

**IDENTIFIKASI SPESIES UDANG MANTIS (*Stomatopoda*) DI
PERAIRAN PEMUTERAN DENGAN MENGGUNAKAN *GEN*
CYTOCHROME C OXIDASE SUBUNIT-1 DARI DNA
MITOKONDRIA**

ANAK AGUNG NGURAH OKA PUJAWAN¹.
TJOK SARI NINDHIA², I GUSTI NGURAH KADE MAHARDIKA¹.

¹Laboratorium Biomedik, ²Lab Biostatistika
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Indonesian Biodiversity Research Center
Jalan Raya Sesetan Gang Markisa

ABSTRACT

Mantis shrimp is known as a bio-indicator of marine ecosystem health. Pemuteran is one of the waters in Indonesia that has a wealth of interesting marine life. Knowledge of the genetic structure was used for identification of species of mantis shrimp. The purpose of this study was to identify species of mantis shrimp in the waters of Pemuteran and determine their relationship with mantis shrimp in other areas of Indonesia around the world. The method used in this research was the polymerase chain reaction technique (PCR) of the molecular of marker *Cytochrome c oxidase* subunit 1 from mitochondrial DNA. The sample was mantis shrimps in the form of adult and larvae, that were collected in Pemuteran. The number of samples was 32. Sequence from each sample was determined by cycle sequencing technique and analyzed at Cornell University. Sequences obtained in this study and that downloaded from GeneBank were analyzed with MEGA5.3. The results showed that four species of mantis shrimp, i.e. *Haptosquilla glyptocercus*, *Gonodactyllelus annularis*, *Gonodactylus viridis* and *Chorisquilla Hystrix*, could be identified. Genetic relationship of mantis shrimp in Pemuteran to that of various regions varies. Close relationship was found to the mantis shrimp species in the Coral Triangle region. The species were genetically in a further distance to the mantis shrimp found in other areas, such as Australia's east coast. Determination of species from specimens that are close to *Gonodactylus viridis* and *Chorisquilla Hystrix* is necessary to justify whether the specimens are properly included to the corresponding species or they should be assigned as new species.

Keyword : Mantis Shrimps, cytochrome c oxidase subunit 1, Pemuteran.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan kekayaan laut yang melimpah. Wilayah perairan laut Indonesia memiliki sumber daya alam khususnya sumber daya hayati yang berlimpah dan beraneka ragam. Berdasarkan luas lautan yang dimiliki, banyak potensi kekayaan laut yang dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan rakyat Indonesia. Berbagai jenis hewan laut yang ada seperti ikan, udang dan kerang masih sangat dimanfaatkan bukan hanya oleh warga Indonesia melainkan seluruh warga di dunia. Hewan laut yang memiliki potensi yang luas untuk menunjang kebutuhan gizi manusia selain ikan adalah udang. Salah satu jenis udang yang baru ditemukan pada tahun 2008 di laut Halmahera Indonesia adalah udang mantis. Udang ini hidup diantara susunan terumbu karang yang sangat kompleks (Green, 2008).

Udang mantis merupakan makhluk yang memiliki peran penting dalam ekosistem terumbu karang dengan menjaga populasi dan memelihara semua spesies yang ada baik secara langsung maupun tidak langsung. Perilaku hidup dari udang mantis yang menggali lubang pada terumbu karang memberi peluang untuk oksigenisasi sehingga kesehatan terumbu karang akan lebih terjaga. Udang mantis akan menggali terumbu karang yang kondisinya tidak baik, sehingga dapat disimpulkan peran udang mantis dalam ekosistem laut sebagai bioindikator (Barber *et al.*, 2002). Udang mantis dimanfaatkan manusia sebagai makanan di beberapa Negara yaitu Spanyol, Italia, Yunani, dan Maroko. Udang mantis kebanyakan ditemukan di perairan yang relatif hangat dan dangkal di daerah tropis dan subtropis, meskipun ada juga beberapa spesies sedang yang dapat ditemukan di lintang yang lebih tinggi, seperti Selandia Baru.

Udang mantis secara taksonomi termasuk merupakan kelas *Malacostraca* dengan order *Stomatopoda*. Lebih dari 400 spesies telah dikenali yang masuk kedalam lebih dari 100 genus. Jumlah Familia *Stomatopoda* dikenal 19 buah yang digolongkan kedalam lima superfamilies, yaitu *Bathysquilloidea*, *Squilloidea*, *Erythroquilloidea*, *Lysiosquilloidea* dan *Gonodactyloidea* (Barber dan Erdmann, 2000).

Identifikasi spesies dari udang mantis dapat dilakukan dengan menggunakan analisis gen *Cytochrome c oxidase* subunit 1 (CO1) dari DNA mitokondria (Barber dan Erdmann, 2000). Dari seluruh perairan laut Bali, Pemuteran merupakan perairan yang memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Karena, Pemuteran termasuk pada inti dari *Coral triangle* di Indonesia, sehingga analisis dan identifikasi spesies udang mantis yang terdapat di daerah Pemuteran penting untuk diketahui. Informasi kekayaan hewan laut di Indonesia khususnya di perairan Bali dapat diketahui dan dapat dijadikan *bioprospecting* untuk kajian ilmu pengetahuan yang lain utamanya dalam dunia kedokteran hewan. Berdasarkan latar belakang di atas, identifikasi udang mantis di pemuteran dengan menggunakan gen *Cytochrome c oxidase* subunit 1 (COI) dari DNA mitokondria akan memberikan kontribusi bukan hanya bagi dunia kedokteran hewan melainkan pada pelestarian kekayaan hewan laut di Indonesia. Karena itu, penelitian ini penting untuk dilaksanakan.

MATERI DAN METODE

Objek penelitian ini adalah udang mantis yang diambil dari perairan Pemuteran Bali. Jumlah sampel udang mantis yang dikumpulkan adalah 32 buah. Komposisinya adalah tiga sampel dalam bentuk larva dan 29 sampel dalam bentuk dewasa. Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi seperti Chelex 10%, ethanol 96%, dan api bunsen untuk sterilisasi peralatan pada saat ekstraksi DNA.

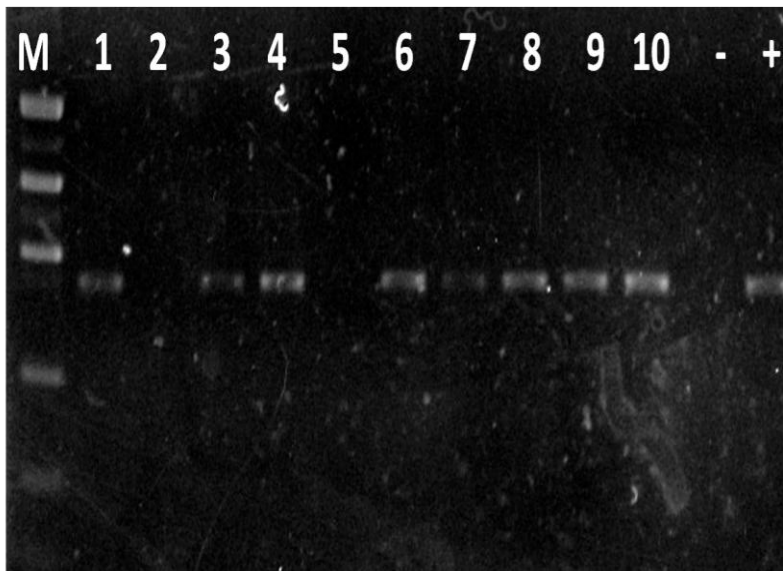
Bahan- bahan untuk PCR seperti kontrol positif dan negatif, ddH₂O, 10x PCR buffer, 8uM dNTPs, 25mM *magnesium chloride*. Untuk primer menggunakan 10mM HCO (5'GGTCCAAAATCATAAAGATATT3') sebagai primer belakang dan 10mM LCO (5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAA3') sebagai primer depan pada marker molekul *Cytochrome c oxidase subunit 1* (COI) pada *mtDNA* (Kai, 2009). Bahan-bahan yang lain adalah *Taq Enzim Polymerase*, agarose, *ethidium bromide*, TAE (Tris Acetic EDTA), *loading dye* (*Bromphenol-blue* dan *cyline cyanol*), *DNA ladder*, dan aquabidest. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sentrifugator, alat pendingin, tabung eppendorf besar dan kecil beserta rak, *Thermocycler Eppendorf Mastercycler personal* (PTC-100TM Programable Thermal Controller MJ Research Inc), gelas ukur, pinset, pipet mikro, tips, oven, *laminar flow*, inkubator, alat elektroporesis, sinar

ultraviolet, kamera polaroid dan Software MEGA5.3, sarung tangan, masker, kalkulator dan bolpoin.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif eksploratif observational. Penelitian dimulai dari ekstraksi sampel udang mantis, PCR dengan marker molekul *Cytochrome c oxidase I*, elektroporesis, edit sekuen sampel, sekuen individu yang dimulai dari menentukan tempat polimorfik dan jarak genetik dan menggunakan data sekuen yang ada di GENE BANK untuk menentukan pohon asal usul dan indentifikasi spesies setiap sampel udang mantis yang ditemukan di perairan Pemuteran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

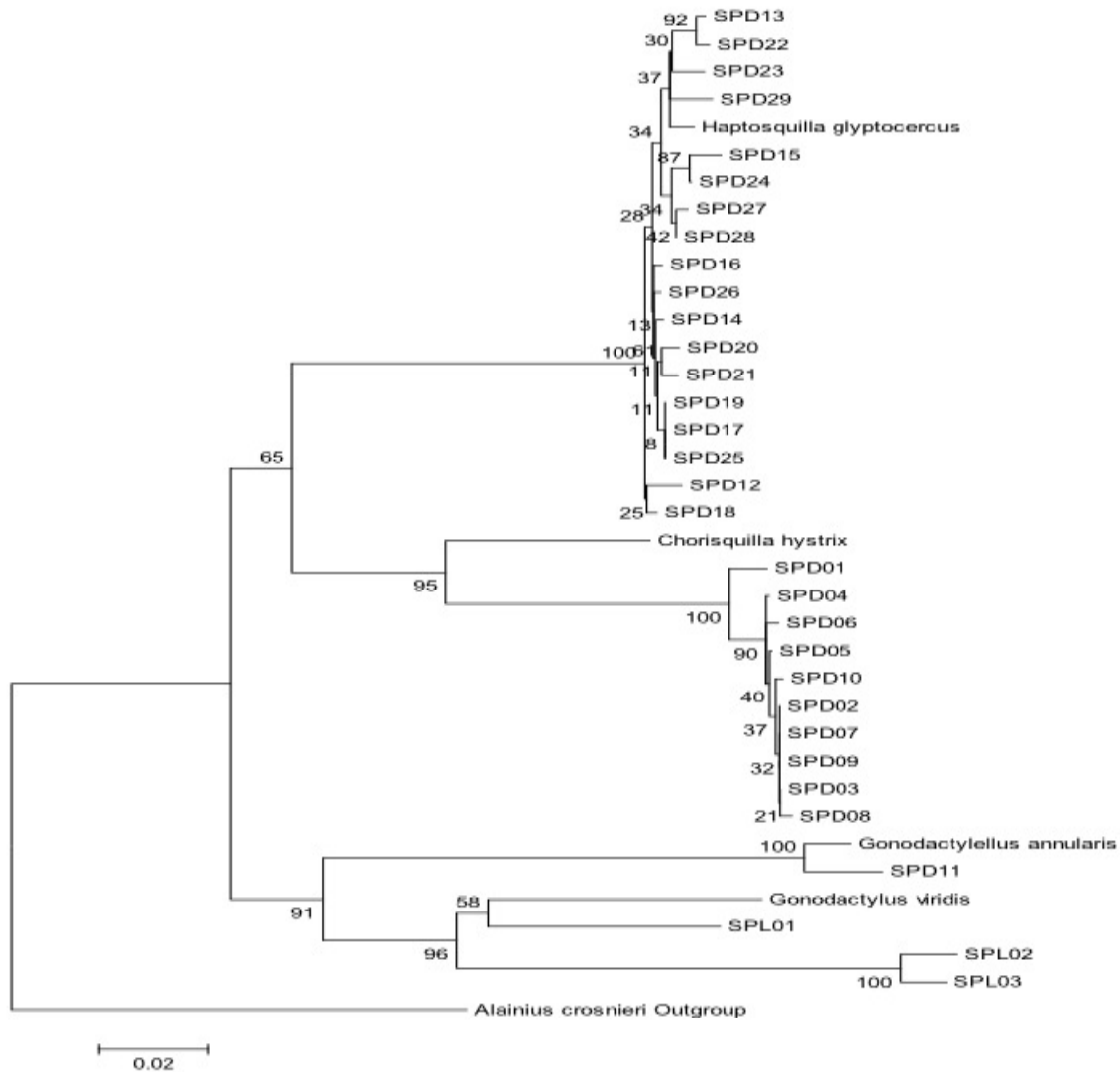
Keseluruhan sampel udang mantis berhasil di amplifikasi dengan teknik PCR. Contoh hasil elektroporesis produk PCR ditampilkan pada gambar 1.1.



Gambar 1.1. Elektroporesis Produk PCR dengan Gel Agarose 1% yang telah Diisi Ethidium Bromide dengan Marker 100 bp DNA Ladder.

Prosedur BLAST (*basic local alignment search tool*) yang dilakukan terhadap setiap data sekuen dan alignment dengan data dari GeneBank menghasilkan empat spesies yang berbeda berdasarkan kedekatan genetik dan identitas maksimum yang didapat dari GeneBank. Pembagian kelompok menjadi empat spesies yang berbeda terlihat jelas pada gambar 1.2. Rincian jumlah spesimen yang dapat diidentifikasi sebagai

spesies tertentu ditampilkan pada Tabel 1.1. Dari hasil tersebut tampak bahwa delapan belas spesimen teridentifikasi sebagai *Haptosquilla glyptocercus*, satu spesimen sebagai *Gonodactyllellus annularis*, sepuluh spesimen sebagai *Chorisquilla hystrix* dan tiga spesimen sebagai *Gonodactylus viridis*.



Gambar 1.2. Pohon asal usul dari seluruh sampel udang mantis di perairan Pemuteran, yang menggambarkan seluruh sampel dikelompokkan menjadi 4 spesies dengan menggunakan Tamura 3 Parameter dan penambahan *Outgroup* yaitu *Alainius crosnieri*.

Berdasarkan hasil bootstrap 1000 kali pada cabang pertama menunjukkan bahwa metode bootstrap mendukung 100% bahwa seluruh sampel tersebut merupakan spesies *Haptosquilla glyptocercus*. Dengan menggunakan metode yang sama persentase yang

muncul pada setiap spesies menunjukkan angka yang beragam. Pada spesies *Chorisquilla hystrix* menunjukkan angka 95%, spesies *Gonodactyllelus annularis* menunjukkan angka 100% dan untuk spesies *Gonodactylus viridis* menunjukkan angka 96%. Menurut Hesterberg *et al.*, (2003) persentase bootstrap 1000 kali nilai diatas 80% menunjukkan hasil yang sangat baik karena nilai tersebut mendukung secara kuat bahwa sampel yang berada dalam satu cabang adalah benar atau berada dalam satu spesies.

No	Spesies	Jumlah
1	<i>Haptosquilla glyptocercus</i>	18
2	<i>Gonodactyllelus annularis</i>	1
3	<i>Gonodactylus viridis</i>	3
4	<i>Chorisquilla hystrix</i>	10

Tabel 1.1. Hasil pengelompokan spesies dengan jumlah sampel yang termasuk pada masing-masing spesies.

Seluruh sampel udang mantis yang berhasil dianalisis menunjukkan hasil titik polimorfik dengan angka yang berbeda. Sebanyak 161 titik polimorfik dari 32 sampel udang mantis dapat diidentifikasi, seperti ditampilkan Lampiran 2. Untuk memudahkan membandingkan perbedaan setiap sampel, analisis juga dilakukan dengan mencari titik polimorfik pada setiap spesies yang berhasil diidentifikasi. Jumlah transisi dan transversi pada setiap spesies ditampilkan pada 1.2.

No	Spesies	Total	Transisi	Transversi
1	<i>Haptosquilla glyptocercus</i>	29	22	7
2	<i>Gonodactyllelus annularis</i>	Tidak dianalisis	-	-
3	<i>Gonodactylus viridis</i>	66	43	23
4	<i>Chorisquilla hystrix</i>	12	9	3

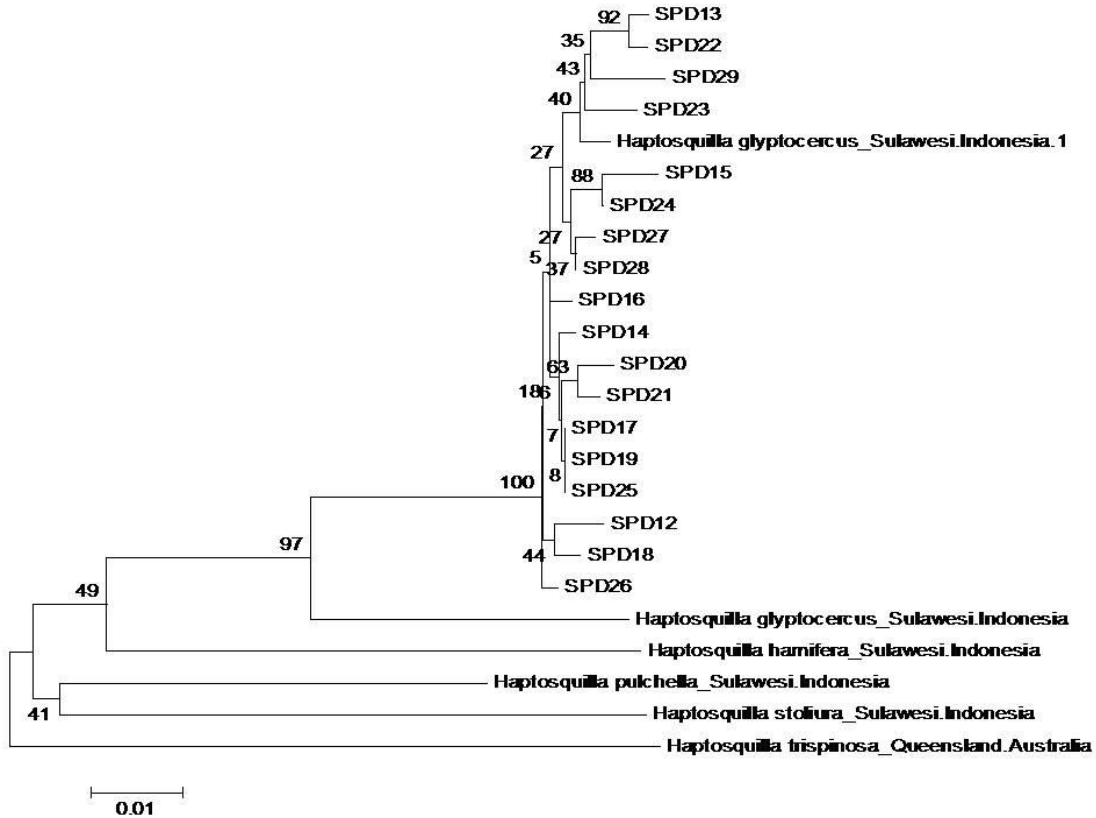
Tabel 1.2. Hasil rekapitulasi seluruh titik polimorfik pada setiap sampel.

Jarak genetik yang ditunjukkan dari 32 sampel udang mantis adalah sangat bervariasi. Jarak genetik yang sangat dekat adalah 0.000, yang paling jauh yaitu 0.240 (Lihat Lampiran 3). Analisis jarak genetik pada setiap spesies yang sudah teridentifikasi ditampilkan pada Tabel 1.3. Pada tabel tersebut semua sampel yang sudah dikelompokkan berdasarkan spesiesnya dianalisis dan dicari jarak genetik. Dari Tabel tersebut tampak bahwa jarak genetik rerata intraspecies adalah antara 0.005 pada *Chorisquilla hystrix* sampai 0.101 pada *Gonodactylus viridis*. Rentang jarak genetik antar *Haptosquilla glyptocercus* adalah 0.000-0.023, pada *Gonodactylus viridis* adalah antara 0.019-0.146, sedangkan pada *Chorisquilla hystrix* paling rendah yaitu antara 0.000-0.019.

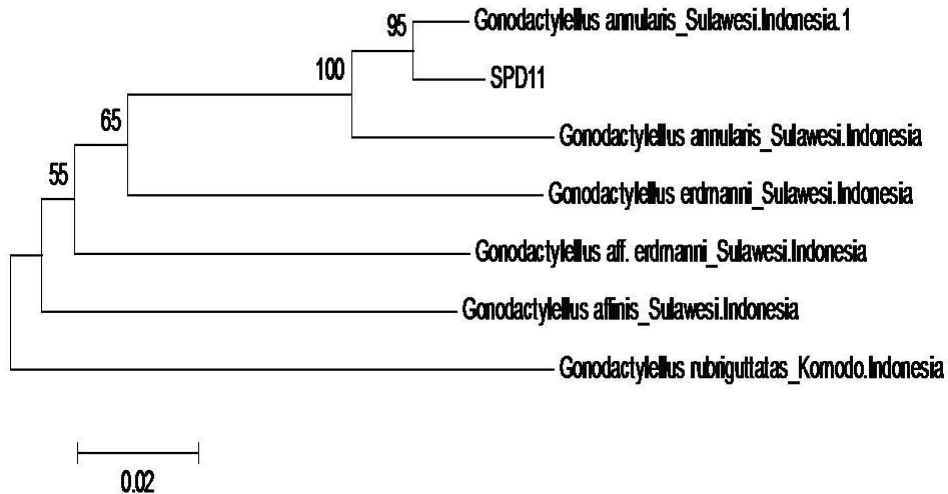
No	Spesies	Jarak Rerata	Rentang
1	<i>Haptosquilla glyptocercus</i>	0.010	0.000-0.023
2	<i>Gonodactylus annularis</i>	Tidak dianalisis	-
3	<i>Gonodactylus viridis</i>	0.101	0.019-0.146
4	<i>Chorisquilla hystrix</i>	0.005	0.000-0.019

Tabel 1.3. Analisis jarak genetik pada setiap sampel yang sudah dikelompokkan berdasarkan spesiesnya.

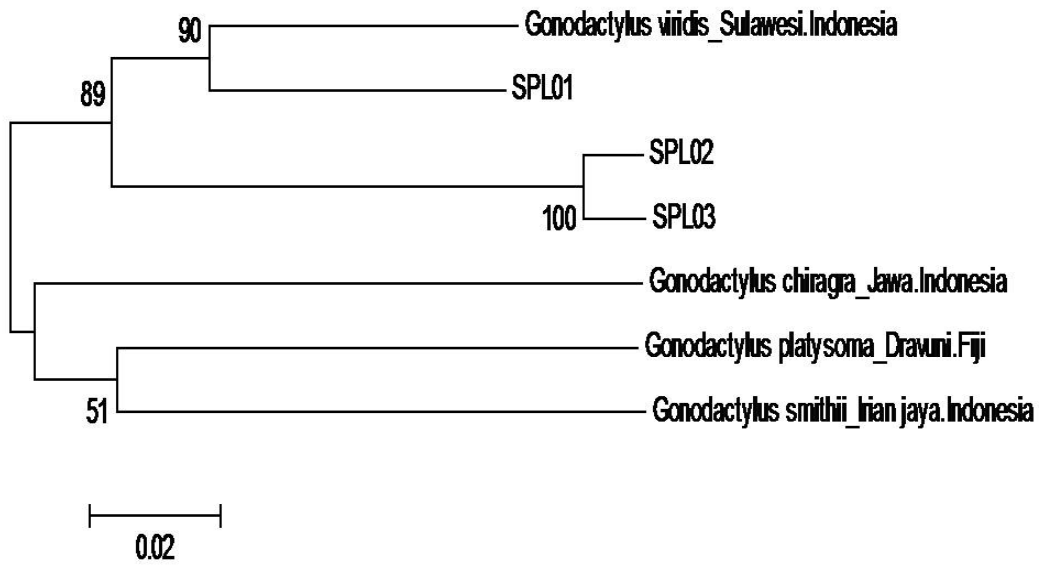
Untuk menentukan hubungan udang mantis yang ada di perairan Pemuteran dengan udang mantis di dunia, dibutuhkan penambahan data yang diunduh dari GeneBank. Data sekunder yang sudah diunduh dari GeneBank di-*align* dengan sampel yang dikelompokkan dalam satu spesies. Hasil analisis pohon asal usul setiap kelompok spesies yang di-*align* dengan data dari GeneBank ditampilkan pada Gambar 1.3., 1.4., 1.5., dan 1.6.



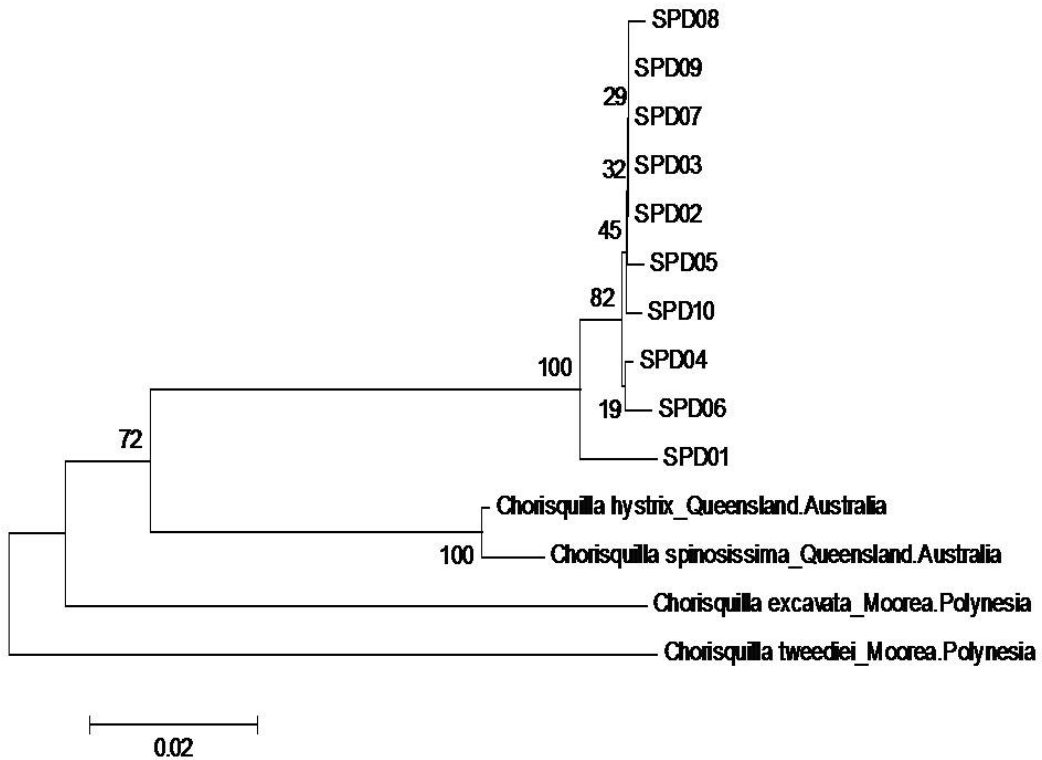
Gambar 1.3. Pohon asal usul dari spesies *Haptosquilla glyptocercus* yang sudah ditambahkan data sekunder dari GeneBank berdasarkan kesamaan genus yang ada.



Gambar 1.4. Pohon asal usul dari spesies *Gonodactylus annularis* yang ditambahkan dengan data sekunder yang diunduh dari GeneBank berdasarkan kesamaan genus.



Gambar 1.5. Pohon asal usul dari spesies *Gonodactylus viridis* yang ditambahkan dengan data sekunder yang diunduh dari GeneBank berdasarkan kesamaan genus.



Gambar 1.6. Pohon asal usul dari spesies *Chorisquilla hystrix* yang ditambahkan dengan data sekunder dari GeneBank berdasarkan kesamaan genus.

Pada gambar 1.3 menjelaskan hubungan 18 sampel udang mantis yang diidentifikasi sebagai spesies *Haptosquilla glyptocercus* memiliki hubungan yang dekat dengan genus *Haptosquilla* lainnya di dunia. Hubungan cukup dekat terdapat pada spesies *Haptosquilla hamifera* yang dikoleksi dari perairan Sulawesi, Indonesia (Barber dan Erdmann, 2000). Hasil bootstrap menunjukkan 49% mendukung kedekatan dari kedua spesies ini. Berdasarkan hasil tersebut, perkiraan hubungan dari kedua spesies ini cukup dekat. Hubungan yang jauh ditemukan pada spesies *Haptosquilla trispinosa* yang dikoleksi dari perairan Queensland, Australia (Porter *et al.*, 2010). Terlihat pada gambar 1.3 cabang spesies ini merupakan percabangan paling ujung dibandingkan dengan spesies lainnya. Pada analisis hubungan kekerabatan spesies ini, membuktikan spesies yang terletak lebih jauh akan memiliki jarak genetik yang jauh seperti hasil penelitian dari Cheng dan Barber, (2005) mengenai pola genetik dan hubungan demografi di daerah *Coral triangle* dari tiga spesies udang mantis.

Pada spesies *Gonodactyllelus annularis*, hubungan kekerabatannya sangat dekat dengan *Gonodactyllelus Erdmanni* dikoleksi dari perairan Sulawesi, Indonesia (Plaisance *et al.*, 2009). Hubungan yang paling jauh ditemukan pada spesies *Gonodactyllelus rubiguttatas* yang dikoleksi dari perairan Komodo, Indonesia (Barber dan Erdmann, 2000). Hubungan yang jauh juga ditemukan pada spesies *Gonodactyllelus affinis* yang Sulawesi, Indonesia (Barber dan Erdmann, 2000).

Seluruh sampel larva dari Pemuteran masuk kedalam kelompok spesies *Gonodactylus viridis*. Spesies ini memiliki hubungan kekerabatan yang baik dengan beberapa genus di perairan Indonesia hingga perairan timur Australia. Spesies ini memiliki hubungan yang cukup jauh dengan beberapa udang mantis yang ada dalam Gambar 1.5. Terlihat tidak ditemukan percabangan yang berada dalam klade yang sama dengan spesies *Gonodactylus viridis*. Hubungan paling jauh ditemukan pada spesies *Gonodactylus chiragra* yang dikoleksi dari perairan Jawa, Indonesia (Porter *et al.*, 2010). Kelompok sampel yang terakhir merupakan spesies *Chorisquilla hystrix*. Data sekunder yang diunduh dari GeneBank bersumber dari tulisan yang dipublikasikan di Amerika. Spesies *Chorisquilla hystrix* yang diunduh dari GeneBank memiliki hubungan yang dekat dengan *Chorisquilla spinosisima* yang dikoleksi dari perairan Queensland, Australia (Barber dan Erdmann, 2000), sehingga spesies ini memiliki hubungan yang dekat dengan

seluruh spesies *Chorisquilla hystrix* di perairan pemuteran. Hubungan terjauh ditemukan pada spesies *Chorisquilla tweediei* yang dikoleksi dari perairan Moorea, Polynesia (Porter *et al.*, 2010).

Populasi *Chorisquilla hystrix* belum pernah dilaporkan di Indonesia. Dalam penelitian ini, 10 sampel memiliki kedekatan genetik paling dekat dengan *Chorisquilla hystrix* yang dilaporkan di Queensland Australia. Jarak genetiknya adalah lebih dari 10%. Penentuan bahwa sampel dari Pemuteran tersebut adalah *Chorisquilla hystrix* atau spesies yang baru perlu dilakukan dengan memetakan jenis udang mantis yang berasal dari seluruh Indonesia. Permasalahan yang hampir sama ditemukan pada sampel SPL02 dan SPL03 yang diidentifikasi sebagai spesies *Gonodactylus viridis*. Jarak genetik antara kedua udang mantis ini dengan data yang diunduh dari GeneBank adalah 14,2% dan 14.4%. Sehingga untuk mengetahui apakah kedua sampel tersebut merupakan *Gonodactylus viridis* atau *Gonodactylus.sp* yang lainnya, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Berdasarkan Stoeckle (2003), menyatakan bahwa suatu spesimen dikatakan berasal dari spesies yang sama jika mempunyai jarak genetik yang lebih rendah dari 10%. Dengan demikian, 10 sampel yang digolongkan *Chorisquilla hystrix* dan dua sampel yang digolongkan *Gonodactylus viridis* dapat saja merupakan spesies baru. Pada penelitian ini, seluruh sampel tersebut masih digolongkan kedalam spesies *Chorisquilla hystrix* dan *Gonodactylus viridis* berdasarkan maksimum identitas yang ditunjukkan.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa penggunaan marker molekul *Cytochrome c oxidase* Subunit1 dari DNA Mitokondria untuk mengidentifikasi spesies udang mantis di perairan Pemuteran memberikan hasil yang baik. Seluruh sampel dari perairan Pemuteran memiliki hubungan genetik yang dekat dengan udang mantis yang ada dalam daerah *Coral triangle* seperti Sulawesi. Hubungan yang cukup jauh ditemukan pada perairan diluar daerah *Coral triangle* seperti Australia. Tiga spesies memiliki hubungan yang dekat tetapi tidak sama secara genetik dengan spesies yang sama yang dilaporkan dari Sulawesi. Artinya Evolusi spesies dari moyang yang sama terjadi dan kemudian menjadi populasi yang berbeda antara perairan Pemuteran dan Sulawesi. Hal ini tampaknya tidak bersesuaian dengan teori bahwa udang mantis akan bermigrasi dalam stadium larva. Setidaknya, udang mantis asal Pemuteran tidak bermigrasi ke Sulawesi dan demikian sebaliknya. Namun, apakah populasi udang mantis asal Pemuteran

memiliki hubungan genetik dan biologis dengan populasi lain di Bali, Lombok, Jawa dan daerah lain di Indonesia perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Penemuan ini mendukung publikasi sebelumnya oleh Carpenter *et al.*, (2011) yang menyatakan bahwa terdapat garis potong (*Break line*) dari Pulau Jawa bagian barat sampai Bali pada spesies *Gonodactylus viridis*. Hasil penelitian ini setidaknya menunjukkan bahwa aliran arus membagi Indonesia menjadi dua bagian yaitu bagian barat dan timur yang dikenal *Wallace line* menyebabkan perbedaan populasi udang mantis Pemuteran dengan Sulawesi.

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui lebih banyak tentang spesies udang mantis yang ada, hubungan antar spesies dan penyebarannya di perairan Pemuteran, perairan lain yang ada di Bali maupun yang ada di Indonesia dengan tujuan untuk menjaga salah satu kekayaan hewan laut yang ada di Indonesia.

SIMPULAN

Empat spesies udang mantis yaitu *Haptosquilla glyptocercus*, *Gonodactyllelus annularis*, *Gonodactylus viridis* dan *Chorisquilla hystrix* dari perairan Pemuteran Bali. Udang mantis yang ada di perairan Pemuteran bervariasi secara genetik dan memiliki kedekatan hubungan spesies udang mantis yang berada di daerah *Coral triangle* yaitu Sulawesi. Hubungan yang cukup jauh ditemukan pada udang mantis yang berada diluar daerah *Coral triangle* seperti perairan timur Australia (*Great barrier reef*).

DAFTAR PUSTAKA

- Barber, P. H. and Erdmann, M. V. 2000. Molecular systematics of the Gonodactylidae (Stomatopoda) using mitochondrial cytochrome oxidase c (subunit 1) DNA sequence data. *J. Crust. Biol.* AF205254.1 GI:11078499.
- Barber, P.H., Palumbi, S.R., Erdmann, M.V. and Moosa, M.K. 2002. *Sharp genetic break among populations of Haptosquilla pulshella (stomatopoda) indicate limit to larval transport: patterns, causes, and consequences. Journal of Molecular Ecology* 11,659-674.
- Carpenter, K.E., Barber, P.H., Crandall, E.D., Lagman, M.C.A.A., Ambariyanto,

Mahardika, G.N., Matsumoto, M., Menez, M.A.J., Santos, M.D., Starger, C.J., Toha, A.H.A. 2011. *Comparative Phylogeography of The Coral Triangle and Implications For Marine Management*. Journal of Marine Biology. Doi;10.1155/2011/396982.Cited2005Availablefrom:

Cheng, S.A. and Barber, P.H. 2005. Patterns of genetic and demographic connectivity in three stomatopods species. Boston University, Boston, MA. (serial online).cited2005. available from : <http://www.eeb.ucla.edu/faculty/barber/TDPPPresentations/ChengPoster>.

Green, A.2008.Udang mini, species baru dari Halmahera. KOMPAS.com. available from URL : <http://www.kompas.com/udangmantis>.

Hesterburg, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and Deward, J.R.2003. Biological Identifications Through DNA Barcodes. Proc.R.Soc.Lond.DOI :10.1098/.

Kai, W.T. 2009. "Distribution, seasonality and species identification of larval stomatopoda in Hong Kong waters" (Thesis). Hongkong. University of Hong Kong

Porter,M.L., Zhang, Y., Desai, S., Caldwell, R.L. and Cronin, T.W. 2010. Evolution of anatomical and physiological specializations in the compound eyes of stomatopod crustaceans. J.exp.Biol.213.