



## IDENTIFIKASI TERIPANG LAUT (*Holothuroidea*) DARI PERAIRAN LAUT PULAU KABARUAN BERDASARKAN IDENTIFIKASI MORFOLOGI DAN DNA *BARCODING*

Ferencia Esananda Rattu<sup>1\*</sup>, Revolson Mege<sup>2</sup>, Nonny Manampiring<sup>3</sup>,  
Verawati Ida Yani Roring<sup>4</sup>, Sukmarayu Gedoan<sup>5</sup>, & Yermia Mokusuli<sup>6</sup>

<sup>1,2,3,4,5,&6</sup>Program Studi S2 Biologi, Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, dan  
Kebumian, Universitas Negeri Manado, Jalan Kampus UNIMA, Minahasa,  
Sulawesi Utara 95618, Indonesia

\*Email: [ferenrattu@gmail.com](mailto:ferenrattu@gmail.com)

Submit: 15-11-2023; Revised: 26-01-2024; Accepted: 19-02-2024; Published: 30-06-2024

**ABSTRAK:** Indonesia dikenal dengan keanekaragaman hayati yang begitu tinggi. Salah satunya teripang laut, dimana teripang laut memiliki nilai ekonomis tinggi karena mengandung nutrisi yang kaya akan manfaat bagi manusia. Berbagai macam jenis teripang laut ditemukan di perairan Indonesia, termasuk di Kabupaten Kepulauan Talaud Pulau Kabaruan. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi spesies teripang laut dari perairan Talaud secara Morfologi dan melalui *Barcoding* DNA menggunakan gen COI. Perbedaan dari setiap spesies tersebut bisa dilihat dari ciri morfologi, yaitu panjang dan lebar teripang laut, papilla, corak, serta warna. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 4 spesies, yaitu *Holothuria leucospilota*, *Holothuria whitmaei*, *Eleutherozoa* sp., dan *Holothuria atra*. Pada enam sampel penelitian yang *dibarcoding* dengan kode sampel A1, A2, B1, C1, dan C2 memiliki tingkat homologi 99%-100% dengan target *sequence nucleotide* dari *GenBank*. Sedangkan sampel dengan kode A3 memiliki tingkat homologi 90% dengan spesies *Eleutherozoa* sp., sehingga ada kemungkinan bahwa sampel A3 adalah taksa baru yang memiliki kemiripan paling tinggi dengan spesies *Eleutherozoa* sp. Dari keenam sampel tersebut, didapati sampel A2 dan B1 memiliki tingkat kemiripan yang paling tinggi, yaitu 100%. Sementara sampel dengan nilai persentase terendah adalah sampel A3 dan B1, serta sampel A2 dan A3, yaitu sama-sama memiliki nilai persentase 82,75%.

**Kata Kunci:** Teripang Laut, Morfologi, *Barcoding* DNA, COI.

**ABSTRACT:** Indonesia is known with its high biodiversity. One of them is sea cucumber. Various species of sea cucumbers are found in Indonesian sea in Talaud Regency at Kabaruan Island. Identification of sea cucumbers to reveal the biodiversity of sea cucumbers in Kabaruan Island, which is almost unknown. This research was to identify six samples of sea cucumber (*Holothuroidea*) in Kabaruan Island based on morphology and DNA barcoding using the COI gene. The differences between each species can be seen from the morphological characteristics, the length and width of sea cucumbers, papillae, pattern and color. The results showed that there were 4 species from 6 samples, which is *Holothuria leucospilota*, *Holothuria whitmaei*, *Eleutherozoa* sp., and *Holothuria atra*. That six samples with the code A1, A2, B1, C1, and C2 have a homology level of 99%-100% with the target nucleotide sequence from *GenBank*. Meanwhile, the sample's code A3 has a homology level of 90% with the *Eleutherozoa* sp. so there is a possibility that sample A3 is a new taxa that has the highest similarity to the *Eleutherozoa* sp. From the six samples, it was found that samples A2 and B1 had the highest level of similarity which is 100%. Meanwhile, the samples with the lowest percentage values are samples A3 and B1 and samples A2 and A3, with a percentage value of 82.75%. There were 4 species from six samples found in Kabaruan Island. There is a possibility that Sample A3 is a new species that is similar to *Eleutherozoa* sp.

**Keywords:** Sea Cucumber, Morphology, DNA Barcoding, COI.



**How to Cite:** Rattu, F. E., Mege, R., Manampiring, N., Roring, V. I. Y., Gedoan, S., & Mokusuli, Y. (2024). Identifikasi Teripang Laut (*Holothuroidea*) dari Perairan Laut Pulau Kabaruan Berdasarkan Identifikasi Morfologi dan DNA *Barcoding*. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 277-292. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.9649>



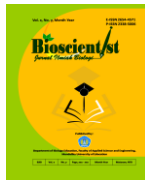
**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi** is Licensed Under a [CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

## PENDAHULUAN

Salah satu fokus pembangunan Indonesia berkiblat pada pengembangan potensi sumberdaya laut sebagai sumber ekonomi (*blue economy*) merupakan salah satu kebijakan strategis dan tepat bagi negara kepulauan terbesar di dunia, didukung dengan potensi sumberdaya laut yang melimpah dan bernilai ekonomi tinggi. Salah satu sumberdaya laut potensial dan bernilai ekonomis adalah teripang laut. Pentingnya nilai ekonomi dari teripang laut antara lain tidak saja sebagai sumber pangan fungsional (Sanjewa & Herath, 2023; Langdal *et al.*, 2023), komponen aktif pangan sebagai antioksidan, antimikroba (Ghelani *et al.*, 2022; Hossain *et al.*, 2023; Senadheera *et al.*, 2022) dan sumber biofarmaka sebagai anti inflamasi dan antikanker (Ru *et al.*, 2023).

Pengembangan *blue economy* tidak saja berfokus pada revitalisasi ekonomi kelautan semata, tetapi juga pada keseimbangan antara aspek pemanfaatan sumberdaya hayati lautnya dan kelestarian sumberdaya lingkungan laut. Salah satu dasar/landasan pemanfaatan sumberdaya hayati dan kelestariannya adalah identifikasi/penentuan identitas spesies. Tanpa identifikasi spesies yang tepat dan dijelaskan secara ilmiah, selain dikhawatirkan hilangnya jejak materi genetik akibat tinggi dan masifnya perburuan di alam, juga tidak mungkin menarik kesimpulan tentang keanekaragaman spesies, distribusinya, dan ekologi yang juga menjadi dasar ilmiah pemanfaatannya. Identifikasi spesies teripang laut dalam lingkungan ekologis menjadi salah satu alternatif kunci, karena identifikasi merupakan fondasi untuk manajemen sumberdaya alam (Jannah & Safnowandi, 2018; Kürzel *et al.*, 2022; Wenhai *et al.*, 2019; Wirawati *et al.*, 2021). Walaupun demikian, ketidakakuratan identifikasi spesies pada beberapa spesies problematik, seperti *Holothuria fuscogilva/Holothuria nobilis* atau pada *Perasonthuria graeffei* dan banyak spesies teripang lainnya dari Indonesia masih menjadi masalah penting dan perlu ditindaklanjuti melalui berbagai kajian (Aulia *et al.*, 2021; Brown *et al.*, 2022; Mulyono *et al.*, 2017).

Salah satu metode/pendekatan yang tepat digunakan untuk mengidentifikasi spesies dan keragaman genetiknya ialah DNA *barcoding*. Identifikasi dengan DNA *barcoding* yang menggunakan sekuen DNA dari gen *Cytochrome Oxydase-1* (CO1) merupakan cara cepat tetapi akurat memetakan spesies teripang laut dan memastikan kedudukan spesiesnya. *Barcoding* molekuler teripang laut dapat memproteksi biodiversitas Indonesia (Catalma *et al.*, 2020; Sulardiono *et al.*, 2022). Identifikasi teripang laut menggunakan DNA *barcoding* telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Pada prinsipnya identifikasi menggunakan DNA *barcoding* telah memvalidasi spesies-spesies problematik dan sangat membantu para peneliti untuk memprediksi keragaman dan kekerabatan



spesies berdasarkan urutan sekuen DNA (Patantis *et al.*, 2019; Sulardiono *et al.*, 2022).

Melalui penelitian ini diharapkan dapat diidentifikasi spesies teripang laut dari Kepulauan Talaud menggunakan DNA *barcoding* yang merupakan salah satu bentuk proteksi biota laut Indonesia yang efektif, khusus dari perairan laut Kabupaten Kepulauan Talaud. Karena meskipun perairan Sulawesi Utara, khususnya dikenal sebagai salah satu pusat biodiversitas laut di Indonesia, karena letaknya di wilayah garis *Wallace* dan berada pada segitiga karang dunia, serta di tepian bibir Samudera Pasifik hingga sekarang nyaris belum ada laporan tentang identifikasi teripang dari perairan Sulawesi Utara, khususnya di perairan laut Kabupaten Kepulauan Talaud dalam beberapa tahun terakhir. Laporan tentang identifikasi teripang perairan Sulawesi Utara berasal dari laporan yang sudah cukup lama. Itulah sebabnya, studi identifikasi teripang dengan menggunakan identifikasi secara morfologi dan DNA *barcoding* dirintis dalam upaya menyingkap biodiversitas teripang dari perairan laut Kabupaten Talaud Pulau Kabaruan, yang nyaris belum diketahui.

Secara kasat mata dan berdasarkan informasi masyarakat nelayan, bahwa tingkat keragaman biodiversitas sumberdaya hayati laut, antara lain kelompok echinodermata bernilai ekonomis dan sumber bioaktif pangan dan biofarmaka sangat tinggi. Namun seberapa besar biodiversitas sumberdaya hayati laut kelompok invertebrata Echinodermata, khususnya teripang laut di perairan laut Kabupaten Kepulauan Talaud Pulau Kabaruan belum diperoleh informasi ilmiah yang valid. Oleh karena itu, diperlukan riset untuk mengidentifikasi tingkat keragaman jenis menjadi dasar riset-riset selanjutnya dan pengembangannya. Teknik yang umum digunakan untuk identifikasi jenis teripang laut ialah identifikasi secara morfologi (Akashah *et al.*, 2021; Arriesgado *et al.*, 2022). Namun metode identifikasi morfologi memiliki keterbatasan, dan tidak jarang telah menjadi subjek kontroversial untuk penentuan spesies teripang laut, terutama pada jenis-jenis problematik karena adanya kemiripan morfologi yang sangat tinggi. Identifikasi spesies menggunakan DNA *barcoding* mendapatkan hasil akurat dan cepat, bahkan dapat mengidentifikasi spesies yang sulit dibedakan secara morfologi (Catalma *et al.*, 2020; Ehsanpour *et al.*, 2016; Patantis *et al.*, 2019).

Teripang merupakan salah satu biota laut dengan karakteristik yang unik, selain mudah melakukan regenerasi bagian tubuh dengan spectrum sangat mudah merubah karakteristik morfologi ketika berada dalam kondisi ekstrim (disentuh/dipindahkan) dari habitatnya yang menyebabkan stress, seperti dinding tubuh mengelupas dan berubah warna, regenerasi jaringan sistem saraf, sistem pencernaan, organ reproduksi, dan saluran pernapasan. Juga berubah wujud dengan berkontraksi dan melakukan eviserasi atau mengeluarkan organ internal (Hu *et al.*, 2019; Okada & Kondo, 2019; Wanninger, 2015). Kondisi ini yang menjadi penyebab utama terjadinya inkonsistensi/ketidaktepatan dalam identifikasi kelompok Echinodermata secara morfologi. Identifikasi spesies dengan pemetaan DNA *barcoding* merupakan teknik sangat tepat dalam mengatasi masalah identifikasi secara morfologi untuk mendapatkan taksonomi invertebrata laut secara tepat. Identifikasi dengan DNA *barcoding* yang



menggunakan gen-gen pada DNA mitokondria memberikan kecepatan dan keakuratan dalam identifikasi spesies (Kamarudin & Rehan, 2015; Mohammad *et al.*, 2020; Simbolon *et al.*, 2021). Kelebihan lain identifikasi DNA *barcoding* adalah dapat mengidentifikasi spesies yang sulit dibedakan secara morfologi (Mohammad *et al.*, 2020; Xing *et al.*, 2021). Identifikasi dengan menggunakan DNA *barcoding* telah digunakan untuk melengkapi pendekatan morfologi dan terbukti secara efektif mampu mengidentifikasi perbedaan antar spesies secara akurat (Fernandes *et al.*, 2021).

Gen COI telah digunakan dalam mempelajari molekuler filogeni teripang dari Pasifik Timur wilayah dan untuk *barcode* DNA dan analisis keanekaragaman 47 spesies teripang milik kelas Holothuroidea dari beberapa lokasi di Indonesia, Samudra Atlantik, Pasifik, dan Hindia. Selain itu, DNA *barcoding* hanya membutuhkan sampel dalam jumlah sangat sedikit dan dapat diaplikasikan pada semua fase kehidupan dan diferensiasi spesies yang serupa secara fenotip (Sulardiono *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2020). Teknik ini telah terbukti efektif diterapkan pada hewan non-ruminansia (Mege & Samuel, 2017). Tidak mengherankan berbagai DNA *barcoding* menjadi teknik paling laris untuk penelitian spesies, termasuk spesies teripang laut dari berbagai perairan Indonesia, kecuali perairan Sulawesi Utara, terlebih lagi di perairan laut Kabupaten Kepulauan Talaud, khususnya di pulau Kabaruan yang hingga saat ini upaya identifikasi teripang laut nyaris belum dilakukan.

## **METODE**

Penelitian ini berlangsung selama empat bulan, dimulai sejak bulan Mei 2023 yang dilaksanakan melalui berbagai tahapan, yaitu mulai dari persiapan dan pengambilan sampel di lapangan, yaitu di perairan laut Kabupaten Kepulauan Talaud Pulau Kabaruan, dan analisis di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, dan Kebumihan, Universitas Negeri Manado. Kegiatan di lapangan meliputi kegiatan di Laboratorium, yaitu identifikasi secara morfologi dan analisa DNA *barcoding*. *Barcoding* teripang laut berdasarkan gen COI dan 16S rRNA.

### **Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di perairan laut Pulau Kabaruan, Kabupaten Kepulauan Talaud, Provinsi Sulawesi Utara. *Sampling* dilakukan pada stasiun di perairan Pulau Kabaruan, yaitu di Pantai Pute dengan 3 titik pengambilan (Gambar 1). Sampel diambil oleh tim penyelam profesional dengan didampingi oleh dosen pendamping.



**Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian di Perairan Laut Kabupaten Kepulauan Talaud.**

### **Identifikasi Morfologi**

Spesimen teripang dikumpulkan dari stasiun pengambilan sampel dengan transek diidentifikasi tegak lurus pantai dan ditentukan menggunakan perangkat GPS. Pada penelitian ini, pengambilan spesimen pada setiap transek dilakukan dengan kuadrat 10×20 m. Selanjutnya memasukkan sampel teripang pada wadah pengumpulan sampel. Sampel dianestesi dengan merendam teripang laut ke dalam alkohol 70%. Setelah sekitar 5-10 menit, dilakukan pengamatan parameter morfologi meliputi warna, pengukuran panjang, dan lebar tubuh teripang. Selanjutnya sampel diambil dan dipotong pada bagian anterior, kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel dan direndam dalam alkohol 95% untuk analisis *barcoding* DNA teripang. Setiap botol sampel diberikan label A1, A2, A3, B1, C1, dan C2 untuk masing-masing sampel teripang laut.

### **Barcoding Molekuler**

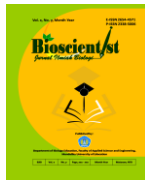
#### **Ekstraksi DNA Teripang Laut**

Sebanyak 25 mg jaringan otot dengan label A1, A2, A3, B1, C1, dan C2 dipotong dari spesimen teripang. DNA diekstraksi dan purifikasi menggunakan *Quick-DNA Kits* (Zymo Research USA). Prosedur ekstraksi menurut protokol kit yang telah tersedia.

#### **Amplifikasi DNA**

Amplifikasi gen masing-masing primer dilakukan dengan metode PCR. Reaksi berantai polimerase disiapkan dalam reaksi 40 µL yang terdiri dari PCR *amplification with* (2x) MyTaq HS Red Mix 2x (Bioline) 20 µL, Primer LCO1490 (10 µM) 1.5 µL, Primer HC02198 (10 µM) 1.5 µL, ddH<sub>2</sub>O 15 µL, DNA *template* (sampel) 2 µL. Sekuens Primer yang digunakan (Heareau & Boissin, 2010): 1) COIceF (5'-ACT GCC CAC GCC CTA GTA ATG ATA TTT TTT ATG GTN ATG CC-3'); dan 2) COIceR (5'-TCG TGT GTC TAC GTC CAT TCC TAC TGT RAA CAT RTG-3').

Kondisi PCR yang diaplikasikan, yaitu denaturasi awal pada 95°C selama 3 menit, kemudian denaturasi 95°C selama 20 detik dengan siklus sebanyak 35 kali, perlekatan primer pada suhu 55°C selama 30 detik sebanyak 35



kali, pemanjangan DNA pada suhu 72°C selama 20 detik sebanyak 35 kali dan ekstensi akhir 73°C selama 1 menit. Pengaturan suhu menggunakan mesin PCR *T-Gradient* (Biometra). Hasil dari PCR dianalisis menggunakan metode elektroforesis gel agarosa 0,8%. Elektroforesis dengan metode ini adalah cara paling efektif untuk memisahkan fragmen DNA dengan berbagai ukuran mulai dari 100 bp hingga 25 kb (Lee *et al.*, 2012).

#### **Sequencing dan Analisis Data**

Sampel yang telah diamplifikasi menggunakan metode PCR, *disequencing* untuk mendapatkan urutan nukleotida. Proses *sequencing* menggunakan jasa *sequencing* perusahaan genetic, yaitu 1<sup>st</sup> Singapore. Data DNA hasil *sequencing* gen COI teripang laut dalam bentuk kromatogram divisualisasi menggunakan *Geneious Prime* versi 2023.2.1. Selanjutnya dianalisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), yaitu membandingkan sekuen mtDNA CO1 sampel dengan database DNA yang sudah ada pada *gene bank* NCBI dengan mengakses <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Yang *et al.*, 2020). Konstruksi pohon filogeni dibuat menggunakan *software* MEGA 11.0.13.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sampel teripang laut yang diambil dari perairan Kabupaten Kepulauan Talaud di Pulau Kabaruan ditemukan 6 teripang laut (Tabel 1). Di titik A ditemukan 3 spesies, yaitu *Holothuria leucospilota*, *Holothuria whitmaei*, dan *Eleutherozoa* sp. Di titik B ditemukan 1 spesies *Holothuria whitmaei*. Kemudian di titik C ditemukan 2 spesies *Holothuria atra*. Teripang pada titik A dan B ditemukan pada ekosistem lamun dengan substrat pasir halus, sementara pada titik C teripang hidup pada substrat dengan pasir kasar. Menurut Ayu *et al.* (2021), *Holothuria atra* hidup di perairan yang jernih. Mereka banyak ditemukan di padang lamun dengan substrat pasir. Hal ini dikarenakan mereka suka membenamkan diri di dalam pasir saat air sedang surut dan butuh perlindungan dari matahari.

Tubuh teripang laut sangat mudah mengkerut dan menjulur. Teripang laut mengandung lebih banyak air, sehingga bentuk tubuhnya memanjang. Jika air telah keluar dari tubuhnya, maka teripang laut akan mengkerut (mengecil) (Robiansyah *et al.*, 2018). Posisi mulut teripang laut dan tentakelnya berada di ujung anterior, sedangkan di ujung satunya adalah bagian posterior yang merupakan lubang anus.

**Tabel 1. Jenis-jenis Teripang Laut yang Ditemukan di Perairan Talaud.**

Kode	Spesies
A1	<i>Holothuria leucospilota</i>
A2	<i>Holothuria whitmaei</i>
A3	<i>Eleutherozoa</i> sp.
B1	<i>Holothuria whitmaei</i>
C1	<i>Holothuria atra</i>
C2	<i>Holothuria atra</i>

## Morfologi Teripang Laut

### *Holothuria leucospilota*

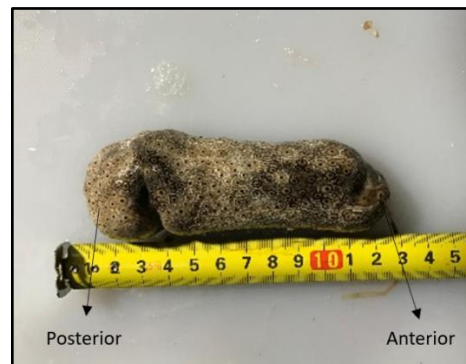
*Holothuria leucospilota* yang ditemukan di titik A (Gambar 2) memiliki bentuk tubuh bulat memanjang, seperti silinder dengan panjang tubuh  $\pm 26$  cm dan lebar  $\pm 7$  cm. *Holothuria leucospilota* merubah bentuknya menjadi lebih kecil, yaitu panjang  $\pm 15$  cm dan lebar  $\pm 9$  cm. *Holothuria leucospilota* mempunyai tubuh yang lembek dan licin yang ditutupi oleh papilla dan berwarna coklat kehitaman.



**Gambar 2.** *Holothuria leucospilota* di Titik A1.

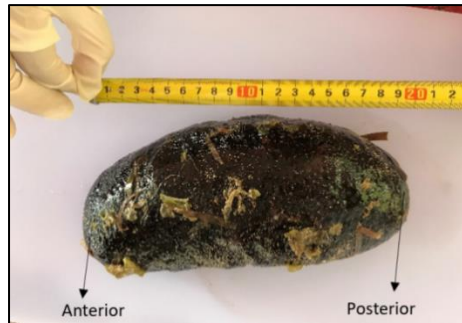
### *Holothuria whitmaei*

*Holothuria whitmaei* yang ditemukan di titik A2 (gambar 3) memiliki bentuk tubuh bulat memanjang dengan panjang  $\pm 12$  cm dan lebar  $\pm 4$  cm. *Holothuria whitmaei* ini memiliki corak dengan warna coklat kehitaman dan putih. Tubuhnya memiliki papilla kecil dan jarang.



**Gambar 3.** *Holothuria whitmaei* di Titik A2.

Sementara di titik B1 (Gambar 4), ditemukan *Holothuria whitmaei* dengan panjang tubuh  $\pm 26$  cm dan lebar  $\pm 10$  cm. *Holothuria whitmaei* ini akan merubah bentuknya menjadi lebih kecil, yaitu panjang  $\pm 21$  cm dan lebar  $\pm 8$  cm. *Holothuria whitmaei* di titik B1 berwarna hitam dengan corak putih dan memiliki papilla kecil dan jarang yang menutupi tubuhnya.



**Gambar 4. *Holothuria whitmaei* di Titik B1.**

*Holothuria whitmaei* biasa terdapat pada kedalaman 0-30 m. Secara umum, habitatnya adalah substrat berpasir. *Holothuria whitmaei* dewasa yang berumur sekitar 4 tahun memiliki panjang  $\pm 260$  mm atau 26cm dan dapat mencapai panjang 560 mm atau 56cm (Helidoniotis, 2021).

#### ***Eleutherozoa* sp.**

*Eleutherozoa* sp., di titik A3 berbentuk silindris dengan panjang tubuhnya  $\pm 23$ cm dan lebar  $\pm 3$ cm (Gambar 5). Ia akan berubah bentuk sehingga panjang tubuhnya menjadi  $\pm 16$ cm dan lebar  $\pm 7$ cm. Tubuhnya berwarna coklat muda dengan corak berwarna hitam memanjang dengan papilla pada tonjolan-tonjolan pada bagian dorsal. *Eleutherozoa* sp., memiliki kemiripan morfologi dengan *Holothuria* sp., sehingga diperlukan uji molekuler *barcoding* DNA untuk mendapatkan urutan DNA yang spesifik agar hasilnya lebih akurat.



**Gambar 5. *Eleutherozoa* sp. di Titik A3.**

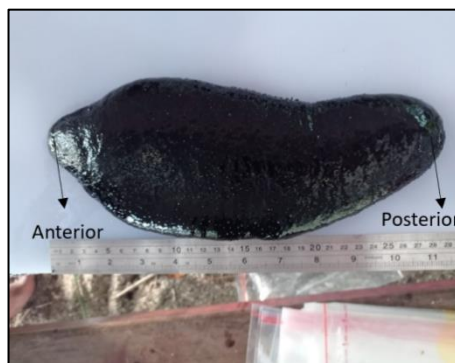
#### ***Holothuria atra***

*Holothuria atra* di titik C ditemukan 2 spesies. *Holothuria atra* dengan kode C1 memiliki bentuk tubuh lonjong dengan panjang  $\pm 37$ cm dan lebar  $\pm 8$  cm (Gambar 6). Sementara *Holothuria atra* dengan kode C2 memiliki panjang  $\pm 30$ cm dan lebar  $\pm 13$ cm. Ia akan menyusut sehingga panjangnya menjadi  $\pm 22$ cm dengan lebar  $\pm 10$ cm (Gambar 7).





**Gambar 6. *Holothuria atra* di Titik C1.**

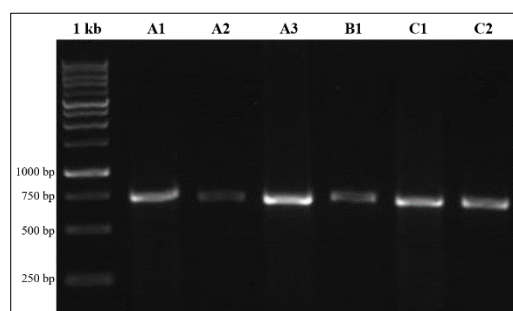


**Gambar 7. *Holothuria atra* di Titik C2.**

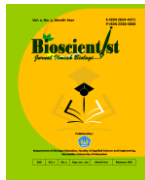
Seluruh tubuh *Holothuria atra* berwarna hitam kemerahan yang ditutupi dengan papilla kecil dan rapat pada bagian dorsal. Hal ini sesuai dengan Putri *et al.* (2019), yang menyatakan bahwa *Holothuria atra* memiliki tubuh berwarna hitam pekat, sehingga sulit untuk membedakan bagian dorsal dan ventralnya, namun biasanya terdapat warna kemerahan yang membentuk garis lurus dari ujung anterior hingga posterior pada bagian ventral.

#### **Barcoding DNA**

Tahapan awal untuk mengidentifikasi suatu spesies adalah isolasi DNA. Kualitas kemurnian DNA yang dihasilkan sangat bergantung pada proses isolasi DNA. Tujuan dari isolasi DNA ini adalah untuk memisahkan DNA dari bahan yang lain, seperti Karbohidrat, protein, dan lemak (Setiaputri *et al.*, 2020). Melalui isolasi DNA dapat diperoleh DNA murni. DNA teripang laut hasil isolasi dapat divisualisasi lewat hasil elektroforesis (Gambar 8).



**Gambar 8. Hasil Elektroforesis dengan Gel Agarosa 0,8%.**



Hasil visualisasi DNA teripang laut lewat elektroforesis memiliki kualitas yang sangat baik. Hal ini dikarenakan tidak terdapat smear. Sundari & Priadi (2020), mengatakan bahwa smear pada pita DNA menunjukkan bahwa DNA yang diperoleh belum murni atau terdapat zat lain yang tercampur. Molekul DNA yang bagus adalah DNA yang menunjukkan pita yang tegas, tebal, dan tidak terdapat smear. Smear terjadi karena DNA mengalami degradasi terfragmentasi (tidak utuh), sehingga semakin tegas, tebal, dan utuh DNA yang diperoleh, maka kuantitas dari DNA tersebut semakin bagus.

Target *sequencing* DNA teripang laut dianalisis menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). BLAST mampu menemukan urutan nukleotida yang memiliki kemiripan (Budiarsa *et al.*, 2022). Berdasarkan data hasil BLAST dari keenam sampel teripang laut, didapati bahwa terdapat 4 spesies berbeda, yaitu *Holothuria leucospilota*, *Holothuria whitmaei*, *Eleutherozoa sp.*, dan *Holothuria atra*. Urutan nukleotida teripang laut hasil *sequencing* memiliki panjang 655 bp.

Sampel dengan kode A1, A2, B1, C1, dan C1 menunjukkan nilai identitas 99%-100%, *Gaps* 0%, *strand plus/plus*, dan *Expect* 0,0 (Tabel 2). berdasarkan nilai tersebut, *query* dan target *sequence* memiliki tingkat kesamaan yang sangat dekat. Menurut Anggraini *et al.* (2019), suatu spesies dengan nilai identities 99% atau lebih, maka bisa dikatakan sebagai spesies yang sama. Sementara, untuk sampel A3 menunjukkan nilai identitas 90%, *Gaps* 0%, *strand plus/plus*, dan *Expect* 0,0. Ini menunjukkan bahwa *query* dan target *sequence* spesies *Eleutherozoa sp.*, memiliki tingkat kesamaan yang lebih kecil.

**Table 2. Pensejajaran Hasil BLAST Teripang Laut.**

Kode	Spesies	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
A1	<i>Holothuria leucospilota</i>	1210 bits (655)	0.0	655/655 (100%)	0/655 (0%)	Plus/Plus
A2	<i>Holothuria whitmaei</i>	1166 bits (631)	0.0	639/643 (99%)	0/643 (0%)	Plus/Plus
A3	<i>Eleutherozoa sp.</i>	856 bits (463)	0.0	592/656 (90%)	2/656 (0%)	Plus/Plus
B1	<i>Holothuria whitmaei</i>	1166 bits (631)	0.0	639/643 (99%)	0/643 (0%)	Plus/Plus
C1	<i>Holothuria atra</i>	1175 bits (636)	0.0	638/639 (99%)	0/639 (0%)	Plus/Plus
C2	<i>Holothuria atra</i>	1188 bits (643)	0.0	651/655 (99%)	0/655 (0%)	Plus/Plus

Menurut Herbert *et al.* (2003) dalam Kamal *et al.* (2019), suatu spesies dengan jarak genetic lebih dari 3% dapat dikatakan sebagai spesies yang berbeda. Hal yang sama juga diungkapkan oleh Stevan Merker (*pers.com*) dalam Wirdateti *et al.* (2016), menyatakan bahwa perbedaan nukleotida dan jarak genetic sebesar 3% antar populasi adalah merupakan spesies terpisah. Tingkat homologi urutan basah yang rendah menunjukkan bahwa ada kemungkinan sampel teripang laut dengan kode A3 merupakan taksa baru yang memiliki kemiripan paling tinggi dengan *Eleutherozoa sp.* dengan tingkat kemiripan 90%.

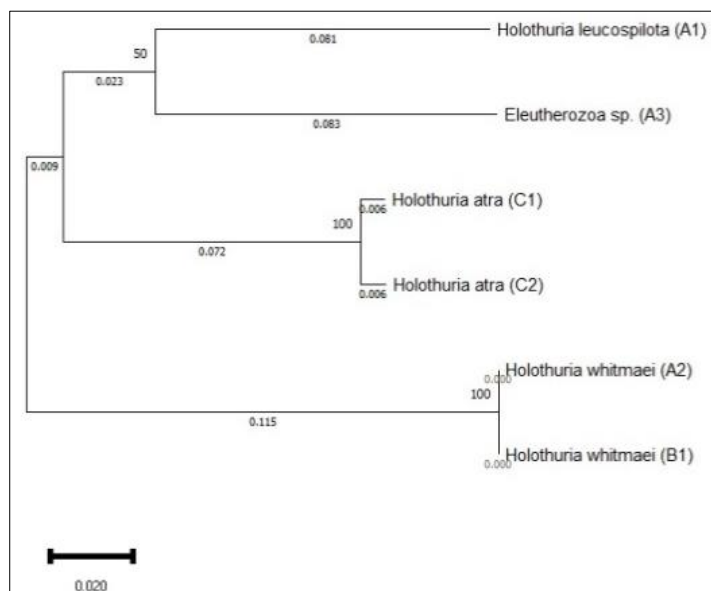
### Tingkat Kesamaan

Dari hasil target *sequence* tingkat kesamaan (Tabel 3), diketahui bahwa sampel A2 dan B1 memiliki tingkat kesamaan 100% atau identik, dimana keduanya adalah spesies *Holothuria whitmaei*. Sementara tingkat kesamaan paling rendah, yaitu dengan nilai persentase 82,75% adalah sampel dengan kode A2 dengan A3, serta A3 dengan B1. Dimana diketahui kode A2 dan B1 adalah spesies *Holothuria whitmaei* dan kode A3 adalah spesies *Holothuria coluber*.

**Table 3. Tingkat Kesamaan dari Keenam Sampel.**

	A1	A2	A3	B1	C1	C2
A1		83.21%	85.95%	83.21%	85.65%	85.50%
A2	83.21%		82.75%	100%	83.66%	83.66%
A3	85.95%	82.75%		82.75%	85.50%	85.50%
B1	83.21%	100%	82.75%		83.66%	83.66%
C1	85.65%	83.66%	85.50%	83.66%		98.78%
C2	85.50%	83.66%	85.50%	83.66%	98.78%	

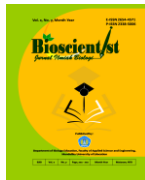
Rekonstruksi pohon filogeni menunjukkan adanya pengelompokan spesies dengan tingkat kesamaan genetik terkait hubungan kekerabatan (Simbolon *et al.*, 2021). Pohon filogenetik menggambarkan hubungan antara spesies dengan nenek moyangnya yang paling dekat, sehingga bisa diketahui kedekatan dari setiap spesies (Sindiya *et al.*, 2018). Hasil rekonstruksi pohon filogenetik dengan menggunakan aplikasi MEGA 11 menunjukkan bahwa pada teripang laut terdiri dari dua kelompok. *Holothuria leucospilota* dan *Eleutherozoa sp.*, berasal dari nenek moyang yang sama, namun memiliki nilai *bootstrap* 50%.



**Gambar 9. Pohon Filogenetik 6 Sampel Teripang Laut.**

### SIMPULAN

Sampel teripang laut yang ditemukan di perairan Kabupaten Kepulauan Talaud Pulau Kabaruan berjumlah 6 sampel. Dari keenam sampel tersebut terdapat 4 spesies, yaitu *Holothuria leucospilota*, *Holothuria whitmaei*,



*Eleutherozoa* sp., dan *Holothuria atra*. Perbedaan dari setiap spesies tersebut bisa dilihat dari ciri morfologi, yaitu panjang dan lebar teripang laut, papilla, corak, serta warna.

Hasil BLAST dalam *barcoding* DNA menunjukkan sampel dengan kode A1, A2, B1, C1, dan C1 menunjukkan nilai kemiripan yang tinggi, yaitu 99%-100% dengan target *sequence* nukleotida dari *gene bank*. Sementara sampel dengan kode A3 menunjukkan nilai kemiripan 90% dengan target *sequence* nukleotida dari *gene bank*. Dari keenam sampel tersebut didapati sampel A2 dan B1 memiliki tingkat kemiripan paling tinggi, yaitu 100%. Sementara sampel dengan nilai persentase terendah adalah sampel A3 dan B1, serta sampel A2 dan A3, yaitu sama-sama memiliki nilai persentase 82,75%.

## SARAN

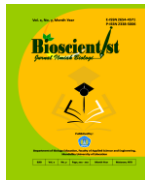
Saran untuk penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait identifikasi spesies-spesies teripang laut yang terdapat di perairan Kabupaten Talaud, serta dilakukan uji kandungan teripang laut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

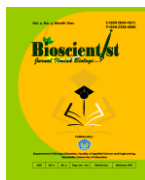
Terima kasih kepada Kepala Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, dan Kebumihan, Universitas Negeri Manado yang telah memberi ijin dalam pemakaian Lab, dan Prof. Dr. Y. S. Mokusuli, dan Dr. N. Manampiring atas bimbingan dalam mengekstraksi sampel, dan bapak B. Kolondam yang sudah membantu dalam PCR hingga BLAST. Terima kasih juga kepada Prof. Dr. R. A. Mege, Dr. V. Roring, Dr. N. Ogi, bapak N. Watung, serta tim penyelam yang sudah membantu dalam pengumpulan sampel.

## DAFTAR RUJUKAN

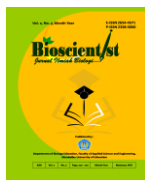
- Akashah, N., Kamarudin, K. R., Solehin, S. N., Rahman, N. S. A., Akma, U. N., Shahdan, F., Azman, H., Fadzil, S. N. M., Faid, N. H. M., Zaman, N. S. S., Badrulhisham, N. S., Bakar, M. A. L. A., Legiman, M. I., Rehan, A. M., Salleh, F. M., & Esa, Y. (2021). Species Identification and Relationship of Sea Cucumber Species from Pulau Tinggi and Sedili Kechil, Johor Based on Ossicle Shape. *Journal of Sustainable Natural Resources*, 2(1), 38-45. <https://doi.org/10.30880/jsunr.2021.02.01.006>
- Anggraini, I., Ferniah, R. S., & Kusdiyantini, E. (2019). Isolasi Khamir Fermentatif dari Batang Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan Hasil Identifikasinya Berdasarkan Sekuens Internal *Transcribed Spacer*. *Berkala Bioteknologi*, 2(2), 12-22.
- Arriessgado, E., Sornito, M., Zalsos, J., Besoña, J., Alia, L., Cadeliña, F., Mortos, M. L. M., & Uy, W. (2022). Diversity and Abundance of Sea Cucumbers in Selected Areas of Mindanao, Philippines. *Philippine Journal of Science*, 151(3), 863-877. <https://doi.org/10.56899/151.03.07>
- Aulia, E. D., Muzaki, F. K., Saptarini, D., Setiawan, E., Setiamarga, D., Lutvianti, I. D., Rosyidah, S. K., & Muhammad, N. A. (2021). Diversity of Sea Cucumber from Intertidal Area of Pacitan and Bangkalan, East Java, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(4), 2136-



2141. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220463>
- Ayu, M. S., Hartati, R., Sunaryo., Ario, R., Widianingsih., & Soegianto, A. (2021). The abundance of *Holothuria* (*Halodeima*) atra (Jaeger, 1833) in Karimunjawa and Sintok Island, Karimunjawa National Park, Jepara, Indonesia Related to Density of Seagrass. *Ecology, Environment & Conservation*, 27(2), 555-562.
- Brown, K. T., Southgate, P. C., Hewavitharane, C. A., & Lal, M. M. (2022). Saving the Sea Cucumbers: Using Population Genomic Tools to Inform Fishery and Conservation Management of the Fijian Sandfish *Holothuria* (*Metriatyla*) *Scabra*. *PLoS ONE*, 17(9), 1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274245>
- Budiarsa, I. M., Dhafir, F., & Suprianto. (2022). Studi in Silico: Hasil *BLAST Gen Clock* pada Megapodiidae. *JRST : Jurnal Riset Sains dan Teknologi*, 6(1), 33-40. <https://doi.org/10.30595/jrst.v6i1.10827>
- Catalma, M. N. A., Diaz, M. G., Garcia, R., Ocampo, P., Laurena, A., & Tecson-Mendoza, E. M. (2020). DNA Barcoding and Diversity Analysis of 19 Economically Important Philippine Sea Cucumbers (Holothuroidea). *Philippine Journal of Science*, 149(2), 335-346. <https://doi.org/10.56899/149.02.09>
- Ehsanpour, Z., Salimi, M., Salari, M. A., & Zolgharnein, H. (2016). Morphological and Molecular Identification of *Holothuria* (*Selenkothuria*) *Parva* from Bostaneh Port, Persian Gulf. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 45(3), 405-409.
- Fernandes, T. J. R., Amaral, J. S., & Mafra, I. (2021). DNA Barcode Markers Applied to Seafood Authentication: An Updated Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(1), 3904-3935. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1811200>
- Ghelani, H., Khursheed, M., Adrian, T. E., & Jan, R. K. (2022). Anti-Inflammatory Effects of Compounds from Echinoderms. *Marine Drugs*, 20(11), 693-703. <https://doi.org/10.3390/md20110693>
- Heareau, T. B., & Boissin, E. (2010). Design of Phylum-Specific Hybrid Primers for DNA Barcoding: Addressing the Need for Efficient COI Amplification in the Echinodermata. *Molecular Ecology Resources*, 10(6), 960-967. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02848.x>
- Helidoniotis, F. (2021). *Stock Assessment of Black Teatfish (Holothuria whitmaei) in Queensland, Australia*. Brisbane: Queensland Government.
- Hossain, A., Senadheera, T. R. L., Dave, D., & Shahidi, F. (2023). Phenolic Profiles of Atlantic Sea Cucumber (*Cucumaria frondosa*) Tentacles and their Biological Properties. *Food Research International*, 163(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112262>
- Hu, R., Xing, R., Wang, N., Ge, Y., & Chen, Y. (2019). Species Identification of Sea Cucumber Products Based on DNA Barcoding. *Science and Technology of Food Industry*, 40(10), 145-151. <https://dx.doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.10.024>
- Jannah, H., & Safnowandi, S. (2018). Identifikasi Jenis Tumbuhan Obat di Kawasan Desa Batu Mekar Kecamatan Lingsar Kabupaten Lombok Barat.



- 
- Bioscientist* : *Jurnal Ilmiah Biologi*, 6(1), 1-15.  
<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v6i1.938>
- Kamal, M. M., Hakim, A. A., Butet, N. A., Fitriyaningsih, Y., & Astuti, R. (2019). Autentikasi Spesies Ikan Kerapu Berdasarkan Marka Gen Mt-COI dari Perairan Peukan Bada, Aceh. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 116-123.  
<https://doi.org/10.29303/jbt.v19i2.1245>
- Kamarudin, K. R., & Rehan, M. M. (2015). Morphological and Molecular Identification of *Holothuria* (Merthensiothuria) *leucospilota* and *Stichopus horrens* from Pangkor Island, Malaysia. *Tropical Life Sciences Research*, 26(1), 87-99.
- Kürzel, K., Kaiser, S., Lörz, A. N., Rossel, S., Paulus, E., Peters, J., Schwentner, M., Arbizu, P. M., Coleman, C. O., Svavarsson, J., & Brix, S. (2022). Correct Species Identification and its Implications for Conservation Using Haplomiscidae (Crustacea, Isopoda) in Icelandic Waters as a Proxy. *Frontiers in Marine Science*, 8(1), 1-21.  
<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.795196>
- Langdal, A., Eilertsen, K. E., Kjellevoll, M., Heimstad, E. S., Jensen, I. J., & Elvevoll, E. O. (2023). Climate Performance, Environmental Toxins and Nutrient Density of the Underutilized Norwegian Orange-Footed Sea Cucumber (*Cucumaria frondosa*). *Foods*, 12(1), 1-24.  
<https://doi.org/10.3390/foods12010114>
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experiments*, 62(1), 1-5. <https://doi.org/10.3791/3923>
- Mege, R. A., & Samuel, M. Y. (2017). DNA Barcoding of Local Pigs in Minahasa, North Sulawesi. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 4(5), 82-87.
- Mohammad, D., Aliabadi, A. A., Veisi, M. M., Aliabadi, M. A. S., & Veysi, M. M. (2020). Application of Calcareous Spicules for the Identification of Sea Cucumbers in the Rocky Shores of Northern Persian Gulf. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 49(2), 281-286.
- Mulyono, M., Nurbani, S., Apriandeni, N. S., Nurbani, S. Z., Waluyo, A. S., Hidayat, T. T., & Mulyono, C. M. (2017). Community Structure of Sea Cucumber on Coral Reefs in Togean Islands National Park Central Sulawesi, Indonesia. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(6), 201-204.
- Okada, A., & Kondo, M. (2019). Regeneration of the Digestive Tract of an Anterior-Eviscerating Sea Cucumber, *Eupentacta Quinquesemita*, and the Involvement of Mesenchymal-Epithelial Transition in Digestive Tube Formation. *Zoological Letters*, 5(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40851-019-0133-3>
- Patantis, G., Dewi, A. S., Fawzya, Y. N., & Nursid, M. (2019). Identification of Beche-De-Mers from Indonesia by Molecular Approach. *Biodiversitas*, 20(2), 537-543. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200233>
- Putri, A. E. M., Sunaryo, S., & Endrawati, H. (2019). Perbandingan Jenis dan Jumlah Echinodermata di Perairan Pantai Krakal Gunung Kidul



- Yogyakarta dan Pantai Pailus Jepara, Jawa Tengah. *Journal of Marine Research*, 8(2), 127-140. <https://doi.org/10.14710/jmr.v8i2.25090>
- Robiansyah, Y., Nurliah., & Hilyana, S. (2018). Tingkat Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Teripang (*Holothuria atra*) Hasil Reproduksi Aseksual dengan Berat. *Jurnal Perikanan*, 8(2), 6-15.
- Ru, R., Chen, G., Liang, X., Cao, X., Yuan, L., & Meng, M. (2023). Sea Cucumber Derived Triterpenoid Glycoside Frondoside A: A Potential Anti-Bladder Cancer Drug. *Nutrients*, 15(2), 1-19.
- Sanjeewa, K. K. A., & Herath, K. H. I. N. M. (2023). Bioactive Secondary Metabolites in Sea Cucumbers and their Potential to Use in the Functional Food Industry. *Korean Society of Fisheries and Aquatic Sciences*, 26(2), 69-86. <https://doi.org/10.47853/FAS.2023.e6>
- Senadheera, T. R. L., Hossain, A., Dave, D., & Shahidi, F. (2022). In Silico Analysis of Bioactive Peptides Produced from Underutilized Sea Cucumber By-Products-A Bioinformatics Approach. *Marine Drugs*, 20(10), 1-16. <https://doi.org/10.3390/md20100610>
- Setiaputri, A. A., Barokah, G. R., Sahaba, M. A. B., Arbajayanti, R. D., Fabella, N., Pertiwi, R. M., Nurilmala, M., Nugraha, R., & Abdullah, A. (2020). Perbandingan Metode Isolasi DNA pada Produk Perikanan Segar dan Olahan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 447-458. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.32314>
- Simbolon, A. R., Putra, M. Y., & Wirawati, I. (2021). Identifikasi Spesies Menggunakan DNA *Barcoding* dalam Menunjang Budidaya dan Konservasi Teripang di Perairan Lampung. *Jurnal Riset Akuakultur*, 16(1), 31-37. <https://doi.org/10.15578/jra.16.1.2021.31-37>
- Sindiya, V., Mukarramah, L., Rohimah, S., Perwitasari, D. A. G., & Su'udi, M. (2018). Studi in Silico Potensi DNA Barcode pada Anggrek Langka Paphiopedilum. *Biosfer : Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 3(1), 20-26. <https://doi.org/10.23969/biosfer.v3i1.1250>
- Sulardiono, B., Hartoko, A., Aini, A. N., Wulandari, D., & Budiharjo, A. (2022). Genetic Diversity of Commercial Sea Cucumbers Stichopus (Echinoderm: Stichopodidae) Based on DNA Barcoding in Karimunjawa, Indonesia. *Biodiversitas : Journal of Biological Diversity*, 23(2), 922-927. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230234>
- Sundari, A., & Priadi, B. (2020). Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Ikan Tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(2), 87-90. <http://dx.doi.org/10.15578/blta.17.2.2019.87-90>
- Wanninger, A. (2015). *Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates 6*. Berlin: Springer Nature.
- Wenhai, L., Cusack, C., Baker, M., Tao, W., Mingbao, C., Paige, K., Xiaofan, Z., Levin, L., Escobar, E., Amon, D., Yue, Y., Reitz, A., Neves, A. A. S., O'Rourke, E., Mannarini, G., Pearlman, J., Tinker, J., Horsburgh, K. J., Lehodey, P., Pauliquen, S., Dale, T., Peng, Z., & Yufeng, Y. (2019). Successful Blue Economy Examples with an Emphasis on International Perspectives. *Frontiers in Marine Science*, 6(1), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00261>



- Wirawati, I., Jasmadi., Pratiwi, R., Widyastuti, E., & Ibrahim, P. S. (2021). Commercial Sea Cucumber Trading Status in Indonesia. *AACL Bioflux*, 14(6), 3204-3216.
- Wirdateti., Indriana, E., & Handayani. (2016). Analisis Sekuen DNA Mitokondria Cytochrome Oxidase I (COI) mtDNA pada Kukang Indonesia (*Nycticebus spp*) sebagai Penanda Guna Pengembangan Identifikasi Spesies. *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(1), 119-128. <https://doi.org/10.14203/jbi.v12i1.2322>
- Xing, R. R., Hu, R. R., Wang, N., Zhang, J. K., Ge, Y. Q., & Chen, Y. (2021). Authentication of Sea Cucumber Products Using NGS-Based DNA Mini-Barcoding. *Food Control*, 129(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108199>
- Yang, C., Zheng, Y., Tan, S., Meng, G., Rao, W., Yang, C., Bourne, D. G., O'Brien, P. A., Xu, J., Liao, S., Chen, A., Chen, X., Jia, X., Zhang, A., & Liu, S. (2020). Efficient COI Barcoding Using High Throughput Single-End 400 BP Sequencing. *BMC Genomics*, 21(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07255-w>