

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Danau Matano, salah satu danau purba yang terletak di kompleks Danau Malili, Kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan, merupakan salah satu dari 10 danau terdalam di dunia dengan kedalaman mencapai 590 meter (Crowe *et al.*, 2008; Katsev *et al.*, 2010) dan telah ditetapkan sebagai salah satu danau prioritas nasional karena memiliki nilai ekologis, sosial, dan ekonomis yang besar (Peraturan Presiden No.60 Tahun 2021). Keanekaragaman hayati yang tinggi di Danau Matano (Rintelen *et al.*, 2008; Hilgers *et al.*, 2018) menunjukkan pentingnya menjaga kelestarian ekosistem di kawasan danau dan sekitarnya, termasuk daerah tangkapan air. Meskipun telah ada sejumlah penelitian terkait biodiversitas di perairan Danau Matano (Mandagi *et al.*, 2021; Kottelat & Whitten, 1994; Roy *et al.*, 2004; Cristescu *et al.*, 2010; Haase *et al.*, 2023; Nuryadi *et al.*, 2024), kajian yang fokus pada ikan endemik di daerah tangkapan air sekitarnya masih sangat terbatas.

Biodiversitas yang tinggi di Danau Matano memberikan satu gambaran bahwa pentingnya menjaga kelestarian ekosistem yang berada di kawasan Danau Matano termasuk daerah tangkapan air. Danau Matano dikatakan juga sebagai danau yang memiliki tingkat endemisitas yang beragam (Prianto *et al.*, 2016; Hediarto & Sentosa, 2019) mempunyai karakteristik fisik yang stabil sehingga menciptakan lingkungan yang mendukung bagi perkembangan spesies endemik dengan tingkat keunikan yang tinggi. Menurut Prianto *et al.*, 2016 Keanekaragaman jenis ikan endemik di Danau Matano terdapat 12 yang terdiri dari 7 jenis *Telmatherina*, 1 jenis *Dermogenys*, 1 jenis *Glossogobius*, 1 jenis *Mugilogobius*, 1 jenis *Oryzias* dan 1 jenis *Synbranchus*. Selanjutnya menurut hasil penelitian (Nasution & Dina 2019) menemukan bahwa terdapat 14 spesies ikan endemik di Danau Matano, seperti ikan Opudi (*Telmatherina antoniae*) yang terdiri dari 10 spesies. Adapun salah satu kawasan yang memiliki potensi untuk melihat keberadaan ikan endemik berasal dari daerah tangkapan air.

Daerah tangkapan air merupakan salah satu kawasan yang sangat penting karena menjadi tempat masuk dan keluarnya aliran air begitupun siklus yang terjadi di Danau Matano. Adanya daerah tangkapan air ini akan mempengaruhi kualitas ekosistem danau. Daerah tangkapan air juga menjadi salah satu kawasan yang digunakan untuk mencari organisme akuatik (Manibu & Angin, 2021; Dawidek & Ferencz, 2024). Salah satu organisme yang didapatkan di daerah tangkapan air yaitu *Glossogobius* sp.. *Glossogobius* sp. merupakan salah satu jenis ikan yang tergolong dalam family Gobiidae (Hadijah *et al.*, 2021), yang dikenal sebagai organisme bentopelagis dan tersebar secara geografis di perairan Indo-Pasifik. *Glossogobius* sp. dapat hidup di habitat dengan karakteristik kondisi perairan yang keruh berlumpur, berbatu dengan sedikit berpasir (Suryandari & Krismono, 2011). Salah satu habitat yang cocok untuk *Glossogobius* sp. yaitu daerah tangkapan air yang

terletak di sekitar Danau Matano. Apabila daerah tangkapan air mengalami gangguan maka akan berdampak kepada organisme yang ada di Danau Matano.

Adanya penurunan organisme yang ada di daerah tangkapan air Danau Matano karena disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya meningkatnya organisme invasif sehingga terjadi persaingan antar organisme di perairan. Spesies invasif memerlukan perhatian dan tindakan karena jika tidak segera diatasi dampaknya bisa sangat merugikan ekosistem danau serta mengurangi jumlah spesies ikan yang berada kawasan Danau Matano dan daerah tangkapan air (Sentosa & Hediarto, 2019). Selain adanya ikan invasif perubahan kondisi daerah tangkapan air juga dapat disebabkan karena terjadinya defortasi atau urbanisasi yang dapat meningkatkan aliran sedimen, pencemaran, dan penurunan kualitas air, yang memiliki dampak yang signifikan terhadap organisme yang ada di daerah tangkapan air termasuk spesies *Glossogobius* sp. (Vörösmarty *et al.*, 2010; Comte *et al.*, 2022). Oleh karena itu pemahaman yang lebih mendalam tentang morfologi dan identifikasi DNA barcoding dari spesies ikan ini menjadi sangat penting.

Identifikasi morfologi mempunyai kontribusi yang penting terhadap pengenalan dan identifikasi spesies. Morfologi merupakan hasil interaksi antara faktor genetik dan lingkungannya habitatnya (Chac & Thinh, 2023). Hubungan kekerabatan pada suatu populasi atau spesies biasanya dipelajari dengan pendekatan morfologi tetapi memiliki kelemahan yaitu tingkat subjektivitas yang sangat tinggi. Oleh karena itu perlu dilakukan pendekatan genetik dengan teknik DNA barcoding. Analisis DNA barcoding telah terbukti menjadi salah satu alat yang efektif untuk mengidentifikasi spesies secara akurat berdasarkan sekuen genetik mereka, sementara karakteristik morfologi memberikan wawasan tentang variasi fisik yang ada (Deiner *et al.*, 2016; Zemlak *et al.*, 2009). Studi-studi terkini juga menekankan pentingnya memahami hubungan kekerabatan antara spesies ikan untuk memperluas pemahaman tentang evolusi dan distribusi geografis mereka (Astuti *et al.*, 2022). Seperti penemuan spesies ikan di daerah cekungan sungai di Ekuador bagian barat yang masih jarang dieksplorasi secara genetik, sebagaimana yang diamati dalam studi oleh (Camacho *et al.*, 2024), menyoroti pentingnya penelitian molekuler untuk memahami keanekaragaman hayati. Hal ini relevan dengan kebutuhan untuk mengeksplorasi daerah tangkapan air sekitar Danau Matano yang juga masih minim dalam studi molekuler.

Adapun beberapa penelitian sebelumnya yang dilakukan di Danau Matano (Nasution & Dina 2019; Chadijah *et al.*, 2021) mengenai ikan endemik di kawasan Danau Matano tetapi hanya meneliti tentang struktur populasi dan variasi morfologi *Telmatherina antoniae* tidak membahas mengenai pendekatan molekuler. Saat ini penelitian mengenai penggabungan antara morfologi dan DNA barcoding dalam identifikasi ikan di daerah tangkapan air sekitar Danau Matano masih jarang dilakukan, adapun penelitian sebelumnya yang menggunakan metode molekuler pada penelitian (Haase *et al.*, 2023) mengenai Spesies Baru dari Dunia yang Hilang : *Sulawesidrobia* (*Caenogastropoda Tateidae*) from Ancient Lake Matano pada penelitian ini membahas mengenai analisis filogenetik menggunakan urutan DNA

dari sebuah fragmen *sitokrom oksidase I* mitokondria pada spesies gastropoda tetapi tidak dengan spesies ikan.

Penelitian mengenai DNA barcoding dan karakteristik morfologi penting dilakukan karena untuk memahami keragaman genetik dan morfologi ikan namun penelitian yang secara khusus memfokuskan pada ikan *Glossogobius* sp. di daerah tangkapan air sekitar Danau Matano masih sangat terbatas bahkan belum ada. Oleh karena itu, dengan adanya penelitian ini dapat memberikan wawasan yang mendalam tentang morfologi dan genetik dari *Glossogobius* sp. terhadap perubahan lingkungan sehingga dapat melengkapi wawasan tentang biodiversitas ikan di Danau Matano. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi yang signifikan dalam pengelolaan dan konservasi sumber daya perikanan di daerah tangkapan air dan Danau Matano secara keseluruhan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana variasi morfometrik-meristik *Glossogobius* sp. di Daerah Tangkapan Air di sekitar Danau Matano?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan *Glossogobius* sp. (berdasarkan hasil barcoding) dengan ikan lain yang ada di GenBank (pohon filogenetik)?
3. Bagaimana kesesuaian identifikasi secara morfologi dengan identifikasi berdasarkan DNA barcode terhadap *Glossogobius* sp. di Daerah Tangkapan Air di sekitar Danau Matano?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian mengenai pendekatan molekuler dan morfologi untuk mengidentifikasi ikan endemik di danau matano sebagai berikut:

1. Menganalisis variasi morfometrik-meristik dari spesies *Glossogobius* sp. di Daerah Tangkapan Air di sekitar Danau Matano
2. Menganalisis hubungan kekerabatan *Glossogobius* sp. (berdasarkan hasil barcoding) dengan ikan lain yang ada di GenBank (pohon filogenetik)
3. Menganalisis kesesuaian identifikasi secara morfologi dengan identifikasi berdasarkan DNA barcode terhadap *Glossogobius* sp. di Daerah Tangkapan Air di sekitar Danau Matano.

1.4 Kegunaan Penelitian

Adapun kegunaan pada penelitian ini sebagai salah satu sumber informasi dan diharapkan memberikan wawasan yang lebih akurat tentang asal usul ikan *Glossogobius* sp., serta kontribusi pentingnya untuk pengelolaan dan konservasi sumber daya perikanan di daerah tangkapan air dan Danau Matano. Selain itu sebagai referensi yang berguna dalam mengetahui *Glossogobius* sp. yang ditemukan di daerah tangkapan air Danau Matano, Sulawesi Selatan.

1.5 Teori

1.5.1 Klasifikasi *Glossogobius* sp.

Berdasarkan Froese & Pauly. Editors. (2024) bahwa *Glossogobius* sp. memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdiom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Infaphylum	: Gnathostomata
Parvphylum	: Osteichhyes
Gigaclass	: Actinopteygii
Superclass	: Actinopteri
Class	: Teleostei
Ordo	: Gobiiformes
Family	: Gobiidae
Subfamily	: Gobiinae
Genus	: <i>Glossogobius</i>



Gambar 1. *Glossogobius* sp.
(Dokumentasi pribadi)

Glossogobius sp. merupakan salah satu jenis ikan yang tergolong dalam family Gobiidae (Hadijah et al., 2021), yang dikenal sebagai salah satu organisme bentopelagis dan tersebar secara geografis di perairan Indo-Pasifik. Ikan ini memiliki bentuk tubuh yang silindris, terdapat bercak-bercak kehitaman dan putih kekuningan, mempunyai dua sirip punggung yang saling berdekatan, dan sirip ekor membulat (Hasim, 2022).

Ada beberapa genus *Glossogobius* yang berada di Indonesia seperti *G. flavipinus*, *G. mahalonensis* (Hoese et al., 2015), *G. intermedius*, *G. matamensis* (Aurich, 1939), *G. aureus* (Hadijah et al., 2014), *G. celebicus* (Hoese & Allen, 2011) *G. giuris* (Syamsuddin et al., 2020). Sedangkan menurut (Hadiaty, 2018) bahwa di Sulawesi terdapat 68 spesies endemik yang tersebar, di antaranya dalam family Gobiidae, terbagi dalam dua genus *Mugilogobius* dan *Glossogobius*. Genus *Glossogobius* terdapat 5 spesies yang di Sulawesi yaitu *G. Celebicus*, *G. flavipinus*, *G. Intermedius*, *G. mahalonensis*, *G. matanensis*.

1.5.2 Habitat dan Kebiasaan Makan *Glossogobius* sp.

Glossogobius merupakan genus ikan yang memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap berbagai jenis habitat, terutama di lingkungan perairan yang memiliki kondisi perairan yang keruh berlumpur, berbatu dengan sedikit berpasir. Substrat dasar perairan yang berlumpur tebal yang menjadi tempat ideal untuk mencari makanan, area berbatu yang memberikan perlindungan dari predator atau arus deras, serta keberadaan pasir dalam jumlah kecil yang berperan sebagai bagian dari substrat campuran yang mendukung kelangsungan hidupnya. (Suryandari & Krismono, 2011), dan sebagai salah satu organisme yang bersifat amfidromus (Salindeho, 2022).

Bentuk tubuh yang ramping dan sedikit memipih dibagian perut, dapat membantu berenang dengan baik didasar perairan yang merupakan habitat dari ikan ini. Kepala yang cenderung besar dan agak gepeng dengan mulut yang lebar, sesuai dengan kebiasannya sebagai salah satu organisme predator dasar perairan yang dapat memangsa organisme kecil disekitar sedimen atau substrat perairan (Muhdin, 2021).

1.5.3 Morfologi (Morfometrik dan Meristik)

Morfologi merupakan cabang ilmu yang mempelajari bentuk, struktur, dan ciri fisik dari suatu organisme atau bagian tubuhnya, yang sering digunakan untuk mengidentifikasi, mengklasifikasikan, dan memahami fungsi dari berbagai bagian pada tubuh. Morofologi juga bisa dikatakan sebagai salah satu ilmu yang mempelajari karakteristik luar makhluk hidup, seperti ukuran, bentuk, warna, dan struktur fisik lainnya, yang dapat digunakan untuk membandingkan perbedaan antarspesies atau bahkan antarindividu dalam satu spesies (Muhdin, 2021). Menurut (Chac & Thinh, 2023) morfologi yaitu hasil pengamatan fenotip yang merupakan hasil interaksi antar faktor genetik dan lingkungan habitatnya. Adapun pengukuran yang dilakukan dalam morfologi ikan yaitu morfometrik dan meristik.

Studi morfometrik merupakan suatu kegiatan yang digunakan untuk mengidentifikasi spesies karena setiap spesies memiliki perbedaan ukuran seperti panjang dan lebar dalam morfologinya (Kudsiah *et al.*, 2022). Karakter morfologi, seperti bentuk tubuh, corak warna, dan jumlah sisik, merupakan salah satu metode utama dalam identifikasi dan pembeda spesies pada tahap awal. Ciri-ciri ini memiliki peran penting dalam taksonomi, karena dapat diamati dengan mudah dan menawarkan informasi visual yang langsung terkait dengan variasi antar spesies (Serdiati *et al.*, 2020).

1.5.4 DNA barcoding

Analisis DNA barcoding telah terbukti menjadi metode yang efektif untuk mengidentifikasi spesies secara akurat berdasarkan sekuen genetiknya (Deiner *et al.*, 2016; Zemlak *et al.*, 2009). Metode identifikasi yang dilakukan dengan menggunakan mitokondria *Cyhtocrome Oxidase Subunit 1* (COI). COI merupakan gen yang digunakan sebagai penanda genetik, yang memiliki urutan basa nukleotida yang bersifat mempertahankan gen (Maramis & Warouw, 2014). COI digunakan dalam proses identifikasi spesies karena gen ini memiliki tingkat intraspesifik lebih baik dari gen lainnya (Astuti *et al.*, 2022).

COI juga dikatakan sebagai gen yang standar dan banyak digunakan sebagai gen penanda untuk mengidentifikasi hewan (Aprilia *et al.*, 2014). Gen ini juga mempunyai sifat yang konservasi dan dianggap mampu untuk mengungkap keberadaan suatu organisme dan bagian dari bahan genetik mitokondria yang sering digunakan sebagai salah satu penanda spesies (Permadi *et al.*, 2022). Analisis variasi sekuens CO1 merupakan metode yang memiliki tingkat keragaman tinggi serta sangat berperan penting dalam menentukan hubungan kekerabatan antar spesies, CO1 dipilih karena gen ini memiliki kestabilan yang tinggi dan laju evolusi yang relatif lebih cepat dibandingkan dengan gen lain pada mtDNA (Hidayani, 2020).

1.5.5 Filogenetik

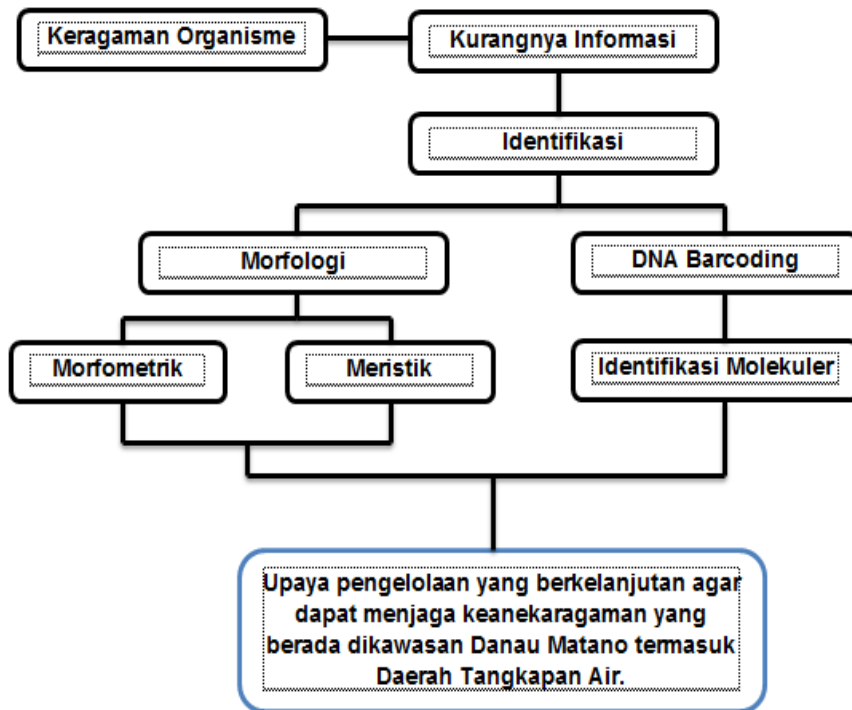
Analisis filogenetik merupakan suatu pendekatan yang digunakan untuk mengungkap hubungan evolusi antar spesies melalui pemeriksaan data genetik, morfologi, serta karakteristik lainnya. Menggunakan metode ini, dapat membangun pohon filogenetik yang tidak hanya menggambarkan kekerabatan di antara spesies, tetapi juga memberikan wawasan mengenai sejarah evolusi antar spesies.

Pohon filogenetik yang dihasilkan memungkinkan pemahaman yang lebih mendalam tentang bagaimana individu atau kelompok organisme saling berhubungan, terutama yang didasarkan pada pengamatan awal terhadap karakteristik morfologi. Proses ini mempertimbangkan kesamaan di antara organisme dan mengidentifikasi adanya keterkaitan yang erat, sehingga dapat membantu dalam penentuan garis keturunan dan evolusi spesies secara lebih akurat (Omar *et al.*, 2021). Dengan demikian, analisis filogenetik berfungsi sebagai alat penting dalam studi biologi dan taksonomi, yang berkontribusi pada pengembangan pengetahuan mengenai keanekaragaman hayati.

1.6 Kerangka Pikir

Danau Matano merupakan salah satu danau yang memiliki keanekaragaman organisme yang cukup tinggi banyak ditemukan organisme yang hidup di kawasan danau salah satu jenis organisme yang banyak hidup di kawasan danau yaitu ikan. Akan tetapi penelitian mengenai identifikasi molekuler dan morfologi ikan di kawasan daerah tangkapan air Danau Matano menggunakan metode DNA barcoding masih kurang dilakukan maka dari itu perlu adanya penelitian mengenai hal tersebut untuk

mengidentifikasi jenis ikan apa saja yang berada di kawasan daerah tangkapan air. Identifikasi organisme yang dilakukan agar mendapatkan hasil yang sangat akurat yaitu dengan cara identifikasi dengan metode DNA barcoding dan identifikasi morfologi, yang dimana dalam identifikasi morfologi ada beberapa bagian-bagian yang harus diukur yaitu morfometrik dan meristik sedangkan dalam DNA barcoding menggunakan identifikasi molekuler yang dimana memiliki tahapan atau teknik khusus seperti ekstraksi DNA, amplifikasi menggunakan PCR, elektroforesis dan sekuensing. Metode ini dilakukan agar dalam mengidentifikasi mendapatkan hasil yang sangat akurat mengenai ikan yang berada dalam kawasan danau serta bagaimana kekerabatan ikan yang satu dengan jenis ikan yang lainnya. Hasil data dari penelitian ini bisa menjadi bahan informasi dan dapat mendukung upaya pengelolaan berkelanjutan agar dapat menjaga keanekaragaman yang berada di kawasan daerah tangkapan air Danau Matano dan melindungi ikan yang berada dalam kawasan danau agar tidak mengalami kepunahan.

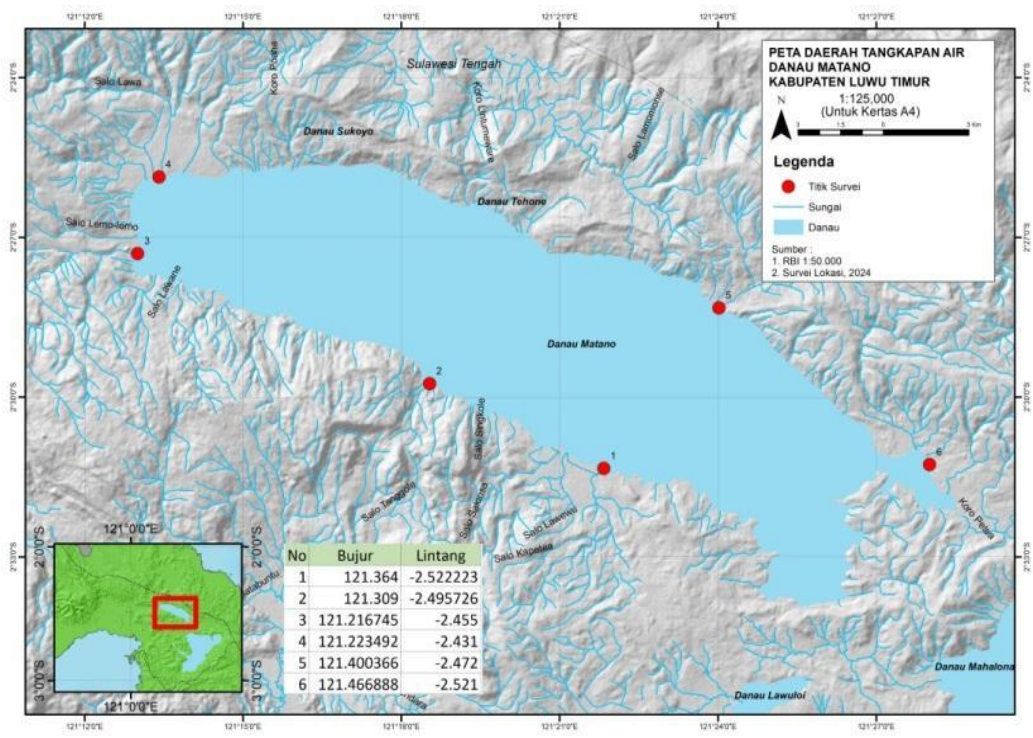


Gambar 2. Kerangka Pikir Penelitian

BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli hingga Oktober 2024. Pengambilan sampel dilakukan di Danau Matano, Sulawesi Selatan. Pengukuran morfologi pada ikan dilakukan di Laboratorium Biologi Perikanan, Fakultas Kelautan dan Ilmu Perikanan, Universitas Hasanuddin. Ekstraksi DNA dan PCR dilakukan di Biodiversitas Indonesia (BIONESIA), Ubung Kaja, Kota Denpasar, Bali. Sekuensing DNA dilakukan di PT *Genetics Science*, Jakarta. Adapun lokasi tempat penelitian dapat dilihat pada (Gambar 3).



Gambar 3. Lokasi Titik Pengambilan Sampel. Titik 1: SCM 1; Titik 2: SCM 2; Titik 3: SCM 3; Titik 4: SCM 4; Titik 5: SCM 6; Titik 6: SCM 5.



Titik 1 (SCM 1)



Titik 2 (SCM 2)



Gambar 4. Kondisi Daerah Tangkapan Air, Danau Matano

2.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah mistar mengukur bagian tubuh ikan, tube 1,5 ml menyimpan jaringan spesimen yang telah di preparasi, plastik sampel untuk menyimpan spesimen yang diperoleh dari titik lokasi, *cool box* wadah menyimpan spesimen, seser digunakan untuk menangkap spesimen, jarum pentul, parafilm, kertas label, tisu, sarung tangan, gunting, alat tulis dan kamera. Adapun alat digunakan dalam proses molekuler yaitu *vortex*, *sentrifuge*, *heating block*, *Thermo cycler*. Bahan yaitu sirip ikan, primer, *chelex* 10%, gel agarose 1%, pewarnaan *Nucleic Acid Gel Stain (GelRed®)*, ethanol 96%.

2.3 Prosedur Penelitian

Adapun prosedur yang dilakukan dalam penelitian tentang morfologi dan DNA barcoding untuk identifikasi ikan yang didapatkan dari daerah tangkapan air Danau Matano sebagai berikut:

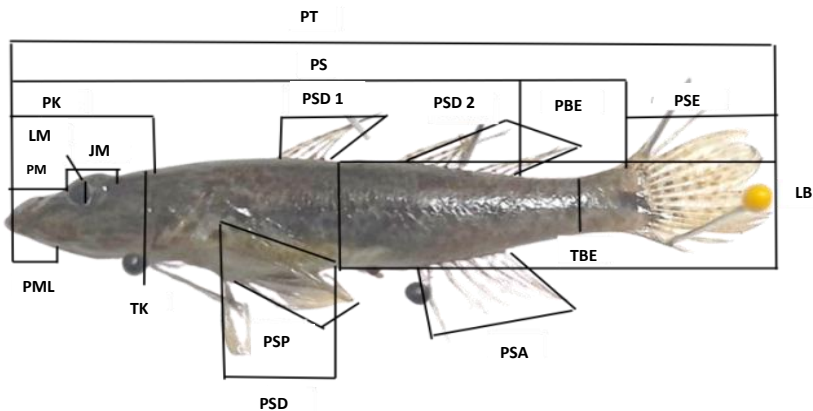
2.3.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada enam sungai yang berada di sekitar Danau Matano di Desa Sorowako, Kec. Nuha, Kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan. Titik pengambilan sampel dari enam sungai mempunyai kondisi lingkungan yang berbeda-beda. Titik 1 (SCM 1) dan titik 3 (SCM 3) mempunyai kondisi lingkungan yang hampir sama yaitu berdekatan dengan pemukiman warga, area sungai banyak ditemukan sampah buangan rumah tangga seperti plastik-plastik yang tidak dipakai, banyak ditemukan ikan invasif dibagian muara sungai, sedangkan perbedaannya pada SCM 1 bagian muara tempat persandaran kapal nelayan. Titik 2 (SCM 2) dekat dengan perkebunan warga dan aliran sungai tidak deras, banyak ditemukan ikan invasif dikawasa muara sungai. Adanya ikan invasif dari setiap

sungai dan kondisi lingkungan yang tidak baik kemungkinan mejadi salah satu faktor tidak ditemukannya *Glossogobius* sp. dari titik sungai tersebut. Sedangkan pada titik 4 (SCM 4) dan titik 6 (SCM 5) memiliki kondisi lingkungan yang hampir sama yaitu arus deras dan air yang jernih jauh dari pemukiman warga dan tidak ditemukan ikan invasif di kawasan muara sungai. Titik 5 (SCM 6) merupakan kawasan yang mempunyai air yang jernih, aliran sungai yang deras tetapi pada muara air mengalir cukup tenang dan dekat dengan peternakan warga. Titik tempat ditemukannya tiga spesimen *Glossogobius* sp. yaitu dua spesimen di SCM 4 dan satu spesimen di SCM 5, hal ini mungkin dikarenakan dua kawasan ini masih mempunyai kondisi lingkungan yang masih terjaga berbeda dengan empat titik lokasi pengambilan sampel yang lainnya. Adapun data kualitas air dari setiap titik pengambilan sample dilakukan menggunakan alat *water quality*. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan alat tangkap seser milik nelayan yang berada di lokasi penelitian. Sampel ikan yang diperoleh dalam keadaan segar akan didokumentasikan, lalu dimasukkan kedalam plastik sampel (*ziplock*) dan disimpan ke dalam wadah *cool box* yang berisi es batu agar kesegaran ikan tetap terjaga sebelum dilakukan preparasi dan pengukuran morfologi (morfometrik dan meristik). Ikan yang telah selesai dilakukan pengamatan morfologinya kemudian akan diambil jaringan sirip. Jaringan sirip dimasukkan dalam *microtube* 1,5 ml yang telah berisi etanol 96% (Ndobe *et al.*, 2023).

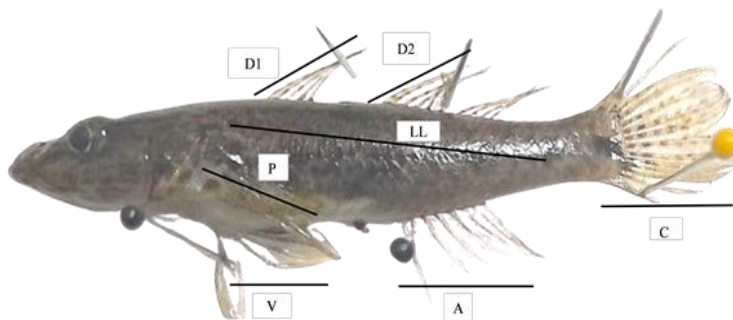
2.3.2 Morfologi (Morfometrik dan Meristik)

Pengumpulan data karakter morfometrik dan meristik merujuk pada (Rauf *et al.* 2024; Hasim *et al.*, 2022). Morfologi suatu proses yang digunakan untuk mengamati secara langsung atau kasat mata karakteristik fisik ikan seperti bentuk tubuh, ukuran dan warna tanpa melakukan proses pengukuran. Parameter morfometrik yang diukur meliputi panjang total (PT), panjang standar (PS), panjang kepala (PK), panjang batang ekor (PBE), lebar mata (LM), lebar badan (LB), Panjang sirip dada (PSD), panjang sirip perut (PSP), panjang sirip anal (PSA), panjang sirip ekor (PSE), panjang sirip dorsal (PSD 1), panjang sirip dorsal (PSD 2), jarak mata (JM), panjang moncong (PM), panjang mulut (PML), tinggi kepala (TK), dan tinggi batang ekor (TBE) (Gambar 5).



Gambar 5. Parameter atau karakter morfometrik yang diukur pada *Glossogobius* sp. dari Danau Matano.

Pengukuran pengukuran meristik pada *Glossogobius* sp. dilakukan dengan mengukur bagian keras dan lunak pada jari-jari sirip seperti jari-jari sirip dorsal 1 (D 1), jari-jari sirip dorsal 2 (D 2), jari-jari sirip caudal (C), jari-jari sirip pectoral (P), jari-jari sirip ventral (V) dan jari-jari sirip anal (A), linea lateralis (LL) (Gambar 6).



Gambar 6. Parameter atau karakter meristik yang diukur *Glossogobius* sp. dari Danau Matano

2.3.3 Ekstraksi DNA

Ekstraksi dilakukan untuk memecahkan sel agar mengeluarkan dan memisahkan DNA dari komponen lainnya yaitu protein dan lipid. Sampel sirip yang telah diambil kemudian dimasukkan dalam tube yang telah diisi dengan larutan etanol 96% (Ndobe *et al.*, 2023). Jaringan spesimen diambil (kurang lebih 10 gram) kemudian dilakukan proses ekstraksi untuk mengisolasi DNA. Adapun metode yang digunakan dalam proses ekstraksi yaitu metode chelex 10%. Setelah itu tube yang

telah terisi jaringan spesimen dimasukkan ke dalam mesin vortex untuk pengadukkan agar semua dapat tercampur atau homogen. Jaringan spesimen yang telah melewati proses pengadukkan dimasukkan ke dalam mesin sentrifuge tujuannya untuk pengendapan yang dimana DNA murni akan berada diatas permukaan sedangkan organel sel akan berada pada dasar tube . Hasil dalam proses ekstraksi yaitu hold genom.

2.3.4 Amplifikasi DNA Target (barcode)

Jaringan spesimen yang telah melewati proses ekstraksi lalu di amplifikasi menggunakan PCR fungsinya agar menghasilkan DNA target yaitu bagian tertentu dari gen mitokondrial Cytochrome Oxidase Subunit 1 (CO1 mtDNA) dengan primer *forward* FISH F1 (5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3') dan primer *reverse* FISH R1 (5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA -3') (Ward *et al.*, 2005). Total volume PCR adalah 26 μ L yang terdiri dari campuran: 2 μ L *template* DNA dari hasil ekstraksi, 1.25 μ L setiap primer dalam konsentrasi 10 mM, 9 μ L ddH₂O, dan 12.5 μ L *Master mix* yang terdiri dari dntp, mgcl, buffer, bioline (enzim tag polimerase). Campuran reaksi tersebut kemudian di amplifikasi menggunakan mesin *Applied Biosystems™ 2720 Thermal Cycler machine*. Adapun profil PCR meliputi denaturasi awal dengan suhu 94 °C selama 3 menit, kemudian 38 siklus meliputi tahap Denaturasi 94 °C selama 30 detik, suhu yang panas dalam denaturasi akan memisahkan untai *forward* dan *reverse* sehingga menjadi untai tunggal. Suhu akan diturunkan menjadi lebih rendah (50-53°C) selama 30 detik dalam *annealing* sehingga primer akan menempel. Setelah *annealing* selesai kemudian masuk ke tahap *Extension* selama 60 detik dengan suhu 72 °C pada tahap ini akan menyatukan kembali *forward* dan *reverse* sehingga double helix dan akan menjadi untai baru (Tadmor-levi *et al.*, 2023). Tahap terakhir yaitu *final extension*: 72 °C selama 2 menit. Selanjutnya masuk tahap elektroforesis, pada tahap ini hasil PCR kemudian divisualisasikan pada 1% gel Agarose dengan pewarnaan *Nucleic Acid Gel Stain* (GelRed®). untuk melihat atau mendeteksi ada atau tidaknya DNA dalam sampel.

2.3.5 Sekuensing DNA

Sampel yang positif (pita DNA bersih, jelas, tidak ada *dimer* dan pada kisaran panjang bp yang sesuai) kemudian dilakukan proses pembacaan DNA (*sequencing*) menggunakan metode Sanger dideoksi di PT. Genetika Science Jakarta menggunakan *terminator base* dan *capillary tube*. Setelah itu hasil kromatogram yang dihasilkan dari proses sekuensing diunduh di perangkat lunak MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021). Untuk setiap sampel, sekuens serta urutan maju dan mundur akan dibersihkan.

2.4 Analisis Data

Hasil pengukuran kualitas air dan morfometrik-meristik dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dalam menggunakan microsoft excel. Sekuens homolog diperoleh dari NCBI GenBank menggunakan rutin Blast-n dengan *highly similar sequences*. Sekuens dari sampel bersama dengan sekuens hasil Blast digunakan untuk filogeni menggunakan perangkat lunak MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021) dengan metode Neighbor-joining (dengan 1000 iterasi bootstrap) dan model Kimura 2-parameter (Kimura, 1980) Pohon filogeni dihasilkan diedit menggunakan perangkat lunak online Interactive Tree of Life (iTOL) versi 5 (Letunic *et al.*, 2021).