

**APLIKASI DNA LINGKUNGAN (eDNA) DALAM MENGIDENTIFIKASI  
KERAGAMAN DAN KELIMPAHAN RELATIF IKAN TERUMBU  
DI PERAIRAN SELAT MULI DAN MUARA SUNGAI DIGUL,  
KABUPATEN MERAUKE**

**SKRIPSI**

Oleh :

**DICKY DWI RIZKY NUGROHO  
NIM. 165080600111021**



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN  
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN  
DAN KELAUTAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2021**



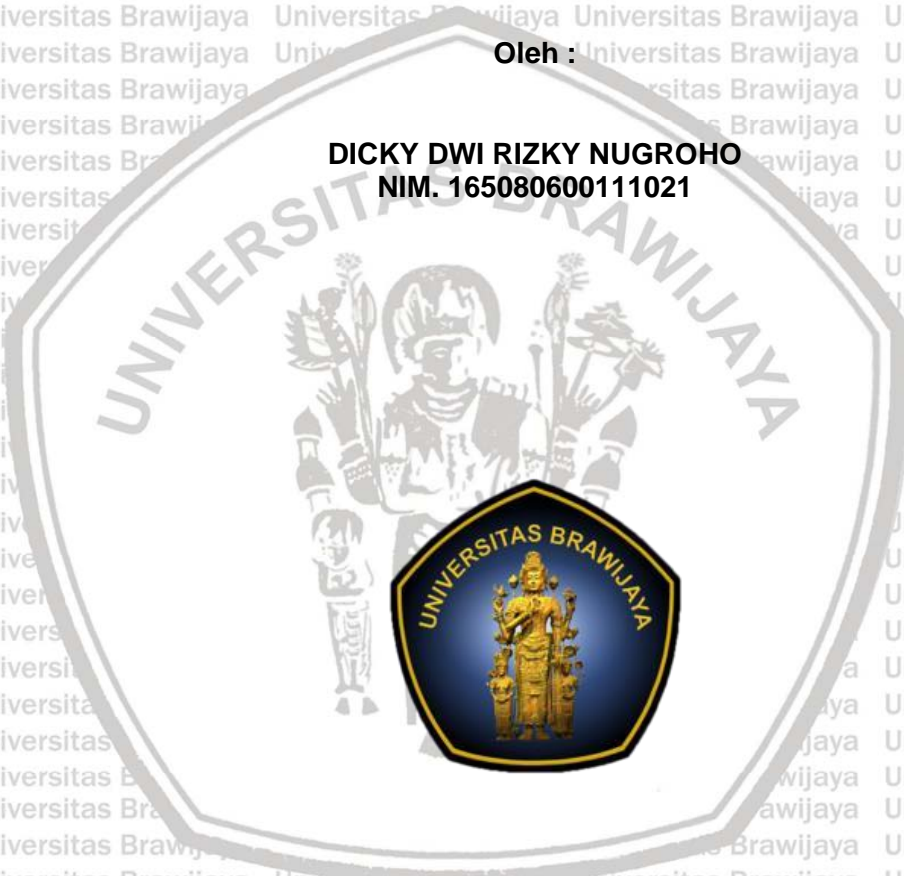
**APLIKASI DNA LINGKUNGAN (eDNA) DALAM MENGIDENTIFIKASI  
KERAGAMAN DAN KELIMPAHAN RELATIF IKAN TERUMBU  
DI PERAIRAN SELAT MULI DAN MUARA SUNGAI DIGUL,  
KABUPATEN MERAUKE**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Kelautan  
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**DICKY DWI RIZKY NUGROHO  
NIM. 165080600111021**



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN  
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN  
DAN KELAUTAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2021**



**SKRIPSI**

**APLIKASI DNA LINGKUNGAN (eDNA) DALAM MENGIDENTIFIKASI  
KERAGAMAN DAN KELIMPAHAN RELATIF IKAN TERUMBU DI PERAIRAN  
SELAT MULI DAN MUARA SUNGAI DIGUL, KABUPATEN MERAUKE**

Oleh:

**DICKY DWI RIZKY NUGROHO  
NIM. 165080600111035**

Telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 28 Mei 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Dosen Pembimbing 1**

**Oktiyas Muzakky Luthfi, ST., M.Sc.**  
**NIP. 197910312008011007**  
**Tanggal: 7/16/2021**

**Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 2**

**Dhira Khurniawan S., S.Kel., M.Sc**  
**NIK. 2012018601151001**  
**Tanggal: 7/18/2021**

**Mengetahui:  
Ketua Jurusan**

**Pemantauan Sumberdaya Perikanan dan Kelautan**



**Dr. Eng. Abu Bakar Sambah, S.Pi, MT**  
**NIP. 197807172005021004**  
**Tanggal : 7/18/2021**



## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dicky Dwi Rizky Nugroho

NIM : 165080600111021

Judul Skripsi : Aplikasi DNA Lingkungan (eDNA) Dalam Mengidentifikasi Keragaman dan Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu di Perairan Selat Muli dan Muara Sungai Digul, Kabupaten Merauke

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan skripsi ini berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri, baik untuk naskah, tabel, gambar maupun ilustrasi lainnya yang tercantum sebagai bagian dari Skripsi. Jika terdapat karya / pendapat / penelitian dari orang lain, maka saya telah mencantumkan sumber yang jelas dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Brawijaya, Malang.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa adanya paksaan dari pihak manapun.

Merauke, 10 Juni 2021

Dicky Dwi Rizky Nugroho  
NIM. 165080600111021



## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Aplikasi Dna Lingkungan (Edna) Dalam Mengidentifikasi Keragaman Dan Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu Di Perairan Selat Muli Dan Muara Sungai Digul, Kabupaten Merauke

Nama Mahasiswa : Dicky Dwi Rizky Nugroho

NIM : 165080600111021

Program Studi : Ilmu Kelautan

### PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing I : Oktiyas Muzakky Luthfi, ST., M.Sc

Pembimbing II : Dhira Khurniawan S, S. Kel., M.Sc

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji I : Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D

Dosen Penguji II : Rarasrum Dyah. K, S. Kel., M.Si., M.Sc

Tanggal Ujian : 9 Juli 2020



## UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT berkat kemudahan dan kenikmatan yang diberikan-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi ini dengan sebaik-baiknya.
2. Kedua orang tua penulis, Bapak Kasriono dan Ibu Jamilah yang selalu memberikan doa, dukungan dan motivasi kepada penulis.
3. Bapak Oktiyas Muzaky Luthfi, ST., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing 1 dan Bapak Dhira Khurniawan S, S.Kel., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu dalam memberikan masukan serta arahan dalam proses bimbingan mulai dari penyusunan proposal hingga penulisan laporan skripsi.
4. Conservation Leadership Programme dan Conservation International Indonesia yang telah memberikan pendanaan dalam penelitian ini.
5. Rekan-rekan Sawfish Indonesia, Bang Sihar Silalahi, Mbak Iis Susiani, Mbak Yunita Wakhida, Mbak Willy Anggrainy, Bang Azizul Hakim, dan Laylia Nabila yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis.
6. Bapak Dr. rer. nat. Hawis H. Madduppa, S.Pi., M.Si. dan Bang Iqbal Sani selaku pembimbing laboratorium yang telah memberikan kesempatan dan pengalaman di Oceanogen Laboklinikum.
7. Teman-teman Ilmu Kelautan 2016 "Galleon" yang selalu memberikan doa dan semangat untuk pelaksanaan skripsi.

Merauke, Mei 2020

Penulis



## RINGKASAN

**DICKY DWI RIZKY NUGROHO.** Aplikasi Dna Lingkungan (Edna) Dalam Mengidentifikasi Keragaman Dan Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu Di Perairan Selat Muli Dan Muara Sungai Digul, Kabupaten Merauke (dibawah bimbingan **Oktiyas Muzaky Luthfi dan Dhira Khurniawan**).

---

Merauke merupakan WPP 718 RI yang meliputi Laut Arapura, Laut Aru dan Laut Timor. Tercatat pada tahun 2017, terjadi *overfishing* pada komoditas perikanan ikan terumbu. Ikan terumbu merupakan kelompok ikan yang berasosiasi dengan ekosistem karang. Dibutuhkan adanya kegiatan untuk mengetahui status dan kondisi perikanan terkini. Beberapa metode telah dikembangkan seperti memancing, menjebak, video bawah air, dan sensus bawah air. Namun metode tersebut memiliki kelemahan pada skala spasial dan pergerakan spesies target. Perkembangan ilmu pengetahuan menghadirkan metode terbaru menggunakan analisis DNA Lingkungan. DNA Lingkungan atau *Environment DNA* menerapkan prinsip DNA Metabarcoding sebagai sebuah metode identifikasi multi-spesies dari komponen genetik yang terdegradasi di lingkungan untuk mendeteksi keberadaan suatu organisme dan mengukur kelimpahannya.

Pengambilan data dilakukan di 2 stasiun dengan rincian 9 titik pada Stasiun Selat Muli dan 7 titik pada Stasiun Muara Sungai Digul pada 20-22 Januari 2021. Pemilihan titik sampling berdasarkan metode *purposive sampling* yang mempertimbangkan karakteristik lingkungan perairan tersebut. Data yang diambil dalam penelitian ini yaitu sampel lingkungan berupa air sebanyak 3 liter pada tiap titik sampling. Data parameter lingkungan yang diambil dalam penelitian ini yaitu salinitas dan suhu. Sampel air yang telah diambil kemudian dipreservasi untuk menjaga kualitas dan kuantitas komponen genetik didalamnya. Kemudian sampel air dilakukan pengolahan dan analisis pada Laboratorium. Pada pengolahan laboratorium ini dilakukan tahapan ekstraksi, amplifikasi, elektroforesis, sekuensing dan *bionformatic analysis*.

Analisa DNA Lingkungan berhasil mendeteksi sebanyak 9 spesies ikan terumbu di kedua stasiun penelitian. Sebanyak 7 spesies dapat ditemukan pada masing-masing stasiun dengan 5 spesies yang sama dapat ditemukan pada kedua stasiun. Indeks kesamaan keanekaragaman spesies menunjukkan nilai 0,56 (*midway*) yang berarti kedua populasi memiliki lebih dari separuh spesies yang sama. Kelimpahan relatif ikan terumbu yang dihitung berdasarkan komponen genetik memberikan hasil kelimpahan relatif tertinggi pada Stasiun Selat Muli yaitu spesies *Caranx ignobilis*. Sedangkan kelimpahan relatif tertinggi pada Stasiun Muara Sungai digul yaitu spesies *Ctenochaetus striatus*.



## SUMMARY

Merauke is known as WPP 718 Republic of Indonesia which covered the Arafura Sea, Aru Sea, and the Timor Sea. In 2017, overfishing occurred in reef fish fisheries commodities. Reef fish are a group of fish associated with coral ecosystems. The actions are needed to find out the current status and condition of fisheries. Several methods have been developed such as fishing, trapping, underwater video, and underwater census. However, this method has weaknesses in the spatial scale and movement of the target species. The development of science presents a renewable method using Environmental DNA analysis. Environmental DNA applies the principles of DNA Metabarcoding as a multi-species identification method of genetically degraded components in the environment to detect the presence of an organism and measure its abundance.

Data collection was carried out at 2 stations with details of 9 points at the Muli Strait Station and 7 points at the Muara Sungai Digul Station on 20-22 January 2021. The selection of sampling points was based on the purposive sampling method that took into the characteristics of the aquatic environment. The data taken in this study are environmental samples in the form of 3 liters of water at each sampling point. Environmental parameter data taken in this study are salinity and temperature. Water samples that have been taken are preserved to maintain the quality and quantity of the genetic components in it. Then the water samples were processed and analyzed in the laboratory. In this laboratory processing, the stages of extraction, amplification, electrophoresis, sequencing, and bioinformatic analysis are carried out.

Environmental DNA analysis succeeded in detecting as many as 9 species of reef fish in both research stations. A total of 7 species can be found at each station with the same 5 species can be found at both stations. The similarity index of species diversity shows a value of 0.56 (midway), which means that both populations have more than half of the same species. The relative abundance of reef fish calculated based on the genetic component gave the highest relative abundance at Muli Strait Station, namely the species *Caranx ignobilis*. Meanwhile, the highest relative abundance at Digul Estuary Station was the species *Ctenochaetus striatus*.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga Laporan Skripsi yang berjudul **“APLIKASI DNA LINGKUNGAN (eDNA) DALAM MENGIDENTIFIKASI KERAGAMAN DAN KELIMPAHAN RELATIF IKAN TERUMBU DI PERAIRAN SELAT MULI DAN MUARA SUNGAI DIGUL, KABUPATEN MERAUKE”** ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar. Laporan skripsi ini dibuat sebagai hasil dari penelitian penulis dengan mengambil topik mengenai aplikasi DNA Lingkungan dalam pemantauan status dan kondisi biota perairan.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Oktiyas Muzaky Luthfi, ST., M.Sc., dan Bapak Dhira Khurniawan S, S.Kel., M.Sc., selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dalam penyusunan skripsi ini hingga dapat terselesaikan dengan baik. Tak lupa penulis sampaikan terimakasih kepada semua pihak yang membantu penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan keterbatasan pengetahuan yang dimiliki penulis untuk penulisan laporan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun guna pembuatan tulisan-tulisan di masa yang akan datang.

Merauke, 10 Juni 2021

Dicky Dwi Rizky Nugroho  
NIM.16508060011021



# DAFTAR ISI

Halaman

<b>PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>	<b>i</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH.....</b>	<b>iii</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>12</b>
1.1 Latar Belakang.....	12
1.2 Rumusan Masalah.....	14
1.3 Tujuan.....	14
1.4 Manfaat.....	14
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>16</b>
2.1 DNA Lingkungan ( <i>Environmental DNA</i> ).....	16
2.1.1 Ekstraksi DNA.....	18
2.1.2 Amplifikasi DNA.....	19
2.1.3 Elektroforesis.....	19
2.1.4 Sekuensing DNA.....	20
2.2 Ikan Terumbu.....	21
<b>BAB III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>23</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.3 Alur Penelitian.....	28
3.4 Teknik Pengambilan dan Presevasi Sampel.....	29
3.5 Parameter Lingkungan.....	30
3.5 Teknik Analisis Sampel.....	31
3.5.1 Ekstraksi DNA.....	31
3.5.2 Amplifikasi DNA (PCR).....	32
3.5.3 Elektroforesis.....	33
3.5.4 Sekuensing DNA.....	34
3.5.5 Bionformatik Analisis Mifish Pipeline.....	35
3.6 Analisis Data.....	37





<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>39</b>
4.1 Kondisi Umum Lokasi Penelitian.....	39
4.2 Hasil.....	42
4.2.1 Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu.....	42
4.2.2 Distribusi Keanekaragaman Spesies Ikan Terumbu.....	45
4.3 Pembahasan.....	51
4.3.1 Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu.....	51
4.3.2 Distribusi Keanekaragaman Spesies Ikan Terumbu.....	52
<b>5. PENUTUP.....</b>	<b>58</b>
5.1 Kesimpulan.....	58
5.2 Saran.....	58
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>59</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. (A) <i>DNA Barcoding</i> ,.....	17
Gambar 2. Peta lokasi pengambilan sampel eDNA di Selat Muli dan Muara Sugai Digul, Kabupaten Merauke.....	23
Gambar 3. Diagram alur penelitian dan Teknik analisis (Bionformatic analysis). 28	28
Gambar 4. Langkah-langkah pengambilan dan preservasi sampel air.....	29
Gambar 5. Bahan-bahan dalam <i>Geneaid gSYNC™ Extraction Kit</i> .....	31
Gambar 6. Setting proses pada mesin PCR 96 Universal peqStAR.....	33
Gambar 7. Penampakan gel agarose dibawah sinar UV Fluorescent.....	34
Gambar 8. a) Tahap <i>Library preparation</i> menggunakan <i>Qubit fluorometer</i> ; b) Tahap sekuensing menggunakan <i>Illumina iSeq100</i> .....	35
Gambar 9. Tampilan <i>Mifish Pipeline Workflow</i> .....	36
Gambar 10. a) Selat Muli diambil dari atas kapal Sabuk Nusantara.....	39
Gambar 11. Kecepatan dan arah arus pada periode Januari 2021. ....	41
Gambar 12 a) Diagram presentase kelompok ikan terumbu terhadap kelompok ikan lain. b) Presentase kelimpahan relatif ikan terumbu. ....	43
Gambar 13 a) Diagram presentase kelompok ikan terumbu terhadap kelompok ikan lain. b) Presentase kelimpahan relatif ikan terumbu. ....	44
Gambar 14. Peta rangkuman distiribusi spesies ikan terumbu di Stasiun Selat Muli dan Muara Sungai Digul, Merauke. ....	46
Gambar 15 Diagram venn distribusi spesies pada Stasiun Selat Muli dan Muara Sungai Digul.....	47
Gambar 16. Peta persebaran distribusi a) <i>Caranx ignobilis</i> (Smith-Vaniz dan Williams, 2016); b) <i>Ctenochaetus striatus</i> (Choat <i>et al.</i> , 2012); c) <i>Epinephelus malabaricus</i> (Samoilys <i>et al.</i> , 2018); (d) <i>Grammatorcynus bilineatus</i> (Collete <i>et al.</i> , 2011); e) <i>Lethrinus harak</i> (Carpenter <i>et al.</i> , 2016); g) <i>Siganus fuscescens</i> (Carpenter <i>et al.</i> , 2016); h) <i>Epinephelus corallicola</i> (Rhodes <i>et al.</i> , 2018); i) <i>Lutjanus decussatus</i> (Curtis-Quick, 2010); j) <i>Selaroides leptolepis</i> (Smith-Vaniz dan Williams, 2016). ....	48
Gambar 17. Nilai indeks jaccard kesamaan keanekaragaman spesies.....	49
Gambar 18. Diagram preferensi habitat spesies terdeteksi.....	50



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Tabel Alat.....	24
Tabel 2. Tabel Bahan .....	26
Tabel 3. Kualitas perairan berdasarkan lokasi titik sampling .....	40
Tabel 4. Nilai rata-rata parameter lingkungan pada masing-masing stasiun .....	41
Tabel 5. Sekuens terbaca pada titik sampling Stasiun Selat Muli.....	43
Tabel 6. Sekuens terbaca pada titik sampling Stasiun Muara Sungai Digul.....	45



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Koordinat titik pengambilan sampel.....	67
Lampiran 2. Spesies ikan terumbu yang terdeteksi pada masing-masing stasiun .....	68
Lampiran 3. Spesies ikan terumbu yang terdeteksi dikedua stasiun .....	69
Lampiran 4 Hasil <i>bioinformatic analysis</i> Stasiun Selat Muli.....	70
Lampiran 5. Hasil <i>bioinformatic analysis</i> Stasiun Muara Sungai Digul .....	73
Lampiran 6. Protokol ekstraksi menggunakan Gneaid GSYNC.....	78
Lampiran 7. Dokumentasi pengambilan sampel air.....	80
Lampiran 8. Dokumentasi pengolahan sampel laboratorium.....	81





# BAB I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Laut merupakan lingkungan yang mewakili nilai yang cukup besar dalam keanekaragaman hayati dan ekonomi melalui produk perikanan dan turunannya (Thomsen *et al.*, 2012). Terumbu karang merupakan salah satu ekosistem laut yang memiliki tingkat keanekaragaman yang tinggi. Terumbu karang memiliki struktur yang sangat kompleks yang merupakan rumah bagi beragam spesies ikan, mulai dari spesies kriptik hingga ke spesies *migratory* yang memiliki ukuran besar (Collins *et al.*, 2019; Darling dan Mahon 2011). Ikan merupakan kelompok hewan yang kaya akan spesies dan merupakan kunci pemantauan kesehatan laut. Namun, spesies dan populasi ikan di seluruh dunia berada di bawah ancaman eksploitasi berlebihan sehingga diperlukan adanya monitoring ataupun pengamatan status keanekaragaman ikan terkini.

Monitoring atau pemantauan ikan secara konvensional melibatkan identifikasi pengamatan tingkat spesies dan jumlah spesies. Teknik yang digunakan dalam biomonitoring ikan karang bermacam-macam seperti memancing, menjebak, perekaman video bawah air ataupun sensus visual bawah air (UVC) (Bessey *et al.*, 2020). Setiap teknik biomonitoring memerlukan keahlian khusus dalam ilmu taksonomi ikan atau yang paling minimal yaitu memiliki ketrampilan pengamatan identifikasi ikan. Teknik konvensional ini memiliki kelebihan dan kelemahan masing-masing dalam penggunaannya. Beberapa batasan teknik biomonitoring secara konvensional antara lain batas tutupan secara spasial dan temporal, adanya bias dari pengamat, dan sifat alamiah spesies yang memiliki persebaran luas (Boussarie *et al.*, 2018).



Perkembangan bidang biomonitoring sendiri saat ini terus berkembang hingga tingkat genetik. Salah satu pendekatan yang paling efektif dalam mengatasi keterbatasan metode konvensional pada ekosistem yang sangat beragam yaitu DNA Lingkungan. DNA Lingkungan atau yang biasa disebut dengan *Environmental DNA* (eDNA) merupakan suatu metode untuk mendeteksi keberadaan suatu organisme dan mengukur kelimpahannya dalam suatu lingkungan (Boussarie *et al.*, 2018). DNA Lingkungan memberikan kelebihan dalam melakukan ekstraksi sampel lingkungan yang dapat berupa air, atau tanah tanpa melakukan isolasi terhadap organisme target (Ficetola *et al.*, 2008). Kelebihan lain DNA Lingkungan yaitu mampu meminimalisir tingkat invasif spesies, efektif dalam pemanfaatan sumber daya, dan tidak memerlukan keahlian taksonomi secara khusus (Bakker *et al.*, 2017).

Penerapan metode DNA Lingkungan berhasil memberikan informasi mengenai status keberadaan, distribusi keberadaan, dan kelimpahan relatif spesies target. Penerapan metode ini dalam mendeteksi spesies akuatik laut telah sukses dilakukan oleh beberapa peneliti seperti Thomsen dan Willerslev (2015) mengenai deteksi keberagaman ikan laut. Polanco Fernández *et al.* (2021), menjelaskan tingkat keefektifan metode DNA Lingkungan dibandingkan UVC lebih efektif dalam mendeteksi keberagaman jenis ikan karang. Penerapan DNA Lingkungan di Indonesia juga dilakukan oleh Andriyono *et al.* (2019), menjelaskan bahwa Teknik DNA Lingkungan telah sukses mendeteksi keberagaman spesies dan dapat memberikan gambaran mengenai tipe habitat ikan laut pada lokasi penelitian. Pendekatan melalui DNA Lingkungan perlu ditingkatkan sebagai upaya alternatif biomonitoring biota di Indonesia.

Merauke merupakan wilayah yang berbatasan langsung dengan Laut Arafura yang merupakan WPP 718 berdasarkan Pemen KP No 71 Tahun 2016. WPP 718 merupakan WPP terbesar yang meliputi Laut Timor, Laut Aru dan Laut



Arafura yang dikenal sebagai *The golden fishing ground*. Berdasarkan Sari *et al.* (2018), pada tahun 2017 di WPP 718 telah terjadi penangkapan berlebih pada kelompok ikan terumbu. Biomonitoring dibutuhkan untuk mengetahui kondisi terkini ikan terumbu di perairan Merauke. Kondisi perairan yang cukup keruh serta wilayah yang sangat luas menjadikan metode DNA Lingkungan atau e-DNA untuk dapat memberikan hasil biomonitoring secara efektif dan dalam waktu yang relatif singkat. Hasil ataupun data dari penelitian ini diharapkan mampu untuk mengidentifikasi keragaman dan kelimpahan relatif kelompok ikan terumbu di perairan Merauke, Indonesia.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang menjadi dasar pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah distribusi kelimpahan relatif ikan terumbu di Perairan Selat Muli dan Muara Sungai Digul?
2. Bagaimanakah status keragaman spesies ikan terumbu di Perairan Selat Muli dan Muara Sungai Digul?

## 1.3 Tujuan

Adapun tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui kelimpahan relatif spesies Ikan Terumbu di Perairan Selat Muli dan Muara Sungai Digul melalui analisis DNA Lingkungan
2. Mengidentifikasi distribusi keragaman spesies Ikan Terumbu di Perairan Selat Muli dan Muara Sungai Digul melalui analisis DNA Lingkungan

## 1.4 Manfaat

Hasil yang diperoleh dalam penelitian “Aplikasi DNA Lingkungan (eDNA)

Dalam Mengidentifikasi Keragaman dan Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu di

Perairan Selat Muli dan Muara Sungai Digul, Merauke” dapat digunakan sebagai kajian bagi penelitian lain terkait teknik biomonitoring ikan terumbu ataupun sebagai acuan bagi pemerintah setempat dalam merencanakan strategi perikanan di Merauke, Papua.





## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 DNA Lingkungan (*Environmental DNA*)

DNA Lingkungan atau yang disebut dengan *Environmental DNA (eDNA)* merupakan komponen genetik yang lepas dari badan organisme ke lingkungan.

Lepasnya komponen genetik organisme dapat dipengaruhi oleh suhu lingkungan, cahaya, mikroba ataupun aktivitas enzim. Komponen genetik ini dapat berasal dari proses metabolisme seperti feses, mucus, gamet, kulit ataupun bulu yang terlepas hingga bangkai (Pilliod *et al.*, 2013). Komponen genetik yang terdegradasi di lingkungan menjadi sumber DNA Lingkungan. Ficitola *et al.* (2008), memperkenalkan *DNA Metabarcoding* sebagai sebuah metode untuk mengidentifikasi multi-spesies dari komponen genetik yang terdegradasi di lingkungan. *Environmental DNA* sendiri menggunakan konsep DNA Metabarcoding dengan menggunakan sampel lingkungan yang dapat diperoleh dari air, tanah ataupun udara untuk mendeteksi keberadaan suatu organisme dan mengukur kelimpahannya dalam suatu lingkungan (Boussarie *et al.*, 2018). Teknik ini menggunakan metode *Next Generation Sequencing* yang dapat membaca lebih banyak hingga ratusan ribu juta sekuens genetik tingkat multispesies dari target region yang berbeda (Pavan-Kumar *et al.*, 2015).

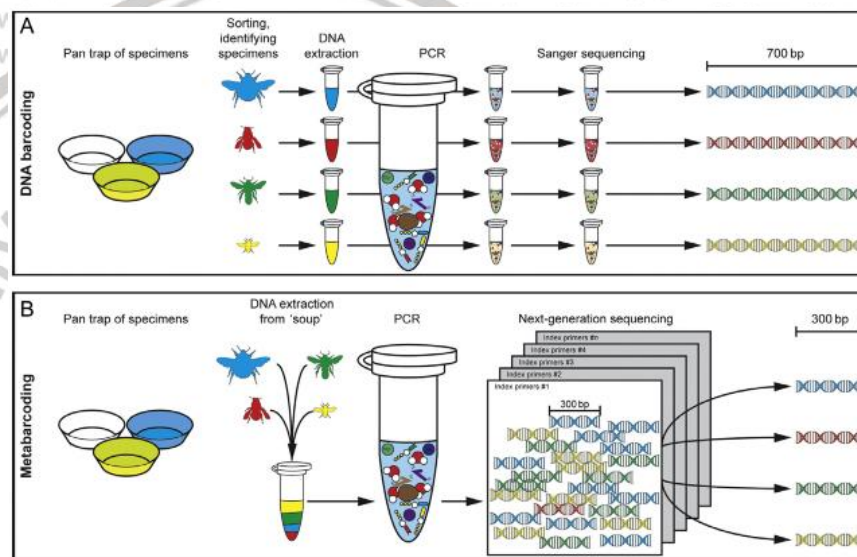
Pengaplikasian DNA Lingkungan digunakan dalam mendeteksi keberadaan amfibi, reptil, ikan, krustasea, burung air, dan mamalia (Goldberg *et al.*, 2011).

Penggunaan metode DNA Lingkungan telah sukses mendeteksi keberadaan spesies target dan kelimpahan organisme di suatu wilayah dengan lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan metode tradisional (Sigsgaard *et al.*, 2015).

Perkembangan metode DNA Lingkungan di Indonesia sendiri telah dilakukan oleh beberapa peneliti seperti Andriyono *et al.*, (2019) untuk mengidentifikasi



biodiversitas ikan di Pelabuhan Perikanan Pondokdadap, Malang. Tingkat deteksi DNA Lingkungan dalam mendeteksi spesies yang langka dapat lebih efektif dan efisien dalam mendokumentasi keberadaan spesies tersebut. Teknik ini dapat dianggap sebagai pelengkap ataupun pendukung dari teknik konvensional seperti survei tradisional dan metode monitoring (Sigsgaard *et al.*, 2015). Namun, terdapat kekurangan dari metode identifikasi spesies berdasarkan DNA. Kekurangan tersebut terletak pada belum lengkapnya data *barcode* dari *database* penyedia seperti *GenBank* dan *BOLD* (Kwong *et al.*, 2012).



Gambar 1. (A) DNA Barcoding, (B) eDNA Metabarcoding (Gill *et al.*, 2016).

DNA Lingkungan merupakan teknik yang relatif baru yang digunakan dalam mendeteksi jumlah jejak DNA spesies dari sebuah habitat untuk mendeteksi keragaman DNA spesies akuatik dari sampel yang diambil dari habitat (Ficetola *et al.*, 2008). Teknik DNA Lingkungan dapat diterapkan ke berbagai spesies perairan, mulai dari perairan tawar hingga perairan laut. Tingkat deteksi eDNA dalam mendeteksi spesies yang langka dapat lebih efektif dan efisien dalam mendokumentasi keberadaan spesies tersebut. Teknik ini dapat dianggap sebagai



pelengkap ataupun pendukung dari teknik konvensional seperti survei tradisional dan metode monitoring (Sigsgaard *et al.*, 2015).

Proses metode DNA Lingkungan memiliki beberapa tahapan yang memiliki tujuan pada masing-masing tahap. Beberapa tahap dalam proses metode DNA Lingkungan, yaitu:

### 2.1.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan proses yang dilakukan untuk mendapatkan total DNA dari suatu sampel lingkungan. Proses ekstraksi DNA meliputi beberapa tahapan mulai dari tahap persiapan hingga akhirnya diperoleh ekstrak DNA. Ekstrak DNA ini selanjutnya akan dilarutkan dalam suatu larutan khusus yaitu larutan penyangga (buffer). Hal ini dilakukan untuk menjaga kondisi DNA, baik dari segi kualitas dan kuantitas. Secara kualitas artinya larutan penyangga mampu mempertahankan kualitas DNA yang terlarut dalam kondisi baik. Sedangkan secara kuantitas artinya larutan penyangga mampu menjaga DNA terlarut dalam jumlah yang tetap (Marwayana, 2015).

Tahap ekstraksi DNA dapat menggunakan kit ekstraksi dari beberapa perusahaan penyedia. Kit ekstraksi ini digunakan untuk mengoptimalkan pemurnian pada DNA genom, mitokondria, ataupun virus yang dapat diperoleh dari jaringan atau sampel lingkungan. Beberapa bahan yang digunakan dalam kit ekstraksi DNA antara lain GST Buffer, GSB Buffer, W1 Buffer, Wash Buffer, Proteinase K, dan Elution Buffer. Kerja dari bahan-bahan ekstraksi ini antara lain mulai dari melisis sel dan mendegradasi protein, memurnikan DNA dan mengelusi DNA sehingga pada tahap akhir didapatkan DNA murni yang digunakan dalam tahap selanjutnya (PCR) ataupun reaksi enzimatik lainnya (Geneaid, 2017).



### 2.1.2 Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

merupakan suatu metode untuk memperbanyak DNA. PCR merupakan teknologi yang mampu melipatgandakan fragmen DNA yang diperoleh dari sampel lingkungan secara enzimatik. Beberapa tahap dalam PCR antara lain: 1)

Denaturasi cetakan/template DNA pada suhu 94-95°C, 2) *Annealing*/penempelan primer *forward* dan *reverse* pada segmen tertentu DNA menggunakan suhu yang spesifik, 3) Ektensi atau polimerasi untuk memanjangkan primer-primer yang menempel pada template DNA pada suhu 72°C (Budiarto, 2015).

Pada tahap PCR dilakukan penambahan primer digunakan untuk mengamplifikasi region DNA yang spesifik untuk target organisme. Primer disusun untuk mengetahui spesies target dan informasi spesifik lainnya. Perangkat lunak penyusun primer digunakan untuk merancang urutan sekuens yang pendek dan unik sebagai primer *forward* dan primer *reverse*. Panjang pasangan basa yang direkomendasikan pada penyusunan primer yaitu 90-120 bp (Pilliod *et al.*, 2013).

Primer yang umum digunakan untuk eDNA (*Marine*) primer beserta *locus area* dengan target organismenya antara lain: Mi Fish U 12S untuk Ikan, Mi Fish E 12S untuk *elasmobranchii*, dghco2198 / micoilntf COI untuk Metazoa (termasuk Invertebrata dan ikan), HCOI2198 / LCOI1490 COI untuk terumbu karang, SAR\_V3 40S (*eukaryotic mall ribosomal subunit*) untuk *Eukaryotic Plankton* SAR (Stramenopila, Alveolata and Rhizaria), 1389\_F\_V9 /1510\_R\_V9 18S untuk *Univerasal Eukaryotic Plankton*.

### 2.1.3 Elektroforesis

Elektroforesis digunakan untuk mengetahui konfirmasi keberhasilan amplifikasi DNA (Bangol *et al.*, 2014). Elektroforesis adalah suatu Teknik



pemisahan dan purifikasi fragmen DNA menggunakan muatan listrik instrinsik sebagai prinsip pemisahan molekul (Langga *et al.*, 2012). Proses pada mesin elektroforesis menggunakan waktu tertentu untuk kemudian hasilnya dapat dilihat dengan sinar *ultraviolet transilluminator*. Pada tahap ini peneliti dapat melihat kandungan dan keberhasilan dari proses amplifikasi. Keberhasilan pada tahap ini ditentukan dari keberadaan strip-garis penanda muatan genetik pada agarose.

Dalam proses pembacaan pada agarose terlebih dahulu dilakukan pewarnaan pada agarose. Pewarna yang biasa digunakan dalam proses ini adalah ethidium bromide (EB). Bahan ethidium bromide memiliki sifat karsinogenik dan mutagenic. Salah satu bahan ethidium bromide yang digunakan salah satunya yaitu gel red. Penambahan loading buffer (dye) pada tahap elektroforesis dilakukan untuk menjaga densitas, sehingga kandungan DNA akan selalu berada di dasar sumur. Selain itu loading buffer (dye) juga berguna memudahkan peletakan sampel DNA kedalam sumur yang dapat digunakan sebagai tanda migrasi DNA dalam agarose (Artati, 2013).

#### 2.1.4 Sekuensing DNA

Sekuensing merupakan tahapan untuk menentukan urutan basa nukleotida fragmen DNA (Sjafaraenan *et al.*, 2018). Hasil dari proses sekuensing adalah kode genetik dari setiap molekul DNA sebagai informasi genetik makhluk hidup.

Tahapan sekuensing DNA membutuhkan bantuan sistem komputer yang bekerja secara otomatis sesuai protokol produk. Hasil sekuensing berupa kode genetik pada tiap molekul DNA akan dicocokkan pada bank DNA / GenBank. Hasil akhir berupa data RAW selanjutnya dapat dianalisa sesuai dengan tujuan penelitian.

Perkembangan teknik sekuensing DNA terbaru yaitu Next Generation Sequencing (NGS). Teknik ini merupakan teknik pengurutan sekuensing secara paralel dalam jumlah yang banyak dan memberikan informasi secara mendalam



dalam bidang genomik. Kelebihan dari NGS mampu mempercepat pengurutan sekuens dalam waktu 1-2 hari. Teknik ini mengungguli teknik sanger yang digunakan untuk menguraikan genom (Behjati dan Tarpey, 2013). Hasil pembacaan NGS mendukung metode DNA metabarcoding ataupun eDNA karena mampu memberikan hasil yang parallel secara cepat dan mendalam dari sampel lingkungan yang diperlukan.

## 2.2 Ikan Terumbu

Ikan terumbu merupakan kelompok ikan yang berasosiasi dengan ekosistem karang. Kelompok ikan karang ini hidup pada antara celah karang ataupun dasar perairan (Mujiyanto, 2012). Menurut Appeldoorn *et al.* (2009), kelompok ikan karang juga melakukan migrasi dengan tujuan untuk mencari makan. Aktivitas mencari makan kelompok ikan karang paling banyak pada waktu sekitar terbit matahari dan tenggelam matahari. Migrasi yang dilakukan secara diurnal dan nokturnal ini dilakukan diantara daerah perlindungan dan daerah makan. Adapun migrasi yang dilakukan kelompok ikan ini merupakan salah satu mekanisme ekologi penting kelompok ikan terumbu.

English *et al.* (1998), membagi jenis ikan terumbu kedalam tiga kelompok utama, yaitu:

- 1) Ikan-ikan target, yaitu ikan yang memiliki nilai ekonomis dan ditangkap untuk dikonsumsi. Kelompok ikan jenis ini menjadikan terumbu karang sebagai tempat pemijahan dan daerah asuhan. Jenis dari kelompok ikan ini antara lain dari family Serranidae (ikan kerapu), Lutjanidae (ikan kakap), Lethrinidae (ikan lencam), Nemiptiridae (ikan kurisi), Caesionidae (ikan ekor kuning), Siganidae (ikan baronang), Haemulidae (ikan bibir tebal), Scaridae (ikan kakak tua), dan Acanthuridae (ikan pakol).



2) Ikan-ikan indikator, yaitu ikan yang menjadi indicator kesuburan ekosistem terumbu karang. Kelompok ikan jenis ini mendiami daerah terumbu karang.

Jenis dari kelompok ikan ini yaitu Chaetodontidae (ikan kepe-kepe).

3) Ikan-ikan major, yaitu ikan yang sepanjang hidupnya berada di daerah terumbu karang. Kelompok ikan jenis ini umumnya berukuran kecil sekitar

5-2 cm, dengan warna tubuh yang beragam sehingga disebut sebagai ikan

hias. Kelompok ini diketahui jumlahnya melimpah baik individu ataupun

sejenisnya serta cenderung bersifat territorial. Jenis dari kelompok ikan ini

yaitu Pomacentridae (ikan betok laut), Apogonidae (ikan serinding),

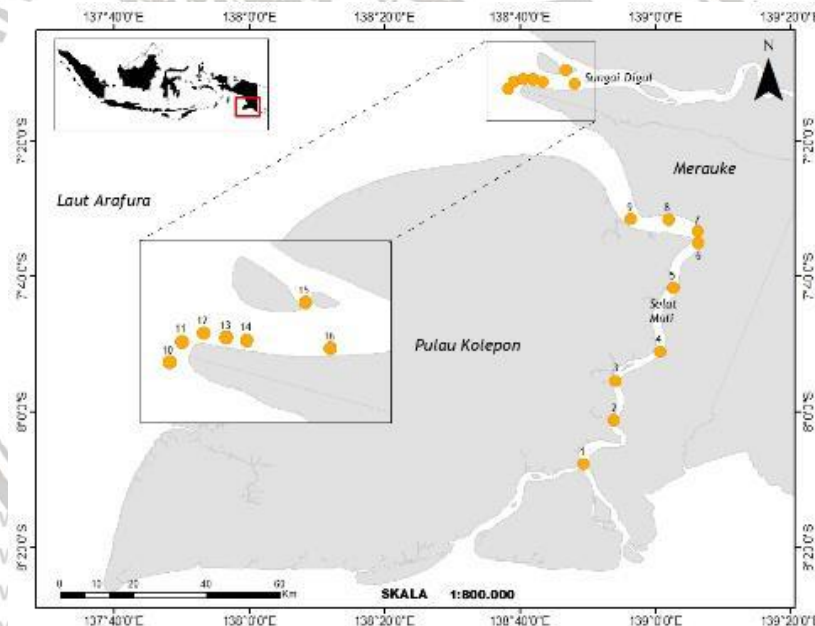
Labridae (ikan sapu-sapu) dan *Blennidae* (ikan peniru).



## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Kawasan Perairan Merauke, Papua yang meliputi wilayah perairan laut, muara dan sungai. Pengambilan sampel air akan dilaksanakan di wilayah perairan Selat Muli dengan 9 titik sampling dan Muara Sungai Digul dengan 7 titik sampling (Gambar 2) dengan titik koordinat tersedia pada Lampiran 1. Pengambilan sampel air ini akan dilaksanakan pada tanggal 20 dan 22 Januari 2021. Periode waktu tersebut dipilih dengan memperhatikan faktor kondisi perairan yang tenang agar pengambilan sampel dapat dilakukan.



Gambar 2. Peta lokasi pengambilan sampel eDNA di Selat Muli dan Muara Sugai Digul, Kabupaten Merauke.

Pengambilan titik sampel air pada titik Stasiun terpilih dilakukan dengan menggunakan metode *purposive sampling*. Pengambilan sampel dilakukan dengan memperhatikan pertimbangan-pertimbangan yang dibuat peneliti (Sugiyono, 2008). Pertimbangan pemilihan titik sampel air berdasarkan ada



tidaknya pengaruh dari laut ataupun sungai-sungai di daratan. Berikut penjelasan tiap stasiun :

1. Stasiun Selat Muli : Stasiun ini merupakan selat penghubung Pulau Merauke dan Pulau Kolepon/Yos Sudarso. Kawasan ini merupakan lajur transportasi perkapalan dan wilayah penangkapan ikan. Kawasan ini juga digunakan sebagai wilayah berteduh kita perairan Laut Arafura sedang buruk.

2. Stasiun Muara Sungai Digul : Stasiun ini terletak pada mulut Sungai Digul. Pada Kawasan ini terdapat pulau-pulau kecil berpenghuni. Kawasan ini juga merupakan Kawasan transportasi perkapalan dan lokasi penangkapan ikan.

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam kegiatan pengambilan sampel hingga pengolahan data selama penelitian disajikan pada Tabel 1 di bawah ini:

Tabel 1. Tabel Alat

No.	Nama Alat	Kegunaan
1	Laptop Asus A455L core i5 RAM 8 GB	Perangkat keras pengolahan data
2	QGIS 3.16.4	Untuk pengolahan data spasial
3	Microsoft Word 2016	Untuk penyusunan penulisan skripsi
4	Microsoft Excel 2016	Untuk pengolahan data berbasis angka
5	Nikon AW130	Perangkat keras dokumentasi kegiatan
6	GPS Garmin etrex 10	Perangkat keras pengambilan koordinat

No.	Nama Alat	Kegunaan
7	Botol Sampel Air	Untuk wadah sampel lingkungan air
8	Van Dorn water sampler	Untuk mengambil sampel air dikolom perairan
9	Vacuum Pump ¼ HP	Untuk memompa air dan penyaring sampel air
10	Pipet Mikro	Untuk mengambil atau memindahkan suatu larutan skala mikro
11	Timbangan Digital	Untuk mengukur berat suatu larutan atau benda
12	Gelas Ukur	Untuk mengukur volume larutan
13.	Cetakan Agar	Untuk wadah gel agarose
14	Mesin Elektroforesis	Untuk membaca muatan electron
15	Cryotube	Untuk wadah sampel <i>filter membrane</i>
16	Centrifuge	Untuk memisahkan dan mengendapkan partikel organel
17	Vortex	Untuk menghomogenkan larutan
18	Thermocycle	Untuk memperbanyak segmen DNA melalui PCR
19	Dry Block Heater	Untuk penentuan titik-titik pemanasan (lysis)
20	Microwave	Untuk menghomogenkan sampel
21	Hand gloves	Sebagai sarung tangan dalam kondisi steril



No.	Nama Alat	Kegunaan
22	<i>Twizzer</i>	Untuk alat bantu memegang/memindahkan sampel
23	<i>Illumine iSeq 100</i>	Untuk perangkat sekuensing sampel
24	Refraktometer Master-S/Millim	Untuk mengukur salinitas
25	Termometer Lutron PDO 519	Untuk mengukur temperatur perairan

Bahan-bahan yang digunakan dalam kegiatan pengambilan sampel hingga pengolahan data selama penelitian disajikan pada Tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Tabel Bahan

No.	Data	Kegunaan
1	<i>Geneaid gSYNC Extraction Kit</i>	Untuk ekstraksi sampel air
2	Etanol 96%	Untuk pencucian dan purifikasi DNA
3	ddH <sub>2</sub> O	Untuk pelarut DNA dan RNA
4	<i>Primer forward dan reverse Mifish U Adapt</i>	Untuk reaksi awal dan akhir proses replikasi DNA
5	Membran filter polikarbonat 0,45 µm	Untuk filter menempelnya partikel DNA
6	<i>MyTaq Hs Red Mix</i>	Untuk ampifikasi PCR
7	<i>TBE Buffer</i>	Untuk larutan buffer elektroforesis
8	<i>Agarose</i>	Untuk media elektroforesis
9	<i>DNA Ladder</i>	Untuk penanda (marker) DNA
10	<i>Gel Red</i>	Untuk pewarna pada gel elektroforesis

No.	Data	Kegunaan
11	Loading buffer (dye)	Untuk menjaga densitas DNA pada agarose
12	PhiX sequencing	Untuk tahap library preparation pada proses sekuensing
13	Aquades	Untuk kalibrasi alat
14	Alkohol	Untuk sterilisasi dan pengondisian steril

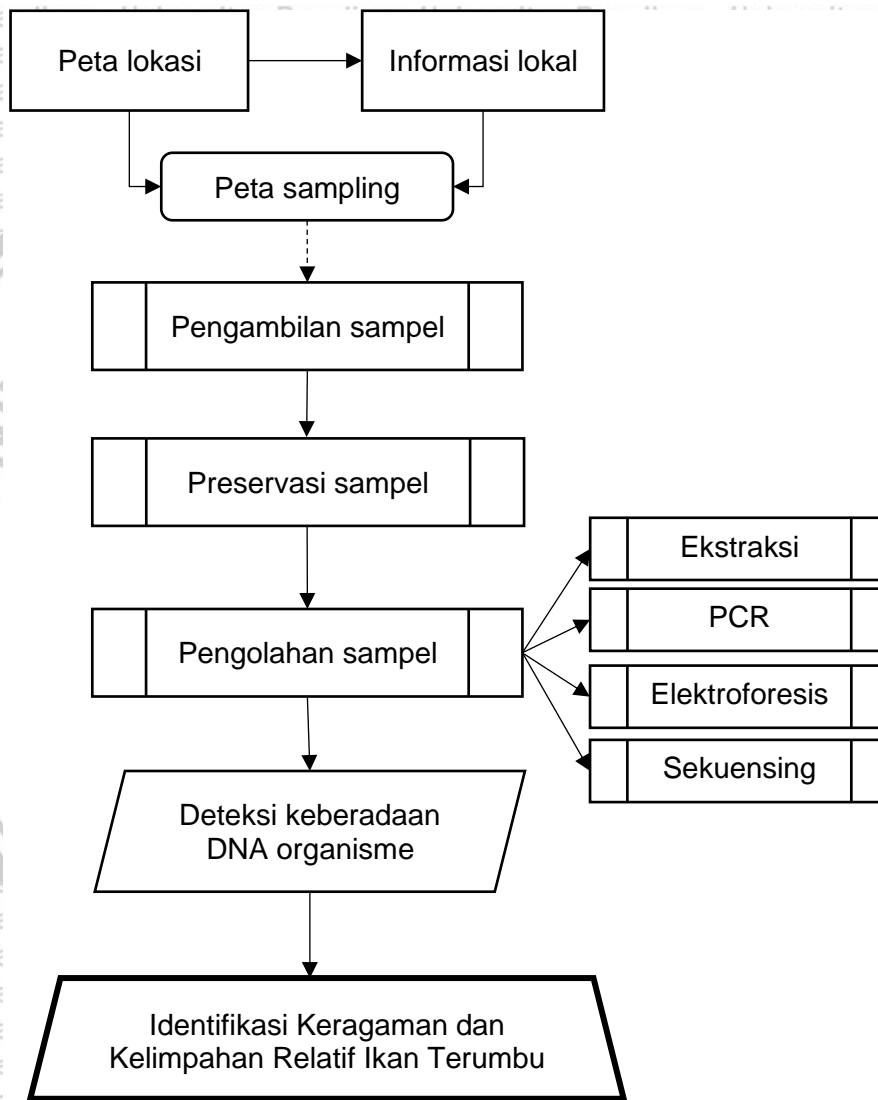




### 3.3 Alur Penelitian

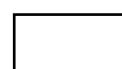
Alur dalam penelitian ini diawali dengan pembuatan lokasi titik sampling.

Kemudian dilakukan pengambilan data berupa sampel air dan data parameter lingkungan (salinitas dan temperature). Sampel air kemudian dianalisis pada laboratorium. Alur penelitian ini disajikan pada Gambar 3 dibawah ini.



Gambar 3. Diagram alur penelitian dan teknik analisis (Bionformatic analysis)

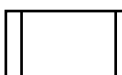
Keterangan:



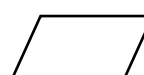
: Bahan



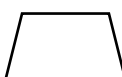
: Data



: Proses



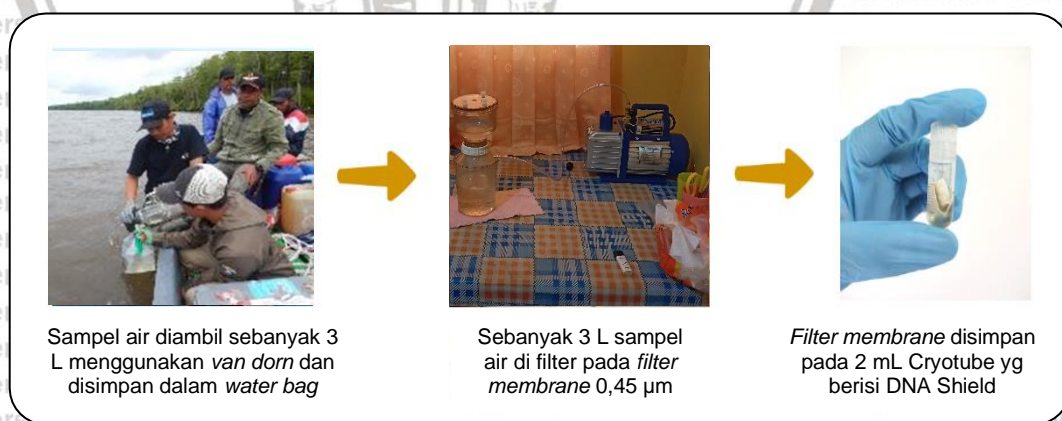
: Hasil antara



: Hasil akhir

### 3.4 Teknik Pengambilan dan Presevasi Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada titik-titik *sampling* pada Selat Muli dan Muara Sungai Digul yang meliputi perairan laut, muara, dan badan sungai. Teknik pengambilan sampel dan preservasi sampel dapat diperhatikan pada Gambar 4. Sampel air diambil sebanyak 3 liter pada tiap titik-titik *sampling* dengan menggunakan *Van Dorn water sampler* pada dasar perairan. Sampel air tersebut kemudian disaring dengan menggunakan *filter membrane* polikarbonat berukuran 0,45 µm dengan tujuan untuk memisahkan organisme atau materi lain yang berukuran besar. Sampel air disaring menggunakan *Nalgene rapid flow* dan *vacuum pump* ¼ hp dengan kertas saring berukuran 0,4 µm. Kertas saring hasil penyaringan sampel air diasumsikan telah mengandung materi genetik yang berasal dari proses penyaringan sampel air. *Filter membrane* tersebut kemudian dimasukkan kedalam *cryotube* berukuran 2 ml yang telah diisi dengan 1 ml *DNA Shield* untuk menjaga kualitas dan kuantitas materi genetik yang diambil dari sampel lingkungan (Miya *et al.*, 2015).



Gambar 4. Langkah-langkah pengambilan dan preservasi sampel air



### 3.5 Parameter Lingkungan

Pengambilan data parameter lingkungan bersamaan dengan pengambilan sampel air. Pengambilan data parameter lingkungan bertujuan untuk mengetahui kondisi umum perairan pada lokasi penelitian. Parameter lingkungan meliputi salinitas dan parameter. Beberapa pengambilan parameter lingkungan seperti kecerahan tidak dilakukan dikarenakan tingkat kekeruhan perairan yang tinggi. Parameter lingkungan berupa kecepatan arus diolah berdasarkan data sekunder melalui citra satelit OSCAR yang diakuisi pada bulan Desember 2020-Januari 2021 pada *range* periode bulanan.

Pengambilan data salinitas dilakukan menggunakan refraktometer Atago Master-S/MillM. Langkah pengukuran salinitas dengan cara kalibrasi dahulu pada sensor menggunakan aquades, kemudian ditetesi sampel air menggunakan pipet tetes pada sensor, kemudian hasil pembacaan akan dimunculkan pada display. Pengambilan data temperature menggunakan Lutron PDO 519. Langkah pengukuran temperature dengan cara kalibrasi sensor pada alat dahulu, kemudian sampel air disiapkan dalam wadah dan alat diletakkan dengan sensor terendam air untuk melakukan proses pembacaan. Hasil pembacaan temperature akan muncul pada display dan dicatat.

### 3.5 Teknik Analisis Sampel

Sampel yang telah dipreservasi sebelumnya kemudian akan diproses dan dianalisa pada laboratorium. Beberapa tahapan yang dilakukan pada laboratorium antara lain:

#### 3.5.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan proses yang dilakukan untuk mendapatkan total DNA dari suatu sampel lingkungan. Proses ekstraksi DNA meliputi beberapa tahapan mulai dari tahap persiapan hingga akhirnya diperoleh ekstrak DNA. Ekstrak DNA ini selanjutnya akan dilarutkan dalam suatu larutan khusus yaitu larutan penyangga (buffer). Hal ini dilakukan untuk menjaga kondisi DNA baik dari segi kualitas dan kuantitas. Secara kualitas artinya larutan penyangga mampu mempertahankan kualitas DNA yang terlarut dalam kondisi baik. Sedangkan secara kuantitas artinya larutan penyangga mampu menjaga DNA terlarut dalam jumlah yang tetap (Marwayana, 2015). Proses ekstraksi DNA pada penelitian ini menggunakan *Geneaid gSYNC™ Extraction Kit* dan mengikuti prosedur sesuai protokol produk yang tersaji pada Lampiran 3.



Gambar 5. Bahan-bahan dalam *Geneaid gSYNC™ Extraction Kit*



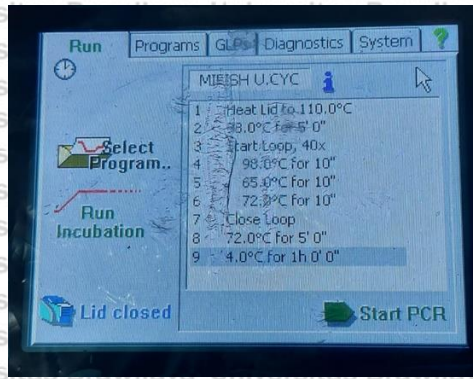
### 3.5.2 Amplifikasi DNA (PCR)

Tahapan PCR bertujuan untuk memperkuat wilayah region target dengan penambahan primer yang spesifik. Proses amplifikasi region target menggunakan *MiFish primers (Forward dan Reverse)* (Miya *et al.*, 2015), dengan penggabungan adapter 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG -3' (*forward sequence adapter*) and 5'-GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA G-3 (*reverse sequence adapter*). Primer yang digunakan selaras dengan DNA Mitokondria (mtDNA) dari 880 spesies yang telah tercatat sekuensnya ditambah dengan 160 sekuens *elasmobranchii* (Hiu dan Pari). Target primer ini yaitu region 12s mtDNA yang memiliki 163-185 bp gen. Region ini memiliki informasi yang cukup untuk menunjukkan identitas taksonomi famili, genus dan spesies, kecuali beberapa *congen* yang berkerabat dekat (Miya *et al.*, 2015). Pada proses PCR disiapkan reactan dengan isi 26  $\mu$ l yang berisi 7  $\mu$ l sampel DNA ekstraksi, 13  $\mu$ l larutan Kappa (KAPA Hifi Hotstar Up), 1  $\mu$ l *Forward primers*, 1  $\mu$ l *Reverse primers*, dan 4  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O yang dilarutkan dalam 0,2 ml *microcentrifuge tube*.

Tahapan proses PCR untuk mengamplifikasi DNA pada penelitian ini meliputi: 1) Pra-denaturasi *template* DNA hasil ekstraksi pada suhu 95°C selama 5 menit; 2) Denaturasi *template* DNA pada suhu 98°C selama 10 detik; 3) *Annealing* pada suhu 65°C selama 10 detik; 4) Ekstensi primer pada suhu 72°C selama 10 detik; 5) Ekstensi final (*post extension*) pada suhu 72°C selama 5 menit (Miya *et al.*, 2015). Dilakukan pengulangan sebanyak 40 kali pada tahap 2-4.

Penambahan kontrol negative pada template kosong saat menjalankan proses PCR menggunakan mesin PCR 96 peqSTAR (Peqlab Ltd, USA) untuk memeriksa kontaminasi pada sampel DNA pada proses PCR. Pengaturan pada mesin PCR dapat dilihat pada Gambar 6 dibawah ini.





Gambar 6. Setting proses pada mesin PCR 96 Universal peqStAR

Semua produk hasil proses PCR yang lolos dalam uji kualitas elektroforesis

PCR pertama menjalani uji PCR yang kedua untuk tujuan pengindeksan. Indeks ganda IDT dan adaptor sekuensing illumine untuk illumina - Indeks Ganda Unik DNA Nextera, Set A (nomor katalog 20027213) (Illumina, San Diego, AS) ditambahkan pada amplicon target pada tahap PCR kedua, menggunakan 12,5 µl Kapa HotStart HiFi 2 × ReadyMix DNA polymerase (Kapa Biosystems Ltd., London, UK) dan 2 µl produk PCR. Siklus PCR terdiri dari denaturasi awal pada 95 ° C (3 menit), kemudian 9 siklus 95 ° C selama 30 detik, 55 ° C selama 30 detik, 72 ° C selama 30 detik, dan perpanjangan terakhir pada 72 ° C untuk 5 menit.

Kemudian dilakukan pemurnian pada hasil PCR yang pertama dan kedua menggunakan AMPure XP (Beckman Coulter, Inc) sebelum melanjutkan langkah berikutnya.

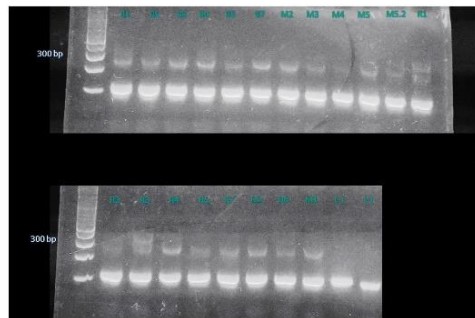
### 3.5.3 Elektroforesis

Elektroforesis digunakan untuk mengetahui konfirmasi keberhasilan amplifikasi DNA (Bangol *et al.*, 2014). Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan dan purifikasi fragmen DNA menggunakan muatan listrik instrinsik sebagai prinsip pemisahan molekul (Langga *et al.*, (2012). Tahapan pada elektroforesis pembuatan *gel agarose* 1.5% sebagai wadah larutan hasil implifikasi yang sudah diberikan pewarna *gel red*. Proses pada mesin elektroforesis



menggunakan waktu tertentu untuk kemudian hasilnya dapat dilihat dengan sinar *ultraviolet transluminator*.

Kualitas produk hasil PCR divisualisasikan menggunakan mesin elektroforesis menggunakan gel agarosa 2% (buffer TAE 100 mL dan agarosa 2 g). Sebanyak 3 l aliquot produk hasil PCR kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing sumur agarosa dengan tangga DNA 100 bp di salah satu sumur. Mesin elektroforesis dijalankan pada tegangan 50 Volt selama 60 menit dan hasilnya divisualisasikan menggunakan UV Fluorescent melalui Alphaimager Mini Gel Documentation System (Protein Simple Ltd, California, USA).

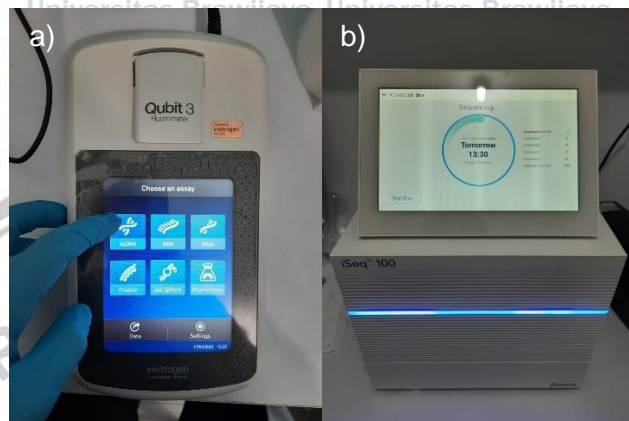


Gambar 7. Penampakan gel agarose dibawah sinar UV Fluorescent

### 3.5.4 Sekuensing DNA

Sekuensing merupakan tahapan untuk menentukan urutan basa nukleotida fragmen DNA (Sjafaraenan *et al.*, 2018). Tahapan sekuensing ini dilakukan pada Illumina iSeq 100 dengan menggunakan siklut kit reagen dari iSeq 100 yang dilakukan sesuai dengan mengikuti protokol dari *Illumina MiSeq 12S metagenomic sequencing library*. Pembacaan konsentrasi dari *sequencing library* diuji melalui *Qubit fluorometer* (Gambar 8a) dengan mengikuti protokol dasar yang sama yaitu pencampuran dan pembacaan, dengan waktu inkubasi selama 2 menit untuk setiap uji konsentrasi DNA pada *Qubit tube*. Hasil dari uji konsentrasi *sequencing library* disatukan menjadi *library pool* yang kemudian akan diencerkan dan didenaturasi berdasarkan *Illumina MiSeq library preparation guide*. Library

pool yang berisi amplicon sebanyak 10  $\mu$ m ditambahkan sebanyak 20% *PhiX* *Illumina version 3 control library* yang telah diencerkan dan didenaturasi. Reagen kit dari Illumina iSeq v.2 untuk PE 2x150 bp digunakan dengan waktu pengoperasian pada mesin sekuensing Illumina iSeq100 (Gambar 8b) selama kurang lebih 18 jam.



Gambar 8. A) Tahap *Library preparation* menggunakan *Qubit fluorometer*,  
b) Tahap sekuensing menggunakan *Illumina iSeq100*

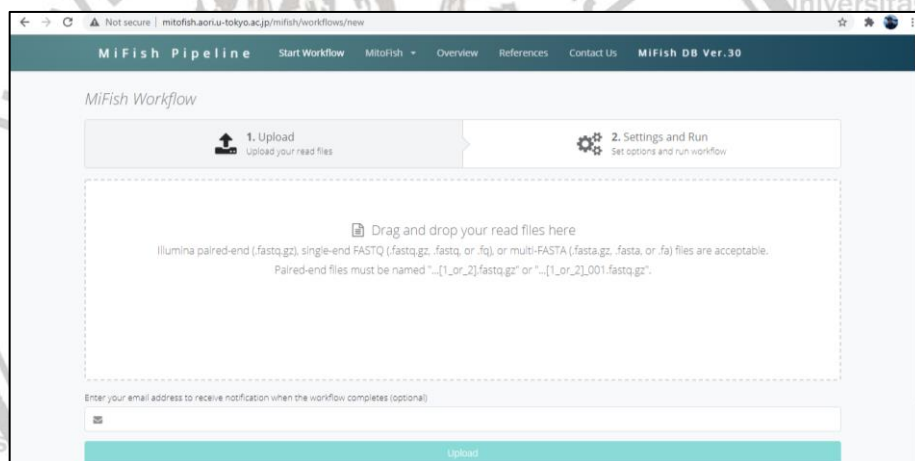
### 3.5.5 Bionformatik Analisis MiFish Pipeline

Analisis hasil sekuensing adalah kegiatan membandingkan urutan basa nukleotida sampel terhadap urutan basa nukleotida kontrol (Sjafaraenan *et al.*, 2018). Data hasil sekuensing DNA berupa file dengan ekstensi fastq kemudian dianalisis secara bioinformatika menggunakan MiFish Pipeline yang berisikan database sekuens 12S dari berbagai jenis ikan (Sato *et al.*, 2018). File fastq hasil sekuensing DNA kemudian diunggah pada *MiFish Pipeline* (<http://mitofish.aori.tokyo.ac.jp/mifish>).

MiFish Pipeline (Sato *et al.*, 2018) bekerja dengan memotong pembacaan sekuens berkualitas rendah ( $QV \leq 20$ ), menggabungkan pembacaan akhir berpasangan, menghapus pembacaan gabungan yang salah yang mengandung N- nukleotida, filter pembacaan menurut panjang ( $\sim 229$  bp), menjalankan Usearch (0,99 untuk pengelompokan identitas, dan 10 untuk ukuran baca minimum untuk



pemfilteran). Langkah terakhir yaitu menjalankan BLASTN pada NCBI GenBank database. *MiFish Pipeline* kemudian akan menghasilkan hasil berupa sekuens spesies yang terbaca pada Operational Taxonomic Unit (OTUs). Pembacaan hasil sekuens sesuai dengan database berdasarkan *file fastq* dengan membagi data pada dua tingkat similaritas yaitu 80-97% dan >97%. Data hasil identifikasi yang digunakan adalah data dengan similaritas >97%, data dengan similaritas yang tinggi memiliki tingkat kepercayaan dalam identifikasi yang akurat. Data yang dihasilkan kemudian dikonfirmasi untuk memperoleh informasi distribusi spesies dengan mengacu pada *FishBase* (<http://fishbase.org/>), sedangkan untuk nomenklatur taksonomi yang valid dikonfirmasi melalui *World Register of Marine Species* ([www.marinespecies.org](http://www.marinespecies.org)).



Gambar 9. Tampilan *Mifish Pipeline Workflow*

### 3.6 Analisis Data

Data hasil dari tahap *MiFish Pipeline bioinformatyc analysis* berupa data RAW yang sudah dirapikan dalam Ms. Excel seperti yang tersaji pada Lampiran 4 dan Lampiran 5. Data pada Ms. Excel tersebut kemudian diolah untuk mencari nilai kelimpahan relatif serta indeks kesamaan keanekaragaman serta visualisasi data pada diagram lingkaran dan tabel. Perhitungan nilai kelimpahan relatif dan indeks kesamaan keanekaragaman spesies dihitung seperti berikut ini.

#### 3.6.1 Kelimpahan Relatif

Perhitungan kelimpahan relatif pada penelitian ini didasarkan pada sekuens organisme yang terbaca. Persentase kelimpahan relatif organisme target diperoleh dengan membandingkan jumlah sekuens organisme target dengan jumlah total sekuens organisme yang terbaca pada tiap titik pengambilan sampel. Perhitungan kelimpahan relatif pada penelitian ini didasarkan pada sekuens organisme yang terbaca. Kelimpahan relatif (Odum, 1993) dihitung berdasarkan rumus dibawah ini:

$$Kr = \frac{Ki}{\sum K} \times 100 \%$$

Keterangan:

$Kr$  = Kelimpahan relative (%)

$Ki$  = Kelimpahan untuk spesies ke-i

$\sum K$  = Jumlah kelimpahan total spesies



### 3.6.2 Indeks Kesamaan Keragaman

Nilai indeks kesamaan keragaman dihitung berdasarkan spesies yang terdeteksi oleh analisis DNA lingkungan. Indeks kesamaan keragaman (Jaccard, 1991) dihitung untuk melihat kemiripan komposisi antar populasi. Perhitungan indeks kesamaan keanekaragaman dihitung menggunakan rumus dibawah ini:

$$\frac{S_0}{S_1 + S_2 - S_0}$$

Keterangan:

$S_1$  = Jumlah spesies di komunitas 1

$S_2$  = Jumlah spesies di komunitas 2

$S_0$  = Jumlah spesies yang sama dalam komunitas 1 dan 2

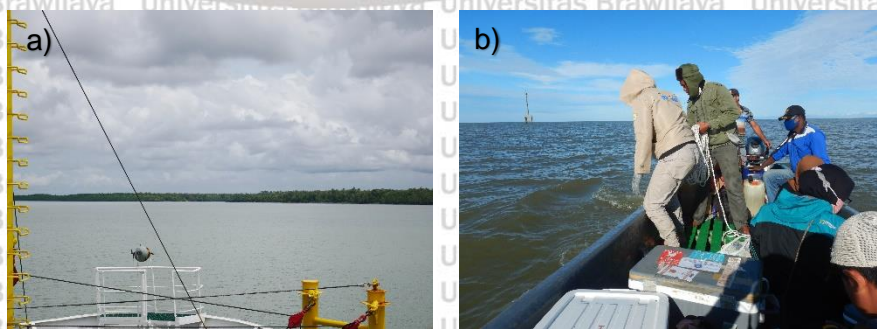
Pembacaan indeks kesamaan keragaman (Jaccard, 1991) melihar dari hasil presentase perhitungan: presentase semakin tinggi >90% menunjukkan jenis yang sama pada kedua populasi; presentase menunjukkan nilai setengan atau kurang lebih 50% (midway point) maka kedua populasi masing-masing memiliki jenis yang sama; presentase 0% menunjukkan tidak adanya kesamaan jenis pada masing-masing populasi.

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Kondisi Umum Lokasi Penelitian

Kabupaten Merauke terletak antara 17-141 Bujur Timur dan 5-9 Bujur Barat.

Berdasarkan letak geografis, Kabupaten Merauke berada di ujung timur bagian selatan, berbatasan langsung dengan Negara Papua Nugini dan Australia. Selat Muli atau yang dikenal umum dengan Selat Mariana merupakan selat yang menghubungkan pulau besar Merauke dengan Pulau Kolepom atau Pulau Yos Sudarso. Selat Muli memiliki muara pada Muara Wanam-Digul dan Pulau Komolom. Sungai Digul merupakan sungai terbesar di Merauke, berbatasan langsung dengan Kabupaten Mappi dan Boven Digoel. Akses ke Stasiun penelitian bisa dilalui melalui darat, laut, dan udara. Kedua stasiun penelitian ini merupakan jalur kapal penghubung antar distrik di Kabupaten Merauke, Mappi, dan Boven Digoel. Kondisi lingkungan pada Stasiun Selat Muli merupakan perairan laut yang memiliki tingkat sedimentasi tinggi. Perairan tergolong keruh dengan arus kuat dan pada sisi-sisi selat merupakan ekosistem mangrove yang lebat. Pada Stasiun Muara Sungai Digul memiliki muara yang luas yang langsung berhadapan dengan Laut Arafura. Kondisi perairan juga masih keruh dikarenakan sedimentasi kawasan estuari yang terdapat banyak ekosistem mangrove.



Gambar 10. a) Selat Muli diambil dari atas kapal Sabuk Nusantara  
b) Muara Sungai Digul pada Lampu putih tanda masuk muara



Perairan lokasi penelitian berada pada perairan sebelah barat Merauke memiliki kualitas perairan yang berbeda-beda. Pengukuran kualitas perairan ini bertujuan untuk mengetahui kondisi lingkungan lokasi penelitian. Pengambilan data kualitas perairan diambil di kedua stasiun penelitian sebanyak 16 titik. Hasil pengukuran kualitas perairan disajikan pada tabel

Tabel 3. Kualitas perairan berdasarkan lokasi titik sampling

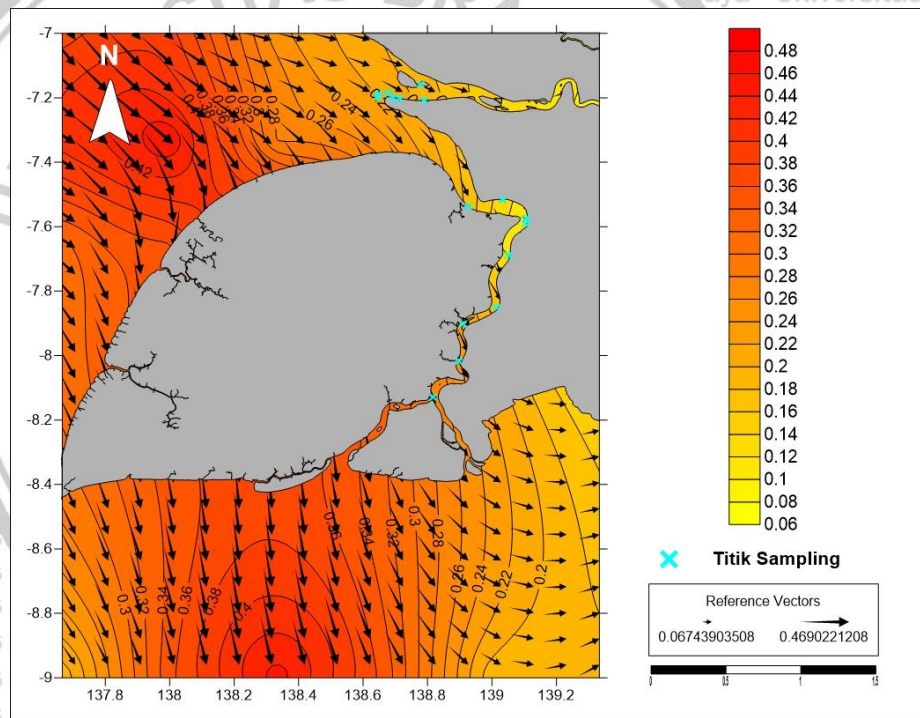
Titik Sampling	Salinitas (ppt)	Temperatur (°C)	Kecepatan Arus (m/s)
Muli 1	15	27,6	0,28
Muli 2	15	26,3	0,24
Muli 3	14	28	0,22
Muli 4	12	28,2	0,17
Muli 5	10	31	0,12
Muli 6	10	32,8	0,11
Muli 7	11	29,3	0,1
Muli 8	3	29,1	0,13
Muli 9	11	29,6	0,18
Digul 1	15	27	0,22
Digul 2	12	27	0,22
Digul 3	15	27,6	0,21
Digul 4	5	27,9	0,21
Digul 5	1	27,8	0,21
Digul 6	15	28,1	0,19
Digul 7	1	23,3	0,2

Nilai dari salinitas dari semua titik sampling menunjukkan perbedaan yang signifikan mulai dari 1-15 ppt. Nilai salinitas tertinggi terdapat pada beberapa titik seperti titik Muli 1 dan 2, dan Digul 1,3 dan 6. Temperatur tertinggi terdapat pada titik Muli 9 sebesar 29,6°C, sedangkan temperature terendah terdapat pada titik Digul 7 sebesar 23,3°C. Data hasil pengolahan arus menunjukkan perbedaan

kecepatan pada tiap titik sampling yang tidak terlalu besar yaitu 0,1-0,28 m/s. Arah pergerakan arus disajikan pada Gambar 11. Kecepatan arus tertinggi terdapat pada titik Muli 1 sebesar 0,28 m/s, sedangkan kecepatan arus terendah terdapat pada titik Muli 7 sebesar 0,1 m/s. Jika dilakukan pengukuran rata-rata pada tiap stasiun maka nilai rata-rata parameter lingkungan pada Selat Muli dan Muara Sungai Digul dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 4. Nilai rata-rata parameter lingkungan pada masing-masing stasiun

Stasiun	Salinitas (ppt)	Temperatur (°C)	Kecepatan Arus (m/s)
Selat Muli	11,22	29,1	0,17
Muara Sungai Digul	9,14	26,96	0,21



Gambar 11. Kecepatan dan arah arus pada periode Januari 2021.



## 4.2 Hasil

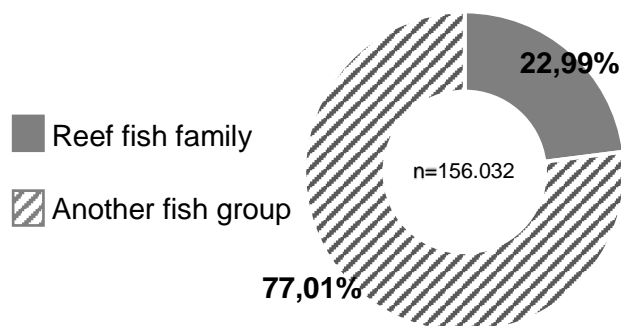
### 4.2.1 Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu

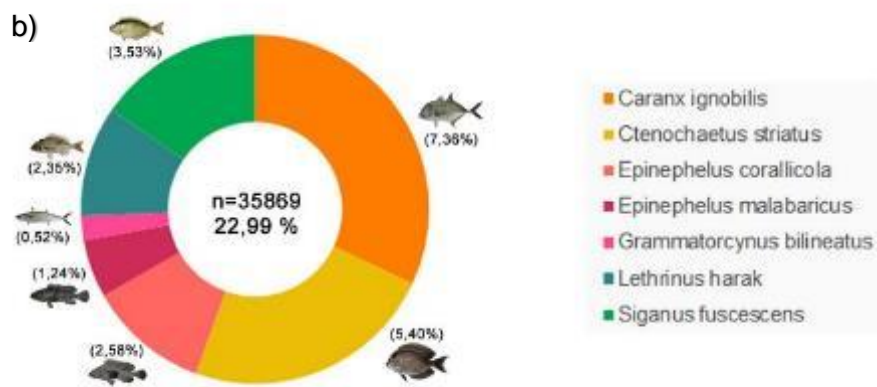
Hasil dari analisis data kelimpahan relatif ikan terumbu berdasarkan kelimpahan genetiknya. Nilai kelimpahan relatif disajikan dalam nilai presentase kelimpahan relatif kelompok ikan terumbu dibandingkan kelompok ikan non terumbu. Berikut ini merupakan uraian hasil perhitungan kelimpahan relatif dari Stasiun Selat Muli dan Stasiun Muara Sungai Digul.

#### 4.2.1.1 Stasiun Selat Muli

Pada Stasiun Selat Muli terbaca sebanyak 156.032 sekuens, dengan rincian sebanyak 35869 (22,99 %) sekuens merupakan sekuens dari kelompok ikan terumbu family Acanthuridae, Carangidae, Lethrinidae, Scombridae, Serranidae, dan Siganidae dan sisanya sebanyak 120163 (77,01 %) sekuens merupakan sekuens dari kelompok ikan lain seperti family Scombridae, Sillaginidae, Mugilidae, Terapontidae, dan Nemacheilidae (Gambar 12a). Spesies ikan terumbu yang terdeteksi pada stasiun Selat Muli berjumlah 7 spesies beserta kelimpahan relatifnya disajikan pada Gambar 12b yang meliputi *Caranx ignobilis* (7,36 %), *Ctenochaetus striatus* (5,40 %), *Epinephelus corallicola* (2,58%), *Epinephelus malabaricus* (1,24%), *Grammatorcynus bilineatus* (0,52%), *Lethrinus* *harak* (2,35 %), dan *Siganus fuscescens* (3,53 %).

a)





Gambar 12 (a) Diagram presentase kelompok ikan terumbu terhadap kelompok ikan lain. (b) Presentase kelimpahan relatif ikan terumbu.

Tabel 5. Sekuens terbaca pada titik sampling Stasiun Selat Muli

Titik sampling	Total sekuens terbaca		Total sekuens
	Ikan terumbu	Non-ikan terumbu	
Muli 1	15237	9392	24629
Muli 2	-	8385	8385
Muli 3	1451	11308	12759
Muli 4	7698	6571	14269
Muli 5	-	17504	17504
Muli 6	-	21175	21175
Muli 7	-	28280	28280
Muli 8	11483	-	11483
Muli 9	-	17548	17548
<b>Total sekuens</b>	<b>35869</b>	<b>120163</b>	<b>156032</b>

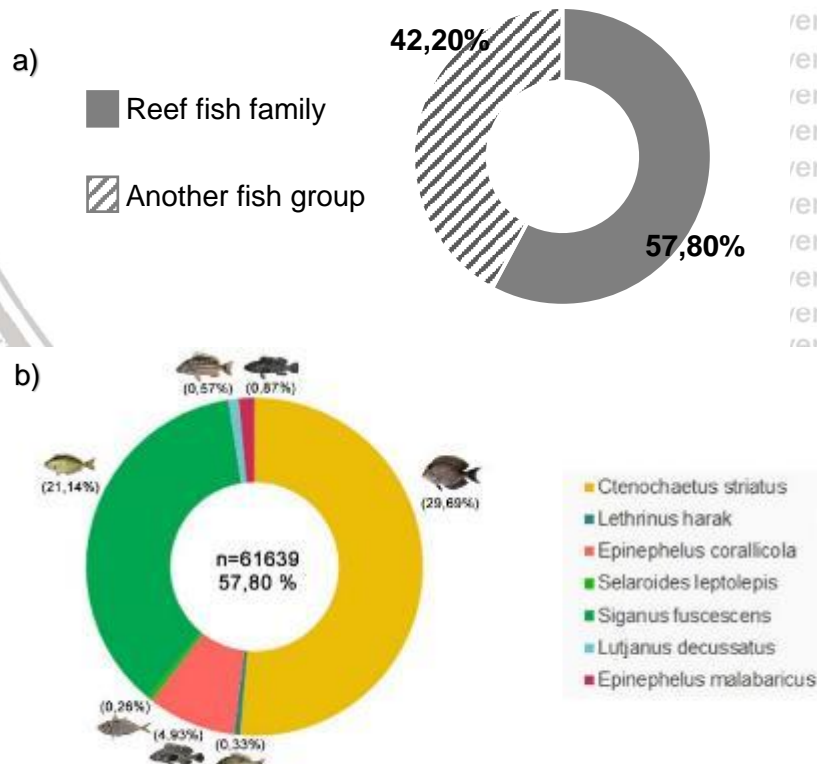
Hasil dari pembacaan sekuens yang terdapat pada tiap titik sampling pada Stasiun Selat Muli disajikan pada Tabel 5. Terdapat 4 titik sampling yang berhasil mendeteksi sekuens ikan terumbu, sedangkan 4 titik lainnya tidak membaca adanya sekuens ikan terumbu pada titik sampling tersebut. Hasil pembacaan sekuens ikan terumbu tertinggi terdapat pada titik sampling Muli 1. Sedangkan hasil pembacaan sekuens ikan terumbu paling rendah terdapat pada titik sampling Muli 3.



#### 4.2.1.1 Stasiun Muara Sungai Digul

Pada Stasiun Muara Sungai Digul terbaca sebanyak 106.649 sekuens, dengan rincian sebanyak 61639 (57,80 %) sekuens merupakan sekuens dari kelompok ikan terumbu family Acanthuridae, Carangidae, Lethrinidae, Scombridae, Serranidae, dan Siganidae dan sisanya sebanyak 120163 (77,01 %) sekuens merupakan sekuens dari kelompok ikan lain seperti family Channidae, Cyprinidae, Mugilidae, Nemachellidae, Osphronemidae, Scombridae, Sillaginidae, Sisoridae, dan Therapontidae (Gambar 13a). Berdasarkan hasil penelitian diketahui

bahwa terdapat tujuh spesies ikan terumbu yang terdeteksi di Stasiun Muara Sungai Digul. Tujuh spesies ikan terumbu yang terdeteksi beserta kelimpahan relatifnya diantaranya disajikan pada gambar 13b dengan rincian yaitu *Ctenochaetus striatus* (29,69%), *Lethrinus harak* (0,33%), *Epinephelus coralicola* (4,93%), *Selaroides leptolepis* (0,26%), *Siganus fuscescens* (21,14%), *Lutjanus decussatus* (0.57 %). dan *Epinephelus malabaricus* (0.87 %).



Gambar 13 (a) Diagram presentase kelompok ikan terumbu terhadap kelompok ikan lain. (b) Presentase kelimpahan relatif ikan terumbu.

Tabel 6. Sekuens terbaca pada titik sampling Stasiun Muara Sungai Digul

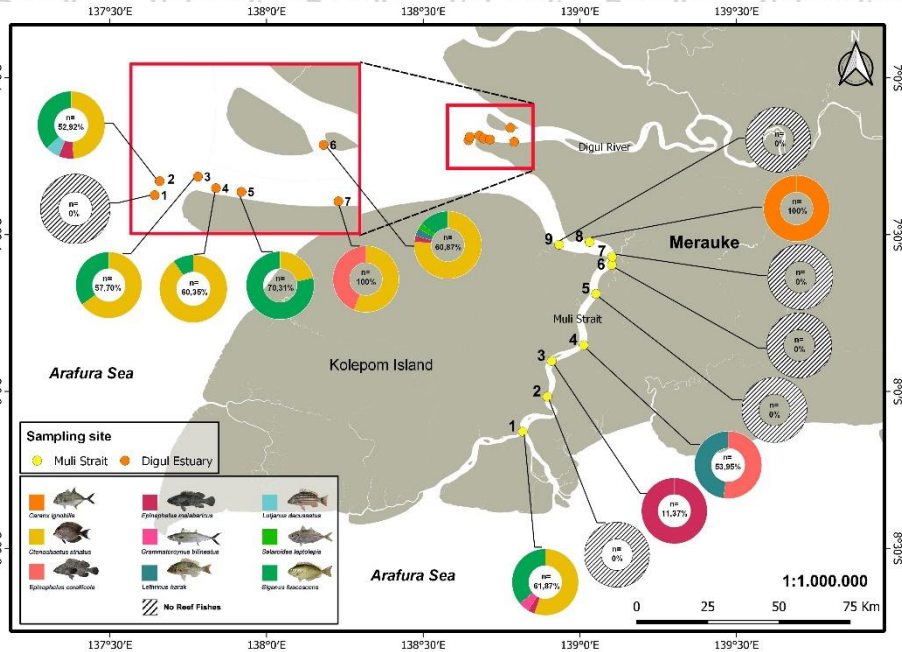
Titik sampling	Total sekuens terbaca		Total sekuens
	Ikan terumbu	Non-ikan terumbu	
Digul 1	-	14226	14226
Digul 2	8946	7959	16905
Digul 3	7609	5578	13187
Digul 4	4615	3032	7647
Digul 5	18725	7908	26633
Digul 6	9811	6307	16118
Digul 7	11933	-	11933
<b>Total sekuens</b>	<b>61639</b>	<b>45010</b>	<b>106649</b>

Pada Tabel 6 didapatkan bahwa sebanyak 6 titik sampling di Stasiun Muara Sungai Digul berhasil mendeteksi adanya sekuens dari ikan terumbu. Sedangkan hanya 1 titik sampling saja yang tidak mendeteksi adanya sekuens ikan terumbu yaitu pada titik 1. Jumlah sekuens terbaca yang terbanyak ditemukan di Stasiun Muara Sungai Digul terdapat pada titik 5. Sedangkan sekuens terbaca terendah terdapat pada titik 4.

#### 4.2.2 Distribusi Keanekaragaman Spesies Ikan Terumbu

Distribusi spesies pada lokasisi penelitian disajikn pada Gambar 14. Dari data tersebut menunjukkan bahwa pada Stasiun Selat Muli, spesies ikan terumbu yang terdeteksi pada Titik 1 berjumlah 4 spesies diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus*, *Epinephelus malabaricus*, *Grammatorcynus bilineatus*, dan *Siganus fuscescens*. Kemudian didapatkan tidak terdeteksinya spesies ikan terumbu pada Titik 2. Pada Titik 3 hanya terdeteksi 1 spesies yaitu *Epinephelus malabaricus*. Pada Titik 4 terdeteksi sebanyak 2 spesies diantaranya yaitu *Epinephelus corallicola* dan *Lethrinus harak*. Titik 5, 6 dan 7 memberikan hasil serupa dengan Titik 2 yaitu tidak mendeteksi adanya spesies ikan terumbu. Selanjutnya pada Titik 8 hanya berhasil mendeteksi 1 spesies yaitu *Caranx ignobilis*. Pada Titik 9 tidak terdeteksi adanya spesies ikan terumbu.





Gambar 14. Peta rangkuman distribusi spesies ikan terumbu di Stasiun Selat Muli dan Muara Sungai Digul, Merauke.

Hasil yang dapat dilihat dari (Gambar 14) menunjukkan bahwa pada lokasi penelitian Stasiun Muara Sungai Digul pada Titik 1 tidak mendeteksi adanya spesies ikan terumbu. Pada Titik 2 terdeteksi sebanyak 4 spesies ikan terumbu diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus*, *Ephinephelus malabaricus*, *Lethrinus decussatus* dan *Siganus fuscescens*. Pada Titik 3, 4 dan 5 mendeteksi sebanyak 2 spesies ikan terumbu yang sama yaitu *Ctenochaetus striatus* dan *Siganus fuscescens*. Pada Titik 6 terdeteksi sebanyak 5 spesies ikan terumbu diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus*, *Ephinephelus malabaricus*, *Lethrinus harak*, *Selaroides leptolepis*, dan *Siganus fuscescens*. Selanjutnya pada Titik 7 terdeteksi sebanyak 2 spesies ikan terumbu diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus* dan *Ephinephelus malabaricus*.

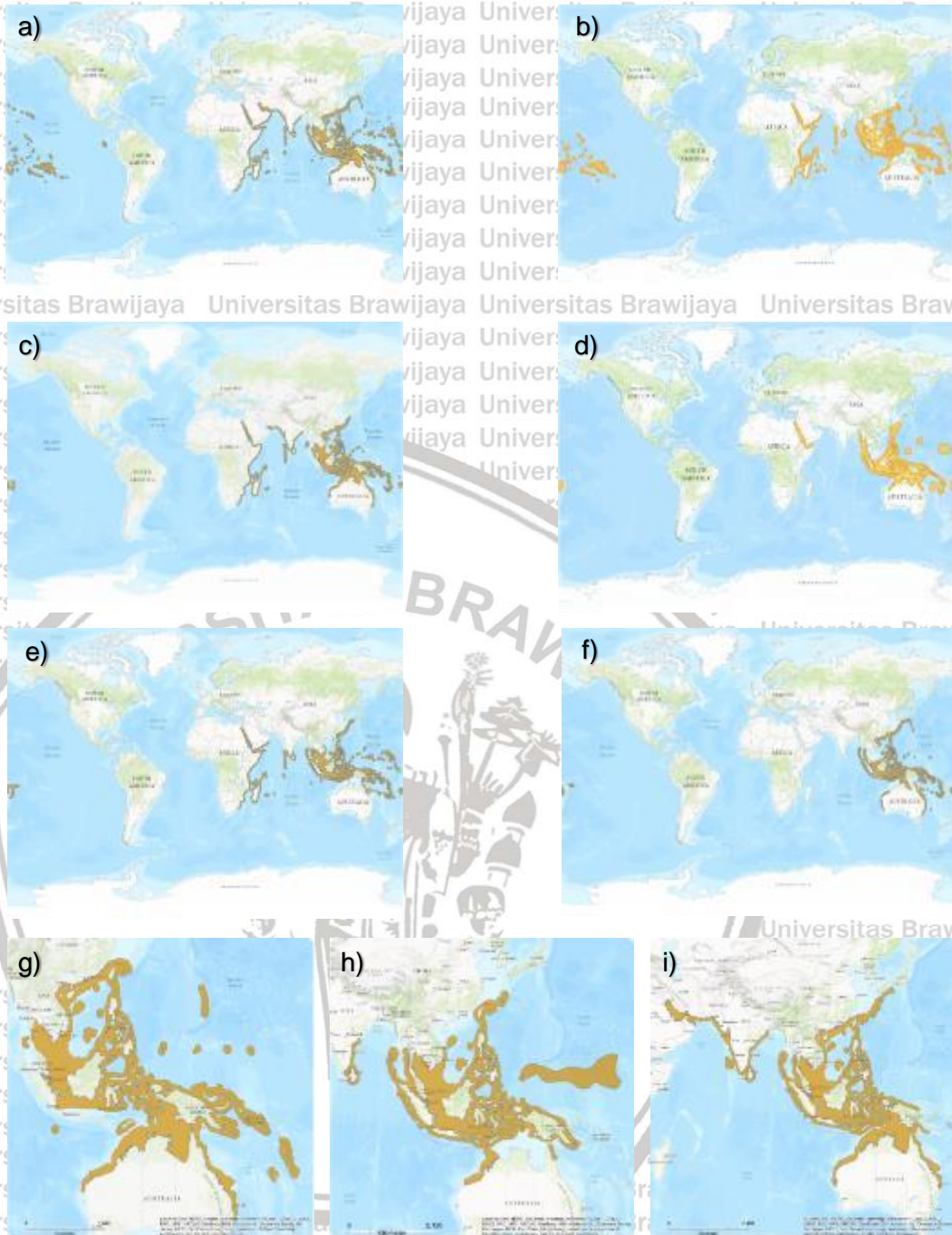
Penelitian ini berhasil menunjukkan distribusi spesies ikan terumbu yang teridentifikasi di perairan Selat Muli dan Muara Sungai Digul yang disajikan pada Gambar 14. Kedua Stasiun yaitu Stasiun Selat Muli dan Muara Sungai Digul sama-

sama memiliki 7 jumlah spesies yang terdeteksi dan keduanya memiliki 5 spesies ikan terumbu yang sama jenis dan 2 spesies ikan terumbu yang berbeda pada masing-masing stasiun. Sebanyak 5 spesies ikan terumbu yang terdeteksi berada pada Stasiun Selat Muli dan Muara Sungai Digul diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus*, *Ephinepelus corallicola*, *Ephinepelus malabaricus*, *Lethrinus harak*, dan *Siganus fuscescens*. Selanjutnya untuk 2 spesies ikan terumbu yang berbeda pada masing masing spesies yaitu pada Stasiun Selat Muli terdapat *Caranx ignobilis* dan *Grammatocyrnus bilineatus*, sedangkan pada Stasiun Muara Sungai Digul yaitu *Lutjanus decussatus*, dan *Selaroides leptolepis*.



Gambar 15 Diagram venn distribusi spesies pada Stasiun Selat Muli dan Muara Sungai Digul





Gambar 16. Peta persebaran distribusi a) *Caranx ignobilis* (Smith-Vaniz dan Williams, 2016); b) *Ctenochaetus striatus* (Choat et al., 2012); c) *Epinephelus malabaricus* (Samoilys et al., 2018); d) *Grammatorcynus bilineatus* (Collete et al., 2011); e) *Lethrinus harak* (Carpenter et al., 2016); g) *Siganus fuscescens* (Carpenter et al., 2016); h) *Epinephelus corallicolus* (Rhodes et al., 2018); i) *Lutjanus decussatus* (Curtis-Quick, 2010); j) *Selaroides leptolepis* (Smith-Vaniz dan Williams, 2016).

Ket:  Sebaran spesies

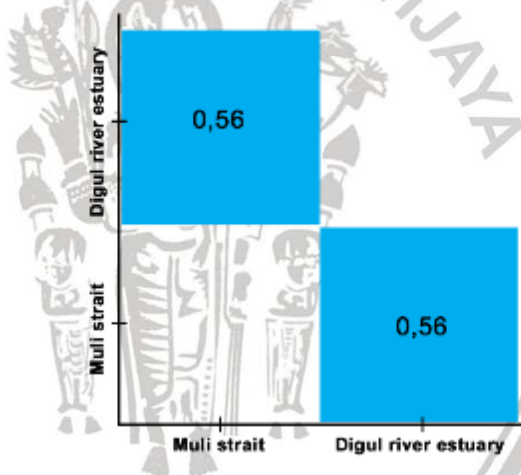
#### 4.2.1.1 Indeks Kesamaan Keekaragaman Spesies Ikan Terumbu

Nilai kesamaan keekaragaman spesies ikan terumbu dihitung berdasarkan indeks jaccard yang diperoleh dari jumlah spesies yang terdeteksi.

Nilai kesamaan keekaragaman berdasarkan indeks jaccard diperoleh nilai sebesar 0,56. Berdasarkan nilai tersebut dapat menunjukkan bahwa kedua stasiun

Selat Muli dan Muara Sungai Digul menunjukkan nilai kesamaan keekaragaman yang relatif tinggi (*midway*) dengan kedua Stasiun memiliki lebih dari setengah jumlah spesies yang sama. Diagram dibawah ini menunjukkan nilai kesamaan keekaragaman spesies ikan terumbu di kedua stasiun (Gambar 12).

Gambar 17. Nilai indeks jaccard kesamaan keekaragaman spesies



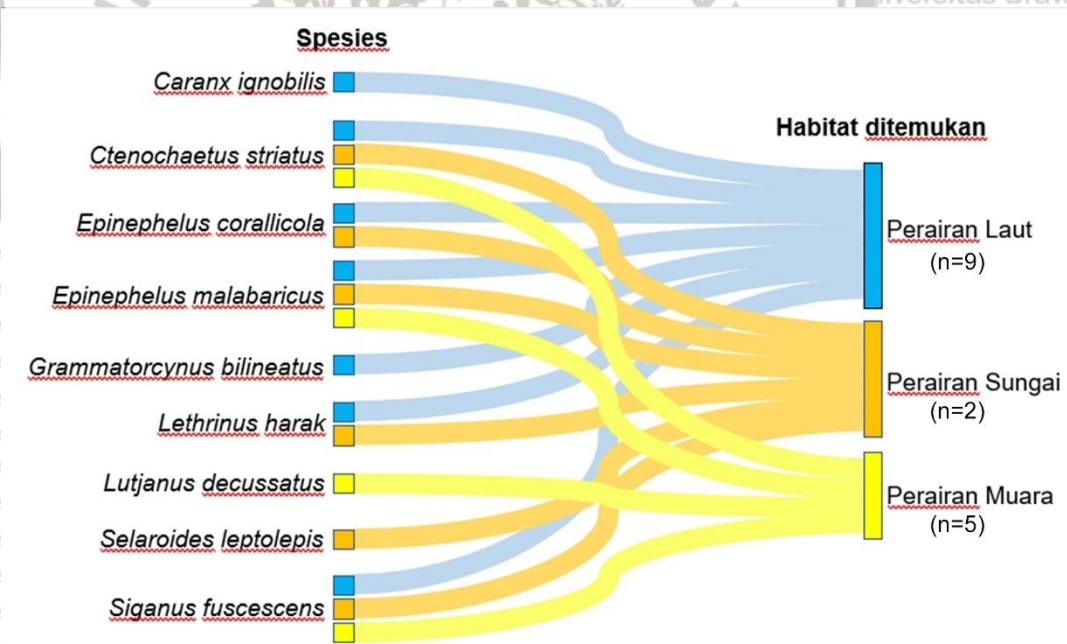
Indeks Jaccard (1991):

- 0% menunjukkan tidak ada kesamaan jenis individu pada kedua populasi
- 50% menunjukkan kedua populasi masing-masing memiliki lebih dari separuh jenis individu (*midway*)
- 100% menunjukkan kesamaan seluruh inidividu pada kedua populasi, semakin tinggi indeks populasi maka similiaritas semakin tinggi



#### 4.2.1.2 Preferensi Tipe Habitat Spesies yang Terdeteksi

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan informasi mengenai kondisi lokasi pengambilan sampel yang didasarkan pada kondisi habitat. Beberapa habitat tersebut merupakan habitat perairan laut (n=9), perairan muara atau estuary (n=5) dan perairan sungai (n=2) yang masih mendapat efek dari perairan laut. Ketiga habitat ini kemudian disesuaikan dengan lokasi pengambilan sampel. Kehadiran spesies ikan terumbu pada tiap-tiap lokasi sampling erat kaitannya dengan kondisi habitat perairan. Dari Tabel 7 diperoleh bahwa sebanyak 7 spesies dapat terdeteksi pada habitat perairan laut, kemudian sebanyak 4 spesies dapat ditemukan pada habitat muara/estuary, dan selanjutnya sebanyak 6 spesies dapat ditemukan pada habitat perairan sungai yang masih memiliki pengaruh dari laut lepas. Preferensi habitat spesies terdeteksi disajikan pada Gambar 18 dibawah ini.



Gambar 18. Diagram preferensi habitat spesies terdeteksi

### 4.3 Pembahasan

#### 4.3.1 Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu

Analisis DNA kedua stasiun menghasilkan sebanyak 262.681 sekuens yang terbaca. Sebanyak 106.649 sekuens terbaca pada Stasiun Selat Muli dan sebanyak 156.032 sekuens terbaca di Stasiun Muara Sungai Digul. Pada Stasiun Selat Muli total sekuens yang terbaca sebanyak 35869 sekuens (22,99 %).

Sekuens spesies *Caranx ignobilis* menyusun sebanyak 7,36 % dari total sekuens ikan terumbu yang terbaca. Sedangkan pada Stasiun Muara Sungai Digul, jumlah sekuens terbaca sebanyak 61639 sekuens (57,80 %). Sekuens spesies *Ctenochaetus striatus* terbaca sebanyak 29,69 % dari total sekuens yang terbaca.

Hasil sekuens dari spesies *Caranx ignobilis* hanya terbaca pada Stasiun Selat Muli, sedangkan sekuens terbaca spesies *Ctenochaetus striatus* dapat ditemukan di kedua Stasiun penelitian. *Caranx ignobilis* ditemukan pada berbagai habitat mulai dari terumbu karang, batuan, dasar berpasir dan berlumpur (Smith-Vaniz dan Williams, 2016). Pada tahap reproduksi spesies ini memijah pada kawasan mangrove yang berlumpur (Maherung *et al.*, 2018). Sementara spesies *Ctenochaetus striatus* ini dapat ditemukan diberbagai habitat mulai dari laguna hingga terumbu di lautan. Spesies ini biasa ditemukan pada habitat berpasir ataupun dasar yang berbatu (Choat *et al.*, 2012).

Perbedaan jumlah sekuens yang terbaca pada tiap Stasiun dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Berdasarkan Stewart (2019), keberhasilan deteksi ataupun kelimpahan relatif spesies dari lingkungan perairan dipengaruhi oleh faktor biotik dan faktor abiotik. Faktor biotik merupakan faktor internal dari spesies tertentu terkait jumlah materi genetik (mengandung DNA didalamnya) yang terlepas atau lepas dari tubuh spesies target. Faktor abiotik merupakan faktor luar yang dapat berupa proses meleburnya materi genetik pada lingkungan.



Keberadaan DNA di lingkungan didapatkan dari materi genetik suatu spesies yang terlepas ke lingkungan. Sumber materi genetik ini dapat berasal dari feses, mucus, gamet, kulit, rambut, hingga bangkai yang berpengaruh terhadap deteksi kelimpahan genetic (Pilliod *et al.*, 2013).

Selain itu pada lingkungan perairan, materi genetik yang mengandung DNA di lingkungan di delusi dan didistribusi oleh arus dan proses hidrologi lainnya.

Diperkirakan sekitar 7-21 hari materi genetik mampu mempertahankan kondisi DNA baik secara kualitatif dan kuantitatif pada kondisi lingkungan. Beberapa kondisi lingkungan yang mempengaruhi kelimpahan materi genetik di lingkungan antara lain radiasi UVB, salinitas, pemanasan, endo dan ekso nucleus dapat mendegradasi DNA dari lingkungan (Dejean *et al.*, 2011; Pilliod *et al.*, 2014).

#### 4.3.2 Distribusi Keanekaragaman Spesies Ikan Terumbu

Distribusi keanekaragaman ikan yang diperoleh dari analisis menggunakan DNA Lingkungan mendeteksi total 9 spesies ikan terumbu yang berada pada 2 stasiun penelitian. Sebanyak masing-masing 7 spesies terdeteksi pada Stasiun Selat Muli dan Muara Sungai Digul. Dari hasil diagram venn (Gambar 15) didapatkan bahwa terdapat 5 spesies yang dapat terdeteksi di kedua Stasiun baik Stasiun Selat Muli dan Stasiun Muara Digul. Kelima spesies ikan terumbu tersebut adalah *Ctenochaetus striatus*, *Ephinepelus corallicola*, *Ephinepelus malabaricus*, *Lethrinus harak*, dan *Siganus fuscescens*. Selanjutnya untuk 2 spesies ikan terumbu yang berbeda pada masing masing spesies yaitu pada Stasiun Selat Muli terdapat *Caranx ignobilis* dan *Grammatocynus bilineatus*, sedangkan pada Stasiun Muara Sungai Digul yaitu *Lutjanus decussatus* dan *Selaroides leptolepis*.

Sebanyak 2 spesies yang hanya terdeteksi pada Selat Muli diantaranya yaitu *Caranx ignobilis* dan *Grammatocynus bilineatus* memiliki preferensi habitat pada perairan laut yang seuai dengan karakteristik lokasi Selat Muli yang merupakan



selat yang berhadapan dengan Laut Arafura. *Caranx ignobilis* spesies ini memiliki persebaranyang luas pada daerah tropis di Indo-Pasifik, Afrika Timur, Laut Merah, Teluk Persia, Jepang hingga Hawaii (Gambar 16a). Kisaran kedalaman bagi habitat spesies ini antara 10 sampai 188 m. Spesies ini dapat ditemukan pada berbagai habitat seperti mulai dari terumbu karang, batuan, dasar berpasir dan berlumpur. Pada tahap Juvenile spesies ini dapat ditemukan pada dasar pantai berpasir dan kadang-kadang di muara yang keruh (Smith-Vaniz dan Williams, 2016). Genus *Caranx* melakukan migrasi di daerah pasang surut mengikuti naik-turunnya air pasang. Migrasi ini dilakukan untuk mencari makan, melindungi diri dari predator dan memijah pada Kawasan mangrove yang berlumpur (Maherung *et al.*, 2018).

Sementara spesies *Grammatorcynus bilineatus* dapat ditemukan pada wilayah barat Indo-Pasifik mulai dari Laut Merah hingga Laut Andaman, Jepang hingga Utara Australia (Gambar 16d). Spesies ini berasosiasi dengan terumbu karang dan bersifat *oceanodromus*. Habitatnya bisa ditemukan mulai dari perairan terbuka dan biasa juga ditemukan pada wilayah sekitar terumbu karang. Tipe spesies pelagis yang juga bisa ditemukan diatas terumbu karang (White *et al.*, 2013). Spesies ini menempati kedalaman perairan yang dangkal yaitu kurang dari 15 m. Kebanyakan ditemukan pada wilayah karang yang dangkal secara berkelompok (Collete *et al.*, 2011).

Sebanyak 2 spesies yang hanya terdeteksi pada Muara Sungl Digul yaitu *Lutjanus decussatus* dan *Selaroides leptolepis*. Kedua spesies ini memiliki preferensi habitat yang sama pada wilayah perairan laut, namun kedua spesies ini juga melakukan migrasi ke wilayah muara serta ekosistem mangrove untuk mencari makan, berlindung, dan memijah. Distribusi spesies *Lutjanus decussatus* meliputi India Tenggara dan Sri Lanka hingga Papua Nugini, Jepang, hingga ke Australia Utara (Gambar 16i). Habitat dari spesies ini yaitu terumbu karang dan



lereng berpasir pada sekitar terumbu karang. Kisaran kedalaman habitat berkisar antara 2-30 m. Ikan ini juga biasa didapatkan pada wilayah terumbu karang lepas pantai (Curtis-Quick, 2010). Genus *Lutjanus* melakukan pemijahan dengan beruaya ke beberapa tempat seperti daerah mangrove, laguna, ataupun lereng karang yang terhubung langsung dengan lautan. Kelompok ikan ini akan membentuk kelompok yang besar pada waktu tertentu saat melakukan pemijahan (Oktaviyani, 2018).

Selanjutnya *Selaroides leptolepis* merupakan kelompok Carangidae yang dapat ditemukan secara umum pada Barat Indo-Pasifik mulai dari Teluk Persia hingga Jepang, Australia dan Timur India. Spesies ini menempati habitat yang memiliki dasar lunak. Kedalaman habitat spesies ini diperkirakan kurang dari 50 m (Gambar 16j). Spesies ini diketahui kadang-kadang berpindah ke air tawar seperti zona pasang surut ataupun delta muara sungai (Smith-Vaniz dan Williams, 2016). Kelompok ikan Carangidae pelagis melakukan migrasi baik vertical ataupun horizontal di perairan terbuka hingga daerah pasang surut mengikuti naik-turunnya air pasang. Migrasi ini dilakukan untuk mencari makan, melindungi diri dari predator dan memijah (Ibrahim *et al.*, 2016); Maherung *et al.*, 2018).

Sebanyak 5 spesies ikan terumbu yang dapat ditemukan pada masing-masing stasiun (Gambar 16) diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus*, spesies ini dapat ditemukan diberbagai habitat mulai dari laguna hingga terumbu di lautan. Spesies ini biasa ditemukan pada habitat berpasir ataupun dasar yang berbatu (Choat *et al.*, 2012). Sebanyak 2 spesies family Serranidae yang terdeteksi yaitu

*Epinephelus corallicola* dan *Epinephelus malabaricus* yang menempati habitat mulai dari terumbu karang, batuan, estuari hingga rawa mangrove yang berlumpur. Pada saat juvenile kelompok ikan ini akan memijah pada kawasan estuary (Samoilys *et al.*, 2018; Sugianti, 2020). *Lethrinus harak* dapat ditemukan pada habitat dangkal berpasir, pecahan karang, mangrove, laguna, lamun dan



terumbu karang pantai. Spesies ini memanfaatkan habitat laguna dan mengrove sebagai wilayah asuhan bagi *juvenile* dan berpindah pada wilayah terumbu karang pada tahap dewasa (Carpenter dan Myers, 2016). Selanjutnya *Siganus fuscescens* biasa ditemui pada habitat perairan pantai yang dangkal pada lamun, alga hingga terumbu karang (Carpenter dan Myers, 2016). Selain itu family Siganidae juga memperlihatkan preferensi habitat yang beragam termasuk daerah estuari hingga ke daerah mangrove (Latuconsina *et al.*, 2020).

#### 4.3.2.1 Preferensi Habitat Spesies

Berdasarkan lokasi pengambilan sampel dan pengamatan secara visual didapatkan sebanyak 3 tipe habitat pada lokasi penelitian. Habitat perairan laut (n=9) yang terletak sepanjang lokasi sampling Stasiun Selat Muli memiliki kecepatan arus yang berkisar antara 0,1 – 0,28 m/s, dengan nilai kisaran salinitas sebesar 3-15 Psu, kemudian nilai temperatur berkisar antara 26,3 - 32,8 °C. Pada habitat perairan laut ini ditemukan sebanyak 7 spesies diantaranya *Caranx ignobilis*, *Ctenochaetus striatus*, *Epinephelus corallicola*, *Epinephelus malabaricus*, *Grammatorcynus bilineatus*, *Lethrinus harak*, dan *Siganus fuscescens*.

Selanjutnya pada habitat perairan muara (n=9) yang terletak pada pada Stasiun Muara Sungai digul dengan nilai kecepatan arus berkisar antara 0,21-0,22 m/s, dengan nilai salinitas sebesar 5-15 Psu, kemudian nilai temperatur berkisar antara 27-27,9 °C. Pada habitat perairan muara ini ditemukan sebanyak 4 spesies diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus*, *Epinephelus malabaricus*, *Lutjanus decussatus*, dan *Siganus fuscescens*. Kemudian terdapat habitat perairan sungai (n=2) yang masih mendapat pengaruh dari pasang surut air laut yang terletak pada Stasiun Muara Sungai Digul. Beberapa parameter seperti kecepatan arus berkisar antara 0,19-0,2 m/s, dengan nilai salinitas sebesar 1 dan 15, serta



nilai dari temperature perairan sebesar 23,3 °C dan 28,1 °C. Pada habitat perairan muara ini ditemukan sebanyak 6 spesies diantaranya yaitu *Ctenochaetus striatus*, *Epinephelus corallicola*, *Epinephelus malabaricus*, *Lethrinus harak*, *Selaroides leptolepis* dan *Siganus fuscescens*.

Hasil dari deteksi distribusi spesies menunjukkan bahwa terdapat 3 spesies yang memiliki preferensi habitat pada ketiga habitat diatas. Ketiga spesies tersebut antara lain *Ctenochaetus striatus*, *Epinephelus malabaricus*, dan *Siganus fuscescens*. Preferensi habitat spesies seperti *Ctenochaetus striatus*, spesies ini dapat ditemukan diberbagai habitat mulai dari laguna hingga terumbu di lautan.

Spesies ini biasa ditemukan pada habitat berpasir atapun dasar yang berbatu (Choat *et al.*, 2012). Selanjutnya salah satu spesies family Serranidae yaitu *Epinephelus malabaricus* memiliki preferensi habitat menempati habitat mulai dari terumbu karang, batuan, estuari hingga rawa mangrove yang berlumpur. Pada saat juvenile kelompok ikan ini akan memijah pada Kawasan estuary (Samoily *et al.*, 2018; Sugianti, 2020). Selanjutnya *Siganus fuscescens* memiliki preferensi habitat pada perairan pantai yang dangkal pada lamun, alga hingga terumbu karang (Carpenter dan Myers, 2016), Selain itu family Siganidae juga memperlihatkan preferensi habitat yang beragam termasuk daerah estuari hingga ke daerah mangrove (Latuconsina *et al.*, 2020).

Sebanyak 2 spesies yang hanya ditemukan pada habitat perairan laut yaitu *Caranx ignobilis* dan *Grammatorcynus bilineatus*. Spesies *Caranx ignobilis* memiliki preferensi habitat seperti mulai dari terumbu karang, batuan, dasar berpasir dan berlumpur. Kisaran kedalaman bagi habitat spesies ini antara 10 sampai 188 m.

Pada tahap Juvenile spesies ini dapat ditemukan pada dasar pantai berpasir dan kadang-kadang di muara yang keruh (Smith-Vaniz dan Williams, 2016). Genus *Caranx* melakukan migrasi di daerah pasang surut mengikuti naik-turunnya air pasang. Migrasi ini dilakukan untuk mencari makan, melindungi diri dari predator



dan memijah pada Kawasan mangrove yang berlumpur (Maherung *et al.*, 2018).

Spesies *Grammatorcynus bilineatus* ini berasosiasi dengan terumbu karang dan bersifat oceanodromus. Preferensi habitatnya yaitu mulai dari perairan terbuka dan pada wilayah sekitar terumbu karang. Spesies ini menempati kedalaman perairan yang dangkal yaitu kurang dari 15 m. Kebanyakan ditemukan pada wilayah karang yang dangkal secara berkelompok (Collete *et al.*, 2011).

Pada habitat perairan muara juga ditemukan 1 spesies yang hanya dapat ditemukan di habitat ini yaitu *Lutjanus decussatus*. Spesies ini memiliki preferensi habitat terumbu karang dan lereng berpasir pada sekitar terumbu karang. Kisaran kedalaman habitat berkisar antara 2-30 m. Ikan ini juga biasa didapatkan pada wilayah terumbu karang lepas pantai (Curtis-Quick, 2010). Genus *Lutjanus* melakukan pemijahan dengan beruaya ke beberapa tempat seperti daerah mangrove, laguna, ataupun lereng karang yang terhubung langsung dengan lautan. Kelompok ikan ini akan membentuk kelompok yang besar pada waktu tertentu saat melakukan pemijahan (Oktaviyani, 2018).

Kemudian juga terdapat 1 spesies yang juga hanya dapat ditemukan pada habitat perairan sungai yaitu *Selaroides leptolepis*. Spesies ini memiliki preferensi habitat yang memiliki dasar lunak dengan kedalaman diperkirakan kurang dari 50 m. Spesies ini diketahui kadang-kadang berpindah ke air tawar seperti zona pasang surut ataupun delta muara sungai (Smith-Vaniz dan Williams, 2016).

Kelompok ikan Carangidae pelagis melakukan migrasi baik vertical ataupun horizontal di perairan terbuka hingga daerah pasang surut mengikuti naik-turunnya air pasang. Migrasi ini dilakukan untuk mencari makan, melindungi diri dari predator dan memijah (Ibrahim *et al.*, 2016); Maherung *et al.*, 2018).



## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dalam penelitian “Aplikasi DNA Lingkungan (eDNA) Dalam Mengidentifikasi Keragaman Dan Kelimpahan Relatif Ikan Terumbu

Di Perairan Selat Muli Dan Muara Sungai Digul, Kabupaten Merauke”, yaitu:

1. Analisis DNA Lingkungan mendeteksi Kelimpahan relatif sembilan spesies ikan terumbu pada kedua stasiun dengan rincian pada stasiun Selat Muli kelimpahan relatif tertinggi terdapat pada spesies *Caranx ignobilis*, sedangkan kelimpahan relatif tertinggi pada Stasiun Muara Sungai Digul terdapat pada spesies *Ctenochaetus striatus*.
2. Distribusi sembilan spesies pada Stasiun Selat Muli dan Stasiun Muara Sungai Digul dengan sebanyak lima spesies yang sama yang dapat ditemukan pada kedua Stasiun dengan indeks kesamaan keanekaragaman yang tergolong tinggi (*midway*).

### 5.2 Saran

Untuk mengurangi faktor bias dalam penelitian deteksi dan kelimpahan ikan terumbu menggunakan DNA lingkungan sebaiknya dilakukan pengukuran parameter lingkungan yang berulang dan memperhatikan nilai keakuratan pada titik-titik pengambilan sampel air.

## DAFTAR PUSTAKA

Andriyono, S., Alam, M. J., & Kim, H. W. (2019). Environmental DNA (eDNA) metabarcoding: Diversity study around the pondok dadap fish landing station, Malang, Indonesia. *Biodiversitas*, 20(12), 3772–3781. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201241>

Appeldoorn, R. S., Aguilar-Perera, A., Bouwmeester, B. L. K., Dennis, G. D., Hill, R. L., Merten, W., Recksiek, C. W., & Williams, S. J. (2009). Movement of fishes (Grunts: Haemulidae) across the coral reef seascape: A review of scales, patterns and processes. *Caribbean Journal of Science*, 45(2–3), 304–316. <https://doi.org/10.18475/cjos.v45i2.a16>

Artati, D. (2013). Sensitivitas gel red sebagai pewarna DNA pada gel elektroforesis. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 11(1), 11–14.

Bakker, J., Wangensteen, O. S., Chapman, D. D., Boussarie, G., Buddo, D., Guttridge, T. L., Hertler, H., Mouillot, D., Vigliola, L., & Mariani, S. (2017). Environmental DNA reveals tropical shark diversity in contrasting levels of anthropogenic impact. *Scientific Reports*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17150-2>

Bangol, I., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA Tumbuhan Pangi (Pangium edule R.) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA*, 3(2), 113. <https://doi.org/10.35799/jm.3.2.2014.5862>

Behjati, S., & Tarpey, P. S. (2013). What is next generation sequencing? *Archives of Disease in Childhood: Education and Practice Edition*, 98(6), 236–238. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-304340>



Bessey, C., Jarman, S. N., Berry, O., Olsen, Y. S., Bunce, M., Simpson, T., Power, M., McLaughlin, J., Edgar, G. J., & Keesing, J. (2020). Maximizing fish detection with eDNA metabarcoding. *Environmental DNA*, 2(4), 493–504.

<https://doi.org/10.1002/edn3.74>

Boussarie, G., Bakker, J., Wangensteen, O. S., Mariani, S., Bonnin, L., Juhel, J.

B., Kiszka, J. J., Kulbicki, M., Manel, S., Robbins, W. D., Vigliola, L., &

Mouillot, D. (2018). Environmental DNA illuminates the dark diversity of

sharks. *Science Advances*, 4(5). <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap9661>

Budiarto, B. R. (2015). Polymerase Chain Reaction (Pcr): Perkembangan Dan

Perannya Dalam Diagnostik Kesehatan. *Polymerase Chain Reaction (Pcr):*

*Perkembangan Dan Perannya Dalam Diagnostik Kesehatan*, 6(2), 29–38.

Carpenter, K.E., Lawrence, A. & Myers, R. (2016). *Lethrinus harak*. The IUCN Red

List of Threatened Species 2016: e.T16720022A16722390.

<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20163.RLTS.T16720022A167223>

90.en.

Carpenter, K.E., Lawrence, A. & Myers, R. (2016). *Siganus fuscescens*. The IUCN

Red List of Threatened Species 2016: e.T69689554A115469581.

<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20163.RLTS.T69689554A696903>

44.en.

Choat, J.H., Clements, K.D., McIlwain, J., Abesamis, R., Myers, R., Nanola, C.,

Rocha, L.A., Russell, B. & Stockwell, B. (2012). *Ctenochaetus striatus*.

The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T178012A1520757.

<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T178012A1520757.en>

Collette, B., Chiang, W., Di Natale, A., Fox, W., Juan Jorda, M. & Nelson, R. (2011).

Grammatorcynus bilineatus. The IUCN Red List of Threatened Species  
2011: e.T170358A6768577. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T170358A6768577.en>.

Collins, R. A., Bakker, J., Wangensteen, O. S., Soto, A. Z., Corrigan, L., Sims, D. W., Genner, M. J., & Mariani, S. (2019). Non-specific amplification compromises environmental DNA metabarcoding with COI. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(11), 1985–2001. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13276>

Curtis-Quick, J. (2010). Lutjanus decussatus. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T155089A115270971. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T155089A4698115.en>.

Darling, J. A., & Mahon, A. R. (2011). From molecules to management: Adopting DNA-based methods for monitoring biological invasions in aquatic environments. *Environmental Research*, 111(7), 978–988. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.02.001>

Dejean, T., Valentini, A., Duparc, A., Pellier-Cuit, S., Pompanon, F., Taberlet, P., & Miaud, C. (2011). Persistence of environmental DNA in freshwater ecosystems. *PLoS ONE*, 6(8), 8–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023398>

English, S., Wilkinson, C., & Baker, V. (1998). Survey manual for tropical marine resources. Second edition. *Survey Manual for Tropical Marine Resources. Second Edition*.

Ficetola, G. F., Miaud, C., Pompanon, F., & Taberlet, P. (2008). Species detection



using environmental DNA from water samples. *Biology Letters*, 4(4), 423–425. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0118>

Gill, R. J., Baldock, K. C. R., Brown, M. J. F., Cresswell, J. E., Dicks, L. V., Fountain, M. T., Garratt, M. P. D., Gough, L. A., Heard, M. S., Holland, J. M., Ollerton, J., Stone, G. N., Tang, C. Q., Vanbergen, A. J., Vogler, A. P., Woodward, G., Arce, A. N., Boatman, N. D., Brand-Hardy, R., ... Potts, S. G.

(2016). Protecting an Ecosystem Service: Approaches to Understanding and Mitigating Threats to Wild Insect Pollinators. *Advances in Ecological Research*, 54(January 2016), 135–206.

<https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2015.10.007>

Goldberg, C. S., Pilliod, D. S., Arkle, R. S., & Waits, L. P. (2011). Molecular detection of vertebrates in stream water: A demonstration using rocky mountain tailed frogs and Idaho giant salamanders. *PLoS ONE*, 6(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022746>

Ibrahim, P. S., Setyobudiandi, I., & Sulistiono. (2016). Biologi reproduksi ikan selar kuning ( *Selaroides leptolepis* Cuvier , 1833 ) di perairan Selat Sunda. *Prosiding Seminar Nasional Ikan Ke-9 Masyarakat Iktiologi Indonesia. Jilid 2*, 613–621.

Kwong, S., Srivathsan, A., & Meier, R. (2012). An update on DNA barcoding: Low species coverage and numerous unidentified sequences. *Cladistics*, 28(6), 639–644. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2012.00408.x>

Langga, I. F., Restu, M., & Kuswinanti, T. (2012). Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi dna tanaman bitti ( *J Sains & Teknologi*, 12(3), 265–276.

Maherung, Susi., Bataragoa, Nego E., dan Salaki, Meiske S. (2018). Ukuran Dan Kebiasaan Makan Ikan Kuwe (*Caranx spp*) Di Daerah Intertidal Sekitar Laboratorium Basah FPIK – Unsrat Likupang. *Jurnal Ilmiah Platax*. Vol 6;(1). ISSN: 2302-3589.

Marwayana, O. N. (2015). Ekstraksi Asam Deoksiribonukleat (DNA) dari Sampel Jaringan Otot. *Oseana*, 15(2), 1–9.

Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J. Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H., Kondoh, M., & Iwasaki, W. (2015). MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society Open Science*, 2(7). <https://doi.org/10.1098/rsos.150088>

Mujiyanto. (2012). *Hubungan Terumbu Karang Dan Ikan Karang Di Perairan Pulau Semak Daun, Kepulauan Seribu. September 2014*, 13.

Oktaviyani, S. (2018). Mengenal Marga Lutjanus, Salah Satu Komoditas Unggulan Dalam Perikanan Tangkap. *Oseana*, 43(3), 29–39. <https://doi.org/10.14203/oseana.2018.vol.43no.3.61>

Pavan-Kumar, A., Gireesh-Babu, P., & Lakra, W. S. (2015). DNA Metabacoding: a new approach for rapid biodiversity assessment. *Journal of Cell Science and Molecular Biology*, 2(1), 111. <http://opensciencepublications.com/fulltextarticles/JCMB-2350-0190-2-111.html>

Pilliod, D. S., Goldberg, C. S., Arkle, R. S., & Waits, L. P. (2014). Factors influencing detection of eDNA from a stream-dwelling amphibian. *Molecular Ecology Resources*, 14(1), 109–116. <https://doi.org/10.1111/1755->



0998.12159

Pilliod, D. S., Goldberg, C. S., Laramie, M. B., & Waits, L. P. (2013). Application of Environmental DNA for Inventory and Monitoring of Aquatic Species.

*Arlis.Org*, 4. <http://www.arlis.org/docs/vol1/F/835572905.pdf>

Polanco Fernández, A., Marques, V., Fopp, F., Juhel, J., Borrero-Pérez, G. H.,

Cheutin, M., Dejean, T., González Corredor, J. D., Acosta-Chaparro, A.,

Hocdé, R., Eme, D., Maire, E., Spescha, M., Valentini, A., Manel, S., Mouillot,

D., Albouy, C., & Pellissier, L. (2021). Comparing environmental DNA

metabarcoding and underwater visual census to monitor tropical reef fishes.

*Environmental DNA*, 3(1), 142–156. <https://doi.org/10.1002/edn3.140>

Rhodes, K., Amorim, P., Choat, J.H., Law, C., Ma, K., Myers, R., Nair, R., Russell,

B., Samoily, M., Suharti, S. & To, A. (2018). *Epinephelus coralicola*.

The IUCN Red List of Threatened Species 2018:

e.T132763A100464517. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018->

2.RLTS.T132763A100464517.en.

Samoily, M., Amorim, P., Choat, J. H., Law, C., Ma, K., Myers, R., Nair, R. J.,

Rhodes, K., Russell, B., Suharti, S., & others. (2018). *Epinephelus*

*malabaricus*, Malabar Grouper. *The IUCN Red List of Threatened Species*

2018, 8235.

Sari, Y. D., Syaukat, Y., Kusumastanto, T., & Hartoyo, S. (2018). Pengelolaan

Perikanan Demersal Di Laut Arafura: Pendekatan Bioekonomi. *Jurnal Sosial*

*Ekonomi Kelautan Dan Perikanan*, 13(1), 43.

<https://doi.org/10.15578/jsekp.v13i1.6858>

Sato, Y., Miya, M., Fukunaga, T., Sado, T., & Iwasaki, W. (2018). MitoFish and

mifish pipeline: A mitochondrial genome database of fish with an analysis pipeline for environmental DNA metabarcoding. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1553–1555. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy074>

Sigsgaard, E. E., Carl, H., Møller, P. R., & Thomsen, P. F. (2015). Monitoring the near-extinct European weather loach in Denmark based on environmental DNA from water samples. *Biological Conservation*, 183(May 2015), 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.023>

Sjafaraenan, Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R., & Sabran, A. (2018). DNA profile of follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene in women acne by using PCR technique and DNA sequencing. *Jurnal Biologi*, 3(1), 1–11.

Smith-Vaniz, W.F. & Williams, I. (2016). *Caranx ignobilis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T20430651A115377176. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20163.RLTS.T20430651A475524>  
31.en.

Smith-Vaniz, W.F. & Williams, I. (2016). *Selaroides leptolepis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T20435470A115382686. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20163.RLTS.T20435470A466641>  
29.en.

Stewart, K. A. (2019). Understanding the effects of biotic and abiotic factors on sources of aquatic environmental DNA. *Biodiversity and Conservation*, 28(5), 983–1001. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01709-8>

Stoeckle, M. Y., Soboleva, L., & Charlop-Powers, Z. (2017). Aquatic environmental DNA detects seasonal fish abundance and habitat preference in an urban estuary. *PLoS ONE*, 12(4), 1–15.



<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175186>

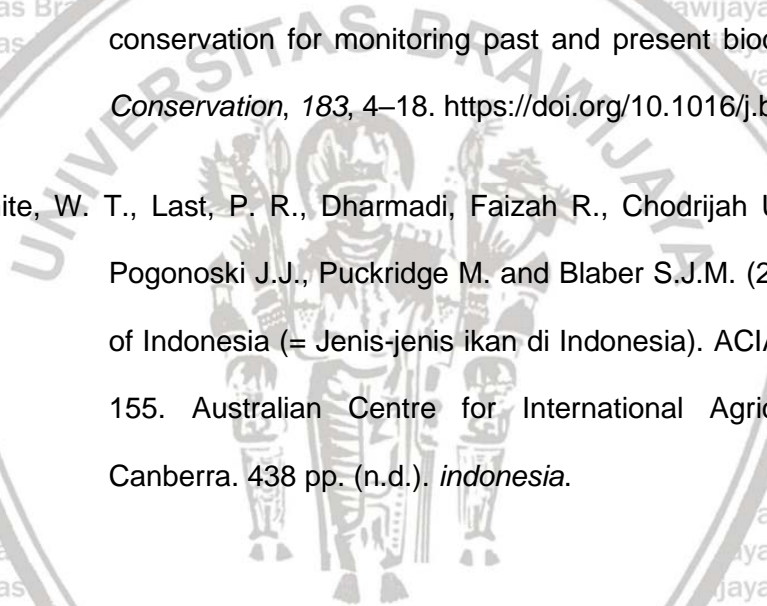
Sugianti, Y. (2020). *Bioekologi ikan kerapu di Kepulauan Karimunjawa Jawa Tengah*. January 2014.

Thomsen, P. F., Kielgast, J., Iversen, L. L., Møller, P. R., Rasmussen, M., & Willerslev, E. (2012). Detection of a Diverse Marine Fish Fauna Using Environmental DNA from Seawater Samples. *PLoS ONE*, 7(8).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041732>

Thomsen, P. F., & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA - An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 183, 4–18. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019>

White, W. T., Last, P. R., Dharmadi, Faizah R., Chodriyah U., Prisantoso B.I., Pogonoski J.J., Puckridge M. and Blaber S.J.M. (2013) Market fishes of Indonesia (= Jenis-jenis ikan di Indonesia). ACIAR Monograph No. 155. Australian Centre for International Agricultural Research: Canberra. 438 pp. (n.d.). indonesia.



Lampiran 1 Koordinat titik pengambilan sampel

Stasiun	Lat	Long	Keterangan
<b>Muara Sungai Digul</b>			
1	-7.19886°	138.64570°	
2	-7.18925°	138.64807°	
3	-7.18497°	138.67916°	
4	-7.19774°	138.69222°	Muara S. Oitopo
5	-7.20138°	138.71251°	Muara S. Yane
6	-7.15924°	138.78036°	Selat antara Pulau Satu dan Pulau Baru
7	-7.20759°	138.79120°	Muara S. Melwab
<b>Selat Muli</b>			
1	-8.12826°	138.81752°	
2	-8.01635°	138.89565°	
3	-7.90315°	138.91032°	
4	-7.85092°	139.01525°	
5	-7.68820°	139.05192°	
6	-7.59015°	139.10415°	
7	-7.57326°	139.10797°	Muara S. Medib
8	-7.51760°	139.03360°	Muara S. Wanam
9	-7.53708°	138.92685°	Muara S. Bamol



Lampiran 2. Spesies ikan terumbu yang terdeteksi pada masing-masing stasiun

a)



b)



c)



d)



Keterangan:

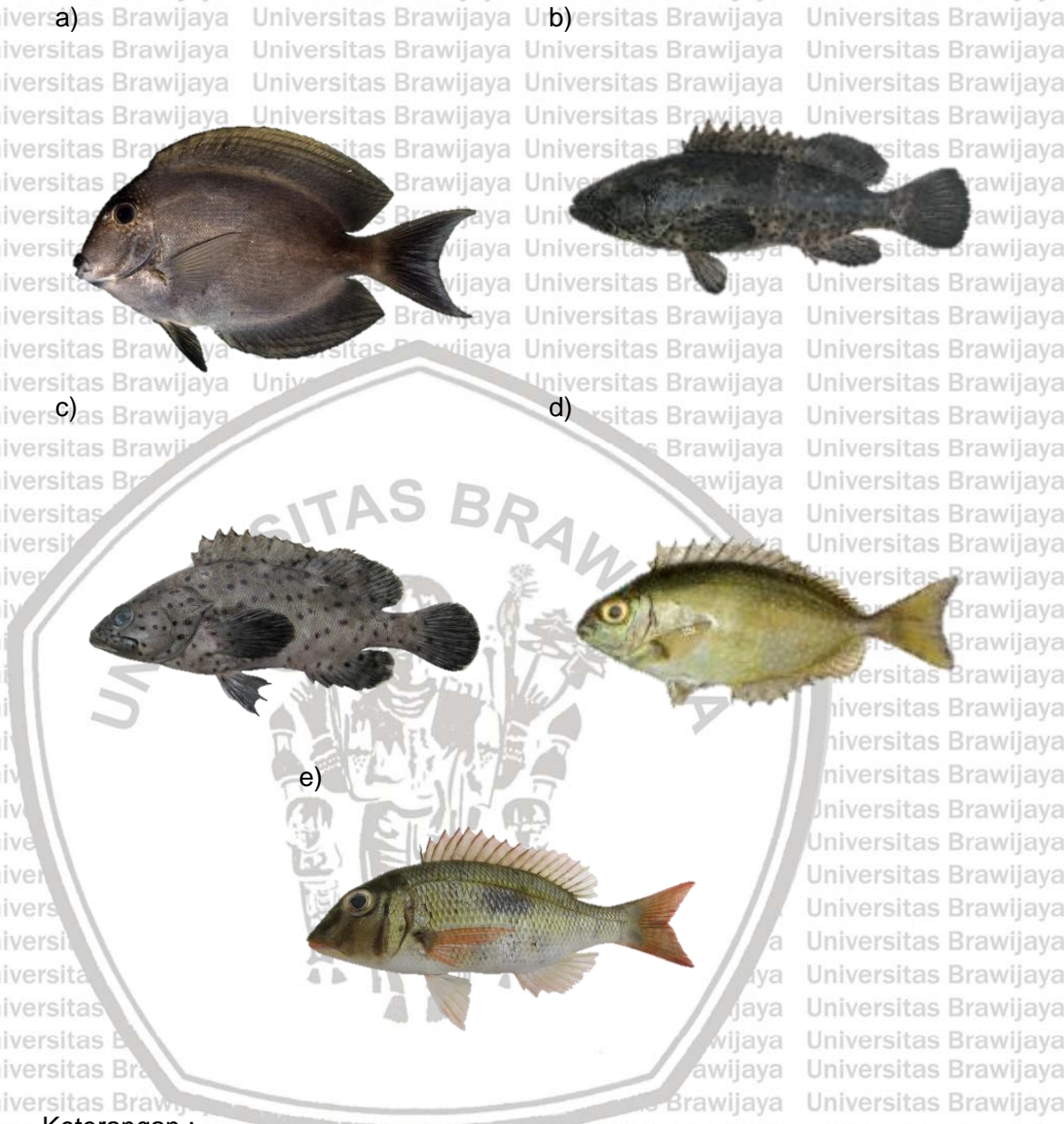
Spesies ikan terumbu yang hanya terdeteksi di Stasiun Selat Muli

a) *Caranx ignobilis* dan b) *Grammatorcynus bilineatus*.

Spesies ikan terumbu yang hanya terdeteksi di Stasiun Muara Sungai Digul

a) *Lutjanus decussatus* dan b) *Selaroides leptolepis*

Lampiran 3. Spesies ikan terumbu yang terdeteksi dikedua stasiun



Keterangan :

- Spesies ikan terumbu yang terdeteksi dikedua stasiun a) *Ctenocahetus striatus*; ,  
 b) *Epinephelus corallicola*; c) *Epinephelus malabricus*; d) *Lethrinus harak*;  
 e) *Siganus fuscescens*



Lampiran 4 Hasil *bioinformatic analysis* Stasiun Selat Muli

Sample name	Species	Family	Total read	Representative sequence	Identity (%)	Mis-match
Muli 01	Auxis thazard	Scombridae	1619	CACCGCGGTTATACGAGAGGCCAAGTTGACAGACACCGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGAAAATAAACTAAAGCCGAACACCTTCAGGGCAGTTATACGCAT CCGAAGGCACGAAGCCCCACCACGAAAGTGGCTTTATGAGCCCCTGACCCCA CGAAAGCTATGACA	98,82	2
Muli 01	Ctenochaetus striatus	Acanthuridae	8429	CACCGCGGTTATACGAGAGACCCAAGTTGACAGACAATCGGCGTAAAGAGT GGTTAAGTACAACATATCACTAAAGCCAAACACCTTCAAAGCTGTTATACGC ACCCGAAGGTCAGAAGCCAATCACGAAAGTGGCTTTAAACAACTGAACCC ACGAAAGCTAGG	99,4	1
Muli 01	Epinephelus malabaricus	Serranidae	487	TACCGCGGTTATACGGGAAGCCCAAGTTGACAAGCTCCGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGGATAATAAACTAAAGCCGAACGTTACTAAGCTGTTATACGCT TACGAAAGTAAGAAGCACACCCACGAAGGTGGCTTTATCCCACCTGAACCCA CGAAAGCCAAGGCA	97,04	5
Muli 01	Grammatorcynus bilineatus	Scombridae	813	TACCGCGGTTATACGAGAGGCCCGAGTTGACAAACACCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGGAACATCAAAAATAAAAGCCGAACAACTTCAAAGCAGTTATACGTG TTCGAAGCAACGAAGCCCCACCACGAAAGTGGCTTTATCATCCCTGACCCCA CGAAAGCTAAGAAA	100	0
Muli 01	Leiopotherapon plumbeus	Terapontidae	106	CACCGCGGTTATACGAGAGGCTCAAGTTGATAGAACACGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGAAGATTATGAACTAAAGCCGAACCCCTCAGAGCTGTTATACGC TCACGATGGTTAGAAGCCAATTACGAAAGTAGCTTTACACACCCTGAATCC ACGAAAGCTATGGCA	97,06	5
Muli 01	Liza macrolepis	Mugilidae	7370	CACCGCGGTTATACGAGAGGTCCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCCAATACTAAAGTGAACGCCCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCCCAACTACGAAAGTGGCTTTAAATTTCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	100	0
Muli 01	Nemacheilus selangoricus	Nemacheilidae	297	CACCGCGGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGCTAGCCATGGCGTAAAGGGTGG TTAAGGAAGGCAGGAATAAAGTCAAAGGGCCTTTGGCCGTACATCGCTCCT GAGCGTCCGAAGTCCAATCAAACGAAAGTAACTTTAACAAAACCCACCTGAA CCCACGAAAATACTGAGAAA	97,11	5

Muli 01	<i>Siganus fuscescens</i>	Siganidae	5508	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGATAGACAGCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAATAAACCAAAAACTAAAGCCGAACGCTCTCAAAGCTGTTATACG CACTCGAGAGTATGAAGTTCACTACGAAAGTGGCTTTACCCCTCTGAACC CACGAAAGCTAGGACA	100	0
Muli 02	<i>Liza macrolepis</i>	Mugilidae	8385	CACCGCGTTATACGAGAGGTCCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCAATACAATAAAAGTGAACGCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCCCACTACGAAAGTGGCTTTAAATTTCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	100	0
Muli 03	<i>Epinephelus malabaricus</i>	Serranidae	1451	TACCGCGTTATACGGGAAGCCCAAGTTGACAAGCTCCGCGTAAAGCGTG GTTAAGGGATAATAAACTAAAGCCGAACGTTACTAAGCTGTTATACGCT TACGAAAGTAAGAAGCACACCCACGAAGGTGGCTTTATCCCACCTGAACCCA CGAAAGCCAAGGCA	97,04	5
Muli 03	<i>Leiopotherapon plumbeus</i>	Terapontidae	2661	CACCGCGTTATACGAGAGGCTCAAGTTGATAGAACACGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGAAGATTATGAACTAAAGCCGAACCCCTCAGAGCTGTTATACGC TCACGATGGTTAGAAGCCCAATTACGAAAGTAGCTTTACACACCCTGAATCC ACGAAAGCTATGGCA	97,06	5
Muli 03	<i>Liza macrolepis</i>	Mugilidae	3436	CACCGCGTTATACGAGAGGTCCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCAATACAATAAAAGTGAACGCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCCCACTACGAAAGTGGCTTTAAATTTCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	100	0
Muli 03	<i>Nemacheilus selangoricus</i>	Nemacheilidae	5211	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGCTAGCCACGGCGTAAAGGGTGG TTAAGGAAGGCAGGAATAAAAGTCAAAGGGCCTCTTGCCGTCATACGCTCT GAGCGTCCGAAGTCCAATCAAACGAAAGTAACTTTAACAAAACCCACCTGAA CCCACGAAAACCTGAGAAA	97,69	4
Muli 04	<i>Epinephelus corallicola</i>	Serranidae	4025	TACCGCGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGACAAGCTCCGCGTAAAGCGTG GTTAAGGGACAACAAACTAAGGCCGAACGTTACTAGACTGTTATACGTT TCCGAAAGTAAGAAGCACATTACGAAAGTAGCTTTATATCACCTGAACCCA CGAAAGCCAAGGCA	99,41	1
Muli 04	<i>Lethrinus harak</i>	Lethrinidae	3673	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGACAACCATCGGCGTAAAGAGTT GTTAAGATGACCCTCCATTAAAGTGAATATCTTCAAGGCTGTTATACGCAC CCGAAGACTAGAAGCCCACTACGAAAGTGACTTTATCTTATCTGACCCAC AAAAGCTAGGGCA	98,82	2
Muli 04	<i>Nemacheilus selangoricus</i>	Nemacheilidae	6571	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGCTAGCCACGGCGTAAAGGGTGG TTAAGGAAGGCAGGAATAAAAGTCAAAGGGCCTCTTGCCGTCATACGCTCT	97,69	4



				GAGCGTCCGAAGTCCAATCAAACGAAAGTAACTTTAACAAAACCCACCTGAA CCCACGAAAACCTGAGAAA		
Muli 05	Nemacheilus selangoricus	Nemacheilidae	13307	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGCTAGCCACGGCGTAAAGGGTGG TTAAGGAAGGCAGGAATAAAGTCAAAGGGCCTCTTGGCCGTCATACGCTCCT GAGCGTCCGAAGTCCAATCAAACGAAAGTAACTTTAACAAAACCCACCTGAA CCCACGAAAACCTGAGAAA	97,11	5
Muli 05	Sillago aeolus	Sillaginidae	4197	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGATAGACGTCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAGCATGATATACTAAAGCCGAATGCCCCACAGCTGTCATACGCAC TCGGAGGTAAGAAGCCCAATCACGAAAGTAGCTTTATTATTCTGAACCCAC GAAAGCTAAGACA	100	0
Muli 06	Katsuwonus pelamis	Scombridae	5132	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGACAGACACCGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGTAACACTAAAGCCGAACACCTTCAGGGCAGTTATACGCAT CCGAAGGCACGAAGCCCCACCACGAAAGTGGCTTTATGACCCCTGACCCAC GAAAGCTATGACA	100	0
Muli 06	Liza macrolepis	Mugilidae	16043	CACCGCGTTATACGAGAGGTCCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTGACCCTAATACTAAAGTGAACGCCCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCAGACTACGAAAGTGGCTTTAAATTCCTGACCC CACGAAAGCTGTGA	97,04	5
Muli 07	Liza macrolepis	Mugilidae	28280	CACCGCGTTATACGAGAGGTCCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCAATACAATAAAAGTGAACGCCCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCCCAACTACGAAAGTGGCTTTAAATTCCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	99,42	1
Muli 08	Caranx ignobilis	Carangidae	11483	CACCGCGTTATACGAGAGGTCCAAGTTGACAGACAACGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGAAAATATATTAATAAAGCGGAACCTCCCCCTAGCTGTTATACGCTT CCGAGGAAGTGAACCTCAACTACGAAAGTGGCTTTACCTAACCTGAACCCAC GAAAGCTAAGAAA	99,41	1
Muli 09	Liza macrolepis	Mugilidae	17548	CACCGCGTTATACGAGAGGTCCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCAATACAATAAAAGTGAACGCCCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCCCAACTACGAAAGTGGCTTTAAATTCCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	100	0

Lampiran 5. Hasil *bioinformatic analysis* Stasiun Muara Sungai Digul

Sample name	Species	Family	Total read	Representative sequence	Identity (%)	Mis-match
Digul 01	Osteochilus sp	Cyprinidae	7816	CACCGCGTTATACGAGAGACCCTAGTTGACTGCATAATCGGCGTAAAGGG TGTTAAGGATGTACATTAATAAGGTCAAATGGCCCTTTGGCCGTTATATGC TTCCAGGTGTCGAAGCCCCATTTATACGAAAGTAGCCTTAATAAACAAACC CGACCCACGAAAACCTGAGAAA	97,74	4
Digul 02	Auxis thazard	Scombridae	501	CACCGCGTTATACGAGAGGCCAAGTTGACAGACACCGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGAAAATAAACTAAAGCCGAACACCTTCAGGGCAGTTATACGCAT CCGATGGCAGCAAGCCCCACCACGAAAGTGGCTTTATGAGCCCCGACCCCA CGAAAGCTATGACA	98,82	2
Digul 02	Barbodes binotatus	Cyprinidae	282	CACCGCGTTAGACGAGATGCCCTAGTTGATACTATAACGGCGTAAAGGGT GGTTAGGAACAATAAAAAATAAAGCCAAATGGCCCTTGCCGTCATACGCT TCTAGGCGTCCGAAGCCCACATCACACGAAAGTAGCTTTAATAAAAAATCCGA CCCCACGAAAGCTGAGAAA	98,85	2
Digul 02	Barbodes lateristriga	Cyprinidae	508	CACCGCGTTAGACGAGAGGCCCTAGTTGATATTAACGGCGTAAAGGGT GGTTAAGGATATAAAATAATAAAGCCAAATGGCCCTTGCCGTCATACGCT TCTAGGCGTCCGAAGCCCCACGTACGAAAGTAGCTTTAACAACCCGCCCGA CTCCACGAAAGCTAAGAAA	97,13	5
Digul 02	Ctenochaetus striatus	Acanthuridae	4371	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGACAGACAATCGGCGTAAAGAGT GGTTAAGTACAACATATCACTAAAGCCAAACACCTTCAAAGCTGTTATACGC ACCCGAAGGTCAGAAGCCCAATCACGAAAGTGGCTTTAACAACAACTGAACCC ACGAAAGCTAGG	100	0
Digul 02	Epinephelus malabaricus	Serranidae	641	TACCGCGTTATACGGGAAGCCCAAGTTGACAAGCTCCGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGGATAATAAACTAAAGCCGAACGTTACTAAGCTGTTATACGCT TACGAAAGTAAGAAGCACACCCACGAAGGTGGCTTTATCCCACCTGAACCCA CGAAAGCCAAGGCA	97,04	5
Digul 02	Glyptothorax zanaensis	Sisoridae	331	CACCGCGTTATACGAAAGACCCTAGTTGATAGCTACGGCGTAAAGGGTGG TTAAGGAGCAGAAAATAAAGCTAAAGACCCTCTAAGCCGTCATACGCACCC CGAGGGCAGAAACCCTACACGAAAGTAGCTTTAACAATTTACCTGACC CCACGAAAGCTAAGAAA	97,69	3



Digul 02	Liza macrolepis	Mugilidae	4157	CACCGCGTTATACGAGAGGTTCCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCAATACTAAAGTGAACGCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCCCACTACGAAAGTGGCTTTAAATTTCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	100	0
Digul 02	Lutjanus decussatus	Lutjanidae	611	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGTTAGATATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGATTCATAAAGACTAAAGCCGAACGCCCTCAGAGCCGTTATACGCA CCCGAAGGTAAGAAGCCCAACCACGAAAGTGGCTTTATATTATCCGAACCCA CGAAAGCTATGACA	100	0
Digul 02	Nemacheilus selangoricus	Nemacheilidae	963	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGCTAGCCACGGCGTAAAGGGTGG TTAAGGAAGGCAGGAATAAAGTCAAAGGGCCTTTGGCCGTCATACGCTCCT GAGCGTCCGAAGTCCAATCAAACGAAAGTAACTTTAACAAAACCCACCTGAA CCCACGAAAACCTGAGAAA	97,69	4
Digul 02	Osteochilus sp	Cyprinidae	1018	CACCGCGTTATACGAGAGACCCCTAGTTGACTGCATAATCGGCGTAAAGGG TGGTTAAGGATATACATTAATAAGGCCAATGGCCCTTTGGCCGTTATACGC TTCTAGGTGTCCGAAGCCCCATTATACGAAAGTAGCCTTAATAAACAAACCC GACCCACGAAAACCTGAGAAA	100	0
Digul 02	Siganus fuscescens	Siganidae	3323	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGATAGACAGCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAATAAACAAAACTAAAGCCGAACGCTCTCAAAGCTGTTATACG CACTCGAGAGTATGAAGTTCACTACGAAAGTGGCTTTACCCCTCTGAACC CACGAAAGCTAGGACA	100	0
Digul 02	Trichopodus trichopterus	Osphronemida	199	CACCGCGTTATACGAGAGGCCGAGTTGATAAACAACGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAAGAATAATAAACTAAGGCCGAACACTTTCAAGGCTGTTATACGC ATCCGAAAGCAAGAAGCCCCATTACGAAAGTAGCCTTAAGTGCCTGAATCCA CGAAAGCTAGGATA	100	0
Digul 03	Ctenochaetus striatus	Acanthuridae	4947	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGACAGACAATCGGCGTAAAGAGT GGTTAAGTACAACATATCACTAAAGCCAAACACCTTCAAAGCTGTTATACGC ACCCGAAGGTCAGAAGCCCAATCACGAAAGTGGCTTTAACAAAACCTGAACCC ACGAAAGCTAGG	100	0
Digul 03	Leiopotherapon plumbeus	Terapontidae	2990	CACCGCGTTATACGAGAGGCTCAAGTTGATAGAACACGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGAAGATTATGAACTAAAGCCGAACCCCTCAGAGCTGTTATACGC TCACGATGGTTAGAAGCCCAATTACGAAAGTAGCTTTACACACCCTGAATCC ACGAAAGCTATGGCA	97,06	5
Digul 03	Osteochilus sp	Cyprinidae	2588	CACCGCGTTATACGAGAGACCCCTAGTTGACTGCATAATCGGCGTAAAGGG TGGTTAAGGATATACATTAATAAGGCCAATGGCCCTTTGGCCGTTATACGC	100	0

				TTCTAGGTGTCCGAAGCCCCATTATACGAAAGTAGCCTTAATAAACAAACCC GACCCACGAAAAGTGGAGAAA		
Digul 03	<i>Siganus fuscescens</i>	Siganidae	2662	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGATAGACAGCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAATAAACCAAAAATAAGCCGAACGCTCTCAAAGCTGTTATACG CACTCGAGAGTATGAAGTTCAACTACGAAAGTGGCTTTACCCCTCTGAACC CACGAAAGCTAGGACA	100	0
Digul 04	<i>Ctenochaetus striatus</i>	Acanthuridae	4157	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGACAGACAATCGGCGTAAAGAGT GGTTAAGTACAACATATCACTAAAGCCAAACACCTCAAAGCTGTTATACGCA CCCGAAGGTCAGAAGCCCAATCACGAAAGTGGCTTTAAACAAACTGAACCCA CGAAAGCTAGG	99,4	0
Digul 04	<i>Liza macrolepis</i>	Mugilidae	3032	CACCGCGTTATACGAGAGGTTCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCAATACAATAAGTGAACGCCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGAGGTATGAAGCCCAACTACGAAAGTGGCTTTAAATTTCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	100	0
Digul 04	<i>Siganus fuscescens</i>	Siganidae	458	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGATAGACAGCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAATAAACCAAAAATAAGCCGAACGCTCTCAAAGCTGTTATACG CACTCGAGAGTATGAAGTTCAACTACGAAAGTGGCTTTACCCCTCTGAACC CACGAAAGCTAGGACA	100	0
Digul 05	<i>Ctenochaetus striatus</i>	Acanthuridae	4002	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGACAGACAATCGGCGTAAAGAGT GGTTAAGTACAACATATCACTAAAGCCAAACACCTTCAAAGCTGTTATACGC ACCGAAGGTCAGAAGCCCAATCACGAAAGTGGCTTTAAACAAACTGAACCC ACGAAAGCTAGG	100	0
Digul 05	<i>Osteochilus sp</i>	Cyprinidae	7908	CACCGCGTTATACGAGAGACCTAGTTGACTGCATAATCGGCGTAAAGGG TGGTTAAGGATGTACATTAATAAGGCCAAATGGCCCTTTGGCCGTTATACGC TTCTAGGTGTCCGAAGCCCCATTATACGAAAGTAGCCTTAATAAACAAACCC GACCCACGAAAAGTGGAGAAA	99,44	1
Digul 05	<i>Siganus fuscescens</i>	Siganidae	14723	CACCGCGTTATACGAGAGACCCAAGTTGATAGACAGCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAATAAACCAAAAATAAGCCGAACGCTCTCAAAGCTGTTATACG CACTCGAGAGTATGAAGTTCAACTACGAAAGTGGCTTTACCCCTCTGAACC CACGAAAGCTAGGACA	100	0
Digul 06	<i>Channa gachua</i>	Channidae	686	CACCGCGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGATATCTAACGGCGTAAAGAGTG GTTAAAAAGCTATAAACTAAAGCCGAATACTTTCTAAGCTGTTATACGCACT TGAAAGCATGAAGTCCAACCACGAAAGTGGCTTTATGACACTGAACCCACG AAAATAAGAAA	97,62	4



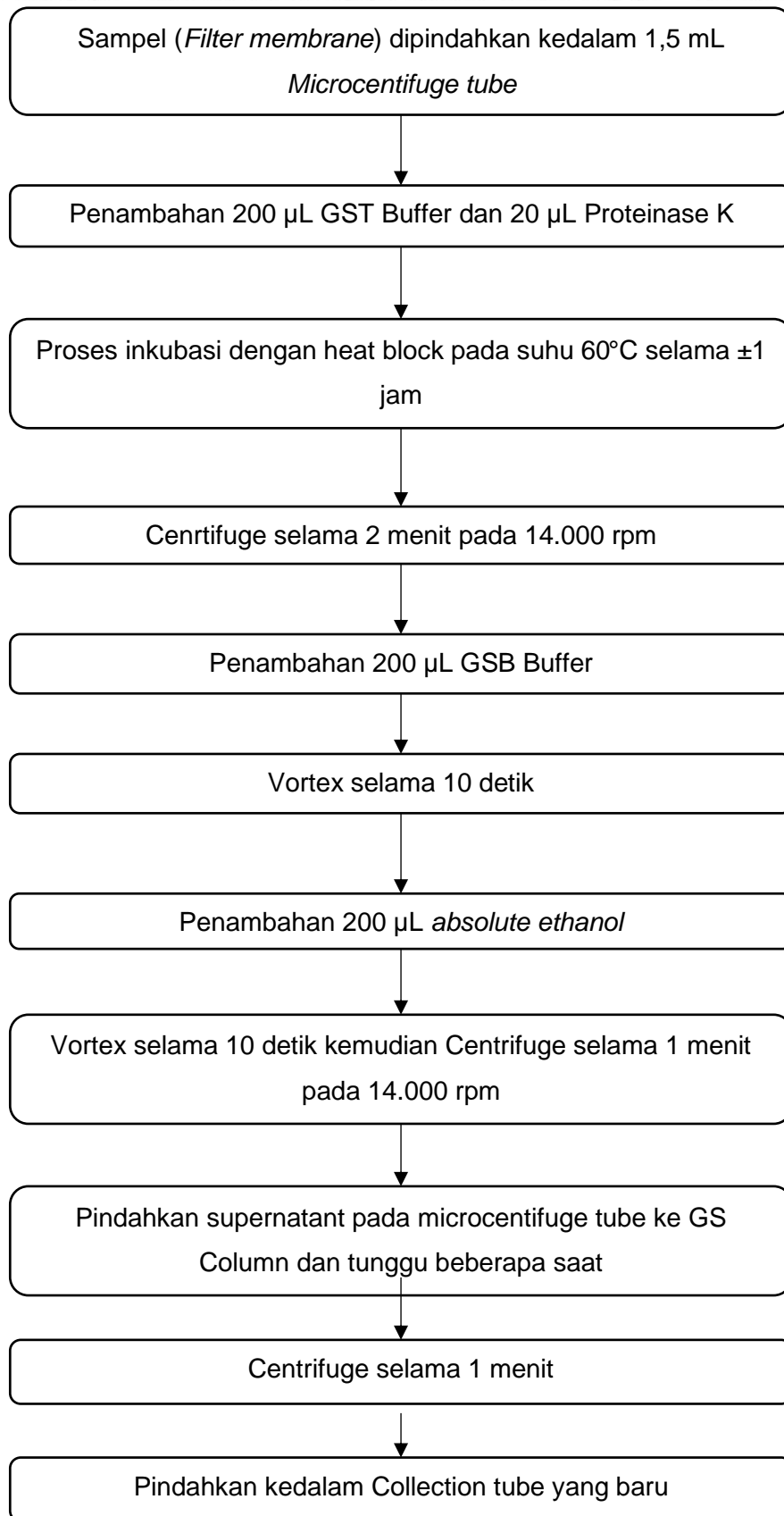
Digul 06	<i>Ctenochaetus striatus</i>	Acanthuridae	7516	CACCGCGGTTATACGAGAGACCCAAGTTGACAGACAATCGGCGTAAAGAGT GGTTAAGTACAACATATCACTAAAGCCAAACACCTTCAAAGCTGTTATACGC ACCCGAAGGTCAGAAGCCCAATCACGAAAGTGGCTTTAAACAACTGAACCC ACGAAAGCTAGG	99,4	1
Digul 06	<i>Epinephelus malabaricus</i>	Serranidae	282	TACCGCGGTTATACGGGAAGCCCAAGTTGACAAGCTCCGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGGATAATAAACTAAAGCCGAACGTTACTAAGCTGTTATACGCT TAGGAAAGTAAGAAGCACACCCACGAAGGTGGCTTTATCCCACCTGAACCCA CGAAAGCCAAGGCA	97,04	5
Digul 06	<i>Lethrinus harak</i>	Lethrinidae	357	CACCGCGGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGACAACCATCGGCGTAAAGAGTT GTTAAGATGACCCTTCCATTAAGTCAATATCTTCAAGGCTGTTATACGCAC CCGAAGACTAGAAGCCCACTACGAAAGTGACTTTATCTTATCTGACCCAC AAAAGCTAGGGCA	98,82	2
Digul 06	<i>Liza macrolepis</i>	Mugilidae	3239	CACCGCGGTTATACGAGAGGTTCAAGCTGACAGCCATCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGTTACCCCAATACTAAAGTCAACGCCCCAAGACCGTTATACG TGCTCGGAGGTATGAAGCCCACTACGAAAGTGGCTTTAAATTTCTGACCC CACGAAAGCTGTGAAA	100	0
Digul 06	<i>Nemacheilus selangoricus</i>	Nemacheilidae	1899	CACCGCGGTTATACGAGAGGCCCTAGTTGCTAGCCACGGCGTAAAGGGTGG TTAAGGAAGGCAGGAATAAAGTCAAAGGGCCTTTGGCCGTACATCGCTCCT GAGCGTCCGAAGTCCAGTCAAACGAAAGTAACTTAAACAAAACCCACCTGAA CCCACGAAAACCTGAGAAA	97,69	4
Digul 06	<i>Selaroides leptolepis</i>	Carangidae	276	CACCGCGGTTATACGAGAGGCTCAAGTTGACAGACAACGGCGTAAAGTGTG GTTAAGGAACCTTTATTTAACTAAAGCGGAACCTCCTCATGGCTGTTATACGCT CTTCGAGGAAGTGAACCCCACTACGAAAGTGGCTTTATTTACCCTGAACCC ACGAAAGCTAAGAAA	100	0
Digul 06	<i>Siganus fuscescens</i>	Siganidae	1380	CACCGCGGTTATACGAGAGACCCAAGTTGATAGACAGCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAACTAAACAAAACTAAAGCCGAACGCTCTCAAAGCTGTTATACG CACTCGAGAGTATGAAGTTCAACTACGAAAGTGGCTTTACCCCTCTGAACC CACGAAAGCTAGGACA	100	0
Digul 06	<i>Sillago aeolus</i>	Sillaginidae	483	CACCGCGGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGATAGACGTCGGCGTAAAGAGTG GTTAAGAGCATGATATACTAAAGCCGAATGCCCCACAGCTGTCATACGCAC TCGGAGGTAAGAAGCCCAATCACGAAAGTAGCTTTATTATTCTGAACCCAT GAAAGCTAAGACA	99,4	1
Digul 07	<i>Ctenochaetus striatus</i>	Acanthuridae	6672	CACCGCGGTTATACGAGAGACCCAAGTTGACAGACAATCGGCGTAAAGAGT GGTTAAGTACAACATATCACTAAAGCCAAACACCTTCAAAGCTGTTATACGC	100	0

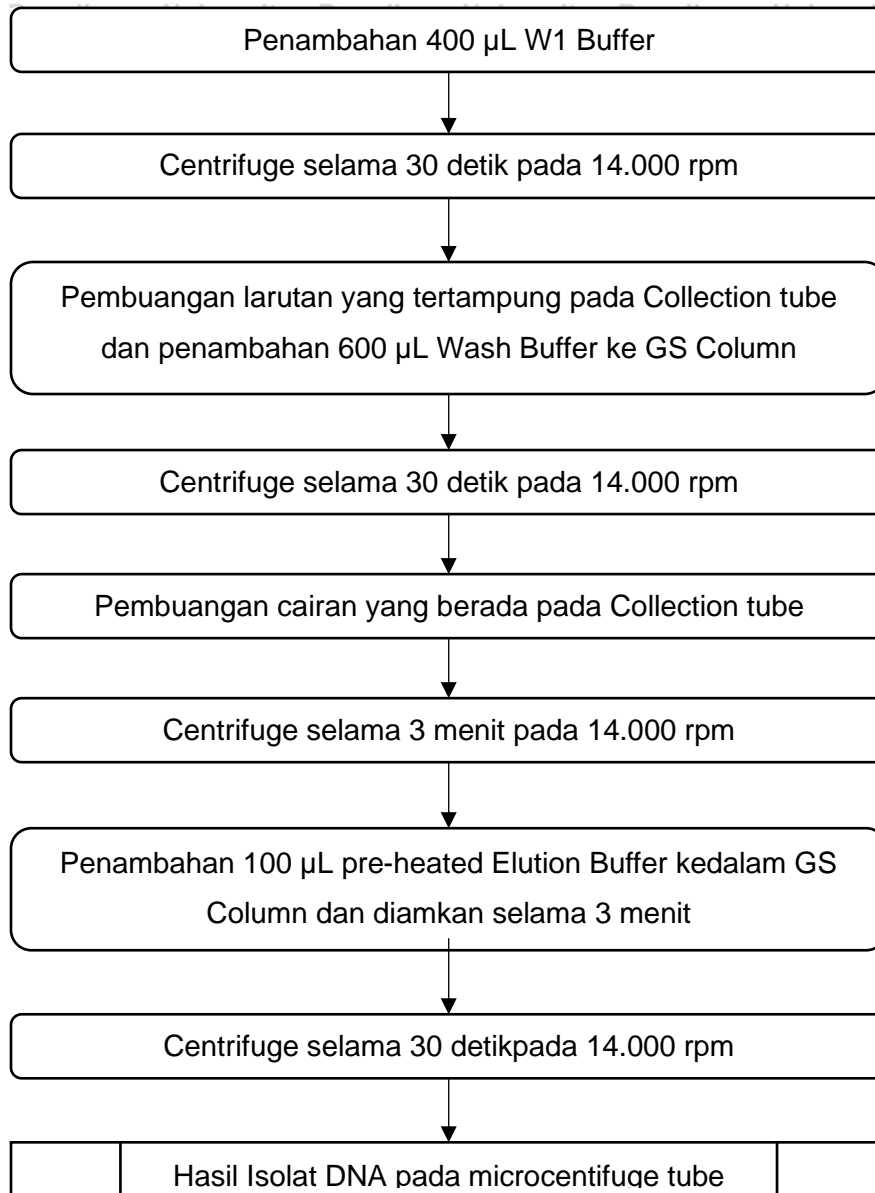


				ACCCGAAGGTCAGAAGCCCAATCACGAAAGTGGCTTTAAACAACTGAACCC ACGAAAGCTAGG		
Digul 07	Epinephelus corallicola	Serranidae	5261	TACCGCGTTATACGAGAGGCCCAAGTTGACAAGCTCCGGCGTAAAGCGTG GTTAAGGGACAACAACACTAAGGCCGAACGCTTACTAGACTGTTATACGTT TCCGAAAGTAAGAAGCACATTACGAAAGTAGCTTTATATCACCTGAACCCA CGAAAGCCAAGGCA	99,41	1



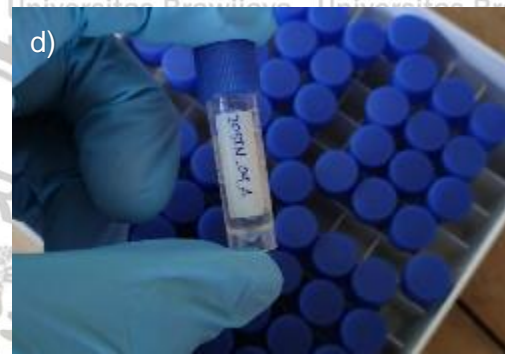
Lampiran 6. Protokol ekstraksi menggunakan Gneaid GSYNC







Lampiran 7. Dokumentasi pengambilan sampel air



Keterangan. Gambar a) Pengambilan sampel air pada Selat Muli; b) Pengambilan sampel air pada Muara Sungai Digul; c) Proses *filtering* sampel air; d) Preservasi sampel hasil *filtering* berupa pada Cryotube + DNA Shield



Lampiran 8. Dokumentasi pengolahan sampel laboratorium



Keterangan. Gambar a) Geneaid gSYNC Extraction Kit; b) Pengaturan running PCR; c) Input Sequencing plate; d) Proses Ekstraksi DNA; e) Pembuatan gel agarose; f) Proses elektroforesis pada mesin elektroforesis; g) Pembacaan hasil elektroforesis; h) Proses heatblock; i) Proses sequencing