

KAJIAN MORFOMETRI DAN MOLEKULER IKAN SELAR MATA BESAR (OCI) DAN IKAN SELAR MATA KECIL (TUDE) YANG DI DARATKAN DI PELABUHAN PERIKANAN SAMUDERA BITUNG

Heru Santoso, Nova Tumanduk, Hetty Ondang, Rudi Saranga

**Politeknik Kelautan dan Perikanan Bitung
Jl. Tandurusa, Po Bok 12 BTG/Bitung Sulawesi Utara**

Abstract

Travellies resources which landed at Bitung Oceanic Fishing Port is one of important fish capture in Bitung because its have economic value and second ratings after scad mackerel in product volume. Travellies usually mixed with another species in fisherman fish capture, so it was made difficult to distinguish clearly. The objective of this research are : 1) to indentification bigeye scad in morfology, 2) to analyze molecular bigeye scad, (3) to evidence the bigeye scad are the same species or not. Sample for the study were collected fish landing site at Bitung Ocean Fishing Port from December 2015 to March 2016. The methodology of the research is survey research. For data analysis using truss morfometrics, hierarchical cluster, principal component analysis (PCA) and DNA-COI analysis. The result of this research indicated that based on the analysis of morphometric characters and PCA, bigeye scad and smalle eye scad have differences in morphology, but result of mt DNA-COI analysis indicated those species are the same as Selar crumenophthalmus with similarity value 99,67%.

Keywords : travellies, morphometric, DNA-COI

1. Pendahuluan

Potensi sumberdaya perikanan pelagis kecil di perairan sekitar Bitung selama ini telah dimanfaatkan dalam berbagai kegiatan ekonomi, dimana kegiatan yang dominan adalah usaha perikanan tangkap baik skala besar, kecil maupun tradisional. Salah satu sumberdaya perikanan yang memiliki nilai ekonomis penting di perairan sekitar Bitung adalah ikan selar. Volume produksi ikan selar di Kota Bitung tahun 2013 mencapai 1.223,5 ton atau sebesar 21,59% dari total volume produksi ikan selar di Provinsi Sulawesi Utara yakni sebesar 5.667,70 ton [1].

Total hasil tangkapan ikan selar tahun 2014 yang didaratkan di Pelabuhan Perikanan Samudera (PPS) Bitung mencapai 704.627 ton dengan nilai produksi Rp. 13.671.743.000 [2]. Perikanan selar di perairan sekitar Bitung menjadi sangat penting karena memberikan nilai ekonomi yang cukup besar dalam sektor perikanan, sosial dan ekonomi bagi masyarakat Kota Bitung.

Ikan selar yang tertangkap di perairan sekitar Bitung yang didaratkan di PPS Bitung, sampai saat ini belum dikonfirmasi secara morfologi dan genetik, sehingga muncul pemberian nama lokal oleh masyarakat Bitung yang diduga tidak sesuai

dengan nomenklatur yang berlaku. Kelompok selar menurut standar klasifikasi statistik jenis ikan perikanan laut yang diterbitkan oleh Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap terdiri dari 2 kelompok, yakni kelompok selar dan bentong.

Kelompok selar terdiri 1 (satu) spesies yakni *Selaroides leptolepis*, sedangkan kelompok bentong terdiri dari 2 (dua) spesies yakni *Selar crumenophthalmus* dan *Selar boops* [3][4]. Ikan selar termasuk spesies pelagis kecil yang beruaya disekita perairan pantai sampai pada kedalaman 80 m dan hidup bergerombol [5].

Dalam laporan statistik yang diterbitkan oleh PPS Bitung dan Dinas Kelautan dan Perikanan Bitung, pemberian nama ikan selar tidak merujuk kepada standar klasifikasi statistik jenis ikan perikanan laut yang diterbitkan oleh Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap, sehingga catatan hasil tangkapan ikan selar hanya dikelompokkan dalam satu jenis saja yakni kelompok selar. Hal ini tentunya dapat menyulitkan bagi manajemen pengelolaan stok ikan selar di perairan Bitung. Dengan adanya pemisahan jenis ikan hasil tangkapan yang jelas, dapat membantu dan

memudahkan bagi pendataan dan pelaporan yang lebih akurat.

Jenis ikan selar dan bentong yang tertangkap di perairan sekitar Bitung terdiri dari jenis selar mata besar (Oci), selar mata kecil (Tude), selar orange (Tude Batu), dan selar ekor kuning karang. Ada dua asumsi yang berkembang sampai saat ini di kalangan masyarakat Bitung terkait dengan ikan selar bentong yang tertangkap di perairan sekitar Bitung.

Asumsi yang pertama menyatakan bahwa kedua jenis ikan ini adalah spesies yang berbeda berdasarkan bentuk morfologinya, sedangkan asumsi yang kedua menyatakan meskipun bentuk morfologinya berbeda tetapi kedua ikan ini adalah jenis yang sama.

Berdasarkan perbedaan asumsi ini, maka penelitian ini dilakukan untuk membuktikan dan mengkonfirmasi kedua jenis ikan tersebut secara morfologi dan genetik, sehingga dapat diperoleh suatu pembuktian secara langsung yang dapat diterima oleh masyarakat berdasarkan fakta dan kajian secara ilmiah.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan dan Peralatan

Pengambilan sampel ikan selama penelitian dilakukan di Pelabuhan Perikanan Samudera Bitung, dari bulan Desember 2015 sampai bulan Maret 2016. Sampel ikan yang dikoleksi sebanyak 100 ekor.

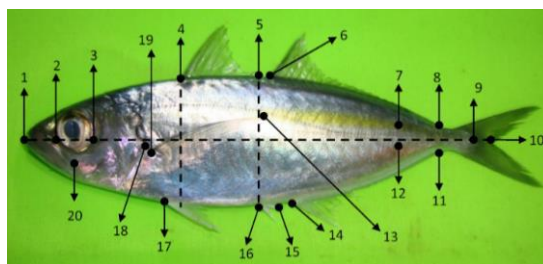
Untuk analisis DNA diambil bagian ekor ikan. Alat tangkap yang digunakan oleh nelayan adalah mini purse seine (soma pajeko) dan handline (noru). Pengukuran bagian tubuh ikan menggunakan mistar analog (30 + 0,1 cm) dan kaliper digital (20 cm + 0,01 mm); dokumentasi menggunakan kamera Canon EOS Kiss X7.

2.2. Analisis Data

Identifikasi karakter morfometrik (Gambar 1) menggunakan 20 tanda titik (landmark) dengan 19 truss morfometrik [6][7]. Analisis menggunakan hierarchical cluster dan principal component analysis (PCA) menggunakan program Excel dan SPSS 16.

Pengukuran karakter morfometrik (Gambar 1) meliputi panjang standar (SL) (tanda 1 dan 9), panjang cagak (FL) (tanda 1 dan 10), panjang kepala (HL) (1 dan 16), panjang mocong (SnL) (1 dan 2), panjang

ruang antar mata (OrD) (1 dan 2), panjang kepala di belakang mata (PoOrL) (3 dan 18), jarak dari mulut bagian depan sampai ujung depan sirip dorsal dasar (PrDoL) (1 dan 4), jarak ujung mulut sampai sirip perut bagian depan (PrPvL) (1 dan 17), jarak ujung mulut sampai ujung depan sirip dada (PrPcL) (1 dan 19), jarak pangkal terdapan sirip anal pertama sampai ujung akhir sirip anal pertama (LFIaFB) (16 dan 15), panjang antara pangkal terdapan sirip anal kedua sampai ujung terakhir sirip anal kedua (LSeAFB) (14 dan 11), jarak pangkal terdapan sirip anal pertama sampai ujung terakhir sirip anal kedua (ToLAFB) (tanda 16 dan 11), jarak pangkal sirip dada hingga ujung terpanjang dari sirip dada (PcFL) (19 dan 13), tinggi badan dorsal (DoBoD) (4 ke arah abdomen), tinggi badan anal (AnBoD) (5 dan 16), jarak bagian terdapan sirip dorsal pertama sampai ujung akhir sirip dorsal pertama (LFIaDFB) (4 dan 5), jarak bagian terdapan sirip dorsal kedua sampai ujung akhir sirip dorsal kedua (LSeDFB) (6 dan 8), jarak bagian terdapan sirip dorsal pertama sampai ujung terakhir sirip dorsal kedua (ToLDFB) (tanda 4 dan 8), jarak ujung mulut bagian terdapan dengan tulang rahang (JwL) (1 dan 20) dan lebar terbesar dari scute pada bagian dekat ekor (MaScW) (7 dan 12).



Gambar 1. Pengukuran morfometrik terhadap 20 tanda (landmark) pada tubuh ikan sampel

Proses ekstraksi DNA menggunakan metode [8], primer untuk amplifikasi PCR [9][10], ekstraksi gel agarosa dilakukan oleh Firstbase Malaysia. Peneditan hasil sekuensing menggunakan BioEdit [11] dan penentuan komposisi nukleotida dianalisis dengan Mega6 [12]. Identifikasi spesies secara online menggunakan data genbank melalui NCBI (*National Center for*

Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) dengan berbagai kode akses dengan metode BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [13]. Urutan DNA disejajarkan dengan metode Clustal-W vers. 1.4 [14].

Perbedaan komposisi nukleotida per sisi setiap sekuens menggunakan metode Kumar-Gadagkar [15]. Jarak genetik dianalisis menggunakan metode Kimura dua parameter dan pohon filogenetik menggunakan metode Maximum Likelihood berdasarkan model Tamura-Nei [12] serta rekonstruksi filogenetik menggunakan metode maximum-likelihood [16].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakter Morfologi dan Morfometrik

Hasil identifikasi morfologi terhadap ikan selar mata besar dan selar mata kecil (Tabel 1) menggunakan 20 karakter morfologi sebagai penciri utama, diperoleh informasi bahwa ikan selar mata besar dan selar mata kecil merupakan spesies yang berbeda, hal sesuai dengan asumsi pertama yang berkembang dikalangan masyarakat Bitung.

Ukuran yang dijadikan dasar asumsi tersebut adalah panjang tubuh dan diameter mata. Ikan selar mata besar (Oci) memiliki panjang tubuh dan diameter mata yang lebih besar dibandingkan dengan ikan selar mata kecil (Tude).

Karakter morfologi antara ikan selar mata besar dan selar mata kecil (Tabel 1) memiliki ukuran nilai yang berbeda, sehingga secara morfologi ke 2 jenis ikan ini dapat dikategorikan sebagai spesies yang berbeda tetapi masih dalam satu genus. Pengukuran karakter dapat digunakan sebagai penciri khusus dan hubungan variasi dalam suatu taksonomi kelompok ikan [17].

Adanya perbedaan variasi karakter morfometrik (Tabel 2) pada ikan selar mata besar dan selar mata kecil diduga disebabkan oleh kondisi morfologis ikan. Pada suatu populasi ikan, variasi morfometrik dapat terjadi dan hal ini disebabkan oleh kondisi geografi yang berbeda sehingga dapat menyebabkan terjadinya perbedaan struktur genetik. Kondisi lingkungan serta faktor ekologi seperti lingkungan fisik tempat hidup spesies dan isolasi geografis, merupakan salah satu respon terhadap terjadinya sebaran dan variasi morfometrik [18][19][20].

Analisis Anova K-means cluster (Tabel 2) memberikan informasi bahwa terdapat 14 karakter morfologi yang berbeda (Sig.<0,05) yakni : 1). Panjang dasar sirip anal kedua; 2). Panjang total sirip dasar anal; 3). Panjang dasar sirip dorsal pertama; 4). Panjang dasar sirip dorsal kedua; 5). Panjang total sirip dasar dorsal; 6). Panjang sebelum sirip dada; 7). Panjang sebelum sirip dorsal; 8). Panjang sebelum sirip perut; 9). Tinggi badan anal; 10). Tinggi badan dorsal; 11). Lebar scute; 12). Diameter mata; 13). Panjang kepala dan; 14). Panjang standar. Sedangkan 5 karakter morfometrik yang tidak berbeda (Sig.>0,05) yakni : 1). Panjang moncong; 2). Panjang dibelakang mata; 3). Panjang dasar sirip anal pertama; 4). Panjang sirip dada; dan 5). Panjang rahang. Analisis hierarchical cluster (Gambar 3) memberikan informasi bahwa ikan selar mata besar (Oci) dan selar mata kecil (Tude) memiliki tingkat kekerabatan yang sangat dekat, sehingga diduga merupakan spesies yang sama atau merupakan sub genus. Prosentase perbedaan karakter morfologi sebesar 73,68% dan prosentase karakter morfologi yang memiliki kesamaan sebesar 26,32%.

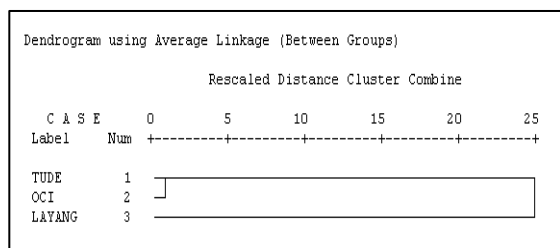
No. Karakter morfologi	Hasil pengukuran morfometrik (mm)	
	Oci	Tude
1. Panjang standar (<i>standard length</i>)	203.88 ± 9.44	149.14 ± 9.66
2. Panjang cagak (<i>fork length</i>)	212.92 ± 12.10	153.88 ± 10.57
3. Panjang kepala (<i>head length</i>)	64.62 ± 4.13	42.88 ± 4.24
4. Panjang moncong (<i>snout length</i>)	22.66 ± 1.99	15.00 ± 1.61
5. Panjang ruang antar mata (<i>orbital length</i>)	20.37 ± 1.37	12.62 ± 1.45
6. Panjang kepala di belakang mata (<i>post orbital length</i>)	25.24 ± 1.90	17.03 ± 1.70
7. Panjang pre-dorsal (<i>pre-dorsal length</i>)	77.11 ± 4.47	52.95 ± 4.47
8. Panjang pre-pelvic (<i>pre-pelvic length</i>)	71.45 ± 3.85	48.52 ± 3.89
9. Panjang pre-pectoral (<i>pre-pectoral length</i>)	63.57 ± 3.76	42.95 ± 4.00
10. Panjang dasar sirip anal pertama (<i>length of first anal fin base</i>)	11.08 ± 1.96	7.39 ± 1.91
11. Panjang dasar sirip anal kedua (<i>length of second anal fin base</i>)	64.55 ± 3.08	48.89 ± 6.21
12. Panjang total sirip dasar anal (<i>total length of anal fin base</i>)	75.86 ± 4.00	59.54 ± 3.81
13. Panjang sirip pektoral (<i>pectoral fin length</i>)	59.87 ± 3.92	38.10 ± 4.95
14. Tinggi badan maximum (<i>maximum body depth</i>)	54.34 ± 2.64	38.72 ± 3.28
15. Panjang dasar sirip dorsal pertama (<i>length of first dorsal fin base</i>)	31.95 ± 2.51	22.05 ± 4.17
16. Panjang dasar sirip dorsal kedua (<i>length of second dorsal fin base</i>)	73.57 ± 3.30	55.13 ± 5.44
17. Panjang total sirip dorsal (<i>total length of dorsal fin base</i>)	108.71 ± 4.89	80.65 ± 6.13
18. Tinggi badan dorsal (<i>dorsal body depth</i>)	53.05 ± 2.85	36.77 ± 3.33
19. Panjang rahang (<i>jaw length</i>)	28.22 ± 1.87	18.37 ± 2.07
20. Lebar scute maksimal (<i>maximum scute width</i>)	7.52 ± 0.34	6.04 ± 1.21

Identifikasi dan analisis morfologis menggunakan truss morfometrik memberikan informasi bahwa kedua jenis ikan ini memiliki bentuk yang berbeda, sehingga hal ini diduga menjadi salah satu asumsi masyarakat Bitung bahwa kedua jenis ikan merupakan spesies yang berbeda berdasarkan bentuk morfologisnya.

Tabel 2. Anova K-means cluster

	Cluster		Error		F	Sig.
	Mean Square	df	Mean Square	df		
Zscore(SL_FL)	3.014	2	.973	147	3.069	.048
Zscore(HL_SL)	40.961	2	.456	147	89.796	.000
Zscore(SnL_HL)	1.576	2	.992	147	1.587	.208
Zscore(DrD_HL)	8.160	2	.903	147	9.040	.000
Zscore(PoOrL_HL)	.175	2	1.011	147	.173	.841
Zscore(PiDol_SL)	26.425	2	.854	147	40.401	.000
Zscore(PiPvl_SL)	24.498	2	.680	147	36.011	.000
Zscore(PiPd_SL)	45.592	2	.393	147	115.910	.000
Zscore(LiAFB_HL)	.989	2	1.000	147	.989	.362
Zscore(LiSeAFR_SL)	60.488	2	.191	147	317.302	.000
Zscore(TolAFB_SL)	15.344	2	.805	147	19.065	.000
Zscore(PiFL_HL)	2.634	2	.970	147	2.694	.071
Zscore(AnBoD_HL)	41.105	2	.454	147	90.470	.000
Zscore(LFiDFB_SL)	21.425	2	.722	147	29.670	.000
Zscore(LSeDFB_SL)	53.651	2	.284	147	189.136	.000
Zscore(TolDFB_SL)	28.603	2	.624	147	45.804	.000
Zscore(DoBoD_HL)	29.721	2	.609	147	48.783	.000
Zscore(Jwl_HL)	.579	2	1.006	147	.575	.564
Zscore(MaScw_HL)	21.048	2	.895	147	35.038	.000

Hasil pemetaan nilai truss morfometrik dalam bentuk dendrogram (Gambar 3) menginformasikan dan mempertegas bahwa secara morfologi kedua jenis ikan selar ini memiliki perbedaan karakter morfologi, sehingga perlu dikonfirmasi secara genetik apakah memang kedua jenis ikan ini merupakan spesies yang sama atau berbeda.



Gambar 3. Dendrogram ikan selar mata besar (Oci), selar mata kecil (Tude) dan ikan layang (out group).

3.2. Identifikasi Genetik

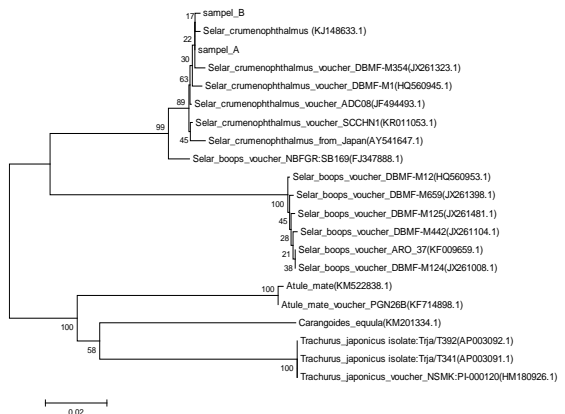
Analisis DNA-COI menggunakan panjang amplicon 662 bp dengan primer :
 FF2D: 5'-TTCTCCACCAACCACAARGAYATYGG-3'

FR1D: 5'-CACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARA A-3'.

Isolat yang disekuen berjumlah dua yakni spesies selar mata kecil (1st_BASE_2093949) dan selar mata besar (1st_BASE_2093950). Proses alignment dari kedua sekuen (680 bp) dengan metode BLAST menunjukkan hasil bahwa spesies selar mata kecil mempunyai nilai similaritas sebesar 99.83% dengan selar crumenophthalmus (KJ148633.1), sedangkan sampel selar mata besar mempunyai nilai similaritas sebesar 99.67% dengan selar crumenophthalmus (KJ148633.1) (Gambar 4). Sampel selar mata kecil dan selar mata besar mempunyai nilai similaritas sebesar 99.83%, sehingga dapat disimpulkan bahwa spesies selar mata kecil dan selar mata besar (Gambar 5) termasuk dalam satu spesies yang sama yakni spesies Selar crumenophthalmus.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa selar mata besar dan selar mata kecil yang dianggap sebagai spesies yang berbeda secara morfologi dan morfometrik, ternyata merupakan spesies yang sama.

Ikan selar mata kecil akan tumbuh dan berkembang menjadi dewasa sebagai ikan selar mata besar. Dengan adanya temuan ini, dapat memberikan pembuktian langsung terhadap dua asumsi yang berkembang di masyarakat Kota Bitung terkait dengan keberadaan ikan selar mata besar dan selar mata kecil di perairan sekitar Bitung.





Gambar 4. Rekonstruksi filogenetik (metode maksimum likelihood) dari sekuen ikan selar mata kecil (sampel_A) dan selar mata besar (sampel_B).



Gambar 5. Ikan selar mata besar (A) dan ikan selar mata kecil (B).

4. Kesimpulan

Ikan selar mata besar (Oci) dan selar mata kecil (Tude) sebagai hasil tangkapan ikan pelagis kecil yang tertangkap di perairan sekitar Bitung, memiliki perbedaan secara morfologi dan morfometrik, tetapi berdasarkan konfirmasi genetik melalui analisis DNA-COI memberikan informasi bahwa kedua jenis ikan ini merupakan spesies yang sama dengan nilai similitas yang cukup tinggi yakni 99,83%, sehingga kedua jenis ikan ini termasuk dalam jenis *Selar crumenophthalmus*

DAFTAR PUSTAKA

- [1]Dinas Perikanan dan Kelautan Kota Bitung. Laporan Tahunan Dinas Kelautan dan Perikanan Kota Bitung, 2014.
- [2]Pelabuhan Perikanan Samudera Bitung. Laporan Statistik. Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap. Kementerian Kelautan dan Perikanan. 41 hal, 2015.
- [3]Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap. Standar Klasifikasi Statistik Jenis Ikan Perikanan Laut. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 188 hlm, 2013.
- [4]Direktorat Jenderal Perikanan Tangkap. Keragaman Perikanan Tangkap Indonesia. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta, 2014
- [5]Froese, R & Pauly, D. Fish Base. October 2014 version. N.p.: FishBase, 2014. World Wide Web electronic publication (www.fishbase.org), 2014.
- [6]Wiadnya, D.G.R., D. Setyohadi, Widodo & Soemarno. Intra-species variations of *Photopectoralis bindus* (Family: Leiognathidae) collected from two geographical areas in East Java, Indonesia. JBES vol.6. No.1. p.160-168, 2015.
- [7]Syaifullah, S., H. Fajri, D.I. Roesma, & Z.A. Muchlisin. Morphometric variations of halfbeak fish (*Zenarchopterus buffonis*) from estuary of West Sumatra, Indonesia. AACL Bioflux, Volume 8, Issue 2, 2015.
- [8]Asahida, T., T. Kobayashi, K. Saitoh & I. Nakayama. Tissue Preservation and Total DNA Extraction from Fish Stored at Ambient Temperature Using Buffer Containing High Concentration of Urea. Fisheries Science 62 (5): 727-730, 1996.
- [9]Ward, R.D., T.S. Zemlak, B.H. Innes, P.R. Last & P.D.N. Hebert. DNA Barcoding Australia's Fish Species. Phil. Trans. R. Soc. B 360: 1847-1857, 2005.
- [10]Strauss, W. M. Preparation of genomic DNA from mammalian tissue, in Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., et al., eds.), John Wiley & Sons, New York, pp. 2.2.1–2.2.3, 1995.
- [11]Hall, T. H. BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acid Symposium Series 4: 95-98, 1999.
- [12]Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distances, and Maximum Parsimony Methods. Mol. Biol. Evol. 28 : 2731-2739, 2013.
- [13]Altschul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zang, Z. Zang, W. Miller & D.J. Lipman. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs.

- Nucleic Acids Research No.17:338-3402, 1997.
- [14]Thompson, L. H., K. W. Brookman, N. J. Jones, S. A. Allen & A. V. Carrano. Molecular cloning of the human XRCCI gene, which corrects defective DNA strand-break repair and sister chromatid exchange. *Mol. Cell. Biol.* 10:6160-6171, 1990.
- [15]Kumar, S. & S.R. Gadagkar. Disparity Index: A simple statistic to measure and test the homogeneity of substitution patterns between molecular sequences. *Genetics*, 158:1321–1327, 2001.
- [16]Milligan, B.G. Maximum-Likelihood Estimation of Relatedness. *Genetics* 163: 1153-1167, 2003.
- [17]Misra, R.K & M.D.L Easton. A note on the number of morphometric characters used in fish stock delineation studies employing a MANOVA. 711 Bay St., Apt 1115, Toronto, Ont., Canada M5G 2J8, International EcoGen, 2015 McLallen Court, North Vancouver, BC, Canada V7P 3H6. *Journal Fisheries Research* 42:191-194, 1999.
- [18]Tzeng, T-D., C-S Chiu, & S-Y Yeh. Morphometric Variation in Red-spot Prawn (*Metapenaeopsis barbata*) in Different Geographic Waters of Taiwan. Institute of Oceanography, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan ROC. *Journal Fisheries Research* 53: 211-217, 2000.
- [19]Naesje, T. F., J.A. Vourinen & O.T. Sandlund. Genetic and morphometric differentiation among sympatric spawning stocks of white fish (*Coregonus lavaretus* L.) in Lake Femund, Norway. *Journal of Limnology* 63(2):233-243, 2004.
- [20]Poulet, N., B. Patrick, J.C. Alain, L. Sovan L & A. Christine. Genetic and morphometric variations in the pikeperch (*Sander lucioperca* L.) of a Fragmented delta. *Arch. Hydrobiol.* 159(4):531–554, 2004.

