. Data sekuen yang diunduh dari *GeneBank* memiliki hubungan yang kuat, hal ini ditunjukkan oleh nilai koreksi dari total rasio transisi/transversi (**R**) sebesar 5,5 % (Tamura *et.al.*(2007).

Hasil analisis jarak genetik yang menggunakan dengan metode Pairwise Analisis Kimura 2 Parameter (K2P) diperoleh jarak genetik rata-rata 3,7 %. Jarak genetik terdekat adalah 0,0 % dan terjauh adalah 5,2 %. Jarak genetik antara 37 sekuen DNA mitokondria sitokrom oksidase I *yellofin tuna* dengan *bigeye tuna* (*Thunnus obesus*) berkisar antara 7,8 % – 9,8 % dan *yellofin tuna* dengan *bluefin tuna* (*Thunnus thynnus*) berkisar antara 10,4% – 12,5 %. Chiang *et al.*, (2007) juga mendapatkan hasil yang serupa yaitu jarak genetik antara *bigeye tuna* dengan *yellowfin tuna* sebesar 9% dan antara *bigeye tuna* dengan *bluefin tuna* sebesar 11%.

Rata-rata jarak genetik secara keseluruhan sebesar 3,7 %, menunjukkan bahwa dari panjang sekuen 352 bp hanya ada 13 nukleotida yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa keragaman genetik dari 37 sekuen

yellofin tuna tersebut relative tinggi. Hal ini juga didukung oleh pohon filogeni yang membentuk satu *clade* dengan nilai *bootstrap* kurang dari 50 %. Hasil ini berbeda dengan *Thunnus obesus* sebagai *out group* dengan nilai *bootstrap* sebesar 86 %. Hasil pengujian pohon filogeni dengan metode *bootstrapping* ditampilkan dalam bentuk kladogram (Gambar 1) disertai nilai perhitungan *bootstrap* disetiap cabangnya. Pohon filogeni menunjukkan bahwa *yellowfin tuna* yang berasal dari dua perairan yang sangat jauh, yaitu dari perairan laut Philipina dan perairan laut Spanyol, berdasarkan 37 sekuen DNA *control region* mitokondria sitokrom oksidase I tergabung dalam satu *clade* besar dengan nilai *bootstrap* kurang dari 50 %. Sekuen dengan accession number *YFTAPA25 AF301181* yang berasal dari perairan laut philipina sama dengan sekuen *BET.IND48DQ126345* yang berasal dari perairan laut Spanyol yang tergabung dalam satu *sub clade* I. Demikian juga antara sekuen *YFTBAT06 AF301185* yaitu sekuen yang berasal dari perairan laut Philipina sama dengan sekuen *BET.IND39DQ126344* yang berasal dari perairan laut Spanyol dan tergabung dalam *sub clade* III. Satu sekuen yaitu dengan *accession number YFTZAM53 AF301214* memiliki jarak terjauh dengan masing-masing sekuen baik terhadap sekuen yang berasal dari perairan laut Philipina maupun terhadap sekuen yang berasal dari perairan laut Spanyol. Ini menunjukkan bahwa *yellowfin tuna* tidak memiliki batas distribusi geografi yang nyata.

Hal tersebut disebabkan oleh sifat dari *yellowfin tuna* merupakan ikan migran. Ikan tuna umumnya dapat bermigrasi pada jarak yang sangat jauh karena ikan ini mampu beradaptasi terhadap perubahan-perubahan lingkungan perairan laut. Pada musim dingin mereka akan bermigrasi dari daerah perairan beriklim dingin/sedang ke perairan tropis. Hal ini didukung oleh penelitian Graham dan Dickson (2004) yang mendapatkan bahwa ikan tuna dapat beradaptasi terhadap

perubahan arah dan besarnya arus air laut , suhu, salinitas, kedalaman.

genetik mereka tetap dalam satu kelompok dan dari aspek filogeografi tidak memiliki batas distribusi yang nyata.

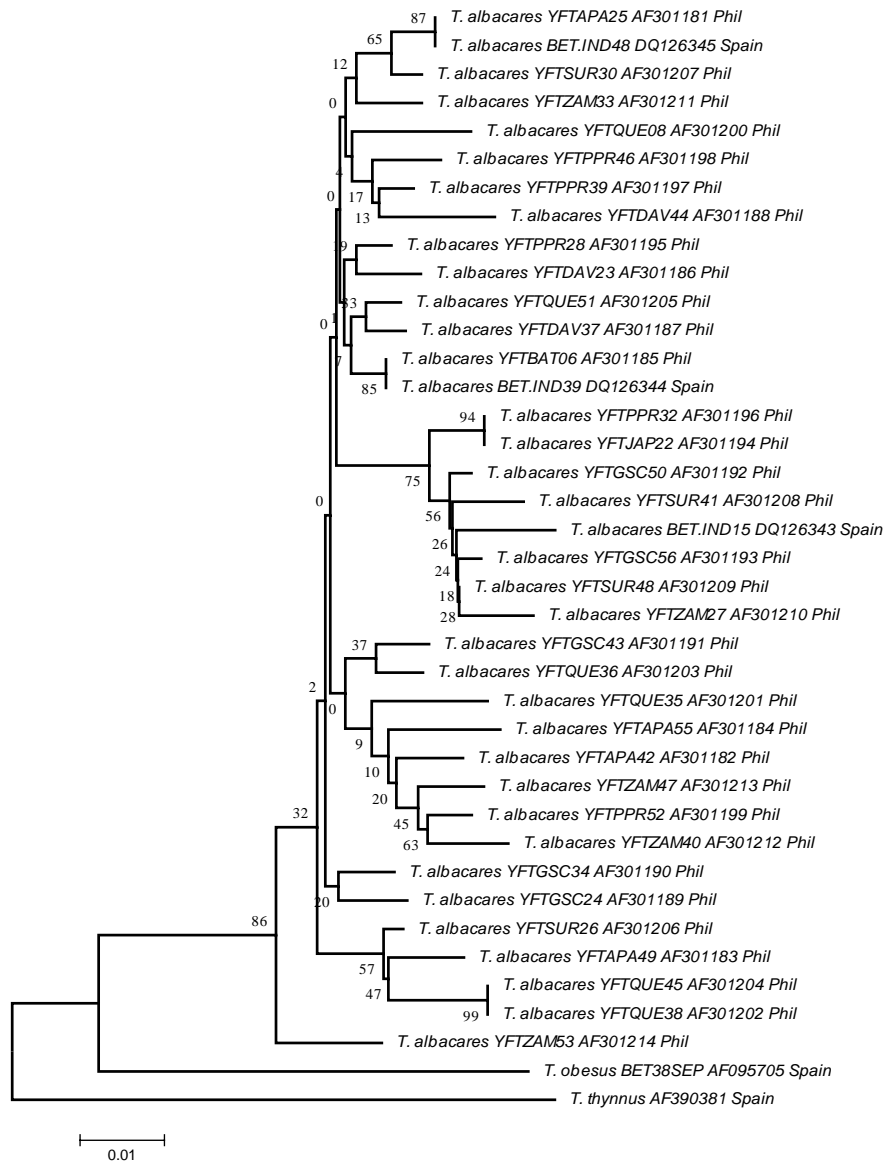
4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Nilai koreksi data adalah sebesar 5,5 %; rata-rata jarak genetik adalah 3,7 %; jarak paling dekat adalah 0,0 % dan jarak paling jauh adalah 5,2%. Jarak dengan *out group* (*Thunnus obesus*) antara 7,8%-9,8%; dan dengan *Thunnus thynnus* antara 10,4% – 12,5 %. Nilai *bootstrap* filogeni untuk 37 sekuen *yellowfin tuna* kurang dari 50 %. Semua nilai tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan genetik secara signifikan dari 37 sampel berdasarkan sekuen *control region* DNA mitokondria sitokrom oksidase I. Sehingga dari aspek

4.2 Saran

Download sekuen yang dilakukan dari *GeneBank* tidak ditemukan sequeun DNA ikan tuna yang berasal dari perairan Indonesia. Mengingat ikan tuna merupakan komoditi ekspor andalan Indonesia dan perairan Indonesia merupakan lintasan migrasi dan tempat bertemunya ikan tuna, namun dilain pihak ada penurunan jumlah tangkapan dan ukuran, sehingga perlu dilakukan penelitian struktur genetik ikan tuna di perairan laut Indonesia untuk ikut dalam usaha konservasi sumberdaya alam.



Gambar 1. Pohon Filogeni 37 Sekuen DNA mitokondria Sitokrom Oksidase I *Yellowfin Tun*. Kode di belakang nama spesies adalah *Accession Number* dan negara asal (Phil untuk Philipina dan Spain untuk Spanyol)

Daftar Pustaka

- Bargelloni, L., P.A. Ritche, T. Patarnelo, B. Battaglia, D. M. Lambert and A. Meyer. 1994. Molecular Evolution at Subzero Temperatures: Mitochondrial and Nuclear Phylogenies of Fishes from Antarctica (Suborder Notothenioidei), and the Evolution of Antifreeze Glycopeptides. *Mol. Biol. Evol.* 11(6):854-863.
- Chiang, H.C., C.C. Hsu, H.D. Lin, G.C. Ma, T.Y. Chiang, and H.Y. Yang. 2006. Population structure of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the South China Sea, Philippine Sea and western Pacific Ocean inferred from mitochondrial DNA. *Mol. Ecol.* 13, 3345-3356.
- Chiang, H.C., C.C. Hsu, G.C.C. Wu, S.K. Chang and H.Y. Yang. 2007. Population structure of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the Indian Ocean inferred from mitochondrial DNA. *Fisheries Research* 90: 305-312.
- Chow, S. and H. Kishino. 1995. Phylogenetic Relationships Between Tuna Species of Genus *Thunnus* (Scombridae: Teleostei): Inconsistent Implication from Morphology, Nuclear and Mitochondrial Genomes. *J. Mol. Evol.* (1995) 41:741-748.
- Ely, B., J. Vinas, J.R.A. Bremer, D. Black, L. Lucas, K. Covello, A.V. Labrie dan E. Thelen. 2005. Consequences of the historical demography on the global population structure of two highly migratory cosmopolitan marine fishes: the yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *BMC Evolutionary Biology*. 5 (19): 1-9
- FAO 2004. *Yearbook of Fishery Statistics Vol.94/2*. [Cited 2010, Juni. 9]. Available from: URL: <http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/en>
- Graham, J.B. and K.A. Dickson. 2004. Tuna comparative physiology. *The J. of. Exp. Biology*, 207: 4015-4024.
- Tamura, K., Nei, M. & Kumar S. (2004) Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *PNAS* 101:11030-11035.
- Tamura, K., J. Dudley., M. Nei dan S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Mol. Biol. Evol* 24(8):1596-1599.
- Unslid M., B. Beyermann, P. Brandt. 1995. Identification of the species origin of highly processed meat products by mitochondrial DNA Sequences. *Genome Res.* 1995 4: 241-243.
- Ward. R.D, T.S. Zemlak, B.H. Innes, P. R. Last and P.D.N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil, Trans. R. Soc, B*.