

TESIS

**KERAGAMAN MORFOMETRI DAN GEN CYTOCHROME B PADA
IKAN SILI (*Macragnathus* sp.) DARI BEBERAPA KABUPATEN
DI JAWA TIMUR BERDASARKAN *RESTRICTION*
FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)**

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS



HALIMATUS MEIRIKAYANTI

141914153003

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOTEKNOLOGI PERIKANAN DAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

TESIS

**KERAGAMAN MORFOMETRI DAN GEN CYTOCHROME B PADA
IKAN SILI (*Macrognathus* sp.) DARI BEBERAPA KABUPATEN
DI JAWA TIMUR BERDASARKAN *RESTRICTION*
FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)**

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS

**HALIMATUS MEIRIKAYANTI
141914153003**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOTEKNOLOGI PERIKANAN DAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**KERAGAMAN MORFOMETRI DAN GEN CYTOCHROME B PADA
IKAN SILI (*Macrogathus* sp.) DARI BEBERAPA KABUPATEN
DI JAWA TIMUR BERDASARKAN *RESTRICTION*
FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)**

Tesis

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Magister Prodi Bioteknologi Perikanan dan Kelautan
pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Airlangga

Oleh:

**HALIMATUS MEIRIKAYANTI
141914153003**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOTEKNOLOGI PERIKANAN DAN KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

Surat Pernyataan Keaslian Karya Tulis Tesis

Yang bertanda tangan di bawah ini :

N a m a : Halimatus Meirikayanti
N I M : 141914153003
Program Studi : Magister Bioteknologi Perikanan dan Kelautan
Tempat, Tanggal Lahir : Lamongan, 23 Mei 1997
Alamat : Dusun Kapasan 00/001, Desa Kepuh Kemiri, Kecamatan Tulangan,
Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur
Telp./HP. 082131172799
Judul Tesis : Analisis Keragaman Morfometri dan Gen Cytochrome b pada Ikan Sili
(*Macrogathus* sp.) dari Beberapa Kabupaten di Jawa Timur
Berdasarkan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP)
Pembimbing : 1. Dr. A Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si
2. Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa hasil tulisan laporan Tesis yang saya buat adalah murni hasil karya saya sendiri (bukan plagiat) yang berasal dari Dana Penelitian : Mandiri / ~~Proyek Dosen~~ / ~~Hibah~~ / ~~PKM~~ (*coret yang tidak perlu*).

Di dalam Tesis / karya tulis ini tidak terdapat keseluruhan atau sebagian tulisan atau gagasan orang lain yang saya ambil dengan cara menyalin atau meniru dalam bentuk rangkaian kalimat atau simbol yang saya aku seolah-olah sebagai tulisan saya sendiri tanpa memberikan pengakuan pada penulis aslinya, serta kami bersedia :

1. Dipublikasikan dalam Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga;
2. Memberikan ijin untuk mengganti susunan penulis pada hasil tulisan Tesis / karya tulis saya ini sesuai dengan peranan pembimbing Tesis;
3. Diberikan sanksi akademik yang berlaku di Universitas Airlangga, termasuk pencabutan gelar Magister Sains yang telah saya peroleh apabila dikemudian hari terbukti bahwa saya ternyata melakukan tindakan menyalin atau meniru tulisan orang lain yang seolah-olah hasil pemikiran saya sendiri

Demikian surat pernyataan yang saya buat ini tanpa ada unsur paksaan dari siapapun dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 9 September 2022
Yang membuat pernyataan,



Halimatus Meirikayanti
NIM. 141914153003

Tesis

**KERAGAMAN MORFOMETRI DAN GEN CYTOCHROME B PADA
IKAN SILI (*Macrhnathus* sp.) DARI BEBERAPA KABUPATEN
DI JAWA TIMUR BERDASARKAN *RESTRICTION*
FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)**

Tesis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains
Pada Program Studi Bioteknologi Perikanan dan Kelautan
Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga

Halimatus Meirikavanti
141914153003

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Ketua



Dr. A Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si
NIP. 19731101 200112 1 002

Pembimbing Serta



Dr. Mufasirin, drh., M.Si.
NIP. 19671107 199303 1 003

Mengetahui,
Koordinator Program Studi



Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno Lastuti, drh., MS.
NIP. 19530418 197803 2 001

**IKAN SILI (*Macrogathus* sp.) DARI BEBERAPA KABUPATEN
DI JAWA TIMUR BERDASARKAN *RESTRICTION*
FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (RFLP)**

Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 5 September 2022

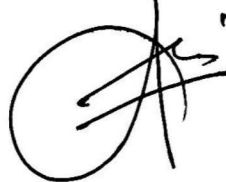
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Sri Subekti, drh., DEA.

Anggota : 1. Dr. A Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si
2. Dr. Mufasirin, drh., M.Si.
3. Dr. Gunanti Mahasri Ir., M.Si.
4. Muhamad Amin S.Pi., M.Sc., Ph.D.

Surabaya, 8 September 2022

Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Mochammad Amin Alamsjah, Ir., M.Si., Ph.D.
NIP. 19700116 199503 1 002

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan thesis dengan judul “**Keragaman Morfometri dan Gen Cytochrome b pada Ikan Sili (*Macrognathus* sp.) dari Beberapa Kabupaten di Jawa Timur Berdasarkan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP)**”. Tujuan penulisan thesis ini sebagai syarat untuk memperoleh gelar Magister Bioteknologi Perikanan dan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih belum sempurna, baik dari segi materi maupun penyajiannya, sehingga saran dan kritik sangat diharapkan dalam penyempurnaan tesis ini. Penulis berharap semoga tesis ini dapat disetujui dan nantinya bermanfaat dan dapat memberikan informasi kepada semua pihak, khususnya bagi mahasiswa program Magister Bioteknologi Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya, untuk kemajuan serta perkembangan ilmu dan teknologi dalam bidang perikanan, terutama bioteknologi perikanan.

Surabaya, 2 Agustus 2022

Penulis

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari dalam penyelesaian tesis ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, penulis mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya atas semua bantuan yang telah diberikan baik secara langsung maupun tidak langsung selama penyusunan penelitian ini hingga selesai. Secara khusus penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Moch. Amin Alamsjah, Ir., M.Si., Ph.D selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Dr. A Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si dan Dr. Mufasirin., M.Si.,drh selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan pengarahan selama proses penyusunan proposal, Prof. Dr. Sri Subekti, drh., DEA., Dr. A Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si, Dr. Mufasirin, drh., M.Si., Dr. Gunanti Mahasri Ir., M.Si., Muhamad Amin S.Pi., M.Sc., Ph.D., yang telah memberikan saran dalam penyusunan tesis, Dr. Endang Dewi Mashitah., Ir., MP selaku Dosen Wali yang telah memberikan pengarahan dan nasehat selama masa perkuliahan di Magister Bioteknologi Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Bapak dan Ibu dosen program Magister Bioteknologi Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, serta seluruh staff Laboratorium Professor Nidom Foundation Surabaya.

Terimakasih penulis sampaikan kepada rekan-rekan program Magister Bioteknologi Perikanan dan Kelautan atas masukan dan saran selama penelitian, Suami saya Teddy Prasmana yang selalu menemani dan mensupport saya, keluarga besar saya atas semua motivasi dan nasehat yang berharga, serta semua

pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah dengan tulus ikhlas memberikan doa dan dukungan pada penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa thesis ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik sangat diharapkan dalam penyempurnaan thesis ini. Penulis berharap semoga tesis ini dapat disetujui dan nantinya bermanfaat untuk mengarahkan dalam penelitian pengembangan ilmu dan teknologi dalam bidang perikanan, terutama biologi molekuler dan genetika.

Surabaya, 2 Agustus 2022

Penulis

RINGKASAN

HALIMATUS MEIRIKAYANTI. Keragaman Morfometri dan Gen Cytochrome b pada Ikan Sili (*Macrornathus* sp.) dari Beberapa Kabupaten di Jawa Timur Berdasarkan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Dosen Pembimbing: Dr. A Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si dan Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Ikan sili (*Macrornathus* sp.) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi di Asia. Ikan sili memiliki cita rasa yang enak dan memiliki corak tubuh yang menarik). Adanya potensi ekonomi yang dimiliki ikan sili mengakibatkan penangkapan ikan secara berlebihan (*overfishing*), maka perlu dilakukan upaya budidaya. Salah satu upaya keberhasilan budidaya yaitu dengan pemilihan genetik unggul. Pemilihan genetik unggul dapat dilakukan dengan mengkaji keragaman genetik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik morfometri dan gen *cytochrome b* pada ikan sili yang berasal dari Lamongan, Mojokerto, Kediri, Tulungagung, dan Malang serta mengetahui hubungan kekerabatannya. Karakteristik genetik ikan sili dapat digunakan sebagai informasi tentang keragaman genetik ikan sili untuk pengembangan perbaikan mutu benih secara genetik.

Penelitian ini adalah penelitian eksploratif dengan pengambilan sampel secara langsung dan dilakukan pendekatan secara morfologi serta molekuler. Pengambilan sampel dilakukan dari bulan Maret – Juni 2021 dari hasil tangkapan nelayan di Lamongan, Mojokerto, Kediri, Tulungagung, dan Malang dengan jumlah empat ekor ikan sili dari setiap populasi. Analisis laboratorium dilaksanakan pada Bulan Juni – Desember 2021. Analisis laboratorium meliputi ekstraksi DNA, amplifikasi mtDNA dengan menggunakan primer *cytochrome b*, dan digesti dengan enzim restriksi *TaqI*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan software SPSS dan NTSYS.

Hasil penelitian dari analisis pengukuran morfometrik menggunakan uji ANOVA *one way* menunjukkan nilai F hitung lebih besar dibandingkan dengan F tabel ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan morfologi secara signifikan. Hasil amplifikasi daerah *cytochrome b* menghasilkan fragmen DNA berukuran 650 bp dari kelima populasi sampel ikan sili. Hasil pemotongan enzim restriksi *TaqI* pada mtDNA ikan sili dari 5 daerah menghasilkan 6 haplotipe komposit. Pemotongan daerah mtDNA ikan sili dengan enzim restriksi *TaqI* menghasilkan pola pemotongan yang beragam, namun beberapa sampel tidak terjadi pemotongan DNA. Populasi ikan sili dari Malang mempunyai nilai heterozigositas tertinggi yaitu 0,8489 dengan menghasilkan 2 haplotipe komposit, sedangkan ikan sili dari Lamongan tidak terjadi adanya keragaman gen yaitu nilai heterozigositas 0,0000. Populasi Tulungagung memiliki keragaman tingkat sedang dengan nilai heterozigositas, sedangkan populasi Kediri dan Mojokerto mempunyai pola pemotongan daerah mtDNA yang sama dengan nilai heterozigositas 0,84. Hasil analisis jarak genetik antar individu sampel berkisar antara 0,0000 - 0,8959. Analisis dendrogram yang dibentuk berdasarkan nilai

indeks similaritas menunjukkan hasil tiga kelompok. Kelompok pertama yaitu kelompok ikan sili Lamongan, Kelompok kedua yaitu Tulungagung dan Malang 1, sedangkan kelompok ketiga yaitu kelompok ikan sili Mojokerto, Kediri, dan Malang 4.

SUMMARY

HALIMATUS MEIRIKAYANTI. Morphometry and Genetic Diversity Cytochrome B of Sili (*Macragnathus* sp.) in Some District of East Jawa Province Assesed by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Academic advisor: Dr. A Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si dan Dr. Mufasirin, drh., M.Si.

Sili fish (*Macragnathus* sp.) is one type of freshwater fish that has high economic value in Asia. Sili fish has a good taste and has an attractive body pattern. The existence of the economic potential of sili fish results in overfishing (overfishing), it is necessary to do cultivation efforts. One of the efforts to succeed in cultivation is by selecting superior genetics. Selection of superior genetics can be done by studying genetic diversity. This study aims to determine the characteristics of the morphometry and cytochrome b gene in sili fish originating from Lamongan, Mojokerto, Kediri, Tulungagung, and Malang and to determine the relationship. The genetic characteristics of sili fish can be used as information about the genetic diversity of sili fish for the development of genetic improvement of seed quality.

This research is an exploratory research with direct sampling and morphological and molecular approaches. Sampling was carried out from March to June 2021 from the catches of fishermen in Lamongan, Mojokerto, Kediri, Tulungagung, and Malang with a total of four sili fish from each population. Laboratory analysis was carried out in June – December 2021. Laboratory analysis included DNA extraction, amplification of mtDNA using cytochrome b primers, and digestion with the restriction enzyme *TaqI*. Data analysis was performed using SPSS and NTSYS software.

The results showed that from the analysis of morphometric measurements using the one-way ANOVA test, the calculated F value was greater than the F table ($p < 0.05$), so it can be concluded that there are significant differences in morphology. The results of the amplification of the cytochrome b region produced DNA fragments measuring 650 bp from the five populations of sili fish samples. The results of cutting the restriction enzyme *TaqI* on mtDNA of Sili fish from 5 regions resulted in 6 composite haplotypes. Cutting of sili fish mtDNA regions with the restriction enzyme *TaqI* resulted in various cutting patterns, but some samples did not cut DNA. Sili fish population from Malang had the highest heterozygosity value of 0.8489 by producing 2 composite haoplotypes, while Sili fish from Lamongan did not have gene diversity, namely the heterozygosity value of 0.0000. The Tulungagung population has a moderate level of diversity with a heterozygosity value, while the Kediri and Mojokerto populations have the same mtDNA truncation pattern with a heterozygosity value of 0.84. The results of genetic distance analysis between individual samples ranged from 0.0000 -

0.8959. The dendogram analysis which was formed based on the similarity index value showed the results of three groups. The first group is the Lamongan sili fish group, the second group is Tulungagung and Malang 1, while the third group is the Mojokerto, Kediri, and Malang 4 sili fish group.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR.....	iii
PERNYATAAN.....	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN	v
PENETAPAN PANITIA	vi
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xx
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Sili (<i>Macrogathus</i> sp.)	6
2.1.1 Klasifikasi dan morfologi.....	6

2.1.2	Habitat dan kebiasaan makan.....	7
2.2	Keragaman Genetik	8
2.3	DNA Mitokondria (mtDNA)	9
2.4	Cytochrome b.....	10
2.5	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	11
2.6	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> (RFLP)	13
2.7	Filogenetik	14
2.8	Metode Jarak.....	16
III.	KERANGKA KONSEPTUAL.....	18
3.1	Kerangka Penelitian..	18
IV.	METODOLOGI PENELITIAN	22
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	22
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
4.3	Materi Penelitian.....	22
4.3.1	Peralatan penelitian	22
4.3.2	Bahan penelitian.....	23
4.4	Prosedur Penelitian	24
4.4.1	Pengambilan Sampel	24
4.4.2	Identifikasi Morfologi	25
4.4.3	Preparasi Sampel.....	27
4.4.4	Ekstraksi DNA	27
4.4.5	Amplikasi mtDNA dengan PCR	28
4.4.6	Digesti mtDNA dengan Enzim Restriksi	29
4.4.7	Elektroforesis dan Visualisasi	29
4.5	Analisis Keragaman Genetik mtDNA	29

4.6	Analisis Data.....	31
4.7	Diagram Alir Penelitian.....	31
V.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
5.1.	Hasil Penelitian.....	33
5.1.1.	Identifikasi Morfologi Ikan Sili	33
5.1.2.	Analisis Morfometri	34
5.1.3.	Analisis Genetik.....	36
5.1.4.	Identifikasi <i>Restriction Fragmen Length Poymorphism</i> (RFLP).....	39
5.2.	Pembahasan	43
5.2.1.	Keragaman Morfologi dan Morfometri	43
5.2.2.	Keragaman Genetik.....	45
5.2.3.	Analisis Hubungan Morfologi, Morfometri, dan Genetik	48
5.2.3.	Keragaman Genetik dan Keperluan dalam Budidaya	49
VI	KESIMPULAN DAN SARAN	51
6.1	Kesimpulan.....	51
6.2	Saran	51
	DAFTAR PUSTAKA	52

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tabel Pengukuran Morfometri Tubuh Ikan Sili.....	26
Tabel 4.2	Kategori Nilai Keragaman Genetik dan Indeks Similaritas.....	31
Tabel 5.1	Karakter Morfologi Ikan Sili.....	34
Tabel 5.2	Pengukuran Morfometri Ikan Sili.....	35
Tabel 5.3	Tipe Fragmen Restriksi mtDNA Cytochrom b dengan <i>TaqI</i>	39
Tabel 5.4	Distribusi Genotip pada Lima Populasi Sili.....	40
Tabel 5.5	Distribusi frekuensi dan komposit haplotip pada lima populasi ikan sili..	40
Tabel 5.6	Jarak Genetik ikan sili.....	41
Tabel 5.7	Indeks Similaritas Ikan Sili.....	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Morfologi ikan sili (<i>Macrogathus</i> sp.).....	7
Gambar 2.2	Struktur DNA Mitokondria.....	10
Gambar 2.3	Struktur Pohon Evolusi.....	16
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual Penelitian.....	21
Gambar 4.1	Peta Lokasi Pengambilan Sampel Ikan Sili.....	24
Gambar 4.2	Pengukuran Morfometri Spesies Ikan Sili.....	25
Gambar 4.3	Diagram Alir Penelitian.....	32
Gambar 5.1	Hasil Amplifikasi Daging Ikan Sili.....	37
Gambar 5.2	Digesti mtDNA Ikan Sili dengan <i>TaqI</i>	38
Gambar 5.4	Dendogram Jarak Genetik Sampel Ikan Sili.....	40
Gambar 5.3	Dendogram Similaritas Antar Individu Ikan Sili.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Enzim Restriksi dan Situs Digesti.....	60
Lampiran 2.	<i>Macrogathus aculeatus</i> Mitochondrial Cyt- b Complete Genom.....	61
Lampiran 3.	Hasil Uji Anova pada Setiap Parameter Morfometri.....	64

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
CYT-B	: <i>cytochrome b</i>
mtDNA	: DNA mitokondria
Cu	: Cuprum
Zn	: Zinc
Fe	: Ferrum
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RFLP	: <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
dNTP	: <i>Deoxynukleotid trifosfat</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphospat</i>
NJ	: Neighbour Joining
ANOVA	: Analysis of Variance
NTSYS	: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis
<i>Taq</i>	: <i>Thermus aquaticus</i>
IUCN	: <i>International Union for Conservation of Nature's</i>