

**TRUSS MORFOMETRIK DAN DNA BARCODING IKAN KERAPU  
*Epinephelus longispinis* DAN *Plectropomus leopardus* DARI TPI POTA  
NUSA TENGGARA TIMUR DAN TPI PAOTERE SULA ESI SELATAN**

**TRUSS MORPHOMETRICS AND DNA BARCODING OF GROUPERS  
*Epinephelus longispinis* AND *Plectropomus leopardus* TPI POTA  
EAST NUSA TENGGARA AND TPI PAOTERE SOUTH SULA ESI**



**YAUMIL AKHIR  
H052221009**



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN  
ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**TRUSS MORFOMETRIK DAN DNA BARCODING IKAN KERAPU  
*Epinephelus longispinis* DAN *Plectropomus leopardus* DARI TPI  
POTA NUSA TENGGARA TIMUR DAN TPI PAOTERE SULAWESI  
SELATAN**

**TRUSS MORPHOMETRICS AND DNA BARCODING OF GROUPERS  
*Epinephelus longispinis* AND *Plectropomus leopardus* FROM TPI  
POTA EAST NUSA TENGGARA AND TPI PAOTERE SOUTH SULAWESI**

**YAUMIL AKHIR**

**H052221009**



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2024**

**TRUSS MORFOMETRIK DAN DNA BARCODING IKAN KERAPU  
*Epinephelus longispinis* DAN *Plectropomus leopardus* DARI TPI POTA  
NUSA TENGGARA TIMUR DAN TPI PAOTERE SULAWESI SELATAN**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Biologi

Disusun dan diajukan oleh

Yaumil Akhir

H052221009

Kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

## TESIS

**TRUSS MORFOMETRIK DAN DNA BARCODING IKAN KERAPU *EPINEPHELUS LONGISPINIS* DAN *PLECTROPOMUS LEOPARDUS* DARI TPI POTA NUSA TENGGARA TIMUR DAN TPI PAOTERE SULAWESI SELATAN**

YAUMIL AKHIR

H052221009

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal Agustus 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pada

Program Studi Magister Biologi  
Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama



Dr. Irma andriani, S.Pi, M.Si  
NIP. 197108091999032002

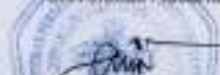
Pembimbing Pendamping



Dr. Ankerbo, M.Si  
NIP. 196507041992031004

Ketua Program Studi  
Magister Biologi

Dr. Jufriah, M.Si  
NIP. 196312311988102001

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin

Dr. Eng Amiruddin, M.Si  
NIP. 197205151997021002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "TRUSS MORFOMETRIK DAN DNA BARCODING IKAN KERAPU *EPINEPHELUS LONGISPINIS* DAN *PLECTROPOMUS LEOPARDUS* DARI TPI POTA NUSA TENGGARA TIMUR DAN TPI PAOTERE SULAWESI SELATAN" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Irma Andriani, S.Pi.M.Si dan Dr. Ambeng, M.Si). Karya ini belum di ajukan dan sedang tidak di ajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau di kutip dari karya yang di terbitkan maupun tidak di terbitkan dari penulis lain telah di sebutkan dalam teks dan telah dicantumkan dalam daftar pustaka tesis ini. Tesis ini telah dipublikasikan di jurnal Biodiversitas (Biodiversitas, under review) sebagai artikel dengan judul " Truss Morphometric And DNA Barcoding Of Grouper Species From TPI Pota Nusa Tenggara East And TPI Paotere South Sulawesi" apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian besar atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar 20 Agustus 2024



YAUMIL AKHIR  
NIM: H052221009

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan baik dan tesis ini dapat terampung atas bimbingan, diskusi dan arahan dari Ibu Dr. Irma Andriani, S.Pi. M.Si sebagai pembimbing pertama dan Bapak Dr. Ambeng, M.Si sebagai pembimbing kedua. Saya mengucapkan banyak terima kasih kepada yang bersangkutan. Ucapan terima kasih juga saya hanturkan kepada Bapak Dr. Fahrudin, M.Si, Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc dan Ibu Dr. Elis Tambaru, M.Si sebagai dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran untuk penelitian dan penulisan tesis ini. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memfasilitasi saya selama menempuh program magister ini, serta kepada dosen yang telah melimpahkan banyak ilmu selama saya duduk di bangku perkuliahan.

Tidak lupa saya hanturkan terima kasih kepada Rezki Asya Nur, S.Pd selaku partner penelitian, teman-teman semasa kuliah yang selalu menemani dan memotivasi mulai dari awal masa studi hingga saat ini. Dan tidak lupa juga kepada kak Elina Suryani, S.Si, Siti Rofiah, S.Pd, Ratna Sari, S.Si, Nurfadila, S.Si, Nurhidayah, S.Si, Nurhidayah Syarifudin, S.Pd, Sopia Lacuba, S.Si dan Ardiansyah, S.Si. M.Si serta teman-teman magister biologi, terimakasih banyak atas bantuan dan memori yang telah diukir selama saya menempuh pendidikan magister.

Tak lupa juga penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua yang selalu memberikan motivasi dan dukungan selama menempuh pendidikan ini. Kepada kedua orang tua, Ayah Hamid Karipu Dg. Maroa dan Ibu Jeniba Musa, terima kasih sudah memberikan yang terbaik dan mendengarkan segala keluhan saat menjalani perkuliahan.

Makassar, 21 Agustus 2024

Yaumil Akhir

## ABSTRAK

YAUMIL AKHIR. **TRUSS MORFOMETRIK DAN DNA BARCODING IKAN KERAPU *Epinephelus longispinis* DAN *Plectropomus leopardus* DARI TPI POTA NUSA TENGGARA TIMUR DAN TPI PAOTERE SULA ESI SELATAN** (Dibimbing oleh, Dr. Irma Andriani, S.Pi. M.Si dan Dr. Ambeng, M.Si)

Ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) dikenal dengan sebutan “*groupers*” yang merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki peluang yang sangat besar baik di pasar domestik maupun pasar internasional. Kebanyakan spesies kerapu dilaporkan terjadi penurunan jumlah populasi dan ketersediaan data masi sangat minim. Menurut daftar IUCN pada tahun 2018, 11.4% ikan kerapu terancam punah dikarenakan tingkat eksploitasi yang tinggi. Untuk mencegah terjadinya penurunan jumlah populasi diperlukan upaya konservasi dengan pendekatan secara morfologi dan molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies ikan kerapu *E. longispinis* dan *P. leopardus* dari TPI Pota dan TPI Paotere dengan metode *truss morfometrik* (21 karakter morfometrik) dan keragaman genetik berdasarkan DNA barcoding. Hasil *truss morfometrik* 40 sampel ikan kerapu dianalisis dengan aplikasi SPSS, sedangkan urutan DNA menggunakan program BLAST, DNaSP, Mega11, Net work untuk mendapatkan hasil similarity, keragaman genetik, jarak genetik, rekonstruksi filogenik, dan haplotype net ork. Hasil pengukuran jarak truss morfometrik ikan kerapu *P. leopardus* dari TPI Pota dan TPI Paotere terdapat sebelas dari 21 rasio jarak truss yang signifikan yaitu A2, A4, A6, B2, B3, B4, C2, C3, C4, C5 dan D5, dan hasil pengukuran jarak truss morfometrik ikan kerapu *E. longispinis* terdapat sembilan belas dari 21 rasio jarak truss yang signifikan yaitu, A2, A3, A4, A5, A6, B2, B3, B4, B5, C1, C2, C3, C4, C5, D1, D2, D3, D4 dan D5. Nilai haplotype diversity variasi genetik sebesar 1,000, nilai nukleotida 0,026, dan memiliki 4 jumlah haplotype. Jarak genetik intraspesies yang tertinggi sebesar 1,424, terendah 0,000, dengan nilai rata-rata tertinggi 0,227 dan terendah 0,000. Rekonstruksi filogenik menunjukkan hubungan kekerabatan ikan kerapu dari TPI Pota dan TPI Paotere dengan data yang terdapat di Genbank. Penelitian ini diharap kann mampu memberikan informasi mengenai adanya hubungan kekerabatan dilihat dari *truss morfometrik* dan DNA barcoding *E. longispinis* dan *P. leopardus*.

**Kata Kunci:** DNA barcoding, *E. longispinis*, *P. leopardus*, *Truss Morfometrik*.

## ABSTRACT

YAUMIL AKHIR. **TRUSS MORPHOMETRICS AND DNA BARCODING OF GROUPER *Epinephelus longispinis* AND *Plectropomus leopardus* FROM TPI POTA EAST NUSA TENGGARA AND TPI PAOTERE SOUTH SULAWESI** (Dibimbing oleh, Dr. Irma Andriani, S.Pi. M.Si dan Dr. Ambeng, M.Si)

Grouper fish (*Epinephelus* sp.) is known as “groupers” which is one of the fishery commodities that has enormous opportunities both in the domestic and international markets. Most grouper species are reported to have declining population numbers and the availability of data is still very minimal. According to the IUCN list in 2018, 11.4% of groupers are threatened with extinction due to high exploitation rates. To prevent population decline, conservation efforts are needed with morphological and molecular approaches. This study aims to identify grouper species *E. longispinis* and *P. leopardus* from TPI Pota and TPI Paotere using morphometric truss method (21 morphometric characters) and genetic diversity based on DNA barcoding. The morphometric truss results of 40 grouper fish samples were analyzed with SPSS application, while the DNA sequence used BLAST, DNaSP, Mega11, Net work programs to obtain similarity results, genetic diversity, genetic distance, phylogenic reconstruction, and haplotype net work. The results of morphometric truss distance measurements of grouper *P. leopardus* from TPI Pota and TPI Paotere contained eleven out of 21 significant truss distance ratios namely A2, A4, A6, B2, B3, B4, C2, C3, C4, C5 and D5, and the results of morphometric measurement of truss distance of grouper *E. longispinis* contained nineteen out of 21 significant truss distance ratios of, A2, A3, A4, A5, A6, B2, B3, B4, B5, C1, C2, C3, C4, and D5. The haplotype diversity value of genetic variation is 1,000, the nucleotide value is 0,026, and has 4 haplotype numbers. The highest intraspecies genetic distance was 1,424, the lowest was 0,000, with the highest average value of 0,227 and the lowest as 0,000. Phylogenic reconstruction shows the kinship of grouper fish from TPI Pota and TPI Paotere with data contained in Genbank. This research is expected to provide information on the existence of kinship relationships seen from the morphometric truss and DNA barcoding of *E. longispinis* and *P. leopardus*.

**Key words:** DNA barcoding, *E. longispinis*, *P. leopardus*, Truss Morphometrics.



## DAFTAR ISI

SAMPUL.....	i
HALAMAN	
JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN TESIS .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH... ..	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Kerangka Berpikir .....	4
BAB 2 METODE PENELITIAN .....	5
2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	5
2.2 Alat Penelitian .....	5
2.3 Bahan Penelitian .....	5
2.4 Prosedur Penelitian .....	6
2.4.1 Pengambilan Sampel .....	6
2.4.2 Pengukuran Truss Morfometrik .....	6
2.4.3 Ekstraksi DNA .....	8
2.4.4 Amplifikasi DNA .....	8
2.4.5 Elektroforesis .....	9

2.5 Analisis Data .....	10
BAB 3 HASIL DAN PEMBAHASAN .....	11
3.1 Lokasi Pengambilan Sampel .....	11
3.2 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Keapu.....	11
3.2.1 Ikan Kerapu <i>Epinephelus longispinis</i> .....	11
3.2.2 Ikan Kerapu <i>Plectropomus leopardus</i> .....	12
3.2.3 Habiatat dan Penyebaran .....	12
3.2.4 Siklus Reproduksi dan Perubahan Kelamin .....	13
3.3 Truss Morfometrik .....	14
3.4 Filogenik Molekuler .....	14
3.5 DNA Barcoding.....	15
3.6 Pengukuran Truss Morfometrik.....	16
3.6.1 Pengukuran Jarak Truss Morfometrik Spesies <i>Plectropomus leopardus</i> dari TPI Pota NTT dan TPI Paotere Sulesl .....	16
3.6.2 Pengukuran Jarak Truss Morfometrik Spesies <i>Epinephelus longispinis</i> dari TPI Pota NTT dan TPI Paotere Sulsel ....	19
3.7 Hasil Amplifikasi DNA Barcoding dan Similaritas Sampel .....	22
3.8 Variasi Genetik Intraspesies .....	25
3.8.1 Variasi Genetik .....	25
3.8.2 Jarak Genetik .....	26
3.8.3 Filogenik .....	27
3.8.4 Haplotype Net ork .....	29
3.9 Variasi Genetik Sampel dan Outgroups .....	30
3.9.1 Variasi Genetik .....	30
3.9.2 Jarak Genetik .....	32
3.9.3 Filogenik .....	33
3.9.4 Haplotype Net work .....	35
BAB IV PENUTUP.....	37
4.1 Kesimpulan.....	37
4.2 Saran .....	37

DAFTAR PUSTAKA .....38

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Hasil perbandingan antara jarak truss dan panjang strandar species <i>P. leopardus</i> dari TPI Pota dan TPI Paotere .....	18
<b>Tabel 2.</b> Hasil perbandingan antara jarak truss dan panjang strandar species <i>E. longispinis</i> dari TPI Pota dan TPI Paotere .....	21
<b>Tabel 3.</b> Panjang fragmen (bp) gen COI dan jumlah asam amino yang di stranslasi pada sampel ikan kerapu .....	22
<b>Tabel 4.</b> Analsisi BLAST sekuen gen mitokondria COI spesies <i>E. longispinis</i> dan <i>P. leopardus</i> dari TPI Pota dan TPI Paotere dengan data Genbank dan BOLD .....	24
<b>Tabel 5.</b> Variasi genetik sampel ikan kerapu dari TPI Pota dan TPI Paotere .....	25
<b>Tabel 6.</b> Grup haplotype ikan kerapu dari TPI Pota dan TPI Paotere .....	25
<b>Tabel 7.</b> Jarak genetik ikan kerapu <i>E. longispinis</i> dan <i>P. leopardus</i> .....	26
<b>Tabel 8.</b> Variasi genetik sampel ikan kerapu dan Outgroups .....	30
<b>Tabel 9.</b> Grup haplotype 4 sampel ikan kerapu dari TPI Pota dan TPI Paotere dengan outgroups yang terdata di genbank dan BOLD berdasarkan gen COI .....	30
<b>Tabel 10.</b> Jarak genetik4 sampel ikan kerapu dari TPI Pota dan TPI Paotere dengan Outgroups yang terdapat di genbank dan BOLD berdasarkan gen COI .....	33

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Ilustrasi ikan kerapu <i>Epinephelus longispinis</i> .....	11
<b>Gambar 2.</b> Ilustrasi ikan kerapu <i>Plektropomus leopardus</i> .....	12
<b>Gambar 3.</b> Genom Mitokondria .....	16
<b>Gambar 4.</b> Elektroforesis amplifikasi gen mitokondria COI sampel ikan kerapu yang diambil dari TPI Pota dan TPI Paotere, dan M merupakan marker (GENEAID-1kbp) .....	22
<b>Gambar 5.</b> Rekonstruksi pohon filogenik 4 sampel ikan kerapu yang diambil dari TPI Pota Nusa Tenggara Timur dan TPI Paotere Sulawesi Selatan .....	28
<b>Gambar 6.</b> <i>Haplotype net</i> ork ikan kerapu yang diambil dari TPI Pota dan TPI Paotere berdasarkan sekuens gen <i>COI</i> .....	29
<b>Gambar 7.</b> Rekonstruksi pohon filogenetik 4 sampel ikan kerapu dari TPI Pota dan TPI Paotere beserta <i>outgroups</i> yang terdata di <i>genbank</i> dan BOLD berdasarkan topologi <i>Neighbour-Joining</i> berdasarkan gen <i>COI</i> . Angka pada note menunjukkan note <i>netbord_Joining(NJ)</i> .....	34
<b>Gambar 8.</b> <i>Haplotype net work</i> ikan kerapu yang diambil dari TPI Pota dan TPI Paotere dan <i>Outgroup</i> dengan data yang ada di <i>genbank</i> berdasarkan sekuens gen <i>COI</i> .....	35

## LAMPIRAN

Lampiran 1 .....	47
Lampiran 2 .....	49

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Salah satu negara yang paling banyak menghasilkan ikan karang adalah Indonesia (Muldono et al, 2016; Amarin et al, 2020). Ikan kerapu dari famili Serranidae atau sering disebut dengan ikan karang merupakan salah satu kelompok ikan predator (Smith & Craig 2007, Craig et al., 2011, Ma et al., 2016, Ma & Craig 2018, Rimmer & Clamuzina 2019). Menurut Sugama *et al* (1986) ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) dikenal dengan sebutan “*groupers*” yang merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki peluang besar baik di pasar domestik maupun pasar internasional.

Ikan kerapu banyak mendiami terumbu karang serta garis pantai berbatu di laut tropis dan sub tropis, biasanya berada di puncak jaring makanan (Ding *et al*, 2018). Oleh karena itu kelompok ikan ini menjadi salah satu target penangkapan untuk memenuhi kebutuhan pasar, baik kebutuhan lokal maupun untuk pasar ekspor. Ada pun kelompok ikan ini terdiri dari 597 spesies dan 72 genus yang berada pada seluruh lautan (Parenti & Randal 2020, Frecki et al., 2021). Sedangkan menurut data [.fishbase.org](https://www.fishbase.org) (2019) ikan kerapu dari subfamili *Epinephelidae* tersebar di Indonesia dengan jumlah 69 jenis yang termasuk kedalam 9 genus, didominasi oleh 3 genus yaitu *Epinephelus*, *Cephalopholis*, dan *Plectropomus*, sedangkan data terkini dari [.fishbase.org](https://www.fishbase.org) (2023) ikan kerapu terdiri dari 16 genus dan 170 spesies yang tersebar di dunia.

Kebanyakan dari spesies ikan kerapu dilaporkan terjadi penurunan jumlah populasi, serta dengan data *deficient* atau ketersediaan data masih sangat minim, hingga sampai saat ini kebanyakan status perikanan kerapu masih belum diketahui, khususnya pada kasus penangkapan skala kecil (Robinso *et al*, 2015; Mariani *et al*, 2016).

Menurut Khasanah et al (2020) dan Nadiarti et al (2021), hasil studi spesies ikan kerapu terdiri dari banyak spesies, sedangkan menurut daftar *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) pada tahun 2018 mengklasifikasikan 11.4% ikan kerapu terancam punah. Oleh karena itu, mengingat tingkat eksploitasi yang cukup tinggi serta peninjauan status konservasi dari sebagian besar spesies ikan kerapu kurang diperhatikan (Sadovy, 2020) dan banyak perikanan karang multispesies dilaporkan tidak berkelanjutan (NeWton *et al*, 2007). Selain itu, ada indikasi kuat penyebab terjadinya pergeseran garis dasar (Sensu Pauly, 1995), dalam persepsi kelimpahan dan ukuran ikan khususnya kerapu (Sadovy de Micheson et al, 2020), serta tingkat eksploitasi yang tinggi dalam penangkapan ikan karang oleh nelayan, terutama di daerah pemijahan (*spawning*) dan kerusakan terumbu karang sebagai habitat ikan karang yang semakin meluas, tentu akan menyebabkan ikan karang semakin berkurang atau menurun dan mungkin akan hilang diperairan (Akmal *et al.*, 2019; Burke *et al.*, 2002).

Meningkatnya permintaan ikan kerapu ditambah lagi dengan penurunan potensial spesies yang mengakibatkan penangkapan ikan secara berlebihan dan pengeboman, diharapkan upaya untuk melakukan pengelolaan sumber daya berkelanjutan dan konservasi.

Untuk mencegah terjadinya penurunan jumlah spesies perlu dilakukannya upaya konservasi dengan pendekatan secara morfologi dan molekuler. Pada dasarnya kedua pendekatan tersebut merupakan serangkaian tahapan dalam mengidentifikasi spesies. Metode truss morfometrik merupakan tahapan awal mengidentifikasi spesies melalui pengamatan, sedangkan identifikasi molekuler dengan teknik DNA barcoding merupakan sistem yang dirancang untuk melakukan identifikasi secara cepat dan akurat, berdasarkan urutan basa nukleotida dari gen penanda yang telah terstandarisasi yaitu gen *Cytochrome Oxidase Subunit I* (COI) (Hebert et al. 2003).

Turan et al.(2004) mendeskripsikan teknik truss morfometrik dapat mengidentifikasi kemungkinan adanya perbedaan morfologi organisme yang mempunyai hubungan kekerabatan dekat, baik inter spesies maupun intra spesies, termasuk juga perbedaan antara hewan jantan dan betina. *Truss morfometrik* merupakan teknik yang dilakukan untuk mengukur jarak pada bagian tertentu di luar tubuh berdasarkan titik-titik patokan (Brezky & Doyle, 1988). Secara umum pendekatan morfologi masih mengalami tumpang tindih dalam mengidentifikasi spesies, untuk itu diperlukannya suatu metode yang akurat dan cepat dalam mengidentifikasi spesies yaitu dengan teknik DNA barcoding. Teknik DNA barcoding memiliki peran penting dalam mendapatkan informasi dasar mengenai gen-gen yang memiliki keragaman tinggi, sehingga berguna untuk proses seleksi dalam pemuliaan ikan (Arifin & Kurniasih, 2007). Hal ini didukung oleh Dunham (1995), bahwa keberhasilan program seleksi dalam pemuliaan ikan dipengaruhi tingkat keragaman genetik dan potensi keragaman genetik. DNA barcoding juga memiliki fungsi sebagai alat bantu taksonomi untuk mengungkapkan secara genetik spesies snakehead yang berbeda secara tepat dan akurat.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti melakukan penelitian tentang “Truss Morfometrik Dan DNA Barcoding Ikan Kerapu *Epinephelus longispinis* dan *Plectropomus leopardus* dari TPI Pota Nusa Tenggara Timur Dan TPI Paotere Selawesi Selatan”.



## 1.2 Rumusan Masalah

Ikan kerapu merupakan ikan komersial yang diperdagangkan dan memiliki nilai ekonomi tinggi. Kebanyakan dari spesies ikan ini dilaporkan terjadi penurunan populasi serta ketersediaan data masih sangat minim, hingga perlu dilakukan kajian secara biologi dengan mengetahui hubungan secara morfologi dan molekuler. Jadi berdasarkan uraian diatas, ada pun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana identifikasi ikan kerapu dilihat dari jarak truss morfometrik?
2. Bagaimana variasi genetik ikan kerapu dari TPI Pota dan TPI Paotere berdasarkan COI.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian yaitu:

1. Untuk mengidentifikasi ikan kerapu *E. longispinis* dan *P. leopardus* berdasarkan truss morphometrik.
2. Untuk mengetahui keragaman genetik ikan kerapu *E. longispinis* dan ikan kerapu *P. leopardus* berdasarkan DNA barcoding.

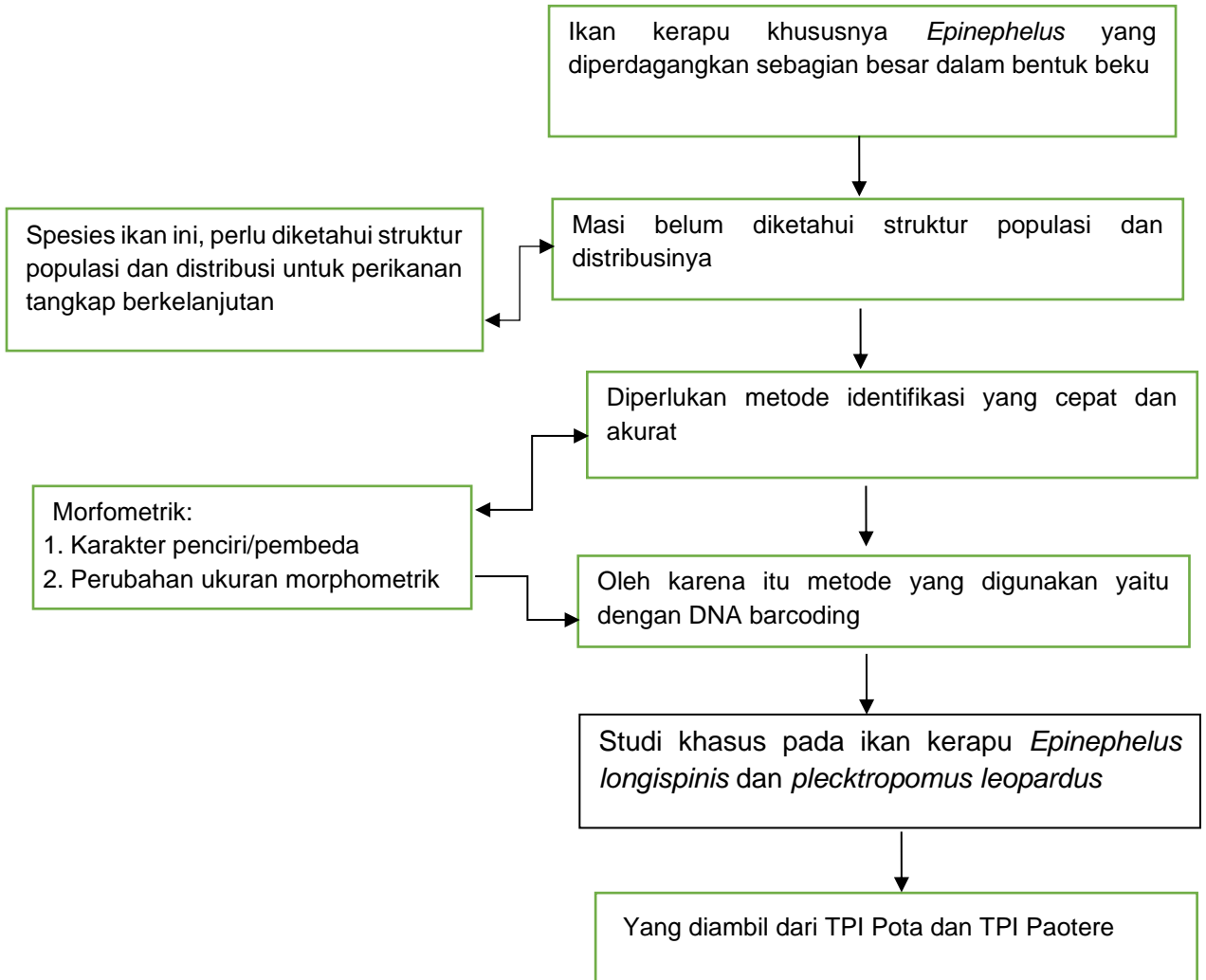
## 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Informasi dari penelitian ini yaitu untuk melihat hubungan kekerabatan baik dari truss morfometrik dan DNA Barcoding ikan kerapu *E. longispinis* dan *P. leopardus* dari dua pelelangan yang berbeda
2. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan konstribusi untuk menyusun *DNA barcode library* spesies *E. longispinis* dan *P. leopardus*.

## 1.5 Kerangka Berpikir

Berdasarkan uraian diatas maka adapun kerangka berpikir dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Waktu dan Lokasi Pengambilan Sampel

Penelitian dilakukan selama bulan November 2023 – April 2024 di lakukan pengambilan sampel di TPI Paotere Sulawesi Selatan dan pengambilan sampel di TPI Pota Nusa Tenggara Timur pada bulan Desember 2023 – April 2024. Sampel yang didapatkan dari TPI Paotere di bawa ke laboratorium untuk dilakukan pengukuran dan preservasi. Sedangkan sampel ikan yang diambil dari TPI Pota dilakukan pengukuran dan dimasukkan kedalam alkohol 96% untuk di bawa ke laboratorium untuk preservasi DNA.

Selanjutnya proses ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis dan proses PCR dikirim ke First Base (Malaysia) melalui PT. Genetika Science (Jakarta) untuk purifikasi dan sekuensing secara bidirection.

### 2.2 Alat Penelitian

Ada pun alat yang dapat digunakan dalam penelitian ini yaitu: kamera, alat ukur (penggris/jangka sorong), buku tulis. Alat yang digunakan dalam proses isolasi DNA, amplifikasi DNA serta elektroforesis antara lain *dissecting kit*, *microcentrifuge tube*, mikropipet berukuran 0,5-10 µl, 10-100 µl, dan 100-1000 µl, *centrifuge*, incubator, autoklaf, bunsen, *vortex mixer* (Gemmy, Taiwan), *thermocycler* (Biorad), timbangan digital (Ohaus Scout Pro, USA), micro ave, tray dan sisir, *electrophoresis chamber* (GE-100, China), dan *UV transilluminator* dengan *gel decontamination system* dan computer.

### 2.3 Bahan Penelitian

Bahan yang dapat digunakan dalam penelitian ini yaitu: Etanol 70%, Etanol absolut 96%, Qiagen DNeasy blood and tissue kit (Qiagen), primer universal gen COI yaitu FishF2 sebagai primer Forward: 5' TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3' dan FishR2 sebagai primer reverse: 5'-ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3', buffer Tris-EDTA, *MyTaq HS Red Mix PCR kit* (Bioline), MgCl<sub>2</sub> (KAPA Biosystem), akuabides steril, agarose, buffer Tris-Acetate-EDTA, FloroSafe dan DNA ladder (Bioline).

## 2.4 Prosedur Penelitian

### 2.4.1 Pengambilan Sampel

Ada pun sampel ikan kerapu yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel yang diperoleh dari TPI Pota Nusa Tenggara Timur dan TPI Paotere Sulawesi Selatan Dalam melakukan penelitian ini diperlukan 40 ekor ikan kerapu yang belum diketahui kisaran ukuran panjang ikan. Setelah sampel ikan di dapatkan kemudian dilakukan pengukuran karakter Truss Morphometrik pada ikan kerapu. Ikan diambil dan dilakukan identifikasi di LPPM Unhas dengan mengikuti panduan Rao (1972), Fisbase (2016), Kottela et al, (1993). Pengukuran jarak bagian-bagian tubuh ikan dilakukan dengan tektik Truss Morfometrik.

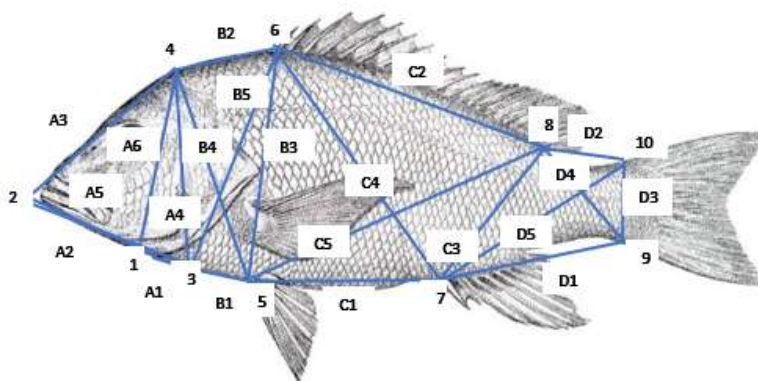
### 2.4.2 Truss Morfometrik

Pengukuran jarak bagian tubuh ikan dilakukan dengan teknik Truss Morfometrk. Pengukuran panjang standar dilakukan dari ujung depan moncong sampai pangkal sirip ekor ikan. Perhitungan truss morfometrik dilakukan dengan hasil pengukuran jarak truss morfometrik di bagi dengan panjang standar. Setiap sampel ditentukan 10 titik yang dijadikan patokan titik truss morfometrik sehingga diperoleh 21 karakter (Turan 1998). Menancapkan jarum ke preparat hingga menembus gabus, kemudian diukur jaraknya sesuai dengan pedoman pengukuran Truss morfometrik menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 mm atau penggaris. Sepuluh titik patokan truss morfometrik tersebut adalah: 1) Pangkal rahang bawah, 2) Ujung terdepan moncong, 3) Batas kepala dan badan ventral, 4) Batas kepala dan badan dorsal, 5) Pangkal depan sirip ventral, 6) Pangkal depan sirip dorsal, 7) Pangkal depan sirip anal, 8) Pangkal belakang sirip dorsal, 9) Pelipatan ekor bagian ventral, 10) Pelipatan ekor bagian dorsal. Setelah itu sampel ikan diambil dan disimpan kedalam botol sampel yang berisi alkohol 96%, lalu dibawa ke laboratorium untuk dilakukan preservasi.

**Tabel 1.** Pengukuran rasio jarak truss

Bidang	Kode	Deskripsi Jarak
	A1 (1-3)	Jarak antara titik pangkal rahang bawah - batas kepala dan badan ventral
	A2 (1-2)	Jarak antara titik pangkal rahang bawah – ujung terdepan moncong
	A3 (2-4)	Jarak antara titik ujung terdepan moncong – batas kepala dan badan dorsal

Kepala	A4 (3-4)	Jarak antara titik batas kepala dan badan dorsal – batas kepala dan badan ventral
	A5 (2-3)	Jarak antara titik ujung terdepan moncong – batas kepala dan badan ventral
	A6 (4-1)	Jarak antara titik batas kepala dan badan dorsal – pangkal rahang bawah
	B1 (3-5)	Jarak antara titik disebelah ventral dari titik terdepan sirip pectoral
	B2 (4-6)	Jarak antara titik tertinggi bagian anterior sirip dorsal
	B3 (6-5)	Jarak antara titik pangkal depan sirip dorsal – pangkal depan sirip ventral
Tubuh Anterior	Bagian B4 (4-5)	Jarak antara titik batas kepala dan dorsal – pangkal depan sirip ventral
	B5 (6-3)	Jarak antara titik pangkal depan sirip dorsal – batas kepala dan badan ventral
	C1 (5-7)	Jarak antara titik pangkal depan sirip ventral – pangkal depan sirip anal
	C2 (6-8)	Jarak antara titik pangkal depan sirip dorsal – pangkal belakang sirip dorsal
Tubuh Posterio	Bagian C3 (8-7)	Jarak antara titik pangkal belakang sirip dorsal – pangkal depan sirip anal
	C4 (6-7)	Jarak antara titik pangkal depan sirip dorsal – pangkal depan sirip anal
	C5 (8-5)	Jarak antara titik pangkal belakang sirip dorsal – pangkal depan sirip ventral
	D1 (7-9)	Jarak antara titik pangkal depan sirip anal – pelipatan ekor bagian ventral
	D2(810)	Jarak antara titik pangkal depan sirip dorsal – pelipatan ekor bagian dorsal
Bagian Eko	D3(109)	Jarak antara titik pelipatan ekor bagian dorsal – pelipatan ekor bagian ventral
	D4 (8-9)	Jarak antara titik pangkal belakang sirip dorsal – pelipatan ekor bagian ventral
	D5(107)	Jarak antara titik pangkal depan sirip anal – pelipatan ekor bagian dorsal



**Gambar.** Pengukuran truss morfometrik

### 2.4.3 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan *kit Quick DNA Magbead Plus Kit (ZymoResearch, D4082)* and *Tissue kit*. Sekitar 100 mg filet diambil dari bagian antara badan dan pangkal ekor, setelah itu dilakukan preservasi dalam etanol absolut 96%, kemudian dimasukkan kedalam tube 1,5 ml dan ditambahkan 180  $\mu$ L larutan buffer ATL. Filet kemudian dihancurkan menggunakan gunting steril yang telah direndam dengan etanol 70% dan disterilisasi dengan bunsen. Sampel selanjutnya ditambahkan 20  $\mu$ L *protein kinase* 600 mAU/mL, *divortex* sampai homogen dan *dispin-down* selama 20 detik. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 12 jam (overnight) sampai larutan terlihat jernih. Pada tiga jam pertama inkubasi, sampel dibolak-balik setiap setengah jam. Setelah itu sampel *divortex* dan dipulse menggunakan *centrifuge* dan ditambah 200  $\mu$ L buffer AL dan 200  $\mu$ L etanol absolut dingin serta *divortex* dan dipulse menggunakan *centrifuge*.

Campuran larutan kemudian dimasukan ke dalam spin column dan ditempatkan pada 2 ml collection tube serta disentrifugasi 8.000 rpm selama 1 menit. Selanjutnya cairan dalam collection tube dan collection tube dibuang. Spin column ditempatkan pada collection tube yang baru dan ditambahkan 500  $\mu$ L Buffer AW-1 dan disentrifugasi 8.000 rpm selama 1 menit, kemudian cairan dalam collection tube dibuang. Setelah itu Spin column yang sudah ditempatkan di collection tube ditambahkan buffer AW-2 sebanyak 500  $\mu$ L dan disentrifugasi 13.500 rpm selama 3 menit. Selanjutnya cairan dan collection tube dibuang. Spin column ditempatkan pada microtube 1,5 ml yang baru dan kemudian diinkubasi 50°C selama 2 menit dengan posisi tutup tube terbuka. Tube ditambahkan 250  $\mu$ L buffer AE yang sebelumnya telah diinkubasi pada 50°C ke dalam spin column. Sesudah itu sampel diinkubasi pada suhu ruang selama 2 menit dengan posisi tutup tube terbuka. Setelah diinkubasi, sampel disentrifugasi 8.000 rpm selama 1 menit. Spin column kemudian dibuang dan tube disimpan sebagai hasil isolasi DNA. Sampel DNA disimpan pada freezer dengan suhu -20oC hingga akan digunakan Kembali.

### 2.4.4 Amplifikasi DNA

Amplifikasi gen *COI* dilakukan menggunakan teknik PCR. Komponen-komponen yang digunakan pada proses PCR antara lain templat DNA, sepasang primer, ddH<sub>2</sub>O, master mix yang terdiri dari dNTP, bufer PCR, MgCl<sub>2</sub>, dan enzim polimerase. Master mix PCR dibuat dengan volume total 25  $\mu$ L yang terdiri dari 2  $\mu$ L templat DNA, 8,5  $\mu$ L *nuclease free water*, 1  $\mu$ L primer forward, 1  $\mu$ L primer reverse, dan 12.5  $\mu$ L Taq polimerase.

Hasil isolasi DNA diamplifikasi menggunakan primer *COI* yang terdiri dari forward (FishF2: 5'TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC-3') dan reverse (FishR2: 5'ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3') (Hard et al., 2005). Amplifikasi PCR yang digunakan sebanyak 50  $\mu$ L reaksi yang terdiri dari 25  $\mu$ L Ready Mix PCR

(MyTaq™ HS Red Mix Bioline); 0,6 µM tiap primer; 1 mM MgCl<sub>2</sub>; 11 µL ddH<sub>2</sub>O steril; dan 10-100 ng DNA. Seluruh larutan tersebut dicampur dalam sebuah PCR tube untuk masing masing sampel dan dimasukkan ke dalam *Thermocycler* dengan siklus yang dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 1.** Komposisi Reaksi PCR

Komposisi	Konsentrasi Stok	Konsentrasi Larutan	Volume(Reaksi 50µL)
PCr Mix			25 µL
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1 mM	2 µL
Primer	10 µM	0,6 µM	3 µL
FishF2			
Primer	10 µM	0,6 µM	3 µL
FishR2			
ddH <sub>2</sub> O			11µL
DNA			6 µL
template			
Jumlah			50 µL

**Tabel 2.** Pengaturan Siklus pada Amplifikasi PCR

No.	Rekasi	Suhu	aktu Siklus	
1.	Pro-denaturation	95°C	5 menit	1
2.	Denaturation	94°C	35 detik	
3.	Annealing	50°C	30 detik	35
4.	Extension	72°C	30 detik	
5.	Post-Extension	72 °C	7 menit	1
6.	Hold	4°C		∞

#### 2.4.5 Elektroforesis

Agar yang digunakan adalah gel agarosa 1%. Gel agarose dibuat dengan cara menimbang sebanyak 0,2 gram, kemudian dilarutkan dengan 20 ml buffer TAE 1x. Campuran larutan tersebut dipanaskan menggunakan *microwave* hingga larutan menjadi bening. Larutan didiamkan pada suhu ruangan kemudian ditambahkan *FloroSafe* 2 µL untuk staining pada *chamber* volume 40 ml. Gel dicetak pada *tray elektroforesis* yang sudah dipasang sisir untuk membentuk sumuran dan dibiarkan hingga memadat. Sisir diangkat dari gel yang telah memadat. Gel kemudian dimasukkan ke dalam tangki *elektroforator* yang berisi TAE 1x. Pada sumuran pertama dimasukkan *Ladder* DNA yang berfungsi sebagai marker. Setelah itu sumuran diisi dengan sampel DNA yang telah diamplifikasi sebanyak 2 µL. Selanjutnya tangki elektroforator ditutup dan mesin elektroforesis dinyalakan dengan

tegangan 50 volt selama 17-20 menit. Setelah itu gel diangkat dari tangki elektroforator dan diamati dengan UV transluminator dan gel documentation system untuk melihat pita-pita DNA.

Hasil yang diperoleh kemudian didokumentasikan. Sampel hasil amplifikasi kemudian dikirimkan ke layanan jasa First Base Sdn Bhd. (Malaysia) melalui P.T. Genetika Science (Jakarta) untuk dilakukan sekuensing. Proses sekuensing dilakukan dengan menggunakan metode Sanger. Metode Sanger yaitu suatu metode sekuensing DNA dengan prinsip penggunaan *dideoxynucleotide triphosphates* (ddNTPs) sebagai label basa terminator. Data DNA hasil sekuensing CO1 ikan kerapu dalam bentuk kromatogram divisualisasikan menggunakan FinchTV untuk mengetahui kualitas sekuensing.

## 2.5 Analisis Data

Data hasil pengukuran melalui pendekatan *Truss morphometric* dihasilkan oleh Paleontological Statistics (PAST) yang ditransformasikan berdasarkan rumus Ihsen et al. (1981) dan Hurlbut dan Clay (1998) dalam Marini et al. (2017). Data kemudian ditransformasikan untuk menghilangkan pengaruh ukuran (Lal et al., 2015). Selanjutnya analisis *Truss morphometric* menggunakan SPSS versi 29. Sedangkan untuk analisis urutan nukleotida gen COI disesuaikan dengan database atau library yang tersimpan dalam genbank yaitu *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) melalui program BLAST, untuk mendapatkan persentase kesamaan dengan data base. Sisi homolog urutan nukleotida gen COI DNA mitokondria dari spesies yang diperoleh dan hasil penelusuran melalui program BLAST selanjutnya disejajarkan (*multiple alignment*) dengan menggunakan Clustal. Identifikasi spesimen dilakukan melalui konstruksi pohon filogenik kekerabatan dan persentase indeks kesamaan. Analisis penanda genetik, keragaman genetik, jarak genetik dari urutan nukleotida gen parsial COI DNA mitokondria dilakukan menggunakan program MEGA versi 5 (Tamura et al., 2011).