

**STUDI IDENTIFIKASI GENETIK TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)  
MENGUNAKAN DNA BARCODING DI PULAU BUAYA ALOR DAN PULAU  
SERAYA LABUAN BAJO**

**IDENTIFICATION STUDY OF SAND CUCUMBER (*Holothuria scabra*) USING DNA  
BARCODING IN BUAYA ISLAND ALOR AND SERAYA ISLAND LABUAN BAJO**

**Gyan Carlo Valentino Yusuf\*, Marcelien Dj. Ratoe Oedjoe, Nicodemus Dahoklory**

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan Universitas Nusa  
Cendana, Alamat Jl. Adisucipto Penfui, Kupang  
e-mail: giantkarlofalentinyusuf@gmail.com

**ABSTRAK**

Teripang pasir (*Holothuria scabra*) merupakan salah satu spesies dengan nilai ekonomi tinggi yang tersebar di wilayah perairan tropis, termasuk Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *H. scabra* secara genetik di Pulau Buaya (Alor) dan Pulau Seraya (Labuan Bajo) menggunakan pendekatan DNA barcoding pada gen Cytochrome Oxidase I (COI). Metode yang digunakan meliputi ekstraksi DNA, amplifikasi gen COI melalui PCR, elektroforesis, sekuensing, dan analisis filogenetik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat sampel dari kedua lokasi memiliki urutan basa sepanjang 683 bp dan tingkat kemiripan sebesar 99,12% terhadap referensi *H. scabra* (NC\_027086.1). Analisis pohon filogenetik mengelompokkan seluruh sampel dalam satu klade dengan nilai bootstrap 1000, menunjukkan bahwa sampel berasal dari spesies yang sama. Temuan ini menunjukkan bahwa populasi *H. scabra* di kedua lokasi bersifat monomorfik secara genetik. Penelitian ini memberikan dasar ilmiah penting untuk pengelolaan budidaya dan konservasi berkelanjutan teripang pasir di Indonesia.

**Kata kunci:** DNA barcoding; gen COI; *Holothuria scabra*; identifikasi genetik; konservasi.

**ABSTRACT**

*Holothuria scabra*, commonly known as sandfish, is a highly valued sea cucumber species distributed in tropical marine waters, including Indonesia. This study aimed to genetically identify *H. scabra* populations from Buaya Island (Alor) and Seraya Island (Labuan Bajo) using DNA barcoding of the Cytochrome Oxidase I (COI) gene. The methods included DNA extraction, COI gene amplification via PCR, electrophoresis, sequencing, and phylogenetic analysis. Results showed that all four samples from both locations had 683 bp sequences and 99.12% similarity to the reference *H. scabra* sequence (NC\_027086.1). Phylogenetic analysis grouped all samples into a single clade with a bootstrap value of 100, indicating they belong to the same species. These findings suggest that the *H. scabra* populations in both locations are genetically monomorphic. This study provides essential scientific data to support sustainable aquaculture and conservation strategies for sandfish in Indonesia.

**Keywords :** *COI gene; conservation; DNA barcoding; genetic identification; Holothuria scabra.*

---

## PENDAHULUAN

Terumbu karang merupakan ekosistem penting yang mendukung keragaman fauna laut, termasuk kelompok echinodermata seperti teripang. Echinodermata memainkan peran signifikan dalam menjaga keseimbangan ekosistem sebagai pemakan sampah dan predator (Yusron, 2006). Teripang sendiri merupakan komoditas bernilai ekonomi tinggi, tidak hanya sebagai bahan pangan, tetapi juga sebagai sumber senyawa bioaktif yang memiliki potensi sebagai antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, dan antikanker (Sanjeewa & Herath, 2023). Namun, tingginya permintaan ekspor menyebabkan tekanan eksploitasi terhadap populasi teripang, yang sebagian besar masih bergantung pada hasil tangkapan liar (Oedjoe *et al.*, 2015), sehingga memicu penurunan populasi dan ancaman kepunahan pada beberapa spesies bernilai tinggi (CITES, 2020).

Sebagai negara kepulauan dengan sumber daya laut yang melimpah, Indonesia memiliki potensi besar dalam pengembangan budidaya teripang (Oedjoe *et al.*, 2015). Untuk menunjang pengelolaan dan budidaya yang berkelanjutan, identifikasi spesies secara akurat menjadi langkah awal yang krusial. Identifikasi secara morfologi memiliki keterbatasan karena banyak spesies memiliki kemiripan bentuk dan karakter tubuh yang kontraksibel serta mudah rusak saat stres (Wirawati *et al.*, 2019). Kesalahan dalam identifikasi dapat berdampak pada kegagalan budidaya dan upaya konservasi (Jannah & Safnowandi, 2018).

Sebagai solusi atas keterbatasan tersebut, pendekatan molekuler seperti DNA barcoding menjadi metode yang lebih akurat dan efisien. Teknik ini menggunakan sekuen DNA, khususnya gen *Cytochrome Oxidase I* (COI), untuk membedakan spesies berdasarkan informasi genetik (Hebert *et al.*, 2003). DNA *barcoding* telah terbukti dapat mengidentifikasi spesies dengan cepat, termasuk pada spesies yang

sulit dibedakan secara morfologi (Catalma *et al.*, 2020). Metode ini juga mendukung pemantauan genetik populasi, mengidentifikasi spesies invasif atau terancam punah, serta memperkuat kebijakan konservasi berbasis data ilmiah (Lindeque *et al.*, 2013; Ward *et al.*, 2009).

Pulau Buaya di Kabupaten Alor dan Pulau Seraya di wilayah Labuan Bajo merupakan habitat potensial bagi *Holothuria scabra* karena memiliki perairan yang jernih, dasar pasir-lumpur, dan padang lamun yang luas (Kritsanapuntu *et al.*, 2014; Kabelen *et al.*, 2023). Kedua wilayah ini memiliki tekanan aktivitas manusia yang rendah, sehingga ideal untuk pengembangan budidaya dan konservasi teripang. Berdasarkan potensi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi karakter molekuler *H. scabra* dari Pulau Buaya dan Pulau Seraya menggunakan pendekatan DNA *barcoding* pada gen COI. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah sebagai dasar pengelolaan budidaya dan konservasi teripang pasir secara berkelanjutan di Indonesia.

## METODOLOGI

### Waktu dan Tempat

Lokasi penelitian bertempat di Pulau Buaya di Alor dan Pulau Seraya di Labuan Bajo. Identifikasi molekuler dilakukan di Laboratorium Yayasan Biodiversitas Indonesia (BIONESIA). Jangka waktu penelitian ini adalah bulan Agustus sampai dengan Desember 2024.

### Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan, Hand gloves, Infrared sterilizer, Cawan petri, Pinset, Mikropipet dan tips, Tube, Tray tube, Mesin Vortex, Mesin Sentrifuge, Heating Block, Beaker glass, Microwave, Kamera Handphone, Mesin Thermocycler, Timbangan Digital, Mesin Elektroforesis, Blue light Transiluminator, Teripang pasir

(*Holothuria scabra*), Etanol 96%, Bleach, Aquades, ddH<sub>2</sub>O, DNeasy Blood and Tissue-Kit, Primer forward- CeF (5'-ACTGCCCACGCCCTAGTAATGATATTT TTTATGGTNATGCC-3') dan reverse-CeR (5'-TCGTGTGTCTACGTCCATTCCTACTGT RAACATRTG-3'), Sodium Borate Buffer (SB Buffer), Bubuk agarose, HyperLadder™ 100bp, GelRed® Nucleic Acid Gel Stain-Biotium dan DNA Gel Loading Dye.

### Metode

Metode pengambilan sampel dilakukan secara jelajah saat air laut surut, yaitu dengan menyisir daerah intertidal yang merupakan habitat alami teripang pasir. Pada masing-masing pulau, pengambilan dilakukan di dua sisi pantai yang berbeda baik di bagian Utara dan Selatan maupun Timur dan Barat. Di setiap pulau yaitu Pulau Buaya Alor dan Pulau Seraya Labuan Bajo diambil dua sampel teripang secara utuh. Setelah ditemukan, sampel teripang dikoleksi dan dimasukkan ke dalam plastik sampel yang telah berisi etanol 96% untuk menjaga integritas DNA. Pengambilan jaringan dilakukan dengan memotong sebagian kecil bagian tubuh (jaringan daging dan kulit) menggunakan

gunting steril. Potongan jaringan kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube berisi etanol 96% dengan menggunakan pinset steril untuk keperluan identifikasi genetik dengan pendekatan DNA *barcoding* (Kautsari *et al.*, 2024). Proses ini dilakukan dengan mengikuti protokol standar untuk mencegah kontaminasi dan degradasi DNA. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium untuk melalui proses ekstraksi DNA dengan menggunakan metode Qiagen metode ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu 1. Lisis Sel, 2. Binding DNA ke kolom Silika, 3. Pencucian dan 4. Elusi DNA, Metode Real-Time PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan tahapan, 1. Denaturasi, 2. Annealing dan 3. Ekstension, Metode elektroforesis Data *sequence* DNA dari proses *sequencing* diperiksa dan diedit menggunakan perangkat MEGA XI (Kumar *et al.*, 2018). Urutan DNA disejajarkan dengan ClustalW vers. 1.4 (Thompson *et al.*, 1994). Pola dan tingkat substitusi dilakukan dengan model parameter-2 Kimura (1980). Identifikasi DNA *barcoding* dilakukan dengan membandingkan *sequence* sampel dengan data *sequence* di database, yaitu menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Altschul *et al.*, 1990).



**Gambar 1.** Pulau Buaya Alor



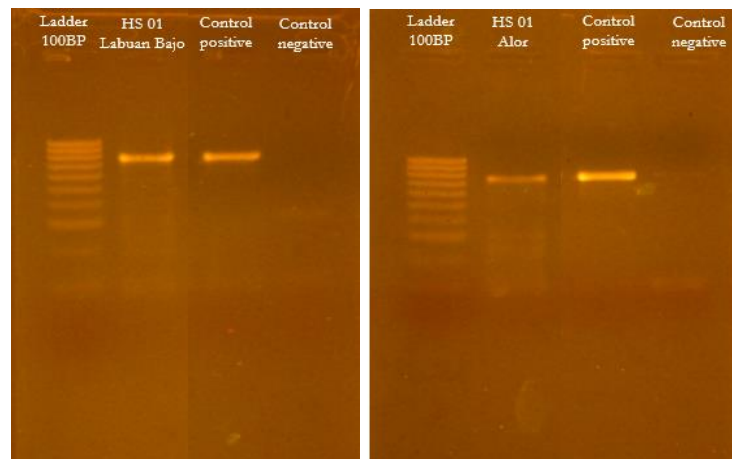
**Gambar 2.** Pulau Seraya Labuan Bajo

## HASIL DAN PEMBAHASAN

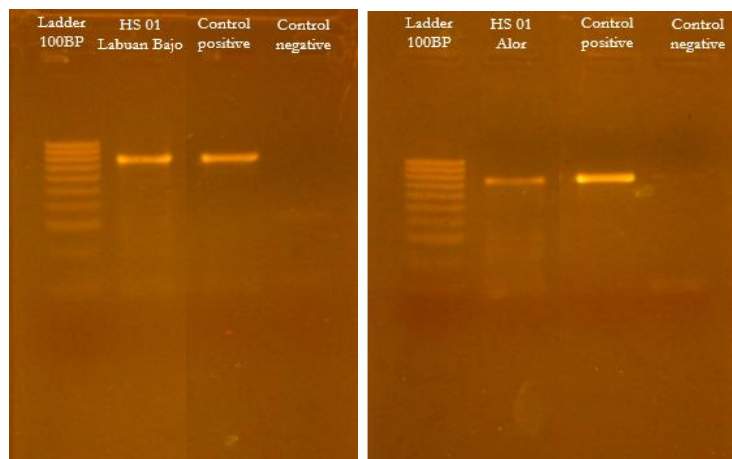
### Hasil Amplifikasi Gen COI Dengan Gel Agarose 1%

Setiap sampel yang diamplifikasi menggunakan teknik DNA barcoding

menunjukkan adanya pita DNA pada hasil PCR. Merujuk pada Gambar 1 dan 2, pita DNA dapat ditemukan pada lokasi panjang ampikon, yaitu sekitar 600-700 pasangan basa (*base pair*) yang diukur dengan membandingkan panjang DNA dengan *hyperladder* 100 pasangan basa.



**Gambar 3.** Hasil amplifikasi gen COI sampel HS 01 Labuan Bajo dan HS 01 Alor dengan gel agarose 1%



**Gambar 4 .** Hasil amplifikasi gen COI sampel HS 02 Labuan Bajo dan HS 02 Alor dengan gel agarose 1%.

Setelah visualisasi berhasil dan adanya pita DNA dalam temuan elektroforesis, produk hasil PCR dikirimkan ke *sequencing facility* yang bertempat di Perusahaan Genetika Science Indonesia dengan Mesin Next Generation Sequencer (NGS) kemudian diedit dan dialignment Menggunakan MEGA XI, berkas dimodifikasi setelah menerima sekuens dari fasilitas sekuensing. Berkas Ab1 yang berisi elektroferogram sekuens DNA adalah format yang digunakan untuk memperoleh hasil sekuensing dari fasilitas sekuensing. Menurut Kumar dkk. (2018), elektroferogram menampilkan sekuens DNA sebagai "peak" atau puncak diagram

keempat nukleotida—A, C, G, dan T yang diwakili oleh warna berbeda.

#### Hasil Analisis BLAST NCBI Gen COI

Berdasarkan hasil analisis pada BLAST NCBI didapatkan hasil bahwa Empat (4) sampel teripang yang didapatkan di Pulau Buaya Alor dan Pulau Seraya Labuan Bajo merupakan spesies *Holothuria scabra* (teripang pasir). Sampel teripang HS 01 Labuan Bajo dan HS 01 Alor dengan nilai *query cover* 99%, nilai *percent identity* 99.12%, panjang basa nukleotida 683 *base pair* pada *accession number* NC\_027086.1. Sampel teripang HS 02 Labuan Bajo dengan nilai *query cover* 99%, nilai *percent*

identity 99.12%, panjang basa nukleotida 683 *base pair* pada *accession number* NC\_027086.1. Serta Sampel teripang HS 02 Alor dengan nilai *query cover* 99%, nilai *percent identity* 99.12%, panjang basa nukleotida 683 *base pair* pada *accession number* NC\_027086.1.

Hasil analisis pada BLAST NCBI juga menunjukkan data teripang lainnya yaitu, spesies *Holothuria atra* dengan nilai *query cover* 98%, nilai *percent identity* 82.74%, panjang basa nukleotida 666 dan 677 *base pair* pada *accession number* OP898058.1 dan OP898051.1. Spesies *Holothuria fuscopunctata* dengan nilai

*query cover* 99%, nilai *percent identity* 83.33% dan 83.21%, panjang basa nukleotida 680 dan 678 *base pair* pada *accession number* EU848273.1 dan EU848274.1. Spesies terakhir yang digunakan sebagai data *out group* yaitu spesies *Psolus dubiosus* dengan nilai *query cover* 95%, nilai *percent identity* 82.39%, panjang basa nukleotida 652 *base pair* pada *accession number* HM196601.1. *Out group* berfungsi sebagai titik perbandingan untuk *in group* serta merupakan spesies yang paling jauh hubungannya dengan spesies lainnya

Tabel 1. Hasil analisis BLAST NCBI Gen COI dari Spesies *Holothuria scabra* Lokasi Pulau Buaya Alor dan Pulau Seraya Labuan Bajo.

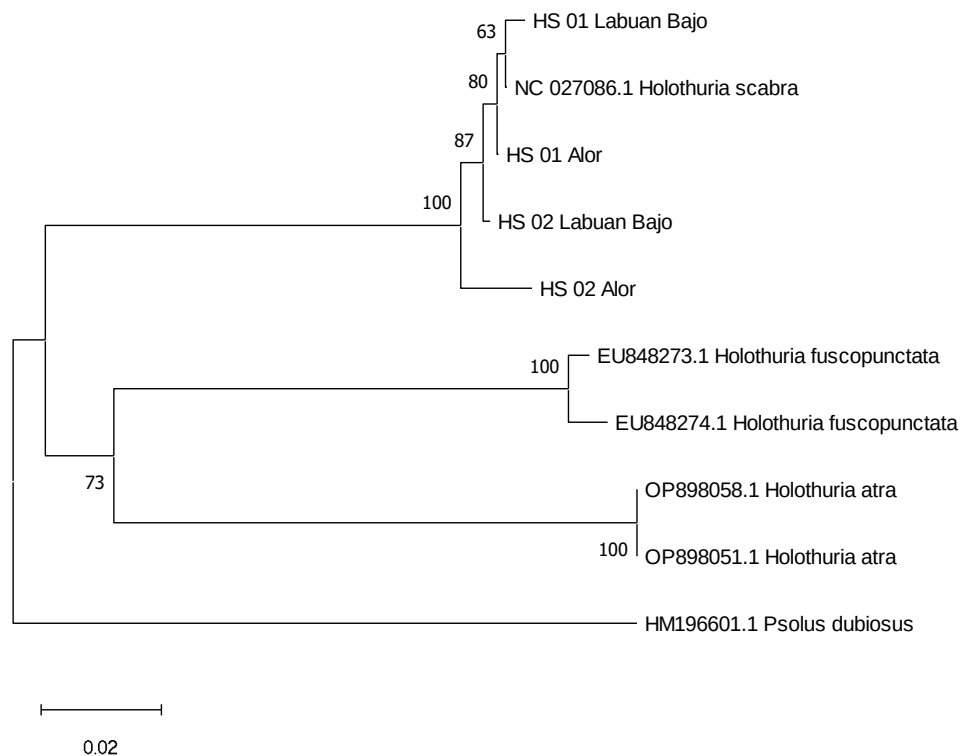
| No | Scientific Name          | Query Cover | Percent Identity | Acc Len | Accession   |
|----|--------------------------|-------------|------------------|---------|-------------|
| 1  | <i>Holothuria scabra</i> | 99%         | 99.12%           | 683     | NC_027086.1 |
| 2  | <i>Holothuria scabra</i> | 99%         | 99.12%           | 683     | NC_027086.1 |
| 3  | <i>Holothuria scabra</i> | 99%         | 99.12 %          | 683     | NC_027086.1 |
| 4  | <i>Holothuria scabra</i> | 99%         | 99.12 %          | 683     | NC_027086.1 |

Keterangan tabel : Acc Len = *Accession Length* (Jumlah/Panjang Nukleotida)

### Hasil Rekonstruksi Pohon Filogenetik

Hasil analisis pohon filogenetik diedit menggunakan metode *Neighbour-joining tree* dengan pengulangan 1000 kali. Metode NJ digunakan karena metode ini merupakan metode rekonstruksi pohon filogenetik yang paling sederhana. Pohon filogenetik digunakan dalam analisis data untuk menggambarkan hubungan evolusi antara spesies. Pohon filogenetik dibangun dengan membandingkan dan mengontraskan sekuens DNA. Ketika membandingkan sampel yang memiliki hubungan kekeluargaan yang kuat, pendekatan ini sering digunakan. Dalam sebuah studi (Lemey *et al.*, 2019). Pohon filogenetik

mendukung gagasan bahwa temuan BLAST selaras dengan sifat klade atau cabang yang dibentuknya. Nilai similaritas yang lebih besar menunjukkan penempatan yang lebih dekat dalam percabangan pohon filogenetik, yang didasarkan pada jumlah urutan nukleotida yang identik (Lai *et al.*, 2013). Teripang yang dikumpulkan dari Labuan Bajo dan Alor diidentifikasi sebagai *Holothuria scabra*, menurut temuan rekonstruksi pohon filogenetik (nilai bootstrap 1000). Karena posisi filogenetik yang sama pada cabang pohon yang sama, spesies ini sangat erat hubungannya dengan *Holothuria scabra* (*accession number* NC027086.1).



**Gambar 3.** Rekonstruksi pohon filogenetik sampel dengan menggunakan primer CeF dan CeR.

Pada pohon ini, *clade* (cabang) yang mengelompokkan sampel *Holothuria scabra* dari Pulau Buaya (Alor) dan Pulau Seraya (Labuan Bajo) dengan sekuen referensi *H. scabra* (NC027088.1) memiliki nilai bootstrap yang bervariasi, mulai dari 63 hingga 1000. Nilai 63 menunjukkan dukungan lemah hingga sedang terhadap hubungan antara sampel HS 01 Labuan Bajo dan referensi *H. scabra*, sedangkan nilai 80 pada node berikutnya mengindikasikan hubungan kekerabatan yang cukup kuat dengan sampel HS 01 Alor. Node yang mencakup seluruh sampel dari kedua lokasi menunjukkan nilai bootstrap 1000, menandakan dukungan sangat kuat bahwa semua sampel tersebut termasuk dalam kelompok spesies yang sama, yaitu *Holothuria scabra*. Selain itu, pasangan sekuen dari spesies lain seperti *H. atra* dan *H. fuscopunctata* juga menunjukkan nilai bootstrap 1000, memperkuat validitas identifikasi spesies dan kekerabatan mereka. Secara

keseluruhan, nilai bootstrap yang tinggi pada sebagian besar node menunjukkan bahwa analisis filogenetik ini memiliki tingkat keandalan yang baik dan mendukung identifikasi spesies berdasarkan DNA *barcoding*.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah diuraikan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa, studi identifikasi teripang pasir dari Pulau Buaya, Alor dan Pulau Seraya, Labuan Bajo menggunakan DNA *barcoding* pada lokus COI (*Cytochrome Oxidase I*), menghasilkan urutan 683 pasangan basa. Pohon filogenetik mengungkapkan empat pengelompokan atau klade yang berbeda. Sampel penelitian didukung oleh nilai bootstrap yang tinggi sebesar 100 dan ditemukan dalam satu klade dengan spesies

*Holothuria scabra* dalam percabangan pohon filogenetik.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melebarkan jaungkauan stasiun di wilayah Pulau Buaya Alor dan Pulau Seraya Labuan Bajo untuk mengetahui keanekaragaman teripang pasir (*Holothuria scabra*) lebih banyak dan Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keanekaragaman spesies teripang menggunakan metode genetik lainnya di Pulau Buaya Alor dan Pulau Seraya Labuan Bajo.

### DAFTAR PUSTAKA

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *Journal Of Molecular Biology*, 215(3), 403-410.
- 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), e0274245.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S., & deWaard, J.R. 2003. Biological Identifications through DNA Barcodes. *Proceeding Biological Sciences Royal Society London B*, 270, 313-21.
- Kabelen, A. S., Oedjoe, M. D. R., & Yulianus, L. (2023). Pertumbuhan Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) yang Dipelihara pada Substrat yang Berbeda. *JURNAL VOKASI ILMU-ILMU PERIKANAN (JVIP)*, 4(1), 36-41.
- Kautsari N, Suleman, Djonu A, Valen FS. 2024 DNA Barcoding and Phylogenetic of Lollyfish, *Holothuria atra* (Jaeger, 1833) (Actinopoda: Holothuriidae), from Tablolong Beach, Kupang, East Nusa Tenggara, Indonesia. *AACL Bioflux.* ;17(1):1–12.
- Kritsanapuntu. S., Chaitanawisuti, N., Phopphet, S., 2014. Field Observations of Shallowwater Sea Cucumbers in Gulf of Thailand and Andaman Sea. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)* ISSN: 2220- 6663 (Print) 2222-3045.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Lai, W. H., Loo, S. S., Rahmat, N., Shaharuddin, S., Daud, F., Zamri, Z., & Saleh, N. M. (2013). Molecular Phylogenetic Analysis Of Wild Tiger's Milk Mushroom (*Lignosus rhinocerus*) Collected From Pahang, Malaysia and Its Nutritional Value and Toxic Metal Content. *International Food Research Journal*, 20(5).
- Lai, W. H., Loo, S. S., Rahmat, N., Shaharuddin, S., Daud, F., Zamri, Z., & Saleh, N. M. (2013). Molecular Phylogenetic Analysis of Wild Tiger's Milk Mushroom (*Lignosus Rhinocerus*) Collected from Pahang, Malaysia and Its Nutritional Value and Toxic Metal Content. *International Food Research Journal*, 20(5).
- Oedjoe, M. D. R., & Eoh, C. B. (2015). Diversity of sea cucumber (Echinodermata: Holothuroidea) in Sabu Raijua Waters, Sabu Island, East



Nusa Tenggara. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 7(1).

Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-Joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425.

Sanjeewa, 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. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 26(2), 69-86.

Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: Improving The Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673-4680.

Wirawati, I., Setyastuti, A., dan Purwati, P. 2019. Timun Laut dari Perairan Dangkal Indonesia. Jakarta: Media Sains Nasional, 93 hlm.