

**IDENTIFIKASI HOLOTHUROIDEA YANG DIKOLEKSI DARI  
KEPULAUAN RAJA AMPAT BERDASARKAN GEN COI**

**SKRIPSI**

oleh :

**Ninda Sahriyani  
105090100111010**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2014**

**IDENTIFIKASI HOLOTHUROIDEA YANG DIKOLEKSI DARI  
KEPULAUAN RAJA AMPAT BERDASARKAN GEN COI**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam  
Bidang Biologi

oleh :

**Ninda Sahriyani**  
**105090100111010**



**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2014**

**HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI HOLOTHUROIDEA YANG DIKOLEKSI DARI  
KEPULAUAN RAJA AMPAT BERDASARKAN GEN COI**

oleh :

**Ninda Sahriyani**  
**105090100111010**

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 8 Agustus 2014  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui,  
Pembimbing

Widodo, S.Si.,M.Si., Ph.D. Med.Sc  
NIP. 19730811 200003 1 002

Mengetahui,  
Ketua Program Studi S-1 Jurusan Biologi  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Rodliyati Azrianingsih, S.Si.,MAgr.Sc.,PhD  
NIP. 19700128 199412 2 001

## HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ninda Sahriyani  
NIM : 105090100111010  
Jurusan : Biologi  
Judul Skripsi :  
Identifikasi Holothuroidea yang Dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat  
Berdasarkan Gen COI

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini merupakan hasil karya sendiri dan bukan merupakan hasil dari mencontek karya orang lain
2. Karya-karya yang tercantum dalam skripsi ini hanya digunakan sebagai acuan tinjauan pustaka dan telah mengikuti kaidah pencantuman ilmiah
3. Apabila kemudian hari terdapat kesamaan (plagiat) dengan karya orang lain, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian Skripsi ini saya buat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2014  
Yang menyatakan

(Ninda Sahriyani)  
NIM. 105090100111010

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipannya hanya dapat dilakukan seijin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



# IDENTIFIKASI HOLOTHUROIDEA YANG DIKOLEKSI DARI KEPULAUAN RAJA AMPAT BERDASARKAN GEN COI

Ninda Sahriyani, Widodo  
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Brawijaya

## ABSTRAK

Kepulauan Raja Ampat mempunyai keanekaragaman hewan laut yang tinggi, salah satunya Timun Laut (Holothuroidea). Tujuan dilaksanakan penelitian ini, yakni mengidentifikasi taksa dari Holothuroidea yang dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat berdasarkan penanda gen COI. DNA diisolasi dari jaringan, amplifikasi gen COI menggunakan PCR, kemudian dilakukan sekuensing. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesimen UNP 106 mempunyai kemiripan yang besar dengan *Stolus* sp. UF 9494 dengan nilai similaritas 99,44%.

Kata kunci : Amplifikasi, COI, Identifikasi, Timun Laut



# IDENTIFYING HOLOTHUROIDEA WHICH COLLECTED FROM RAJA AMPAT ISLANDS BASED ON COI GENE

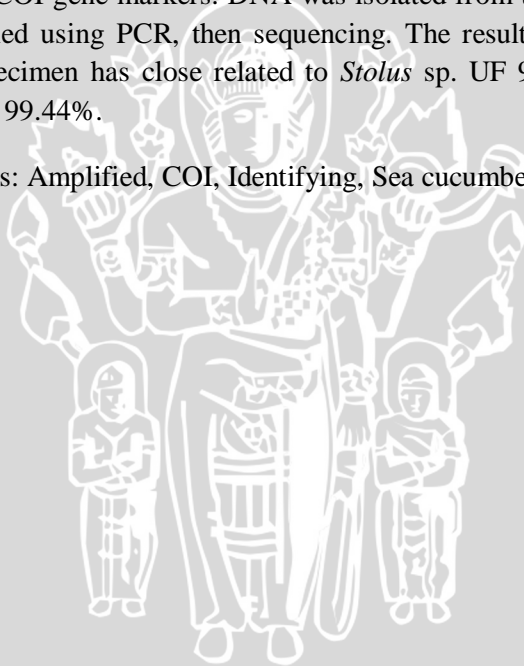
Ninda Sahriyani, Widodo

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,  
Brawijaya University

## ABSTRACT

Raja Ampat Islands have highly diversity of marine animals, such as Sea Cucumbers (Holothuroidea). The aim of this study is identify taxa of Holothuroidea which collected from the Raja Ampat Islands based on COI gene markers. DNA was isolated from the tissue, COI gene amplified using PCR, then sequencing. The results showed that UNP 106 specimen has close related to *Stolus* sp. UF 9494 with similarity value is 99.44%.

Keywords: Amplified, COI, Identifying, Sea cucumber



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Alah SWT, berkat rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, penelitian dan penulisan tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) dapat terselesaikan. Banyak pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tugas akhir ini. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Widodo, M.Si., Ph.D., Med.Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik, Dosen Pembimbing dan Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
2. Bapak Abdul Hamid Toha, S.Si., M.Si selaku Ketua Proyek *Marine Biodiversity Raja Ampat Islands* (MBRAI) dan membimbing penelitian, USAID dan NSF yang telah mendanai penelitian.
3. Bapak Drs. Aris Soewondo, M.Si., selaku Dosen Penguji I.
4. Bapak Muhaimin Rifa'I, S.Si., PhD. Med.Sc selaku Dosen Penguji II.
5. Laboran Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler, Susiati, S.Si., M.Biomed yang telah memberikan bimbingan selama penelitian dan analisis.
6. Mas Didik Huswo, S.Si., M.Si. dan Mbak Jayarani FP, S.Si., M.Si yang telah bersedia membagi ilmunya.
7. Orang Tua dan Keluarga penulis yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan moril maupun spiritual selama menempuh pendidikan.
8. MBRAI Tim (Fitria Eka Aprilia dan Robitoh Desi Kurniasari). Peneliti-peneliti di Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler, Teman-teman Biologi 2010, 2011 dan 2012 yang telah memberikan doa, memberikan ilmu dan memberi semangat selama perkuliahan dan penelitian.

Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan.

Malang, Agustus 2014

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan .....	2
1.4 Manfaat .....	2
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	3
2.1 Kepulauan Raja Ampat .....	3
2.2 Holothuroidea .....	4
2.3 Identifikasi Molekuler .....	5
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	6
3.1 Waktu dan Tempat .....	6
3.2 Cara Kerja .....	6
3.2.1 Spesimen UNP 106 .....	6
3.3 Identifikasi Molekuler .....	7
3.3.1 Isolasi DNA dari Jaringan .....	7
3.3.2 Uji Kualitatif Hasil Isolasi DNA Timun Laut Menggunakan Elektroforesis Gel Agarosa 1 % .....	7
3.3.3 Running PCR untuk Mengamplifikasi Gen COI .....	8
3.3.4 Uji Kualitatif Hasil Running PCR Menggunakan Elektroforesis Gel Agarosa 1.5% .....	8
3.4 Sekuensing .....	9
3.5 Analisis Sekuen Spesimen UNP 106 .....	9
3.5.1 Analisis Sekuen Menggunakan <i>Sequence Scanner</i> .....	9

3.5.2 Analisis Sekuen Menggunakan BioEdit dan nBLAST .....	9
3.5.3 Analisis Kedekatan Sekuen Menggunakan MEGA.....	9
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	11
4.1 Hasil Uji Kualitas Isolasi DNA .....	11
4.2 Hasil Uji Kualitas Hasil Amplifikasi Gen COI.....	12
4.3 Hasil Sekuensing Spesimen UNP 106.....	12
4.4 Kemiripan Sekuen Spesimen UNP 106 dengan Spesies Lain .....	13
4.5 Kedekatan Sekuen Spesimen UNP 106 dengan Spesies Lain .....	13
4.6 Anggota <i>Stolus</i> .....	16
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	18
5.1 Kesimpulan .....	18
5.2 Saran.....	18
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	19



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kepulauan Raja Ampat.....	3
Gambar 2. Struktur Umum Morfologi Timun Laut.....	4
Gambar 3. Lokasi Pengambilan Spesimen UNP 106 .....	6
Gambar 4. Spesimen UNP 106.....	7
Gambar 5. Hasil uji kualitatif isolasi DNA .....	11
Gambar 6. Hasil uji kualitatif amplifikasi gen COI.....	12
Gambar 7. Pohon Filogenetik berdasarkan gen COI .....	14
Gambar 8. Persebaran Anggota <i>Stolus</i> di Indo-Pasifik.....	16



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Nilai Perhitungan Jarak Genetik dan Similaritas .....	15
Tabel 2. Spesies <i>Stolus</i> yang telah ditemukan.....	17

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Jadwal.....	22
Lampiran 2. Kerangka Konseptual .....	23
Lampiran 3. Kerangka Operasional.....	24
Lampiran 4. Elektroferogram Hasil Sekuensing Spesimen UNP 106 ( <i>Forward</i> ).....	25
Lampiran 5. Elektroferogram Hasil Sekuensing Spesimen UNP 106 ( <i>Reverse</i> ) .....	26
Lampiran 6. Sekuen yang Digunakan dalam Analisis .....	27
Lampiran 7. Kemiripan Sekuen Hasil Analisis nBLAST .....	28
Lampiran 8. Nilai Perhitungan Jarak Genetik dalam Bentuk Matrik.....	29



## DAFTAR SINGKATAN

Simbol/singkatan	Keterangan
bp	: <i>Base pair</i> , satuan panjang DNA
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
COI	: <i>Cytochrome C Oxidase Subunit I</i>
DNA	: <i>Deoxyribose nucleic acid</i>
EtBr	: Etidium Bromida
Mt-DNA	: Mitokondrial DNA
rRNA	: Ribosomal RNA
TBE	: <i>Tris Cl- boric acid- EDTA</i> , buffer yang digunakan dalam pembuatan gel agarosa





# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu Negara Kepulauan terbesar di dunia. Indonesia mempunyai lebih dari 17.000 pulau dan 86.700 km (18%) terumbu karang (Huffard dkk., 2010). Menurut Allen & Mohammed (2003), Indonesia termasuk dalam *The Coral Triangle*. *The Coral Triangle* adalah sebutan untuk Negara dan Pulau yang meliputi Wilayah Indonesia Timur, Timor Timur, Sabah, Filipina, Papua New Guinea dan Pulau Salomon yang mempunyai keanekaragaman hayati laut dan terumbu karang tertinggi di dunia (Allen & Erdmann, 2009). Organisme laut yang berhabitat di wilayah Provinsi Papua diperkirakan terdapat 64% (1243) organisme sehingga Provinsi Papua mempunyai kelimpahan organisme laut yang tertinggi di Indonesia (Palomares dkk., 2007). Kepulauan Raja Ampat merupakan wilayah di Provinsi Papua Barat yang mempunyai keanekaragaman hewan laut dan terumbu karang yang tinggi (Veron dkk., 2009 ; Sala dkk., 2011).

Salah satu hewan laut yang mempunyai keberagaman tinggi, yakni, Timun Laut (Holothuroidea). Timun Laut tergolong dalam filum Echinodermata. Timun laut yang telah dideskripsikan berjumlah lebih dari 1400 spesies (Kerr dan Junhyong, 2001). Timun Laut yang telah dideskripsikan, dikelompokkan menjadi 6 ordo dan 25 famili (Wen dkk., 2011). Banyak jenis Timun Laut yang diperkirakan masih belum teridentifikasi. Karakter morfologi yang dimiliki oleh Timun Laut yakni, tubuh yang berbentuk silinder menyerupai mentimun, berukuran 10-30 cm, kulit bertekstur kasar, mempunyai tentakel dan papila (Bordbar dkk., 2011). Namun, karakter tersebut tidak memudahkan bagi peneliti dalam melakukan identifikasi jenis karena banyak anggota dari ordo-ordo Timun Laut yang mempunyai kesamaan (*cryptic species*) ketika didasarkan pada puluhan karakter morfologi, misalnya bentuk tentakel dan keberadaan *internal respiratory tree* (Arndt dkk., 1996). Berdasarkan hal tersebut, untuk memudahkan identifikasi maka dibutuhkan pendekatan lain, yaitu melalui DNA *Barcoding*.

DNA *Barcoding* adalah suatu metode identifikasi menggunakan sekuen nukleotida dari genom yang ada di mitokondria (Uthicke dkk., 2010). Genom mitokondria sering digunakan sebagai penanda molekuler untuk merekonstruksi hubungan filogenetik suatu organisme (Wen dkk., 2010).

Penanda molekuler dari genom mitokondria yang sering digunakan, yaitu gen COI (Wen dkk., 2010). Gen COI (*Cytochrome C Oxidase Subunit I*) digunakan untuk mengidentifikasi dan menyusun taksonomi suatu jenis organisme secara molekuler (Galtier dkk., 2009) sampai tingkat spesies (Ahmed, 2006). Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan penanda molekuler berupa gen COI untuk mengidentifikasi spesimen Holothuroidea yang dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang akan dibahas dalam penelitian ini adalah termasuk taksa apa Holothuroidea yang dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat berdasarkan penanda gen COI ?

## **1.3 Tujuan**

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi taksa Holothuroidea yang dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat berdasarkan penanda gen COI.

## **1.4 Manfaat**

Informasi taksa Holothuroidea yang dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kepulauan Raja Ampat

Kepulauan Raja Ampat terletak di wilayah Indonesia Bagian Timur berada di  $0^{\circ}20'$  N,  $2^{\circ}15'$  S dan  $129^{\circ}35'$  E,  $131^{\circ}20'$  E. Terdapat empat pulau besar yang termasuk didalamnya, yakni Pulau Waigeo, Batanta, Salawati dan Misool. Berikut merupakan gambar Kepulauan Raja Ampat :



Gambar 1. Kepulauan Raja Ampat. Ditandai oleh Garis Merah yang Mengelilingi Kepulauan Raja Ampat (Raja Ampat, 2014).

Diperkirakan terdapat 64% (1243) organisme laut yang berhabitat di wilayah Papua, 30% wilayah Maluku dan 10% tersebar di wilayah Kepulauan yang ada di Indonesia. Menurut letak geografis, Kepulauan Raja Ampat termasuk dalam salah satu wilayah yang disebut *The Coral Triangle* yang berarti mempunyai banyak keanekaragaman hayati terumbu karang dan mempunyai banyak spesies yang belum teridentifikasi (Ohee, 2013). Berdasarkan data tersebut, maka

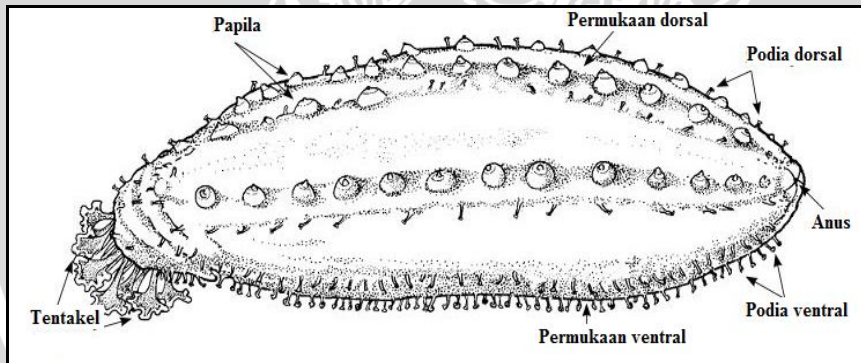
kelimpahan organisme laut di Papua merupakan yang tertinggi di Indonesia (Palomares dkk., 2007).

## 2.2 Holothuroidea

*Holothuria* adalah nama yang diberikan oleh Aristoteles. Dalam bahasa Yunani, dikenal dengan sebutan *Cucumaris marimus* yang berarti *Sea cucumber* (timun laut/teripang). Penamaan tersebut diberikan kepada suatu hewan invertebrata laut yang mempunyai keunikan, yakni bentuknya yang silinder dan memanjang menyerupai mentimun. Timun Laut termasuk dalam hewan invertebrata laut yang mempunyai kelimpahan dan keberagaman tinggi (Hussin dkk., 2006).

Kelas Holothuroidea mempunyai enam kelompok ordo yang terdiri dari Apodida, Elasipodida, Aspidochirotida, Molpadiida, Dendrochirotida dan Dactylochirotida. Secara morfologi, pengelompokan timun laut hingga tingkat spesies secara umum didasarkan pada bentuk *calcareous skin ossicle* atau bentuk spikula, jenis tentakel dan jenis *calcareous ring* (Kamarudin dkk., 2010).

Berikut merupakan gambar struktur umum morfologi pada Timun Laut:



Gambar 2. Struktur Umum Morfologi Timun Laut  
(Purcell, dkk., 2012)

Timun Laut berhabitat di wilayah pesisir pantai dan tersembunyi diantara terumbu karang ataupun pasir pantai yang ada di dasar. Timun Laut mampu hidup di kedalaman 0 hingga 25 mdpl (Purcell dkk., 2012).



### 2.3 Identifikasi Molekuler

Mitokondria DNA berbentuk sirkuler pada sebagian besar organisme. Ukuran rata-rata Mt-DNA yakni 14 hingga 17 kb (Hussin dkk., 2006). Mitokondria DNA (Mt-DNA) merupakan materi genetik yang diturunkan langsung secara maternal dan berada di organ mitokondria. Hampir semua mitokondria DNA yang dimiliki oleh hewan mengandung 37 gen yang meliputi 13 gen pengkode protein, 2 gen RNA (12S rRNA dan 16S rRNA) dan 22 gen tRNA yang dibutuhkan untuk proses translasi protein oleh Mt-DNA. Beberapa karakter yang membuat Mt-DNA dapat digunakan sebagai penanda molekuler yakni haploid, tidak mengalami rekombinasi, replikasi secara terus menerus dan tingkat substitusi berkisar 5-10 kali lebih besar daripada kopi tunggal DNA inti. Berdasarkan karakter tersebut, mitokondrial DNA berguna untuk pembelajaran evolusi, keberagaman genetik dan identifikasi suatu spesies menggunakan data sekuen yang tersedia (Kamarudin dkk., 2011; SiGang dkk., 2011).

Penanda gen untuk analisis molekuler yang sering digunakan untuk mengetahui jenis Timun Laut, yakni gen COI. Gen COI (*Cytochrome C Oxidase Subunit I*) dapat digunakan untuk identifikasi dan menyusun taksonomi secara molekuler pada suatu jenis organisme hingga tingkat spesies (Galtier dkk., 2009). Gen COI mempunyai panjang sekuen sekitar 650bp (Ahmed, 2006). Gen tersebut baik untuk digunakan dalam identifikasi molekuler karena sekuen gennya terkonserv dengan baik (Kamarudin dkk., 2011).



## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian yang berjudul “Identifikasi Holothuroidea yang Dikoleksi dari Kepulauan Raja Ampat Berdasarkan Gen COI” dilaksanakan pada bulan Desember-Juni 2014. Bertempat di Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

### 3.2 Cara Kerja

#### 3.2.1 Spesimen UNP 106

Spesimen Timun Laut dikoleksi dari White Arrow, Aljui Bay, Waigeo, Pulau Waigeo, Kepulauan Raja Ampat (S 00d 12.340', E 130.15.333'.



Gambar 3. Lokasi Pengambilan Spesimen UNP 106 Ditandai oleh Lingkaran Biru Muda (Waigeo, 2014).

Spesimen didapatkan dari kedalaman 4-8 meter dan disimpan dalam tabung koleksi berisi etanol 95%. Spesimen dikoleksi pada 4 Juni 2013. Spesimen yang digunakan hanya satu individu, yakni UNP 106.



Berikut merupakan gambar spesimen UNP 106 yang digunakan dalam penelitian ini:



Gambar 4. Spesimen UNP 106

### 3.3 Identifikasi Molekuler

#### 3.3.1 Isolasi DNA dari Jaringan

Timun laut (UNP 106) dilakukan isolasi DNA melalui jaringan menggunakan gSYNC™ DNA Extraction Kit GS100 (Gene Aid). Prosedur dilakukan sesuai dengan petunjuk pabrik.

#### 3.3.2 Uji Kualitatif Hasil Isolasi DNA Timun Laut Menggunakan Elektroforesis Gel Agarosa 1 %

Bubuk agarosa ditimbang sebanyak 0,15 g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer khusus gel agarosa. TBE 1x sebanyak 15 ml dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi bubuk agarosa. Erlenmeyer yang telah berisi agarosa ditutup dengan plastik *wrap* dan diberi sedikit lubang, kemudian dipanaskan pada suhu 60<sup>0</sup> C selama 1-2 menit menggunakan *microwave*. Selanjutnya, didiamkan selama beberapa saat hingga hangat kemudian ditambahkan EtBr 1 µL. Adonan agarosa dituang ke dalam cetakan yang telah diatur keseimbangannya dengan menggunakan *waterpass* dan dipasangkan sisiran. Adonan agarosa dituang dari pojok kanan bawah agar tidak terbentuk gelembung. Adonan agarosa dipadatkan selama lebih kurang 30 menit dan setelah itu sisiran dilepas. Adonan agarosa yang telah menjadi gel padatan diambil beserta wadahnya dan diletakkan di *chamber* elektroforesis Biorad. TBE 1x pH 8 sebanyak 350 ml dituangkan ke dalam *chamber* hingga gel agarosa terendam. *Loading dye* sebanyak 2 µL diletakkan di *aluminium foil* dan DNA sebanyak 2 µL dipipeting bersamaan dengan *loading dye* yang telah disiapkan, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran. *Chamber* ditutup untuk persiapan *running* elektroforesis. Besaran *voltase* diatur pada 100 Volt, *Chamber*

elektroforesis dinyalakan selama lebih kurang 30-45 menit hingga nampak pita mendekati 2 garis penanda terbawah. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV transluminator dan kemudian didokumentasikan.

### 3.3.3 Running PCR untuk Mengamplifikasi Gen COI

Susunan sekuen *forward* COI yakni 5'-GGCATCCAGAAGTTTACATCCT-3'. Susunan sekuen *reverse* COI yakni 5'-TTGGAGATAGGCTTCTGTGGA-3' (SiGang dkk., 2011). Racikan yang digunakan, yaitu 10  $\mu$ L Kapa Taq Extra HotStart ReadyMix PCR kit, 10  $\mu$ L BSA, masing-masing 1  $\mu$ L primer *forward* dan *reverse* untuk gen COI dan ditambahkan 3  $\mu$ L DNA dimasukkan secara bergantian dan *dimix-gently* untuk setiap penambahan larutan, selanjutnya di *spindown* 3000 rpm selama 30 detik untuk menurunkan larutan yang ada di tutup *thinwal*. Program PCR untuk amplifikasi gen COI, yakni *hot start* (95<sup>0</sup>C, 5 menit), denaturasi (95<sup>0</sup>C, 40 detik), *annealing* (50<sup>0</sup>C, 40 detik), ekstensi (72<sup>0</sup>C, 50 detik), ekstensi akhir (72<sup>0</sup>C, 7 menit) dengan setiap tahapan menggunakan siklus sebanyak 40 siklus. Hasil PCR disimpan pada suhu -20<sup>0</sup>C sebelum diuji kualitatif.

### 3.3.4 Uji Kualitatif Hasil Running PCR Menggunakan Elektroforesis Gel Agarosa 1.5%

Bubuk agarosa ditimbang sebanyak 0,225 g dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer khusus gel agarosa. TBE 1x sebanyak 15 mL dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi bubuk agarosa. Erlenmeyer yang telah berisi agarosa ditutup dengan plastik *wrap* dan diberi sedikit lubang, kemudian dipanaskan pada suhu 60<sup>0</sup> C selama 1-2 menit di dalam *microwave*. Selanjutnya, didiamkan selama beberapa saat hingga hangat dan kemudian ditambahkan EtBr 1  $\mu$ L. Adonan agarosa dituang ke dalam cetakan yang telah diatur keseimbangannya dengan menggunakan *waterpass* dan dipasangkan sisiran. Adonan agarosa dituang dari pojok kanan bawah agar tidak terbentuk gelembung. Adonan agarosa dipadatkan selama lebih kurang 30 menit dan setelah itu sisiran dilepas. Adonan agarosa yang telah menjadi gel padatan diambil beserta wadahnya dan diletakkan di *chamber* elektroforesis Biorad. TBE 1x pH 8 sebanyak 350 ml dituangkan ke dalam *chamber* hingga gel agarosa terendam. *Loading dye* sebanyak 1  $\mu$ L diletakkan di *aluminium foil* dan DNA sebanyak 2  $\mu$ L dipipeting bersamaan dengan *loading dye* yang telah disiapkan, kemudian

dimasukkan ke dalam sumuran. Marker *Gene'o ruler* 1 kb sebanyak 2  $\mu$ L dipipetting dengan 2  $\mu$ L *Loading dye* dan dimasukkan pada sumuran sesuai dengan peta *running*. *Chamber* ditutup untuk persiapan *running* elektroforesis. Besaran *voltase* diatur pada 100 Volt, *Chamber* elektroforesis dinyalakan selama lebih kurang 30-45 menit hingga nampak pita mendekati 2 garis penanda terbawah. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan UV transluminator dan kemudian didokumentasikan.

### **3.4 Sekuensing**

Produk PCR dari spesimen UNP 106 yang telah diketahui keberadaan amplikon gen COI dikirim ke Firstbase Malaysia untuk dilakukan sekuensing dengan prosedur pengiriman sampel mengikuti petunjuk pihak Firstbase Malaysia.

### **3.5 Analisis Sekuen Spesimen UNP 106**

#### **3.5.1 Analisis Sekuen Menggunakan Sequence Scanner V 1.0**

Sekuen didapatkan dalam format file.ab1 dan file.seq yang kemudian digunakan untuk melihat kualitas keseluruhan dari hasil sekuensing menggunakan Sequence Scanner versi 1.0 sehingga dapat diketahui kualitas sekuen yang dimiliki. Sekuen *forward* dan *reverse* diambil yang berkualitas tinggi, yakni sekuen yang berwarna biru yang dapat digunakan untuk analisis.

#### **3.5.2 Analisis Sekuen Menggunakan BioEdit dan nBLAST NCBI**

Sekuen *forward* dan *reverse* digabungkan (*contig*). Sekuen hasil *contig* dianalisis kemiripannya dengan sekuen lain yang ada di database NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Sekuen dari spesies lain yang mempunyai kemiripan, diunduh sekuennya dalam bentuk *complete sequence* dan disimpan dalam format fasta. Selanjutnya dilakukan *contig* antara sekuen UNP 106 dengan sekuen yang mempunyai kemiripan untuk mengetahui sisi sekuen yang sama.

#### **3.5.3 Analisis Kedekatan Sekuen Menggunakan MEGA Versi 5.1**

Analisis kedekatan sekuen dilakukan dengan langkah menyejajarkan sekuen spesimen UNP 106 dengan sekuen spesies lain yang telah diunduh dari NCBI. Dilakukan pemotongan pada sekuen yang tidak sejajar dan menyamakan panjang basa nukleotida antar sekuen. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan *Neighbor-joining*

(NJ) dengan metode estimasi jarak *P-distance* dengan *Bootstrap methods 1000 replications*. Dilakukan perhitungan nilai jarak genetik untuk mengetahui nilai similaritas sekuen antar spesies. Berikut merupakan rumus untuk menghitung nilai similaritas:

$$\text{Nilai similaritas (\%)} = (1 - \text{jarak genetik}) \times 100$$

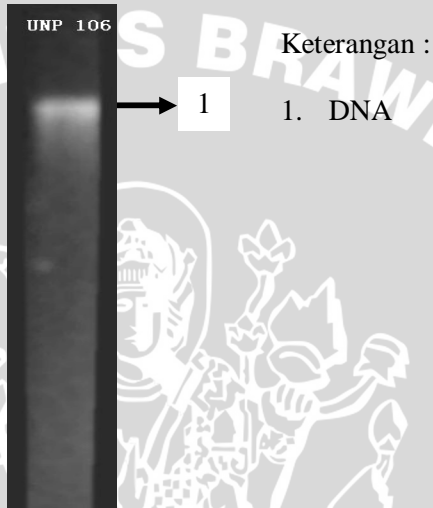
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Uji Kualitas Isolasi DNA

Spesimen Holothuroidea yang diisolasi hanya satu spesimen, yakni UNP 106. Uji kualitatif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui keberhasilan isolasi DNA dari spesimen UNP 106.



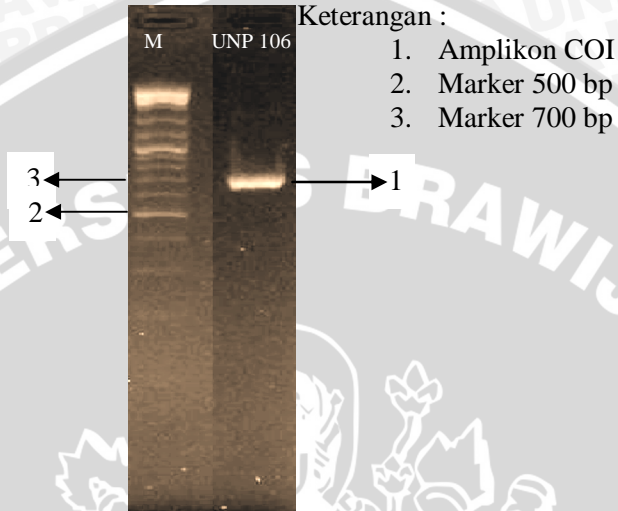
Gambar 5. Hasil uji kualitatif isolasi DNA

Hasil uji kualitatif melalui elektroforesis gel agarosa 1% pada spesimen UNP 106 menunjukkan bahwa terdapat pita (*band*). Pita yang terlihat cukup tebal yang berarti DNA total yang berhasil diisolasi mempunyai jumlah yang cukup banyak.



## 4.2 Hasil Uji Kualitas Hasil Amplifikasi Gen COI

DNA total dari spesimen UNP 106 yang berhasil diisolasi, digunakan untuk amplifikasi berdasarkan gen COI.



Gambar 6. Hasil uji kualitatif amplifikasi gen COI

Hasil uji kualitatif melalui elektroforesis gel agarosa 2% menunjukkan bahwa DNA dari spesimen UNP 106 berhasil diamplifikasi berdasarkan gen COI ditunjukkan dengan adanya pita yang cukup tebal. Spesimen UNP 106 mempunyai ukuran amplicon COI sekitar 700 bp. Menurut Ahmed (2006), gen COI mempunyai panjang sekuen sekitar 650bp.

## 4.3 Hasil Sekuensing Spesimen UNP 106

Sekuensing dilakukan dengan pembacaan dua arah, yakni arah *forward* (5' ke 3') dan *reverse* (3' ke 5'). Berdasarkan elektroferogram menunjukkan bahwa sekuen UNP 106 mempunyai berbagai kualitas basa yang ditandai dengan berbagai warna dan puncak (*peaks*). Basa yang berwarna merah menunjukkan kualitas sekuen yang rendah, basa yang berwarna kuning berkualitas sedang dan basa yang berwarna biru berkualitas tinggi.



#### 4.4 Kemiripan Sekuen Spesimen UNP 106 dengan Spesies Lain

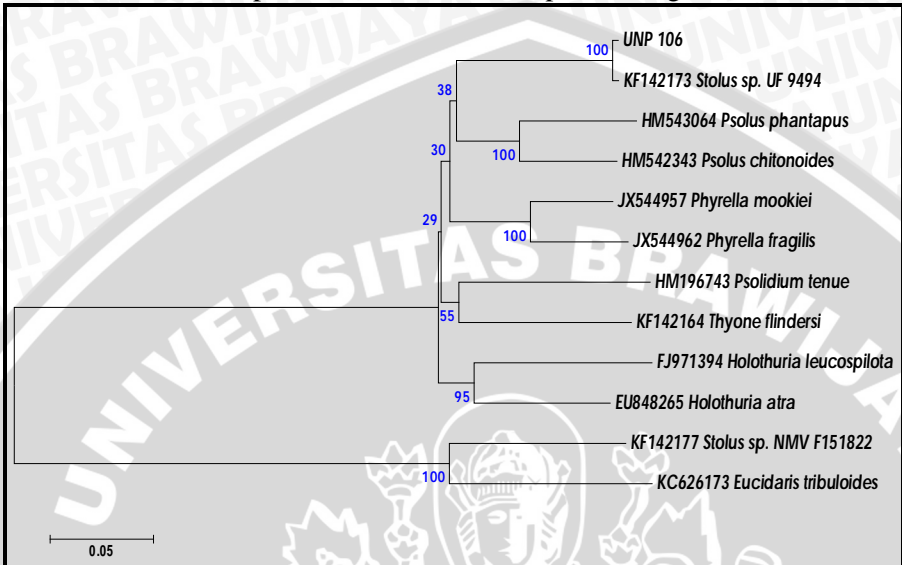
Spesimen UNP 106 mempunyai panjang sekuen 568 bp. Berdasarkan hasil analisis kemiripan sekuen melalui nBLAST di database NCBI, spesimen UNP 106 mempunyai kemiripan yang tinggi dengan *Stolus* sp. UF 9494 (kode akses genbank KF142173) dengan nilai *identity* sebesar 99%. Berdasarkan susunan basa yang mempunyai kemiripan, terdapat 3 basa yang berbeda antara sekuen yang dimiliki UNP 106 dengan sekuen *Stolus* sp. UF 9494 (Lampiran 7).

Sekuen antar spesies yang mempunyai kemiripan menunjukkan bahwa adanya kesamaan yang sangat dekat pada spesies tersebut. Kesamaan pada ancestor, fungsi dan struktur yang sama (Stormo, 2009).

#### 4.5 Kedekatan Sekuen Spesimen UNP 106 dengan Spesies Lain

Sebelas spesies lain digunakan untuk mengetahui kedekatan antar sekuen spesimen UNP 106 dengan sekuen spesies lain. Sebelas spesies lain yang digunakan dalam rekonstruksi pohon filogenetik merupakan spesies yang tergolong dalam satu kelas Holothuroidea (*Holothuria atra* dan *Holothuria leucospilota*), satu ordo Dendrochirotida (*Psolus phantapus*, *Psolus chitonoides* dan *Psolidium tenue*) serta satu famili Phyllophoridae (*Phyrella mookiei*, *Phyrella fragilis* dan *Thyone flindersi*) serta menggunakan kelompok *outgroup* *Eucidaris tribuloides* yang merupakan anggota dari kelas Echinodea (Paulay, 2014).

Berikut merupakan hasil rekonstruksi pohon filogenetik:



Gambar 7. Pohon Filogenetik berdasarkan Gen COI (*Neighbor-joining*, estimasi jarak P-distance)

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa spesimen UNP 106 tergolong satu *clade* dengan *Stolus* sp. UF 9494 (kode akses genbank KF142173) dengan nilai kekokohan *clade* sebesar 100. Sekuen spesimen UNP 106 mempunyai jarak genetik terdekat dengan *Stolus* sp. UF 9494 yakni sebesar 0,006 dengan nilai similaritas sebesar 99,44%. Spesimen UNP 106 mempunyai jarak genetik terjauh dengan *Eucidaris tribuloides* sebesar 0,602 dengan nilai similaritas sebesar 39,81% (Tabel 1).

Berdasarkan database yang ada di NCBI, terdapat dua jenis sekuen *Stolus* sp., yakni *Stolus* sp. UF9494 dan *Stolus* sp. NMV F151822. Namun berdasarkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik dan pengukuran jarak genetik, antara spesimen UNP 106 dengan *Stolus* sp. NMV F151822 hanya mempunyai jarak genetik sebesar 0,589 dan nilai similaritas sebesar 41,11%. *Stolus* sp. NMV F151822 berada diluar kelompok *Stolus* sp. UF9494 dalam posisi pohon filogenetik. Hal tersebut dapat dikarenakan masih terjadi pertimbangan, karena referensi yang mencantumkan *Stolus* sp. UF9494 dan *Stolus* sp. NMV F151822 mengalami revisi. Menurut Michonneau dan Gustav (2014), *Stolus* sp.

UF9494 ditemukan di wilayah Ningaloo, Western Australia dan *Stolus* sp. NMV F151822 ditemukan di wilayah North West Australia.

Tabel 1. Nilai Perhitungan Jarak Genetik dan Similaritas

Spesies 1	Spesies 2	Jarak Genetik	Similaritas (%)
UNP 106	KF142173 <i>Stolus</i> sp. UF 9494	0.006	99.44
UNP 106	JX544957 <i>Phyrella mookieii</i>	0.154	84.63
UNP 106	HM542343 <i>Psolus chitonoides</i>	0.156	84.44
UNP 106	HM543064 <i>Psolus phantapus</i>	0.165	83.52
UNP 106	KF142164 <i>Thyone flindersi</i>	0.170	82.96
UNP 106	EU848265 <i>Holothuria atra</i>	0.170	82.96
UNP 106	JX544962 <i>Phyrella fragilis</i>	0.176	82.41
UNP 106	HM196743 <i>Psolidium tenue</i>	0.191	80.93
UNP 106	FJ971394 <i>Holothuria leucospilota</i>	0.191	80.93
UNP 106	KF142177 <i>Stolus</i> sp. NMV F151822	0.589	41.11
UNP 106	KC626173 <i>Euclidaris tribuloides</i>	0.602	39.81

Gen COI (*Cytochrome C Oxidase Subunit I*) merupakan gen yang sering digunakan untuk mengidentifikasi dan menyusun taksa secara molekuler pada suatu jenis organisme hingga tingkat spesies (Galtier, dkk., 2009). Spesies yang mempunyai hubungan sangat dekat mempunyai banyak kemiripan pada karakter *ossicles* jika berasal dari nenek moyang yang sama (Kamarudin dkk., 2010). Hal ini menunjukkan bahwa spesimen UNP 106 dengan *Stolus* sp. UF9494 mempunyai banyak kemiripan pada karakter *ossicles* apabila dibandingkan secara morfologi.

#### 4.6 Anggota *Stolus*

Spesies yang tergolong dalam genus *Stolus* telah banyak ditemukan di wilayah Indo-Pasifik, namun sebagian besar diantaranya tidak dijelaskan secara detail mengenai persebaran dan morfologinya. Berikut merupakan gambar persebaran *Stolus* yang telah ditemukan :



Gambar 8. Persebaran Anggota *Stolus* di Indo-Pasifik. Area sebaran *Stolus* ditandai dengan titik-titik yang berwarna kuning. Warna kuning menunjukkan adanya satu individu *Stolus* yang ditemukan disetiap lokasi.

(BOLD System, 2014).

Berikut merupakan data anggota *Stolus* yang telah ditemukan (Paulay, 2014):

Tabel 2. Spesies *Stolus* yang telah ditemukan

No	Jenis	Autor, Tahun	Persebaran	Status
1	<i>Stolus sacellus</i>	Selenska, 1867		Di terima
2	<i>Stolus albescens</i>	Liao in Liao & Clark, 1995		Di terima
3	<i>Stolus buccalis</i>	Stimpson, 1855	Madagaskar, Djibouti, Mozambik, Laut Merah, Afrika Selatan, Tanzania	Di terima
4	<i>Stolus canescens</i>	Semper, 1867		Di terima
5	<i>Stolus cognatus</i>	Lampert, 1885	Laut Karibia, Kuba, Meksiko, Panama, Venezuela	Di terima
6	<i>Stolus conjungens</i>	Semper, 1867		Di terima
7	<i>Stolus crassus</i>	Liao & Pawson, 2001		Di terima
8	<i>Stolus dentatus</i>	Thandar, 2005		Di terima
9	<i>Stolus kilberti</i>	Rajpal & Thandar, 1999		Di terima
10	<i>Stolus micronodosus</i>	Liao & Pawson, 2001		Di terima
11	<i>Stolus minutus</i>	H.L.Clark 1938		Di terima
12	<i>Stolus papillatus</i>	Sluiter, 1887		Di terima
13	<i>Stolus pseudoalbescens</i>	Thandar, 2005		Di terima
14	<i>Stolus punctatus</i>	Oshima, 1915		Di terima
15	<i>Stolus rapax</i>	Koehler & Vaney, 1908		Di terima



## BAB V PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Setelah melakukan penelitian, dapat disimpulkan bahwa spesimen UNP 106 yang diidentifikasi menggunakan penanda molekuler gen COI mempunyai kemiripan yang besar dengan *Stolus* sp. UF 9494 dengan nilai similaritas 99,44%.

### 5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya, yakni sebaiknya spesimen yang dikoleksi, disimpan secara utuh agar mempunyai data morfologi yang dapat digunakan sebagai pelengkap dalam identifikasi.





## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, M.I. 2006. Morphological, Ecological and Molecular examination of the Sea cucumber species along the Red Sea Coast of Egypt and Gulf of Aqaba, with the investigation of the possibility of using DNA barcoding technique as a standard method for Sea cucumber ID. Thesis. Marine Biology. University of Hull.
- Allen, G.R & M.V.Erdmann. 2009. Reef Fishes of The Bird Head Peninsula, West Papua, Indonesia.
- Allen, G.R & Mohammed A. 2003. Coral Reef Fishes of Indonesia. Review Article. *Zoological Studies* 42.
- Arndt, A., C. Marques., P. Lambert & M.J.Smith. 1996. Molecular Phylogeny of Eastern Pacific Sea Cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) Based on Mitochondrial DNA Sequence. *Molecular Phylogenetics And Evolution* Vol. 6, No. 3.
- BOLD System. 2014. <http://www.boldsystem.org>. *Stolus*. Diakses pada 7 Juli 2014.
- Bordbar, S., Anwar, F & Saari, N. 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods – A review. *Marine Drugs*, 9, 1761–1805.
- Galtier, N., B. Nabholz., S. Glemin & G.D.D. Hurst. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology* 18, 4541-4550.
- Huffard, C.L., M.V. Erdmann & T.Gunawan. 2010. Menentukan Wilayah Geografi Prioritas Untuk Konservasi Keanekaragaman Hayati Laut di Indonesia. *Conservation International Indonesia*. Jakarta.
- Hussin, R., K.R. Kamarudin., N.F.H. Nordin., R. Hashim & M.N. Mohammad. 2006. Phylogenetic Analysis of Sea Cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) in Malaysia as Inferred from Cytochrome C Oxidase I mtDNA. Department of Biotechnology and Department of Biomedical Science, Kulliyah of Science. International Islamic University Malaysia. Kuala Lumpur.
- Kamarudin, K.R., A.M. Rehan., R.Hashim & G.Usup. 2010. An update on diversity of sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea) in Malaysia. *Malayan Nature Journal* 2010, 62(3), 315-334.

- Kamarudin, K.R. A. M. Rehan, R. Hashim, G.USUP, H. F. Ahmad, M. H. Anua & M. Y. IDRIS. 2011. Molecular Phylogeny of *Holothuria (Mertensiothuria) leucospilota* (Brandt 1835) as Inferred from Cytochrome C Oxidase I Mitochondrial DNA Gene Sequences. *Sains Malaysiana* 40(2): 125–133.
- Kerr, A.M & Junhyong, K. 2001. Phylogeny of *Holothuroidea* (Echinodermata) inferred from morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 133: 63–81.
- Michonneau, F & G. Paulay. 2014. Revision of the genus *Phyrella* (Holothuroidea: Dendrochirotida) with the description of a new species from Guam. *Zootaxa* 3760 (2): 101–140. Magnolia Press.
- Ohee, H.L. 2013. The Ecology of the Red Rainbowfish (*Glossolepis incisus*) and the Impact of Human Activities on Its Habitats in Lake Sentani, Papua. Dissertation. Georg-August Universität. Göttingen.
- Palomares, M.L.D., J.J.Heymans & D.Paulay. 2007. Historical Ecology of The Raja Ampat Archipelago, Papua Province, Indonesia. *Hist. Phil. Life Science* 29, 33-56.
- Paulay, G. 2014. *Stolus*. World Register of Marine Species. <http://www.marinespecies.org>. Diakses 8 Juli 2014.
- Paulay, G. 2014. *Taxa Holothuroidea*. World Register of Marine Species. <http://www.marinespecies.org>. Diakses 18 Agustus 2014
- Purcell, S.W., Y.Samyn & C. Conand. 2012. Commercially Important Sea Cucumber of The World. FAO. Roma.
- Raja Ampat. 2°19'05.33" S & 131°02'16.52" E. Google Earth. Tanggal Pengambilan Foto : 4 Oktober 2013. Tanggal Pengutipan : 20 Agustus 2014.
- Sala, R., Y. Kabera & V.Rumereb. 2011. Destructive Fishing In Coremap II Area Raja Ampat. *Journal of Indonesia Coral Reefs* 1.
- SiGang, F.A.N., H.U. ChaoQun., W. Jing & Z. LvPing. 2011. Characterization of mitochondrial genome of sea cucumber *Stichopus horrens*: A novel gene arrangement in Holothuroidea. *Life Sciences*. doi: 10.1007/s11427-011-4168-8.
- Stormo, G.D. 2009. An Introduction to Sequence Similarity (“Homology”) Searching. *Current Protocols in Bioinformatics* 3.1.1-3.1.7. Wiley Interscience. DOI:10.1002/0471250953.bi0301s27.

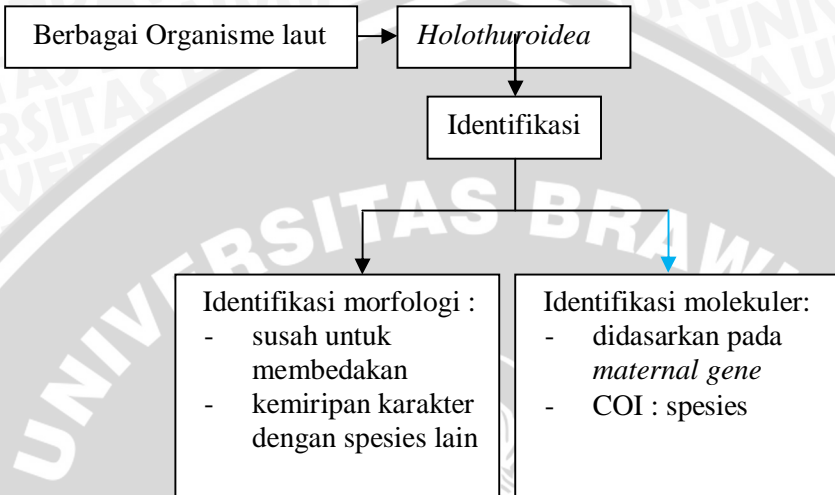
- Uthicke, S., M.Byrne & C.Conand. 2010. Genetic barcoding of commercial Beche-de-mer species (Echinodermata: Holothuroidea). *Molecular Ecology Resources* 10, 634–646. doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02826.
- Veron, J.E.N., L.M. Devantier, E.Turak, A.L.Green, S.Kininmonth, M.S.Smith & N.Petersoon. 2009. Delineating The Coral Triangle. *Galaxea. Journal of Coral Reef Studies*.
- Waigeo. 00<sup>0</sup> 12.340' S & 130.15.333' E. Google Earth. Tanggal Pengambilan Foto : 4 Oktober 2013. Tanggal Pengutipan : 18 Agustus 2014.
- Wen, J, C.Hu., L.Zhang., P.Luo., Z.Zhao & S.Fan. 2010. The application of PCR–RFLP and FINS for species identification used in sea cucumbers (Aspidochirotida: Stichopodidae) products from the market. *Food Control* 21, 403–407. ELSEVIER.
- Wen, J, C, Hu., L. Zhang & S. Fan. 2011. Genetic identification of global commercial sea cucumber species on the basis of mitochondrial DNA sequences. *Food Control* 22. ELSEVIER.



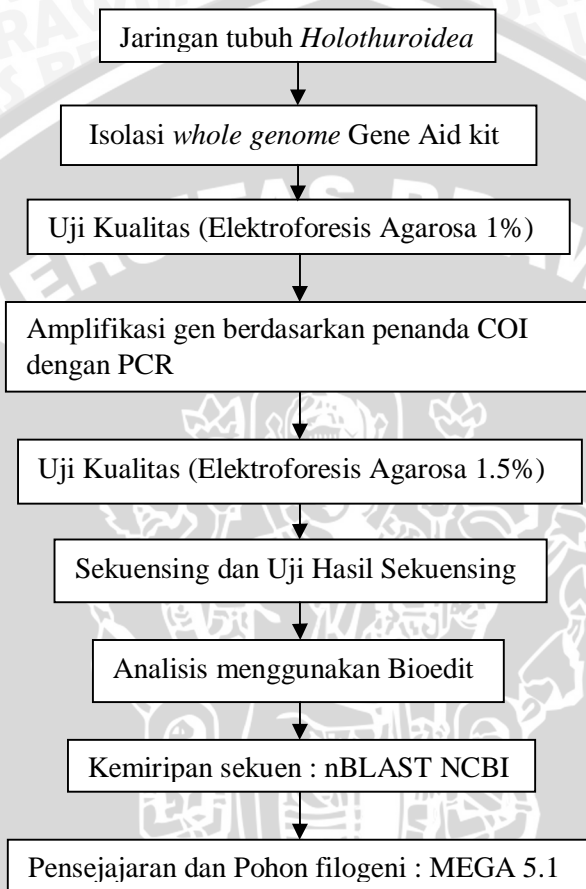
**Lampiran 1. Jadwal**

Kegiatan / Waktu	Bulan											
	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8
Studi literatur	■	■	■	■								
Penyusunan Proposal	■	■	■	■	■							
Seminar Proposal					■							
Persiapan Penelitian				■	■							
Penelitian				■	■	■	■	■	■	■		
Analisis & Penyusunan Hasil Penelitian										■	■	
Seminar Hasil Penelitian											■	
Ujian Komprehensif												■

## Lampiran 2. Kerangka Konseptual

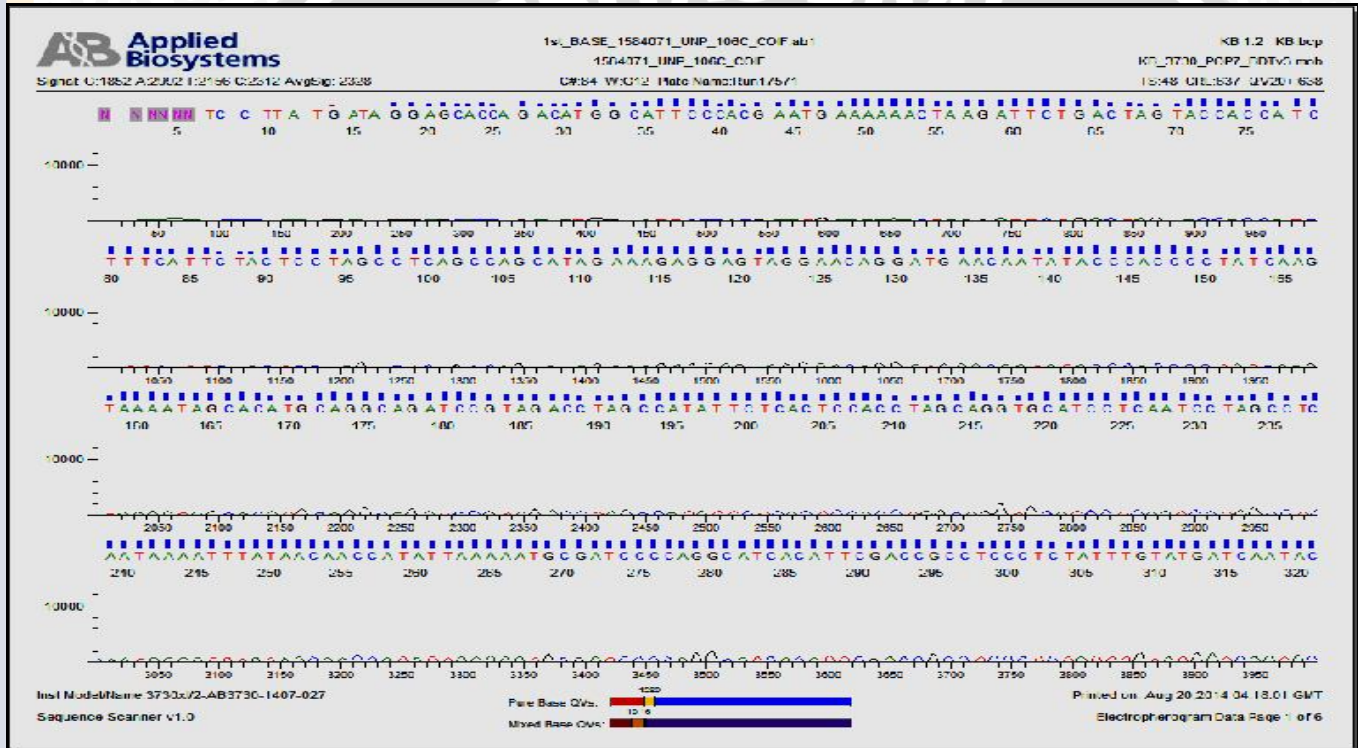


### Lampiran 3. Kerangka Operasional

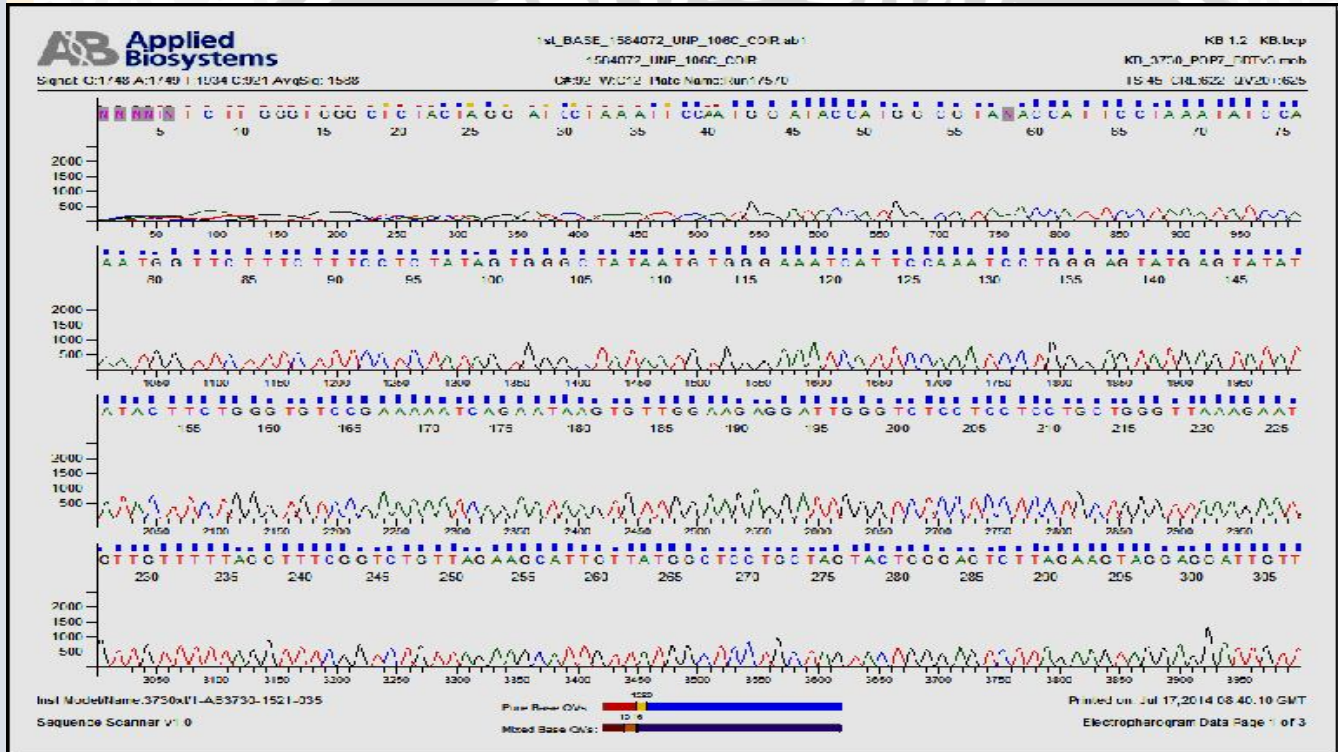




## Lampiran 4. Elektroferogram Hasil Sekuensing Spesimen UNP 106 (*Forward*)



## Lampiran 5. Elektroferogram Hasil Sekuensing Spesimen UNP 106 (Reverse)



## Lampiran 6. Sekuen yang Digunakan dalam Analisis

### UNP 106 COI

TGGATACCATGGCGTAAACCATTCTCTAAATATCCAAAT  
GGTTCTTTCTTTCCTCTATAGTGGGCTATAATGTGGGA  
AATCATTCCAAATCCTGGGAGTATGAGTATATACTT  
CTGGGTGTCCGAAAAATCAGAATAAGTGTTGGAAGAG  
GATTGGGTCTCCTCCTCCTGCTGGGTTAAGAATGTTG  
TTTTAGGTTTTCGGTCTGTTAGAAGCATTGTTATGGCT  
CCTGCTAGTACTGGGAGTCTTAGAAGTAGGAGGATTG  
TTGTTAGTAGTATTGATCATACAAATAGAGGGAGGCG  
GTCGAATGTGATGCCTGGGGATCGCATTTTTAATATGG  
TTGTTATAAATTTTATTGAGGCTAGGATTGAGGATGCA  
CCTGCTAGGTGGAGTGAGAATATGGCTAGGTCTACGG  
ATCTGCCTGCATGTGCTATTTTACTTGATAGGGGTGGG  
TATATTGTTTCATCCTGTTTCTACTCCTCTTTCTATGCTG  
GCTGAGGCTAGGAGTAGAATGAAAGATGGTGGTACTA  
GTCAGAATCTTAGTTTTTTCATTTCGTGGGAATGCCATG  
TC



## Lampiran 7. Kemiripan Sekuen Hasil Analisis nBLAST

Stolus sp. UF\_9494 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial  
 Sequence ID: [gb|KF142173.1](#) Length: 655 Number of Matches: 1

Range 1: 56 to 623 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1033 bits(559)	0.0	565/568(99%)	0/568(0%)	Plus/Minus
Query 1				60
Sbjct 623				564
Query 61				120
Sbjct 563				504
Query 121				180
Sbjct 503				444
Query 181				240
Sbjct 443				384
Query 241				300
Sbjct 383				324
Query 301				360
Sbjct 323				264
Query 361				420
Sbjct 263				204
Query 421				480
Sbjct 203				144
Query 481				540
Sbjct 143				84
Query 541				568
Sbjct 83				56





**Lampiran 8. Nilai Perhitungan Jarak Genetik dalam Bentuk Matriks antara Spesimen UNP 106 dengan Sebelas Spesies lain menggunakan metode estimasi jarak *P-distance* (*Bootsrap 1000 replications*)**

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	UNP_106		0.003	0.020	0.015	0.014	0.015	0.014	0.014	0.015	0.016	0.015	0.021
2	KF142173_ <i>Stolus</i> _sp._UF_9494	0.006		0.020	0.015	0.014	0.015	0.014	0.014	0.015	0.016	0.015	0.021
3	KF142177_ <i>Stolus</i> _sp._NMV_F151822	0.589	0.587		0.021	0.021	0.021	0.020	0.020	0.021	0.021	0.022	0.015
4	HM196743_ <i>Psolidium</i> _ <i>tenue</i>	0.191	0.193	0.606		0.015	0.015	0.015	0.014	0.015	0.016	0.015	0.022
5	JX544957_ <i>Phyrella</i> _ <i>mookiei</i>	0.154	0.152	0.583	0.187		0.012	0.014	0.014	0.015	0.015	0.014	0.022
6	JX544962_ <i>Phyrella</i> _ <i>fragilis</i>	0.176	0.174	0.593	0.189	0.087		0.015	0.015	0.015	0.016	0.016	0.022
7	HM543064_ <i>Psolus</i> _ <i>phantapus</i>	0.165	0.167	0.593	0.187	0.176	0.183		0.012	0.015	0.015	0.015	0.021
8	HM542343_ <i>Psolus</i> _ <i>chitonoides</i>	0.156	0.156	0.587	0.172	0.150	0.163	0.104		0.014	0.015	0.015	0.021
9	KF142164_ <i>Thyone</i> _ <i>flindersi</i>	0.170	0.169	0.596	0.176	0.194	0.172	0.187	0.187		0.016	0.014	0.022
10	FJ971394_ <i>Holothuria</i> _ <i>leucospilota</i>	0.191	0.191	0.604	0.206	0.189	0.196	0.204	0.194	0.193		0.014	0.022
11	EU848265_ <i>Holothuria</i> _ <i>atra</i>	0.170	0.176	0.583	0.194	0.154	0.176	0.181	0.178	0.170	0.152		0.022
12	KC626173_ <i>Euclidaris</i> _ <i>tribuloides</i>	0.602	0.600	0.183	0.613	0.600	0.606	0.606	0.600	0.607	0.620	0.594	

Keterangan :angka berwarna hitam (jarak genetik), angka berwarna biru (*standart error*)



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

