

APLIKASI DNA *BARCODING* DAN DNA *METABARCODING* UNTUK IDENTIFIKASI SPONS LAUT DI SELAT DAMPIER

SITI ZANUBA AISYAH



**PROGRAM MAGISTER ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Aplikasi DNA *Barcoding* dan DNA *Metabarcoding* untuk Identifikasi Spons Laut di Selat Dampier” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2024

Siti Zanuba Aisyah
C5501231037



RINGKASAN

SITI ZANUBA AISYAH. Aplikasi DNA *Barcoding* dan DNA *Metabarcoding* untuk Identifikasi Spons Laut di Selat Dampier. Dibimbing oleh BEGINER SUBHAN, NEVIATY P. ZAMANI, dan NI KADEK DITA CAHYANI.

Identifikasi spesies dapat dilakukan dengan berbagai metode diantaranya adalah dengan pengamatan morfologi dan pendekatan molekuler. Sifat plastisitas dari morfologi spons menyebabkan biota ini menantang untuk diidentifikasi. Upaya identifikasi dengan pendekatan molekuler dapat menjadi salah satu alternatif dalam kajian spons. Penelitian ini berujuan untuk mengidentifikasi spons dari sampel yang tidak utuh dengan pendekatan DNA *barcoding* dan DNA *metabarcoding*. Sampel spons yang diambil adalah sampel dengan tampak morfologi luar yang berbeda. Identifikasi dengan pendekatan molekuler dimulai dari ekstraksi DNA spons dan dilanjutkan dengan amplifikasi DNA. Analisis DNA *barcoding* menggunakan primer LCO 1490 dan HCO 2198, sedangkan analisis DNA *metabarcoding* menggunakan primer mlCOIintf dan dgHCO2198 yang menargetkan gen *Cytochrome Oxidase Subunit I* (COI). Produk PCR kemudian dielektroforesis dan kualitas pita DNA yang baik akan dilanjutkan pada tahap sekuensing. Analisis genetik dengan metode DNA *barcoding* mendeteksi 4 jenis yaitu *Halichondria* sp., *Stylissa carteri*, *Xestospongia deweerdtiae*, dan *Theonella* sp. dari 5 sampel yang teramplifikasi. Analisis DNA *metabarcoding* mendeteksi sebanyak 138 *Operational Taxonomic Units* (OTUs) dan 65.884 *reads* atau sekuen yang terdiri dari tiga kelompok yakni kelompok eukariot, kelompok bakteri, dan kelompok yang tidak teridentifikasi secara taksonomi (*unassigned*). Sampel spons pada penelitian ini dapat diidentifikasi dengan pendekatan DNA *barcoding* dan DNA *metabarcoding*. Penggunaan primer yang berbeda menyebabkan adanya perbedaan biota yang terdeteksi. Identifikasi spons dengan metode DNA *barcoding* menghasilkan taksonomi hingga tingkat spesies. Penggunaan metode DNA *metabarcoding* dapat mendeteksi tujuh genus spons serta memungkinkan deteksi spons jenis lain yang tidak terdeteksi dengan DNA *barcoding*. Genus spons yang terdeteksi pada analisis ini menggunakan metode molekuler diantaranya genus *Agelas*, *Paratetilla*, *Pseudoceratina*, *Haliclona*, *Theonella*, *Halichondria*, *Xestospongia* dan dua spesies diantaranya *Xestospongia deweerdtiae* dan *Stylissa carteri*. Penerapan kedua metode ini juga sama-sama mendeteksi DNA non-target atau DNA selain spons. Rekomendasi untuk penelitian selanjutnya yakni preservasi yang lebih baik, dan penggunaan primer yang lebih spesifik.

Kata kunci: DNA *barcoding*, DNA *metabarcoding*, Porifera



SUMMARY

SITI ZANUBA AISYAH. The Application of DNA Barcoding and DNA Metabarcoding for Marine Sponges Identification in Dampier Strait. Supervised by BEGINER SUBHAN, NEVIATY P. ZAMANI, dan NI KADEK DITA CAHYANI.

Species identification can be done by various methods including morphological observations and molecular approaches. The plasticity of morphological characteristics makes the biota challenging to identify. Identification with molecular approaches can be an alternative in overcoming this. This study aims to identify sponges from sponge samples with DNA barcoding and DNA metabarcoding approaches. Sponge samples were taken with different external morphology. Identification with molecular approach starts from sponge DNA extraction and continues with DNA amplification. DNA barcoding analysis used primers LCO 1490 and HCO 2198, while DNA metabarcoding analysis using primers mlCOIintf and dgHCO2198 primers targeting on the Cytochrome Oxidase Subunit I (COI) gene. The PCR products are then electrophoresed and good quality DNA bands will continue at the sequencing stage. Genetic analysis with DNA barcoding method detected 4 species such as *Halichondria* sp., *Stylissa carteri*, *Xestospongia deweerdtiae*, and *Theonella* sp. out of 5 samples amplified. DNA metabarcoding analysis detected a total of 138 Operational Taxonomic Unit (OTUs) and 65.884 reads or sequences of three groups namely eukaryote group, bacteria group, and taxonomically unidentified group (unassigned). Sponge samples in this study can be identified by DNA barcoding and DNA metabarcoding. The use of different primers causes differences in the biota detected. Identification of sponges using the DNA barcoding method can produced taxonomy to the species level. The use of DNA metabarcoding method can detected seven genera of sponges and allows detection of other types of sponges, that are not detected with DNA barcoding method. The genus of sponges detected in this analysis using molecular method include the genus *Agelas*, *Paratetilla*, *Pseudoceratina*, *Haliclona*, *Theonella*, *Halichondria*, *Xestospongia*, and two species including *Xestospongia deweerdtiae* and *Stylissa carerti*. The application of these two methods both detect non-target DNA or DNA other than sponges. Recommendations for future research include better preservation and the use of more specific primers.

Keywords: DNA barcoding, DNA metabarcoding, Porifera



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024 Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

APLIKASI DNA *BARCODING* DAN DNA *METABARCODING* UNTUK IDENTIFIKASI SPONS LAUT DI SELAT DAMPIER

SITI ZANUBA AISYAH

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Kelautan

**PROGRAM MAGISTER ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Dr. Meutia Samiera Ismet, S.Si., M.Si.
2. Dr. Rastina, S.T., MT



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Disertasi : Aplikasi DNA *Barcoding* dan DNA *Metabarcoding* untuk Identifikasi Spons Laut di Selat Dampier
Nama : Siti Zanuba Aisyah
NIM : C5501231037

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Beginer Subhan, S.Pi., M.Si

Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Neviaty Putri Zamani, M.Sc

Pembimbing 3:
Ni Kadek Dita Cahyani, Ph.D

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Dr. Ir. Yuli Naulita, M.Si
NIP. 196607121991032003

Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan:
Prof. Dr. Ir. Fredinan Yulianda, M.Sc
NIP. 196307311988031002

Tanggal Ujian: 28 Juni 2024

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Desember 2023 sampai bulan Januari 2024 ini ialah genetika kelautan, dengan judul “Aplikasi DNA *Barcoding* dan DNA *Metabarcoding* pada Identifikasi Spons Laut di Selat Dampier”.

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini, diantaranya:

1. Bapak Dr. Beginer Subhan, S.Pi., M.Si. selaku ketua komisi pembimbing yang telah memberikan bimbingan selama proses pengerjaan dan kesempatannya tergabung dalam penelitian ini
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Neviaty P. Zamani, M.Sc selaku anggota pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi, dan saran selama proses pengerjaan tesis ini
3. Ibu Ni Kadek Dita Cahyani, Ph.D. selaku anggota pembimbing II yang senantiasa sabar dalam memberikan ilmu, arahan, dan bimbingan selama proses pengerjaan tesis ini
4. Ibu Dr. Meutia Samira Ismet, S.Si., M.Si. selaku dosen GKM yang telah memberikan banyak ilmu
5. Riset Kolaborasi Institusi PTNBH 2022 dan Hibah Ekspedisi dan Eksplorasi Gelombang II 2022 yang telah memberikan kesempatan dan kepercayaan untuk turut serta dalam penelitian ini
6. Bapak Sutrisno, Ibu Rohyati dan Kakak Siti Ulfatul Hidayati yang telah mendidik, memberi dukungan, doa serta semangat
7. PT. Oceanogen Baruga Indonesia sebagai laboratorium untuk pengolahan data beserta seluruh staf yang telah membantu proses penyelesaian tesis ini
8. Segenap staf Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro yang telah memfasilitasi dalam pengolahan data, memberi bantuan dan ilmu selama proses penyelesaian tesis ini
9. Teman-teman Pascasarjana Ilmu Kelautan angkatan 2022 yang telah menemani, memberi semangat, dan doa selama menempuh pendidikan S2
10. Teman-teman Pascasarjana Ilmu Kelautan angkatan 2023, khususnya Alda Awayan Banjarsari dan Jean de Soysa yang telah memberikan dukungan, semangat, dan doa.
11. Sahabat saya Naurotul Husna yang senantiasa mendukung, mendengarkan, dan menemani saya selama menempuh pendidikan di IPB dari S1 hingga S2.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan dalam penulisan dan penyelesaian tesis ini. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2024

Siti Zanuba Aisyah



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	x
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
II METODE	4
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Prosedur Kerja	5
2.3.1 Pengambilan Sampel	5
2.3.2 Preparasi Sampel	5
2.3.3 Analisis Laboratorium	5
2.4 Analisis data	7
III HASIL DAN PEMBAHASAN	8
3.1 Biota Terdeteksi DNA <i>Metabarcoding</i>	8
3.2 Biota Spons Terdeteksi DNA <i>Metabarcoding</i>	11
3.3 DNA <i>Barcoding</i>	14
3.4 Taksa non-target pada metode DNA <i>Barcoding</i>	16
3.5 Hasil Akhir Deteksi Spons	18
IV SIMPULAN DAN SARAN	24
4.1 Simpulan	24
4.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	32



@Hak cipta milik IPB University

DAFTAR GAMBAR

1	Lokasi pengambilan sampel spons di Perairan Selat Dampier, Raja Ampat	4
2	Visualisasi hasil biota yang terdeteksi tingkat filum	9
3	Visualisasi hasil biota yang terdeteksi pada tingkat kelas	11
4	Hasil visualisasi tingkat genus pada spons yang terdeteksi pada sampel DNA <i>metabarcoding</i>	12
5	Tipe spikula pada sampel yang terdeteksi sebagai spons	16

DAFTAR TABEL

1	Hasil identifikasi spons menggunakan BLAST pada sampel DNA <i>barcoding</i>	14
2	Hasil identifikasi sampel DNA <i>barcoding</i>	18
3	Hasil deteksi dengan 3 metode pengamatan spikula, DNA <i>barcoding</i> , dan <i>metabarcoding</i>	18

DAFTAR LAMPIRAN

1	Syntax pengolahan data dengan QIIME2	32
2	Proses visualisasi data dengan Rstudio	33
3	Visualisasi hasil deteksi DNA <i>metabarcoding</i> pada tingkat ordo	35
4	Visualisasi hasil deteksi DNA <i>metabarcoding</i> pada tingkat famili	36
5	Visualisasi hasil deteksi DNA <i>metabarcoding</i> pada tingkat genus	37

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.