

STUDI MOLEKULAR UDANG *Pennaeus (Fenneropenaeus) merguensis* DI PERAIRAN PANTAI UTARA JAWA

Molecular Study Of Shrimp Pennaeus (Fenneropenaeus) merguensis On The North Coast Of Java Sea

Anhar Solichin, Suradi Wijaya Saputra, Wiwiet Teguh Taufani dan Diah Ayuningrum
Departemen Sumberdaya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Jl. Prof Soedarto SH, Tembalang, Semarang Indonesia 50275; Telephone/Fax: 024-76480685
Email : anhar.solichin@gmail.com

Diserahkan tanggal 16 September 2020, Diterima tanggal 20 Oktober 2020

ABSTRAK

Wilayah pesisir merupakan ekosistem unik bagian dari habitat vital bagi biota pesisir, laut, dan darat. Lokasi penelitian di pantai utara Jawa Tengah mencakup Tegal hingga Kendal. Investigasi terbaru menunjukkan bahwa keanekaragaman hayati laut mungkin jauh lebih tinggi dari perkiraan sebelumnya termasuk udang yang penting secara ekonomi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keanekaragaman genetik spesies udang di perairan pantai utara Jawa yang meliputi daerah Kendal, Batang, Pekalongan, Pemalang, Tegal dan Brebes. Metode yang digunakan yaitu deskriptif eksploratif, dengan teknik sampling yaitu *simple random sampling*. Identifikasi molekuler udang menggunakan marga molekuler gen *Cytochrome Oxydase I* (COI). Hasil sampling diperoleh masing-masing satu sampel udang yang diidentifikasi secara molekuler dari masing-masing daerah, yakni MT1, MB3, MR7, MP9, MB11 dan MLT13. Berdasarkan hasil amplifikasi gen COI diperoleh data panjang *basepair* dari keenam sampel udang yakni sekar 400-500 bp. Hasil sekuensing dan penyejajaran di fitur BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) menunjukkan bahwa keenam sampel udang termasuk ke jenis *Fenneropenaeus merguensis* KP637168.1 dengan tingkat kesamaan bervariasi dari 91-95%. Tingkat kesamaan terendah diperoleh dari sampel udang asal Pekalongan dan Tegal, sementara yang tertinggi berasal dari Brebes. Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut apakah kelima sampel udang dari daerah yang berbeda-beda terkait filogenetiknya.

Kata kunci: *Fenneropenaeus merguensis*; molekular; identifikasi; Pantai Utara Jawa.

ABSTRACT

The coastal area of the ecosystem is a unique part of the vital habitat for coastal, marine and terrestrial biota. Research locations on the north coast of Central Java include Brebes to Kendal. Recent investigations suggest that marine biodiversity may be much higher than previously estimated including economically important shrimp. The purpose of this study was to see the diversity of species in the northern coastal waters of Java, including the Kendal, Batang, Pekalongan, Pemalang, Tegal and Brebes areas. The method used is descriptive exploratory, with the sampling technique is *simple random sampling*. Molecular identification of shrimp using the molecular genus *Cytochrome Oxydase I* (COI). In this paper, we examine the biodiversity of shrimp species using the COI gene molecular channel. Sampling results obtained from one sample determined molecularly from each area, namely MT1, MB3, MR7, MP9, MB11 and MLT13. Based on the results of COI gene amplification, base pair length data obtained from the six shrimp samples, namely around 400-500 bp. The sequencing and alignment regard in the BLAST feature (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) shows that the six shrimp samples belong to the type. Results show that *Fenneropenaeus merguensis* KP637168.1 with 92% is found in Kendal, and Batang; Pekalongan, Pemalang, Tegal, and Brebes with a difference level of 91-95%. Levels can be obtained from shrimp samples from Pekalongan and Tegal, while the highest comes from Brebes. Thus, it is necessary to carry out further research whether the five shrimp samples from different areas are related to their phylogenetics.

Keywords: *Fenneropenaeus merguensis*; molecular; identification; COI; North Coast of Java

PENDAHULUAN

Wilayah pesisir adalah ekosistem yang unik, beberapa di antaranya merupakan habitat penting bagi biota pesisir, laut, dan darat. Pantai utara Jawa Tengah membentang dari Kabupaten Brebes ke Kabupaten Kendal, dengan panjang garis pantai 190 km. Ekosistem dan habitat vital seperti hutan bakau, padang lamun dan terumbu karang berfungsi sebagai tempat bertelur, area pembibitan dan makanan untuk berbagai organisme laut, termasuk berbagai udang, kondisi ini telah rusak. Dengan demikian akan menyebabkan penurunan daya

dukung, yang akan memengaruhi kemampuan keberlangsungan stok perikanan.

Sumber daya udang di Indonesia memiliki potensi yang tinggi. Terlebih persebarannya merata hampir di semua perairan. Mulai dari perairan Jawa, Sumatera, Sulawesi sampai ke Papua. Udang di perairan Pantai Utara Jawa mempunyai jenis yang sama, khususnya udang penaeid (Saputra, 2005). Udang penaeid merupakan sumber daya ekonomis penting yang eksistensinya sangat perlu untuk dijaga. Keberadaannya sangat mendukung devisa negara melalui komoditas ekspor. Dengan kandungan protein yang tinggi serta diperkaya vitamin A dan B1 yang membuat sumber daya udang semakin harus

untuk dilestarikan (Fatmaningrum, 2009). Spesies udang dari famili penaidae dikenal yang ditemukan di perairan Laut Jawa adalah *P. merguensis* (udang Putih), *P. monodon* (udang Windu), juga ditemukan spesies lain seperti *P. indicus* (udang Dogol), *P. semisulcatus*, *M. affinis*, *M. dobsoni* dan *M. ensis* (udang Barat). Udang penaeid umumnya ditangkap oleh pukat, jaring pukat dan jaring trammel. Sebuah studi genetik direncanakan untuk mengetahui hubungan antara kondisi geografis dan jangkauan setiap daerah dengan kondisi spesies berdasarkan analisis molekuler COI (Ketmaier, *et al.*, 2011).

Perbedaan karakter habitat akan bisa mempengaruhi sifat dari udang serta akan menggambarkan seberapa luas sebaran populasi dari udang tersebut. Oleh karena itu, agar kita bisa mengetahui persebaran populasi udang khususnya di perairan Pantai Utara Jawa, maka diperlukan penelitian mengenai studi keragaman genetik udang Penaeid supaya informasi mengenai persebaran populasi penaid bisa dipetakan dengan baik dan bisa memberikan gambaran mengenai seberapa besar luasan dan jumlah populasi udang yang ada di perairan Pantai Utara Jawa (Sulistiyono dan Moria, 2005).

Filogeografi adalah metode pemetaan varian sekuens DNA ke geografinya untuk menunjukkan distribusi garis keturunan genetik saat ini. Filogeografi adalah istilah yang sah secara ilmiah. Itu tentang struktur filogeografi tinggi atau rendah; dengan yang pertama, garis keturunan yang berkaitan erat juga ditemukan secara geografis terkelompok, dengan yang terakhir ada sedikit korelasi antara keterkaitan garis keturunan dan distribusi geografis mereka.

Filogeografi digunakan untuk menggambarkan studi yang menggunakan metode filogenetik dan membuat interpretasi tentang distribusi geografis. Sintesis yang ambisius ini akan memungkinkan kita untuk menentukan hubungan sebab akibat antara geografi, perubahan iklim, interaksi ekologis dan evolusi dan komposisi taksa di seluruh komunitas dan kumpulan (Hickerson, *et al.*, 2010). Studi kami mengungkapkan pola filogeografi yang kompleks dan diferensiasi genetik yang nyata pada spesies.

Di sini kami telah menggunakan gen COI untuk menghasilkan studi keanekaragaman molekuler untuk *P. Indicus* dan *P. merguensis*. Penelitian ini memiliki tujuan untuk melihat besarnya diferensiasi genetik dalam spesies halofilik dengan penyebaran luas. Melihat bagaimana dan sejauh mana hubungan antar populasi berkaitan dengan distribusi geografis mereka dan apakah jarak geografis di antara populasi adalah kekuatan utama yang bertanggung jawab atas pola variasi genetik dalam spesies (Ketmaier *et al.*, 2011).

METODE PENELITIAN

Metode sampling

Metode atau teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling* (acak sederhana), yaitu proses pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan tujuan memberi kesempatan yang sama pada setiap anggota populasi untuk menjadi anggota sampel (Notoatmodjo, 2002). Pengambilan sampel dilakukan 1 kali untuk setiap wilayah perairan. Sebanyak 15 sampel udang telah berhasil dikoleksi dari 10 titik sampling di sepanjang pantai di utara Jawa (Gambar 1).

Kesepuluh pantai tersebut tersebar di beberapa kota yakni Brebes, Tegal, Pemalang, Pekalongan, Batang, dan Kendal. Semua sampel udang disimpan dalam kondisi beku sebelum dikirim ke laboratorium untuk diproses lebih lanjut. Sampel berupa jaringan udang yang didapat dari perairan Pantai Utara Jawa. Sampel ditempatkan di plastik, diberi label dan dianalisis di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro untuk dilakukan analisis genetiknya.

Ekstraksi DNA Udang

Sampel udang yang telah disimpan dalam kondisi beku, kemudian diproses sedemikian rupa untuk diambil DNA nya. Bagian yang diambil dari udang untuk diekstraksi DNA nya yakni berasal dari dagingnya yang berwarna putih (Huang *et al.*, 2012). Ekstraksi DNA udang ini menggunakan metode Chelex dengan langkah-langkah sebagai berikut: (1) Sebanyak 25 mg daging dari otot udang dimasukkan kedalam mikrotub ukuran 1,5 ml yang sebelumnya telah diisi dengan 20% chelex 100. (2) Campuran daging dan chelex dipanaskan pada suhu 95°C selama 45 menit dan dihomogenkan dengan vorteks selama 20 menit (daging dan larutan chelex harus dipastikan tercampur sempurna). (3) Campuran hasil proses kedua disentrifus pada kecepatan 2000rpm selama 10 menit. (4) Supernatan diambil dan disimpan pada suhu -4°C (Susilowati *et al.*, 2015 dan Pringgenis & Susilowati, 2016).

Amplifikasi gen *Cytochrome Oxidase I* (COI)

Gen penanda yang digunakan untuk identifikasi molekuler ini adalah gen *cytochrome b* yang telah teridentifikasi memiliki panjang fragmen antara 401-407 bp (Huang *et al.*, 2012). Set primer yang digunakan adalah UCYTB151F/270R, yang mana urutan basa pada masing-masing primer adalah sebagai berikut: UCYTB151F: 5'-TGTGGGRCNACYGTWA TYACTAA-3'; 270R: 5'-AANAGGAARTAYCAYTCNGGYTG-3' (Huang *et al.*, 2010).

Komposisi campuran PCR (PCR *cocktail*) saat amplifikasi gen terdiri dari bahan-bahan sebagai berikut: GoTaq@Green Master Mix Promega (25 µl), primer UCYTB151F (0,5-5 µl), primer CYTB270R (0,5-5 µl), template DNA (1-5 µl), dan Nuclease-Free Water (20 µl). Sehingga total volume PCR *cocktail* yang digunakan saat amplifikasi adalah 50µL. Program yang dijalankan untuk amplifikasi PCR *cocktail* tersebut terdiri dari beberapa tahapan. Tahapan denaturasi pada suhu 94°C selama 4 menit, diikuti oleh 40 siklus pada 94°C selama 1 menit, 48°C selama 1 menit dan 72°C selama 2 menit (Huang *et al.*, 2012). Produk PCR kemudian dievaluasi untuk melihat keberadaan pita DNA fragmen *cytochrome b* menggunakan elektroforesis dan UVIDoc.

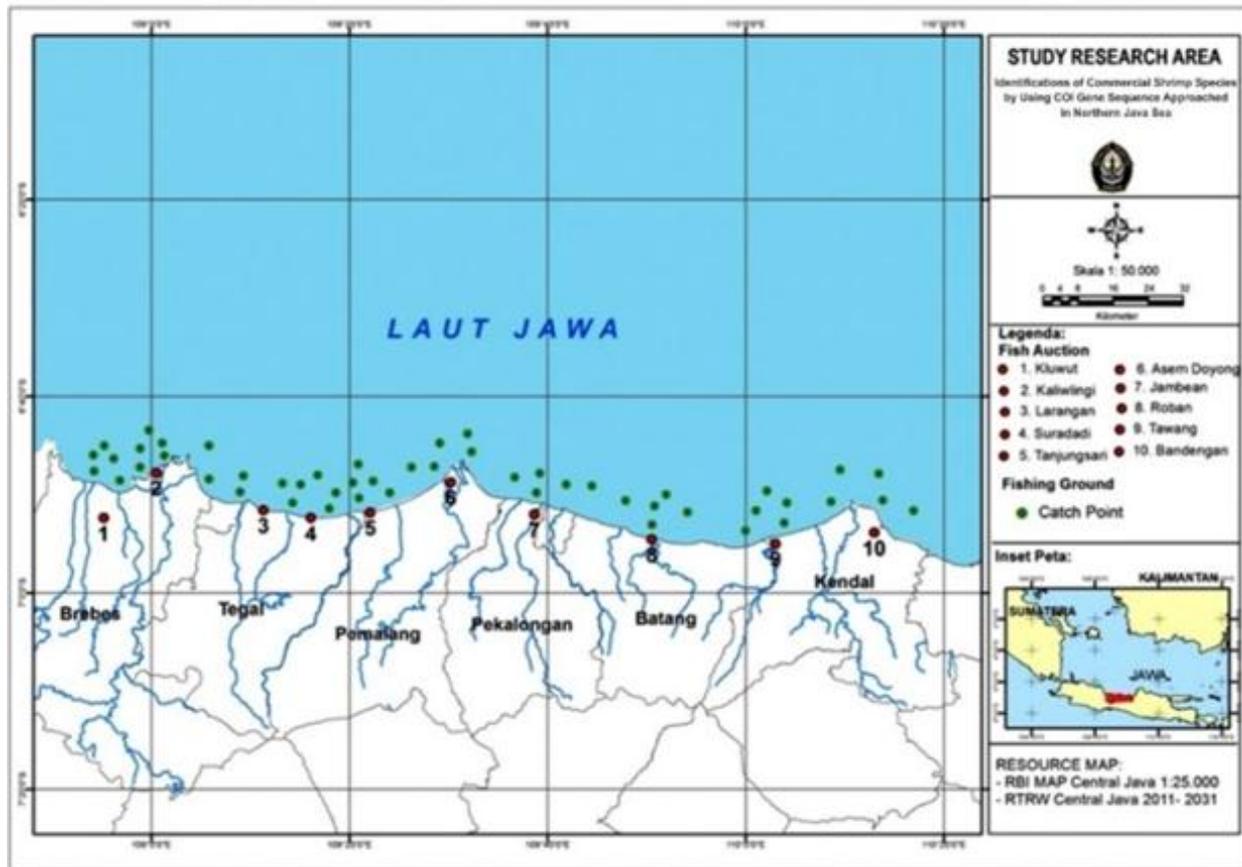
Sekuensing

Produk PCR yang telah dievaluasi dengan elektroforesis pada voltase 100 selama 3 menit di sumuran gel agarose didalam bak elektroforesis kemudian divisualisasikan dengan UVIDoc. Fragmen DNA yang sesuai target akan sepanjang 401-407 bp kemudian dikirimkan ke 1st base, Malaysia melalui Genetika Science untuk disekuensing.

BLAST Homology

Hasil sekuensing kemudian dianalisis menggunakan program MEGA VI dengan menggabungkan dua sekuens dari kedua primer untuk membentuk sekuens konsensus. Sekuens

konsensus tersebut kemudian dicocokkan dengan sekuens lain yang terdaftar di genebank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mengetahui kesamaan dengan spesies lainnya.



Keterangan : Titik sampling 1 dan 2 berada di Kabupaten Brebes, titik sampling 3 dan 4 berada di Kota Tegal, titik sampling 5 dan 6 berada di Kabupaten Pemalang, titik sampling 7 berada di Kota Pekalongan, titik sampling 8 berada di Kabupaten Batang dan titik sampling 9,10 berada di Kabupaten Kendal

Gambar 1. Peta Lokasi Sampling

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koleksi sampel

Berdasarkan hasil sampling diperoleh enam sampel udang dari keenam lokasi yang berbeda (Gambar 2), diambil jaringannya dan dianalisis di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro untuk dilakukan analisis genetiknya.

Secara morfologi, udang putih berwarna krem putih, kadang terdapat bintik coklat atau hijau tua, tidak ada pita coklat tua yang melintang pada karapaks dan abdomen, memiliki rostrum yang lebih pendek dan hampir lurus dengan puncak rostrum berbentuk segitiga, memiliki 8-10 gigi pada bagian dorsal dan 5-6 gigi pada bagian ventral, lengkung adrostral dangkal dan tidak mencapai pertengahan karapaks, tidak ada duri gastro-orbital, tidak ada duri hepatic sehingga karapaks tampak licin, dan tidak ada duri pada telson (Bailey-Brock and Moss (1992). Lebih lanjut, pada antenulla terdapat pita berwarna coklat tapi tidak pada antennae, kaki dan pleopod berwarna kekuningan terkadang terdapat warna coklat atau pink dan uropod berwarna kombinasi hijau kekuningan dan kecoklatan serta bagian atas rostrum berwarna coklat (Holotheis, 1980).

Hasil Evaluasi Amplifikasi Gen *Cytochrome Oxidase I* (COI)

Amplifikasi gen *cytochrome oxidase I* (COI) telah berhasil dilakukan dari 15 sampel udang. Untuk mengetahui panjang fragmen gen target dilakukan evaluasi dengan menggunakan elektroforeis. Hasil evaluasi dari proses amplifikasi fragmen gen *cytochrome* keenam sampel udang ditunjukkan oleh Gambar 3.

Berdasarkan gambar 3 terlihat bahwa panjang fragmen gen berada di antara 400-500 bp. Hasil elektroforeis dari amplifikasi ini menunjukkan bahwa semua primer berhasil mengamplifikasi gen COI pada sampel udang, meskipun ketebalan pita DNA pada masing-masing sampel berbeda. Intensitas pita DNA yang berbeda ini merupakan berhubungan dengan kuantitas gen yang berhasil diamplifikasi (Slater et al, 1989). menjelaskan bahwa perbedaan intensitas pita yang dihasilkan merupakan refleksi dari kuantitas gen yang berhasil diamplifikasi.

Hasil BLAST Homology

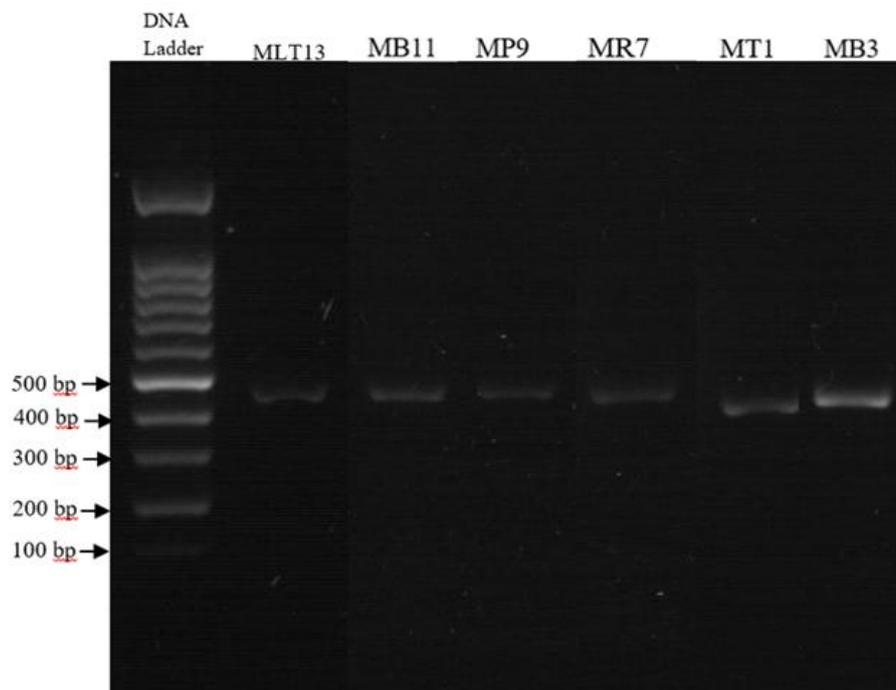
Analisis hasil sekuens konsensus gen COI dari genebank disajikan pada tabel 1. Keenam sampel udang dari

lokasi yang berbeda-beda tersebut menunjukkan satu spesies yang sama yakni *Fenneropenaeus merguensis*. Meskipun

demikian kesamaan dari masing-masing spesies tersebut berbeda.



Gambar 2. Sampel udang dari berbagai tempat sampling Kendal, Batang; Pekalongan, Pemalang; Tegal; dan Brebes



Keterangan: Sampel udang dari enam lokasi yang secara berturut-turut dari kiri ke kanan merupakan sampel kode MLT13, MB 11, MP9, MR7, MT1 dan MB3. Keseluruhan sampel memiliki panjang fragmen diantara *DNA ladder* 400-500bp.

Gambar 3. Visualiasasi hasil elektroforesis dari keenam

Marker gen standar yang paling sering digunakan untuk identifikasi hewan adalah Gen COI dari genom mitokondria (Hebret et al, 2003). Hal ini dikarenakan gen COI memiliki beberapa keunggulan. Primer universal dari gen ini sangat kokoh, sehingga mampu mengenali ujung 5' dari sebagian besar kelompok hewan, selain itu gen COI memiliki evolusi molekuler yang paling tinggi dibandingkan dengan gen-gen di mitokondria yang lain, sehingga memiliki variasi

intraspesifik rendah, tetapi interspesifik divergensinya tinggi antara taksa yang berdekatan (Hajibabaei et al, 2006).

Jenis-jenis udang yang termasuk ke dalam Famili Penaidae secara garis besar dapat dibedakan dari jenis udang famili lainnya berdasarkan dua ciri utama yaitu : pinggir kulit bagian depan pada segmen kedua tertutupi oleh kulit pada segmen pertama, dan tiga kaki jalan (periopod) pertama mempunyai capit (chela) yang hampir sama besarnya (Naamin1984).

Tabel 1. Hasil Sekuensing Diperoleh Dari Analisis BLAST Homology

No	Titik sampling	Kode	Hasil BLAST	Persentase kesamaan
1	Kendal	MT1	<i>Fenneropenaeus merguensis</i> KP637168.1	92 %
2	Batang	MB3	<i>Fenneropenaeus merguensis</i> KP637168.1	92 %
3	Pekalongan	MR7	<i>Fenneropenaeus merguensis</i> KP637168.1	91 %
4	Pemalang	MP9	<i>Fenneropenaeus merguensis</i> KP637168.1	94 %
5	Tegal	MB11	<i>Fenneropenaeus merguensis</i> KP637168.1	91 %
6	Brebes	MLT13	<i>Fenneropenaeus merguensis</i> KP637168.1	95 %

Taksonomi udang putih (*Fenneropenaeus merguensis* (de Mann, 1888)) menurut World Register of Marine Science (WORMS) adalah sebagai berikut:

Kingdom: Animalia;

Filum: Arthropoda;

Subfilum: Crustacea Brunnich, 1772;

Kelas: Malacostraca Latreille, 1802;

Ordo: Decapoda Latreille, 1802, 1888;

Famili: Penaeidae Rafinesque, 1815;

Genus: *Fenneropenaeus* Peréz-Farfante, 1969;

Species: *Fenneropenaeus merguensis* de Man, 1882.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini kesemua sampel udang dari Kendal, Batang; Pekalongan, Pemalang, Tegal, dan Brebes berdasarkan identifikasi molekuler menggunakan gen COI termasuk kedalam jenis *Fenneropenaeus merguensis* dengan kesamaan bervariasi dari 91 – 95%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro untuk menyediakan skema dukungan keuangan No. 1501-2 / UN7.5.10 / LT / 2018 dan UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro atas fasilitas dalam analisis molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

Bailey-Brock, J.H. & Moss, S.M. 1992. Penaeid taxonomy, biology and zoogeography, p. 9-27. In: Fast A.W. and Lester L.J. (Eds). Marine shrimp culture: principles and practices. Developments in aquaculture and fisheries science, volume 23. Elsevier Science Publisher B.V., The Netherlands.

Hajibabaei, M., M.A. Smith, D.H. Janzen, J.J Rodriguez, J.B Whitfield, & P.D.N. Hebert. 2006. A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Mol Ecol Notes* 6:959–964.

Hebert, P.D.N., A. Cywinska, S. L. Ball, & J.R. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 270, 313–321.

Holthuis, L.B., 1980. *FAO Species Catalogue*. Vol. 1 Shrimps

and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries. *FAO Fish. Synop.* 125(1):271p. Rome: FAO.

Huang, K.M., Y.W. Huang, T.Z. Chen. 2012. Identification of Species in Commercial Frozen Shrimp Meat in Taiwan. *J. Food. Drug. Analysis.* Vol. 20 No. 4, 2012 (839-843).

Infante, C., Crespo, A., and Zuasti, E. 2006. PCR-based methodology for the authentication of the Atlantic mackerel *Scomber scombrus* in Commercial Canned Products. *Food Res. Int.* 39: 1023-1028.

Ketmaier, V., R. Mandatori, E. De Matthaes and G. Mura. 2000. Molecular systematics and phylogeography in the fairy shrimp *Phalacrocyptus spinosa* (Milne-Edwards, 1840) (Branchiopoda: Anostraca). *Aquat. Sci.* 70 (2008) 65-76.

Mathews, L.M., Schubart, C.D., Neigel, J.E., Felder, D.L. 2002. Genetic, ecological and behavioural divergence between two sibling snapping shrimp species (Crustacea; Decapoda: Alpheus). *Molecular Ecology*, 11: 1427-1437.

Naamin N. 1984. *Dinamika Populasi Udang Jerbung (Penaeus merguensis de Man) di Perairan Arafura dan Alternatif Pengelolaannya*. Disertasi (Tidak Dipublikasikan). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Pringgenis, D. and Susilowati, R. 2016. *Highly Commercial Fisheries Tawar Fish: Molecular Analysis DNA Mitochondrial COI Gene Sequences and Proximate Analysis from Malacca Strait, Riau*.

Rokas, A., Ladoukakis, E., and Zourous, E. 2003. Animal Mitochondrial DNA recombination revisited. *Trends Ecol. Evol.* 18: 411-417.

- Saputra, S. W. 2005. Aspek Reproduksi dan Daerah Pemijahan Udang Jari (*Metapenaeus elegans* de Man, 1970). *Jurnal Ilmu Kelautan* Vol. 10, No. 1:41-49.
- Sembiring, A., N.P.D., Pertiwi, A. Mahardini, R. Wulandari, E.M. Kurniasih, A.W. Kuncoro, N.K. Dita Caahyani, A.W. Anggoro, M. Ulfah, H. Madduppa, K.E. Carpenter, P.H. Barber. 2015. DNA Barcoding Reveals Targeted Fisheries for Endangered Sharks in Indonesia. *Fish. Res.* 164 (2015) 130-134.
- Slater, G. W., Turmel, C., Lalande, M., Noolandi, J. 1989. DNA gel electrophoresis: effect of field intensity and agarose concentration on band inversion. *Biopolymers*, 28 (10), 1793-1799.
- Susilowati, R., A. Sabdono, I. Widowati. 2015. Isolation and Characterization of Bacteria Associated with Brown Algae *Sargassum* spp. from Panjang Island and Their Antibacterial Activities. *Pro. Env. Sci.* 23 (2015) 240-246.
- Valerio Ketmaier*, Rita Mandatori, Elvira De Matthaeis and Graziella Mura. Molecular systematics and phylogeography in the fairy shrimp *Tanymastix stagnalis* based on mitochondrial DNA Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Universit'a di Roma 'La Sapienza', V.le dell'Universit'a, 32, I-00185 Rome, Italy
- Valerio Ketmaier, Rita Mandatori, Elvira De Matthaeis and Graziella Mura. 2000. Molecular systematics and phylogeography in the fairy shrimp.
- Valerio Ketmaier1*, Daniela Pirolo2, Elvira De Matthaeis2, Ralph Tiedemann1 and Graziella Mura. 2011. Large-scale mitochondrial phylogeography in the halophilic fairy shrimp *Phallocryptus spinosa* (Milne-Edwards, 1840)
- Wati, L.A. 2018. Analyzing the development of Indonesia Shrimp Industry. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 137 (2018) 012101.
- WoRMS (2020). *Fenneropenaeus merguensis* (de Man, 1888). Accessed at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=377435> on 2020-09-13