

**SKRIPSI**

**EMBRIOGENESIS DAN REKONSTRUKSI FILOGENI  
IKAN *Oryzias woworae* Parenti & Hadiaty, 2010 SEBAGAI  
DASAR STUDI EKOTOKSIKOLOGI**

**Disusun dan diajukan oleh**

**BRAYEN ALFAYETH**

**L021 17 1307**



**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
DEPARTEMEN PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**EMBRIOGENESIS DAN REKONSTRUKSI FILOGENI  
IKAN *Oryzias woworae* Parenti & Hadiaty, 2010 SEBAGAI  
DASAR STUDI EKOTOKSIKOLOGI**

**BRAYEN ALFAYETH  
L021171307**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada  
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan



**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
DEPARTEMEN PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

Embriogenesis dan Rekonstruksi Filogeni Ikan *Oryzias woworae*  
Parenti & Hadiaty, 2010 Sebagai Dasar Studi Ekotoksikologi

Disusun dan diajukan oleh

Brayen Alfayeth  
L021171307

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan  
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 19 April 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. Ir. Khusnul Yaqin, M.Sc  
NIP. 19680726 199403 1 002

Prof. Dr. Ir. Joeharnani Tresnati, DEA  
NIP. 19650907 198903 2 001

Mengetahui:

Ketua Program Studi  
Manajemen Sumber Daya Perairan,



Dr. Ir. Nadiarti, M.Sc.  
NIP. 19680106 199103 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Brayen Alfayeth  
NIM : L021 17 1307  
Program Studi : Manajemen Sumber Daya Perairan  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

"Embriogenesis dan Rekonstruksi Filogeni Ikan *Oryzias woworae*  
Parenti & Hadiaty, 2010 Sebagai Dasar Studi Ekotoksikologi"

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 17 Mei 2022

Yang Menyatakan



Brayen Alfayeth

## PERNYATAAN AUTHORSHIP

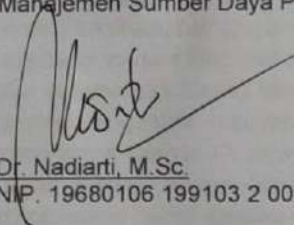
Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Brayen Alfayeth  
NIM : L021 17 1307  
Program Studi : Manajemen Sumber Daya Perairan  
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

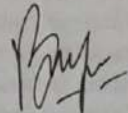
Menyatakan bahwa publikasi sebagian atau keseluruhan isi skripsi pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin dan menyertakan tim pembimbing sebagai author dan Universitas Hasanuddin sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya dua semester (satu tahun sejak pengesahan skripsi) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan skripsi ini maka pembimbing sebagai salah satu seorang dari penulis berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian, sepanjang nama mahasiswa tetap diikutkan.

Makassar, 17 Mei 2022

Mengetahui,  
Ketua Program studi  
Manajemen Sumber Daya Perairan

  
Dr. Nadiarti, M.Sc  
NIP. 19680106 199103 2 001

Penulis

  
Brayen Alfayeth  
NIM. L021 17 1307

## ABSTRAK

**Brayen Alfayeth. L021 17 1307.** “Embriogenesis dan Rekonstruksi Filogeni Ikan *Oryzias woworae* Parenti & Hadiaty, 2010 Sebagai Dasar Studi Ekotoksikologi” dibimbing oleh **Khusnul Yaqin** sebagai pembimbing utama dan **Joehamani Tresnati** sebagai pembimbing pendamping

---

*Oryzias woworae* merupakan salah satu spesies ikan medaka endemik di Sulawesi Tenggara. Ikan ini sudah masuk dalam perdagangan dalam skala nasional maupun internasional, tapi belum ada yang membahas terkait perkembangan embrionya secara akurat. Kadmium merupakan logam yang dapat mencemari lingkungan sehingga dapat berdampak kepada organisme maupun lingkungan. Pengujian kadmium pada embrio *Oryzias* masih sangat sedikit dilakukan. Selain itu, Ikan *O. woworae* yang telah diperdagangkan ini perlu dilakukan analisis DNA sebab perkembangan nama pada laju perdagangan lebih cepat dibandingkan dengan nama yang diberikan secara ilmiah oleh para peneliti, sehingga dapat memengaruhi keragaman genetik spesies tersebut. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk menganalisis perkembangan embrio *O. woworae*, efek kadmium terhadap embrionya dan merekonstruksi filogenetik dari *O. woworae*. Penelitian menggunakan tiga perlakuan yaitu ERM (*Embryo Rearing Medium*) sebagai kontrol, Kadmium (Cd)+Aquabidest dan Cd+ERM. Parameter yang dianalisis pada penelitian ini adalah embriogenesis, waktu inkubasi, panjang larva awal menetas, kelangsungan hidup embrio dan larva, laju penyerapan kuning telur dan analisis rekonstruksi filogenetik. Data panjang larva awal menetas dan laju penyerapan kuning telur dianalisis secara statistik menggunakan one-way ANOVA, sedangkan data waktu inkubasi dan kelangsungan hidup dianalisis menggunakan uji non parametrik Kruskal-wallis. Data embriogenesis akan dianalisis secara deskriptif melalui gambar. Data sekuen DNA akan dianalisis rekonstruksi filogeni menggunakan maximum likelihood dengan model kimura 2-parameter dan menggunakan bootstrap 1000 ulangan. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini embriogenesis *O. woworae* dikategorikan menjadi 39 tahapan. Waktu inkubasi dan panjang larva awal menetas tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan ( $P > 0,05$ ). Sedangkan kelangsungan hidup larva dan laju penyerapan kuning telur menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Hasil analisis filogenetik menunjukkan *O. woworae* sampel memiliki clade dan *haplotype* yang sama dengan *O. woworae* Thailand (MK156277.1) dan Indonesia (KJ844742.1). Jarak genetik antara ketiganya bernilai 0 artinya ketiga spesies tersebut dapat digolongkan dalam spesies yang sama.

**Kata kunci:** *Oryzias woworae*, embriogenesis, kadmium, laju penyerapan kuning telur, ekotoksikologi, rekonstruksi filogenetik

## ABSTRAK

**Brayen Alfayeth. L021 17 1307.** “Embryogenesis and Phylogeny Reconstruction of Fish *Oryzias woworae* Parenti & Hadiaty, 2010 as the basis for ecotoxicological studies” was supervised by **Khusnul Yaqin** as the Principle supervisor and **Joeharnani Tresnati** as the co-supervisor

---

*Oryzias woworae* is one of the endemic medaka fish species in Southeast Sulawesi. This fish has been entered in trade on a national and international scale, but no one has discussed the development of its embryo accurately. Cadmium is a metal that can pollute the environment so that it can have an impact on organisms and the environment. Tests for cadmium in *Oryzias* embryos are still very little done. In addition, this traded *O. woworae* fish needs DNA analysis because the development of the name at the trade rate is faster than the name given scientifically by researchers, so it can affect the genetic diversity of the species. Therefore, this study was conducted to analyze the embryonic development of *O. woworae*, the effect of cadmium on the embryo and reconstruct the phylogenetic structure of *O. woworae*. The study used three treatments, namely ERM (Embryo Rearing Medium) as a control, Cadmium (Cd)+Aquabidest and Cd+ERM. The parameters analyzed in this study were embryogenesis, incubation time, early larval hatch length, embryo and larval survival, egg yolk absorption rate and phylogenetic reconstruction analysis. Data on length of early hatching larvae and rate of yolk absorption were statistically analyzed using one-way ANOVA, while data on incubation time and survival were analyzed using the non-parametric Kruskal-Wallis test. Embryogenesis data will be analyzed descriptively through pictures. DNA sequence data will be analyzed by phylogeny reconstruction using maximum likelihood with Kimura model with 2 parameters and using bootstrap 1000 replications. The results obtained in this study were categorized into 39 stages of embryogenesis of *O. woworae*. Incubation time and length of early hatching larvae did not show significant differences in each treatment ( $P>0.05$ ). Meanwhile, larval survival and egg yolk absorption rate showed significant differences ( $P<0.05$ ). The results of the phylogenetic analysis showed that the *O. woworae* samples had the same clade and haplotype as the Thai (MK156277.1) and Indonesian (KJ844742.1) *O. woworae*. The genetic distance between the three is 0 which means that the three species can be classified in the same species.

**Keywords:** *Oryzias woworae*, embryogenesis, cadmium, egg yolk absorption rate, ecotoxicology, phylogenetic reconstruction

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan oleh penulis berkat bantuan, dukungan dan doa dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi – tingginya kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Khusnul Yaqin, M.Sc. selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis dari awal hingga selesainya proposal penelitian ini.
2. Prof. Dr. Ir. Joehamani Tresnati, DEA. selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis dari awal hingga selesainya proposal penelitian ini.
3. Prof. Dr. Ir. Sharifuddin Bin Andy Omar, M.Sc. dan Dr. Irmawati, S.Pi, M.Si. selaku dosen penguji atas arahan, saran dan kritikan yang membangun dalam penulisan proposal penelitian ini.
4. Seluruh staf dan pengajar Departemen Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan khususnya para dosen Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan.
5. Orang tua penulis, bapak Serda Kosing dan Almarhumah ibu Rukayyah atas segala doa dan dukungan yang tak henti-hentinya kepada penulis baik secara moril dan materil.
6. Yulia Indasari Lalombo yang selalu memberikan bantuan dan semangat kepada penulis.
7. Teman-teman peneliti Oryzias, Teman-teman MSP 2017 dan seluruh warga KMP MSP KEMAPI FIKP UNHAS yang selalu memberi dukungan kepada penulis.
8. Seluruh keluarga tercinta serta pihak-pihak yang ikut membantu baik secara langsung maupun tak langsung dalam penyusunan proposal penelitian ini.

Kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis sadar dalam skripsi ini masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan yang disebabkan oleh keterbatasan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang destruktif dari pembaca.

Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini bermanfaat serta memberi nilai untuk kepentingan ilmu pengetahuan selanjutnya dan segala amal baik serta jasa dari pihak yang membantu penulis mendapat berkah dan karunia-Nya. Aamiin.

Makassar, 17 Mei 2022

Penulis



## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **“Embriogenesis dan Rekonstruksi Filogeni Ikan *Oryzias woworae* Parenti & Hadiaty, 2010 Sebagai Dasar Studi Ekotoksikologi”**. Salawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan teladan akal, pikiran dan akhlak bagi umatnya.

Penelitian ini dilakukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hsanuddin. Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan (Juli-September 2021). Adapun sumber dana penelitian ini berasal dari dana pribadi penulis. Penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan penulis untuk kesempurnaan tulisan-tulisan kedepannya.

Makassar, 17 Mei 2022

Penulis

## BIODATA PENULIS



Penulis bernama Brayan Alfayeth adalah anak kedua dari tiga bersaudara, lahir pada tanggal 18 Februari 1999 di Kendari, Sulawesi Tenggara. Penulis merupakan anak dari pasangan Bapak Serda Kosing dan Ibu Rukayyah. Pada tahun 2011 penulis menyelesaikan sekolah dasar di SDN Melayu. Tahun 2014 penulis menyelesaikan sekolah menengah pertama di SMPN 7 Makassar. Tahun 2017 penulis menyelesaikan sekolah menengah atas di SMAN 4 Makassar dan pada tahun 2017 penulis diterima menjadi mahasiswa pada program studi Manajemen Sumber Daya Perairan di perguruan tinggi Universitas Hasanuddin melalui jalur SBMPTN.

Selama menjalani proses perkuliahan, penulis menjalani beberapa kegiatan dalam organisasi maupun laboratorium. Pada kegiatan organisasi, penulis pernah menjabat sebagai Badan Pengurus UKM RENANG-UH pada periode 2019 sebagai Koordinator Kaderisasi dan Organisasi dan pada periode 2020 sebagai anggota Dewan Pertimbangan Organisasi. Pada kegiatan laboratorium, penulis pernah menjadi asisten laboratorium Iktiologi, Invertebrata Akuatik dan Pencemaran Perairan.

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan dan Kegunaan.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
A. Klasifikasi Ikan <i>Oryzias woworae</i> .....	3
B. Karakteristik Ikan Medaka.....	3
C. Habitat dan Distribusi.....	4
D. Reproduksi.....	5
F. Fertilisasi.....	6
G. Perbedaan antara Telur yang Tidak Dibuahi dan Telah Dibuahi.....	8
H. Embriogenesis dan Penetasan.....	8
I. Ikan Medaka sebagai Hewan Uji.....	9
J. Embrio <i>Oryzias</i> yang dipaparkan oleh Kadmium (Cd).....	10
G. Efek Kadmium (Cd) terhadap Embrio Ikan.....	10
H. DNA <i>Barcode</i> .....	11
III. METODE PENELITIAN.....	13
A. Waktu dan Tempat.....	13
B. Alat dan Bahan.....	13
C. Prosedur Penelitian.....	14
D. Analisis data.....	18
E. Analisis Statistik.....	20
IV. HASIL.....	21
A. Embriogenesis.....	21
B. Efek Kadmium (Cd) pada Embrio Ikan <i>Oryzias woworae</i> .....	39
C. Analisis DNA.....	69
V. PEMBAHASAN.....	74
A. Embriogenesis.....	74
B. Efek Kadmium (Cd) pada Embrio Ikan <i>Oryzias woworae</i> .....	75
C. Analisis DNA.....	78

VI. PENUTUP.....	80
A. Kesimpulan.....	80
B. Saran.....	80
DAFTAR PUSTAKA.....	81
LAMPIRAN .....	86

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Perkembangan embrio <i>Oryzias woworae</i> .....	21
2. Kelangsungan hidup embrio dan larva <i>Oryzias woworae</i> .....	67
3. Persentase Query cover, nilai e-value dan kemiripan antara nukleotida ikan sampel dengan sekuen nukleotida <i>Oryzias</i> yang terdeposit di database NCBI.....	69
4. Variasi nukleotida dan jarak genetik antara sampel dengan data sekuen gen COI dari database Genbank NCBI.....	70
5. Variasi genetik <i>Oryzias woworae</i> dalam grup dan antar grup .....	72
6. Variasi basa nukleotida antara <i>Oryzias woworae</i> sampel dan beberapa <i>Oryzias</i> lainnya.....	73

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Ikan <i>Oryzias woworae</i> .....	3
2. Ikan <i>Oryzias woworae</i> jantan dan betina.....	4
3. Tingkah laku reproduksi ikan medaka pada spesies <i>Oryzias latipes</i> (Kinoshita et al., 2009).....	6
4. Telur <i>Oryzias latipes</i> yang belum dibuahi, setelah pengupasan mekanik dan individualisasi.....	8
5. Penetasan <i>Artemia</i> sp. ....	14
6. Pengukuran diameter telur. ....	19
7. Pengukuran panjang larva awal menetas.....	19
8. Telur <i>Oryzias woworae</i> yang belum terbuahi (tahap 0).....	26
9. Telur <i>Oryzias woworae</i> yang telah terbuahi (tahap 1).....	27
10. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap blastodisk (tahap 2a).....	28
11. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap blastodisk (tahap 2b).....	29
12. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap cleavage 2 sel (tahap 3).....	30
13. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap cleavage 4 sel (tahap 4).....	31
14. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap cleavage 8 sel (tahap 5).....	32
15. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap cleavage 16 sel (tahap 6).....	33
16. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap cleavage 32 sel (tahap 7).....	34
17. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap morula (tahap 8).....	35
18. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap morula (tahap 9).....	36
19. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap blastula (tahap 10).....	37
20. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap blastula (tahap 11).....	38
21. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap gastrula (tahap 12).....	39
22. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap gastrula (tahap 13).....	40
23. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap gastrula (tahap 14).....	41
24. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap gastrula (tahap 15).....	42
25. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap gastrula (tahap 16).....	43
26. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap neurula (tahap 17).....	44
27. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap neurula (tahap 18).....	45
28. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 19).....	46
29. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 20).....	47
30. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 21).....	48
31. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 22).....	49
32. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 23).....	50
33. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 24).....	51
34. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 25).....	52
35. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 26).....	53
36. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 27).....	54
37. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 28).....	55
38. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 29).....	56
39. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 30).....	57
40. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 31).....	58
41. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 32).....	59
42. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 33).....	60
43. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 34).....	61
44. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 35).....	62
45. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 36).....	63
46. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 37).....	64
47. Embriogenesis <i>Oryzias woworae</i> tahap organogenesis (tahap 38).....	65
48. Larva <i>Oryzias woworae</i> (tahap 39).....	66

49. Waktu inkubasi <i>Oryzias woworae</i> .....	66
50. Panjang larva <i>Oryzias woworae</i> awal menetas.....	67
51. Laju penyerapan kuning telur <i>Oryzias woworae</i> .....	68
52. Pita DNA gen COI hasil amplifikasi genom ikan <i>Oryzias woworae</i> .....	69
53. Pohon filogeni <i>Oryzias woworae</i> yang dikonstruksi menggunakan metode Maximum Likelihood dengan model Kimura 2 dan memakai bootstrap 1000x pada software MEGA X.....	71

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data perhitungan dalam penelitian .....	87
2. Hasil analisis uji normalitas dan homogenitas .....	89
3. Hasil uji analisis statistik .....	91
4. Hasil Alignment <i>Oryzias woworae</i> sampel secara online pada laman web NCBI menggunakan program nBLAST .....	93



## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Ikan medaka adalah spesies model penting di antara ikan teleostei. Ikan ini adalah salah satu kelompok ikan kecil yang tersebar di wilayah besar di Asia. Mereka menempati air tawar, air payau dan air asin. Ikan ini telah banyak digunakan dalam biologi vertebrata eksperimental selama lebih dari satu abad (Ismail & Yusof, 2011). Genus *Oryzias* (medaka), yang mendiami perairan tawar dan payau dari India di seluruh Asia Tenggara melintasi garis Wallace ke Timor, Sulawesi, Luzon, dan Jepang merupakan spesies unik di antara teleost laboratorium umum (Iwamatsu, 2004).

Beberapa ikan medaka yang dapat ditemukan pada perairan Sulawesi telah dijadikan sebagai hewan model seperti *Oryzias celebensis* dan *Oryzias javanicus*. Peneliti di Jepang telah menjadikan ikan medaka spesies *Oryzias latipes* sebagai hewan model selama bertahun-tahun (Wittbrodt *et al.*, 2002). Tidak hanya pada ikannya saja, embrio dari ikan medaka ini telah dijadikan sebagai hewan uji. Tapi, pengujian efek kadmium terhadap embrio *Oryzias* masih sangat minim dilakukan. Salah satu yang melakukan efek kadmium terhadap embrio *Oryzias* adalah Ismail & Yusof (2011) yang melakukan uji ekotoksikologi terhadap tahap awal kehidupan dari *O. javanicus* dan menyimpulkan bahwa cara tersebut masih efektif untuk menilai toksisitas Cd dan Hg dalam air.

Ikan medaka ini dapat ditemukan di perairan Sulawesi sebanyak 21 spesies yang terdiri dari genus *Adrianichthys* (4 spesies) dan genus *Oryzias* (17 spesies) (Mandagi *et al.*, 2018). Medaka yang terdiri dari beberapa spesies ini tidak hanya dapat dijadikan sebagai hewan model saja. Tapi, dapat juga dijadikan sebagai ikan hias karena memiliki warna yang menarik seperti *O. matanensis* (Eragradhini, 2020). Selain itu, 3 spesies *Oryzias* yang berada di Sulawesi tenggara juga memiliki potensi untuk dijadikan sebagai hewan model ataupun ikan hias karena memiliki warna yang menarik yaitu *O. asinua*, *O. wolasi* dan *O. woworae*.

*Oryzias woworae* saat ini telah diperdagangkan dengan harga ikan di pasar Indonesia mencapai Rp.2.750-Rp.35.000 per ekor dan harga ikan *O. woworae* di pasar internasional mencapai US\$2.7-US\$9.9 atau jika dikonservasikan ke dalam rupiah adalah Rp.38.961-Rp.142.857 per ekor (jika dikonversikan dengan kurs dollar saat ini Rp.14.430 per dollar) (Agatha *et al.*, 2021).

Perdagangan ikan yang telah aktif dalam pasar global merupakan salah satu tantangan dalam taksonomi karena para pedagang tidak dapat membedakan spesies ikan yang akan dijual (Dhar & Ghosh, 2015). Sehingga berdampak pada keanekaragaman hayati maupun genetik serta spesies yang terancam punah juga

dapat ikut diperdagangkan. Keanekaragaman genetik tersebut dapat dianalisis menggunakan DNA *barcode*. DNA *barcode* membantu ahli taksonomi dalam mengidentifikasi, penemuan dan studi genetik spesimen untuk mencapai tujuan tertentu, yaitu pengetahuan tentang keanekaragaman spesies dan tingkat variasi antar spesies (Imtiaz *et al.*, 2017).

Rekonstruksi filogenetik merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan dalam menganalisis kekerabatan suatu kelompok organisme menggunakan sekuens DNA. Rekonstruksi filogenetik ini dapat menggambarkan evolusi yang terjadi antarindividu (Akbar *et al.*, 2018). Salah satu gen yang sering digunakan untuk melakukan identifikasi dan filogenetika molekuler adalah gen COI pada genom mitokondria karena memiliki banyak keunggulan, salah satunya bersifat *conserve* (lestari) (Tindi *et al.*, 2017).

Walaupun sudah aktif diperjualbelikan belum ada yang mendeskripsikan perkembangan embriogenesis yang lebih detail pada spesies *O. woworae*. Informasi-informasi tersebut yang melatarbelakangi penelitian ini dilakukan untuk menyediakan informasi awal mengenai perkembangan embrio *O. woworae* sebagai referensi bagi penelitian-penelitian lainnya seperti penelitian dalam bidang ekotoksikologi serta merekonstruksi filogenetik ikan *O. woworae*.

## **B. Tujuan dan Kegunaan**

Tujuan dari penelitian ini untuk menganalisis perkembangan embrio ikan *Oryzias woworae*, efek kadmium terhadap embrio dan merekonstruksi filogeni ikan *O. woworae* sebagai basis informasi dalam bidang studi ekotoksikologi.

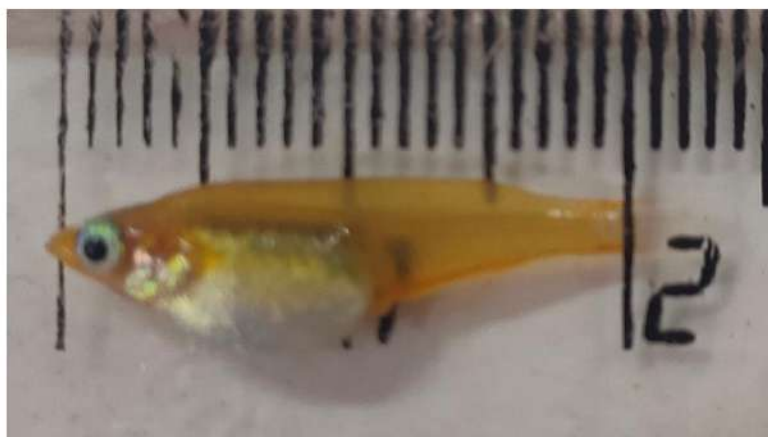
Kegunaan dari penelitian ini untuk memberikan informasi mengenai tahapan perkembangan embrio ikan *O. woworae*, efek yang didapatkan embrio dari pemaparan kadmium dan rekonstruksi filogeni dari ikan *O. woworae*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Klasifikasi Ikan *Oryzias woworae*

Kottelat (2013) menyusun klasifikasi ikan *Oryzias woworae* sebagai berikut :

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Kelas : Actinopterygii  
Ordo : Beloniformes  
Famili : Adrianichthyidae  
Genus : *Oryzias*  
Spesies : *Oryzias woworae* Parenti & Hadiaty, 2010



Gambar 1. Ikan *Oryzias woworae*.

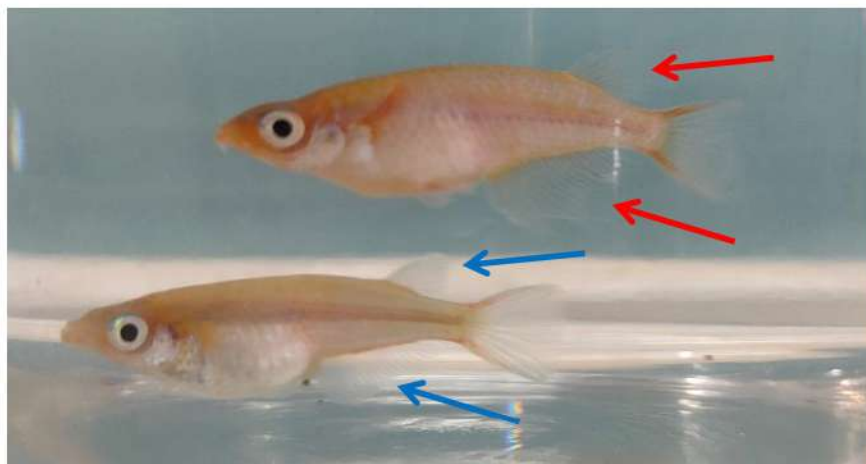
### B. Karakteristik Ikan Medaka

Ikan medaka merupakan kelompok ikan teleostei dengan ukuran tubuh yang kecil dan biasanya terdapat pada persawahan sehingga sering disebut dengan nama ikan padi atau *ricefish*. Medaka dapat diartikan sebagai mata di atas (*me* berarti mata sedangkan *daka* berarti tinggi atau besar) karena ikan ini memiliki ciri khas yaitu mempunyai letak mata di bagian atas hidungnya dan ukurannya dapat dikategorikan ukuran besar (Fahmi *et al.*, 2015). Ikan medaka sangat kuat dan tahan terhadap berbagai salinitas dan suhu (10–40°C). Ikan ini mudah untuk berkembang biak dan sangat tahan terhadap penyakit ikan umum (Wittbrodt *et al.*, 2002).

*Oryzias woworae* (Gambar 1) memiliki warna biru pada bagian sisik midlateral dari hanya posterior ke mata ke dasar ekor dan sisik tubuh anterior sirip dubur dan di bawah sisik midlateral dan hampir di seluruh pinggiran tubuhnya memiliki warna merah. Operculum dan pangkal sirip dada berwarna keperakan. *O. woworae* memiliki bentuk sirip ekor truncate, sirip ekor yang membedakannya dari *ricefish* Sulawesi

pelagis besar dalam genus *Adrianichthys* dan lima spesies *Oryzias* lainnya seperti: *O. bonneorum*, *O. nebulosus*, *O. nigrimas*, *O. orthognathus* dan *O. sarasinorum* (Parenti & Hadiaty, 2010).

Ikan *Oryzias woworae* berukuran kecil dengan ukuran panjang maksimal tubuhnya adalah 2,8 cm. Ikan ini memiliki jumlah jari-jari sirip yaitu jari-jari sirip punggung 8, jari-jari sirip dubur 18-19 dan jari-jari sirip dada 8-10 (Parenti & Hadiaty, 2010). Ikan jantan dan betina mudah dibedakan karena memiliki sirip punggung dimorfik yang jelas (Wittbrodt *et al.*, 2002). Ikan jantan dapat pula dengan mudah dibedakan dari betina (Gambar 2) karena memiliki sirip dubur dan punggung yang memanjang (Hilgers & Schwarzer, 2019).



**Gambar 2.** Ikan *Oryzias woworae* jantan dan betina.  
Keterangan gambar: Ikan jantan (atas) dan betina (bawah).

### C. Habitat dan Distribusi

Genus *Oryzias* biasa juga disebut sebagai *ricefish* (ikan padi), sebab ikan ini sering berada atau ditemukan pada ekosistem persawahan, kolam, selokan dan danau (Fahmi *et al.*, 2015). Spesies *Oryzias woworae* ditemukan di Pulau Muna, Sulawesi Tenggara pada beberapa perairan seperti Mata Air Fotuno, Mata Air Motobano, Mata Air Balano, Sungai Laweau dan Sungai Waleale (Mokodongan *et al.*, 2018; Yamahira *et al.*, 2017).

*Oryzias woworae* ditemukan pada Mata Air Fotuno, di Pulau Muna. Ikan ini terdapat pada aliran air tawar dengan penutup kanopi sekitar 80% dengan substrat lumpur dan pasir dengan serasah daun. Spesies *O. woworae* hidup bergerombol dengan spesies *Nomorhamphus* sp. pada lubang biru samping outlet mata air yang memiliki kedalaman 3-4 m. Ikan *Oryzias* juga bisa didapatkan pada kedalaman 1-2 m (Parenti & Hadiaty, 2010).

#### D. Reproduksi

Berdasarkan pemijahannya, ikan dapat dikelompokkan menjadi vivipar, ovovivipar dan ovipar (Tang & Affandi, 2000). Ikan yang termasuk dalam golongan ovipar merupakan ikan yang mengeluarkan telur pada waktu pemijahan (Burhanuddin, 2008). Medaka adalah ikan air tawar kecil (3–4 cm) yang bertelur. Telurnya dibuahi dan berkembang secara eksternal. Baik telur maupun embrionya terlihat transparan (Wittbrodt *et al.*, 2002). Pengamatan pada laboratorium ikan *Oryzias woworae* telah dapat bertelur pada ukuran 2,1 cm dengan jumlah telur 1-3 butir. Sedangkan ukuran ikan lebih dari 2,5 cm dapat bertelur sebanyak 10 butir hingga 20 butir telur.

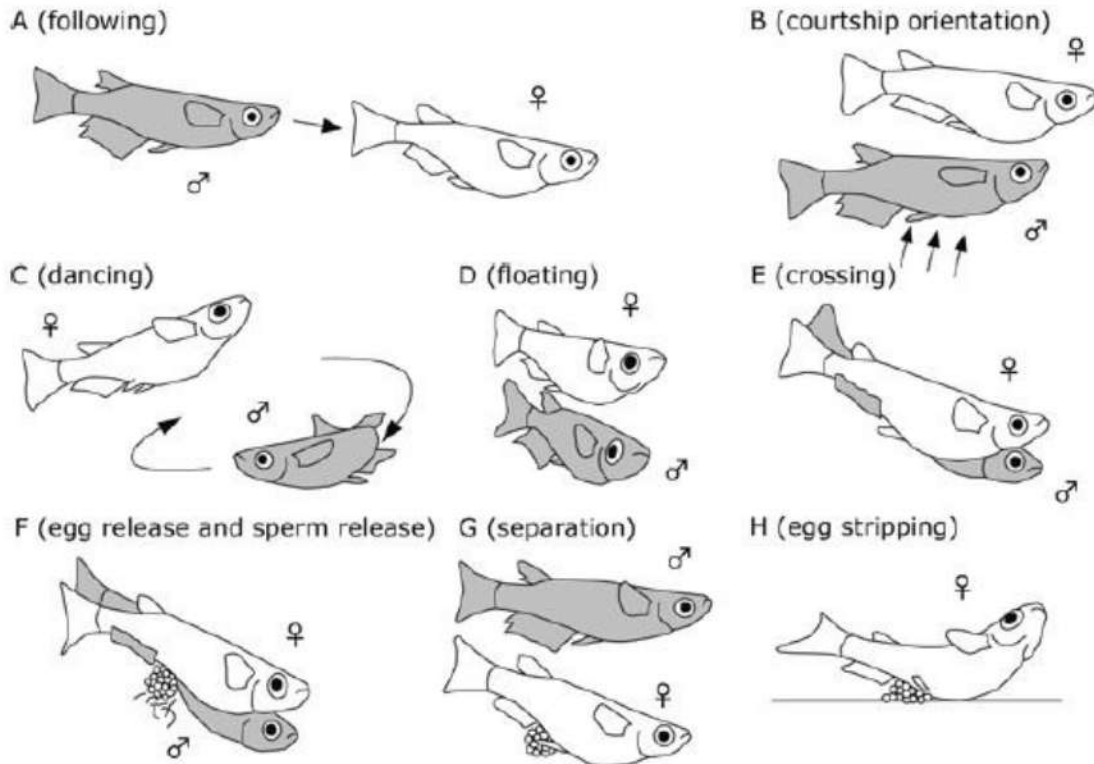
Medaka yang hidup pada kondisi air tawar memiliki cara meletakkan telur yang berbeda dengan medaka yang hidup di air laut. Di air tawar, telur akan dibawa dan menempel pada bagian abdomen ikan betina. Sedangkan di air laut, telur tidak menempel pada bagian abdomennya, karena cenderung dilepas oleh betina (Puspitasari & Suratno, 2017).

Ikan medaka menunjukkan perilaku kawin setiap pagi, karena betina yang dewasa secara seksual memiliki siklus reproduksi 24 jam. Perilaku kawin medaka terdiri dari langkah-langkah berurutan, seperti tampilan kawin antara jantan dan betina disinkronkan (Yokoi *et al.*, 2015). Tingkah laku reproduksi ikan medaka *O. latipes* terdiri dari 8 tahapan (Kinoshita *et al.*, 2009) yaitu:

1. Tahap "*following*" : Pada tahap ini ikan jantan dewasa mendekati ikan betina dewasa dengan cara mengikuti di belakang ikan betina (Gambar 3A).
2. Tahap "*courtship orientation*" : Ikan jantan datang miring ke bawah betina dan kemudian berhenti beberapa detik. Tahap ini akan berlangsung apabila ikan betina tidak menolak (melarikan diri) pada tahapan pertama (Gambar 3B).
3. Tahap "*dancing*" : Selanjutnya ikan jantan berenang dengan cepat dalam pola melingkar di depan ikan betina dan kembali ke bawah secara miring ke arah betina (Gambar 3C).
4. Tahap "*floating*" : Apabila ikan betina tetap menerima ikan jantan maka ikan jantan mengapung ke betina (Gambar 3D).
5. Tahap "*crossing*" : Jantan memegang betina dengan menggunakan sirip punggung dan duburnya, lalu mendekatkan kloaka jantan ke kloaka betina (Gambar 3E).
6. Tahap "*egg release and sperm release*": Setelah mereka mengapung secara perlahan, lalu menggetarkan tubuhnya selama kurang lebih 15-30 detik maka ikan betina dan jantan melepaskan telur dan sperma (Gambar 3F).
7. Tahap "*separation*" : Setelah melepaskan telur dan sperma, mereka berpisah

satu sama lain (Gambar 3G).

8. Tahap "egg stripping": Telur-telur tersebut saling menempel melalui filamen berbulu dan menempel pada perut betina untuk beberapa jam. Kemudian telur ini akan dilepas di dasar tangki (Gambar 3H).



**Gambar 3.** Tingkah laku reproduksi ikan medaka pada spesies *Oryzias latipes* (Kinoshita *et al.*, 2009)

## F. Fertilisasi

Fertilisasi (pembuahan) adalah proses menyatunya sperma dengan sel telur (Rahardjo *et al.*, 2011). Fertilisasi juga merupakan pembentukan zigot yang berasal dari proses bergabungnya inti sperma dan inti sel telur dalam sitoplasma. Berdasarkan tempat terjadinya, fertilisasi dapat dikelompokkan menjadi fertilisasi eksternal (sperma dan sel telur menyatu di luar tubuh induk) dan fertilisasi internal (sperma dan sel telur menyatu di dalam tubuh induk) (Tang & Affandi, 2000).

Fertilisasi pada ikan medaka terjadi secara eksternal sesaat setelah melakukan pemijahan (Ismail & Yusof, 2011). Pemijahan berlangsung pada pagi hari dengan diawali perubahan warna tubuh induk jantan yang menjadi lebih gelap (Said & Hidayat, 2015). Medaka jantan dan betina mengeluarkan sel sperma dan sel telurnya hingga terjadinya pembuahan (Kinoshita *et al.*, 2009).

Sebagian besar ikan medaka menyimpan telurnya yang telah dibuahi (Hilgers & Schwarzer, 2019). Ikan medaka dari Sulawesi memiliki perilaku yang berbeda yaitu

membawa telurnya di cekungan perutnya hingga telur tersebut menetas. Hal ini disebut dengan *pelvic brooding* (Iwamatsu *et al.*, 2008). Peristiwa ini diduga karena terjadinya evolusi saat ikan tersebut beradaptasi terhadap substrat pemijahan yang tidak ada pada habitat pelagis (Herder *et al.*, 2012).

Ikan medaka spesies *Oryzias latipes* melakukan pemijahan sehari-hari pada air tawar. Spesies *O. dancena*, *O. javanicus* dan *O. marmoratus* melakukan pemijahan beberapa kali seminggu. Sebagian besar telur dari keempat spesies tersebut mengalami pembuahan pada air tawar dengan persentase lebih dari 80%. Selain *O. marmoratus*, ketiga spesies lain mengalami pemijahan pada air laut. Spesies *O. dancena* dan *O. javanicus* mengalami pembuahan pada air laut yaitu lebih dari 80%. Namun, pada *O. latipes* telur yang tidak terbuahi pada air laut sebesar 83,9% (Inoue & Takei, 2002).

Pembuahan pada telur terjadi apabila spermatozoa memasuki lubang mikrofil pada telur. Dalam membuahi telur cukup dengan satu spermatozoa saja. Apabila kepala spermatozoa telah masuk ke dalam sel telur maka ekornya akan tertinggal di luar sel telur. Setelah itu, sitoplasma dan khorion akan meregang lalu menjadi sumbatan agar mikrofil segera menutup dan menghalangi spermatozoa yang lain. Pembuahan telur ikan dibantu oleh substansi yang dikenal dengan fertilizin untuk memberikan rangsangan pada spermatozoa dalam mencari telur yang telah keluar dari induk betina. Substansi tersebut dikeluarkan oleh telur saat telur telah dilepaskan dan siap dibuahi (Murtidjo, 2001).

Dalam telur matang yang tidak dibuahi, alveoli kortikal tertanam secara merata di lapisan protoplasma kecuali di area kecil di sekitar *animal pole*. Perubahan pertama yang terlihat saat pembuahan adalah kerusakan seperti gelombang dari alveoli kortikal dimulai di dekat *animal pole* dan berakhir di *vegetal pole*. Perubahan tersebut selanjutnya diikuti dengan pemisahan selaput telur. Pembentukan ruang perivitelline adalah konsekuensi dari kerusakan dari alveoli kortikal (Yamamoto, 1956). Pada saat telur dibuahi oleh sperma, korion akan mengeras. Pengerasan korion dipicu oleh isi korion alveoli kortikal yang dilepaskan saat pembuahan telur medaka (Shibata *et al.*, 2000).

Pada hari setelah pembuahan, tubuh embrio medaka dapat dengan mudah terlihat di dalam telur. Telur terdiri dari tiga bagian utama, yaitu tetesan minyak, kuning telur, dan embrio. Tetesan minyak kaya akan lipid (asam lemak tak jenuh), sedangkan kuning telur mengandung lipid dan protein. Telur mengandung energi yang cukup dalam tetesan minyak dan kuning telur untuk menyelesaikan perkembangan telur sampai pertama makan dimulai, dengan total isi lipid menurun 30% selama perkembangan telur (Ishigaki *et al.*, 2016).

### G. Perbedaan antara Telur yang Tidak Dibuahi dan Telah Dibuahi

Telur yang tidak dibuahi dapat dilihat pada Gambar 4 ditandai dengan filamen korion terlampir pada korion yang terikat erat dengan korteks dan masih banyak raturan butiran minyak yang tersebar secara acak di atas bola kuning telur. Sedangkan telur yang telah dibuahi ditandai dengan korion terangkat menjauhi bola kuning telur yang membentuk ruang *perivitelline*. Alveoli kortikal pecah dan korion menjadi transparan membuat sel telur terlihat dan butiran minyak mulai terkumpul (González-Doncel *et al.*, 2005).

Perbedaan antara telur yang dibuahi dan tidak juga dijelaskan pada penelitian Iwamatsu (2004) bahwa telur yang tidak dibuahi ditandai dengan terdapat mikrofil pada *animal pole* telur yang berbentuk seperti corong dan terdapat tetesan minyak tertanam secara acak di sitoplasma kortikal. Apabila telur terbuahi maka chorion akan menipis dan mengeras serta terpisah dari kuning telur yang membentuk ruang perivitelline yang luas.



**Gambar 4.** Telur *Oryzias latipes* yang belum dibuahi, setelah pengupasan mekanik dan individualisasi.

Keterangan gambar: Kiri ke kanan: dewasa diaktifkan, matang, matang tidak aktif, belum matang. Skala batang = 1 mm (González-Doncel *et al.*, 2005).

### H. Embriogenesis dan Penetasan

Embriogenesis merupakan proses pertumbuhan dan perkembangan embrio (Yani & Pratama, 2015). Proses embriogenesis merupakan proses yang terjadi setelah proses fertilisasi (Pratiwi *et al.*, 2019). Embriogenesis adalah seluruh proses perkembangan yang dimulai dari terjadinya fertilisasi hingga ke tahap organogenesis sebelum terjadi penetasan (Rahardjo *et al.*, 2011). Tahap-tahap perkembangan embriogenesis menjadi sebuah larva dimulai dari tahap *cleavage* (membelahnya sel), tahap morula, tahap blastula (terbentuknya blastoderm), tahap gastrula (menutupnya



kantung kuning telur), tahap organogenesis hingga embrio keluar dari cangkangnya atau menetas (Ardhardiansyah *et al.*, 2017).

Proses *cleavage* adalah proses pembelahan zigot menjadi sel-sel kecil yang terjadi dalam waktu singkat yang dinamakan sebagai blastomer (Murtidjo, 2001). Selanjutnya fase morula, jumlah blastomer akan bertambah dan membuat ukuran sel semakin kecil. Pada fase blastula membentuk sebuah rongga yang membedakan antara sel dan kuning telur (Yanti, 2009). Blastocoel dibentuk pada proses blastulasi dari hasil campuran sel-sel blastoderm. Setelah itu, memasuki tahap gastrulasi, pada tahap ini bakal organ yang telah dibentuk pada saat tahap blastula akan dibelah yang nantinya akan menjadi organ maupun bagian dari organ. Proses organogenesis merupakan terbentuknya organ-organ tubuh yang terbentuk dari berbagai bakal organ yang telah dibentuk pada proses gastrulasi (Murtidjo, 2001).

Penetasan merupakan perubahan lingkungan dari tempat yang sempit menuju tempat yang lebih luas. Embrio yang keluar dari cangkangnya karena beberapa proses disebut dengan penetasan. Penetasan semakin cepat terjadi apabila embrio lebih aktif dalam bergerak (Tang & Affandi, 2000). Dalam proses penetasan, kekerasan yang dimiliki chorion akan mengalami penurunan. Karena adanya unsur kimia maupun enzim yang berasal dari kelenjar endodermal di bagian *pharynx*. Enzim yang bekerja dalam menurunkan kekerasan chorion sehingga lembek adalah enzim *chorionase* (Yudasmara, 2014).

Pada ikan medaka Jepang (*Oryzias latipes*) proses embriogenesisnya hingga penetasan membutuhkan waktu 9 hari (Iwamatsu, 2004) sedangkan pada medaka Jawa (*O. javanicus*) membutuhkan waktu yang lebih lama yaitu 11 hari untuk mencapai penetasan (Puspitasari & Suratno, 2017).

## **I. Ikan Medaka sebagai Hewan Uji**

Ikan medaka memiliki beberapa keuntungan secara biologi maupun secara genetik untuk dijadikan sebagai hewan uji. Secara biologi baik ikan maupun telurinya sama-sama memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah ikan yang memiliki ukuran kecil dan telur tampak transparan. Sedangkan secara genetik, keuntungannya berupa ukuran genom yang relatif kecil (Fahmi *et al.*, 2015).

Sama halnya Kinoshita *et al.* (2009) yang menjelaskan bahwa ikan medaka berada di antara spesies ikan yang direkomendasikan sebagai model uji seperti ikan mas, *rainbow trout*, *zebrafish*, *fathead minnow*, *three-spined stickleback* dan *mummichog*. Banyak perhatian telah diberikan pada medaka oleh banyak ilmuwan dan peneliti karena alasan berikut:

1. Siklus hidup lebih pendek dibandingkan dengan spesies lain dan pengujian dapat dilakukan dalam satu tahun;
2. Ukuran ikan lebih kecil daripada spesies lain, sehingga volume air uji dapat dikurangi, sehingga biaya pengolahan limbah dapat dikurangi;
3. Mudah untuk mengidentifikasi baik jenis kelamin fisiologis menurut karakter seks eksternal dan jenis kelamin genetik dengan mendeteksi gen spesifik jantan.

#### **J. Embrio *Oryzias* yang dipaparkan oleh Kadmium (Cd)**

Belum banyak yang menggunakan cadmium sebagai bahan paparan pada embrio *Oryzias* untuk mengetahui dampak yang diberikannya. Padahal embrio atau tahap perkembangan awal dinyatakan lebih peka terhadap cadmium daripada tahap selanjutnya. Kepekaan telur dapat dilihat dari perubahan kondisi fisiologis seperti konsumsi oksigen, oksidasi karbohidrat dan sintesis protein pada tahap awal perkembangan (Michibata *et al.*, 1987).

Kadmium dengan konsentrasi tertentu dapat memberikan dampak berupa abnormalitas hingga kematian pada embrio. Menurut Barjhoux *et al.* (2012) konsentrasi paling rendah yang menyebabkan abnormalitas adalah 1,9 ppm pada *Oryzias latipes*. Sedangkan pada Ismail & Yusof (2011) mendapatkan hasil penelitian embrio *O. javanicus* yang terpapar pada Cd dengan konsentrasi 0,1 ppm dapat berdampak pada kematian embrio.

Paparan kadmium yang berkepanjangan dapat diserap oleh embrio. Sebagian besar cadmium akan diserap oleh korion, sedikit pada tubuh embrio dan kuning telur. Semakin lama embrio terpapar maka cadmium dapat menembus ruang perivitelline dan secara bertahap akan masuk ke dalam embrio (Michibata, 1981).

Ion kalsium dan ion magnesium dapat menurunkan jumlah cadmium yang berada dalam telur. Ion magnesium hanya berperan kecil atau bahkan bisa tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah cadmium. Sedangkan ion kalsium dapat memberikan pengaruh yang besar terhadap penurunan jumlah kadmium dalam telur yang telah terpapar (Michibata *et al.*, 1986).

#### **G. Efek Kadmium (Cd) terhadap Embrio Ikan**

Secara umum, sensitivitas awal kehidupan organisme lebih tinggi terhadap bahan pencemar (Purbonegoro, 2019). Tahap awal kehidupan telah lama dikenal sebagai bahan biologis yang sangat sensitif. Tes toksisitas yang dilakukan pada tahap embrio menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan tes yang dilakukan pada

ikan (Ismail & Yusof, 2011). Kadmium mampu memberikan beberapa efek terhadap organisme, baik pada tahap embrio maupun ikan yang telah dewasa. Kadmium dapat menimbulkan berbagai dampak yang berbeda untuk setiap spesies. Dampak yang dapat ditimbulkan secara umum berupa mortalitas, abnormalitas dan penetasan prematur bagi tahap embrio (Kusuma, 2020).

*Leuciscus idus* yang terpapar Cd mendapatkan dampak berupa abnormalitas, seperti waktu penetasan yang lebih lama dan pada larvanya memiliki tubuh yang pendek serta kuning telur dan gelembung renang yang lebih kecil dari ukuran normalnya (Witeska *et al.*, 2014). *Soldatov Catfish* yang terpapar Cd mendapatkan dampak berupa abnormalitas hingga mortalitas. Abnormalitas yang terjadi berupa pendarahan pada ekor, tulang belakang yang bergelombang dan ikan yang memiliki ukuran lebih kecil (Zhang *et al.*, 2012).

Pemaparan konsentrasi rendah Cd pada embrio ikan zebra tidak memberikan pengaruh yang signifikan. Tidak ada perbedaan pada kelangsungan hidup embrio dan panjang total larva yang ditemukan. Pada konsentrasi tinggi embrio ikan zebra dapat mengalami kematian yang signifikan (Aldavood *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020).

#### **H. DNA Barcode**

DNA barcode merupakan suatu teknik menggunakan sekuen DNA yang berukuran pendek, yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi suatu spesies. Identifikasi organisme yang pada awalnya hanya berdasarkan karakter morfologi saat ini telah berkembang kearah taksonomi molekular, dimana pengelompokan dilakukan berdasarkan kemiripan gen yang dimiliki organisme. Penanda *Barcoding* pada hewan yang sering digunakan adalah sekuen *barcode gen cytochrome-c oxidase I* (COI) dengan panjang sekitar 648 bp. Penggunaan COI memberikan peluang yang sangat cepat dan akurat sebagai marker untuk identifikasi berbagai variasi taksa dan mengungkapkan beberapa kelompok hewan yang belum diketahui tingkat taksonominya (Rahayu & Jannah, 2019).

DNA barcode memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode klasifikasi morfologi tradisional (Bingpeng *et al.*, 2018), yaitu:

1. Beberapa spesies memiliki karakteristik morfologi yang sangat mirip. Oleh karena itu, sulit untuk membedakan mereka satu sama lain hanya dengan karakteristik morfologis. Teknologi DNA *barcode* dapat membantu membedakan jenis secara akurat.
2. Perbedaan morfologi yang sangat bervariasi dalam berbagai tahap perkembangan dapat diidentifikasi menggunakan DNA *barcode*.

3. DNA *barcode* memungkinkan penemuan *cryptic species*. *Cryptic species* adalah dua atau lebih spesies yang secara morfologis serupa, tapi berbeda secara genetik. Dengan menggunakan teknologi DNA *barcode*, jarak evolusi molekuler yang besar antara spesies ini dapat diungkapkan, sehingga menemukan spesies yang samar.

DNA *barcode* ini bisa menjadi alat tambahan yang menghubungkan data genetik ke dalam studi yang ada. DNA *barcode* telah sangat membantu dalam mengidentifikasi keragaman samar dalam spesies, terutama bila digunakan bersama dengan metode taksonomi lain seperti morfologi dan ekologi. Pengodean DNA bernilai mampu memfasilitasi pendekatan integratif untuk identifikasi spesies tetapi dengan keterlibatan studi taksonomi tradisional (Imtiaz *et al.*, 2017).