

Identifikasi Genetik Ikan Teri

by Muhammad Dailami

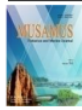
Submission date: 05-Apr-2021 09:38PM (UTC+0700)

Submission ID: 1550986238

File name: 4_Ref-Muhammad_Dailami_Jurnal_Musamus_-_Copy.pdf (556.6K)

Word count: 5316

Character count: 31748



Musamus Fisheries and Marine Journal
2021 Vol.3 (No.2): hal 154-166
<https://ejournal.unmus.ac.id/index.php/fish>
doi: 10.35724/mfmj.v3i2.3521
e-ISSN: 2656-7008 dan p-ISSN: 2654-9905
©2020 Faculty of Agriculture, Musamus University

Identifikasi Genetik Ikan Teri dari Teluk Cenderawasih dengan pendekatan DNA Barcoding
Genetic Identification of Anchovy from Cenderawasih Bay using DNA Barcoding Approach

Muhammad Dailami^{1*}, Yuni Widyawati¹, Abdul Hamid A. Toha²

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Indonesia

²Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Papua, Indonesia

*Email: muhdailami@ub.ac.id

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima
Maret 2021
Disetujui
Maret 2021
Dipublikasikan
April 2021

Keywords:
Genetic identification,
DNA Barcoding, COI
Gene, Cenderawasih
Bay, Anchovy

Abstrak

Kawasan Teluk Cenderawasih merupakan perairan yang menjadi habitat hiu paus (*Rhincodon typus*) yang muncul hampir sepanjang tahun. Kemunculan hiu paus ini dipicu oleh berbagai faktor, diantaranya adalah faktor makanan. Ikan Teri menjadi salah satu daya tarik tersendiri bagi kemunculan hiu paus, sehingga perlu dilakukan pengkajian secara genetik, biologi dan ekologi. Ikan Teri memiliki ukuran yang kecil, sehingga sulit dilakukan identifikasi secara morfologi. Tujuan penelitian ini yaitu mengidentifikasi secara genetik sampel ikan teri yang diperoleh dari Teluk Cenderawasih dan membandingkan sekuensnya dengan database GenBank. Fragmen gen COI diamplifikasi dengan metode PCR, menggunakan primer jg-LCO dan jg-HCO. Sekuensing dilakukan dari dua arah yaitu *forward* dan *reverse* dengan metode dideoksi terminasi sanger. Hasil sekuens DNA yang diperoleh memiliki panjang 669 pasang basa yang menyandi 223 asam amino. Hasil perbandingan homologi dengan database NCBI dan BOLD system menunjukkan sampel ini memiliki kemiripan dengan sekuens COI dari *Spratelloides gracilis* dengan kemiripan mencapai 99%. Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa sampel ikan teri dari Teluk Cenderawasih berada dalam satu *clade* dengan *S. gracilis* dari Jepang dan terpisah *clade* dengan *S. gracilis* dari Laut Merah dengan jarak antar *clade* 0.104. Hasil ini serupa dengan hasil identifikasi secara homologi pada database NCBI dan BOLD system.

Abstract

*The Cenderawasih Bay is a marine habitat for whale sharks (*R. typus*) which appear almost all year round. The appearance of this whale shark is triggered by various factors, including the food. Anchovy is one of the attractions for the emergence of whale sharks, so it is necessary to conduct genetic, biological and ecological studies. Anchovy has a small in size, making it difficult to identify morphologically. The purpose of this study was to genetically identify anchovy samples obtained from Cenderawasih Bay and compare the sequences with the GenBank database. The COI gene fragments were amplified by PCR method, using primer jg-LCO and jg-HCO. Sequencing is carried out from two directions, forward and reverse with the sanger termination dideoxy method. The resulting DNA sequence has a length of 669 base pairs encoding 223 amino acids. The results of homological comparisons with the NCBI and BOLD System databases show that this sample has similarities to the COI sequence of *Spratelloides gracilis* with a similarity number up to 99%. The results of the phylogenetic tree analysis showed that the anchovy samples from Cenderawasih Bay were in one *clade* with *S. gracilis* from Japan and separated from the *clade* of *S. gracilis* from the Red Sea, with a distance between *clades* is 0.104. This result is in line with the identification by homological comparison in the NCBI and BOLD System.*

PENDAHULUAN

Teluk Cenderawasih merupakan salah satu teluk terbesar di Indonesia (Huffard et al., 2010; Toha et al., 2019). Wilayah ini menjadi habitat alami bagi hiu paus (*R. typus*) (Saleky et al., 2016; Toha et al., 2020) yang dapat ditemui hampir sepanjang tahun (Maruanaya, Noor, & Tania, 2019; Ranintyari, et al., 2018). Teluk Cenderawasih menjadi habitat berbagai populasi biota, seperti dugong dan buaya, tempat endemisitas lokal tinggi (Allen & Erdmann, 2009) dan banyak haplotipe unik dari berbagai invertebrata laut (Allen & Erdmann, 2012; Crandall, Taffel, & Barber, 2009; DeBoer et al., 2008). Teluk ini adalah tempat bertelur penyu hijau dan penyu sisik, serta tempat makan penyu belimbing (Mangubhai et al., 2012). Berdasarkan SK Menteri Kehutanan RI No. 8009/Kpts-II/2002, dalam teluk ini terdapat taman nasional laut terbesar kedua di Indonesia, dengan luas kawasan 1.453.500 ha, yaitu Taman Nasional Teluk Cenderawasih. Keragaman habitat dan spesies telah menjadikan Teluk Cenderawasih menjadi destinasi wisata dan membuka lapangan usaha perikanan. Salah satunya yaitu usaha perikanan bagan.

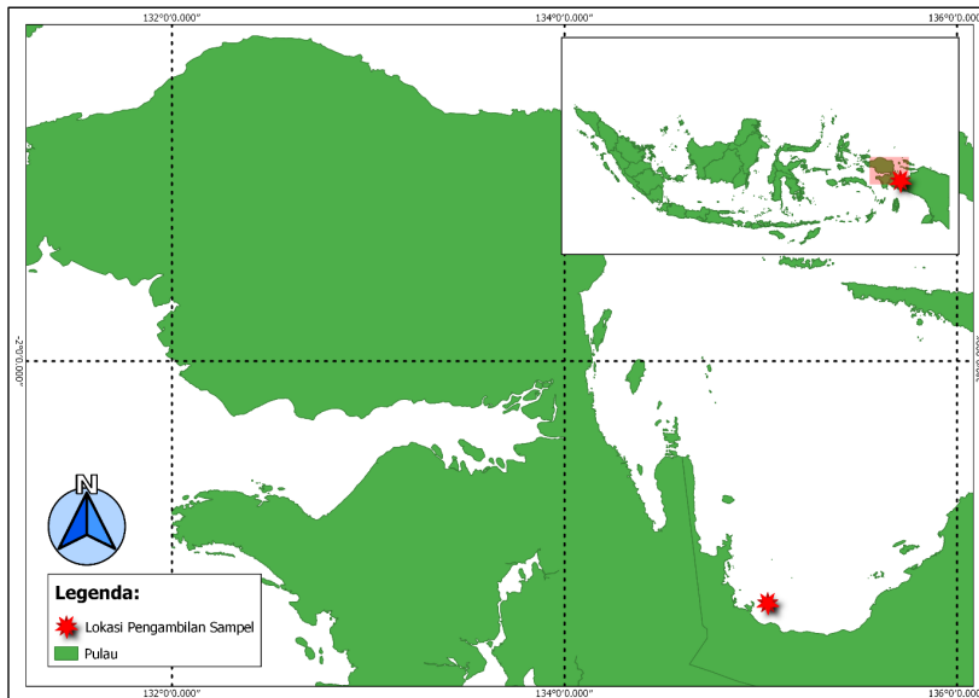
Ikan teri menjadi salah satu ikan target dalam pengoperasian bagan (Karawal, 2020) dan salah satu komoditas perikanan bagan yang memberikan nilai ekonomi bagi masyarakat (Fauziyah et al., 2016). Menurut Nelwan, Nursam, & Yunus (2015), ikan teri memiliki peranan dalam pengembangan ekonomi wilayah. Ikan pelagis kecil ini menjadi salah satu komoditas unggulan bagi suatu daerah (Kusuma et al., 2014). Menurut Nelwan, Nursam, & Yunus (2015) ikan teri adalah sumberdaya pelagis kecil yang memiliki peranan utama untuk pemenuhan gizi dan protein masyarakat di suatu wilayah. Ikan teri banyak dimanfaatkan dalam upaya pemenuhan kebutuhan pangan manusia. Selain itu, ikan teri termasuk spesies umpan yang biasa mendominasi tangkapan umpan hidup pada perikanan *pole and line* ikan tuna di Indonesia (Lewis & Heri, 2019). Ikan teri juga merupakan salah satu makanan alami hiu paus (Marliana, 2016; Tania, 2015). Keduanya memiliki korelasi antara jumlah tangkapan ikan teri dengan frekuensi kemunculan hiu paus ke permukaan (Maruanaya et al., 2019).

Ikan teri tergolong dalam kelas Actinopterygii dan sangat beragam. Berdasarkan Fishbase (2021), dua genus ikan teri diantaranya adalah *Stolephorus* memiliki 96 spesies dan genus *Spratelloides* ada 4 spesies yaitu *S. delicatulus*, *S. gracilis*, *S. lewisi*, dan *S. robustus*. Beberapa nama ilmiah dan spesies ikan ini masih merupakan kemungkinan. Ikan teri memiliki ukuran tubuh yang kecil sehingga perbedaan morfologi sulit diamati. Hal ini menjadikan identifikasi spesies secara morfologi sulit dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan identifikasi ikan teri dengan menggunakan pendekatan molekuler yaitu menggunakan DNA *barcoding*. Tujuan penelitian ini adalah menentukan identitas spesies ikan teri Teluk Cenderawasih berdasarkan pendekatan DNA *barcoding*. DNA *Barcoding* adalah membandingkan sekuens fragmen gen COI dari sampel ikan teri asal Teluk Cenderawasih dengan database sekuens ikan yang telah didepositkan ke GenBank (NCBI) dan BOLD System (*Barcode Of Life Database*). Selain itu, dalam penelitian ini juga dilakukan analisis pohon filogenetik untuk melihat bagaimana hubungan kekerabatan antara sampel ikan teri asal Teluk Cenderawasih dengan sekuens lain yang ada di GenBank.

METODE

Lokasi Penelitian

Sampel ikan teri diambil dari nelayan bagan yang beroperasi di Teluk Cenderawasih, tepatnya pada koordinat S (03°13.895') E (135°02.076'). Sampel disimpan dalam etanol 90% dan etanol diganti setiap kali etanol telah keruh. Adapun lokasi posisi bagan saat pengambilan sampel ini disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Lokasi bagan saat pengambilan sampel ikan teri, lokasi ini menunjukkan posisi perahu bagan saat dilakukan pengambilan sampel.

1 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: pipet mikro (eppendorf), tips pipet mikro, mesin PCR MJ Mini Thermal Cycler (Bioered), tabung sampel, tabung mikrosentrifugasi 1,5 mL, tabung 0,2 mL, *heat block*, *centrifuge*, pinset, gunting, UV-*Transluminator*, kamera digital. Adapun bahan yang digunakan yaitu: etanol 96%, Kit Isolasi DNA (GeneAid), agarosa, SB-*Buffer*, *Etidium Bromida*, tisu, *bayclean*, Go Taq green PCR *mastermix*, DMSO, ddH₂O, BSA (*bovine serum albumin*).

4 Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan DNAeasy mini Kit, GeneAid sesuai dengan metode yang digunakan oleh Toha et al., (2020) dan Lutfi, et al., (2019). Secara singkat, sebanyak 30 mg sampel daging ikan teri diambil dan dimasukkan dalam *buffer* lisis (200 µL). Untuk mendegradasi proteinnya maka ditambahkan 10 µL proteinase K dan dipanaskan selama 10 menit pada suhu 65°C. Selanjutnya *buffer* elusi sebanyak 100 µL juga dipanaskan untuk nanti digunakan pada tahap akhir. Selanjutnya ditambahkan 100 µL *buffer* GT2 dan diinkubasi dalam *freezer* selama 3 menit. Semua campuran dipindahkan dalam

kolom GD kemudian disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 3500 rpm (*rotation per minute*). Filtrat yang keluar dibuang dan kolom GD dicuci menggunakan *buffer* W1 kemudian W2. Setelah pencucian, ditambahkan 100 µL *buffer* elusi yang sebelumnya telah dipanaskan ke dalam kolom GD. Untuk melarutkan DNA yang terikat dalam kolom, diinkubasi selama 3 menit pada suhu ruang. Selanjutnya kolom GD dipindahkan pada tabung mikrosentrifugasi yang baru dan disentrifugasi pada 15,000 rpm selama 30 detik. Filtrat yang diperoleh adalah isolat DNA genom yang akan digunakan dalam tahap PCR.

PCR Gen COI dan Elektroforesis

Amplifikasi fragmen gen COI dengan menggunakan primer jg-LCO dan jg-HCO (Geller et al., 2013). Adapun urutan sekuens dari primer jg-LCO adalah 5'-TITCIACIAAYCAYAARGAYATTGG-3' dan untuk jg-HCO adalah 5'-TAIACYTCIGGRTGICRAARAAYCA-3'. Reaksi PCR berlangsung dalam larutan dengan volume 50 µL yang terdiri dari 5 µL isolat DNA, 1 µL DMSO, 1 µL BSA (*bovine serum albumin*), 25 µL Go Taq Green *Mastermix*, 2.5 µL primer jg-LCO, 2.5 µL primer jg-HCO dan 13 µL ddH₂O. Adapun suhu pada mesin *thermocycler* sesuai dengan profil suhu yang digunakan oleh Toha et al., (2020).

Elektroforesis digunakan untuk memvisualisasikan hasil amplifikasi fragmen gen COI dengan PCR. Proses ini dilakukan dengan menggunakan gel agarosa 1% (b/v), yaitu dengan mencampurkan 0,5 gram agarosa dalam 45 mL SB-Buffer. Selanjutnya larutan dipanaskan dengan *microwave* hingga berwarna jernih dan dicetak menggunakan cetakan gel yang diberi sisir gel. Setelah gel mengeras, gel dimasukkan dalam wadah elektroforesis yang telah berisi SB-*buffer*. Sebanyak 1 µL *loading dye* dicampur dengan 4 µL produk PCR dan dimasukkan dalam sumur gel. Mesin elektroforesis dijalankan selama 30 menit dengan menggunakan tegangan listrik 100 volt (Dailami et al., 2018). Selanjutnya gel direndam selama 20 menit dalam larutan etidium bromida, kemudian dibilas dan divisualisasikan dengan UV-*Transluminator* serta didokumentasikan dengan kamera digital.

Sekuensing DNA

Urutan DNA gen COI diperoleh dari proses sekuensing dengan menggunakan metode dideoksi terminasi sanger yang dilakukan oleh 1st Base, Malaysia melalui PT. Genetika Science Indonesia. Produk PCR yang telah positif dikirimkan ke PT. Genetika Science dan hasilnya berupa AB1 file dikirimkan melalui email.

Proof Reading Sekuens DNA

Hasil sekuensing dalam bentuk AB1 file dilakukan pengecekan kesesuaian antara elektroferogram dan sekuens DNA yang diperoleh. Sekuens yang diperoleh dari primer jg-LCO digunakan sebagai forward sedangkan sekuens dari primer jg-HCO dibalik dengan melakukan *reverse complement* untuk digunakan sebagai reverse. Kedua sekuens disejajarkan (*alignment*) dengan menggunakan menu *clustall W* (Thompson et al., 1994). Urutan sekuens nukleotida yang tidak sesuai dengan elektroferogram diedit dan disesuaikan dengan warna dari setiap puncak (*peak*) pada elektroferogramnya. Hasil penjajaran digabungkan menjadi satu sekuens (*contig*) dan disimpan dalam format *fasta* file.

Homologi Sekuens DNA dengan data NCBI dan BOLD

Pembandingan sekuens dengan database DNA pada GenBank dilakukan dengan menggunakan *Basic Local Alignment Search tools* (BLAST) pada website NCBI (Boratyn et al., 2013). Sekuens DNA dari sampel dimasukkan dalam form BLAST yang tersedia pada laman <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, selanjutnya dipilih dataset yang digunakan yaitu *nucleotide collection (nr/nt)* dan dioptimasi dengan memilih sekuens yang memiliki kemiripan tinggi. Homologi

pada database *barcode of life database* (BOLD) (Ratnasingham & Hebert, 2007) dilakukan pada laman https://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine. Database yang dipilih yaitu database COI sampai pada level spesies dan sekuens dari sampel diisikan pada form yang tersedia. Hasil homologi baik dari *BLAST NCBI* dan *BOLD System* disajikan dalam bentuk tabel dan diunduh dalam format fasta file untuk digunakan dalam pembuatan pohon filogenetik.

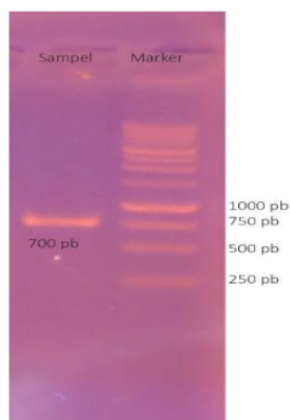
Pembuatan Filogenetik

Pohon filogenetik dibuat dengan menggunakan MEGA X (Kumar et al., 2018). Sebanyak 10 sekuens pembanding dari NCBI digunakan dalam pembuatan pohon filogenetik. Pohon filogenetik dibuat dengan menggunakan dua metode yaitu *neighbour joining* dan *maximum likelihood* dengan *bootstrap* 1000 replikasi. Jarak genetik dihitung dengan menggunakan metode yang sama untuk membuat pohon filogenetik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplikon fragmen Gen COI

Hasil amplifikasi gen COI ditunjukkan dengan adanya pita DNA pada gel elektroforesis dengan panjang mencapai 700 pasang basa (Gambar 2).



Gambar 2. Gel elektroforesis dari produk PCR fragmen gen COI ikan teri

Ukuran pita DNA yang diperoleh memiliki ukuran yang sama dengan yang ditemukan pada ikan *Cirrhilabrus cf. ryukyuensis* (Dailami et al., 2018), *Rhincodon typus* (Toha et al., 2020), bahkan pada kelompok gastropoda (Leatemia et al., 2018; Saleky et al., 2016). Hal ini menunjukkan bahwa daerah yang diamplifikasi untuk fragmen gen COI untuk analisis *DNA barcoding* memiliki posisi dan ukuran yang sama. Kualitas produk PCR yang diperoleh sangat baik dan memiliki konsentrasi yang cukup untuk digunakan dalam tahap sekuensing DNA.

Kualitas DNA hasil amplifikasi sangat bagus, yang terlihat dari tingkat kecerahan pita DNA sampel dan tidak adanya pengotor berupa *primer dimer* pada bagian bawah pita DNA sampel. Selain itu, bentuk pita DNA yang terbentuk juga sangat baik berbentuk persegi panjang tanpa ada *smear* di sekitar pita DNA. Kualitas pita DNA yang baik akan memberikan hasil sekuens yang baik.

Urutan Sekuens DNA

Panjang sekuens DNA yang diperoleh setelah dilakukan *editing* dan *proof reading* adalah 669 pasang basa yang menyandi sebanyak 223 asam amino. Daerah yang diamplifikasi ini berada pada posisi nukleotida 5512 – 6180 dari genom lengkap DNA mitokondria *Spratelloides gracilis* (AP009145.1) dengan panjang mencapai 16,686 pasang basa (Lavoué et al., 2007). Total nukleotida A+T dari sampel ikan teri pada penelitian ini adalah 56.8% dan G+C yaitu 43.2%, yang menunjukkan bahwa jumlah A+T lebih banyak dari G+C. Nukleotida G dengan C dihubungkan oleh 3 ikatan hidrogen sehingga memiliki ikatan yang lebih kuat dibandingkan dengan pasangan A dan T yang hanya dihubungkan dengan 2 ikatan hidrogen. Hal ini akan berimplikasi pada suhu denaturasi dari sekuens DNA tersebut, semakin banyak jumlah G dan C maka suhu denaturasinya akan semakin tinggi.

```
ATTGGCACCCCTCTATTTAGTTTTTCGGTGCCTGAGCAGGAATGGTCCGGAACAGCGCTAAGCCTCTTAAT
CCGGGCTGAAGTGAAGCAACCCGAGCTTTATTAGGAGACGATCAAATTTACAACGTAATTGTAACG
CACATGCGTTTTGTAATAATTTCTTCATAGTAATGCCAATTTTAATTGGCGGGTTGGCAACTGACTT
GTTCCACTTATGATTGGTGCGCCAGACATGGCATTCCCTCGTATGAATAATATGAGTTTCTGACTTCT
ACCCCTCGTTCTTACTCTCTCGCCTCATCTGGGGTTGAAGCCGGAGCTGGTACCGGATGAACAG
TTTACCCGCCCTGGCGGAACTTAGCGCATGCCGGAGCGTCAGTAGACCTTACTATTTTCTCTCTC
CACTTAGCGGGTATTTTCATCAATTTTAGGTGCAATTAATTTTATTACAACATTTATTAACATGAAACC
TCCCGCAATCTCTCAATACCAGACGCCTCTGTTTGTGTTGAGCAGTCTTAGTAACCGCGTTCTTCTTC
TTCTATCCCTTCCAGTCCCTAGCCGCTGGTATTACAATGCTACTGACAGATCGAAATCTAAATACAAC
TTCTTTGACCCCGCGGAGGAGACCCCTATCTATATCAGCACCTGTTCTGATTC
```

Gambar 3. Urutan Sekuens DNA dari fragmen gen COI ikan teri asal Teluk Cenderawasih.

Tabel 1. Komposisi Nukleotida Fragmen Gen COI Ikan Teri.

Sampel	A	T	G	C	Panjang Basa
Ikan Teri	31.2%	25.6%	23.5%	19.7%	669

Homologi Sekuens DNA

Hasil perbandingan homologi sekuens dengan *database* NCBI dan *database* BOLD system menunjukkan bahwa sampel ini memiliki kemiripan sekuens dengan fragmen gen COI dari spesies *Spratelloides gracilis* dengan kemiripan dari 98,31% - 98,73% (NCBI) dan 99.05-99.26% pada BOLD *system* (Tabel 2 dan 3).

Tabel 2. Hasil perbandingan homologi dengan BLAST NCBI

Sampel	Spesies	Kemiripan	Kode Akses	Coverage
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	98.73%	KU942883.1	82%
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	98.54%	KT588688.1	92%
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	98.54%	KT588673.1	97%
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	98.47%	JF952864.1	97%
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	98.36%	AP009145.1	100%
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	98.31%	JF952865.1	97%

Pada *database* NCBI, diperoleh hasil *coverage* yang berkisar dari 82% - 100% yang menunjukkan bahwa tidak seluruh sekuens hasil BLAST memiliki ukuran panjang yang sama dengan panjang sekuens sampel. Perbedaan panjang sekuens akan berpengaruh pada hasil homologi, semakin pendek sekuens yang

digunakan akan memiliki peluang kemiripan yang semakin tinggi, sehingga dapat berakibat pada kesulitan membedakan spesies yang sangat mirip (*cryptic spesies*).

Tabel 3. Hasil perbandingan homologi dengan database BOLD System

Sampel	Spesies	Kemiripan	Status	BIN ID
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	99.26%	Publik	BOLD:AAD8342
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	99.09%	Private	-
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	99.08%	Private	-
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	99.06%	Private	-
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	99.06%	Private	-
Ikan Teri	<i>Spratelloides gracilis</i>	99.05%	Private	-

Ikan teri *S. gracilis* adalah salah satu dari empat spesies dalam genus *Spratelloides*. Taksonomi lengkap *S. gracilis* termasuk dalam kingdom Animalia, filum Chordata, kelas Actinopterygii, ordo Clupeiformes, Famili Clupeidae, Subfamili incertae sedae dan genus *Spratelloides* (Fishbase 2021).

Pohon Filogenetik

Pohon filogenetik dibuat dengan menggabungkan sekuens sampel ikan teri dengan sekuens yang berasal dari GenBank NCBI, dengan rincian sebagaimana disajikan dalam Tabel 4.

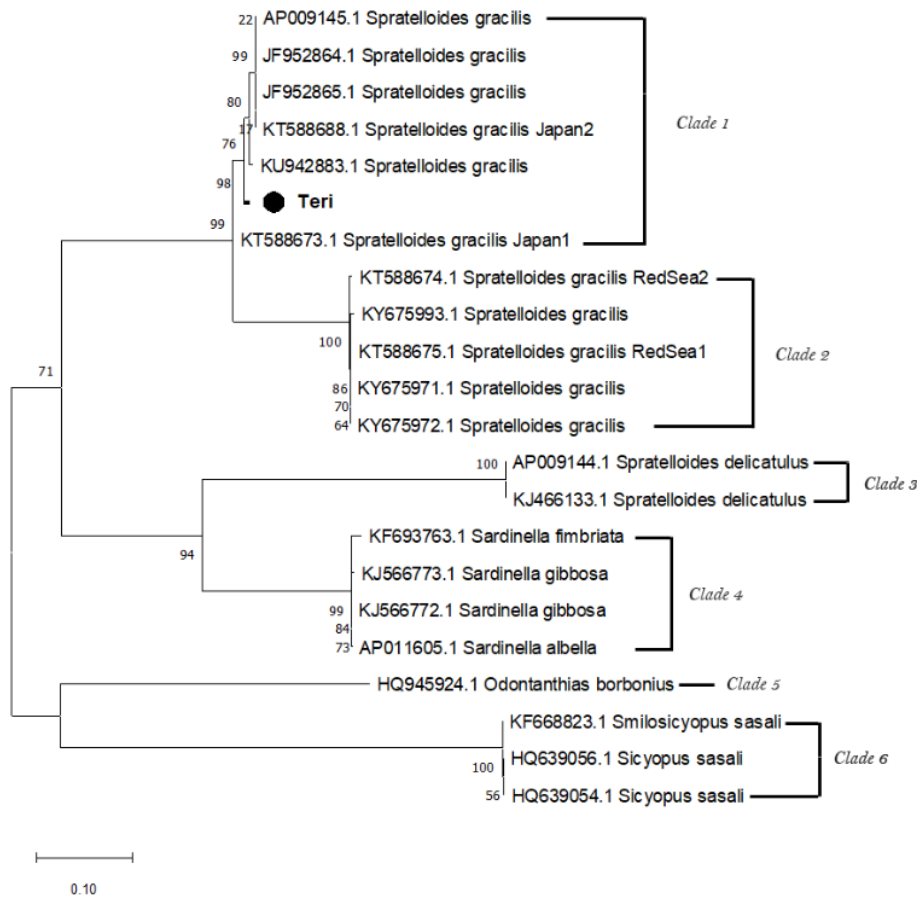
Tabel 4. Daftar sekuens yang digunakan dalam pembuatan pohon filogenetik

No	ID Sekuens	Kode Akses NCBI	Referensi
1	Teri	MW816126	Penelitian ini
2	<i>Spratelloides gracilis</i>	AP009145.1	(Lavoué et al., 2007)
3	<i>Spratelloides gracilis</i>	JF952864.1	(Zhang & Hanner, 2011)
4	<i>Spratelloides gracilis</i>	JF952865.1	(Zhang & Hanner, 2011)
5	<i>Spratelloides gracilis</i> (Japan2)	KT588688.1	(Tikochinski et al., 2015)
6	<i>Spratelloides gracilis</i> (Japan1)	KT588673.1	(Tikochinski et al., 2015)
7	<i>Spratelloides gracilis</i>	KU942883.1	(Chang et al., 2017)
8	<i>Spratelloides gracilis</i> (RedSea1)	KT588675.1	(Tikochinski et al., 2015)
9	<i>Spratelloides gracilis</i> (RedSea2)	KT588674.1	(Tikochinski et al., 2015)
10	<i>Spratelloides gracilis</i>	KY675971.1	(Isari et al., 2017)
11	<i>Spratelloides gracilis</i>	KY675972.1	(Isari et al., 2017)
12	<i>Spratelloides gracilis</i>	KY675993.1	(Isari et al., 2017)
13	<i>Smilosicyopus sasali</i>	KF668823.1	(Taillebois et al., 2014)
14	<i>Sicyopus sasali</i>	HQ639056.1	(Keith et al., 2011)
15	<i>Sicyopus sasali</i>	HQ639054.1	(Keith et al., 2011)
16	<i>Sardinella fimbriata</i>	KF693763.1	(Biji, 2013)
17	<i>Sardinella gibbosa</i>	KJ566772.1	(Stern et al., 2014)
18	<i>Sardinella albella</i>	AP011605.1	(Lavoué et al., 2013)
19	<i>Sardinella gibbosa</i>	KJ566773.1	(Stern et al., 2014)
20	<i>Odontanthias borbonius</i>	HQ945924.1	(Keith et al., 2011)

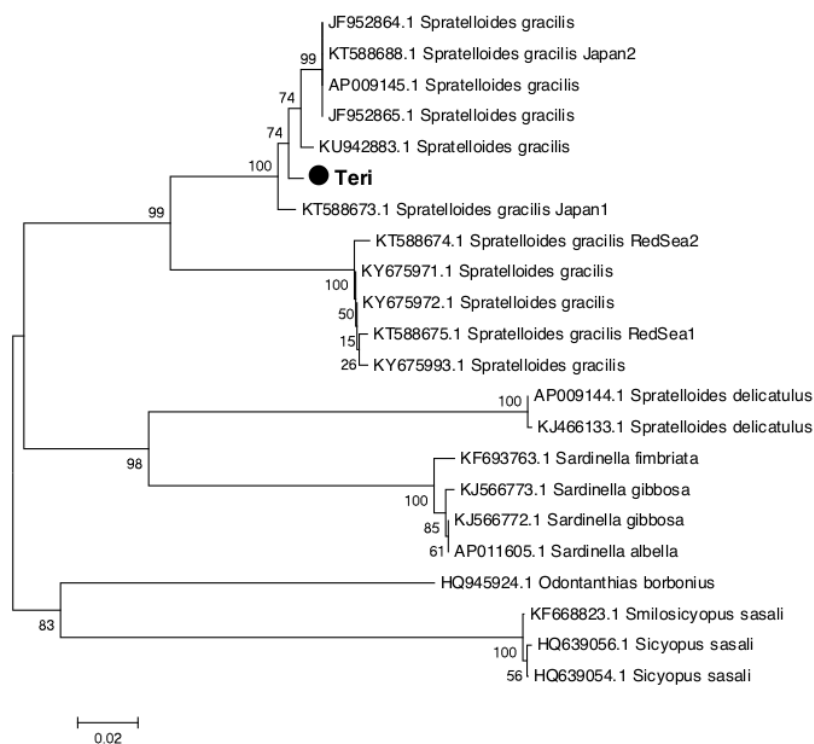
Hasil pemilihan model evolusi dengan *model test* pada MEGA menunjukkan bahwa model yang paling sesuai untuk dataset sekuens tersebut adalah HKY+G+I (Hasegawa Kishino Yano + *Gamma distributed with Invariant site*) dengan nilai BIC (*Bayesian Information Criterion*) 5854.86. Nilai BIC ini merupakan nilai terendah dari model-model lainnya, sehingga model ini merupakan model yang terbaik

dalam menggambarkan pola substitusi pada *dataset* sekuens yang digunakan (Nei & Kumar, 2000).

Hasil pohon filogenetik yang diperoleh disajikan pada Gambar 4 dan 5. Secara umum topologi pohon filogenetik yang dihasilkan sama, hanya berbeda pada nilai *bootstrap* dan juga panjang cabang antar taksa. Kedua pohon menunjukkan adanya pengelompokan sekuens menjadi 6 *clade* yang berbeda, dengan dukungan nilai *bootstrap* lebih dari 80% untuk setiap *clade*-nya. Nilai *bootstrap* adalah sebuah nilai yang menunjukkan persentase terbentuknya percabangan pada *clade* tersebut dengan pembuatan pohon filogenetik secara berulang sesuai dengan jumlah replikasi yang kita tentukan, dengan menggunakan dataset baru yang diambil secara acak dari *dataset* nukleotida awal yang kita miliki.



Gambar 4. Pohon filogenetik yang dibuat dengan menggunakan *maximum likelihood* dengan parameter HKY+G+I dan *bootstrap* 1000 replikasi.



Gambar 5. Pohon filogenetik yang dibuat dengan menggunakan *neighbour joining* dengan parameter K2P+G (Kimura 2 Parameter + *Gamma distribution*) dan *bootstrapt* 1000 replikasi.

Sampel ikan teri berada dalam satu kelompok dengan enam sampel *Spratelloides gracilis* yang berasal dari GenBank (dua diantaranya berasal dari Jepang). Percabangan *clade* ini didukung oleh nilai *bootstrap* 99% yang memisahkan *clade* ini dengan *clade* *S. gracilis* lainnya (dua diantaranya berasal dari Laut Merah). Jarak genetik antara kedua cabang ini yaitu 0.104 (Tabel 5) dan merupakan jarak genetik paling dekat dibandingkan dengan cabang-cabang lainnya. Meskipun demikian, berdasarkan data GenBank, kedua *clade* ini masih merupakan satu spesies yang sama yaitu *S. gracilis*. Perbedaan letak dan jarak geografis dapat menyebabkan terjadinya perbedaan genetik dari dua individu dengan spesies yang sama.

Tabel 5. Jarak genetik antar *clade* yang ada dalam pohon filogenetik

	Clade 1	Clade 2	Clade 3	Clade 4	Clade 5	Clade 6
Clade 1						
Clade 2	0.104					
Clade 3	0.238	0.231				
Clade 4	0.208	0.221	0.195			
Clade 5	0.209	0.222	0.248	0.250		
Clade 6	0.222	0.256	0.284	0.251	0.240	

Sampel ikan teri asal Teluk Cenderawasih memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan sekuens *S. gracilis* yang berasal dari Jepang dibandingkan dengan *S. gracilis* yang berasal dari Laut Merah. Distribusi spesies laut sangat bergantung

pada arus, aliran di sekitar tempat pemijahan yang menentukan penyebaran atau retensi (Wolanski & Kingsford, 2014). Pemisahan *clade* dalam pohon filogenetik ini bisa terjadi karena adanya *genetic barrier* (penghalang genetik) yang dapat berupa penghalang fisik maupun non fisik.

Berdasarkan pengelompokan pada pohon filogenetik dan juga jarak genetiknya, sampel ikan teri yang berada dalam satu *clade* dengan *S. gracilis* menunjukkan bahwa hasil identifikasi dengan pohon filogenetik dan jarak Genetik, sampel dalam penelitian ini adalah *S. gracilis*. Hal ini juga senada dengan hasil perbandingan homologi pada *database* NCBI dan *BOLD system*, yang juga menunjukkan spesies *S. gracilis*. Identifikasi secara genetik dengan menggunakan fragmen Gen COI ini sangat efektif untuk digunakan dalam identifikasi spesies ikan teri terutama *S. gracilis*. Beberapa penelitian terdahulu yang juga berhasil menggunakan fragmen gen COI untuk identifikasi spesies ikan diantaranya yaitu ikan genus *Mystus* (Prmono et al., 2017), ikan *Cirrhilabrus cf. ryukyuensis* (Dailami et al., 2018), hiu paus *Rhincodon typus* (Toha et al., 2020) dan ikan teri famili *Engraulidae* (Afrand et al., 2020).

Pada pohon filogenetik terlihat bahwa sekuens dari *S. delicatulus* memiliki percabangan yang lebih dekat dengan sekuens dari genus *Sardinella* spp. Jarak genetik antara *S. delicatulus* dengan *S. gracilis* adalah 0.231-0.238, sedangkan jarak genetiknya dengan genus *Sardinella* yaitu 0.195. Sekuens dari ketiga spesies *Sardinella* yaitu *S. fimbriata*, *S. gibbosa* dan *S. albella* berada dalam satu *clade* yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa variasi genetik yang ada dalam genus *Spratoloides* lebih tinggi dibandingkan dengan genus *Sardinella*.

Setiap spesies dalam pohon filogenetik (Gambar 3) terpisah dalam masing-masing *clade* kecuali kelompok *Sardinella* spp. Jika dilihat dari data jarak genetiknya juga sangat mendukung pemisahan *clade* tersebut. Jarak genetik pada Tabel 5 menunjukkan bahwa jarak genetik antara satu spesies dengan spesies lainnya baik dalam satu genus maupun berbeda genus, yaitu minimal 0.2 kecuali pada kelompok *Sardinella* spp.

KESIMPULAN

Hasil analisis DNA menunjukkan bahwa panjang fragmen gen COI dari ikan teri yang diperoleh yaitu 669 pasang basa yang menyandi 223 asam amino. Berdasarkan hasil homologi dengan *database* NCBI dan *BOLD* sampel ini adalah *S. gracilis* dengan kemiripan 98-99%. Rekonstruksi pohon filogenetik juga mendukung hasil homologi yang menunjukkan sampel ini berada dalam satu *clade* dengan sekuens *S. gracilis*. Gen COI dapat digunakan untuk mengidentifikasi ikan teri (*S. gracilis*) dengan mudah, cepat dan akurat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kami sampaikan kepada WWF-Indonesia, BBTNTC (Balai Besar Taman Nasional Teluk Cenderawasih) yang telah memfasilitasi selama pengambilan sampel di lapangan, juga kepada Laboratorium Genetika UNIPA yang memfasilitasi selama proses analisis DNA.

REFERENCES

- Afrand, M., Sourinejad, I., Fazeli, S. A. S., Akbarzadeh, A., Yeganeh, L. P., Sadeghi, M., & Azarbajani, R. (2020). Morphological identification and molecular validation of anchovies (*Engraulidae*) in the Persian Gulf and Oman Sea. *Zootaxa*, 4742(2). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4742.2.10>
- Allen, G., & Erdmann, M. (2012). *Reef Fishes of the East Indies*. (I-III). University of Hawai'i Press. <https://doi.org/10.1111/jfb.12248>
- Allen, G. R., & Erdmann, M. V. (2009). Reef fishes of the Bird's Head Peninsula, West Papua, Indonesia. *Check List*, 5(3), 587-628.

- <https://doi.org/10.15560/5.3.587>
- Biji, G. D. (2013). *Sardinella fimbriata voucher CL-10 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, complete cds; mitochondrial*.
- Boratyn, G. M., Camacho, C., Cooper, P. S., Coulouris, G., Fong, A., Ma, N., Madden, T. L., Matten, W. T., McGinnis, S. D., Merezhuk, Y., Raytselis, Y., Sayers, E. W., Tao, T., Ye, J., & Zaretskaya, I. (2013). BLAST: a more efficient report with usability improvements. *Nucleic Acids Research*, 41(W1), W29–W33. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt282>
- Chang, C.-H., Shao, K.-T., Lin, H.-Y., Chiu, Y.-C., Lee, M.-Y., Liu, S.-H., & Lin, P.-L. (2017). DNA barcodes of the native ray-finned fishes in Taiwan. *Molecular Ecology Resources*, 17(4), 796–805. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12601>
- Crandall, E. D., Taffel, J. R., & Barber, P. H. (2009). High gene flow due to pelagic larval dispersal among South Pacific archipelagos in two amphidromous gastropods (Neritomorpha: Neritidae). *Heredity*, 104(6), 563–572. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.138>
- Dailami, M., Santi, D., Murtihapsari, ., Abubakar, H., & Toha, A. H. A. (2018). Genetic analysis of cytochrome oxidase sub unit 1 gene fragment from *Cirrhilabrus cf. ryukyuensis* (Labridae) from Cenderawasih Bay and Raja Ampat. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 18(3), 209. <https://doi.org/10.32491/jii.v18i3.347>
- DeBoer, T. S., Subia, M. D., Erdmann, M. V, Kovitvongsa, K., & Barber, P. H. (2008). Phylogeography and limited genetic connectivity in the endangered boring giant clam across the Coral Triangle. *Conservation Biology: The Journal of the Society for Conservation Biology*, 22(5), 1255–1266. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00983.x>
- Fauziyah, Hadi, Saleh, K., & Supriyadi, F. (2016). Distribusi Ukuran Ikan Teri (*Stolephorus* sp) Yang Ditangkap Pada Perikanan Bagan Tancap di Muara Sungsang Sumatera Selatan. *Marine Fisheries: Journal of Marine Fisheries Technology and Management*, 7(2), 161–169. <https://doi.org/10.29244/jmf.7.2.161-169>
- Fishbase. (2021). *Fish Identificattion: Find Spesies class: Actinopterygii*.
- Geller, J., Meyer, C., Parker, M., & Hawk, H. (2013). Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources*, 13(5), 851–861. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12138>
- Huffard, C. ., Erdmann, M. ., & Gunawan, T. (2010). Mendefinisikan Prioritas Geografis untuk Konservasi Keanekaragaman Hayati Laut di Indonesia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Isari, S., Pearman, J. K., Casas, L., Michell, C. T., Curdia, J., Berumen, M. L., & Irigoien, X. (2017). Exploring the larval fish community of the central Red Sea with an integrated morphological and molecular approach. *PloS One*, 12(8), e0182503. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182503>
- Karuwal, J. (2020). The Dinamic of Oceanographic parametres to Anchovies caught at Boat Lived Nets in Dodinga Bay, West Halmahera Districs. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, 3(2), 123–140. <https://doi.org/10.46252/jsai-fpik-unipa.2019.Vol.3.No.2.75>
- Keith, P., Lord, C., Lorion, J., Watanabe, S., Tsukamoto, K., Couloux, A., & Dettai, A. (2011). Phylogeny and biogeography of Sicydiinae (Teleostei: Gobiidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Marine Biology*, 158(2), 311–326. <https://doi.org/10.1007/s00227-010-1560-z>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology*

- and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kusuma, C. P. M., Boesono, H., & Fitri, A. D. P. (2014). Analisis hasil tangkapan ikan teri (*Stolephorus* sp.) dengan alat tangkap bagan perahu berdasarkan perbedaan kedalaman di Perairan Morodemak. *Journal of Fisheries Resources Utilization Management and Technology*, 3(4), 102–110.
- Lavoué, S., Miya, M., Musikasinthorn, P., Chen, W.-J., & Nishida, M. (2013). Mitogenomic evidence for an Indo-West Pacific origin of the Clupeoidei (Teleostei: Clupeiformes). *PloS One*, 8(2), e56485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056485>
- Lavoué, S., Miya, M., Saitoh, K., Ishiguro, N. B., & Nishida, M. (2007). Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (Clupeiformes), inferred from whole mitogenome sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(3), 1096–1105. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.09.018>
- Leatemia, S. P., Manumpil, A. W., Saleky, D., & Dailami, M. (2018). DNA Barcode dan Molekuler Filogeni Turbo sp. di Perairan Manokwari Papua Barat. *Prosiding Seminar Nasional MIPA UNIPA*, 3(1), 103–114. <https://prosiding.fmipa.unipa.ac.id/index.php/SNMIPAUNIPA/article/view/12>
- Lewis, A., & Heri. (2019). *Panduan bergambar tentang ikan umpan pada perikanan pole-and-line di Indonesia Timur*. AP2HI/IPNLF.
- Lutfi, Abubakar, H., Manaf, M., Lapadi, I., & Dailami, M. (2019). Genetic Identification of *Aplocheilichthys panchax* from the Waters of West Papua Using Molecular Approach for Preventing the Spread of Malaria. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 10(10), 1348–1353. <https://doi.org/10.5958/0976-5506.2019.03022.5>
- Mangubhai, S., Erdmann, M. V., Wilson, J. R., Huffard, C. L., Ballamu, F., Hidayat, N. I., Hitipeuw, C., Lazuardi, M. E., Muhajir, Pada, D., Purba, G., Rotinsulu, C., Rumetna, L., Sumolang, K., & Wen, W. (2012). Papuan Bird's Head Seascape: Emerging threats and challenges in the global center of marine biodiversity. *Marine Pollution Bulletin*, 64(11), 2279–2295. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.024>
- Marliana, S. N. (2016). *Kajian Ekologis Pakan Alami Hiu Paus (*Rhincodon typus*) dalam Konteks Aktivitas Perikanan di Taman Nasional Teluk Cenderawasih*.
- Maruanaya, Y., Noor, B. A., & Tania, C. (2019). Tingkah Laku Hiu Paus (*Rhincodon typus*) di Perairan Kwatisore, Distrik Yaur Dalam Kawasan Taman Nasional Teluk Cenderawasih Papua. *TABURA Jurnal Ilmu Perikanan Dan Kelautan*, 1(1), 43–53.
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.
- Nelwan, A. F. P., Nursam, M., & Yunus, M. A. (2015). Produktivitas Penangkapan Ikan Pelagis di Perairan Kabupaten Sinjai pada Musim Peralihan Barat-Timur. *Jurnal Perikanan*, 17(1), 18–26. <https://doi.org/10.22146/jfs.9939>
- Pramono, T. B., Arfiati, D. A., Widodo, M. S., & Yanuhar, U. Y. (2017). Identification of *Mystus* Fish With Genetic Approach. *JURNAL SUMBERDAYA AKUATIK INDONESIA*; Vol 1 No 2 (2017): November DO - 10.30862/Jsai-Fpik-Unipa.2017.Vol.1.No.2.34. <https://doi.org/https://doi.org/10.30862/Jsai-fpik-unipa.2017.Vol.1.No.2.34>
- Ranintyari, M., Sunarto, Syamsuddin, M. L., & Astuty, S. (2018). Distribusi Spasial Hiu Paus (*Rhincodon typus*) di Kawasan Taman Nasional Teluk Cenderawasih, Papua Barat. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 9(2), 49–53.
- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. N. (2007). The Barcode of Life Data System BOLD: *Molecular Ecology Notes*, 2007(2007), 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x>

- Saleky, D., Setyobudiandi, I., Toha, A. H. A., Takdir, M., & Madduppa, H. H. (2016). Length-weight relationship and population genetic of two marine gastropods species (Turbinidae: Turbo sparverius and Turbo bruneus) in the Bird Seascape Papua, Indonesia. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 17(1), 208–217. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d170130>
- Stern, N., Rinkevich, B., & Goren, M. (2014). *Sardinella gibbosa voucher TAU<ISR>:P.15205a cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial*.
- Taillebois, L., Castelin, M., Lord, C., Chabarria, R., Dettai, A., & Keith, P. (2014). New Sicydiinae phylogeny (Teleostei: Gobioidi) inferred from mitochondrial and nuclear genes: insights on systematics and ancestral areas. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 70, 260–271. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.09.026>
- Tania, C. (2015). *Pemantauan dan Studi Hiu Paus di Taman Nasional Teluk Cenderawasih, Laporan Pemantauan Tahun 2014-2015*.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Tikochinski, Y., Askarov, G., Brand, R., Kleks, G., Reuven, S., & Golani, D. (2015). *Spratelloides gracilis isolate SG_Japan2 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial*.
- Toha, A. H. A., Ambariyanto, Anwar, S., Setiawan, J. B., & Bawole, R. (2019). *Hiu Paus Teluk Cenderawasih Riset dan Monitoring*. Brainy Bee.
- Toha, A. H. A., Dailami, M., Anwar, S., Setiawan, J. B., Jentewo, Y., Lapadi, I., Sutanto, S., Aryasari, R., Ambariyanto, Runtuboi, F., & Madduppa, H. (2020). The genetic relationships and indo-pacific connectivity of whale sharks (*Rhincodon typus*) with particular reference to mitochondrial COI gene sequences from Cendrawasih bay, Papua, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(5), 2159–2171. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210544>.
- Wolanski, E., & Kingsford, M. J. (2014). Oceanographic and behavioural assumptions in models of the fate of coral and coral reef fish larvae. *Journal of The Royal Society Interface*, 11(98), 1–12. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0209>.
- Zhang, J. Bin, & Hanner, R. (2011). DNA barcoding is a useful tool for the identification of marine fishes from Japan. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(1), 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.12.017>.

Identifikasi Genetik Ikan Teri

ORIGINALITY REPORT

7%

SIMILARITY INDEX

5%

INTERNET SOURCES

3%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	www.scribd.com Internet Source	1%
2	Submitted to Macquarie University Student Paper	1%
3	file.scirp.org Internet Source	1%
4	Yahya Febrianto, Ana Indrayati, Elfahmi .. "Deteksi Molekuler Ekson 2 Gen Beta Globin pada Pasien Beta Talasemia Mayor di RSUD DR. Soeroto Ngawi menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction- Single Strand Conformation Polimorfism", Jurnal Farmasi Indonesia, 2019 Publication	<1%
5	journal.ipb.ac.id Internet Source	<1%
6	Submitted to Universitas Pendidikan Indonesia Student Paper	<1%
7	www.ap2hi.org	

<1 %

8

Rugaya Serosero. "Karakteristik habitat kepiting bakau (*Scylla spp*) di perairan pantai Desa Todowongi Kecamatan Jailolo Selatan Kabupaten Halmahera Barat", *Agrikan: Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan*, 2011

Publication

<1 %

9

repositorio.pucrs.br

Internet Source

<1 %

10

id.123dok.com

Internet Source

<1 %

11

rajasetanjin.blogspot.com

Internet Source

<1 %

12

www.mongabay.co.id

Internet Source

<1 %

13

www.slideshare.net

Internet Source

<1 %

14

123dok.com

Internet Source

<1 %

15

Miftakhurohmah ., Gede Suastika, Tri Asmira Damayanti, Rita Noveriza. "IDENTIFIKASI MOLEKULER BROAD BEAN WILT VIRUS 2 (BBWV2) DAN CYMBIDIUM MOSAIC VIRUS (CYMMV) ASAL TANAMAN NILAM (POGOSTEMON CABLIN BENTH.)", JURNAL

<1 %

HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN TROPIKA, 2016

Publication

16

Tamam El-Elimat, Mario Figueroa, Huzefa A. Raja, Tyler N. Graf et al. " Biosynthetically Distinct Cytotoxic Polyketides from ", European Journal of Organic Chemistry, 2015

Publication

<1 %

17

bio.unsoed.ac.id

Internet Source

<1 %

18

id.wikipedia.org

Internet Source

<1 %

19

link.springer.com

Internet Source

<1 %

20

taghfirin.wordpress.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

Identifikasi Genetik Ikan Teri

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12

PAGE 13
