**KAJIAN IDENTIFIKASI DAN HUBUNGAN KEKERABATAN IKAN HIU TIKUS (*Alopias pelagicu*s; Nakamura 1935) DI PERAIRAN ACEH BARAT MELALUI PENDEKATAN GENETIK MOLEKULER**

**SKRIPSI**

**CUT DEWI RATNA**

**NIM:180590404009**



**JURUSAN ILMU KELAUTAN**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS TEUKU UMAR**

**MEULABOH**

**2022KAJIAN IDENTIFIKASI DAN HUBUNGAN KEKERABATAN IKAN HIU TIKUS (*Alopias pelagicu*s; Nakamura 1935) DI PERAIRAN ACEH BARAT MELALUI PENDEKATAN GENETIK MOLEKULER**

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana**

**Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

 **Universitas Teuku Umar**

**CUT DEWI RATNA**

**NIM : 1805904040009**



**JURUSAN ILMU KELAUTAN**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS TEUKU UMAR**

**MEULABOH**

**2022**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**Dengan ini kami menyatakan bahwa kami telah mengesahkan skripsi saudara:**

NAMA : CUT DEWI RATNA

NIM : 1805904040009

JUDUL : Kajian Identifikasi dan Hubungan Kekerabatan Ikan Hiu Tikus (*Alopias pelagicu*s; Nakamura 1935) di Perairan Aceh Barat melalui Pendekatan Genetik Molekuler.

**Yang diajukan memenuhi sebagai dari syarat-syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Ilmu Kelautan Pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Teuku Umar.**

Mengesahkan

Komisi Pembimbing

**Samsul Bahri, S.Kel., M.Si**

NIP. 19900201 201903 1 018

Mengetahui

|  |  |
| --- | --- |
| Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**Prof. Dr. M. Ali Sarong, M.Si**NIP. 19590325 198603 1 003 | Ketua Jurusan Ilmu Kelautan**Mohamad Gazali, S.Pi., M.Si**NIP. 19851205 201903 1 008 |

#

# LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul:

**KAJIAN IDENTIFIKASI DAN HUBUNGAN KEKERABATAN IKAN HIU TIKUS (*Alopias pelagicu*s; Nakamura 1935) DI PERAIRAN ACEH BARAT MELALUI PENDEKATAN GENETIK MOLEKULER**

Disusun oleh :

Nama : CUT DEWI RATNA

NIM : 1805904040009

Program Studi : Ilmu Kelautan

Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

**Telah dipertahankan di depan dewan penguji pada tanggal 28 Juni 2022 dan dinyatakan lulus dan memenuhi syarat untuk diterima.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **SUSUNAN DEWAN PENGUJI** | **Tanda Tangan** |
| 1 | Samsul Bahri, S.Kel., M.Si(Dosen Penguji I) | **………………….** |
| 2 | Burhanis, S.Pi., M.Si(Dosen Penguji II) | **………………….** |
| 3 | Asri Mursawal, S. Kel., M. Si(Dosen Penguji III)  | **………………….** |

Mengetahui

Ketua Jurusan Ilmu Kelautan

**Mohamad Gazali, S.Pi., M.Si**

NIP. 19851205 201903 1 008

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : CUT DEWI RATNA

NIM : 1805904040009

Jurusan : Ilmu Kelautan

Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Judul Skripsi : Kajian Identifikasi dan Hubungan Kekerabatan Ikan Hiu Tikus (*Alopias pelagicu*s; Nakamura 1935) di Perairan Aceh Barat melalui Pendekatan Genetik Molekuler.

Dengan ini menyatakan sesungguhnya bahwa di dalam skripsi adalah hasil karya saya sendiri dan tidak terdapat bagian atau satu kesatuan yang utuh dari skripsi, buku atau bentuk lain yang saya kutip dari orang lain tanpa saya sebutkan sumbernya yang dapat dipandang sebagai tindakan penjiplakan. Sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat reproduksi karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain yang dijadikan seolah-olah karya asli saya sendiri. Apabila ternyata dalam skripsi saya terdapat bagian-bagian yang memenuhi unsur penjiplakan, maka saya menyatakan kesediaan untuk dibatalkan sebahagian atau seluruh hak gelar kesarjanaan saya.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Meulaboh, 15 Juli 2022

Cut Dewi Ratna

NIM. 1805904040009

**RIWAYAT HIDUP**

**Cut Dewi Ratna**, dilahirkan di Desa Alue Peudeung pada tanggal 26 Juni 2000 di Kecamatan Kaway XVI Kabupaten Aceh Barat Provinsi Aceh. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Nyak Amin dan Nur Habibah. Pendidikan penulis dimulai dari SDN Alue Peudeung di yang diselesaikan pada tahun 2012, kemudian penulis melanjutkan pendidikan sekolah di SMP Negeri 2 Kaway XVI dan menyelesaikannya pada tahun 2015. Pada tahun 2018 penulis menyelesaikan pendidikan di SMA Negeri 1 Kaway XVI, Kabupaten Aceh Barat, Provinsi Aceh. Sejak tahun 2018 penulis tercatat sebagai mahasiswa di Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Teuku Umar, lulus dengan mengikuti seleksi melalui jalur SNMPTN. Pada tahun 2020 penulis melakukan Kuliah Kerja Praktek (KKP) di *Wildlife Conservation Society* (WCS) dan melanjutkan Kuliah Kerja Nyata (KKN) tepatnya di Aceh Selatan pada tahun 2021. Selama penulis menjadi mahasiswa ada berbagai kegiatan yang diikuti baik formal maupun non formal. Untuk memperoleh gelar sarjana Ilmu Kelautan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan di Universitas Teuku Umar penulis melakukan penelitian dengan judul “Kajian Identifikasi dan Hubungan Kekerabatan Ikan Hiu Tikus (*Alopias Pelagicu*s; Nakamura 1935) di Perairan Aceh Barat melalui Pendekatan Genetik Molekuler” Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana.

**KAJIAN IDENTIFIKASI DAN HUBUNGAN KEKERABATAN IKAN HIU TIKUS (*Alopias pelagicu*s; Nakamura 1935) DI PERAIRAN ACEH BARAT MELALUI PENDEKATAN GENETIK MOLEKULER**

Cut Dewi Ratna1, Samsul Bahri2

1 Mahasiswa Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Meulaboh

2Dosen Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Meulaboh

**ABSTRAK**

Hiu merupakan ikan yang memiliki kerangka tulang rawan dari subkelas *Elasmobranchii*, yang salah satunya yaitu hiu *Alopias pelagicus*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis *A. pelagicus* melalui identifikasi pendekatan genetik molekuler dan menganalisis hubungan kekerabatan genetik *A. pelagicus* menggunakan rekonstruksi pohon filogenetik. Penelitian ini dilakukan pada bulan September-Desember 2021 dan pengambilan sampel dilakukan di Pangkalan Pendaratan Ikan Ujong Baroh, Aceh Barat, yang diambil sebanyak 2 individu. Analisis DNA molekuler dilakukan di Laboratorium Genetik dan Biodiversitas Akuatik, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala. Analisis yang dilakukan yaitu ekstraksi DNA yang dilakukan dengan metode protokol modifikasi CTAB (*Cetyltrimethylammonium Bromide*) dengan beberapa tahapan yaitu lisis, pengikatan DNA (*binding*), pencucian DNA (*washing*) dan *elution*. Amplifikasi DNA dilakukan dengan metode PCR(*Polymerase Chain Reaction*) dan elektroforesis dilakukan dengan menggunakan gel agarosa 2%. Hasil analisis BLAST hiu *A. pelagicus* Meulaboh menunjukkan bahwa spesies tersebut merupakan *A. pelagicus*. *A. pelagicus* Meulaboh1 memiliki nilai *query cover* yaitu 95% - 98% dan *Per Ident* 95.52% - 96.18%. *A. pelagicus* Meulaboh2 memiliki nilai *query cover* yaitu 93% - 95% dan *Per Ident* 99.25% - 99.54%. Komposisi nilai nukleotida paling banyak ditemukan pada basa T (Timin) yaitu 32,7% dan paling rendah ditemukan pada G (Guanin) yaitu 15,8%. Rekonstruksi dari pohon filogenetik menunjukkan tiga *clade*, dimana *A. pelagicus* Meulaboh1 membentuk *clade* sendiri pada *clade* ketiga yang menunjukkan bahwa memiliki kekerabatan yang jauh dengan dan *A. pelagicus* lainnya. *A. pelagicus* Meulaboh2 terdapat pada *clade* kedua dimana memiliki kedekatan dengan *A. pelagicus* dari Indonesia, India, Arab, dan Australia. Jarak genetik intra populasi *A. pelagicus* sesama Meulaboh yaitu 0,032 dan jarak genetik antar populasi yang paling tinggi yaitu dari populasi *A. pelagicus* Meulaboh dan *A. pelagicus* Amerika Selatan dengan nilai 0,025 dan yang paling rendah ya yaitu dengan nilai 0.000 dari populasi *A. pelagicus* arab, Bali dan Australia.

**Kata Kunci**: Aceh Barat *, Alopias pelagicus*, Filogenetik, Identifikasi Molekuler

**STUDY OF IDENTIFICATION AND RELATIONSHIP OF PELAGIC THRESHER (*Alopias pelagicus*; Nakamura 1935) IN WEST ACEH WATERS THROUGH A MOLECULAR GENETIC APPROACH**

Cut Dewi Ratna1, Samsul Bahri2

*1 Student of Marine science Deparment, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Teuku Umar University, Meulaboh*

*2Lecturer of the Deparment Marine science,Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Teuku Umar University, Meulaboh*

***ABSTRACT***

*Sharks are fish that have cartilage skeletons in the subclass Elasmobranchii, one of them is the shark Alopias pelagicus. The study aims to analize A. pelagicus through the identification of the molecular genetic approach and analize A. pelagicus genetic kinship using the reconstruction of the* *phylogenetic tree. The study was conducted in September to December 2021 and sampling carried out at the Ujong Baroh fish landing base, West Aceh, taken as many as 2 individuals. Molecular DNA analize was carried out at the Genetic and Aquatic Biodiversity Laboratory, Faculty of marine science and fisheries, University of Syiah Kuala. Analize of extraction of DNA is done using modified methods of protocol CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide) with several stages namely lysis, binder of DNA (binding), wash DNA (washing) and elution. DNA amplification was carried out using the method PCR (polymerase chain reaction) and electrophoresis using 2% gel agarosa. The result of BLAST analize the A. pelagicus meulaboh suggests that the species is A. pelagicus. A. pelagicus Meulaboh1 has a cover query of 95% - 98% and per ident 95.52% - 96.18%. A. pelagicus Meulaboh2 has a cover query of 93% - 95% and per ident 99.25% - 99.54%. The nucleotide value composition is found most in bases T (Thymine) that is 32.7% and lower found on the G (Guanin) of 15.8%. Reconstruction of the phylogenetic tree showing three clade, where A. pelagicus Meulaboh1 forms its own clade in the third that it has distant kinship with another A. pelagicus. A. pelagicus Meulaboh2 is found on the second clade which is kinship to A. pelagicus from Indonesia, India, Arabia, and Australia. The genetic distance intra the population of A. pelagicus to fellow meulaboh is 0.032 and the genetic distance between the highest populations of A. pelagicus Meulaboh and A. pelagicus of South America with 0.025 and the lowest 0.000 being that of the Arab, Bali and Australia A. pelagicus.*

***Keyword*** *: Aceh Barat, Alopias pelagicus, Phylogenetic, Molecular Identification*

# KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan baik. Shalawat beriring salam penulis sanjung sajikan kepada baginda Rasulullah SAW yang telah membawa umat manusia dari zaman kebodohan ke zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan. Sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Kajian Identifikasi dan Hubungan Kekerabatan Ikan Hiu Tikus (*Alopias pelagicu*s; Nakamura 1935) di Perairan Aceh Barat melalui Pendekatan Genetik Molekuler**”. Dengan baik dan lancar sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana (S1) Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Teuku Umar.

Penyelesaian skripsi ini penulis menyadari bahwa tidak terlepas dari berbagai kesulitan yang dialami. Tetapi berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, maka kesulitan yang dialami penulis dapat diatasi. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan banyak bantuan dan dukungan baik secara moril maupun materil kepada:

1. Kedua orang tua saya, ayahanda Nyak Amin dan Ibu tercinta Nur Habibah yang selama ini membimbing dan mendoakan serta memberikan dukungan selama masa studi, sehingga penulisan dapat menyelesaikan skripsi dengan baik dan lancar.
2. Bapak Samsul Bahri, S.Kel., M.Si selaku dosen Pembimbing yang telah memberikan waktunya dalam memberikan arahan dan koreksi serta bimbingannya dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak Burhanis, S.Pi., M.Si selaku Penguji I yang telah memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi.
4. Bapak Asri Mursawal, S.Kel, M.Si selaku Penguji II yang telah memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi.
5. Bapak Mohamad Gazali, S.Pi., M.Si selaku ketua jurusan Ilmu Kelautan dan sekaligus dosen Pembimbing Akademik yang sudah sangat banyak memberikan arahan kepada penulis.
6. Bapak Romi Ardiansyah, S.Pi dan Bapak Muhammad Azis sebagai enumerator *Wildlife Conservation Society* (WCS), tim penelitian Hiu Pari serta tim Laboratorium Genetik dan Biodiversitas Akuatik yang telah banyak membantu dalam penelitian dan memberikan masukan serta dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi perbaikan dan kesempurnaan karya tulis ini. Oleh karena itu penulis berharap skripsi ini bermanfaat dan memberikan informasi bagi semua pihak.

Meulaboh, 15 Juli 2022

Cut Dewi Ratna

# DAFTAR ISI

[KATA PENGANTAR i](#_Toc106615200)

[DAFTAR ISI iii](#_Toc106615201)

[DAFTAR TABEL v](#_Toc106615202)

[DAFTAR GAMBAR vi](#_Toc106615203)

[BAB I PENDAHULUAN](#_Toc106615204)

[1.1. Latar Belakang 1](#_Toc106615205)

[1.2. Rumusan Masalah 2](#_Toc106615206)

[1.3. Tujuan 3](#_Toc106615207)

[1.4. Manfaat 3](#_Toc106615208)

[BAB II TINJAUAN PUSTAKA](#_Toc106615209)

[2.1. Klasifikasi dan Morfologi *A. pelagicus* 4](#_Toc106615210)

[2.2. Habitat dan Sebaran 5](#_Toc106615211)

[2.3. DNA Mitokondria 6](#_Toc106615212)

[2.4. Pohon Kekerabatan (Filogenetik) 7](#_Toc106615213)

[2.5 Status Perdagangan 8](#_Toc106615214)

[BAB III METODELOGI PENELITIAN](#_Toc106615215)

[3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian 9](#_Toc106615216)

[3.2. Alat dan Bahan 9](#_Toc106615217)

[3.3. Bagan Alir Penelitian 11](#_Toc106615218)

[3.4. Metode Pengumpulan Data 11](#_Toc106615219)

[3.4.1. Pengambilan sampel 12](#_Toc106615220)

[3.4.2. Preservasi Sampel 12](#_Toc106615221)

[3.4.3. Ekstraksi DNA 12](#_Toc106615222)

[3.4.4. Amplifikasi DNA 14](#_Toc106615223)

[3.4.5 Elektroforesis 15](#_Toc106615224)

[3.4.6. Translasi DNA 16](#_Toc106615225)

[3.5 Analisis Data 16](#_Toc106615226)

[3.5.1 Analisis BLAST 16](#_Toc106615227)

[3.5.2 Analisis MEGA 17](#_Toc106615228)

[BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN](#_Toc106615229)

[4.1 Identifikasi Ikan Hiu *A. pelagicus* 18](#_Toc106615230)

[4.1.1 Identifikasi Ikan Hiu *A. pelagicus* Melalui BLAST 18](#_Toc106615231)

[4.1.2 Komposisi Nukleotida 22](#_Toc106615232)

[4.2. Hubungan Kekerabatan 23](#_Toc106615233)

[4.2.1. Analisis Pohon Filogenetik 23](#_Toc106615234)

[4.2.2. Jarak Genetik Intra Populasi dan Antar Populasi 26](#_Toc106615235)

[BAB V KESIMPULAN DAN SARAN](#_Toc106615236)

[5.1. Kesimpulan 30](#_Toc106615237)

[5.2. Saran 30](#_Toc106615238)

[DAFTAR PUSTAKA](#_Toc106615239)

[LAMPIRAN](#_Toc106615240)

# DAFTAR TABEL

|  |  |
| --- | --- |
| Tabel  | Halaman  |

[1. Alat dan Kegunaan 10](#_Toc106616472)

[2. Bahan dan Kegunaan 10](#_Toc106616473)

[3. Primer Fish F2 dan Fish R2 15](#_Toc106616474)

[4. Hasil analisis identifikasi sekuen *A. pelagicus* Meulaboh1 19](#_Toc106616475)

[5. Hasil analisis identifikasi sekuen *A. pelagicus* Meulaboh2 20](#_Toc106616476)

[6. Komposisi nukleotida *A. pelagicus* 22](#_Toc106616477)

[7. Jarak genetik antar populasi 27](#_Toc106616478)

[8. Jarak genetik intra populasi 28](#_Toc106616479)

# DAFTAR GAMBAR

|  |  |
| --- | --- |
| Gambar  | Halaman  |

1. Morfologi ikan *A. pelagicus* 4
2. Lokasi penelitian PPI Ujong Baroh Kecamatan Johan Pahlawan Kabupaten Aceh Barat 9
3. Bagan alir tahapan pelaksanaan 11
4. Visualisasi produk PCR dari hiu *Alopias pelagicus* menggunakan gel agarose 2.0% 18
5. Pohon Filogenetik menggunakan metode metode *Neighbor-Joining* (NJ) model kimura 2 parameter dengan 1000 replikasi *bootstrap* 24

# BAB I PENDAHULUAN

## Latar Belakang

Aceh Barat merupakan salah satu kabupaten di Provinsi Aceh yang memiliki panjang garis pantai sekitar 50,55 km dengan luas perairan laut sekitar 80,88 km2. Secara geografi Aceh Barat merupakan daerah yang berhubungan langsung dengan Samudera Hindia, Perairan Aceh Barat kaya akan sumberdaya ikan, dengan berbagai jenis ikan yang ditangkap oleh nelayan (Zuriat *et al.* 2019). Hasil tangkapan nelayan yang didapatkan di perairan Aceh Barat salah satunya yaitu jenis ikan hiu.

Hiu merupakan ikan yang memiliki kerangka tulang rawan dari subkelas *Elasmobranchii*. Hiu memiliki nilai ekonomis tinggi untuk siripnya di pasar nasional dan internasional. Permintaan pasar yang tinggi dan eksploitasi hiu yang terus berlanjut akan mengakibatkan penangkapan hiu di Alam semakin meningkat sehingga menyebabkan penurunan populasi hiu (Aditya dan Al-Fatih 2016). Salah satu populasi hiu yang menurun yaitu hiu tikus (*Alopias pelagicus*; Nakamura 1935*)*, yang memiliki bentuk tubuh yang sedikit gemuk, mata dan gigi berukuran kecil,warna tubuh yang dominan berwarna putih abu-abu dan memiliki ekor panjang yang hampir setengah dari tubuhnya. Menurut *red list* IUCN (*International Union For Conservation Of Nature*) spesies *A. pelagicus* ini masuk ke dalam status konservasi terancam punah (*Endangered),* dalam CITES (*Convention On International Trade in Endangered*) spesies *A. pelagicus* termasuk ke dalam Appendix II.

Informasi data hiu *A. pelagicus* di Indonesia masih sangat terbatas (Faizah *et al.* 2016), karena sulitnya proses identifikasi morfologi, diakibatkan oleh pendaratan hiu *A. pelagicus* sering dalam bentuk potongan tubuh yang terpisah dari siripnya, sehingga menjadi kendala dalam proses identifikasi secara morfologi. Hal ini mengakibatkan berkurangnya pengawasan terhadap hal-hal yang mengatur tangkapan produksi (Aisyah dan Farhaby 2021). Pendekatan DNA molekuler mampu mengungkap perbedaan yang lebih tepat dalam membedakan hiu *A. pelagicus*. Teknik ini merupakan salah satu cara paling efektif dalam melakukan identifikasi (Hidayah 2020) dan mengetahui informasi tentang kekerabatan genetik (filogenetik) hiu *A. pelagicus*. Oleh karena itu penulis tertarik mengkaji tentang kajian filogenetik hiu *A. pelagicus* di perairan Aceh Barat melalui pendekatan genetik molekuler.

## Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang ada pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana menganalisis ikan hiu *A. pelagicus* melalui identifikasi genetik molekuler?
2. Bagaimanakah kekerabatan ikan hiu *A. pelagicus* berdasarkan pendekatan rekonstruksi pohon filogenetik?

## Tujuan

Berikut merupakan tujuan yang akan dicapai dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Menganalisis jenis ikan hiu *A. pelagicus* melalui identifikasi genetik molekuler.
2. Menganalisis hubungan kekerabatan genetik ikan hiu *A. pelagicus* menggunakan rekonstruksi pohon filogenetik.

## Manfaat

Adapun manfaat yang diharapkan dalam melakukan penelitian ini yaitu sebagai berikut:

* + - 1. Menambah data informasi mengenai identifikasi ikan *A. pelagicus* dengan metode pendekatan genetik molekuler.
			2. Dapat dijadikan sebagai landasan kebijakan perikanan bagi pemerintah dan masyarakat dalam penetapan kebijakan konservasi *A. pelagicus* untuk keberlangsungan hidup hiu yang berkelangsungan.

# BAB IITINJAUAN PUSTAKA

## Klasifikasi dan Morfologi *Alopias pelagicus*

*Alopias pelagicus* adalah salah satu spesies hiu dari family *Alopiidae* yang memiliki tubuh lebih kecil dibandingkan spesies *Alopias* lainnya. *A. pelagicus* mempunyai ciri morfologi yang umum yaitu memiliki ekor bagian atas hampir sepanjang ukuran tubuhnya, bentuk kepala melengkung di bagian antara mata serta terdapat lekukan yang dalam di bagian tengkuk, memiliki mata agak lebar dengan posisi ditengah-tengah bagian sisi kepala, pangkal sirip punggung pertama dekat dengan ujung belakang sirip dada dari pada dengan sirip perut, dan memiliki warna putih pada bagian perut tetapi tidak sampai ke dasar sirip dada. Warna sirip hiu *Alopias* cenderung lebih gelap dibandingkan dengan hiu dari Marga *Carcharhinus*, biasanya ditemukan berwarna kelabu gelap atau kehitaman (White *et al.* 2006). Panjang total maksimum adalah 461 cm untuk betina dan 378 untuk jantan sedangkan untuk hiu yang baru lahir antara 64-106 cm (Dharmadi *et al.* 2016).



 Gambar 1. Morfologi ikan *A. pelagicus*

Klasifikasi taksonomi ikan hiu tikus (*A. pelagicus* Nakamura 1935) yaitu sebagai berikut:

Kerajaan : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Chondrichthyes

Ordo : Lamniformes

Famili : Lamnidae

Genus : *Alopias*

Spesies : *A. pelagicus*

## Habitat dan Sebaran

Habitat *A. pelagicus* yaitu di daerah pesisir dengan kedalaman 200 meter merupakan habitat yang sangat penting dan memiliki tingkat ancaman tinggi. Daerah pesisir merupakan habitat bagi beberapa siklus bahkan seluruh kehidupan bagi beberapa hiu seperti tempat asuhan bagi jenis hiu (Heupel *et al.* 2007). Disisi lain wilayah pesisir dan perairan mendapat tekanan besar baik dari perikanan target maupun perikanan sampingan. Hiu *A. pelagicus* juga dapat ditemukan pada daerah pesisir hingga laut dalam serta di ekosistem terumbu karang (Ritter 2014).

*A. pelagicus* memiliki habitat sangat luas baik di perairan tropis maupun subtropis di Samudra Pasifik dan Hindia (Lesmana *et al*. 2018). Sedangkan di perairan Indonesia, *A. pelagicus* sering muncul di Perairan Aceh, Bali, hingga ke Nusa Tenggara Timur, Laut Arafura  dan Maluku. Hiu tikus paling banyak ditemukan di Perairan Utara Aceh dari jenis hiu lainnya yaitu sebanyak 202 individu dalam jangka waktu 3 bulan (Lesmana *et al.* 2018)

## DNA Mitokondria

Mitokondria adalah organel dari sel yang bertanggung jawab untuk reaksi dalam siklus asam trikarboksilat, pemindahan elektron dan metabolisme energi di dalam sel. Fungsi utama mitokondria adalah menghasilkan energi melalui proses fosforilasi oksidatif yang menghasilkan produk samping radikal oksigen yaitu *reactive oxygen species* (ROS) (Aripin 2019). Penanda yang banyak digunakan dalam penelitian genetik secara logika memiliki ukuran yang lebih kecil dari ukuran tubuh, dimana DNA mitokondria (mtDNA) merupakan materi genetik yang diturunkan secara maternal dan dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam identifikasi *A. pelagicus* (Madduppa *et al.* 2021)*.* Genom DNA mitokondria ini sering digunakan dalam mempelajari hubungan kekerabatan dan laju evolusi suatu spesies (Hamdani 2017). DNA mitokondria adalah alat fundamental dalam studi filogenetik, wilayah kontrol mtDNA berfungsi sebagai biomarker karena tingkat mutasinya yang tinggi, kurangnya rekombinasi, dan pewarisan ibu (Madduppa *et al*. 2021). DNA mitokondria (mtDNA) Barcoding banyak digunakan dalam identifikasi spesies yang berbeda (Madduppa *et al*. 2019), seperti hiu, penyu, pari, tuna dan lain sebagainya.

Identifikasi molekuler dari spesies ikan hiu berdasarkan pada potongan DNA pendek dan autentikasi berbasis biomolekuler menggunakan basa nukleotida atau *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) yaitu disebut DNA Barcode (Abdullah *et al*. 2020). DNA adalah asam nukleat yang menyimpan instruksi genetik pada organisme hidup yang berperan dalam pertumbuhan, perkembangan dan fungsi makhluk hidup. DNA berperan sebagai penyimpan jangka panjang yang dapat membentuk komponen sel lain seperti protein dan RNA. Gen yang digunakan sebagai pengkode protein untuk identifikasi spesies yaitu *gen Cytochrome c oxidase I* (COI) (Wehantouw *et al.* 2017). COI adalah sekuen gen pendek yang dipilih diantara banyaknya gen yang digunakan sebagai gen standar identifikasi khusus untuk spesies hewan berbasis DNA *Barcode*. Keuntungan menggunakan COI adalah untuk keragaman genetik yang memiliki sedikit mutasi dan memiliki keunggulan lebih akurat dan tidak memerlukan waktu yang lama dalam pengerjaanya (Muliani *et al.* 2020).

## Pohon Filogenetik

Filogenetik merupakan suatu metode yang digunakan dalam sistematika untuk memahami keanekaragaman makhluk hidup melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan (*phylogenetic relationship*) (Twindiko *et al.* 2013). Filogenetik adalah sistem klasifikasi yang didasarkan pada hubungan kekerabatan (evolusi) antara takson yang satu dengan yang lainnya. Salah satu pendekatan filogenetik melalui perancangan pohon filogenetik, tujuan dari penyusunan filogenetika adalah untuk merekontruksi dan mempelajari hubungan antar organisme serta menganalisis perbedaan yang terjadi dari nenek moyang kepada keturunannya.

Analisis filogenetik dari keluarga sekuen nukleotida atau urutan asam amino adalah analisis untuk menentukan bagaimana keluarga tersebut diturunkan selama proses evolusi. Hubungan evolusi diantara sekuen digambarkan dengan menempatkan sekuen sebagai cabang luar dari sebuah pohon. Cabang-cabang di bagian pohon mencerminkan hubungan dimana urutan yang berbeda saling berhubungan oleh dua urutan yang terletak sebagai tetangga diluar cabang dan terkait dalam cabang yang umum. Studi filogenetik bertujuan untuk rekonstruksi hubungan kekerabatan antara organisme (Aprilyanto dan Sembiring 2016).

## 2.5 Status Perdagangan

CITES *(Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora)* adalah kesepakatan yang dibuat dengan kesepakatan yang mengatur perdagangan internasional jenis-jenis tumbuhan dan satwa liar, baik yang diekspor maupun yang diimpor. Berdasarkan status perdagangannya CITES dibagi dalam tiga kelompok yaitu sebagai berikut:

1. Appendix I yaitu berisi spesies yang sudah langka dan berada dibawah tekanan perdagangan yang tinggi. Spesies ini dilarang untuk diekspor atau diimpor, tetapi boleh jika diekspor maupun diimpor jika untuk tujuan non-komersial (seperti penelitian) dengan pengaturan yang sangat ketat.
2. Appendiks II yaitu spesies yang saat ini tidak langka, tetapi akan mengalami kelangkaan jika perdagangannya tidak dikendalikan.
3. Appendix III yaitu spesies yang diminta oleh Negara tertentu untuk dikendalikan melalui CITES karena kondisi populasi di negara tersebut terancam (Samudera 2018).

# BAB IIIMETODELOGI PENELITIAN

## Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Oktober - Desember 2021, dengan lokasi penelitian di Pangkalan Pendaratan Ikan (PPI) Ujong Baroh ,Kabupaten Aceh Barat. Pengambilan sampel dilakukan di pagi hari yang dimulai dari jam 07:00 wib hingga jam 11:00 Wib. Analisis DNA molekuler dilakukan di Laboratorium Genetik dan Biodiversitas Akuatik, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala. Berikut adalah peta lokasi penelitian:



Gambar 2. Peta Lokasi Pelaksanaan Penelitian PPI Ujong Baroh

## Alat dan Bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 berikut ini:

Table 1. Alat dan Kegunaan

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Alat**  | **Kegunaan**  |
|  | Tube  | Wadah sampel |
| 2. | Gelas kimia | Wadah alat sterilisasi |
|  | Gelas ukur | Mengukur volume cairan |
|  | Cawan petri | Untuk menampung sampel pada saat proses pencacahan |
|  | Mikropipet | Memindahkan cairan/ reagen yang bervolume kecil dalam satuan microliter (µl) |
|  | Vortex | Menghomogenkan campuran reagen dan sampel |
|  | Centrifuge | Menghomogenkan campuran reagen dan sampel |
|  | Incubator | Tempat isolasi sampel ekstraksi  |
|  | Mesin PCR | Memanjangkan DNA |
|  | Alat elektroforesis | Memisahkan senyawa kimia dengan prinsip laju pergerakan molekul dalam aliran listrik  |
|  | Cryobox | Wadah koleksi sampel |
|  | Microwave | Pemanas gel agarosa |

Table 2. Bahan dan Kegunaan

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Bahan** | **Kegunaan** |
|  | Alkohol | Sebagai bahan pengawet sampel dan sterilisasi |
|  | Tris Acetate EDTA (TAE) (1x) Buffer | Larutan penyangga |
|  | Ethanol 96% | Menjaga keadaan sampel |
|  | ddH2O | Pelarut DNA |
|  | Ethanol (absolute EtOH) | Membuat DNA naik dan melayang-layang dipermukaan  |
|  | *Cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) | Mendegradasi dinding sel, denaturasi protein, memisahkan karbohidrat, merusak membrane dan melarutkan DNA |
|  | *Chloroform Isoamyl Alcohol* (CIA) | Mengekstrak dan mengendapkan komponen polisakarida di dalam buffer ekstraksi yang mengkontaminasi DNA |
|  | Bubuk gel agarosa | Matrik migrasi DNA |
|  | *Gel doc* | Memvisualisasi hasil elektroforesis |
|  | EtOH 70% | Mencuci endapan DNA dari larutan preservasi |
|  | NaCl 3 M | Mencuci endapan DNA dari larutan terkontaminasi |
|  | Master mix red 1000 reaction | Sebagai campuran larutan DNA taq, dNTP dan buffer dalam reaksi amplifikasi DNA target |
|  | Primer COI (F2 & R2) | Sebagai agen inisiasi dalam proses annealing |
|  | Gel Red | Pewarna pitaDNA |

## Bagan Alir Penelitian

Bagan alir penelitian ini dapat dilihat dari gambar dibawah yang meliputi beberapa tahapan berikut:

Pengambilan Sampel di Lapangan

Preservasi Sampel

Analisis Laboratorium

Ekstraksi DNA

Amplifikasi DNA

Elektroforesis

Translasi Sampel ke Kromatografi

Analisis Komputasi (*Mega Analysis Software*)

Hasil

Gambar 3. Bagan alir tahapan pelaksanaan

Figure

## Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian skripsi ini yaitu pengambilan sampel dilapangan dan analisis laboratorium. Tahapan kerja yang dilakukan yaitu sebagai berikut:

### Pengambilan sampel

Pengambilan sampel *A. pelagicus* dilakukan di PPI Ujong Baroh tepatnya di Kabupaten Aceh Barat. Pengambilan sampel di lapangan dilakukan dengan mengambil daging ikan *A. pelagicus* dari 2 individu. Setiap sampel diambil yaitu dari potongan daging bagian tubuh ikan (Aisyah dan Farhaby 2021). Selanjutnya dilakukan preservasi terhadap sampel.

### Preservasi Sampel

Preservasi merupakan proses yang dilakukan agar sampel lebih awet dan menghindari kontaminasi dari lapangan. Proses preservasi berlangsung dengan mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan yaitu gunting, pinset, cawan petri, busen etanol 96%, etanol 70%, kemudian alat-alat disterilkan. Pada tahap awal sampel dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu sampel dipotong menjadi beberapa bagian dan dibagi ke dalam 3 *tube* berukuran 1,5 ml yang sudah ditambah etanol 96% sebagai pengawet sampel, sampel dimasukkan ke 3 *tube* bertujuan untuk koleksi sampel yang akan dilanjutkan pada tahapan ekstraksi. Menurut (Bahri 2017) penggantian larutan etanol pada sampel dilakukan saat larutan terjadi perubahan warna, yang dapat disebabkan oleh faktor lingkungan. Kemudian analisis di Laboratorium yang dilakukan di Genetik dan Biodiversitas Akuatik Universitas Syiah Kuala.

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan proses pemisahan DNA dari komponen lain seperti protein, selulosa, karbohidrat dan lemak (Hutami *et al.* 2018). Proses ekstraksi DNA menggunakan protokol modifikasi CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) yang dapat memperoleh konsentrasi DNA tinggi dengan nilai DNA yang lebih murni dan baik (Ariyanti dan Sianturi, 2019). Menurut protokol modifikasi *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB) ada tiga langkah utama dalam pemisahan DNA yaitu:

1. Lisis

Lisis merupakan proses penghancuran membran sel untuk dapat mengeluarkan DNA (Mulyani *et al*. 2011). Pada tahapan lisis ini alat dan bahan yang disiapkan yaitu pinset, gunting, busen, gelas beaker, etanol 70%, etanol 96%, *tube* ekstraksi 1,5 mm, CTAB dan *proteinase K*. Setelah alat-alat disterilkan, kemudian potong sampel yang sudah dipreservasi sebesar 2 mm dan masukkan dalam tube yang sudah terlebih dahulu diberi kode (label), kemudian sampel dicincang hingga halus. Setelah itu sampel yang sudah dicincang halus ditambahkan 700 µl 2x buffer CTAB dan 3 µl *Proteinase K*, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 60oC selama 4 jam (sampai jaringan larut) yang berfungsi untuk melisiskan sampel.

1. Pengikatan DNA (*Binding*)

Binding yaitu pengikatan DNA dari materi-materi pengotor lainnya seperti protein, lemak, karbohidrat dan lainnya. Pada tahapan binding Sampel yang sudah lisis ditambahkan 700 µl larutan CIA lalu di kocok kuat-kuatdan di sentrifugasi 11.000 rpm selama 15 menit. Pisahkan 560 µl *supernatant* ke tube baru dan tambahkan 560 µl EtOH *absolute*. Sampel diinkubasi di dalam *freezer* selama 3 jam. Sampel disentrifugasi 13.000 rpm selama 15 menit. Buang *supernatan* dan tinggalkan peletnya.

1. Pencucian DNA (*Washing*)

*Washing* yaitu proses pencucian DNA atau proses pemurnian DNA dari pengotornya. Pada tahapan ini DNA ditambahkan 600 µl EtOH 70% dan 25 µl NaCl 3M. Disentrifugasi kembali dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 menit. Buang *supernatant* dan tinggalkan pelet kemudian diangin-anginkan selama 2 jam sampai peletnya benar-benar kering.

1. *Elution*

*Elution* adalah proses penambahan larutan ddH2O sebanyak 20-100 µl, yang bertujuan agar DNA tidak kering untuk dilanjutkan pada tahapan selanjutnya yaitu pada tahapan amplifikasi DNA.

### Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), yang merupakan suatu teknik perbanyakan (replikasi) DNA secara enzimatik (Aisyah *et al.* 2020). Teknik PCR menggunakan primer *forward* dan *reverse* dari gen *cytochrome Oxidase subunit I* (COI) untuk amplifikasi sampel produk ekstraksi (Sachithanandam *et al.* 2012). Proses PCR diatur dengan beberapa reaksi campuran 8,5 µl ddH2O, 12,5 µl *red master mix*, 1 µl primer COI *Fish F2R2* dan 2 µl template DNA.

Table 3. Primer Fish F2 dan Fish R2

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Primer** | **Sekuens** | **Referensi** |
| FISHF2 | 5’TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC 3’ | (Ward *et al.* 2005) |
| FISHR2 | 5’ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA 3’ | (Ward *et al.* 2005) |

Campuran sampel dan reagen di *microtube* dimasukkan ke dalam mesin *Sensoquest Labcycler*. PCR dilakukan dengan *pree-denaturation* pada 94oC selama 3 menit, *denaturation* pada 94oC selama 30 detik, *annealing* 51oC selama 30 detik, extention 72oC selama 1 menit dengan 35x siklus (Pavan-Kumar *et al*. 2015).

### Elektroforesis

Elektroforesis adalah metode pemisahan berdasarkan pergerakan molekul nukleotida bermuatan di dalam medan listrik (Pratiwi 2001), yang bertujuan untuk mengetahui kualitas DNA dari produk PCR. Sebelum melakukan proses elektroforesis maka harus membuat gel agarosa terlebih dahulu.

Pembuatan gel agarosa pertama menggunakan gel agarosa ditimbang seberat 1,2 gram, dan larutan TAE *buffer* sebanyak 60 ml, kemudian keduanya dimasukkan kedalam gelas beker dan panaskan dalam *microwave* selama 3 menit, lalu tambahkan *gel red* sebanyak 2 µl, diaduk rata lalu tuangkan perlahan kedalam cetakan agar dan masukkan sisir elektroforesis ke dalam agar untuk membuat sumur elektroforesis, kemudian tunggu agar selama 40 menit hingga gel agarosa mengeras.

Sampel hasil PCR disuntikkan kedalam sumur, lalu dilakukannya proses elektroforesis pada tegangan 100 Volt, 500 mA, selama 30 menit. Kemudian jika sudah selesai gel dimasukkan kedalam alat UV *transilluminator* untuk melihat hasil dari visualisasi pita DNA.

### Translasi DNA

Translasi DNA merupakan proses yang menerjemahkan nukleotida pada mRNA menjadi asam amino yang kemudian akan membentuk polipeptida atau protein (Darojat 2018). Urutan DNA berhubungan dengan informasi genetik turunan dalam nukleus (inti), plasmid, mitokondria, dan kloroplas yang membentuk dasar pengembangan semua makhluk hidup. Proses ini juga merupakan tahapan dimana DNA yang telah dianalisis laboratorium ditranslasikan ke dalam data visual dalam bentuk kromatogram. Produk PCR yang bagus dari hasil visualisasi elektroforesis akan di translasi DNA dengan mengirimkan ke *First Base* Laboratorium, Malaysia.

## Analisis Data

### Analisis BLAST

Hasil Translasi urutan basa nukleotida kemudian divalidasi dengan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (Muliani *et al.* 2020). Proses validasi ini dilakukan dengan cara mengunggah hasil dari sekuen *A. pelagicus* pada menu BLAST yang terdapat pada *National Center For Biotechnology Informasi* (NCBI). Data sekuen nukleotida yang digunakan untuk pembanding didownload dari *genbank* yang diambil dari 5 negara yang berbeda yaitu Arab, Australia, Indonesia, Amerika Selatan, dan India. Setiap Negara masing-masing diambil 3 sekuen kecuali yang berasal dari Indonesia yaitu diambil 5 sekuen.

### Analisis Filogenetik

Hasil sekuen yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *software* MEGA (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) 6.0 Software ini dapat digunakan untuk menghitung urutan basa nukleotida, menghitung jarak genetik, serta pembuatan pohon filogenetik (Tamura *et al.* 2013). Kemudian urutan nukleotida yang sudah diedit disejajarkan dengan menggunakan *Clustalw*. Analisis urutan basa nukleotida maupun protein dapat dilakukan dengan menyelaraskan urutan satu dengan sampel lain menggunakan *ClustalW* (Kumar *et al.* 2008).

Pembuatan pohon direkonstruksi berdasarkan jarak genetik antar spesies yang berfungsi untuk mengetahui hubungan kekerabatannya berdasarkan komposisi urutan sekuen nukleotida. Analisis filogenetik dilakukan dengan metode *Neighbor Joining* (NJ) dengan Kimura 2- Parameter Model dengan *bootstrap* 1000 kali uji (Gaffar 2021).

# BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

## Identifikasi Ikan Hiu *A. pelagicus*

### Identifikasi Ikan Hiu *A. pelagicus* Melalui BLAST

Uji elektroforesis pada hiu *A. pelagicus* yang menggunakan gel agarosa 2% yaitu dapat dilihat dari hasil elektroforesis pada gambar dibawah ini:

****

*Smear*

Pita DNA

Gambar 4. Visualisasi produk PCR dari hiu *A. pelagicus* menggunakan gel agarose 2.0%.

 Keterangan: (1) = Kode sampel Meulaboh 1, (2) = Kode sampel Meulaboh 2, (-) = Kontrol Negatif

Hasil visualisasi elektroforesis gel berhasil mengamplifikasi gen COI dengan menghasilkan pita DNA cukup terang yang menunjukkan kedua spesies tersebut memiliki kualitas DNA yang baik, serta visualisasi dari kontrol negatif menunjukkan tidak adanya pita DNA yang berarti bahwa sampel tidak terkontaminasi. Kualitas DNA yang bagus tergantung dari primer dan suhu yang digunakan. Suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan belum terbukanya utas DNA ganda sehingga tidak mungkin akan terjadinya proses penempelan primer. Proses penempelan primer yang terjadi pada utas DNA yang sudah terbuka diperlukan suhu optimum, karena suhu yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi dikarenakan primer tidak menempel ataupun sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya (Rangian *et al*. 2018).

Hasil sekuen nukleotida gen COI sampel *A. pelagicus* Meulaboh1 dengan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool-nucleotide*) dinyatakan bahwa *A.pelagicus* Meulaboh1 merupakan spesies *A.pelagicus* yang sama dengan hasil analisis BLAST. Berikut hasil analisis dari BLAST:

Table 4. Hasil analisis identifikasi sekuen *A. pelagicus* Meulaboh1

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Description*** | ***Scientific Name*** | ***Query Cover*** | ***Per.ident*** | ***Accession*** |
| *Alopias pelagicus mitochondrion, complete genome* | 1. *Pelagicus*
 | 97% | 95.79%  | KF020876.1 |
|  [*Alopias pelagicus mitochondrion, complete genome*](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_546351348) | 1. *Pelagicus*
 | 97% | 95.79% | [KF412639.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KF412639.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=2&RID=Y51PR8CE013) |
| *Alopias pelagicus isolate gvh1983 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial* | 1. *pelagicus*
 | 98% | 95.52% | KJ146026.1 |
|  [*Alopias pelagicus voucher NBFGR:CHN B61 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial*](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_304561416) | 1. *pelagicus*
 | 95% | 96.18% | [HM239672.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/HM239672.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=4&RID=Y51PR8CE013) |
|  [*Alopias pelagicus voucher AP6 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial*](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_2022787772) | 1. *pelagicus*
 | 95% | 96.17% | [MW881570.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW881570.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=5&RID=Y51PR8CE013) |

Hasil analisis BLAST diatas nilai *query cover* yang didapatkan yaitu 95% - 98% dan *Per Ident* 95.52% - 96.18%. Nilai dari *query cover* dan *Per ident* yang mendekati 100% menunjukkan bahwa persentase dari panjang sekuen nukleotida dan tingkat kecocokan sekuen nukleotida dengan *database*. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh (Triandiza dan Madduppa 2018) menjelaskan sekuen yang paling mirip dicirikan dengan nilai *query cover* dan *per ident* mendekati 100% pada setiap data base. Hal ini menyatakan bahwa spesies *A.pelagicus* Meulaboh1 merupakan spesies yang sama dengan *A. pelagicus*.

Hasil sekuen nukleotida gen COI kedua sampel *A. pelagicus* Meulaboh2 dinyatakan bahwa *A. pelagicus* Meulaboh2 merupakan spesies *A. pelagicus* yang sama dengan hasil analisis BLAST. Berikut hasil analisis dari BLAST:

Table 5. Hasil analisis identifikasi sekuen *A.pelagicus* Meulaboh2

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Description*** | ***Scientific Name*** | ***Query Cover*** | ***Per.ident*** | ***Accession*** |
| *Alopias pelagicus mitochondrion, complete genome* | 1. *pelagicus*
 | 95% | 99.25% | KF020876.1 |
|  [*Alopias pelagicus mitochondrion, complete genome*](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_546351348) | 1. *pelagicus*
 | 95% | 99.25% | [KF412639.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KF412639.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=2&RID=Y51PR8CE013) |
|  [*Alopias pelagicus voucher AP6 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial*](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_2022787772) | 1. *pelagicus*
 | 94% | 99.54% | [MW881570.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW881570.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=3&RID=Y54PNX66013) |
|  [*Alopias pelagicus voucher AP20 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial*](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_2022787750) | 1. *pelagicus*
 | 94% | 99.54% | [MW881559.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW881559.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=4&RID=Y54PNX66013) |
|  [*Alopias pelagicus voucher AP1 cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial cds; mitochondrial*](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_2022787780) | 1. *pelagicus*
 | 93% | 99.54% | [MW881574.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW881574.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=5&RID=Y54PNX66013) |

Berdasarkan hasil analisis BLAST diatas memiliki tingkat kemiripan yang dilihat bahwa nilai *query cover* yaitu 93% - 95%dan *Per ident* 99.25% - 99.54%. Hal ini menjelaskan bahwa persentase dari panjang sekuen dan tingkat kecocokan sekuen nukleotida dengan data base dari BLAST yang ditentukan oleh nilai *query cover* dan *Per ident* yang mendekati 100%. (Drancourt *et al.* 2000) menyatakan bahwa tingkat kemiripan yang berada pada nilai lebih dari 99% menunjukkan kecocokan antara perbandingan antar spesies, tingkat kemiripan lebih dari 97% menunjukkan kecocokan antar perbandingan antar genus dan tingkat kemiripan pada rentang 89 - 93% menunjukkan perbedaan kecocokan antar family. Menurut (Simbolon *et al.* 2021) dijelaskan bahwa semakin tinggi nilai *per ident* antar spesies menunjukkan kesamaan spesies yang semakin tinggi. Dapat disimpulkan bahwa *A. pelagicus* Meulaboh2 yaitu spesies yang sama dengan *A. pelagicus* dari hasil analisis BLAST.

### Komposisi Nukleotida

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh sekuen nukleotida pada gen COI sampel *A. pelagicus* Meulaboh1 dan *A. pelagicus* Meulaboh2 memiliki panjang sekuen 649 *base pair*. Hal ini sama seperti penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa Gen COI dari masing-masing sampel ikan hiu memperoleh panjang sekuen nukleotida 600 - 700 *base pair* (Hebert *et al*. 2003).

Analisis nukleotida ikan *A. pelagicus* pada penelitian ini dilakukan pada 2 individu dengan membandingkan *A. pelagicus* yang di *download* dari *database* *Genbank*, yang disajikan pada tabel berikut ini:

Table 6. Komposisi nukleotida *A. pelagicus*

|  |  |
| --- | --- |
| **Nama Spesies** | **Urutan Basa Nukleotida** |
|  | **T** | **C** | **A** | **G** |
| *Alopias pelagicus* Meulaboh1 | 33,6 | 23,7 | 26,7 | 16,0 |
| *Alopias pelagicus* Meulaboh2 | 32,5 | 23,6 | 28,0 | 15,9 |
| MH194476.1 *Alopias pelagicus* Amerika Selatan1 | 32,4 | 23,6 | 27,9 | 16,2 |
| MH194456.1 *Alopias pelagicus* Amerika Selatan2 | 32,4 | 23,6 | 27,9 | 16,2 |
| MH194433.1 *Alopias pelagicus* Amerika Selatan3 | 32,4 | 23,6 | 27,9 | 16,2 |
| KP193394.1 *Alopias pelagicus* Arab1 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| KP193429.1 *Alopias pelagicus* Arab2 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| KP193357.1 *Alopias pelagicus* Arab3 | 32,8 | 23,1 | 28,4 | 15,7 |
| EU398513.1 *Alopias pelagicus* Australia1 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| EU398516.1 *Alopias pelagicus* Australia2 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| EU398515.1 *Alopias pelagicus* Australia3 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| MW881574.1 *Alopias pelagicus* Indonesia1 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| MW881573.1 *Alopias pelagicus* Indonesia2 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| MW881571.1 *Alopias pelagicus* Indonesia3 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| MW881572.1 *Alopias pelagicus* Indonesia4 | 32,5 | 23,3 | 28,4 | 15,8 |
| MW881570.1 *Alopias pelagicus* Indonesia5 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| KF899546.1 *Alopias pelagicus* India1 | 32,8 | 23,1 | 28,4 | 15,7 |
| KF700943.1 *Alopias pelagicus* India2 | 32,7 | 24,2 | 28,1 | 15,0 |
| KF899547.1 *Alopias pelagicus* India3 | 32,7 | 23,3 | 28,4 | 15,7 |
| Nilai rata-rata | 32,7 | 23,4 | 28,2 | 15,8 |

Tabel diatas menunjukkan bahwa komposisi nukleotida memiliki nilai yang berbeda-beda. *A. pelagicus* Meulaboh1 memiliki nilai Timin (T) sebesar = 33,6%, Citosin (C) = 23,7%, Adenin (A) = 26,7%, dan Guanin (G) = 16,0%. Sedangkan pada *A. pelagicus* Meulaboh2 komposisi nukleotida yang didapatkan yaitu Timin (T) = 32,5%, Citosin (C) = 23,6%, Adenin (A) = 28,0%, dan Guanin (G) = 15,9%. Komposisi basa nukleotida yang paling dominan ditemukan yaitu pada basa Timin (T) dengan persentase 32,7% sedangkan basa yang paling sedikit banyak ditemukan yaitu basa Guanin (G) dengan persentase 15,8%.

Berdasarkan nilai dari komposisi sekuens nukleotida gen COI spesies *A. pelagicus* terdapat perbedaan, perbedaan komposisis sekuen nukleotida ini terjadi akibat mutasi gen. Perbedaan dari sekuen komposisi nukleotida dapat disebabkan oleh beberapa hal yang terutama yaitu mutasi gen (Roslim dan Oktavia 2015). Mutasi dapat terjadi akibat pada sekuen nukleotida yang mengalami transisi, tranversi, delesi, dan insersi. Penelitian (Tindi *et al.* 2017) sebelumnya menjelaskan bahwa mutasi gen merupakan basa nukleotida yang mengalami perubahan genetik berupa insersi, delesi dan transversi. Mutasi yang terjadi pada hiu *A. pelagicus* yaitu terdapat 42 situs sekuen nukleotida yang mengalami mutasi yaitu yang terdiri dari 1 situs nukleotida yang mengalami delesi, 1 situs nukleotida yang mengalami insersi, 19 situs nukleotida yang transisi, dan 20 situs nukleotida yang mengalami transversi.

## Hubungan Kekerabatan

### Analisis Pohon Filogenetik

Konstruksi pohon filogenetik antara sampel Meulaboh dan beberapa sampel yang diambil dari genbank yaitu berasal dari populasi Arab, populasi India, populasi Australia, populasi Indonesia, dan populasi dari Amerika Selatan, kemudian dianalisis menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) Kimura 2- Parameter Model. Untuk mengevaluasi kekokohan cabang pohon filogenetik 1000 replikasi *bootstrap* dengan menggunakan MEGA 6.0. Pohon filogenetik hiu *A. pelagicus* dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 5. Pohon Filogenetik menggunakan metode metode *Neighbor-Joining* (NJ) Kimura 2- Parameter Model dengan 1000 replikasi *bootstrap.*

Hasil analisis pohon filogenetik yang diperoleh tersebut menunjukkan bahwa membentuk tiga *clade*. Rekonstruksi pohon filogenetik menggambarkan bahwa panjang dari *clade* dapat menentukan jarak genetik dari spesies. Semakin panjang atau pendeknya cabang maka akan semakin dekat ataupun jauhnya dari jarak genetik tersebut (Zein dan Sulandari 2009). Kelompok organisme yang anggotanya memiliki banyak kesamaan karakter ataupun ciri yang dianggap memiliki hubungan yang sangat dekat dan diperkirakan diturunkan dari satu nenek moyang, dimana diasumsikan membawa sifat atau pola genetik dan biokimia yang sama (Hidayat dan Adi 2008).

*Clade* pertama merupakan populasi *A. pelagicus* berasal dari Amerika Selatan1, Amerika Selatan2, Amerika Selatan3, yang memperlihatkan bahwa ketiga spesies *A. pelagicus* dari daerah tersebut memiliki genetik yang sangat dekat dan memiliki kesamaan. Kesamaan genetik ini dapat disebabkan oleh faktor lingkungan, dimana Amerika Selatan terletak di bagian samudra pasifik dan memiliki lingkungan yang berbeda dengan samudera hindia. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa isolasi geografi semacam keadaan dari fisik lingkungan, gunung, laut, sungai, dan bukit mengakibatkan perbedaan dari suatu populasi dalam hubungan kekerabatan (Sari 2020).

*Clade* kedua pada pohon filogenetik terdapat populasi *A. pelagicus* dari Meulaboh2, *A. pelagicus* Arab1. *A. pelagicus* Arab2, *A. pelagicus* Arab3, *A. pelagicus* Indonesia1, *A. pelagicus* Indonesia2, *A. pelagicus* Indonesia3, *A. pelagicus* Indonesia4, *A. pelagicus* Indonesia5, *A. pelagicus* Australia1, *A. pelagicus* Australia2, *A. pelagicus* Australia3 dan *A. pelagicus* dari India1, *A. pelagicus* dari India2, *A. pelagicus* dari India3. Dari kelima populasi ini juga menunjukkan adanya kekerabatan antar populasi, adapun kelima populasi ini berada di wilayah perairan yang saling berhubungan yaitu wilayah yang berada di samudera hindia yang dapat menyebabkan terjadinya migrasi antar populasi. (Damayanti *et al*. 2019) menjelaskan bahwa wilayah perairan Samudera hindia merupakan perairan jalur migrasi hiu di dunia yang melintasi Indonesia.

*Clade* 3 yaitu *A. pelagicus* Meulaboh1, dimana memiliki kekerabatan genetik yang jauh dengan spesies *A. pelagicus* dari daerah lain. (Subari *et al*. 2021) mengatakan bahwa kekerabatan yang jauh yaitu memiliki *clade* yang terpisah dengan *clade* spesies lain dan membentuk kelompok sendiri. Kekerabatan *A. pelagicus* Meulaboh1 dengan yang lain dipengaruhi oleh nilai komposisi nukleotida. Komposisi nukleotida dari *A. pelagicus* Meulaboh1 memiliki perbedaan dengan spesies *A. pelagicus* lainnya dapat disebabkan oleh variasi genetik serta mempengaruhi pada mutasi gen. Mutasi gen yang terjadi pada *A. pelagicus* Meulaboh1 yaitu terdiri dari 1 delesi, 1 insersi, 10 transisi, dan 16 transversi. Delesi terjadi pada sekuen nukleotida ke 1, 2 dan 3, sekuen nukleotida yang mengalami insersi yaitu sekuen ke 35,36, dan 37, mutasi yang terjadi dari transisi yaitu pada sekuen ke 11, 57, 92, 101, 128,185, 191, 224, 233, dan 414. Situs nukleotida yang terjadi dari transversi yaitu pada 4, 8, 9, 17, 18, 20, 305, 362, 372, 410, 476, 512, 524, 566, dan 602. Menurut (Kartika *et al*. 2017) perubahan sekuen nukleotida yaitu adanya variasi genetik yang terjadi dari mutasi genetik yang dapat menyebabkan terjadinya evolusi.

Berdasarkan rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa nilai *bootstrap* yang didapatkan yaitu berkisar 8%-99% yang berarti nilai *bootstrap* dari *clade* pada pohon filogenetik memiliki nilai yang lemah hingga tinggi. *Clade* yang menunjukkannilai *bootstrap* lemah dan sangat lemah yaitu 6%-63%. Sedangkan nilai *bootstrap* yang tinggi yaitu 98%-99% (Azrianingsih *et al.* 2018). Suatu *clade* yang dapat dipercaya dengan nilai *bootstrap* 90% dan tidak dapat dipercaya dengan nilai *bootstrap* 25% ( Hall 2001).

### Jarak Genetik Intra Populasi dan Antar Populasi

Berdasarkan analisis Jarak genetik antar populasi pada *A. pelagicus* yang didapatkan dapat dilihat dari tabel berikut:

Table 7. Jarak genetik antar populasi

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Nama Spesies** | **Spesies**  |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1. | *Alopias\_Pelagicus*\_Meulaboh |  |  |  |  |  |  |
| 2. | *Alopias\_pelagicus*\_Amerika\_Selatan | 0,025 |  |  |  |  |  |
| 3. | *Alopias\_pelagicus*\_Arab | 0,016 | 0,008 |  |  |  |  |
| 4. | A*lopias\_pelagicus*\_Australia | 0,016 | 0,008 | 0,000 |  |  |  |
| 5. | *Alopias\_pelagicus*\_Bali | 0,016 | 0,008 | 0,000 | 0,000 |  |  |
| 6. | *Alopias\_pelagicus*\_India | 0,017 | 0,009 | 0,001 | 0,001 | 0,001 |  |

Jarak genetik dari ke enam populasi yaitu Meulaboh, Amerika Selatan, Arab, Australia, Bali, dan India memiliki nilai jarak genetik berkisar antara 0,000 – 0,025, adapun jarak genetik yang paling tinggi yaitu pada *A. pelagicus* Meulaboh dengan *A. pelagicus* Amerika Selatan dengan jarak 0,025. Nilai paling rendah yaitu pada *A. pelagicus* Arab dengan Australia, pada *A. pelagicus* Arab dengan *A. pelagicus* Bali dan *A. pelagicus* Australia dengan *A. pelagicus* Bali dengan jarak 0,000.

Hasil diatas menunjukkan kedekatan jarak genetik dari populasi *A. pelagicus* Meulaboh dan amerika selatan memiliki jarak genetik yang jauh. Menurut (Wigati *et al*. 2003) nilai jarak genetik dapat dipengaruhi oleh posisi geografi dengan pola adaptasi lingkungan. Populasi *A. pelagicus* Arab dengan Australia, pada *A. pelagicus* Arab dengan *A. pelagicus* Bali dan *A. pelagicus* Australia dengan *A. pelagicus* Bali memiliki kedekatan genetik yang cukup dekat. Hal ini mengidentifikasikan bahwa jarak genetik populasi memiliki jarak genetik yang cukup dekat dengan *A. pelagicus* daerah lain. Semakin besar jarak dari genetik per individu dalam suatu populasi, maka semakin beragam pula genetik antar anggota dalam suatu populasi. Semakin rendah nilai dari jarak genetik maka semakin dekat pula kekerabatannya (Dharmayanti 2011).

Berdasarkan analisis jarak genetik intra populasi pada *A. pelagicus* yang didapatkan dapat dilihat dari tabel berikut:

Table 8. Jarak genetik intra populasi

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Nama Spesies** | **Jarak** |
| 1. | *Alopias\_Pelagicus*\_Meulaboh | 0,032206081 |
| 2. | *Alopias\_pelagicus*\_Amerika\_Selatan | 0 |
| 3. | *Alopias\_pelagicus*\_Arab | 0 |
| 4. | *Alopias\_pelagicus*\_Australia | 0 |
| 5. | *Alopias\_pelagicus*\_Indonesia | 0 |
| 6. | *Alopias\_pelagicus*\_India | 0,001107421 |

Jarak genetik antara sampel Meulaboh dan sampel yang diambil dari *genbank* yang dihitung menggunakan model *P-distance*. Nilai analisis distance yang dihitung antara kelompok spesies *A. pelagicus* Meulaboh yaitu memiliki nilai 0,032. Jarak genetik yang daerah lain yang diambil dari *genbank* yaitu Amerika Selatan, Arab, Australia, Bali memiliki nilai jarak genetik 0, jarak genetik yang diperoleh daerah India yaitu memiliki nilai 0,001.

Hasil diatas menunjukan bahwa jarak *A. pelagicus* sesama Meulaboh memiliki jarak genetik yang jauh. Begitu pula dengan *A. pelagicus* India memiliki jarak genetik yang jauh, berbeda dengan *A. pelagicus* dari Amerika Selatan, Arab, Australia, dan Indonesia yang memiliki jarak genetik yang lebih dekat. (Nugroho dan Rahayu 2015) mengatakan bahwa semakin kecil nilai jarak genetik yang diperoleh, maka semakin dekat pula kekerabatannya dan demikian juga sebaliknya jika semakin besar jarak genetik yang diperoleh maka hubungan kekerabatannya semakin jauh. Jika nilai jarak genetik semakin kecil (mendekati 0) maka tingkat kekerabatannya semakin dekat dan semakin besar (mendekati 1) maka tingkat kekerabatannya semakin jauh (sukartini 2008).

# BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

##  Kesimpulan

Dari hasil pembahasan diatas dapat ditarik beberapa kesimpulan yaitu sebagai berikut:

1. Hasil analisis identifikasi dari BLAST pada *A. pelagicus* dengan menggunakan pendekatan genetik molekuler didapatkan bahwa spesies tersebut dinyatakan *A. pelagicus.*
2. Hasil analisis hubungan kekerabatan *A. pelagicus* berdasarkan pohon filogenetik menunjukkan bahwa populasi *A. pelagicus* Meulaboh1 memiliki kekerabatan yang jauh dengan dan *A. pelagicus* lainnya yaitu membentuk clade tersendiri. Populasi *A. pelagicus* Meulaboh2 memiliki kedekatan dengan populasi *A. pelagicus* dari Indonesia, India, Arab, dan Australia.

##  Saran

1. Dapat menerapkan kebijakan perikanan bagi pemerintah dan masyarakat dalam penetapan kebijakan konservasi *A. pelagicus* untuk keberlangsungan hidup yang berkelanjutan.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang *A. pelagicus* dengan berbagai lokasi dan meningkatkan lebih banyak sampel.

# DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, A., & Ratih, A. (2020). Autentikasi Produk Olahan Ikan Hiu Komersial menggunakan Teknik Species-Specific DNA Mini-barcodes. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, *23*(2), 383–391.

Aditya, Z. F., & Al-Fatih, S. (2016). Perlindungan hukum terhadap ikan hiu dan ikan pari untuk menjaga keseimbangan ekosistem laut Indonesia. *Legality: Jurnal Ilmiah Hukum*, *24*(2), 224–235.

Aisyah, S., & Farhaby, A. M. (2021). Identifikasi Molekuler Dan Status Konservasi Ikan Pari Hiu (Rhinidae) Yang Didaratkan Di Pulau Bangka. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, *5*(1), 61–69.

Aisyah, S., Hidawati, R., Supratman, O., & Syarif, A. F. (2020). Dna Barcoding dan Status Konservasi Ikan Hiu (Hemiscylliidae Dan Carcharhinidae) Yang Didaratkan di Ppn Sungailiat Bangka. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, *4*(3), 316–323.

Aprilyanto, V., dan Sembiring, L. (2016). *Filogenetik molekuler*. Yogyakarta: Innosain.

Aripin. (2019). *Identifikasi Keragaman Genetik D-Loop Dna Identifikasi Keragaman Genetik D-Loop Dna*.

Ariyanti, Y., dan Sianturi, S. (2019). Ekstraksi DNA total dari sumber jaringan hewan (Ikan Kerapu) menggunakan metode kit for animal tissue. *Journal of Science and Applicative Technology*, *3*(1), 40–45.

 Azrianingsih, R., Purwodadi, R., & Coding, B. (2018). *F*ilogenetik Jenis-jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Coding dan Non Coding. *Vol. 3 (Biodiv. Biotech),* 1–7. https://doi.org/10.22146/jtbb.28308.

Bahri, S. (2017). Struktur populasi dan keragaman genetik penyu lekang (Lepidochelys olivacea) dan kaitannya dengan sirkulasi arus di Indonesia. *Bogor Agricultural University (IPB).*

Damayanti, A. A., & Amir, S. (2019). Distribusi Ukuran Tangkap Hiu Tikus (Alopias pelagicus) yang Didaratkan di PPI Tanjung Luar-Nusa Tenggara Barat. *Prosiding Pusat Riset Perikanan*, *1*(1), 137–143.

Darojat, A. Z. (2018). Identifikasi Molekuler Ikan Gobi (Famili Gobiidae) di Sungai Karama Kabupaten Mamuju Sulawesi Barat Berdasarkan Gen COI Mitokondria. *Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*.

Dharmadi, D., Fahmi, F., & Triharyuni, S. (2016). Aspek Biologi dan Fluktuasi Hasil Tangkapan Cucut Tikusan,(Alopias Pelagicus) di Samudera Hindia. *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap*, *4*(3), 131–139.

Dharmayanti, N. (2011). Filogenetika molekuler: metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi. *Wartazoa*, *21*(1), 1–10.

Drancourt, M., & Bollet, C. (2000). 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, *38*(10), 3623–3630.

Faizah, R., Chodrijah, U., & Dharmadi, D. (2016). Aspek Biologi Reproduksi Ikan Cucut Kacangan (Hemitriakis Indroyonoi) Di Samudera Hindia. *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap*, *4*(3), 141–147.

Gaffar, S. (2021). Penentuan Jenis dan Status Konservasi Pari Layang-Layang yang Didaratkan Di TPI Gunung Lingkas Kota Tarakan Dengan Pendekatan Molekuler. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, *9*(1).

Hall, B.G. 2001. Phylogenetic Trees Made Easy: A How - To Manual for Molecular Biologists. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA.

Hamdani, H. (2017). Kajian Variasi Sekuens Genom Mitokondria Manusia dengan Metode Genom Mining. *Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta*. http://repositori.uin-alauddin.ac.id/11978/1/Annisa Zakiyah Darojat. pdf

Hebert, P. D. & N., Cywinska, A. (2003). Biological Identifications Through DNA Barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *270*(1512), 313–321.

Heupel, M. & R., Carlson, J. K. (2007). Shark Nursery Areas: Concepts, Definition, Characterization and Assumptions. *Marine Ecology Progress Series*, *337*, 287–297.

Hidayah, N. (2020). *Amplifikasi Gen Co1 Ikan Pari Yang Diperdagangkan Di Tpi Tasik Agung Rembang*

Hidayat, T. dan Adi P. 2008. Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen* 4(1): 35-40.

Hutami, R. & Bisyri, H. (2018). Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis dengan Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP). *Jurnal Agroindustri Halal*, *4*(2), 209–216.

Kartika, G. R. A., & Sartimbul, A. (2017). Varian Genetik Sardinella Lemuru di Perairan Selat Bali. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, *10*(1), 21–28.

Kumar, S. & Nei, M. (2008). MEGA: A Biologist-Centric Software For Evolutionary Analysis of DNA and Protein Sequences. *Briefings in Bioinformatics*, *9*(4), 299–306. https://doi.org/10.1093/bib/bbn017

Lesmana, F., Ulfah, M., dan Rizwan, R. (2018). Identifikasi Spesies Hiu yang Tertangkap di Perairan Utara Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan Perikanan Unsyiah*, *3*(1).

Madduppa, H. & Bahri, S. (2021). Population Genetic Structure of Olive Ridley (Lepidochelys Olivacea) Across Indonesian Archipelago Revealed by Mitochondrial DNA: Implication for Management. *Regional Studies in Marine Science*, *41*, 101600. https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101600

Madduppa, H. H. & Bahri, S. (2019). DNA Barcoding of Sea Turtles (Dermochelyidae and Cheloniidae) and its Protocol Using Different Tissues Quality: Implication to Conservation Managers. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *278*(1), 12041.

Muliani, D. R. & Yulianda, F. (2020). Characteristics of Crassostrea Oyster Cytochrome Oxidase Subunit I (Coi) Gene As Species Identity In Delta Cimanuk, West Java. *Jurnal Moluska Indonesia*, *4*(1), 8–16.

Mulyani, Y. & Purwanto, A. (2011). Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) Pada Ikan Mas (Cyprinus carpio L.). *Jurnal Akuatika*, *2*(1).

Nugroho, E. D., & Rahayu, D. A. (2015). Status Taksonomi Ikan Nomei dari Perairan Tarakan, Kalimantan Utara Berdasarkan Gen 16S rRNA Sebagai Upaya Konservasi Ikan Laut Lokal Indonesia. *Jurnal Harpodon Borneo*, *8*(2).

Pavan-Kumar, A. & Gireesh-Babu, P. (2015). DNA Barcoding Of Elasmobranchs From Indian Coast and Its Reliability In Delineating Geographically Widespread Specimens. *Mitochondrial DNA*, *26(1),* 92–100.

Pratiwi, R. (2001). Mengenal Metode Elektroforesis. *Oseana*, *26*(1), 25–31.

Rangian, L. & Ginting, E. L. (2018). Amplifikasi Isolat Bakteri SF1 Simbion Spons Facaplysynopsis sp. Dari Perairan Tongkakeina, Sulawesi Utara. *Jurnal. Ilmiah Platax. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Sam Ratulangi, Manado*, *6(2),* 77–82.

Ritter, E. K. (2014). Coasting Of Pelagic Thresher Sharks, Alopias pelagicus, In Comparison To Two Other Species Of The Same Ecomorphotype, and The Limitation Of Video Capturing In Natural Settings. *Environmental Sciences*, *2(1),* 13–23.

Roslim, D. I., & Oktavia, S. (2015). Analisis Sebagian Sekuen Dna Dari Gen Meisa1 Pada Ubi Kayu (Manihot Esculenta Crantz.) Genotipe Menggalo Dan Roti. *Dinamika Pertanian*, *30*(2), 109–116.

Sachithanandam, V. & Mohan, P. M. (2012). *DNA barcoding, phylogenetic study of Epinephelus spp. from Andaman coastal region, India*.

Samudera, shokimun M. (2018). Biodiversitas “IUCN ( International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources, Serikat Antarbangsa bagi Konservasi Alam ) and CITES ( Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora )” (pp. 1–44).

Sari, D. K. (2020). *Studi Filogenetik Ikan Lempuk (Gobiopterus sp.) di Ranu Grati, Pasuruan, Jawa Timur, Berdasarkan DNA Mitokondria Sekuens Barcoding Region Cytochrome Oxidase Subunit I*. Universitas Brawijaya.

Simbolon, A. R. & Putra, M. Y. (2021). Identifikasi Spesies Menggunakan DNA Barcoding dalam Menunjang Budidaya dan Konservasi Teripang di Perairan Lampung. *Jurnal Riset Akuakultur*, *16*(1), 31–37.

Subari, A. & Razak, A. (2021). Phylogenetic Analysis of Rasbora spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, *21*(1), 89–94.

Sukartini. (2008). Analisis Jarak Genetik dan Kekerabatan Aksesi-aksesi Pisang berdasarkan Primer Random Amplified Polymorphic DNA. *Jurnal Hort.* 18 (3): 261-266.

Tamura, K. & Stecher, G. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, *30*(12), 2725–2729.

Tindi, M., & Mamangkey, N. G. F. (2017). DNA Barcode dan Analisis Filogenetik Molekuler Beberapa Jenis Bivalvia Asal Perairan Sulawesi Utara Berdasarkan Gen COI. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, *5*(2), 32–38.

Triandiza, T., dan Madduppa, H. (2018). Aplikasi Analisa Morfologi dan DNA Barcoding Pada Penentuan Jenis Kepiting Porcelain (Pisidia sp.) Yang Berasal dari Pulau Tunda, Banten. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, *2*(2), 81–90.

Twindiko, A. F. & Wijayanti, D. P. (2013). Studi Filogenetik Ikan Karang Genus Pseudochromis Dan Pictichromis Di Perairan Indo-Pasifik. *Buletin Oseanografi Marina*, *2*(3), 29–37.

Ward, R. D. & Zemlak, T. S. (2005). DNA Barcoding Australia’s Fish Species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *360*(1462), 1847–1857.

Wehantouw, A. & Ginting, E. (2017). Identifikasi Sirip Ikan Hiu yang didapat dari Pengumpul di Minahasa Tenggara Menggunakan DNA Barcode. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, *5*(1), 62–68.

White, W. T. & Last, P. R. (2006). Economically Important Sharks and Rays Of Indonesia.

Wigati, E. & Sutarno, S. (2003). Genetic Variation of Anggoli Fish (Pristipomoides multidens) Based on Allozyme Patterns. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *4*(2).

Zein, M. S. A., & Sri Sulandari. (2009*).* Investigasi Asal Usul Ayam Indonesia Menggunakan Sekuens Hypervariable-1 D-loop DNA Mitokondria. *Jurnal Veteriner Maret*, *10*(1), 41–49.

Zuriat, Thahir, M. A. & Baskoro, M. S. (2019). Perbandingan Hasil Tangkapan Pada Rumpon Tali Rafia Dan Rumpon Tradisional Di Perairan Aceh Barat. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, *11*(2), 369–376. https://doi.org/10.29244/jitkt.v11i2.25031

# LAMPIRAN

|  |  |
| --- | --- |
| D:\FOTOKU\Lampiran skripsi\IMG-20210930-WA0026.jpg | D:\FOTOKU\Lampiran skripsi\IMG-20210930-WA0025.jpg |
| Proses Pengambilan Sampel Lapangan | Proses Pengambilan Sampel Lapangan |
| C:\Users\acer\Pictures\Screenshot_20220306-003053_Video Player.jpg | C:\Users\acer\Downloads\96d71212-42c4-47c8-8d23-842a13610715.jpg |
| Proses Preservasi Sampel | Proses Ekstraksi Sampel |
| C:\Users\acer\Downloads\WhatsApp Image 2022-03-14 at 20.25.48 (2).jpeg | D:\FOTOKU\Lampiran skripsi\20211227_160418.jpg |
| Proses PCR | Proses Elektroforesis |