

# STATUS KONSERVASI JENIS IKAN PARI YANG DIPERDAGANGKAN DI TPI DI KOTA SEMARANG BERDASARKAN GEN COI MITOKONDRIA

Ning Setiati\*, Endah Peniati, Ria Ika Maharani

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang

\*Email: ning.setiati@gmail.com

## ABSTRAK

Hampir sebagian besar jenis ikan pari yang ada di TPI Kota Semarang termasuk ke dalam daftar merah IUCN sebagai spesies yang terancam punah. Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksploratif. Sampel sepotong sirip dari jenis-jenis ikan pari untuk analisis gen COI Mitokondria melalui ekstraksi DNA dilanjutkan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan pasangan primer fish BCL5 dan fish BCH, elektroforesis, sekuensing dan analisis filogenetik. Analisis filogenetik diproses menggunakan software MEGA versi 5.1. Analisa dan penyusunan pohon filogenetik dilakukan dengan metode Maximum Likelihood. Amplifikasi DNA menggunakan marka mitokondria lokus COI dengan panjang pasang basa 600-700 basepair. Hasil isolasi DNA diperoleh panjang bp yaitu 600-700 nukleotida. Hasil penelitian diperoleh 5 jenis ikan pari yaitu Pari Beting (*Dasyatis uarnak*), Pari Totol (*Dasyatis kuhlii*), Pari Cambuk (*Hymantura uarnak*), Pari Duri (*Dasyatis annotatus*), Pari Bendera (*Dasyatis sephen*), yang semua termasuk Famili Dasyatidae. Analisis filogenetik dan status konservasi untuk 5 jenis ikan pari adalah *least concern* (LC), yaitu memiliki resiko kepunahan akan tetapi masih terkategori rendah. *Dasyatis annotatus* memiliki status konservasi yang penting dan genting untuk segera di konservasi karena terancam punah.

**Kata kunci:** filogenetik, gen COI, konservasi, mitokondria, TPI

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki 117 jenis hiu dan pari dari 400 jenis hiu yang ada di dunia, Namun keberadaan spesies tersebut terancam berkurang karena masifnya perburuan. Indonesia merupakan Negara adengan laju perburuan hiu dan pari paling tinggi di dunia. Hal tersebut berdasarkan jumlah produksi pada tahun 2011 sebanyak 50.000 ton, dimana 71% merupakan tangkapan sampingan (*bycatch*) dan 29% tangkapan utama (ikan target tangkapan). Tingginya angka eksploitasi tersebut menjadi kekhawatiran kelestarian populasi hiu dan ikan pari di Indonesia.

Keadaan demikian berakibat terhadap ketidak seimbangan ekosistem perairan laut karena akan terjadinya ledakan spesies salah satu trofik. Itu berarti telah terjadinya sistem ekologi yang 'tidak sehat' dan akan berakibat terhadap kelestarian alam ini (Peloia *et al*, 2007)

Kota Semarang merupakan daerah pesisir yang berpotensi menghasilkan perikanan laut cukup besar, hal ini terlihat dengan adanya berbagai jenis ikan yang tertangkap nelayan diantaranya adalah ikan hiu dan ikan pari (Kelas *Chondrichthyes*). Hal ini mendorong perlunya dilakukan identifikasi dan pengkajian jenis-jenis serta berapa jumlah ikan pari dan ikan hiu yang Dilindungi/Tidak Dilindungi dengan pendekatan molekuler.

Penggunaan DNA mitokondria (mtDNA) sebagai gen target semakin banyak di lakukan untuk identifikasi suatu spesies (Kyle dan Wilson 2007). Kelebihan yang dimiliki oleh mtDNA sebagai target dalam identifikasi spesies, diantaranya ialah berevolusi lebih cepat dibandingkan DNA inti (Tamura *et al*, 2011), berukuran lebih kecil dibandingkan DNA inti, terdapat beberapa salinan didalam sel sehingga memudahkan dalam pengisolasian dan purifikasi untuk berbagai keperluan analisa. Oleh karena itu, penggunaan mtDNA sangat efektif untuk penentuan dan pengidentifikasian keragaman genetik suatu makhluk hidup.

## METODE PENELITIAN

Sampel merupakan jenis ikan hiu dan pari yang ditemukan di tempat pelelangan ikan di Kota Semarang yang meliputi TPI Tambak Lorok, TPI Delik Rejo, TPI Pasar Kobong dan TPI Mangkang. Sampel yang diperoleh diambil bagian sayap sekitar dua miligram.

**Ekstraksi DNA dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**

Sebanya 2 mg potongan sirip sampel digunakan dalam ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *Dneasy Blood and Tissue Kit* (Qiagen: Hilden, Germany) sesuai protocol pabrikan. Gen *COI* mitokondria di isolasi menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Isolasi gen target menggunakan primer forward fish-BCL (5"TC AACYAATCAYAAAGATATYGGCAC") dan primer reverse fish-BCH (5"ACTTCYGGGTGRCCRAARAATCA") (Baldwin et al.. 2010). Satu unit reaksi PCR masing-masing berisi 25 mM MgCl<sub>2</sub> sebanyak 2 µl; dNTP 8µM masing-masing 2,5 µl; sepasang primer 10 mM masing-masing 1,25 µl; Taq DNA polymerase sebanyak 0,125 µl. Ditambahkan 2.5 µl buffer 10xPCR Buffer. Campuran divorteks dan diputarkan. Jumlah siklus PCR yang diperlukan sebanyak 38 siklus. Tahapan PCR meliputi: pra-denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti tahapan denaturasi pada suhu 94 °C selama 30 detik, annealing pada suhu 50 °C selama 45 detik, dan tahap elongasi pada suhu 72 °C selama 40 detik.

#### **Elektroforesis**

Gel agaros dibuat dengan konsentrasi 1,2% dalam TBE 0.5x dalam tabung Erlenmeyer. Agaros dipanaskan pada microwave selama 1 menit hingga agarose terlihat larut kemudian ditetes dengan 4 µL EtBr dan dicetak pada gel doc (Zain dan Prawiradilaga, 2013).

#### **Sequencing and analisis data**

Gen amplikon disequencing dan urutan kode gen dianalisis menggunakan Mega (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) 5.2 (Tamura et al. 2007). Urutan basa dicocokkan dengan data yang terdapat pada GenBank di NCBI (National Center for Biotechnology Information). Metode yang digunakan adalah dengan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dengan alamat situs web <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan software Mega 5.2 dengan metode neighbor joining dan model Kimura-2 parameter (Kimura, 1980) dengan nilai bootstrap 1000.

#### **Peninjauan status konservasi**

Melalui daftar IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources), sedangkan status perdagangan dilihat pada CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species*). Status Konservasi dan Perdagangan Spesies ikan hiu dan pari yang sudah teridentifikasi secara molekuler ditinjau status konservasi dan perdagangannya. Peninjauan status konservasi melalui daftar IUCN (*International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*), sedangkan status perdagangan dilihat pada CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species*).

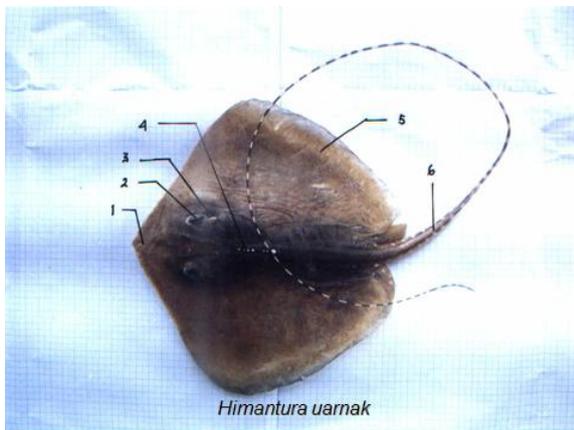
## **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

### **Jenis Ikan Pari yang diperoleh**

Hasil penelitian diperoleh 5 jenis ikan pari yaitu Pari Beting (*Dasyatis uarnak*) Pari Totol (*Dasyatis kuhlii*), Pari Cambuk (*Hymantura uarnak*), Pari Duri (*Dasyatis annotatus*), Pari Bendera (*Dasyatis sephen*), yang termasuk Famili Dasyatidae, seperti pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Jenis Ikan Pari yang dipedagangkan di TPI Kota Semarang

| No | Ordo                    | Famili     | Genus            | Species                   | Nama Daerah  | ♂ | ♀ |    |
|----|-------------------------|------------|------------------|---------------------------|--------------|---|---|----|
| 1. | Rajiformes/<br>Batoidea | Dasyatidae | <i>Hymantura</i> | <i>Hymantura uarnak</i>   | Pari cambuk  | 4 | - | 4  |
|    |                         |            | <i>Dasyatis</i>  | <i>Dasyatis annotates</i> | Pari duri    | - | 5 | 5  |
|    |                         |            | <i>Dasyatis</i>  | <i>Dasyatis sephen</i>    | Pari bendera | 9 | 2 | 11 |
|    |                         |            | <i>Dasyatis</i>  | <i>Dasyatis uarnak</i>    | Pari beting  | 5 | 2 | 7  |
|    |                         |            | <i>Dasyatis</i>  | <i>Dasyatis kuhlii</i>    | Pari kembang | 1 | 1 | 2  |



**Gambar 1.** *Hymantura uarnak*

**Deskripsi morfologi**

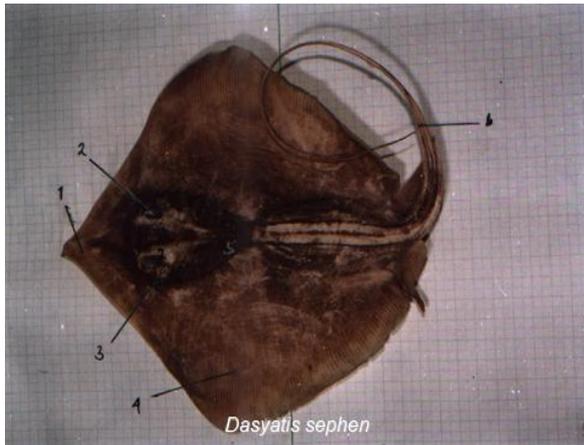
*Discus* berbentuk diamond, moncong runcing, satu atau lebih *turbekel* ditengah dorsal tubuh, ekor sangat panjang 2-3 kali dari panjang *discus*. Ekor memiliki motif hitam putih selang seling.



**Gambar 2.** *Dasyatis annonatus*

**Deskripsi morfologi**

Permukaan dorsal berwarna abu-abu, pada ekor ada garis biru, *discus* ovoid, lebih panjang dari *discus* ovoid, mata lebar, pada ekor ada 1-2 duri.



**Gambar 3.** *Dasyatis sephen*

**Deskripsi morfologi**

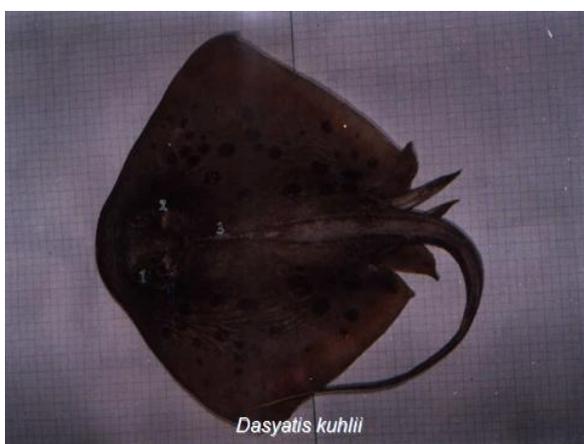
Tubuh bagian dorsal berwarna coklat terang, kekuning-kuningan, abu-abu sampai hitam. Ekor pendek dilapisi kulit yang keras berwarna hitam. *Discus* berbentuk *rhombic*, ada beberapa duri di bagian tengah ekor. Memiliki 4 papilae di dekat mulut.



**Gambar 4.** *Gymnura australia*

**Deskripsi morfologi**

Tubuh bagian dorsal berwarna abu-abu sampai coklat, dilengkapi titik-titik gelap. Sehingga warna terlihat gelap. Ekor pendek ada motif hitam putih selang seling.



**Gambar 5.** *Dasyatis kuhlii*

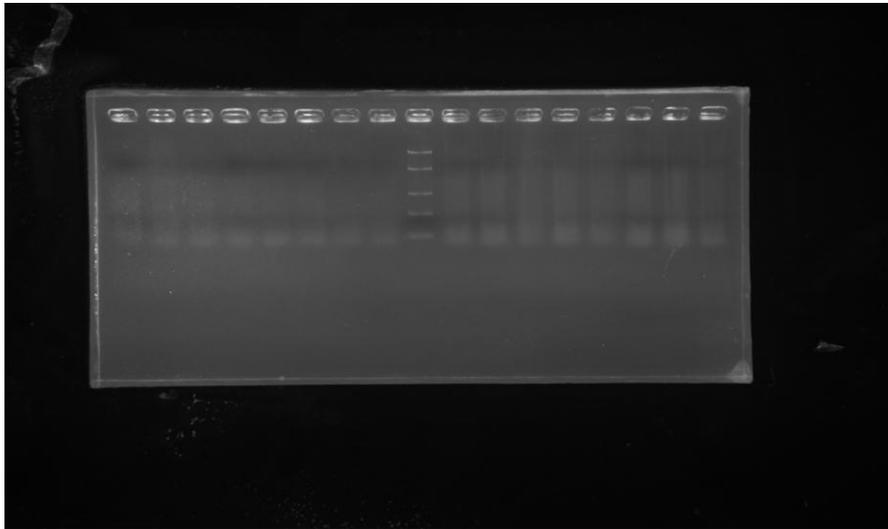
**Deskripsi morfologi**

*Discus* berbentuk diamond, lebih lebar dari panjang tubuhnya, terdapat beberapa *tubercles* di bagian tengah tubuhnya. Ekor berukuran. Daerah mata dan tengkuk agak meninggi. Ukuran *clasper* berbeda untuk tiap yang jantan.

**Ekstrasi DNA Ikan Pari**

Hasil elektroforesis DNA total pada gel agarose 1,0% pada masing-masing sampel memperlihatkan pita DNA yang terang. Pita DNA yang diperoleh memiliki intensitas yang tidak sama. Intensitas yang tidak sama ini mencerminkan kuantitas dan kualitas DNA yang diperoleh bervariasi di

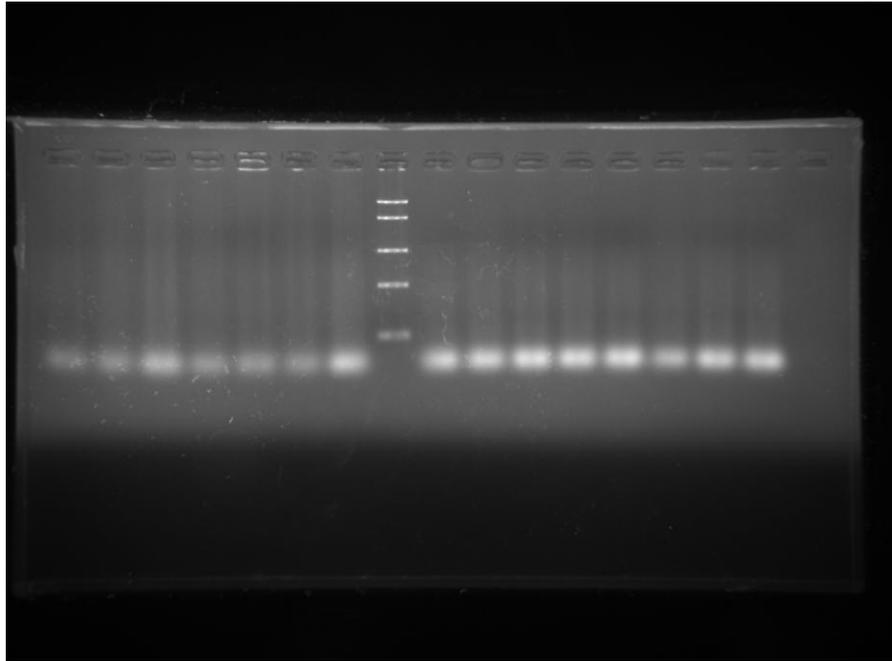
antara sampel DNA yang diamati. Semakin tebal dan terang menunjukkan semakin banyak DNA yang diperoleh. Degradasi DNA yang terlihat sebagai *smear* pada sampel gemak loreng tergolong ringan, karena memiliki intensitas yang rendah. Kirby (1990) menjelaskan bahwa hasil elektroforesis dari sampel DNA genom pada gel agarose menunjukkan bahwa berat molekul DNA nampak sebagai sebuah fragmen besar, sedangkan bagian material DNA yang rusak berbentuk smear dari fragmen besar ke yang lebih kecil. Dijelaskan lebih lanjut bahwa degradasi yang sedikit atau kecil mungkin sulit dideteksi dan nampak hanya sebagai bayangan pita tipis di depan pita utama dari DNA yang mempunyai berat molekul yang tinggi.



**Gambar 6.** Visualisasi dari hasil isolasi DNA genom semua sampel.

## 5.2 Ekstraksi DNA *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Satu unit reaksi PCR masing-masing berisi 25 mM MgCl<sub>2</sub> sebanyak 2  $\mu$ l; dNTP 8 $\mu$ M masing-masing 2,5  $\mu$ l; sepasang primer 10 mM masing-masing 1,25  $\mu$ l; Taq DNA polymerase sebanyak 0,125  $\mu$ l. Ditambahkan 2.5  $\mu$ l buffer 10xPCR Buffer. Campuran divorteks dan diputarkan. Pra PCR dilakukan dalam satu siklus pada suhu 94 °C selama 5 menit. Jumlah siklus PCR yang diperlukan sebanyak 38 siklus. Tahapan PCR meliputi: Tahapan Denaturasi pada suhu 94 °C selama 30 detik, Annealing pada suhu 55 °C selama 45 detik, dan tahap Elongasi pada suhu 72 °C selama 40 detik (Gambar 5).



**Gambar 7.** Visualisasi produk PCR hasil amplifikasi gen COI dari sampel sirip menggunakan pasangan primer fish-BCL dan fish-BCH

Perkembangan ilmu dan pengetahuan dalam biologi molekuler, khususnya pada pengkajian karakter bahan genetik telah menghasilkan kemajuan yang sangat pesat bagi perkembangan penelaahan suatu organisme dan pemanfaatannya bagi kesejahteraan manusia. Di bidang taksonomi, sebagai contoh Avise & Lansman (1983) dan Brown (1983) mengungkapkan peran DNA mitokondria (mtDNA) dalam studi keanekaragaman genetika dan biologi populasi pada hewan. mtDNA dapat digunakan sebagai penanda genetika karena ukurannya relatif kecil. Secara umum penggunaan teknik molekuler untuk tujuan identifikasi suatu organisme mempunyai keunggulan seperti lebih akurat, lebih cepat dan untuk mikroba dapat mencakup keseluruhan mikroba termasuk yang “*viable but not yet culturable*”.

Dalam mengkaji keragaman genetik suatu spesies dapat dilihat dengan DNA (*Deoxyribo Nucleid Acid*) inti maupun DNA mitokondria (mtDNA). Pada umumnya mtDNA banyak digunakan dalam mengidentifikasi suatu spesies (Kyle dan Wilson 2007). Pada mtDNA memiliki banyak lokus, salah satunya lokus COI. DNA mitokondria dengan lokus COI mampu mendiskriminasikan spesies dengan akurat berdasarkan struktur dan komponen penyusun DNA serta memberikan informasi kedekatan spesies melalui filogenetik (Brooks dan McLennan, 1991).

Bidang molekuler sangat bermanfaat dalam menelusuri tindak kejahatan eksploitasi ikan. Penting untuk melakukan pencegahan tindak eksploitasi satwa-satwa khususnya di Indonesia.

#### KESIMPULAN

Hasil penelitian diperoleh 5 jenis ikan pari yaitu Pari Beting (*Dasyatis uarnak*) Pari Total (*Dasyatis kuhlii*), Pari Cambuk (*Hymantura uarnak*), Pari Duri (*Dasyatis annotatus*), Pari Bendera (*Dasyatis sephen*), yang semua termasuk Famili Dasyatidae. Hasil penelitian diperoleh 5 jenis ikan pari yaitu Pari Beting (*Dasyatis uarnak*), Pari Total (*Dasyatis kuhlii*), Pari Cambuk (*Hymantura uarnak*), Pari Duri (*Dasyatis annotatus*), Pari Bendera (*Dasyatis sephen*), yang semua termasuk Famili Dasyatidae. Hasil isolasi diperoleh DNA, selanjutnya diamplifikasi sepanjang 500 nukleotida. Analisis filogenetik dan status konservasi untuk 5 jenis ikan pari yang tertangkap nelayan dan diperdagangkan di TPI Kota Semarang dinyatakan memiliki status keterlindungan LC (Least concern) yaitu jenis ini memiliki resiko kepunahan akan tetapi masih terkategori rendah. *Dasyatis annotatus*

memiliki status konservasi yang penting dan genting untuk segera di konservasi karena terancam punah.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Baldwin CC, Mounts JH, Smith DG, Weigt LA. (2009). Genetic identification and color descriptions of early life-history stages of Belizean *Phaeoptyx* and *Astrapogon* (Teleostei: Apogonidae) with comments on identification of adult *Phaeoptyx*. *Zootaxa* 2008: 1–22
- Dharmadi & Fahmi. (2003). *Fisheries characteristic of artisanal sharks and rays in Indonesia waters*, hlm 122-129. Preceding Seminar on marine and fisheries. December 2003. Agency for marine and fisheries research. Jakarta. Dinas Perikanan Kalimantan Barat.
- Fahmi & Darmadi. (2005). Status perikanan hiu dan aspek pengelolaannya. *Oseana* 30:1-8. Krebs, C.J. 1989. *Ecological Methodology*. Ed. Ke-2. HarperCollins Publ. New York. Last, P.R. & J.D.
- Fahmi & Dharmadi. (2006). Economically important sharks and rays of Indonesia. ACIAR. Canberra
- Holmes, B.H., Steinke, D., Ward, R.D. (2008). Identification of shark and rays fins using DNA Barcoding. *Fisheries Research*, 95(2), 280- 288.
- Kyle CJ, Wilson CC. (2007). Mitochondrial DNA identification of game and harvested freshwater fish spesies. *Forensic Sciece Internasional* 166(1): 68-76
- Kurniasih, E.M. (2013). *DNA Barcoding dan Analisis filogenetik ikan hiu yang didaratkan di Pelabuhan Perikanan Samudera Cilacap*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Peloa, A., Stenly W., Chatrien A.S., (2015). Amplifikasi Gen Cytochrom Oxidase Subunit I (COI) dari Sampel Sirip Ikan Hiu dengan menggunakan beberapa Pasangan Primer. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Volume 1 Nomor 1.
- Sadili, D., (2013). *Perlindungan dan Pelestarian Jenis Ikan Terancam Punah (Penyu, Hiu dan Mammalia laut)*. Direktorat Konservasi dan Jenis Ikan . Jakarta: Dirjen Kelautan, Pesisir dan Pulau-pulau kecil. Kementrian Kelautan dan Perikanan.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, dan Kumar S. (2011). MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.*28(10):2731-9.