

## Pendekatan DNA Barcoding untuk Identifikasi *Cassidula angulifera* (Petit, 1841) (Moluska: Gastropoda)

*DNA barcoding approach to identification of Cassidula angulifera* (Petit, 1841)  
(Mollusca: Gastropoda)

Dandi Saleky<sup>1)\*</sup>, Sedy L. Merly<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan, Universitas Musamus, Indonesia

\*Korespondensi: dandi@unmus.ac.id

### ABSTRAK

Banyaknya spesies gastropoda yang memiliki kemiripan morfologi (*cryptic*) membuat kesalahan identifikasi sangat mungkin terjadi. Identifikasi spesies yang akurat sangat diperlukan dalam mempelajari bioekologi spesies. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *Cassidula* sp. yang dikoleksi dari Pantai Payum Merauke dengan teknik DNA *barcoding* menggunakan marka gen COI. Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah primer *forward* (LCO1490) dan primer *reverse* (HCO2198). Hasil identifikasi dengan DNA *barcoding*, spesies yang dianalisis adalah *Cassidula angulifera* dengan tingkat kemiripan 99.53 % dengan panjang sekuen DNA 650 bp. Rekonstruksi filogenetik memperlihatkan seluruh sekuen *Cassidula* sp. yang dianalisis terpisah berdasarkan jenis dan jarak genetik dengan nilai *bootstrap* yang tinggi. Rekonstruksi filogenetik *Cassidula* sp. membentuk kelompok monofiletik yang berarti spesies tersebut berasal dari tetua yang sama. DNA *barcoding* sangat baik dan akurat dalam mengidentifikasi spesies.

**Kata kunci:** *Cassidula angulifera*, *Criptic*, DNA *barcoding*, Filogenetik, Monofiletik

### ABSTRACT

A large number of gastropod species have similarities in morphology (*cryptic*) makes misidentification probably happen/occurred. Accurate species identification is needed in studying bioecology of species. This research aims to identify the species of *Cassidula* sp. Which was collected from Peyum Beach Merauke with DNA barcoding techniques using COI gene markers. The primers used in this study are *forward* primers (LCO1490) and *reverse* primers (HCO2198). The result of identification with DNA barcoding showed that the species analyzed was *Cassidula angulifera* with a 99.53% similarity level with a DNA sequence length of 650 bp. Phylogenetic reconstruction showing the entire sequence of *Cassidula* sp. which were analyzed separately based on the type and genetic distance with high bootstrap value. Phylogenetic reconstruction of *Cassidula* sp. form a monophyletic group, which means that the species come from the same ancestors. DNA barcoding is very good and accurate in identifying species.

**Keywords:** *Cassidula angulifera*, *Criptic*, DNA *barcoding*, *Philogenetic*, *Monophyletic*

### PENDAHULUAN

Gastropoda adalah salah satu kelompok invertebrata laut yang paling banyak dipelajari (Borges et al., 2016). Memiliki penyebaran yang sangat luas dari laut dalam sampai

pesisir (Saleky et al., 2019; Syahrial, 2019). Gastropoda memiliki berbagai peranan baik secara ekonomi maupun secara ekologi (Borges et al., 2016; Carlén & Olafsson, 2002). Banyaknya spesies gastropoda yang memiliki

kemiripan morfologi (*cryptic*) membuat kesalahan identifikasi spesies sangat mungkin terjadi (Bickford et al., 2007). Identifikasi spesies yang akurat dan benar sangat diperlukan dalam mempelajari bioekologi suatu spesies termasuk gastropoda laut (Galan et al., 2018). Identifikasi secara morfologi cukup sulit dilakukan karena banyak spesies yang hanya dapat diidentifikasi pada tahapan hidup tertentu saja (Gossner & Hausmann, 2009). Identifikasi dengan DNA *barcoding* selain dapat dilakukan pada berbagai tahapan kehidupan mulai dari fase larva sampai dewasa (Panprommin et al., 2019, 2020) tetapi juga pada spesimen hon hayati dan juga dapat menggunakan specimen feses, rambut atau bahan lainnya (Taberlet & Luikart, 1999).

Identifikasi dengan menggunakan DNA *barcoding* telah terbukti secara efektif mampu membedakan antar spesies secara akurat (Borges et al., 2016; Fuentes-López et al., 2020; Saleky et al., 2016). Metode taksonomi molekuler telah banyak digunakan untuk melengkapi pendekatan morfologi dalam identifikasi spesies dan dalam membangun hubungan filogenetik (Galan et al., 2018). Gen COI (*Cytochrome Oxidase Subunit I*) terdapat di dalam genom mitokondria. Salah satu gen ini umum dipakai dalam DNA *barcoding* (Wiradateti et al., 2016) yang berperan penting dalam produksi energi serta memiliki urutan pasang basa bersifat *conserve* (Suriana et al., 2019).

Gastropoda termasuk kelas moluska yang paling melimpah, yang menyebabkan seringkali terjadi masalah dalam taksonomi (Layton et al., 2014). Untuk itulah diperlukan identifikasi dengan teknik DNA *barcoding* yang telah terbukti efektif dalam mengidentifikasi berbagai spesies secara cepat dan akurat (Fuentes-López et al., 2020). Selain itu teknik DNA *barcoding* juga dilakukan untuk melengkapi teknik

identifikasi secara morfologi (Setiamarga et al., 2019). DNA *barcoding* telah dilakukan untuk mengidentifikasi berbagai spesies seperti udang air tawar (Purnamasari et al., 2016), berbagai jenis gastropoda (Leatemia et al., 2018; Saleky et al., 2020; Saleky et al., 2020) dan berbagai jenis ikan (Shirak et al., 2009).

Identifikasi molekuler pada berbagai spesies gastropoda pada ekosistem mangrove di Merauke belum pernah dilakukan sebelumnya yang mana identifikasi dengan DNA *barcoding* akan mempercepat pengungkapan spesies. Penelitian ini dilakukan dengan mengidentifikasi spesies gastropoda dengan DNA *barcoding* menggunakan gen COI. Gen COI secara luas telah digunakan dalam identifikasi berbagai spesies secara akurat dan efektif (Leatemia et al., 2018; Saleky et al., 2020). Data yang dihasilkan dapat menjadi dasar dalam mempelajari bioekologi dan pengelolaan spesies gastropoda.

## METODE PENELITIAN

### Koleksi sampel

Sampel dikoleksi dari Pantai Payum Kabupaten Merauke (Gambar 1) dengan cara koleksi bebas. Buku identifikasi gastropoda *Indonesian Shells I* (Dharma, 1988) dan *Recent & Fossil Indonesian Shell* (Dharma, 2005) digunakan untuk mengidentifikasi sampel berdasarkan karakter morfologi. Sampel jaringan (*tissue*) untuk analisis DNA diambil dari jaringan kaki perut gastropoda kemudian disimpan dan diawetkan menggunakan etanol 96% sampai digunakan untuk analisis DNA.

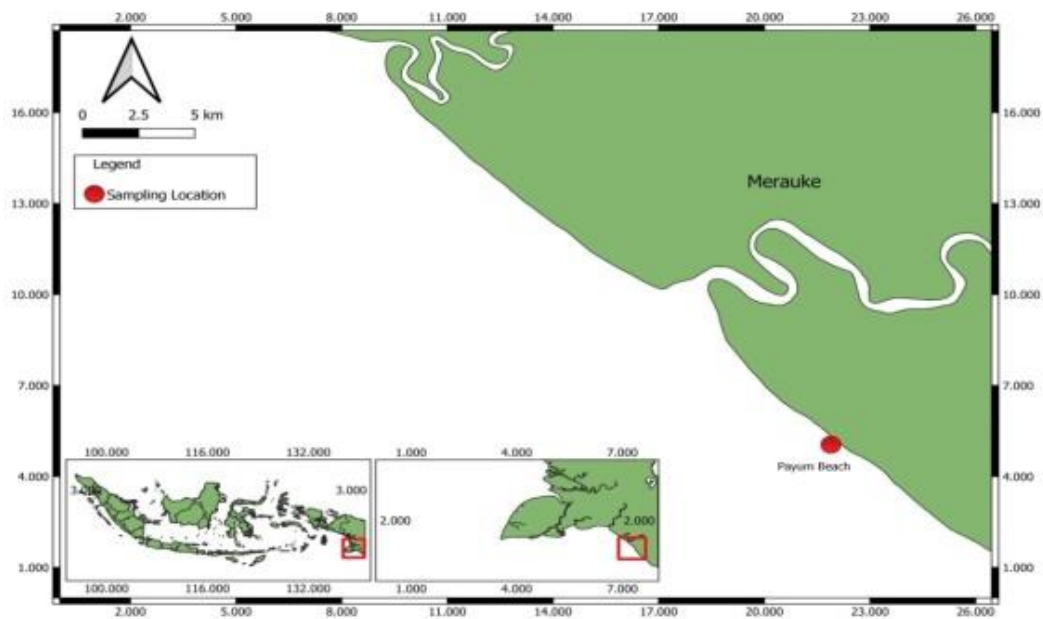
### Analisis Molekuler

Proses Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan DNA *extraction* kit (Qiagen kit, USA) dengan prosedur standar dari produsen. Perbanyakkan COI menggunakan Teknik *polymerase chain reaction* (PCR) dengan primer *forward* LCO1490 (5'-ggtaacaatcataaagatattgg-3') dan primer *reverse* HCO2198 (5'-taaacttcagg gtagcaaaaaatca-3') (Folmer

et al., 1994). Produk PCR dielektroforesis menggunakan gel agarosa 1%, buffer TBE dengan tegangan 100 volt selama 30 menit. Pewarnaan DNA dilakukan dengan menggunakan Etidium Bromida dan divisualisasi menggunakan UV transluminator. Sekuensing dilakukan dengan mengirim produk PCR ke lembaga 1<sup>st</sup> Base Malaysia.

### Analisis Data

Sekuens DNA *C. angulifera* yang diperoleh dari perusahaan jasa sekuensing kemudian disejajarkan (alignment) dengan metode ClustalW (1.6) (Kumar et al., 2016) dalam program MEGA (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) 6 (Tamura et al., 2013).



Gambar 1. Lokasi penelitian identifikasi *Cassidula angulifera* (Petit, 1841)

Tabel 1. Sekuen DNA *Cassidula angulifera*, *Cassidula vespertilionis*, *Cassidula schmackeriana*, *Cassidula crassiuscula*, *Cassidula zonata*, *Cassidula nucleus* dan *Terebralia palustris* yang digunakan dalam rekonstruksi filogenetik termasuk lokasi, nomor akses dari National Center for Biotechnology Information (NCBI)

No	Spesies	Lokasi	Acc. No	Sumber
1	<i>C. angulifera</i>	Quensland Australia	HQ660015	(Dayrat et al., 2011)
2	<i>C. angulifera</i>	Quensland Australia	KM281106	(Romero et al., 2016)
3	<i>C. vespertilionis</i>	Sabah, Malaysia	KM281110	(Romero et al., 2016)
4	<i>C. schmackeriana</i>	Ishigaki-Jima, Jepang	KM281109	(Romero et al., 2016)
5	<i>C. crassiuscula</i>	Okinawa, Jepang	KM281107	(Romero et al., 2016)
6	<i>C. zonata</i>	Australia	KF141904	(Colgan & da Costa, 2013)
7	<i>C. nucleus</i>	Hainan, Cina	MN389192	(Ran et al., 2020)
8	<i>C. nucleus</i>	Hainan, Cina	MN389193	(Ran et al., 2020)
9	<i>T. palustris</i>	Kenya	LT634392	(Ratsimbazafy & Kochzius, 2018)
10	<i>T. palustris</i>	Australia	AM932805	(Reid et al., 2008)

Data sekuen DNA dibandingkan dengan data GenBank (*National Center for Biotechnology Information*, NCBI) dengan aplikasi BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) untuk menentukan spesies berdasarkan data pembandingan yang tersedia di GenBank. Analisis DNA juga dilanjutkan dengan menghitung jarak genetik antar spesies dan juga analisis pohon filogenetik *C. angulifera* menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) (Saitou & Nei, 1987) dengan model Kimura 2-parameter, nilai *bootstrap* 1000x (Efron et al., 1996).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi gastropoda dilakukan dengan mencocokkan morfologi cangkang dengan buku identifikasi. Gastropoda yang dianalisis adalah *C. angulifera* dengan panjang cangkang 2.3 – 3.10 cm dan berat total 1.0 – 1.7 gram. *C. angulifera* yang dikoleksi terdistribusi dan melimpah pada ekosistem mangrove di pesisir pantai Payum Merauke yang didominasi oleh spesies mangrove *Avicennia alba*, *Rhizophora stilosa*, *Aegiceras lunuata*, *Aegiceras lunuata* dan *Ceriops tagal*. *C. angulifera* secara umum ditemukan melimpah pada ekosistem mangrove (Ariyanto et al., 2018).



Gambar 2. Morfologi *C. angulifera* yang dikoleksi dari Pantai Payum, Merauke

Ekosistem Mangrove memiliki banyak fungsi ekologis dan juga nilai

ekonomis (Sianturi & Saleky, 2020; Syahrial, 2019). Interaksi antara faktor geofisika, geomorfik dan biologis berpengaruh terhadap distribusi dan keanekaragaman mangrove di pesisir (Djamaluddin, 2019; Syahrial et al., 2020). Mangrove menjadi tempat hidup bagi berbagai jenis biota salah satunya adalah *C. angulifera*. *C. angulifera* memanfaatkan mangrove sebagai habitat untuk hidup, pengadaan makanan, perlindungan, dan berkembang biak (Ariyanto et al., 2018). Secara ekologis dan fisiologis, *C. angulifera* dapat melakukan migrasi antara wilayah laut dan daratan.

### Karakter Molekuler

Hasil identifikasi dengan menggunakan BLAST (*Basic local Alignment Search Tool*) pada NCBI, spesies yang dianalisis adalah *Cassidula angulifera* dengan tingkat kemiripan 99.53%, panjang sekuen DNA yang diperoleh adalah 650 bp. Panjang sekuen DNA tersebut relatif sama dengan panjang sekuen yang ditemukan pada beberapa sekuen DNA gastropoda seperti *Turbo stenogyrus* (Saleky et al., 2020), *Turbo setosus* (Saleky et al., 2020), *Turbo bruneus* (Leatemia et al., 2018). Komposisi basa DNA yang ditemukan adalah *thymine* (T) (35.2 %), *cytosine* (C)(17.8 %), *adenine* (A)(23.7 %), dan *guanine* (G) (23.7 %). Hasil tersebut memperlihatkan basa T adalah basa yang paling banyak ditemukan sedangkan basa C memiliki komposisi paling sedikit. *C. angulifera* memiliki karakter haplotype yang berbeda dengan *C. angulifera* yang berasal dari Australia. Hal tersebut dapat terjadi akibat perbedaan karakteristik habitat antar wilayah. Jumlah dan variasi haplotype dapat bertambah dengan menambahkan jumlah sampel *C. angulifera* yang dianalisis (Hoehe, 2003).

### Jarak Genetik dan Filogenetik

Analisis jarak genetik dilakukan dengan melihat tingkat perbedaan gen (perbedaan sekuen DNA) pada suatu populasi atau spesies yang diukur melalui

kuantitas numeric (Saitou & Nei, 1987; Suriana et al., 2019). Jarak genetik yang terbentuk merupakan akibat dari perbedaan genetik spesies dan juga akibat dari respon genetik terhadap kondisi ekologi suatu populasi (Fatmarischa et al., 2014). Perbandingan jarak genetik *C. angulifera* dengan beberapa sekuen DNA gastropoda yang diambil dari GenBank memperlihatkan bahwa jarak genetik berkisar antara 0.003 - 0.309.

Jarak genetik antar spesies *C. angulifera* berkisar antara 0.003 - 0.010, yang mana hasil tersebut mengindikasikan bahwa ketiga sekuen DNA tersebut merupakan spesies yang sama. Jarak genetik terbesar adalah antara jarak genetik *C. angulifera* asal Merauke dengan *C. zonata* asal Australia dengan jarak genetik 0.297.

Gen COI selain digunakan dalam mengidentifikasi, mengukur jarak genetik

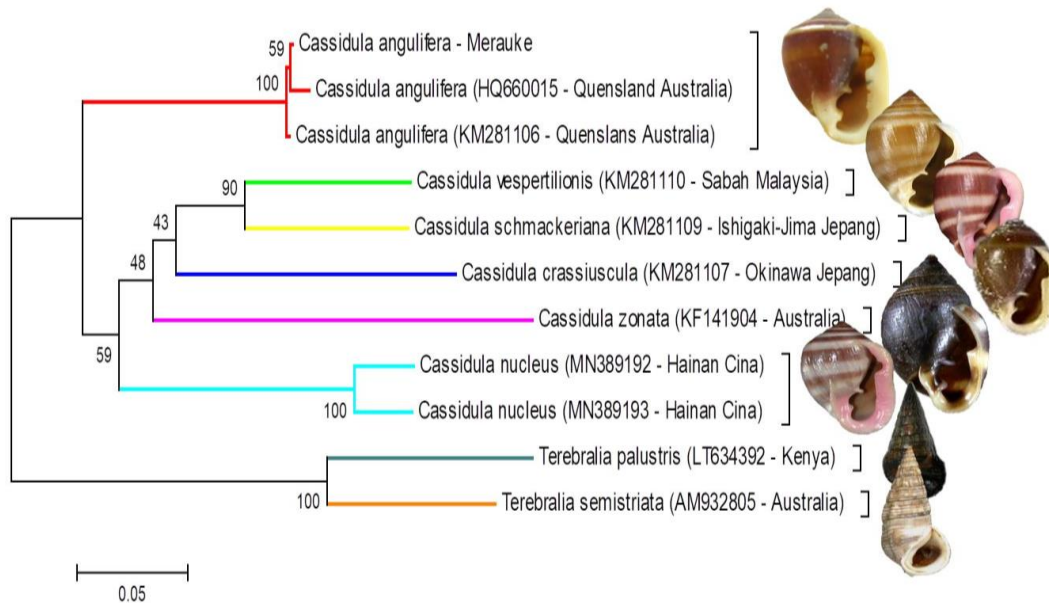
tetapi juga dapat digunakan dalam merekonstruksi filogenetik suatu spesies termasuk di dalamnya proses evolusi (Palumbi, 1994).

Rekonstruksi filogenetik dilakukan dengan menggunakan 1 sekuen DNA *C. angulifera* asal Merauke dengan berbagai spesies *Cassidula* sp. dari genbank termasuk *T. palustris* dan *T. semistriata* yang digunakan sebagai *outgroup* (Gambar 3). Pohon filogenetik (Gambar 3) yang terbentuk memperlihatkan *C. angulifera* asal Merauke membentuk *clade* tersendiri dengan spesies *C. angulifera* asal Australia dengan tingkat kemiripan sekuen sebesar 0.003 dan 0.01. Nilai tersebut kurang dari 2 % semakin memperkuat bahwa sekuen yang dianalisis adalah benar *C. angulifera*. Pada spesies yang sama jarak genetik kurang dari 2 % (Cai et al., 2016; Ward, 2009).

Tabel 2. Perbandingan jarak genetik antara *C. angulifera* asal Merauke dengan beberapa sekuen yang diambil dari GenBank

No	Spesies	1	2	3	4	5	6	7	8
1	<i>C. angulifera</i> Merauke	*	*	*	*	*	*	*	*
2	<i>C. angulifera</i> (HQ660015 - Queensland, Australia)	0.010	*	*	*	*	*	*	*
3	<i>C. angulifera</i> (KM281106 - Queensland, Australia)	0.003	0.013	*	*	*	*	*	*
4	<i>C. vespertilionis</i> (KM281110 - Sabah, Malaysia)	0.236	0.245	0.231	*	*	*	*	*
5	<i>C. schmackeriana</i> (KM281109 - Ishigaki Jima, Jepang)	0.236	0.235	0.231	0.149	*	*	*	*
6	<i>C. crassiuscula</i> (KM281107 - Okinawa, Jepang)	0.284	0.284	0.279	0.231	0.234	*	*	*
7	<i>C. zonata</i> (KF141904 - Australia)	0.297	0.312	0.302	0.302	0.267	0.312	*	*
8	<i>C. nucleus</i> (MN389192 - Hainan, Cina)	0.224	0.233	0.229	0.282	<b>0.309*</b>	0.279	0.307	*
9	<i>C. nucleus</i> (MN389193 - Hainan, Cina)	0.243	0.252	0.238	0.258	0.268	0.288	0.307	0.053

- Jarak genetik terbesar



Gambar 3. Pohon filogenetik *Cassidula* sp. menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dengan model Kimura 2-parameter, *bootstrap* 1000 replikasi. Angka pada setiap cabang menunjukkan nilai *bootstrap* yang diperoleh.

Pohon filogenetik menunjukkan bahwa setiap sekuen DNA terpisah berdasarkan spesies dan juga terpisah berdasarkan nilai jarak genetik. Rekonstruksi pohon filogenetik *C. angulifera* yang terbentuk dengan nilai *bootstrap* yang tinggi. Nilai *bootstrap* yang terbentuk mengindikasikan percabangan pada pohon filogenetik yang terbentuk memiliki tingkat validitas yang tinggi dari percabangan tersebut (Saleky et al., 2020). Jarak genetik yang kecil mengindikasikan terdapat hubungan kekerabatan antar semua spesies *Cassidula* sp. Pohon filogenetik yang terbentuk juga menunjukkan adanya monofiletik pada seluruh sekuen *Cassidula* sp. yang berarti sekelompok taksa yang berasal dari nenek moyang yang sama (Suriana et al., 2019).

### KESIMPULAN

Hasil identifikasi dengan DNA *barcoding*, spesies yang dianalisis adalah *Cassidula angulifera* dengan tingkat kemiripan 99.53% dengan jarak genetik terdekat sebesar 0.003. Hasil analisis jarak genetik juga memperlihatkan bahwa individu pada spesies yang sama memiliki jarak genetik kurang dari 2 %.

Rekonstruksi filogenetik, masing-masing spesies terpisah berdasarkan jenis dengan nilai *bootstrap* yang tinggi. Keseluruhan sekuen *Cassidula* sp. yang dianalisis membentuk kelompok monofiletik yang berarti berasal dari tetua yang sama.

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai oleh Universitas Musamus melalui DIPA Internal Skim Penelitian Dosen Pemula tahun 2020 dengan Nomor Kontrak 177.6/UN52.8/LT/2020.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanto, D., Bengen, D. G., Prartono, T., & Wardiatno, Y. (2018). The association of *cassidula nucleus* (Gmelin 1791) and *cassidula angulifera* (petit 1841) with mangrove in banggi coast, Central Java, Indonesia. *AAFL Bioflux*, 11(2), 348–361.
- Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K. L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K. K., & Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. In *Trends in Ecology and Evolution* (Vol. 22, Issue 3, pp. 148–155).

- <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004>
- Borges, L. M. S., Hollatz, C., Lobo, J., Cunha, A. M., Vilela, A. P., Calado, G., Coelho, R., Costa, A. C., Ferreira, M. S. G., Costa, M. H., & Costa, F. O. (2016). With a little help from DNA barcoding: Investigating the diversity of Gastropoda from the Portuguese coast. *Scientific Reports*, 6(August 2015), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep20226>
- Cai, Y., Zhang, L., Wang, Y., Liu, Q., Shui, Q., Yue, B., Zhang, Z., & Li, J. (2016). Identification of deer species (Cervidae, Cetartiodactyla) in China using mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (mtDNA COI). *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 27(6), 4240–4243. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.1003919>
- Carlén, A., & Olafsson, E. (2002). The effect of the gastropod *Terebralia palustris* on infaunal communities in a mangrove forest in East Africa. *Wetlands Ecology and Management*, 10, 303–311.
- Colgan, D. J., & da Costa, P. (2013). Recent evolutionary dynamism in three pulmonate gastropods from south-eastern Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 128, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.04.016>
- Dayrat, B., Conrad, M., Balayan, S., White, T. R., Albrecht, C., Golding, R., Gomes, S. R., Harasewych, M. G., & de Frias Martins, A. M. (2011). Phylogenetic relationships and evolution of pulmonate gastropods (Mollusca): New insights from increased taxon sampling. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59(2), 425–437. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.02.014>
- Dharma, B. (2005). *Recent and Fossil Indonesian Shells* (p. 424).
- Dharma, Bunjamin. (1988). Siput dan Kerang Indonesia (Indonesian Shells I).pdf. In *Buku* (p. 25).
- Djamaluddin, R. (2019). Growth pattern in tropical mangrove trees of Bunaken National Park, North Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas*, 20(6), 1713–1720. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200630>
- Efron, B., Halloran, E., & Holmes, S. (1996). Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(23), 13429–13434. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.14.7085>
- Fatmarischa, N., Sutopo, -, & Johari, S. (2014). Jarak Genetik dan Faktor Peubah Pembeda Entok Jantan dan Betina Melalui Pendekatan Analisis Morfometrik. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 16(1), 33. <https://doi.org/10.25077/jpi.16.1.33-39.2014>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294–299.
- Fuentes-López, A., Ruiz, C., Galián, J., & Romera, E. (2020). Molecular identification of forensically important fly species in Spain using COI barcodes. *Science and Justice*, 60(3), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2019.12.003>
- Galan, G. L., Mendez, N. P., & Cruz, R. Y. Dela. (2018). DNA bacoding of three selected gastropod species using cytochrome oxidase (COI) gene. *Annals of West University of Timisoara, Ser. Biology*, 21(1), 93–102.
- Gossner, M., & Hausmann, A. (2009). DNA barcoding enables the identification of caterpillars feeding on native and alien oak. *Mitt*

- Münchn Ent Ges, 99, 135–140.
- Hoehe, M. R. (2003). Haplotypes and the systematic analysis of genetic variation in genes and genomes. *Pharmacogenomics*, 4(5), 547–570. <https://doi.org/10.1517/phgs.4.5.547.23791>
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Layton, K., Martel, A., & Hebert, P. D. (2014). Patterns of DNA Barcode Variation in Canadian Marine Molluscs. *PLoS ONE*, 9(4), e95003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095003.s002>
- Leatemia, S. P. ., Manumpil, A. W., Saleky, D., & Dailami, M. (2018). DNA Barcode dan Molekuler Filogeni Turbo sp. di Perairan Manokwari Papua Barat. *Prosiding Seminar Nasional MIPA UNIPA*, 3(1), 103–114. <https://prosiding.fmipa.unipa.ac.id/index.php/SNMIPAUNIPA/article/view/12>
- Palumbi, S. R. (1994). Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. In *Annual Review of Ecology and Systematics* (Vol. 25, pp. 547–572). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.25.110194.002555>
- Panprommin, D., Iamchuen, N., Soontornprasit, K., & Tuncharoen, S. (2020). The utility of DNA barcoding for the species identification of larval fish in the lower ing river, Thailand. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(9), 671–679. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20\\_9\\_02](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_9_02)
- Panprommin, D., Soontornprasit, K., & Pangeson, T. (2019). Comparison of three molecular methods for species identification of the family Cichlidae in Kwan Phayao, Thailand. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 30(1), 184–190. <https://doi.org/10.1080/24701394.2018.1472248>
- Purnamasari, L., Farajallah, A., & Wowor, D. (2016). Application of DNA Barcode in Determination of Shrimp Species of Fresh Water From the Province of Jambi. *BioCENCETTA, II*(1), 50–59.
- Ran, K., Li, Q., Qi, L., Li, W., & Kong, L. (2020). DNA barcoding for identification of marine gastropod species from Hainan island, China. *Fisheries Research*, 225(August 2019). <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2020.105504>
- Ratsimbazafy, H. A., & Kochzius, M. (2018). Restricted gene flow among western Indian Ocean populations of the mangrove whelk *Terebralia palustris* (Linnaeus, 1767) (Caenogastropoda: Potamididae). *Journal of Molluscan Studies*, 84(2), 163–169. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyy001>
- Reid, D. G., Dyal, P., Lozouet, P., Glaubrecht, M., & Williams, S. T. (2008). Mudwhelks and mangroves: The evolutionary history of an ecological association (Gastropoda: Potamididae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47(2), 680–699. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.01.003>
- Romero, P. E., Pfenninger, M., Kano, Y., & Klussmann-Kolb, A. (2016). Molecular phylogeny of the Ellobiidae (Gastropoda: Panpulmonata) supports independent terrestrial invasions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 97, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.12.014>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing



- phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Saleky, D., Leatemia, Simon P.O Pattiasina, T. F., Isma, Rosa, P., Welliken, M. A., & Melmambessy, Edy H.P Dailami, M. (2020). Analisis Pola Pertumbuhan Dan Pendekatan DNA Barcoding Untuk Identifikasi *Turbo stenogyrus* P. Fischer, 1873 (MOLLUSCA: GASTROPODA). *Biotropika - Journal of Tropical Biology*, 8(2), 79–86.  
<https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.02.03>
- Saleky, D., Leatemia, S. P. ., Yuanike, Y., Rumengan, I., & Putra, I. N. G. (2019). Temporal Distribution of Gastropods In Rocky Intertidal Area In North Manokwari, West Papua. *JURNAL SUMBERDAYA AKUATIK INDOPASIFIK*, 1–10.  
<https://doi.org/10.30862/jsai-fpik-unipa.2019.vol.3.no.1.58>
- Saleky, D., Setyobudiandi, I., Toha, A. H. A., Takdir, M., & Madduppa, H. H. (2016). Length-weight relationship and population genetic of two marine gastropods species (Turbinidae: *Turbo sparverius* and *Turbo bruneus*) in the Bird Seascape Papua, Indonesia. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 17(1), 208–217.  
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d170130>
- Saleky, D., Supriyatin, F. E., & Dailami, M. (2020). Pola Pertumbuhan dan Identifikasi Genetik *Turbo setosus Gmelin*, 1791. 23(November), 305–315.
- Setiamarga, D. H. E., Nakaji, N., Iwamoto, S., Teruya, S., & Sasaki, T. (2019). Dna barcoding study of shelled gastropods in the intertidal rocky coasts of central Wakayama Prefecture, Japan, using two gene markers. *International Journal of GEOMATE*, 17(62), 9–16.  
<https://doi.org/10.21660/2019.62.45>
- 21
- Shirak, A., Cohen-Zinder, M., Barroso, R. M., Seroussi, E., Ron, M., & Hulata, G. (2009). DNA Barcoding of Israeli Indigenous and Introduced Cichlids. In *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* (Vol. 61, Issue 2). <http://www.siamb.org.il>
- Sianturi, R., & Saleky, D. (2020). Produksi Serasah Mangrove di Biangkuk, Kabupaten Merauke (Litterfall Production of Mangrove in Biangkuk, Merauke Regency). 10(September), 58–65.
- Suriana, S., Marwansyah, M., & Amirullah, A. (2019). Karakteristik Segmen Gen sitokrom C Oksidase Subunit I (COI) Ngengat Plusia chalcites (Lepidoptera: Noctuidae). *BioWallacea: Jurnal Penelitian Biologi (Journal of Biological Research)*, 6(2), 985.  
<https://doi.org/10.33772/biowallacea.v6i2.8824>
- Syahrial, M. (2019). Status Biota Penempel Pasca Penanaman Mangrove *Rhizophora* spp. di Kepulauan Seribu: Studi Kasus Filum Moluska. *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*, 3(2), 46–57.  
<https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2019.003.02.7>
- Syahrial Syahrial, Saleky Dandi, A. P. A. S., & Tasabaramo Ilham Antariksa. (2020). Ekologi Perairan Pulau Tunda Serang Banten: Keadaan Umum Hutan Mangrove. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifi*, 4(1), 53–67.  
<https://doi.org/10.46252/jsai-fpik-unipa.2020.Vol.4.No.1.103>
- Taberlet, P., & Luikart, G. (1999). Non-invasive genetic sampling and individual identification. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68(1–2), 41–55.  
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1999.tb01157.x>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0.

*Molecular Biology and Evolution*,  
30(12), 2725–2729.  
<https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>

Ward, R. D. (2009). DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. *Molecular Ecology Resources*, 9(4), 1077–1085.  
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02541.x>

Wirdateti, W., Indriana, E., & Handayani, H. (2016). Analisis Sekuen DNA Mitokondria Cytochrome Oxidase I (COI) mtDNA Pada Kukang Indonesia (*Nycticebus spp*) sebagai Penanda Guna Pengembangan Identifikasi Spesies. 12(1), 119–128.  
<https://doi.org/10.14203/jbi.v12i1.2322>