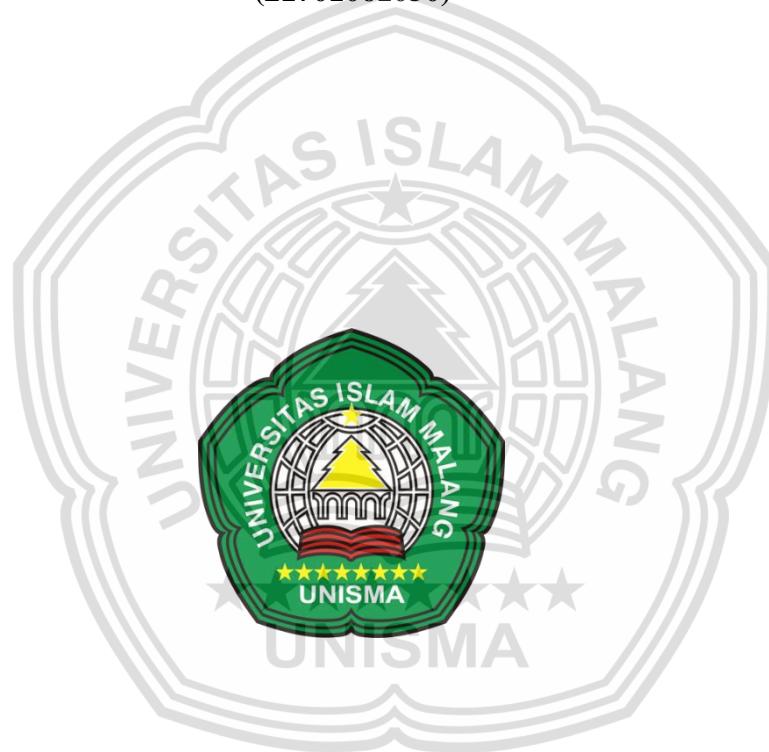


**KARAKTERISTIK GENETIK INVERTEBRATA LAUT
FILUM ARTHROPODA, MOLLUSCA, DAN
ECHINODERMATA DI PERAIRAN PAPUA**

SKRIPSI

Oleh :

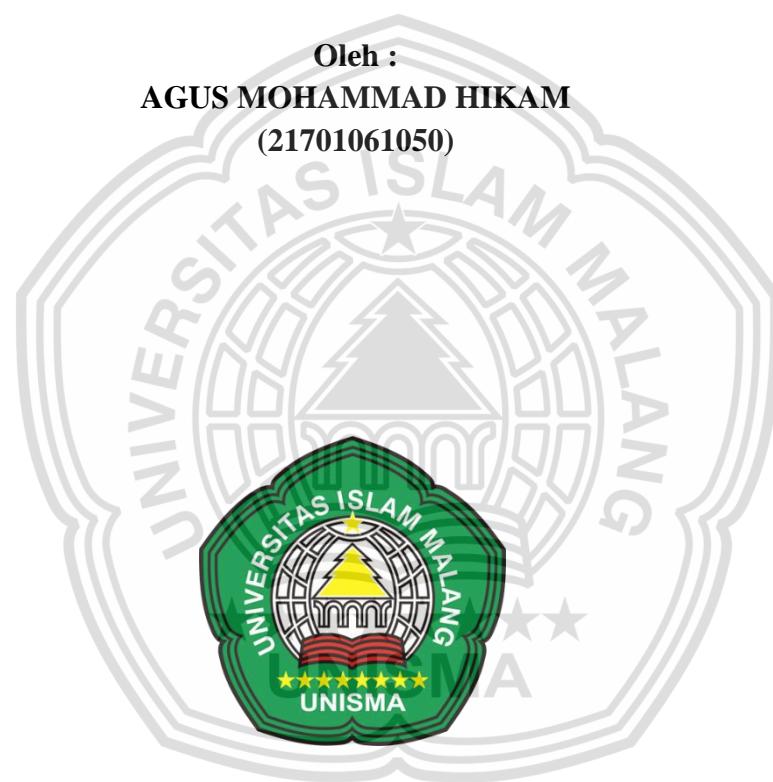
**AGUS MOHAMMAD HIKAM
(21701061050)**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2021**



**KARAKTERISTIK GENETIK INVERTEBRATA LAUT FILUM
ARTHROPODA, MOLLUSCA, DAN ECHINODERMATA DI PERAIRAN
PAPUA**
Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Strata 1 (S-1)
Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Malang



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2021**

ABSTRAK

Agus Mohammad Hikam (NPM. 21701061050) Karakteristik Genetik Invertebrata Laut Filum Arthropoda, Mollusca, dan Echinodermata di Perairan Papua.

Dosen Pembimbing I : Dr. Nurul Jadid Mubarakati, M.Si.

Dosen Pembimbing II : Dr. Abdul Hamid A. Toha, S.Pi., M.Si.

Karakter genetik adalah karakter yang disimpan sebagai informasi genetik pada gen yang secara molekuler tersusun dari asam nukleat DNA. Penelitian mengenai identitas, keanekaragaman dan hubungan genetik spesies invertebrata laut penting dilakukan karena memiliki manfaat sebagai sumber dan seleksi gen, penentu kekerabatan, proses evolusi dan ekologi serta untuk tujuan konservasi. Sebanyak 29 sampel invertebrata laut terdiri dari teripang, lobster, gurita, chiton, dan bulu babi dari perairan papua dianalisis. DNA sampel diekstraksi untuk mendapatkan seluruh genom yang kemudian diamplifikasi dan diurutkan untuk mengidentifikasi nukleotida dari fragmen gen COI dari DNA mitokondria. Teridentifikasi teripang dari spesies *Bohadschia marmorata*, lobster dari spesies *Panulirus versicolor*, gurita dari spesies *Octopus cyanea*, chiton dari spesies *Ischnochiton australis*, dan bulu babi dari spesies *Tripneustes gratilla*. terdapat 15 mutasi transisi tunggal dan 16 haplotipe, Secara keseluruhan keragaman haplotipe ($H_d = 0.9360$) dan keragaman nukleotida (Rata-rata=512,4). Perbedaan terdeteksi pada komposisi nukleotida, jumlah dan susunan sekuen COI yang diperoleh. Analisis filogenetik, jarak genetik, jaringan haplotipe, dan AMOVA membuktikan bahwa semua individu mencerminkan sejarah evolusi yang serupa.

Kata Kunci : Genetik, Invertebrata, Karakter

ABSTRACT

Agus Mohammad Hikam (NPM. 21701061050) *Genetic Characteristics of Marine Invertebrates Phylum Arthropoda, Mollusca, and Echinodermata in Papua Waters.*

(1): Dr. Nurul Jadid Mubarakati, M.Si. (2): Dr. Abdul Hamid A. Toha, S.Pi., M.Si.

Genetic characters are characters stored as genetic information in genes that are molecularly composed of DNA nucleic acids. Research on the identity, diversity, and genetic relationships of marine invertebrate species is important because it has benefits as a source and selection of genes, determinants of kinship, evolutionary and ecological processes as well as for conservation purposes. A total of 29 samples of marine invertebrates consisting of sea cucumbers, lobsters, octopuses, chitons, and sea urchins from Papua waters were analyzed. The sample DNA is extracted to obtain the entire genome which is then amplified and sequenced to identify the nucleotides of the COI gene fragments from mitochondrial DNA. Identified sea cucumbers from Bohadschia marmorata species, lobster from Panulirus versicolor species, octopus from Octopus cyanea species, chiton from species Ischnochiton australis, and sea urchins from Tripneustes gratilla species. There were 15 single transition mutations and 16 haplotypes. Overall, the haplotype diversity ($Hd = 0.9360$) and nucleotide diversity (Mean = 512.4). Differences were detected in the nucleotide composition, amount, and arrangement of the COI sequences obtained. Phylogenetic analyzes, genetic distances, haplotype networks, and AMOVA prove that all individuals reflect a similar evolutionary history.

Keywords: Genetics, Invertebrates, Character

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Invertebrata adalah sekelompok hewan yang tidak memiliki tulang punggung, dan hidup di hampir setiap sudut bumi, mulai dari air mendidih yang dilepaskan oleh lubang sembur hidrotermal di laut dalam hingga tanah Antartika yang membeku dan berbatu. Invertebrata mampu beradaptasi dengan berbagai macam lingkungan, sehingga menciptakan keragaman bentuk yang luar biasa, dari spesies yang hanya terdiri dari sel lapisan ganda yang pipih hingga spesies-spesies lain dengan kelenjar pemintal sutra, duri-duri yang berputar, lusinan kaki yang berbuku, atau tantakel yang ditutupi dengan mangkok penghisap (Rahmadina, 2019). Meskipun secara morfologi, anatomi, sistem pencernaan, sistem pernafasan, dan peredaran darah lebih sederhana dibandingkan dengan kelompok hewan bertulang punggung belakang (Djarubito, 1989). Invertebrata laut memiliki banyak manfaat bagi kehidupan manusia salah, salah satunya sebagai boga bahari (Suwigyo, 2005). Pada masa sekarang kondisi kehidupan invertebrata laut sangat terancam, dikarenakan eksploitasi dan penangkapan secara berlebihan, padahal sejatinya, invertebrata laut memiliki peran pentng untuk menjaga ekosistem, sumber pangan ekonomis, maupun obat-obatan (Dustin, 2012).

Untuk menjaga resiko kepunahan dan mempertahankan keanekaragaman invertebrata laut, maka perlu dilakukan identifikasi mengenai spesies laut sebagai langkah dalam mengembangkan deskripsi dan pendataan biodiversitas laut, pada masa sekarang identifikasi secara morfologi cukup sulit dilakukan karena banyak spesies yang hanya dapat diidentifikasi pada tahapan hidup saja

(Gossner & Hausmann, 2009), Seiring dengan pesatnya kemajuan biologi molekuler, maka identifikasi organisme yang semula hanya berdasarkan karakter morfologi kini telah berkembang menjadi taksonomi molekuler, dimana pengelompokan didasarkan pada kesamaan gen yang dimiliki organisme. Gen COI pada genom mitokondria menjadi *starting point* dalam penelitian taksonomi dan filogenetika molekuler, juga sebagai marka spesifik-spesies untuk identifikasi secara molekuler khususnya pada hewan (Rahayu dan Miftahul, 2019).

Karakter genetik yang tinggi dapat dicirikan dengan heterozigositas yang tinggi dalam suatu populasi. Suatu populasi dengan heterozigositas yang lebih tinggi, semakin tinggi variasi genetiknya. Populasi dengan variasi genetik tinggi memiliki peluang lebih besar untuk bertahan hidup beradaptasi dengan perubahan lingkungan, serta meningkatkan kualitas genetik populasi dengan memanfaatkan gen yang menguntungkan (Toha, 2001). Keragaman genetik sangat penting demi keberlanjutan hidup suatu populasi. Hilangnya variasi didalam gen juga menghapus keberagaman dalam pola, proses, dan sifat. Dalam jangka pendek, bisa mengakibatkan perkawinan sedarah, yang dapat meninggikan presentase kemosuhan populasi dan menurunkan kebugaran populasi. Dalam jangka panjang, mengakibatkan turunnya kemampuan populasi untuk bisa beradaptasi menghadapi berubahnya kondisi lingkungan dan merespon tekanan seleksi alam. Begitu materi genetik unik suatu spesies hilang, ia tidak dapat dikembalikan melalui mutasi (Sumitro *et al.*, 2015).

Studi terkait keanekaragaman genetik sangat penting karena dapat menyajikan informasi awal untuk bisa dikembangkan dalam studi selanjutnya.

Keragaman genetik digunakan sebagai bahan pemilihan genotipe yang diinginkan. Tingkat keragaman genetik dapat dianalisis berdasarkan DNA mitokondria, DNA mitokondria banyak digunakan dalam pembelajaran genetika populasi, identifikasi spesies dan penyakit, filogeni veteriner, dan sebagainya (Wibowo *et al.*, 2013). mtDNA juga dapat ditularkan antar turunan tanpa terjadi penggabungan ulang, sehingga semua molekul dapat disebut sebagai satu kesatuan genetik yang mempunyai banyak alel (Sudoyo 1995, dalam Prasetyo dan Jito, 2007).

Penamaan yang benar dan penentuan spesies penting dilakukan untuk melaksanakan studi biogeografi, filogeni, dan studi lainnya. Dengan berkembangnya ilmu biologi molekuler, terobosan baru untuk mengidentifikasi spesies berbasis DNA yang dikenal sebagai DNA *Barcode* telah ditemukan. Identifikasi taksonomi, penentuan spesies dan pengelompokan dapat dilakukan melalui DNA Barcode (Taylor dan Harrist, 2012). Barcode DNA memberikan identifikasi spesies yang cepat dan akurat dengan berfokus pada analisis segmen kecil mtDNA (Muchlisin *et al.*, 2013; Karim *et al.*, 2015).

Gen dalam DNA mitokondria yang dipakai sebagai bahan identifikasi adalah gen *Cytochrome c oxidase I* (COI). Sitokrom adalah protein yang didalamnya terdapat struktur lapisan yang tidak sama dengan hemoprotein yang mengikat oksigen semacam hemoglobin dan lainnya. Ion besi dalam sitokrom saling silih berganti antara teroksidasi (Fe^{3+}) dan tereduksi (Fe^{2+}) dalam rantai transpor elektron yang termasuk proses fosforilasi oksidatif di dalam mitokondria. Berdasarkan struktur lapisan ikatannya, sitokrom dibedakan menjadi sitokrom a, b, dan c (Kadri, 2012).

Penelitian mengenai identitas spesies dan kekerabatan genetik pada spesies invertebrata laut sangat penting karena keanekaragaman ini penting antara lain untuk sumber dan seleksi gen, penentuan kekerabatan, penentuan proses evolusi dan ekologi serta untuk tujuan konservasi (Toha, 2007). Penelitian aspek ini diantaranya dilakukan oleh (Pranata, 2020) mengetahui tingkat keanekaragaman dan hubungan genetik lobster *Panulirus versicolor* di perairan Teluk Cenderawasih. (Aprilia, 2014) Amplifikasi Gen COI dan 16s rRNA dari Invertebrata Laut *Plakobranchus ocellatus*. (Kurniasari, 2014) Identifikasi *Synaptula (Echinodermata: Holothuroidea)* Raja Ampat Berdasarkan Gen COI. Penelitian sejenis belum pernah dilakukan secara *in silico*. Peneliti bertujuan menentukan hal diatas menggunakan data primer sekuen nukleotida gen *cytochrome c oxidase 1* (CO1) yang berasal dari invertebrata laut perairan papua. Kajian *in silico* ini juga menggunakan data sekunder yang berasal dari *genbank* untuk mencapai tujuan penelitian.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah:

1. Bagaimana menentukan identitas spesies invertebrata berdasarkan *DNA Barcode* ?
2. Bagaimana menentukan keragaman spesies berdasarkan pendekatan genetika ?
3. Bagaimana menentukan hubungan (genetik) antar individu, spesies, dan antar spesies ?

1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum, penelitian ini bertujuan menentukan karakter genetik invertebrata laut. Secara khusus tujuan penelitian ini adalah:

1. Menentukan identitas spesies invertebrata secara genetik.
2. Menentukan keragaman genetik setiap spesies.
3. Menentukan hubungan (genetik) antar individu, spesies, dan antar spesies.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini meliputi :

1. Karakter genetik diukur pada fragmen gen COI invertebrata laut asal perairan papua.
2. Invertebrata laut yang dianalisis meliputi filum mollusca (chiton dan gurita), arthropoda (lobster), dan echinodermata (teripang dan bulu babi).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah membantu mahasiswa dalam meningkatkan pengetahuan dan keterampilan dalam bidang binformatika genetik. Penelitian juga penting dalam mendukung sumber informasi dan ilmu pengetahuan program studi dalam menentukan kebijakan sumber dan seleksi gen, hubungan kekerabatan, menentukan proses evolusi dan bioekologi serta untuk tujuan konservasi.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis homologi menggunakan *BLAST* dan kemiripan menggunakan *Boldsystem* menunjukkan bahwa teripang berasal dari spesies *Bohadschia marmorata*, lobster berasal dari spesies *Panulirus versicolor*, gurita berasal dari spesies *Octopus cyanea*, chiton berasal dari spesies *Ischnochiton australis*, bulu babi berasal dari spesies *Tripneustes gratilla*. Untuk sekvens chiton tidak ditemukan tingkat kemiripan data melalui *Boldsystem*, hal ini diperkirakan karena belum adanya peneliti yang mendepositkan sekvens spesies tersebut, bisa juga sampel yang diteliti merupakan spesies baru.

Keragaman genetik invertebrata laut ditentukan melalui keragaman haplotipe, komposisi dan keragaman nukleotida, mutasi genetik, sisi polimorfik, dan indeks disparitas. Dari kelima jenis invertebrata laut yang diteliti, keragaman genetik paling tinggi diperoleh bulu babi, sedangkan keragaman genetik paling rendah ada pada teripang. Hal ini sesuai dengan berbagai analisis data yang telah didapatkan.

Hubungan genetik antar individu, spesies, dan antar spesies dibuktikan dengan pohon filogenetik, jarak genetik, jaringan haplotipe, dan AMOVA. Hasil dari analisis hubungan genetik invertebrata laut menunjukkan bahwa semua individu mencerminkan sejarah evolusi yang serupa, meskipun ada sedikit perbedaan hasil data yang perlu dijelaskan lebih lanjut.

5.2 Saran

1. Penelitian lebih lanjut sebaiknya memakai sampel yang lebih beragam dari populasi yang lebih banyak, dengan harapan data yang didapatkan lebih baik untuk dianalisis.
2. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan menambahkan jumlah primer, yang nantinya dapat dilakukan polimorfisme DNA haplotipe sehingga memungkinkan diperolehnya informasi yang lebih baik.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. F., Chow, S., Sakai, M., Cheng, J., Imai, H. 2013. *Genetic diversity and population structure of phonghorn spiny lobster Panulirus Penicillatus in the Pacific region*. Official Journal of the Pacific Science Association. 68(2).
- Abdullah A, Nurilmala M, Sitaressmi KP. 2019. *DNA mini-barcodes sebagai penanda molekuler untuk ketertelusuran label pangan berbagai produk ikan layur*. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 22(1):33-40.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J., 1990. *Basic Local Alignment Search Tool*. J. Mol. Biol. 215, 403-410.
- Akbar, N. 2014. *Keragaman Genetik, Struktur Populasi dan Filogenetik Ikan Tuna Sirip Kuning (Thunnus albacares) di Perairan Maluku Utara dan Ambon, Indonesia*. Tesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Angka, S. L., Suhartono, M. T. 2000. *Biotehnologi Hasil Laut*. Penerbit Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aprilia, F. E., Soewondo, A., Widodo., Toha, AHA. 2014. *Amplifikasi Gen COI dan 16s rRNA dari Invertebrata Laut Plakobranchus ocellatus*. Jurnal Biotropika. 2(5):276-278.
- Bandelt, H. J., Forster, P., Röhl, A. 1999. *Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies*. Mol Biol Evol, 16: 37-48.
- Beaty, T.H, M. D. Fallin, J. B. Hetmanski, I. McIntosh, S. S. Chong, R. Ingersoll, X. Sheng, R. Chakraborty, A. F. Scott. 2005. *Haplotype Diversity in 11 Candidate Genes Across Four Populations*. Genetics Society of America. 171:259-267.
- Benjamin, M. F. 2009. *Power and sample size for nested analysis of molecular variance*. Moleculer Ecology (18)3961-3966.
- Brown WM. 1985. *The mitochondrial genome of animals*. In: Macintyre RJ (ed.) *Molecular Evolutionary Genetics*, Plenum Press, New York.
- Campbell, Neil. A. 2000. *Biologi Jilid I*. Erlangga: Jakarta.
- Colin, P.L., Arneson, C. 1995. *Tropical Pacific Invertebrates*. Beverly Hills, California: Coral Reef Press.
- da Fonseca RR, Johnson WE, O'Brien SJ, Ramos MJ, Antunes A. 2008. *The adaptive evolution of the mammalian mitochondrial genome*. BMC Genom 9: 119.
- Dharmayanti, N. L. P. I. 2011. *Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi*. Wartazoa Vol. 21 (1).
- Djarubito, M. B. 1989. *Zoologi Dasar*. Jakarta: Erlangga.
- Dustin, P. 2012. *Microtubules*. Springer Science & Business Media.

- Ellegren, H., N. Galtier. 2016. *Determinants of genetic diversity*. Nature Reviews Genetics, Nature Publishing Group. 17 (7): 422 - 433.
- Erickson, D.L., and Driskell, A.C. 2012. *Construction and Analysis of Phylogenetic Trees Using DNA Barcode Data*. Methods Mol. Biol 85 (8) : 395-408.
- Excoffier, L., Lischer, H.E.L. 2010. *Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows*. Molecular Ecology Resources. 10:564–567.
- Fatchiyah, A. E., Widyarti, S., & Rahayu, S. 2011. *Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga, 34-55.
- Fitriatin, E. dan Manan, A. 2015. *Pemeriksaan Viral Nervous Necrosis (VNN) Pada Ikan Dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan 7 No. 2: 149-152.
- Franca, L.T.C., E. Carrilho, and T.B.L. Kist. 2002. *A review of DNA sequencing techniques*. Quaterly Reviews of Biophysics 35: 169–200.
- Freeland, J.R. 2005. *Molecular ecology*. West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd., p. 31-60.
- 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.
- Hall BG. 2013. *Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA*. Molecular Biology and Evolution. 30 (5): 1229-1235.
- Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H., and Hallwachs, W. 2004. *Ten Species In One : DNA Barcoding Reveals Cryptic Species In The Neotropical Skipper Butterfly Astraptes fulgerator*. PNAS 101 (41) : 14812-14817.
- Herlina. 2013. *Karakteristik gen Cytochrome Oxidase Subunit I (COI) pada kerang bulu (Anadara antiquata Linn.) asal Perairan Panimbangan dan Bojonegara, Provinsi Banten (Skripsi)*. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB.
- Hewajuli, D.A. dan Dharmayanti, N.L.P.I. 2014. *Perkembangan Teknologi Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction dalam Mengidentifikasi Genom Avian Influenza dan Newcastle Diseases*. WARTAZOA 24 No. 1: 16-29.
- Hillis, D. M. and Bull, J. J. 1993. *An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis*. Systematic Biology 42 182–192.
- Hobbs, J.P., Lynne, V.H., Dean, R.J., Geoffrey, P.J., Philip, L.M. 2013. *High genetic diversity in geographically remote populations of endemic and widespread coral reef Angelfish*. Diversity, 5:39-50.
- Huang, Z., Yang, C., and Ke, D. 2016. *DNA Barcoding and Phylogenetic Relationships In Anatidae*. Mitochondrial DNA 27 (2) : 1042-1044.

- Hubert, N., Kadarusman., A. Wibowo., F. Busson., D. Caruso., S. Sulandari., N. Nafiqoh., L. Pouyaud., L. Ruber., J.C. Avare., F. Herder., R. Hanner., P. Keith. R.K. Hadiaty. 2015. *DNA Barcoding Indonesian Freshwater Fishes : Challenges and Prospects.* DNA Barcodes 3 : 144-169.
- Hughes, A. R, B. D. Inouye, M. T. J. Johnson, N. Underwood, M. Vellend. 2008. *Ecological consequences of genetic diversity.* Ecology Letters. (11): 609–623.
- Hurst, G. D. D. And Jiggins, F.M. 2005. *Problems with Mitochondrial DNA as a Marker In Population, Phylogeographics and Phylogenetic Studies : The Effects of Inherited Symbions.* Proc R Soc B 272 : 1525-15234.
- Indrawan, M., Primack, R. B., Supriatna, J. 2007. *Biologi Konservasi.* Yayasan Obor Indonesia: Jakarta.
- Karim, A., Iqbal, A., Akhtar, R., Rizwan, M., Amar, A., Qamar, U., and Jahan, S. 2015. *Barcode of Fresh Water Fishes From Pakistan.* Mitochondrial DNA : 1- 4.
- Kadri, H. 2012. *Hemoprotein dalam Tubuh Manusia.* Jurnal Kesehatan Andalas 1 No. 1: 22-30.
- Kirsman, 2010. *Isolasi DNA Buah.* <http://kirsman83.weebly.com>. Diakses pada tanggal 27 Januari 2021, pada pukul 17.23 WIB.
- Kumar, S., Gadagkar, S.R. 2001. *Disparity Index: A simple statistic to measure and test the homogeneity of substitution patterns between molecular sequences.* Genetics 158:1321-1327.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K., 2018. *MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms.* Mol. Biol. Evol. 35(6):1547–1549.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. 2016. *MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets.* Mol Biol Evol. 33(7):1870–1874.
- Kurniasari, R.D., Soewondo, A. Toha, AHA. 2014. *Identifikasi Synaptula (Echinodermata : Holothuroidea) Raja Ampat Berdasarkan Gen COI.* Jurnal Biotropika. 2(5): 265-268.
- Lane, F. 1957. *Kingdom of The Octopus.* Jarrolds Publ. Ltd. London : 287 pp.
- Lang, C., Schroeter, S.C. 1976. *Change in sea urchin populations after the destruction of kelp beds.* Mar. Biol. 36: 321-326.
- Lakra, W.S, Goswami. M, Gopalakrishnan A. 2009. *Molecular identification and phylogenetic relationships of seven Indian Sciaenids (Pisces: Perciformes, Sciaenidae) based on 16S rRNA and cytochrome c oxidase subunit I mitochondrial genes A.* Molecular Biology Reports 36 (5): 831-839.
- Langga, I.F., Restu, M., Kuswinanti, T. 2012. *Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (Vitex cofassus Reinw) Serta*

- Analisis Keragaman Genetik Dengan Teknik RAPD-PCR.* J. Sains dan Teknologi 12 No. 3: 265-276.
- Librado, P., Rozas, J., 2009. *DnaSP v5:a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data.* Bioinformatics Applications Note. 25(11)1451-1452.
- Liggins, L, L. Gleeson, C. Riginos. 2014. *Evaluating edge-of-range genetic patterns for tropical echinoderms, Acanthaster planci and Tripneustes gratilla, of the Kermadec Islands, southwest Pacific.* Bulletin of Marine Science. Vol 90 (1): 379-397.
- Lister, H. 2013. *Cells and DNA.* National Institute of Health. Department of Health and Human Services. USA.
- Muchlisin, Z. A., Thomy, Z., Fadli, N., Sarong, M.A., Siti-Azizah, M.N. 2013. *DNA Barcoding Of Freshwater Fishes From Lake Laut Tawar, Aceh Province, Indonesia.* Acta Ichtyiologica Et Piscatoria 43 (1) : 21-29.
- Nontji, A. 2002. *Laut Nusantara.* Cetakan Ketiga. Penerbit Djambatan Jakarta.
- Nurul, D. 1989. *Beberapa Catatan Mengenai CHITON.* Nomor 2 : 37 – 45. Volume XIV.
- Nugraha, F., Roslim, D.I., Ardilla, Y.P., Herman. 2014. *Analisis Sebagian Sekuen Gen Ferritin2 pada Padi (Oryza sativa L.) Indragiri Hilir, Riau.* Biosaintifika Journal of Biology and Biology Education 6 No. 2: 94-103.
- Owada, M. 2018. *Phylogenetic Relationships Among Japanese Species of the Genus Ischnochiton (Polyplacophora: Ischnochitonidae), Including a New Species.* ZOOLOGICAL SCIENCE 35: 281–291.
- Pranata, B., Toha, AHA., Kolibongso, D. 2020. *Genetic Of Panulirus versicolor Lobster In Cendrawasih Bay Papua And Lombok Waters West Nusa Tenggara.* Jurnal Enggano. 5(2): 2527-5186.
- Prasetyo, D., & Sugardjito, J. 2007. *Genetic variations of East Kalimantan Orangutan based on D-Loop mitochondria DNA.* Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 8(4).
- Primmer, C. R, T. Borge, J. Lindell, G. P. Saetre. 2002. *Single-nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in the avian genome.* Molecular Ecology (11):603-612.
- Rahayu, D. A, E. D. Nugroho, D. Listyorini. 2019. *DNA Barcoding Ikan Introduksi Khas Telaga Sari, Kabupaten Pasuruan.* Biotropika: Journal of Tropical Biology. Vol 7(2)51-62.
- Rahayu, D. A, M. Jannah. 2019. *DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia.* Jakarta Selatan: Yayasan Inspirasi Ide Berdaya.
- Rahmadina. 2019. *Modul Ajar Taksonomi Invertebrata.* Medan.

- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. 2007. *BOLD: The Barcode of Life Data System*. Molecular ecology notes, 7(3), 355-364.
- Reddy, A., Prakash, V., Shiveji, S. 2007. *A Rapid, Non-Invasive, PCR-Based Method for Identification of Sex of The Endangered Old World Vultures Implications for Captive Breeding Programmes*. Current Science. 92(5).
- Romimohtarto, K., Juwana, S. 2004. *Meroplanton Laut*. Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Roslim, D.I., Kumairoh, S., Herman. 2016. *Confirmation of Tuntun Angin (Elaeocarpus floribundus) Taxonomic Status Using matK and ITS Sequences*. Biosaintifika 8 No. 3: 392-399.
- Saitou, N & M. Nei. 1987. *The neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees*. Molecular Biology and Evolution 4:406-425.
- Simon C. 1991. *Molecular systematics at the species boundary: exploiting conserved and variable regions of the mitochondrial genome of animals via direct sequencing from amplified DNA*. In: Hewitt GM, Johnston AWB, Young JPW. (ed.). Molecular Techniques in Taxonomy. Nato Advanced Studies Institute, Series H: Cell Biology. Springer Verlag, Berlin.
- Solihin DD. 1994. *Ulas balik. Peran DNA Mitokondria (mtDNA) dalam Studi Keragaman Genetik dan Biologi populasi pada Hewan*. Hayati 1 (1): 1-4. [Indonesian].
- Soliman, T., Fernandez-Silva, I., & Reimer, J. D. 2016. *Genetic population structure and low genetic diversity in the over-exploited sea cucumber Holothuria edulis Lesson, 1830 (Echinodermata: Holothuroidea) in Okinawa Island*. Conservation Genetics, 17(4), 811–821.
- Stoeckle, M. 2003. *Taxonomy, DNA and The Barcode of Life*. BioScience 53 : 2-3.
- Sudoyo, H. 1995. *Mutasi DNA mitokondria sebagai penyebab kelainan genetika*. Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sumitro, SB., Toha, AHA., Widodo., Hakim, L., Dailami, M., Binur, R., Haryati, J., Mohammed, Q., Jeni., Nurhani, W., Takdir, M., Leuwakabes, J., Arlyza, I., Abubakar, H., Lutfi., Kuncoro, A., Andika. 2015. *Genetika untuk Konservasi*. Konservasi Biodiversitas Raja4. 4(7):1-2.
- Suryo. 2004. *Genetika Strata 1*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Suwigyo, S. 2005. *Vertebrata Air Jilid II*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tan Tular, L.A. 2012. *Tesis Master: Keragaman serta Distribusi Lobster Anggota Panuridae dan Scyllaridae di Perairan Pantai Pulau Lombok*. Program Pascasarjana, Program Studi Biologi, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Taylor, A.L. 2014. *Population Structure and Phylogeography of Octopus cyanea and Lethrinus Species In The South-Western Indian Ocean*. Thesis. Unpublished.

- Taylor HR, Harrist WE. 2012. *An emergent science onthe brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding*. Molecular Ecology Resources 12 (3): 377-388.
- Thompson, J.D., Desmond, G.H., Toby, J.G., 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.
- Tindi, M., Mamangkey, N. G. F., & Wullur, S. 2017. *DNA Barcode dan analisis filogenetik molekuler beberapa jenis bivalvia asal perairan Sulawesi Utara berdasarkan gen COI*. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis, 5(2), 32-38.
- Toha, A.H.A. 2001. *Deoxyribo nucleic acid: keanekaragaman, ekspresi, rekayasa dan efek pemanfaatannya*. Alfabeta: Bandung.
- Toha, AHA. 2007. *Keragaman Genetik Bulu Babi (Echinoidea)*. Biota. 12 (2):131-135.
- Toha, AHA. 2006. *Manfaat Bulu Babi dari Bahan Pangan sampai Organisme Hias*. Jurnal Perikanan dan Ilmu Perairan 13 (1): 77-82.
- Toha, AHA, Dailami, M., Anwar, S., Setiawan, J.B., Jentewo, Y., Lapadi, I., Sutanto, S., Aryasari, R., Ambriyanto., Runtuboi, F., Madduppa, H. 2020. *The genetic relationships and Indo-Pacific connectivity of whale sharks (Rhincodon typus) with particular reference to mitochondrial COI gene sequences from Cendrawasih Bay, Papua, Indonesia*. BIODIVERSITAS. Vol. 21 (5) 2159-2171.
- Triggs, S. 1988. *Conservation genetics in New Zealand: a brief overview of principles and applications*. Science and Research Directorate, Department of Conservation.
- Utami, S.T., Kusharyati, D.F., Pramono, H. 2013. *Pemeriksaan Bakteri Leptospira Pada Sampel Darah Manusia Suspect Leptospirosis Menggunakan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction)*. BALABA 9 No. 2: 74-81.
- Van Nieuwenhove AHM, Ratsimbazafy HA, Kochzius M. 2019. *Cryptic diversity and limited connectivity in octopuses: Recommendations for fisheries management*. PLoS ONE 14(5): e0214748
- Wibowo, S.E., Djaelani, M.A., Pancasakti, H. 2013. *Pelacakan Gen Sitokrom Oksidase Sub Unit I (COI) DNA Mitokondri Itik Tegal (Anas domesticus) Menggunakan Primer Universal*. BIOMA 15 No. 1: 20-26.
- Widyastuti, D. A. 2017. *Isolasi DNA Kromosom Salmonella sp. dan Visualisasinya pada Elektroforesis Gel Agarosa*. Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek II. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta: 311-317.
- Yao, H., Song J., Liu C., Luo K., Han., Li Y., and Pang. 2010. *Use of ITS2 Region as The Universal DNA Barcode for Plants and Animals*. PloS One 5 :e131102.

- Yonge, C.M., Thompson, T.E. 1976. *Living Marine Molluscs*. William Collins and Sons & Co., Ltd., London : 208 pp.
- Yu, S. S. 2014. *DNA Barcoding and Phylogeographic Analysis of Nippoacmea Limpets (Gastropoda : Lottidae) In China*. Journal Mollusca Stud. 80 (4) : 420-429.
- Yusron, E. 2010. *Keanekaragaman Spesies Echinodermata di Perairan Likupang, Minahasa Utara, Sulawesi Utara*. Ilmu Kelautan (Indonesian Journal of Marine Sciences) 15(2):85-90.
- Yuwono, T. *Biologi Molekular*. Jakarta: Erlangga, 2005.

