

Study of e-DNA Quality at Fishing Ground of Manado Bay, North Sulawesi Province.*(Kajian Kualitas e-DNA Pada Daerah Penangkapan Ikan di Teluk Manado Provinsi Sulawesi Utara)***Nistiarni. Zebua¹, Kawilarang W. A. Masengi², Alfret Luasunaung², Ixchel F. Mandagi², Inneke F. M. Rumengan², Stenly Wulur², Daisy M. Makapedua², E. I. K.G. Masengi, Deiske A. Sumilat², Akira W. R. Masengi³, Victoria Manoppo²**¹*Master of Aquaculture Study Program, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Sam Ratulangi University Manado Indonesia 95115 North Sulawesi, Indonesia*²*Teaching Staff of the Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Sam Ratulangi University, Manado, Indonesia 95115 North Sulawesi, Indonesia*³*Aquatic Resources Management Study Program, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Sam Ratulangi University, Manado 95115 North Sulawesi, Indonesia**Corresponding author: coelacanth.ixchel@gmail.com

Manuscript received: 19 Oct. 2024. Revision accepted: 29 Jan. 2025

Abstract

We used the Nansen Bottle Sampler to collect water samples in the deepsea area, ranging from 150 meters to 175 meters in six water points around Manado Bay, to test the quality of e-DNA water samples to detect target species in the fishing area. Therefore, the basis of the case study method with a sampling technique was carried out on July 29 2023 using Power Water Sterivex Kits, water samples were then stored at -25°C and were then taken to TBRC, University of the Ryukyus for further laboratory works, such as; eDNA extract, eDNA quality testing, 1st and 2nd PCR and Electrophoresis eDNA analysis processes using MiFish-U primers with a target of 163–185bp and 375 bp, following the MiFish protocol. Based on the results of the eDNA extract solution, it is known that the quality of eDNA from the 6 sampling sites locations ranged between 2.8 µg/mL – 4.4 µg/mL, which means a good quality of eDNA. Moreover, it showed that the presence of DNA fragments at Kappa 60°C Gelelectrophoresis 1st-PCR, 12S rRNA gene product (163–185bp), and Kappa 60°C and 65°C Geklelectrophoresis 2nd-PCR Products according to the target amplicon 375 bp. This means we can conduct the next step, the PCR sequence analysis. Then, eDNA quality testing, 1st and 2nd PCR, and Electrophoresis of e-DNA analysis process were using MiFish-U F/R primers with a target of 375 bp, it is known that the concentration of Nanodrop from the 6 sampling locations ranges between 2.8 µg/mL – 4.4 µg/mL while the core or quality eDNA ranged from 1.56 µg/mL – 2.50 µg/mL. Based on identification results, five types of species were detected; *Myctophum lychnobium*, *Selar crumenophthalmus*, *Photonectes* sp., *Oreochromis* sp. *Thunnus obesus* and *Homo sapiens* were generated using eDNA metabarcoding on the mitochondria genome database MitoFish.

Keywords: e-DNA, eDNA quality, species target, fishing area, Manado Bay

Abstrak

Kami menggunakan *Nansen Bottle Sampler* untuk mengambil sampel air pada laut dalam berkisar 150meter sampai 175 meter di enam titik perairan Sekitar Teluk Manado, untuk menguji Kualitas e-DNA sample air yang digunakan untuk mendeteksi target spesies pada daerah penangkapan.

Selanjutnya dasar metode studi kasus dengan teknik pengambilan sampel secara sampling dilakukan pada tanggal 29 Juli 2023 menggunakan Power Water Sterivex Kits, sampel air disimpan pada -25°C yang selanjutnya dibawa ke TBRC, University of the Ryukyus untuk penelitian laboratorium lanjutan seperti ekstrak eDNA, Pengujian kualitas eDNA, 1st and 2nd PCR dan Elektrophoresis proses analisis eDNA menggunakan primer MiFish-U dengan target 375 bp, mengikuti MiFish protokol.

Berdasarkan hasil pengujian larutan ekstrak eDNA diketahui bahwa kualitas eDNA dari 6 titik lokasi sampling berkisar antara 2.8 ng/mL – 4.4 ng/mL dan menunjukkan adanya fragment DNA pada Kappa 60°C Geklelectrophoresis 1st-PCR Produk 12S rRNA gene (163–185bp, dan Kappa

60°C dan 65°C Geklelectrophoresis 2nd-PCR Produk sesuai amplikon target 375 bp. Hal ini berarti dapat dilanjutkan pada tahap analisis sekuens PCR.

Pengujian kualitas eDNA, 1st and 2nd PCR dan Elektrophoresis proses analisis eDNA menggunakan primer MiFish-U F/R dengan target 375 bp, diketahui bahwa konsentrasi Nanodrop dari 6 titik lokasi sampling berkisar antara 2.8 µg/mL – 4.4 µg/mL sedangkan kemurnian atau kualitas eDNA berkisar antara 1.56 µg/mL – 2.50 µg/mL. Hasil identifikasi menyatakan lima jenis spesies terdeteksi; *Myctophum lychnobium*, *Selar crumenophthalmus*, *Photonektes sp.*, *Oreochromis sp.* *Thunnus obesus*, Homo sapiens dihasilkan dengan menggunakan eDNA metabarcoding pada MitoFish database genom mitokondria.

Kata kunci : e- DNA, kualitas eDNA, target spesies, daerah penangkapan, Teluk Manado.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumberdaya perikanan kelautan yang sangat melimpah, namun sumberdaya laut terancam oleh penangkapan ikan berlebihan dan pembangunan pesisir, pengelolaan spasial ekosistem pesisir yang terbatas, dan tekanan lainnya. Meskipun beberapa donatur dari seluruh dunia memberikan perhatian untuk melindungi keragaman biologis karena mata pencaharian masyarakat pesisir yang bergantung pada laut yang mengakibatkan proses tergerusnya potensi perikanan tetap menjadi ancaman. 2011 (Masengi *et al.*, 2018). Indonesia akan menjadi negara dengan identitas maritim yang kuat jika pemberdayaan seluruh masyarakat pesisir dalam sektor poros maritim dapat menjadi faktor pemerataan ekonomi Indonesia (Prayuda *et al.*, 2019). Mengutip data Badan Pusat Statistik (BPS), pada tahun 2018 hingga 2020, jumlah produksi perikanan tangkap Sulawesi Utara mencapai angka 330.225,00 ton pada tahun 2020. Hal ini berkaitan erat dengan penentuan daerah penangkapan ikan.

Daerah penangkapan ikan merupakan suatu daerah perairan tempat ikan berkumpul dan penangkapan ikan dapat dilakukan dengan baik dengan ciri-ciri tempat tersebut sebagai aktifitas penangkapan dan terdapat gerombolan ikan yang bernilai ekonomis tinggi (Pratiwi *et al.* 2015). Oleh karena itu penentuan daerah penangkapan ikan (DPI) akan sangat baik jika dilihat dari beberapa kriteria yang mengindikasikan perairan tersebut layak untuk di eksploitasi. Kriteria yang dapat dijadikan sebagai indikator DPI

antara lain adalah aspek biologi dan aspek ekologi. (Simbolon, 2011). Salah satu faktor yang dapat menentukan berhasil atau tidaknya suatu operasi penangkapan, maka alat tangkap dan daerah penangkapan tersebut haruslah baik dan dapat menguntungkan (Laevestu *et al.*, 1981; dalam Umar *et al.*, 2016). Dalam penentuan daerah penangkapan ikan (fishing ground), nelayan cenderung menggunakan intuisi atau naluri alamiah yang pada umumnya masih bersifat tradisional dan memanfaatkan teknologi akustik untuk penangkapan ikan yang menjadi salah satu metode yang efektif untuk mendeteksi keberadaan ikan secara langsung, cepat, dan akurat (Simmond *et al.*, 2005 dalam Muhammad *et al.*, 2016). Dari cara yang di pakai nelayan selama ini dalam menentukan daerah penangkapan ikan belum bisa di ketahui secara pasti karena nelayan hanya menduga adanya ikan tetapi jenis ikan apa saja yang ada di perairan tersebut nelayan tidak mengetahuinya, sehingga ini membuat biaya operasional semakin tinggi dan ini merugikan nelayan.

Sekarang ini ada teknologi terbaru yang bisa mengetahui keberadaan sumber ikan pada suatu perairan. Yang jika sebelumnya dalam penangkapan ikan nelayan umumnya dapat mengetahui keberadaan ikan dengan menggunakan pancing dan trap untuk menangkap ikan dan mengetahui jenis ikan apa saja yang ada di lokasi tersebut. Untuk saat ini sudah ada teknologi baru di bidang perikanan tangkap, di mana teknologi ini dapat memonitor, mendeteksi keberadaan ikan dan jenis ikan apa saja yang ada di suatu perairan yakni dengan metode

environmental DNA (e-DNA) (Stoeckle et al., 2016). Semenjak didemonstrasikan pertama kali oleh untuk mendeteksi spesies vertebrata air yakni katak Amerika invasive. (Ficetola et al., 2008; dalam Masengi et al., 2019), studi penggunaan e-DNA terus menjadi perhatian para peneliti sampai saat ini untuk mengetahui keanekaragaman hayati. Bahkan diketahui bahwa sebagian besar studi e-DNA berfokus pada pendeteksian spesies invasive dan terancam, karena dipercaya sangat penting untuk mengembangkan strategi konservasi yang tujuannya untuk mengetahui keberadaan populasi dan melindungi keanekaragaman spesies asli (Stewart, 2019). Meskipun merupakan metode survei yang relatif baru, eDNA telah terbukti memiliki potensi besar dalam pemantauan biologis. eDNA dapat melengkapi metode ini dengan menargetkan spesies yang berbeda, mengambil sampel keanekaragaman yang lebih besar, dan meningkatkan resolusi taksonomi (Deiner et al., 2017)

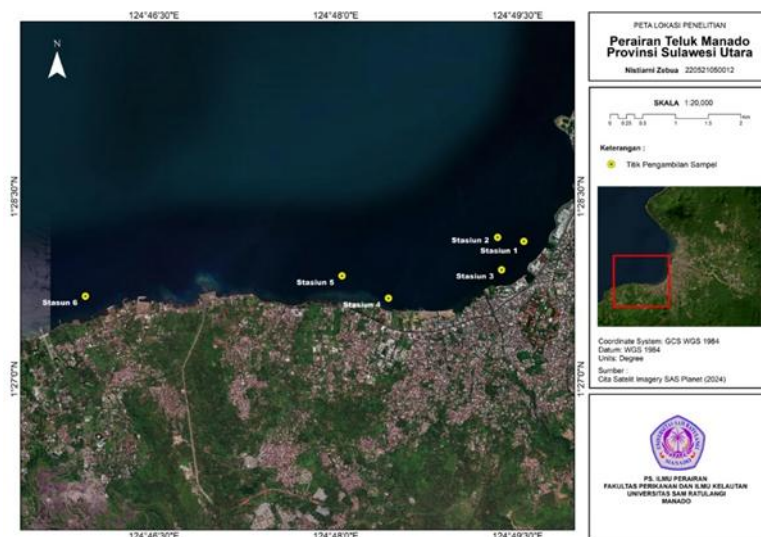
Environmental DNA (e-DNA) adalah DNA yang dikumpulkan dari berbagai sampel lingkungan seperti tanah, air laut, salju atau udara, bukan sampel langsung

dari organisme individu. Saat berbagai organisme berinteraksi dengan lingkungan, DNA dikeluarkan dan terakumulasi di lingkungan mereka dari berbagai sumber (Qu, 2019). Maka penelitian ini bertujuan untuk Tujuan dari penelitian ini adalah: Menguji Kualitas e-DNA Pada Daerah Penangkapan Ikan di Sekitar Teluk Manado Provinsi Sulawesi Utara. Karena mengingat pentingnya mengetahui informasi keberadaan sumberdaya perikanan dalam penentuan daerah penangkapan ikan, maka penelitian ini diharapkan bisa membantu para pemangku kepentingan terlebih khusus para nelayan dan pemerintah dalam upaya meningkatkan pendapatan masyarakat nelayan.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di perairan Sekitar Teluk Manado Provinsi Sulawesi Utara, dan penelitian dilakukan dari bulan Juni sampai Desember tahun 2023 di enam titik lokasi pengambilan sampel dengan kedalaman perairan 150-175 meter (Gambar 1).



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian.

Teknik Pengambilan Sampel e-DNA

Dasar Metode Penelitian ini adalah studi kasus dengan teknik pengambilan sampel secara sampling pada posisi titik

tertentu (Tabel 1) dengan kedalaman 150-175 meter di perairan Teluk Manado. Air sampel diperoleh dengan menggunakan *Nansen Bottle Sampler* dengan volume air

1500 CC, dilakukan dengan penuh ketelitian agar tidak terkontaminasi, dan selanjutnya sampel air dimasukkan ke dalam saringan *SVGPL10RC Filter Unit* sebanyak 15 kali masing-masing 90 CC, dilanjutkan dengan penambahan cairan pengaman DNA cairan DNA Iso Reagent berukuran kurang dari 5 CC kemudian disimpan ke dalam *cool box* yang dilengkapi dengan es setelah kedua ujung filter ditutup dengan penutupnya.

Selanjutnya disimpan pada freezer -25° C di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, hingga diangkut ke Pusat Proyek Penelitian Strategi, Universitas Ryukyus, Okinawa, Jepang untuk dilakukan analisa laboratorium lanjutan mengikuti protokol MiFish (Miya et al., 2018).

Adapun alat dan bahan yang akan digunakan pada saat kegiatan penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Titik Koordinat Lokasi Penelitian

Stasiun	Koordinat		Kedalaman (Meter)	Lokasi
	Lintang Utara Timur	Bujur		
1	1°28'08"	124°49'33"	175	Di depan Godbless Park
2	1°28'10"	124°49'20"	150	Di belakang Mantos
3	1°27'54"	124°49'22"	150	Di belakang Lagoon Bahu Mall
4	1°27'40"	124°48'26"	150	Di belakang RS. Prof. Kandouw
5	1°27'51"	124°48'03"	150	Pantai Malalayang
6	1°27'15"	124°77'92"	150	Pantai Kalasey

Tabel 2. Alat dan bahan penelitian

No.	Alat dan Bahan	Kegunaan
1.	Armada perahu	Alat transportasi menuju lokasi pengambilan sampel
2.	Power water sterivex DNA isolation kits	Untuk menyimpan e-DNA
3.	DNAiso Reagen	Untuk mengawetkan e-DNA
4.	SVGPL10RC Filter Unit	Untuk menyedot sampel air dari Nansen Bottle Water Samper ke Power water Sterivex DNA Isolatiaon Kits
5.	Nansen Bottle water sampler (1500 cc)	Mengambil sampel e-DNA pada ke dalaman tertentu.
6.	Tali Nilon	Mengukur kedalaman perairan dan mengikat Nansen Bottle Water Sampler.
7.	Camera	Mendokumentasikan saat pengambilan sampel
8.	Alat tulis menulis	Mencatat data yang di ambil
9.	GPS	Menentukan lokasi pengambilan sampel
10.	Cool box	Menyimpan Power Water strives DNA isolation kits
11.	Kaos tangan Katun	Melindungi tangan saat penarikan tali nilon dan nansen bottle water sampler
12.	Handskun	Menjaga untuk tetap steril dan sampel e-DNA tidak terkontamimasi
13.	Masker	Menjaga agar sampel e-DNA tidak terkontaminasi
14.	Es batu	Menjaga sampel tetap baik dari lokasi ke frezer
15.	Labtop	mengolah data

Analisis Data

Tahap selanjutnya adalah mengekstrak cairan yang memiliki kandungan DNA untuk diuji keberadaan

Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) yang dilakukan pada laboratorium Tropical Biosphere Research Center (TBRC) Universitas Ryukyus Okinawa Jepang

yang merupakan mitra dalam kerjasama penelitian dengan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT. Produk larutan ekstrak eDNA selanjutnya dilakukan pengujian dengan menggunakan metode Thermo Scientific Nanodrop Spectrophotometers. DNA yang diperoleh kemudian diperbanyak menggunakan teknologi PCR dan primer yang sesuai dengan organisme target. Fragmen dari primer yang digunakan lalu disekuensing menggunakan teknologi next-generation sequencing yang menunjukkan urutan basa pada untai DNA. High-throughput sequencing atau dikenal dengan next-generation sequencing (NGS) merupakan teknologi terbaru dalam pembacaan sekuen DNA diantaranya whole genome sequencing, targeted sequencing, dan de novo sequencing (Roslin, *et. al*; 2019). Hasil sekuensing berupa data-data sekuens dicocokkan dengan database kemudian dianalisis secara bioinformatika. Hasil analisis ini berupa taksa-taksa dari suatu sampel, mulai dari tingkatan filum sampai spesies (Schallenberg, *et. al*; 2020).

Untuk menganalisa data untuk pendugaan keberadaan ikan dengan teknik DNA Lingkungan yakni jika kandungan DNA pada sampel air sudah mencukupi standar mengikuti Protokol MiFish, dengan menggunakan Primer MiFish-U F/R (MiFish-Universal Forward/Reverse) (Miya, *et. al*; 2015). Hasil ekstraksi e-DNA akan dilanjutkan dengan pengujian kualitas e-DNA dengan menggunakan spektrofotometer NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) dengan melakukan uji kualitas nanodrop dan elektroforesis dari semua bagian PCR-1 dan PCR-2 dengan menggunakan control positif sampel ikan air laut yang sudah terdaftar dan menggunakan air sebagai control negatif. Selanjutnya, analisis lebih detail tentang eDNA yang pada akhirnya akan diperoleh informasi genetik tentang sebaran, jenis dan jumlah spesies ikan yang terdapat dilokasi pengambilan sampel air laut di beberapa kedalaman yang terambil sesuai dengan tujuan penelitian.

PCR pertama dilakukan dengan 35 siklus volume reaksi 12 μ l yang mengandung 6,0 μ l 2 $\times$ KAPA HiFi HotStart ReadyMix (termasuk DNA polimerase, buffer reaksi, dNTPs dan MgCl₂ (pada konsentrasi akhir 2,5mM)) (KAPA Biosystems, Wilmington, MA, USA), 0,7 μ l setiap primer (5 μ M), 2,6 μ l H₂O suling steril dan 2,0 μ l templat. Ketika PCR pertama dimultipleks (penggunaan beberapa pasangan primer secara bersamaan), konsentrasi akhir setiap primer adalah 0,3 μ M dan H₂O sulingan steril ditambahkan hingga total volume reaksi 12,0 μ l. Profil siklus termal setelah denaturasi awal 3 menit pada suhu 95° C adalah sebagai berikut: denaturasi pada suhu 98° C selama 20 detik; anil pada suhu 65° C selama 15 detik; dan ekstensi pada suhu 72° C selama 15 detik dengan ekstensi akhir pada suhu yang sama selama 5 menit. Dilakukan hal yang sama untuk aniling temperatur pada 60° C, 50° C dan 55° C.

PCR putaran kedua (PCR kedua; gambar 2) menggunakan produk PCR pertama sebagai templat dan memperkuat wilayah tersebut menggunakan primer 5'AATGATACGGCGACCACCGAGATCT ACAXXXXXXXACACTCTTTCCC TACACGACGCTCTTCCGATCT-3' (maju) dan 5'-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATXX XXXXXXGTGACTGGAGGTTTCAGACGT GTGCTCTTCCGAT CT-3' (terbalik). Segmen octo-X mewakili urutan indeks ganda (total 40 indeks unik; A501–508, A701–712 dan D501–508, D701–D712; urutan ujung 5' adalah adaptor yang memungkinkan produk akhir mengikat atau hibridisasi menjadi oligo pendek pada permukaan sel aliran Illumina; dan sekuens ujung 3' adalah situs utama untuk sekuensing MiSeq.

Produk PCR selanjutnya digunakan untuk sekuensing proses, hasil dari tahapan ini akan digunakan untuk analisis lebih detail yang pada akhirnya akan diperoleh informasi genetik tentang keanekaragaman spesies yang terdeteksi dengan menggunakan FASTA file format. Proses pembacaan sekuens fasta file, menjadi sasaran pencarian BLASTN lokal

(Comocho *et al.*, 2015) pada database yang dibuat khusus. Yang terakhir ini dihasilkan dengan mengunduh seluruh rangkaian mitogenom ikan utuh dan sebagian yang disimpan di MitoFish (Iwasaki *et al.*, 2013) dan seluruh rangkaian mitogenom dari tetrapoda yang disimpan di NCBI Organelle Genome Resources (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/OrganelleResource.cgi?taxid=32523>) untuk mencakup tetrapoda yang hidup di lingkungan perairan.

Hasil dari pencarian BLAST secara otomatis ditabulasikan, dengan nama ilmiah, nama umum, jumlah total bacaan dan urutan representatif dicatat dalam format HTML. Selain itu, informasi biologis untuk setiap spesies yang terdeteksi tersedia dari hyperlink dalam tabel, seperti FishBase (<http://fishbase.sinica.edu.tw>), Barcode of Life (<http://www.boldsystems.org>), GBIF (<http://data.gbif.org>), MitoFish (<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp>) dan NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) untuk evaluasi cepat dan kredibilitas identifikasi bioinformatik. Jalur bioinformatik di atas dari pemrosesan data hingga penugasan taksonomi (termasuk skrip Perl) tersedia dari <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.n245j>

dan fungsinya akan tersedia untuk umum di MitoFish (<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp>).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Kualitas e-DNA

Berdasarkan hasil pengujian kualitas eDNA dan konsentrasi Nanodrop yang dilakukan pada Laboratorium Pusat Penelitian Proyek-proyek Strategis di Universitas Ryukyus Okinawa Jepang, diketahui bahwa waktu pengambilan ke enam sampel e-DNA dilakukan pada 29 Juli 2023 dan waktu ekstraksi keseluruhan sampel pada 10 Oktober 2023 (Tabel 4.1) (Gambar 4.1). Sampel pertama dengan ID IC013 yang di ambil di depan God Bless Park memiliki konsentrasi e-DNA 3,1 µg/mL dengan kualitas 1.76 µg/mL, sampel yang kedua dengan ID IC014 yang di ambil di belakang Mantos memiliki konsentrasi e-DNA 3,6 µg/mL dengan kualitas 1.69 µg/mL, Sampel ke tiga dengan ID IC015 yang di ambil di belakang Lagoon Bahu Mall memiliki konsentrasi e-DNA 3,7 µg/mL dengan kualitas 1.57 µg/mL, sampel yang ke empat dengan ID IC016 yang di ambil di belakang RSUD. Prof. Kandow memiliki konsentrasi e-DNA 4,4 µg/mL dengan kualitas 1.67 µg/mL, Sampel yang ke lima dengan ID IC017 yang di ambil di Pantai.

Tabel 3. Hasil Pengujian kualitas Sampel air eDNA, Setelah ekstraksi dan amplifikasi pada enam lokasi di Teluk Manado

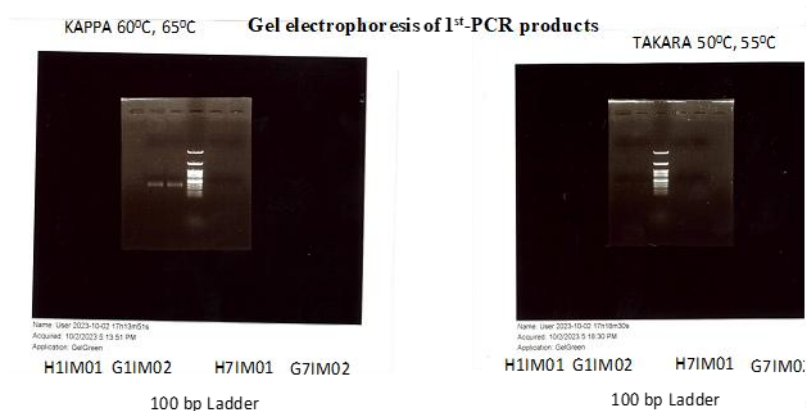
No. Sampel	Waktu Penfambilan Sampel	Waktu Ekstraksi DNA	Lokasi Pengambilan Sampel	Konsentrasi Nanodrop (µg/mL)	Kualitas e-DNA (µg/mL)
IC013	29.06.2023	10.10.2023	Di depan Godbless Park	3.1	1.76
IC014	29.06.2023	10.10.2023	Di belakang Mantos	3.6	1.69
IC015	29.06.2023	10.10.2023	Di belakang Lagoon Bahu Mall	3.7	1.56
IC016	29.06.2023	10.10.2023	Di belakang RSUD. Prof. Kandouw	4.4	1.67
IC017	29.06.2023	10.10.2023	Pantai Malalayang	2.8	2.50
IC018	29.06.2023	10.10.2023	Pantai Kalasey	4.5	1.61

Malalayang memiliki konsentrasi e-DNA 2,8 ng/mL dengan kualitas 2.50 ng/mL, sampel terakhir yaitu ke enam dengan ID IC018 yang di ambil di Pantai Kalasey memiliki konsentrasi e-DNA 4,5 µg/mL dengan kualitas 1.61 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi e-DNA

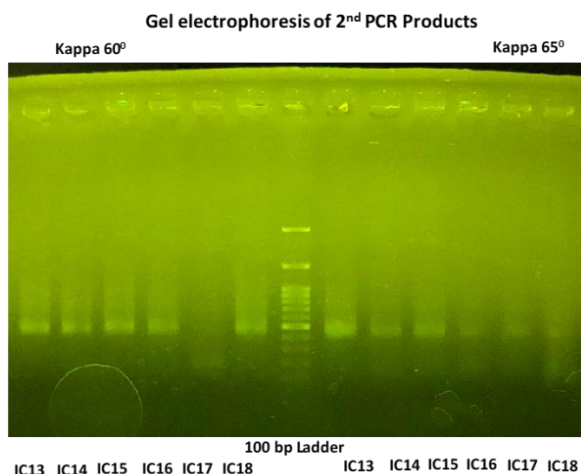
berkisar antara 2,8-4,5 µg/mL sedangkan kualitas atau kemurnian eDNA berkisar antara 1.56-2.50 µg/mL. Jika mengikuti standart kemurnian DNA (1,7-2,0) maka ID IC013 memiliki nilai kemurnian yang berkualitas baik yakni 1,76 µg/mL.

Adapun hasil dari reaksi PCR dapat divisualisasi dengan menggunakan Gel Electrophoresis. Seperti diketahui bahwa prinsip dari gel electrophoresis yaitu pemanfaatan kutub positif dan negatif elektroda untuk menarik fragmen DNA didalam matriks gel berarus listrik sehingga fragmen DNA terpisah berdasarkan ukurannya. Sebagai standar digunakan 100 bp DNA ladder untuk mengukur ukuran fragment DNA hasil PCR Kappa 60° C, sesuai target ampikon 12S rRNA gene (163–185bp) Gambar 4.1, dimana fragmen DNA dengan panjang yang sama membentuk 'pita' pada gel,

yang dapat dilihat dengan mata jika gel diwarnai dengan pewarna pengikat DNA sedangkan 1st Gelelectrophoresis Kappa 65° C dan Takara 50° C dan 55°C tidak menunjukkan adanya fragmen DNA. Seperti diketahui bahwa prinsip dari gel electrophoresis yaitu pemanfaatan kutub positif dan negatif elektroda untuk menarik fragmen DNA. Meskipun ampikon target (375 bp) mungkin tampak tidak jelas pada 2nd Gelelectrophoresis PCR Produk Kappa 60° C dan Kappa 65° C, akan tetapi menurut kami terdapat noda seperti pita dan tidak ada masalah untuk melanjutkan ke urutan DNA, lihat Gambar 2.



Gambar 2. Pembacaan Hasil Gelelectrophoresis 1st PCR Produk menggunakan Primer MiFish-U F/R



Gambar 3. Pembacaan Hasil Gelelectrophoresis 2nd PCR Produk menggunakan Primer MiFish-U F/R

Identifikasi Molekular (Taksonomi dan e-DNA Metabarcoding)

Berdasarkan hasil pengujian kualitas e-DNA yang menunjukkan kemurnian atau berkualitas baik 1.76 µg/mL dari sampel air yang diambil pada Stasiun 13 pada posisi 1°28'08"LU; 124°49'33"BT dengan

kedalaman 175 meter, maka PCR Produk dengan ID IC13 Kappa 60° dan ID IC13 Kappa 65° digunakan untuk sekuens proses. Sehingga, sebanyak 10 MiFish-U sekuens yang dihasilkan (Tabel 4.2) digunakan untuk analisa lanjut untuk identifikasi secara molekuler baik

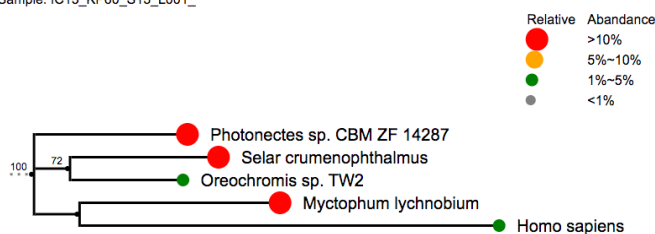
taksonomi dan eDNA Metabarcoding dengan menggunakan software MitoFish, dimana MitoFish adalah database genom mitokondria ikan yang komprehensif dan terstandarisasi, dengan fokus pada spesies atau taksonomi ikan dan untuk menganalisis DNA lingkungan yang di amplifikasi menggunakan Primer MiFish. Hasilnya menunjukkan sampel e-DNA dengan ID IC13_KP60_S13_L001 dapat mendeteksi 5 spesies; *Myctophum lychnobium* dari famili Myctophidae dengan total reads 1083 bp, dan tingkat kesamaan 98.84 %; *Selar crumenophthalmus* dari famili Carangidae dengan total reads 847 bp, dan tingkat kesamaan 100%; *Photonectes sp CBM ZF 14287* dari famili Stomiidae dengan total reads 278 bp dan tingkat kesamaan 99.4%; *Homo sapiens* dari famili Hominidae dengan total reads 111 bp dan tingkat kesamaan 100%; *Oreochromis sp TW2* dari famili Cichlidae dengan total reads 90 bp dan tingkat kesamaan 100 %.

Kemudian hasil sampel e-DNA dengan ID IC13-KP65-S45-L001 dapat mendeteksi 5 spesies; *Myctophum lychnobium* dari famili Myctophidae dengan total reads 7827 bp dan tingkat kesamaan 98.84 %; *Selar crumenophthalmus* dari famili Carangidae dengan total reads 6639 bp dan tingkat kesamaan 100%; *Thunnus obesus* dari famili Scombridae dengan reads 2851 bp dan tingkat kesamaan 99.4 %; *Photonectes sp. CMB ZF 14287* dari famili Stomiidae dengan total reads 1292 bp dan tingkat kesamaan 99.4 %; *Homo sapiens* dari famili Hominidae total reads 9 bp dan tingkat kesamaan 100%. Bahkan diperoleh informasi bahwa ada 2 spesies yang terdeteksi *Selar crumenophthalmus* dan *Thunnus obesus*, di sebutkan sebagai spesies yang sangat komersial, informasi ini sangat penting untuk disampaikan kepada nelayan atau pengusaha ikan, mengingat daerah ini merupakan daerah penangkapan ikan para nelayan lokal.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Spesies berdasarkan pendekatan molekuler dengan menggunakan Primer MiFish-U di depan God Bless Park

Sample name	Species Name	Family	Total reads	Identity (%)	Align Length	Importance in Fisheries
IC13_KP60_S13_L001_	<i>Myctophum lychnobium</i>	Myctophidae	1083	98.84	172	highly commercial
IC13_KP60_S13_L001_	<i>Selar crumenophthalmus</i>	Carangidae	847	100	170	
IC13_KP60_S13_L001_	<i>Photonectes sp. CBM ZF 14287</i>	Stomiidae	278	99.4	168	
IC13_KP60_S13_L001_	<i>Homo sapiens</i>	Hominidae	111	100	171	
IC13_KP60_S13_L001_	<i>Oreochromis sp. TW2</i>	Cichlidae	90	100	168	
IC13_KP65_S45_L001_	<i>Myctophum lychnobium</i>	Myctophidae	7827	98.84	172	highly commercial
IC13_KP65_S45_L001_	<i>Selar crumenophthalmus</i>	Carangidae	6639	100	170	
IC13_KP65_S45_L001_	<i>Thunnus obesus</i>	Scombridae	2851	99.4	168	
IC13_KP65_S45_L001_	<i>Photonectes sp. CBM ZF 14287</i>	Stomiidae	1292	99.4	168	
IC13_KP65_S45_L001_	<i>Homo sapiens</i>	Hominidae	9	100	171	

Sample: IC13_KP60_S13_L001_



Gambar 4. Rekonstruksi filogenetik haplotipe spesies yang terdeteksi menggunakan Sampel IC13_KP60_S13_L001 fasta file sekuens, dihasilkan oleh metabarcoding eDNA

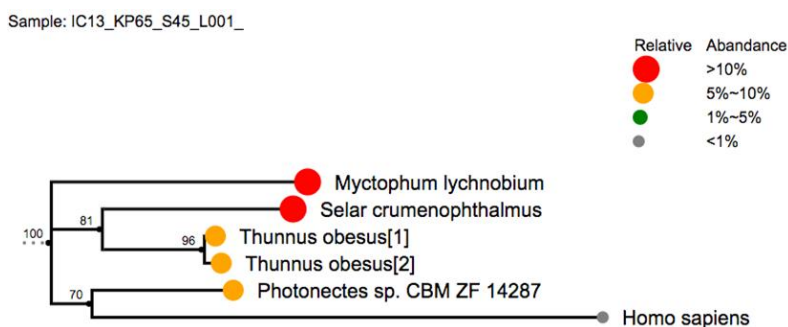
Selanjutnya berdasarkan hasil Rekonstruksi filogenetik haplotipe spesies yang terdeteksi menggunakan sampel

Sampel IC13_KP60_S13_L001 fasta file sekuens Gambar 4.3, yang dihasilkan oleh metabarcoding eDNA menyatakan bahwa

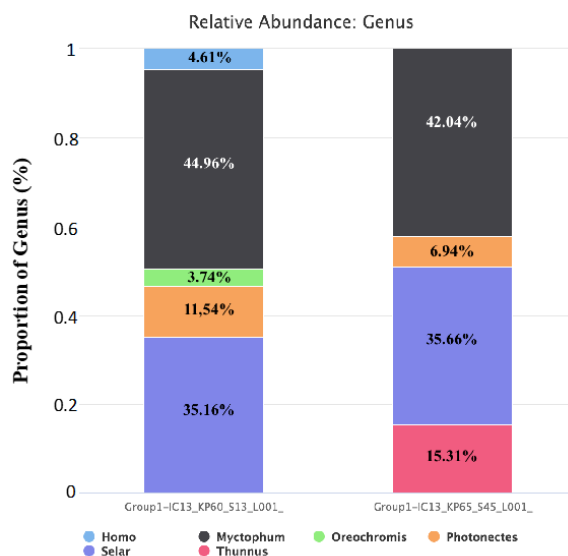
spesies *Photonectes* sp. CBM ZF 14287, *Selar crumenophthalmus* dan *Myctophum lychnobium* kelimpahannya >10% dan dibandingkan dengan *Oreochromis* sp.TW2 1%-5%.

Lain halnya dengan hasil rekonstruksi filogenetik haplotype spesies yang terdeteksi menggunakan Sampel IC13_KP65_S13_L001 fasta file sekuens, Gambar 4.4, yang dihasilkan oleh metabarcoding eDNA menyatakan bahwa spesies *Myctophum lychnobium* dan *Selar crumenophthalmus* kelimpahannya >10% dan membentuk satu group dibandingkan dengan *Thunnus obesus* (1) dan *Thunnus obesus* (2) kelimpahannya 5-10% juga berada dalam satu grup sedangkan *Photonectes* sp. CBM ZF 14287, 1%-5%.

Menariknya informasi tentang Proporsi Kelimpahan Genus berdasarkan identifikasi Metabarcoding eDNA Group1-IC13_KP60_S13_L001 menunjukkan bahwa *Selar* 35.16%, *Myctophum* 44.96%, *Photonectes* 11.54%, *Homo* 4.61% dan *Oreochromis* 3.74%. Sedangkan kelimpahan Genus berdasarkan identifikasi Metabarcoding eDNA Group1-IC13_KP65_S13_L001 diperoleh *Selar* 35.66%, *Myctophum* 42.04%, *Thunnus* 15.31% dan *Photonectes* 6.94%. Dimana spesies yang terdeteksi meskipun baru dua spesies target yaitu *Selar crumenophthalmus* dan *Thunnus obesus* yang terdeteksi lewat sampel air eDNA sudah sesuai dengan spesies target yang ingin dicapai dalam penelitian ini.



Gambar 5. Rekonstruksi filogenetik haplotype spesies yang terdeteksi menggunakan Sampel IC13_KP65_S13_L001 fasta file sekuens, dihasilkan oleh metabarcoding eDNA



Gambar 6. Proporsi Kelimpahan Genus Group1-IC13_KP60_S13_L001 dan Group1-IC13_KP65_S13_L001 berdasarkan identifikasi Metabarcoding eDNA

KESIMPULAN dan SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan data hasil DNA ekstraksi dan pengujian kualitas eDNA dari 6 titik sampel air yang diambil dan berlokasi di perairan teluk Manado Provinsi Sulawesi Utara berkisar antara 2.8 µg/mL – 4.4 µg/mL sedangkan kemurnian atau kualitas eDNA berkisar antara 1.56 µg/mL – 2.50 µg/mL. Sampel ID IC013 memiliki nilai kemurnian yang berkualitas baik yakni 1,76 µg/mL, sehingga dapat terdeteksi lima jenis spesies; *Myctophum lychnobium*, *Selar crumenophthalmus*, *Photoneustes* sp., *Oreochromis* sp. *Thunnus obesus*, *Homo sapiens* yang dihasilkan dengan menggunakan eDNA metabarcoding pada MitoFish database genom mitokondria.

Saran

Perlu adanya penambahan titik pengambilan sampel agar semakin banyak informasi spesies target dan distribusi spesies yang mendiami daerah perairan Teluk Manado yang akan digunakan oleh nelayan dalam penentuan daerah penangkapan ikan.

Perlu diinfokan kepada pemangku kepentingan tentang betapa perlunya teknik DNA lingkungan untuk penerapannya di bidang perikanan dan kelautan.

DAFTAR PUSTAKA

- Deiner, K; Walser, J; Mächler, E, F. (2015) Altermatt Choice of capture and extraction methods affect detection of freshwater biodiversity from environmental DNA Biol. Conserv., 183 (2015), pp. 53-63
- Deiner, Kristy; Bik, Holly M.; Mächler, Elvira; Seymour, Mathew; Lacoursière-Roussel, Anaïs; Altermatt, Florian; Creer, Simon; Bista, Ilana; Lodge, David M.; Vere, Natasha; Pfrender, Michael E.; Bernatchez, Louis (2017). "Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities". *Molecular Ecology*. **26** (21): 5872–5895. doi:10.1111/mec.14350. PMID 28921802. S2CID 8001074
- Ficetola GF, Miaud C, Pompanon F, Taberlet P. 2008 Species detection using environmental DNA from water samples. *Biol. Lett.* 4, 423–425. (doi:10.1098/rsbl.2008.0118)
- Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengelolaan Kelautan dan Ruang Laut 01 Juli 2020
- Laevestu, T. dan M. L. Hayes, 1981. *Fisheries Oceanography and Ecology*. Fishing News. Farnham. 119 hal
- Masengi, K.W.A., I. F. Mandagi, L. Manu, F. Silooy, I. L. Labaro, A.W.R. Masengi, N. Zebua, E.I.K.G. Masengi, Benny Pinontoan, Y. Hutabarat, F. Hukom, M. Iwata, Y. Abe, Y. Sato, R. Kimura and K. Yamahira. 2018. Study on existence of the fisheries resources abundance by using environmental deoxyribonucleic acid (e-DNA) approach at fishing grounds in the Sulawesi Sea, Indonesia. IORA-ICOR2018 IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 567 (2019) 012026 IOP Publishing doi:10.1088/1757-899X/567/1/012026.
- Miya M et al. 2015 MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from shes: detection of more than 230 subtropical marine species. *R. Soc. open sci.* 2: 150088. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.150088>
- Muhammad Kurnia, Sudirman, Alfa Nelwan. 2016. Penerapan Teknologi Akustik pada Perikanan Bagan Perahu Application of Acoustic Technology on the Fish Catch of Boat Lift Net. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada* 18 (1): 7-13 ISSN: 0853-6384 eISSN: 2502-5066
- Pratiwi, Putri Ana., Alit Hindri Yani dan Nofrizal. 2015. Studi Daerah Penangkapan Ikan Di Perairan Sungai Kampar Kanan Desa Kampung Panjang Kecamatan Kampar Timur Kabupaten Kampar Provinsi Riau. Fakultas Perikanan

- dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau. Pekanbaru.
- Prayuda, R. dan D.V. Sary, 2019. Strategi Indonesia Dalam Implementasi Konsep Blue Economy Terhadap Pemberdayaan Masyarakat Pesisir Di Era Masyarakat Ekonomi Asean. *Indonesian Journal of International Relations*, Vol. 3, No. 2, pp. 46-64. ISSN 2548-4109 electronic ISSN 2657-165Xprinted.
- Umar Tangke, John W. Ch. Karuwal, Achmar Mallawa, Mukti Zainuddin. 2016. Analisis Suhu Permukaan Laut, Salinitas, dan Arus dengan Hasil Tangkapan Ikan Tuna di Perairan Bagian Barat Pulau Halmahera. *Jurnal IPTEKS PSP* Vol. 3(5) April 2016:368-382 ISSN:2355-722X
- Qu, Chanjuan; Stewart, Kathryn A. (18 February 2019). "[Evaluating monitoring options for conservation: comparing traditional and environmental DNA tools for a critically endangered mammal](#)". *The Science of Nature*. **106** (3): 9. [Bibcode:2019SciNa.106....9Q](#). [doi:10.1007/s00114-019-1605-1](#). [ISSN 1432-1904](#). [PMID 30778682](#). [S2CID 66881381](#).
- Roslin T, Traugott M, Jonsson M, Stone GN, Creer S, Symondson WOC (2019) Introduction: special issue on species interactions, ecological networks and community dynamics – Untangling the entangled bank using molecular techniques. *Molecular Ecology* 28(2): 157-164.
- Schallenberg L, Wood SA, Pochon X, Pearman JK (2020) What Can DNA in the Environment Tell Us About an Ecosystem?. *Frontiers for Young Minds* (frontiersin.org). <https://kids.frontiersin.org/article/10.3389/frym.2019.00150> 2 Januari 2021.
- Simbolon, D. (2011). Bioekologi dan dinamika daerah penangkapan ikan (p. 41). IPB Press.
- Simbolon, D., Wahju, R. (2018). Analisis Daerah Penangkapan Ikan di pulau Enggano Bengkulu Utara. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Vol 21.
- Simmonds, J., & MacLennan, D. N. (2005). *Fisheries acoustics: Theory and practise* (Vol. 5). Oxford: Blackwell Science.
- Stoeckle, Bernhard (2016). Environmental DNA as a Monitoring Tool for the Endangered Freshwater Pearl Mussel (*Margaritifera margaritifera*L.): A Substitute For Classical Monitoring Approaches. *Aquatic Conservation: Marine And Freshwater Ecosystems*. John Wiley 26 (6): 1120–1129. doi: 10.1371/journal.pone.0156217. ISSN 1932-6203. UK.
- Zebua N., K. W. A. Masengi, A. Luasunanung, I. F. Mandagi, L. Manu, F. Silooy M. Kayadoe, A.W. R. Masengi and E. I. K. G. Masengi (2019) Pendugaan Sumberdaya Perikanan Dengan Pendekatan DNA Lingkungan di Perairan Sebelah Selatan Teluk Manado Provinsi Sulawesi Utara.