

## Karakterisasi Udang Air Tawar Anggota Genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Decapoda: Palaemonidae) dari Air Terjun Tegenungan, Gianyar, Bali Berbasis Data Morfologi dan Molekular

RURY EPRILURAHMAN<sup>1</sup>, WILDAN AHMAD NABIL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Sistematika Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada  
Jl. Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta, Indonesia, 55281  
Email: rurybiougma@ugm.ac.id; wildananbl@gmail.com

Received 27 June 2018; Received in revised form 28 July 2018;  
Accepted 30 September 2018; Available online 26 November 2018

### ABSTRACT

*Macrobrachium* is one of prawn genera which has largest species number in family Palaemonidae, with some species of this genus being important commodity in aquaculture. Morphological characters for identification of this genus depend on environmental condition, growth phase, sex, and social dominance. This makes morphological identification on this genus quite difficult and tricky. Alternative approaches are required for better methods of *Macrobrachium* identification. DNA barcoding using 16S mitochondrial rRNA appears to be one promising method for *Macrobrachium* identification. This research aims to identify *Macrobrachium* from Tegenungan Waterfall using morphological and molecular analysis. Samples were taken from 4 sampling sites beneath the waterfall. All specimens were identified using several morphological identification methods. Specimen CR 07a and CR 10 were identified using molecular method. The molecular analysis utilized 16Sar (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') as forward primer and 16Sbr (5'-CCGGTCTGAACTCAGAT-CACGT-3') as reverse primer. From 11 specimens, 10 were identified as *Macrobrachium*. Specimen CR 07a was identified morphologically as *M. horstii*. According to BLAST analysis, specimen CR 10 was recognized as *M. horstii* with similarity up to 99% to GenBank specimens (JF310718.1 dan FM986616.1). Specimen CR 07a only reach 97% similarity to both GenBank specimens. Genetic distance analysis between specimen CR 07a and CR 10 assumed high genetic diversity, or even cryptic species indication in *M. horstii* population of Tegenungan Waterfall.

Keywords: 16S, *Macrobrachium*, morphological identification, Tegenungan Waterfall

### INTISARI

*Macrobrachium* merupakan genus udang dengan anggota spesies terbanyak dalam familia Palaemonidae. Beberapa spesies dari genus ini juga sudah dibudidayakan dan menjadi komoditas yang cukup penting. Identifikasi morfologis pada anggota genus ini relatif sulit dilakukan karena karakter morfologis utama *Macrobrachium* bergantung pada keadaan lingkungan, perubahan dalam siklus hidup, jenis kelamin, dan dominansi sosial. Pendekatan lain diperlukan untuk mengidentifikasi *Macrobrachium* secara akurat. Salah satu metode yang sedang dikembangkan adalah *DNA barcoding* menggunakan gen mitokondria 16S. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies *Macrobrachium* dari Air Terjun Tegenungan menggunakan analisis karakter morfologis dan molekular. Sampel udang diambil dari 4 titik sampling di bawah Air Terjun Tegenungan. Spesimen udang selanjutnya diidentifikasi berdasarkan karakter morfologis dan molekular. Analisis morfologi menggunakan beberapa kunci identifikasi. Analisis molekular menggunakan 16Sar (5'-CGCCTGTTTATCAAAA-ACAT-3') sebagai primer *forward* dan 16Sbr (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') sebagai primer *reverse*. Dari 11 spesimen yang didapat, 10 spesimen termasuk dalam genus *Macrobrachium*. Spesimen yang dapat diidentifikasi secara morfologis hingga tingkat spesies hanya specimen CR 07a, dan teridentifikasi sebagai *M. horstii*. Berdasarkan analisis dengan BLAST, specimen CR 10 memiliki kemiripan sebesar 99% dengan *M. horstii* (JF310718.1 dan FM986616.1), sedangkan spesimen CR 07a memiliki kemiripan sebesar 97% dengan kedua spesimen *GenBank* tersebut. Jarak genetik yang cukup besar antara spesimen CR 07a dengan spesimen CR 10 menunjukkan adanya keragaman genetik pada populasi *M. horstii* di Air Terjun Tegenungan. Hal ini bahkan dapat menjadi indikasi adanya *cryptic species* dari *M. horstii*.

Kata Kunci: 16S, Air Terjun Tegenungan, identifikasi morfologis, *Macrobrachium*

### PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu hewan akuatik yang termasuk dalam subfilum Crustacea. Udang telah banyak dibudidayakan untuk memenuhi kebutuhan manusia, salah

satunya adalah dari genus *Macrobrachium*. Genus ini memiliki lebih dari 240 spesies dan 100 di antaranya ditemukan di Asia Timur dan Tenggara (Wowor *et al.*, 2009). Walaupun beberapa spesies dari genus ini telah

dibudidayakan, seperti *M. nipponense* di Tiongkok dan *M. malcomsoni* di India (De Grave *et al.*, 2008), namun spesies yang paling umum untuk budidaya adalah *M. rosenbergii* (New, 2002).

Bali memiliki berbagai macam habitat perairan, seperti sungai, danau, dan laut. Sungai sendiri mengalir mengikuti relief muka bumi, sehingga jenis alirannya sangat ditentukan oleh permukaan yang dilewati. Saat aliran sungai melewati relief yang curam seperti tebing, maka akan terbentuk air terjun. Air terjun memberikan penghalang yang mencegah migrasi hewan akuatik ke arah hulu. Salah satu air terjun yang ada di Bali adalah Air Terjun Tegenungan yang terletak di Kabupaten Gianyar. Berbagai macam hewan akuatik dapat hidup di ekosistem air terjun, salah satunya adalah udang dari genus *Macrobrachium* (Short and Meek, 2000).

Identifikasi morfologis pada *Macrobrachium* cenderung rumit karena karakter morfologis utama *Macrobrachium* bergantung pada keadaan lingkungan, perubahan dalam siklus hidup, jenis kelamin, dan dominansi sosial (Page & Hughes, 2011). Hal ini membuat diperlukannya pendekatan lain untuk mengidentifikasi *Macrobrachium* secara akurat. Salah satu metode yang sedang dikembangkan oleh para ilmuwan adalah menggunakan pohon filogeni dari gen mitokondria 16S rRNA (Munasinghe, 2010; Sharma *et al.*, 2014), gen cytochrome oxidase subunit I (COI) (Salman *et al.*, 2006), gen 28S rRNA (Chen *et al.*, 2009), atau perpaduan ketiganya (Liu *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2009; Wowor *et al.*, 2009).

Identifikasi dengan pendekatan molekular membutuhkan data dari GenBank untuk

dibandingkan dengan data spesimen yang dikaji. Data dari genus *Macrobrachium* sendiri hanya terdapat 109 spesies di GenBank per 10 Desember 2010 (Page and Hughes, 2011), sementara spesies yang telah dideskripsi sekitar 240 spesies dan diprediksi terus bertambah (De Grave *et al.*, 2008). Sehingga masih diperlukan banyak data agar identifikasi molekular menjadi metode identifikasi yang baik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi udang dari genus *Macrobrachium* berdasarkan karakter morfologis dan molekular.

## METODE

Pengambilan sampel dilakukan oleh Tim Ekspedisi Gianyar tahun 2017 pada bulan Maret 2017 bertempat di Air Terjun Tegenungan, Gianyar, Bali. Pengamatan morfologi dilakukan di Laboratorium Sistematika Hewan Fakultas Biologi, UGM. Sedangkan pengambilan data molekular dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Fakultas Biologi, UGM.

Data morfologis yang diamati adalah data morfologi dan meristik. Data morfologi yang diambil berupa bentuk, ukuran relatif, ada tidaknya suatu struktur, dan sebagainya berdasarkan Holthuis (1950) dan Short (2004).

Data molekular diambil dengan langkah; isolasi DNA, amplifikasi, dan elektroforesis. Isolasi menggunakan QIAGEN DNEasy Blood & Tissue Kits. Amplifikasi menggunakan primer *16Sar* (5'-CGCCTGTTTATCAAAA-ACAT-3') dan *16Sbr* (5'-CCGGTCTGAA-CTCAGATCACGT-3') dengan KAPA2G *Fast ReadyMix PCR Kit*.

Tabel 1. Siklus amplifikasi DNA

No.	Reaksi	Suhu (°C)	Waktu	Siklus (n kali)
1	<i>Pre-denaturation</i>	95	1 menit	1
2	<i>Denaturation</i>	95	15 detik	35
3	<i>Annealing</i>	50	30 detik	35
4	<i>Extention</i>	72	30 detik	35
5	<i>Final extention</i>	72	5 menit	1
6	<i>Hold</i>	4	-	-

Elektroforesis yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan gel agarose 1% dengan pewarna *Florosafe DNA Stain* selama 30 menit pada tegangan 100 V.

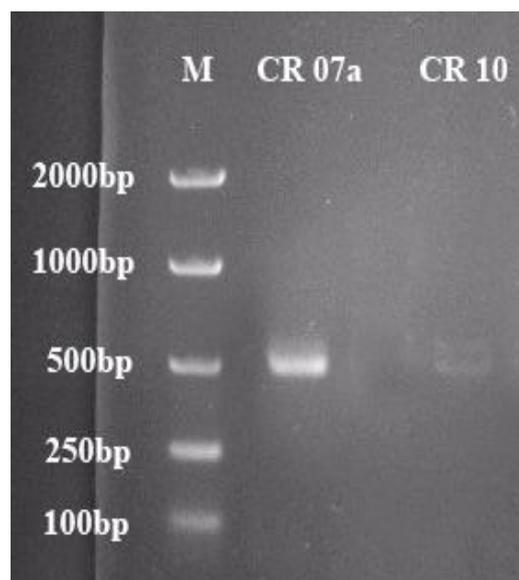
Sekuens yang diperoleh dianalisis menggunakan BLAST di website NCBI <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>. Selanjutnya dilakukan analisis jarak genetik dan konstruksi pohon filogeni menggunakan program MEGA.

## HASIL

Sampel diambil dari 4 titik yang berbeda di area Air Terjun Tegenungan. Sampel yang diperoleh berupa 11 individu udang. Pita DNA dari spesimen CR 07a terbentuk dengan jelas, namun pita dari spesimen CR 10 tampak samar. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kurangnya sampel DNA yang teramplifikasi. Sekuen gen mitokondria dari spesimen CR 07a memiliki panjang fragmen parsial sebesar 419 bp, sedangkan spesimen CR 10 sebesar 496 bp.

Tabel 2. Karakter morfologis spesimen

No.	Titik sampling	Individu	Spina hepatica	Appendix masculina	Keterangan
1.	CR 07	a	ada	telah berkembang	Jantan dewasa, lengkap
2.		b	ada	telah berkembang	Jantan dewasa, cheliped hilang
3.		c	ada	tidak ada	Betina
4.	CR 08		tidak ada	-	-
5.	CR 09	a	ada	tidak ada/ belum berkembang	Juvenil
6.		b	ada	tidak ada/ belum berkembang	Juvenil
7.		c	ada	tidak ada/ belum berkembang	Juvenil
8.		d	ada	tidak ada/ belum berkembang	Juvenil
9.		e	ada	tidak ada/ belum berkembang	Juvenil
10.		f	ada	tidak ada/ belum berkembang	Juvenil
11.	CR 10		ada	tidak ada	Betina dewasa, bertelur



Gambar 1. Pita-pita DNA spesimen CR 07a dan CR 10 hasil amplifikasi PCR yang divisualisasi dengan UV *transilluminator* pada gel elektroforesis. M merupakan *marker* DNA yang digunakan

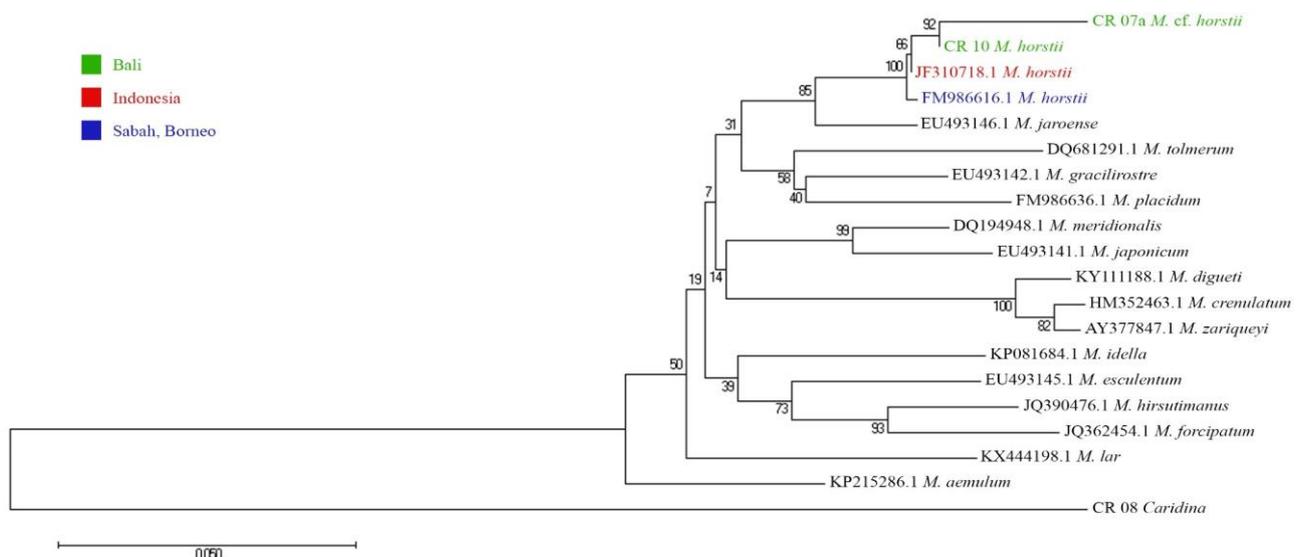
Tabel 3. Similaritas spesimen dengan sampel dari *GenBank*

Sampel NCBI		Spesimen	
		CR 07a	CR 10
JF310718.1	Query cover	99%	98%
<i>Macrobrachium horstii</i>	Identity	97%	99%
FM986616.1	Query cover	99%	86%
<i>Macrobrachium horstii</i>	Identity	97%	99%
FM986619.1	Query cover	99%	98%
<i>Macrobrachium jaroense</i>	Identity	94%	96%
EU493146.1	Query cover	99%	99%
<i>Macrobrachium jaroense</i>	Identity	94%	96%

Analisis menggunakan BLAST di website NCBI pada kedua sampel (CR 07a dan CR 10) menunjukkan bahwa kedua sampel memiliki kedekatan paling besar dengan sampel *Macrobrachium horstii* (JF310718.1 dan FM986616.1), kemudian diikuti oleh *M. jaroense* (FM986619.1 dan EU493146.1).

Tabel 3. Jarak genetik (huruf warna hitam) dan standar deviasi (huruf warna biru) antar sekuen dari spesimen penelitian dan beberapa sampel *GenBank*

	CR 07a	CR 10	<i>M. horstii</i> JF310718.1	<i>M. horstii</i> FM986616.1	<i>M. jaroense</i> EU493146.1	<i>M. gracilirostre</i> EU493142.1
<b>CR 07a</b>		0,0074	0,0081	0,0085	0,0124	0,0143
<b>CR 10</b>	0,0247		0,0032	0,0040	0,0094	0,0123
<i>M. horstii</i> <b>JF310718.1</b>	0,0297	0,0049		0,0023	0,0088	0,0117
<i>M. horstii</i> <b>FM986616.1</b>	0,0322	0,0073	0,0024		0,0092	0,0120
<i>M. jaroense</i> <b>EU493146.1</b>	0,0637	0,0376	0,0325	0,0350		0,0122
<i>M. gracilirostre</i> <b>EU493142.1</b>	0,0907	0,0638	0,0585	0,0611	0,0584	



Gambar 2. Pohon filogeni *Neighbor-Joining* dari spesimen penelitian dan beberapa spesies dari genus *Macrobrachium* ditambah dengan satu spesimen *outgroup* dari genus *Caridina*

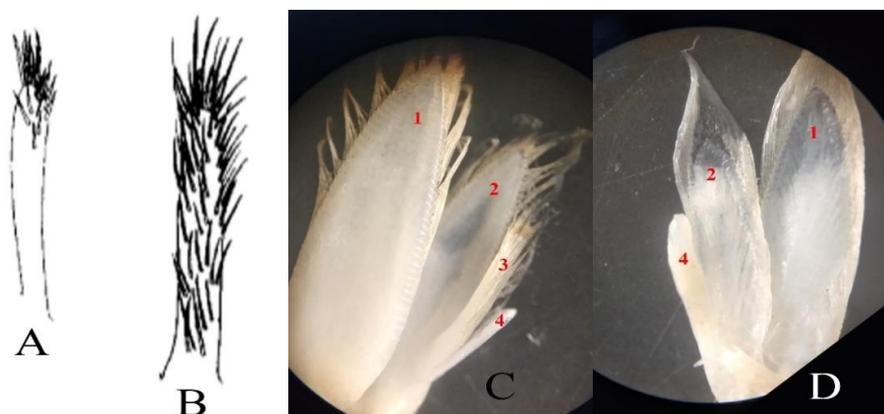
Hasil analisis menggunakan program MEGA menunjukkan bahwa spesimen CR 10 memiliki jarak genetik yang dekat (<1%) dengan *M. horstii* dari *GenBank*. Spesimen CR 07a memiliki kedekatan genetik paling besar dengan *M. horstii*, sehingga diindikasikan spesimen CR 07a merupakan *M. horstii*. Spesimen yang dapat diidentifikasi secara morfologis hanya CR 07a. Hal ini dikarenakan kunci identifikasi udang genus *Macrobrachium* hanya dapat digunakan pada individu jantan dewasa dengan bagian tubuh lengkap, terutama rostrum dan cheliped (Short, 2004).

### PEMBAHASAN

Spesimen CR 07b merupakan individu jantan dewasa, yang ditandai dengan adanya peninggian pada segmen pertama abdomen bagian ventral, serta adanya *appendix masculina* yang telah sempurna. Namun spesimen ini tidak memiliki cheliped, sehingga tidak dapat diidentifikasi secara morfologis menggunakan kunci identifikasi yang telah ada (Chace and Bruce, 1993; Holthuis, 1950).

Spesimen yang teridentifikasi hingga tingkat spesies hanya spesimen CR 07a dan CR 10, dimana keduanya merupakan *Macrobrachium horstii*. *M. horstii* merupakan spesies euryhaline dengan habitat larva di air payau (Wowor *et al.*, 2009). Spesies ini terdistribusi di Taiwan, Kalimantan, Sumatra Utara, Sulawesi, Bali, Lombok, dan Papua Nugini (Chace and Bruce, 1993; Holthuis *et al.*, 1950; Short, 2008; Wowor *et al.*, 2009). Air Terjun Tegenungan diindikasikan merupakan habitat yang ideal bagi *M. horstii* karena dapat ditemukan individu dewasa yang aktif bereproduksi (CR 10). Hal ini didukung dengan tidak adanya penghalang bagi induk *M. horstii* untuk bermigrasi ke arah muara yang merupakan habitat bagi larva spesies ini.

Hasil analisis morfologi menunjukkan bahwa semua spesimen kecuali CR 08 termasuk anggota genus *Macrobrachium*. Semua spesimen selain CR 08 memiliki ciri anggota genus *Macrobrachium*, yaitu memiliki *hepatic spine* dan 3 pereopod terakhir bersifat *non-bifid*. CR 08 memiliki pereopod bifid, sehingga spesimen ini tidak dianalisis lebih lanjut.



Gambar 3. *Appendix masculina* pada pleopod *Macrobrachium*: A. belum berkembang dan B. telah berkembang (Short, 2004). Pleopod kedua pada spesimen; C. CR 07b dan D. CR 10. Keterangan; 1: *exopodite*, 2: *endopodite*, 3: *appendix masculina*, 4: *appendix interna*

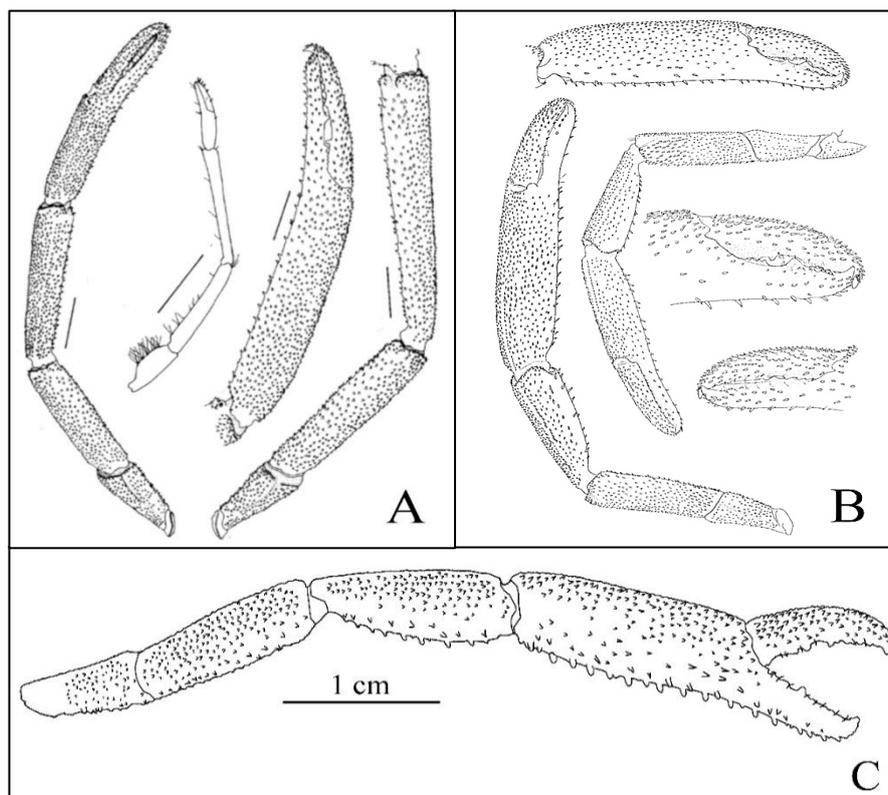
Untuk mengidentifikasi udang anggota genus *Macrobrachium* secara morfologis hingga tingkat spesies dibutuhkan spesimen jantan dewasa. Untuk menentukan fase hidup individu jantan dapat dilakukan dengan mengamati beberapa ciri khusus berdasarkan Short (2004). Ciri individu jantan dewasa pada anggota genus *Macrobrachium* adalah adanya

*appendix masculina* yang telah sempurna serta pereopod kedua yang lebih besar secara nyata dibanding pereopod kedua betina. *Appendix masculina* terletak pada pleopod kedua. Individu betina tidak memiliki *appendix masculina*, sedangkan pada udang jantan yang belum dewasa *appendix masculina* belum sempurna.

Berdasarkan kunci identifikasi dari Chace & Bruce (1993) dan Holthuis (1950) spesimen CR 07a merupakan *M. horstii*, dengan rostrum berbentuk lamella dan gigi rostrum bawah pertama terletak pada posterior gigi *antepenultimate* (ke-3 dari belakang) rostrum atas. Palm/manus memipih, dengan gigi pada dactylus. Dactylus lebih pendek dibanding manus. Untuk formula gigi rostrum, spesimen CR 07a memiliki kemiripan dengan *M. lopopodus* dengan rumus  $(4+7)/2$  (Wowor and Choy, 2001), sedangkan *M. horstii* memiliki formula gigi rostrum  $(4+8)/2-3$  (Chace and Bruce, 1993). Kedua spesies ini termasuk dalam grup spesies *M. horstii*, dengan ciri memiliki spinula di permukaan pereopod 2-5 (Wowor and Choy, 2001). Salah satu perbedaan keduanya adalah bentuk longitudinal dan ukuran carpus, dimana carpus *M. lopopodus* berbentuk relatif lurus dan panjangnya lebih dari setengah panjang

propodus (gambar 4A), sedangkan carpus *M. horstii* ujung distalnya lebih lebar dibanding pangkal dan panjangnya kurang dari setengah panjang propodus (gambar 4B dan 4C).

Dari pohon filogeni yang terbentuk dapat diamati bahwa spesimen CR 07a dan CR 10 memiliki kedekatan genetik paling besar dengan *M. horstii*. Spesimen CR 07a dan CR 10 membentuk grup yang berbeda dengan *M. horstii* dari *GenBank*. Hal ini dikarenakan sampel *GenBank* berasal dari populasi di wilayah geografis yang berbeda dari spesimen penelitian, sehingga memiliki jarak genetik yang cukup jauh. Namun, dari analisis karakter morfologis spesimen penelitian masih menunjukkan karakter spesifik dari *M. horstii*, sehingga kemungkinan perbedaan ini merupakan variasi genetik atau bahkan merupakan tanda adanya *cryptic species* pada populasi *M. horstii* di Air Terjun Tegenungan.



Gambar 4. Cheliped dari A. *M. lopopodus* (Wowor and Choy, 2001), B. *M. horstii* (Cai and Ng, 2001), dan C. spesimen CR 07a (dokumen pribadi)

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa semua spesimen yang

diperoleh berasal dari genus *Macrobrachium*, kecuali spesimen CR 08. Spesimen yang bisa diidentifikasi secara morfologis hingga tingkat

spesies hanya CR 07a, dan teridentifikasi sebagai *Macrobrachium horstii*. Dari hasil analisis molekular, spesimen CR 10 merupakan *M. horstii*, sedangkan spesimen CR 07a terindikasi merupakan *M. horstii*. Analisis karakter molekular memberikan hasil yang sama dengan analisis morfologis, bahkan mampu memberikan informasi mengenai kekerabatan genetik yang tidak dapat ditemui pada analisis morfologis.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Tuty Research Group yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Cai Y. and Ng PKL. 2001. The freshwater decapod crustaceans of Halmahera, Indonesia. *J. Crustac. Biol.* vol 21(3): 665-695.
- Chace FA, and Bruce AJ. 1993. The Caridean Shrimps (Crustacea: Decapoda) of the Albatross Philippine Expedition, 1907-1910, Part 6: Superfamily Palaemonoidea. Washington: Smithsonian Institution Press.
- Chen RT, Tsai CF, and Tzeng WN. 2009. 16S and 28S rDNA sequences in phylogenetic analyses of freshwater. *Journal of Crustacean Biology.* vol 29(3): 400-412. <https://doi.org/10.1651/08-3069.1>.
- De Grave S, Cai Y, Anker A. 2008. Global diversity of shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea) in freshwater. *Hydrobiologia.* vol 595(1): 287-293. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9024-2>.
- Holthuis LB. 1950. The Decapoda of the Siboga Expedition. Part X. The Palaemonidae collected by the Siboga and Snellius Expeditions with remarks on other species. I. Subfamily Palaemoninae. *Siboga Expéditie.* vol 39: 1-268.
- Liu MY, Cai YX, Tzeng CS. 2007. Molecular Systematics of the Freshwater Prawn Genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) Inferred from mtDNA Sequences, with emphasis on East Asian species. *Zool. Stud.* vol 46(3): 272-289.
- Munasinghe D. 2010. Phylogenetic positions of some species of the genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) in Sri Lanka. *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka.* vol 38(3): 193-199.
- New MB. 2002. Farming freshwater prawns. A manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *FAO technical paper.* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.004>.
- Page TJ, and Hughes JM. 2011. Neither molecular nor morphological data have all the answers; with an example from *Macrobrachium* (Decapoda: Palaemonidae) from Australia. *Zootaxa.* vol 2874: 65-68.
- Salman SD, Page TJ, Naser MD, Yasser AG. 2006. The invasion of *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849) (Caridea: Palaemonidae) into the Southern Iraqi Marshes. *Aquatic Invasions.* vol 1(3): 109-115. <https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.3.2>.
- Sharma C, Krishna G, Kumar AP, Nayak SK. 2014. Phylogeny of *Macrobrachium* species using mitochondrial 16s ribosomal DNA. *Cell Tissue Res.* vol 14(3): 4525-4529.
- Short JW. 2004. A revision of Australian river prawns, *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Hydrobiologia.* vol 525: 1-100.
- Short JW. 2008. Freshwater Crustacea of the Mimika Region – Papua, Indonesia. Timika: Environmental Departement of PT Freeport Indonesia.
- Short JW, and Meek P. 2000. New records of *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from Christmas Island, Indian Ocean. *Records of the Western Australian MllsCllm.* vol 20: 81-86.
- Wowor D. and Choy SC. 2001. The freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda:

Palaemonidae) from Brunei Darussalam.  
*Raffles Bull. Zool.* vol 49(2): 269-289.

Wowor D, Muthu V, Meier R, Balke M, Cai Y, Ng PKL. 2009. Evolution of life history traits in Asian freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) based on

multilocus molecular phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* vol 52(2): 340–350.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.01.002>