

APLIKASI ANALISA MORFOLOGI DAN DNA BARCODING PADA PENENTUAN JENIS KEPITING PORCELAIN (*PISIDIA Sp.*) YANG BERASAL DARI PULAU TUNDA, BANTEN

Application of Morphological Analysis and DNA Barcode in Determination of
The Porcelain Crab Species (*Pisidia sp.*) from The Tunda Island, Banten

Teddy Triandiza^{1*}, Hawis Madduppa²

¹Loka Konservasi Biota Laut Tual, LIPI, Maluku Tenggara, 97612, Indonesia

²Departemen ilmu dan Teknologi Kelautan, FPIK IPB, Bogor, 16680, Indonesia

*Korespondensi: teddy.triandiza27@gmail.com; hawis@ipb.ac.id

ABSTRAK

Fenomena *cryptic species* (hampir mirip) pada biota akuatik sering ditemukan pada ekosistem yang mengalami perubahan, seperti karang mati. Karang mati menjadi habitat yang masih dapat dimanfaatkan biota laut salah satunya kepiting decapoda familia Porcellanidae.. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan memastikan jenis dari kepiting porcelain yang berasal dari Pulau Tunda, Banten dengan mengaplikasi analisa morfologi dan teknik DNA barcoding. Hasil analisa morfologi menunjukkan bahwa sampel decapoda yang di analisis merupakan kepiting dari genus *Pisidia* familia Porcellanidae dengan karakteristik morfologi rasio ukuran karapas lebih panjang dari pada lebar, antena panjang dan bisa digerakkan, bagian rostrum anterior bergerigi, capit agak pipih dan ukuran lengan tidak sama besar. Sedangkan berdasarkan analisis barcode secara molekuler menggunakan COI, maka didapatkan hasil *Anomura sp.* dengan persentase kesamaan identifikasi 94%. Perbedaan tersebut di duga karena pada genbank belum terdapat data genetik yang sesuai.

Kata kunci: Spesies samar; analisa morfologi; DNA barcoding; *Pisidia*; *Anomura*

ABSTRACT

The phenomenon of marine cryptic species is frequently found in altered ecosystem such as dead corals habitat. Dead corals as habitat can be used by marine fauna like crustacean from family of porcellanidae. This study was aimed to identify and clarify the species of porcelain crab from Tundai sland, Banten province by applying the morphological analysis and DNA barcoding technique. The result of morphological analysis showed that decapod samples were crabs of the genus *Pisidia*, family of Porcellanidae with specific morphological characteristics were the ratio of carapace size is longer than thboard, have long antennae which can be moved, serrated anterior rostrum, chelae rather flattish and unequal size of arms. While based on molecular barcode analysis by using COI, samples were identified as *Anomura sp.* with 94% of similarities. The difference of the result was suspected due to the lack of suitable genetic data on genbank.

Keywords: Cryptik spesies; morphological analysis; DNA barcoding; *Pisidia*,
Anomura

PENDAHULUAN

Terumbu karang merupakan ekosistem yang memiliki potensi keanekaragaman hayati tinggi. Luas terumbu karang di Indonesia mencapai 51.000 km² atau 51% dari total luas terumbu karang di Asia Tenggara (Burke, *dkk.*, 2002), bahkan Hutomo dan Moosa (2005) mengestimasi luas terumbu karang Indonesia mencapai 75.000 km². Ekosistem terumbu karang berperan penting sebagai habitat bagi kehidupan beranekaragam biota laut. Dahuri (2003) menyatakan bahwa ekosistem terumbu karang menjadi tempat kehidupan 300 jenis karang, 2000 jenis ikan dan ikan dan berpuluh-puluh jenis moluska, *crustacea*, sponge, *alge*, lamun serta biota lainnya. Namun terumbu karang merupakan ekosistem yang paling peka terhadap perubahan lingkungan baik yang ditimbulkan secara alami maupun aktivitas antropogenik. Giyanto *dkk.* (2017) menyatakan status terumbu karang Indonesia hanya 6,39% dari yang masih dalam kondisi sangat baik, 22,07% pada kondisi baik, 38,74% pada kondisi cukup dan sisanya 35,14% dikategorikan pada kondisi jelek. Terumbu karang yang rusak akibat tekanan antropogenik (bom, racun sianida, pencemaran) dan pemanasan global akan tetap dimanfaatkan sebagai habitat spesies invertebrata terutama jenis *krustacea*. Perubahan yang terjadi pada ekosistem terumbu karang akan mengubah kondisi ekosistem dan berpengaruh terhadap keanekaragaman biota laut di dalamnya salah satunya fenomena *cryptic species*.

Cryptic species adalah dua atau lebih spesies berbeda yang diklasifikasikan sebagai spesies tunggal karena kemiripan morfologinya. Fenomena *cryptic species* ini dapat menyebabkan masalah sinonim yaitu terdapat nama ganda pada satu spesies yang sama atau sebaliknya (Bickford *dkk.*, 2006). Kesalahan indentifikasi pada biota kriptik disebabkan karena biota ini memiliki ukuran yang kecil, berkamuflase atau mimikri, dan hidup di habitat tersembunyi. Fenomena *cryptic species* sering

ditemukan pada biota akuatik, seperti pada ikan pari (Arlyza *dkk.*, 2013), kerang kima jenis *T. crocea*, *T. maxima* dan *T. squamosa* (Findra *dkk.*, 2017), dan decapoda (Knowlton, 1986). Salah satu kelompok decapoda yang menunjukkan fenomena *cryptic species* adalah keluarga Porcellanidae (Werding and Hiller, 2002).

Porcellanidae merupakan kelompok kepiting anomura yang masuk kedalam superfamili Galatheoidea dan infraordo Anomura. Kepiting ini lebih dikenal dengan nama kepiting porcelain. Kepiting porcelain umumnya memiliki ukuran tubuh yang kecil dan sulit dibedakan di antara jenis dalam kelompok ini. Biota ini tersebar di seluruh dunia, hidup pada zona intertidal dan sublitoral di daerah tropis dan subtropis, dengan habitat pantai berbatu, soft coral, makro algae dan terumbu karang (Werding *dkk.*, 2003). Osawa dan McLaughlin (2010) menyatakan terdapat 280 jenis kepiting porcelain yang terbagi ke dalam 30 genus. Tingginya keanekaragaman hayati kepiting Porcellanidae menyebabkan kepiting ini sering bermasalah secara taksonomi karena secara literatur ekologis, taksonomis dan filogenetik belum banyak diketahui sehingga memerlukan analisa yang lebih mendalam (Werding *dkk.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2006; Osawa dan McLaughlin, 2010). Contoh jenis kepiting porcelain yang mengalami kesalahan taksonomi adalah pada *Pachycheles chubutensis* dan *Pachycheles laevidactylus* yang dianggap kepiting sejenis atau secara sinonim sama (Booschi, 1963), namun ternyata secara genetik memiliki perbedaan pada ciri morfologis chelipeds (Miranda *dkk.*, 2014).

Permasalahan fenomena *cryptic species* pada biota laut dapat diselesaikan melalui pendekatan komprehensif dengan mengabungkan analisis morfologi dengan analisis genetik (DNA barcoding). DNA barcoding merupakan teknik mengenali spesies berdasarkan barcode biologi dari urutan pendek basa nukleotida yang telah distandarisasi (Hajibabaei *dkk.*, 2006). Kelompok gen

yang sering digunakan adalah gen yang berasal dari mitokondria. Salah satu gen yang digunakan dalam marka genetik mitokondria adalah gen sitokrom oksidase subunit 1 yang dikenal sebagai COI. Menurut Waugh (2007) marka genetik COI dapat digunakan sebagai penanda variasi yang akurat untuk mengidentifikasi berbagai macam hewan sampai tingkat spesies. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan memastikan jenis dari kepiting porcelain yang berasal dari Pulau Tunda, Provinsi Banten dengan mengaplikasikan analisa morfologi dan teknik DNA barcoding.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Juli 2017. Pengambilan sampel decapoda dilakukan di Pulau Tunda, Serang, Propinsi Banten. Sedangkan untuk analisa molekuler dilakukan di Laboratorium Biodiversitas dan Biosistemika Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Metode Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan di daerah terumbu karang dengan menggunakan peralatan selam, pahat, martil, plastik dan ember. Sampel decapoda di ambil dari karang mati genus *Acropora sp*, *Pocillopora sp* dan *Porites sp*. Koloni karang mati dibungkus plastik sebelum dilepaskan dari substrat dengan tujuan agar biota yang didalamnya tidak hilang. Setelah itu disimpan dalam ember guna mempermudah pengangkatan sampel.

Sortir dan Identifikasi Sampel

Sampel disortir dari pecahan karang mati kemudian diidentifikasi dengan merujuk Haig (1992), Osawa (2007), Chan (2010), dan Poore (2004). Sampel decapoda kemudian dicelupan pada minyak cengkeh untuk membuat biota tersebut pingsan sehingga dokumentasi bisa diproses dengan baik. Dokumentasi fauna kriptik menggunakan Kamera DSLR dan Iphone 6 yang

terpasang di Mikroskop Motic K-Series 700L. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam botol sample yang telah berisi etanol 96% untuk diidentifikasi lebih lanjut di bawah mikroskop dan di analisis molekuler dengan teknik DNA barcoding.

Ekstraksi dan Isolasi DNA

Jaringan kepiting porcelain untuk ekstraksi DNA berasal dari kaki jalan (Pereopod) ke 2 sebelah kanan. Sebelum dilakukan isolasi dan ekstraksi, sampel kima dicuci menggunakan Low TE. Jaringan otot dihancurkan kemudian dilisis menggunakan proteinase K 0,125 mg/ml dan sodium dodesil sulfat 1%. Pemisahan dan pemurnian DNA dari bahan organik lain selanjutnya mengikuti petunjuk kit ekstraksi Genomic DNA mini kit for animal tissue. Amplifikasi dan Visualisasi Fragmen DNA Ruas gen COI genom mitokondria kemudian di amplifikasi menggunakan primer DNA barcoding untuk decapod yaitu primer LCO1490 dan HC01298 (Folmer *dkk.* 1994). Amplifikasi dilakukan menggunakan mesin PCR dengan kondisi predenaturasi 94°C selama 15 detik, dilanjutkan dengan 38 siklus yang terdiri atas denaturasi 94°C selama 30 detik, annealing (penempelan) 50°C selama 30 detik dan ekstensi 72°C selama 45 detik serta ekstensi akhir 72°C selama 3 menit. Hasil amplifikasi selanjutnya diuji elektroforesis menggunakan gel agarose 1.2% untuk mengetahui keberhasilan amplifikasi.

Perunutan Fragmen DNA (Sequencing)

Produk PCR yang baik berupa pita tunggal yang terlihat pada saat elektroforesis dilanjutkan ke tahap sekuensing untuk melihat runutan basa nukleotida pada gen target. Metode sekuen yang digunakan adalah sekuensing dengan ABI PRISM 377 sequencer otomatis oleh Fasilitas UAB DNA Sequencing Core.

Analisa

Sampel kepiting porcelain di analisa morfologinya melalui foto yang

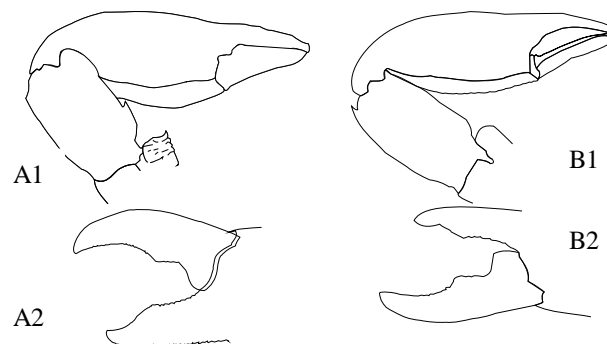
telah diambil di mikroskop, kemudian digambarkan ulang pada software inkspace. Sedangkan hasil peruntutan nukleotida diedit secara manual berdasarkan kromatogram kemudian dijadikan input dalam pencarian kesamaan gen menggunakan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Runutan nukleotida semua sampel dan yang homolog hasil BLAST saling disejajarkan menggunakan Clustal versi 2.0 yang terdapat dalam program MEGA versi 7.00 (Kumar *dkk.*,2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa Morfologi

Hasil analisa morfologi menunjukkan bahwa sampel decapoda yang ditemukan di pecahan karang mati Pulau Tunda merupakan kepiting dari genus

Pisidia familia Porcellanidae. Hasil analisis morfologi menunjukkan kesamaan ciri antara genus *Pisidia* dengan genus *Lissoporcellana* seperti ke dua lengan (cheliped) yang tidak sama besar, antena yang panjang dan karapas tidak merata, hampir mulus (striae) di permukaan dorsal. Namun berdasarkan kunci identifikasi Osawa dan Chan (2010) terdapat perbedaan pada chelae (capit), di mana jika genus *Lissoporcellana* chelae (Capit) mengembung dan subcilindris, tidak menunjukkan perbedaan morfologi chelae antara jantan dan betina, di mana median lobe selalu dengan median notch yang berbeda. Sedangkan pada genus *Pisidia* chelae (capit) agak pipih, menunjukkan perbedaan morfologi antara jantan dan betina, di mana median lobe tanpa media notch (Gambar 1).

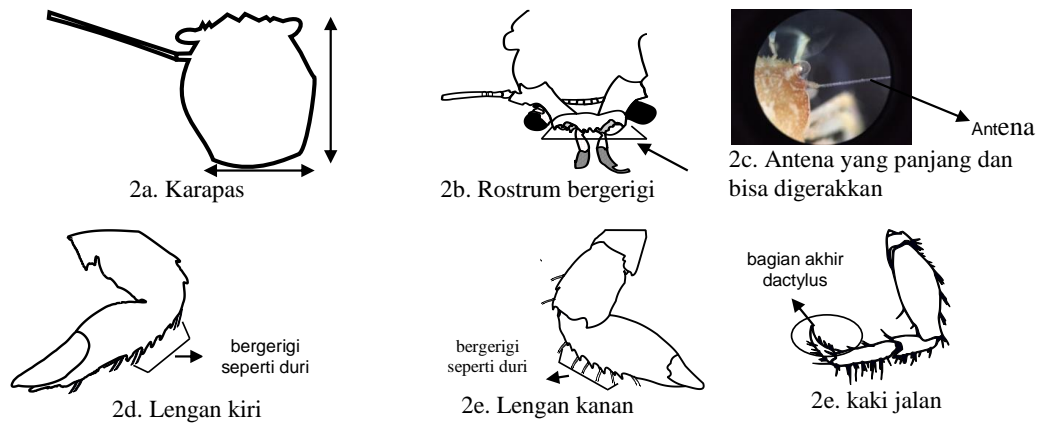


Gambar 1. morfologi chelae pada *Lissoporcellana* dan *Pisidia*. A1, cheliped *Lissoporcellana*; A2, bagian dactylus dari chela *Lissoporcellana*; B1, cheliped *Pisidia*; B2, bagian dactylus dari chela *Lissoporcellana*. (Digambar ulang dari Dong and Li, 2014).

Karakteristik morfologi *Pisidia* sp.

Secara morfologi, kepiting *Pisidia* sp. mempunyai bentuk rasio ukuran karapas lebih panjang di banding lebar, dengan kulit permukaan dorsal pada karapas hampir mulus (striae) (gambar 2a). Median Lobe dari rostrum di bagian anterior bergerigi (2b). Memiliki antena panjang dan dapat digerakkan (2c). Kedua lengan (cheliped) memiliki ukuran yang tidak sama besar, ukuran lengan

sebelah kanan lebih besar dari sebelah kiri (Gambar 3). Lengan sebelah kiri memiliki gerigi seperti duri di bagian carpus dan palm. Pada Carpus berjumlah dua dan palm berjumlah lima (2c). Sedangkan lengan sebelah kanan duri berjumlah tujuh di bagian palm, di bagian carpus hanya satu (2d). Kaki jalan terdiri dari merus, carpus, propodus, dan dactylus. Bagian akhir dari dactylus dengan cakar tunggal (2e).

Gambar 2. Karakter morfologi yang menjadi acuan untuk identifikasi *Pisidia sp*Gambar 3. Morofologi *Pisidia sp.*

Sampel Jenis *Pisidia sp.* yang ditemukan di pulau tunda secara morfologi hampir mirip dengan dengan specimen jenis *Pisidia serratifons* terutama yang ditemukan di Pulau Tikus, Pulau Pari (Anggraeni dkk., 2015). Namun bila dibandingkan dengan spesiemen yang ditemukan di Taiwan (Osawa dan Chan, 2010) sedikit berbeda, di mana pada bagian lengan *Pisidia serratifons* tidak terlalu bergerigi di bandingkan dengan jenis *Pisidia sp* yang terlihat jelas.

Analisis DNA Barcoding

Hasil penelitian diperoleh panjang DNA 688bp (Gambar 4) dan komposisi nukleotida sampel jenis *Pisidia sp.* yaitu

Timin berjumlah 252 (36,63%), Citosin 109 (15,84%), Adenin 210 30,52%) dan Guanin 117 (17,01%). Nilai kandungan basa nukleotida Timin merupakan yang terbanyak yaitu mencapai 36,63%.

Berdasarkan analisis barcode DNA gen COI Pada *Pisidia sp.* setelah dibandingkan dengan *database GenBank NCBI* didapatkan tingkat kemiripan tertinggi dimiliki oleh spesies *Anomura sp.* dengan *Max score* dan *total score* yang sama yaitu 937, *query cover* 89%, *E-value* 0.0 dan *Ident* 94%. Sekuen Bank gen yang paling mirip dicirikan dengan nilai *Max Score* dan *Total Score* sama, *Query Coverage* mendekati 100%, *E-value* mendekati 0, dan *Ident* mendekati 100% pada setiap database (Tabel 1).

```
TGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGAACCTTATATTTTATTTTTGGTGCT
TGAGCAGGAATAGTGGGCTCTTCATTAAGTTTAATTATTCGAGCTGAATTA
GGACAACCAGGAAAATTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATGTAGTAGT
TACTGCTCATGCTTTTGTATAATTTTCTTTATAGTAATACCAATTTTAATT
GGAGGATTTGGTAACTGATTAGTTCCTTAATACTAGGTGCTCCAGATATA
GCATTTCCCTCGTATAAATAACATAAGATTTTGACTTCTTCCCCCAGCTTTA
ACACTTTTACTTATAAGAGGAATAGTTGAAAGAGGTGTAGGAACAGGATG
AACTGTGTATCCACCCCTAGCATCAAACATTGCTCACGCAGGAGCTTCAGT
AGATATAGGAATTTTTTCTCTTCATTTAGCAGGAGTTTCTTCAATTTTAGG
AGCTGTAAACTTTATCTCTACTGTAATTAATATGCGATCAGCCGGAATAAC
ATTTGATTGTTTACCTTTATTTGTCTGATCAGTATTTATTACAGCTATTTTA
TTACTTTTATCATTACCAGTTTTAGCAGGAGCAATTACAATACTTCTTACA
GATCGAAACTTAAATACATCATTTTTTTGATCCTGTGATGGAGCTAATGTGA
TAAATGCTATGCACAACCGAATTTCG
```

Gambar 4. Pensejaran hasil sekuen gen COI jenis *Pisidia sp.* asal Perairan Pulau Tunda, Banten.

Berdasarkan analisis barcode DNA gen COI Pada *Pisidia sp.* setelah dibandingkan dengan *database GenBank* NCBI didapatkan tingkat kemiripan tertinggi dimiliki oleh spesies *Anomura sp.* dengan *Max score* dan *total score* yang sama yaitu 937, *query cover* 89%, *E-value* 0.0 dan *Ident* 94%. Sekuen Bank gen yang paling mirip dicirikan dengan nilai *Max Score* dan *Total Score* sama, *Query Coverage* mendekati 100%, *E-value* mendekati 0, dan *Ident* mendekati 100% pada setiap database (Tabel 1).

Hasil blast mendapatkan bahwa specimen kepiting porcelain yang berasal dari Pulau Tunda hanya terbaca pada tingkat infraorodo yaitu *Anomura*.

Meskipun pada daftar yang ke tujuh terdapat *Pisidia serratifrons* namun kesamaan basa nukleotida hanya 88%. Hasil tersebut di duga karena pada genbank belum terdapat data genetik yang sesuai dengan spesimen yang didapat yaitu *Pisidia sp.* *Anomura* merupakan infraodo dari sub ordo Plocyemeta ordo decapoda yang memiliki keanekaragaman morfologi tertinggi. Kepiting *Anomura* terdiri dari kelompok kepiting pertapa, kleompok seperti udang dan kelompok seperti kepiting. Menurut De Grave *dkk.* (2009) terdapat 2470 jenis *anomura* yang telah teridentifikasi di seluruh dunia.

Tabel 1. Hasil BLAST basa nukleotida pada GenBank

Dekripsi	Max score	Total Score	Query cover	E Value	ident	Accession
Anomura sp. LPdivOTU392 isolate 1 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	937	937	89%	0.0	94%	gi 305651177 HM465764.1
Anomura sp. LPdivOTU392 isolate 5 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	920	920	82%	0.0	94%	gi 305651187 HM465769.1

Anomura sp. LPdivOTU392 isolate 3 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	917	917	90%	0.0	93%	gi 305651185 HM465768.1
Anomura sp. LPdivOTU392 isolate 2 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	865	865	82%	0.0	94%	gi 305651181 HM465766.1
Anomura sp. LPdivOTU392 isolate 2 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	835	835	80%	0.0	94%	gi 305651179 HM465765.1
Synuchus cycloderus voucher NSMK:IN-000783 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	728	728	90%	0.0	88%	gi 305651179 HM465765.1
Pisidia serratifrons isolate DeB42 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial	717	717	90%	0.0	88%	gi 408830915 JX502986.1
Porcellanidae sp. PNG-0129 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial	695	695	90%	0.0	87%	gi 1003091142 KU285883.1

KESIMPULAN

Hasil analisis morfologi secara keseluruhan menunjukkan bahwa specimen kepiting porcelain yang berasal dari Pulau Tunda Banten merupakan jenis *Pisidia sp.* dari genus *Pesidia*. Sedangkan berdasarkan analisis DNA Barcoding hanya terbaca pada tingkat infraordo yaitu *Anomura* dengan persentase kesamaan identifikasi 94%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan di Pascasarjana Ilmu Kelautan IPB angkatan 2016, Asisten Mata Kuliah Biodiversitas dan bapak Agus Kusnadi, M.Sc yang telah membantu dalam penelitian dan penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, P., Elfidasari, D., Pratiwi R., 2015. Sebaran kepiting (Brachyura) di Pulau Tikus, Gugusan Pulau Pari, Kepulauan Seribu, hal 213-221. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. Univeristas Sebelas Maret. Surakarta.
- Arlyza, I.S., Shen, K.N., Solihin, D.D., Soedharma, D., Berrebi, P., Borsa, P., 2013. Species boundaries in the *Himantura uarnak* species complex (Myliobatiformes: Dasyatidae). *Mol. Phyl. Evol.* 66:429–435.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winkler, K., Ingram, K.K., Das, I., 2006. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Ecology and Evolution.* 22:148-155.
- Bliss, D.E., 1982. *The Biology of Crustacea*. Volume 1. Systematics, the Fossil Record, and Biogeography. Academic Press. New York.

- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winkler, K., Ingram, K.K., Das, I., 2006. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Ecology and Evolution*. 22:148-155.
- Burke, L., Selig, E., Spalding, M., 2002. *Terumbu Karang yang Terancam di Asia Tenggara*. World Resource Institut Washington.
- Dahuri, R., 2003. *Keanekaragaman Hayati Laut: Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Dutton, I.M., Bengen, D.G., Tulungan, J., 2000. Oceanographic Processes of Coral Reefs, hlm 315-330. dalam E. Wolanski (ed.). *The Challenges of Coral Reef Management in Indonesia*. CRC press LLC. USA.
- De Grave, S., Pentcheff, N.D., Ah Yong, S.T., Chan, T.Y., Crandall, K.A., Dworschak, P.C., Felder, D.L., Feldmann, R.M., Franssen, C.H.J.M., Goulding, L.Y.D., Lemaitre, R., Low, M.E.Y., Martin, J.W., Ng, P.K.L., Schweitzer, C.E., Tan, S.H., Tshudy, D., Wetzer, R., 2009. A classification of living and fossil genera of decapod Crustaceans. *The Raffles Bulletin of Zoology, Supplement*. 21:1-109.
- Findra, M.N., Setyobudiandi, I., Butet, N.A., Solihin, D.D., 2017. Genetic profile assessment of giant clam genus *Tridacna* as a basis for resource management at Wakatobi National Park Waters. *Ilmu Kelautan*. 22(2):67-74.
- 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. *Mol Mar Biol Biotech*. 3(5): 294-299.
- Giyanto, Abrar, M., Hadi, T.A., Budiyanto, A., Hafizt, M., Salatalohy, A., Iswari, M.Y., 2017. *Status Terumbu Karang Indonesia 2017*. dalam Suharsono (ed). Coremap CTI, Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta.
- Haig, J., 1992. *Hong Kong's Porcellanid Crabs*. Hong Kong University Press. Hongkong.
- Hajibabaei, M., Daniel, H.J., John, M.B., Winnie, H., Paul, D.N.H., 2009. Dna barcode distinguish species of tropical Lepidoptera. *PNAS*. 103: 968-971.
- Hutomo, M., Moosa, M.K., 2005. Indonesian Coastal and Marine Biodiversity: Present Status. *Indian Journal of Marine Sciences*. 14(1): 88-97
- Knowlton, N., 1986. Cryptic and sibling species among the decapod crustacea. *Journal Of Crustacean Biology* 6(3): 356-363.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol*. 33(7):1870-4.
- Miranda, I., Christoph, D.S., Fernando, L.M., 2104. Morphological and molecular data support the distinctiveness of *Pachycheles laevidactylus* Ortmann, 1892 and *Pachycheles chubutensis* Boschi, 1963 (Anomura, Porcellanidae). *Zootaxa*. 3852 (1): 118-132.
- Osawa, M., 2007. Porcellanidae (Crustacea: Decapoda: Anomura) from New Caledonia and the Loyalty Islands. *Zootaxa*. 1548: 1-49.
- Osawa, M., McLaughlin, P.A., 2010. Annotated checklist of anomuran decapod crustacean (exclusive of the Kiwaoidea and families Chirostylidae and Galatheidae of Galatheoidea) Part II - Porcellanidae. *The Raffles Bulletin of Zoology*. 23: 109-129.
- Osawa, M., Chan, T.Y., 2010. Crustacean fauna of Taiwan : crab-like anomurans (Hippoidea, Lithodoidea, Porcellanidae), hlm. 68-180. dalam T.Y.Chan (ed). *Part III. Porcellanidae (Porcelain*

- Crabs*). National Taiwan Ocean University. Taiwan.
- Poore, G.C.B., 2004. *Marine Decapod Crustacea of Southern Australia : A Guide to Identification*. Csiro Publishing. Australia.
- Rodríguez, I.T., Hernández, G., Felder, D.L., 2006. Phylogenetic relationship among western Atlantic Porcellanidae (Decapoda: Anomura), based on partial sequences of the mitochondrial 16S rRNA gene, with comments on morphology. *Crustacean Research*. 6: 115–130.
- Werding, B., Hiller, A., Misof, B., 2001. Evidence of paraphyly in the neotropical Porcellanid genus *Neopisosoma* (Crustacea: Anomura: Porcellanidae) based on molecular characters. *Hydrobiologia*. 449 (1–3): 105–110.
- Waugh, J., 2007. Dna barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *BioEssays*. 29:188–197.
- Werding, B., Hiller, A., 2002. Description of a new species of *Petrolisthes* from the western pacific (Decapoda, Anomura, Porcellanidae). *Crustaceana*. 77 (3), 257–264.
- Werding, B., Hiller, A., Lemaitre, R., 2003. Geographic and depth distributional patterns of western Atlantic Porcellanidae (Crustacea: Decapoda: Anomura), with an updated list of species. *Memoirs of Museum Victoria*. 60 (1): 79–85.

