

KERAGAMAN GENETIK BERUDU

Duttaphrynus melanostictus (Schneider, 1799) DARI DAERAH ISTIMEWA YOGYAKARTA BERDASARKAN GEN MITOKONDRIA 16S rRNA

Jessica Desviana

21/473290/BI/10675

INTISARI

Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) adalah daerah yang kaya akan diversitas amfibi. Salah satu yang umum ditemui adalah *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider, 1799). Penelitian molekular spesies ini masih jarang dilakukan dan khusus penelitian keragaman genetik berudu berdasarkan gen mitokondria 16S rRNA belum pernah dilakukan di Indonesia. Penelitian keragaman genetik penting dilakukan untuk pembentukan pustaka gen mitokondria 16S rRNA sebagai landasan upaya konservasi. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk menguji potensi identifikasi dengan sampel berudu serta mengetahui keragaman genetik *D. melanostictus* dari DIY berdasarkan gen mitokondria 16S rRNA. Penelitian dilakukan dengan metode PCR menggunakan primer *forward* L2606 dan *reverse* H3056. Tahapan penelitian terdiri dari isolasi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis, purifikasi, dan sekuensing. Hasil data dianalisis dengan perangkat lunak GeneStudio, DNASTAR, MESQUITE, MEGA11, DnaSP, BEAST, NETWORK, dan GenAlEx. Hasil sekuensing menunjukkan jika sampel berudu dapat digunakan untuk identifikasi molekular spesies amfibi. Hasil analisis intrapopulasi tidak ditemukan adanya keragaman genetik pada populasi *D. melanostictus* dari DIY yang dikoleksi pada penelitian. Pada analisis interpopulasi dengan data populasi India dan Jawa Timur dari database *GenBank* terdapat keragaman genetik dengan panjang fragmen 500 bp. Terdapat enam haplotipe dengan enam situs polimorfik yang terdiri dari lima *parsimony informative sites* dan satu *singleton site*. Nilai keragaman haplotipe $0,769 \pm 0,103$ dan keragaman nukleotida $0,00472 \pm 0,00061$ dengan jarak genetik berkisar antara 0,00-0,81%. Analisis filogenetik menunjukkan *D. melanostictus* DIY berada dalam satu *clade* yang sama dengan populasi Jawa Timur dan terpisah dengan *clade* populasi India dengan perbedaan jarak genetik 0,71%. Analisis jejaring haplotipe dan analisis PCoA (*Principal Coordinate Analysis*) menunjukkan tidak ada *sharing haplotype* dan populasi Jawa Timur berkerabat lebih dekat dengan populasi DIY. Hasil ini mendukung analisis filogenetik dengan populasi DIY dan Jawa Timur berada di *clade* yang sama. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk menyusun pustaka gen mitokondria 16S rRNA amfibi di Indonesia.

KATA KUNCI: amfibi, Indonesia, interpopulasi, intrapopulasi

GENETIC VARIATION OF *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider, 1799) TADPOLES FROM SPECIAL REGION OF YOGYAKARTA BASED ON MITOCHONDRIAL 16S rRNA GENE

Jessica Desviana

21/473290/BI/10675

ABSTRACT

Special Region of Yogyakarta (DIY) has amphibian diversity. One species commonly found is *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider, 1799). Molecular research on this species is still limited with genetic variation research on the tadpoles based on mitochondrial 16S rRNA gene has never been conducted in Indonesia. Genetic variation research is important to establish mitochondrial 16S rRNA gene library as a basis for conservation efforts. Therefore, this study aimed to determine the genetic variation of *D. melanostictus* from Yogyakarta using the mitochondrial 16S rRNA gene. This study used a PCR method with primer forward L2606 and reverse H3056. The study method consisted of DNA isolation, DNA amplification, electrophoresis, purification, and sequencing. The results were then analyzed using GeneStudio, DNASTAR, MESQUITE, MEGA11, DnaSP, BEAST, NETWORK, and GenAlEx software. Sequencing result indicated that tadpole can be used for molecular identification. Intrapopulation analysis showed no genetic variation within *D. melanostictus* population from Yogyakarta collected in this study. Interpopulation analysis combined with India and East Java data population taken from GenBank revealed genetic variation with six haplotypes and six polymorphic sites consisted of five parsimony informative sites and one singleton site within fragment length 500 bp. Haplotype diversity was 0.769 ± 0.103 and nucleotide diversity 0.00472 ± 0.00061 with genetic distance ranging from 0.00-0.81%. Phylogenetic analysis showed Yogyakarta population of *D. melanostictus* formed a clade together with East Java population and separated from India population with 0.71% genetic distance. Haplotype network and Principal Coordinate Analysis showed no sharing haplotype and East Java population is closer to Yogyakarta than India population. This result supported phylogenetic analysis with Yogyakarta and East Java population formed a clade together. The results from this study are expected to be used to assembly the mitochondrial 16S rRNA gene library for Indonesia amphibians.

KEY WORDS: amphibian, Indonesia, interpopulation, intrapopulation