Identifikasi dan Analisis Filogenetik Gastropoda pada Ekosistem Mangrove Tapak Kota Semarang dengan Pendekatan DNA *Barcoding*

Adella Friliana Rindyaneputri, Diah Ayuningrum, Sigit Febrianto, Max Rudolf Muskananfola*

Departemen Sumber Daya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah, 50275 Indonesia
Email: max.rudolf@live.undip.ac.id

Abstrak

Ekosistem mangrove memiliki berbagai peranan ekologis, salah satunya adalah sebagai habitat organisme gastropoda. Gastropoda ekosistem mangrove berperan sebagai bioindikator dan dekomposer. Identifikasi spesies gastropoda secara molekuler di kawasan mangrove penting dilakukan untuk mengetahui spesies-spesies gastropoda yang ditemukan secara akurat. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies gastropoda dan tingkat kekerabatannya di Kawasan Mangrove Desa Tapak Kecamatan Tugu Kota Semarang yang dilaksanakan pada bulan September - November 2023. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu deskriptif-kuantitatif. Pengambilan sampel penelitian dilakukan dengan metode *purposive sampling.* Penanda genetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah gen *Cytochrome Oxydase I* (COI) dengan penyejajaran sekuens DNA menggunakan metode MUSCLE. Analisis filogenetik berbasis algoritma *neighbor joining* (NJ) 1000 *bootstrap* pada *software* MEGA X. Hasil identifikasi molekuler diperoleh bahwa sampel GT1 memiliki kemiripan sebesar 96,12% (*Percent Identity)* dengan *Pirenella alata* dan sampel GT2 sebesar 99,69% (*Percent Identity)* dengan *Telescopium telescopium.* Hasil analisis filogenetik menunjukkan kladogram kedua spesies ini terdapat pada klade yang berbeda. Klade I terdiri dari sampel GT1 beserta 4 spesies pembanding lainnya dalam 1 genus, yaitu *Pirenella alata, Cerithidea microptera, Pirenella nanhaiensis,* dan *Pirenella incisa.* Klade II terdiri dari sampel GT2 beserta 4 spesies pembanding lainnya yaitu *Telescopium telescopium, Varicinassa variciferus, Laevilitorina caliginosa,* dan *Monoplex krebsii.*

Kata kunci : Identifikasi Molekuler, Kecamatan Tugu, MEGA X, *Pirenella alata*, *Telescopium telescopium*

Abstract

Identification and Phylogenetic Analysis of Gastropods in The Mangrove Ecosystem of The Semarang City Using DNA Barcoding Approach

Mangrove ecosystem has many ecological roles, one is as gastropods habitat. Mangrove ecosystems gastropods act as bioindicators and decomposers. Gastropods mangroves areas molecular identification is important to accurately the types of gastropod species. This research aims to identify gastropods species and the relationship levels in the Mangrove Area of Tapak Village, Tugu District, Semarang conducted from September − November 2023. This research using descriptive-quantitative method. Research sampling using purposive sampling method. The genetic marker used in this research is the Cytochrome Oxydase I (COI) gene with DNA sequence alignment MUSCLE method. Phylogenetic analysis based on the neighbor joining (NJ) 1000 bootstrap algorithm in MEGA X. The results of molecular identification showed that GT1 sample had a similarity of 96.12% (Percent Identity) to Pirenella alata and GT2 sample was 99.69% (Percent Identity) similar to Telescopium telescopium. The results of the phylogenetic of two species analysis show that the cladograms are in different clades. Clade I consist of sample GT1 along with 4 other comparison species in 1 genus, namely Pirenella alata, Cerithidea microptera, Pirenella nanhaiensis, and Pirenella incisa. Clade II consists of sample GT2 along with 4 other comparison species, namely Telescopium telescopium, Varicinassa variciferus, Laevilitorina caliginosa, and Monoplex krebsii.

Keywords : *MEGA X, Molecular Identification, Pirenella alata, Telescopium telescopium, Tugu District*

PENDAHULUAN

Ekosistem mangrove menjadi habitat beberapa biota yang hidup di daerah peralihan perairan payau dan laut. Serasah daun mangrove dan hasil hewan asosiasi menyebabkan kadar nutrien di kawasan tersebut semakin tinggi

*Corresponding author http://ejournal.undip.ac.id/index.php/buloma Diterima/Received : 11-05-2024
DOI:10.14710/buloma.v14i2.63541 Disetujui/Accepted : 09-04-2025

(Widiardja *et al.,* 2021). Ekosistem mangrove bermanfaat sebagai kawasan pemijahan, pengasuhan, perkembangan dan daerah mencari makan beberapa jenis organisme (Kusuma *et al.,* 2020). Ekosistem mangrove juga berperan sebagai penangkal endapan lumpur bagi ekosistem padang lamun dan terumbu karang (Utina *et al.,* 2018).

Biota yang hidup di ekosistem mangrove berasal dari kelas Gastropoda, Crustacea, Bivalvia, Hirudinea, Polychaeta, dan Amphibi (Afonso *et al.,* 2016). Gastropoda mudah bereaksi terhadap perubahan lingkungan perairan karena sifatnya yang infauna. Gastropoda berperan sebagai dekomposer serasah daun dan materi organik di hutan mangrove sehingga mampu menjaga kesuburan tanah, hal ini penting dalam struktur rantai makanan (Mustofa *et al.,* 2023). Salah satu masalah yang dihadapi gastropoda yaitu adanya tekanan predasi yang ditimbulkan oleh air pasang di kawasan mangrove (Reis *et al.,* 2021). Hal ini menyebabkan gastropoda perlu mengontrol jarak dengan substrat tempat hidup.

Identifikasi spesies gastropoda yang hidup di ekosistem mangrove penting dilakukan sebagai sumber referensi survei sumber daya alam setempat. Gastropoda termasuk salah satu biota yang berasosiasi pada kawasan mangrove rehabilitasi di ekosistem mangrove Tapak, Kota Semarang. Mangrove di kawasan ini mulai ditanami sekitar 200 ha sejak tahun 2000 oleh Komunitas Prenjak Tapak sebagai kegiatan pelestarian (Mardiyah *et al.,* 2021). Kerentanan yang perlu diwaspadai di daerah pesisir Semarang yaitu sering terjadinya banjir rob sehingga menjadi tantangan besar bagi gastropoda dalam mengatur jarak dengan substrat dasar perairan (Karondia *et al.,* 2022). Identifikasi spesies gastropoda memiliki tantangan besar karena gastropoda dikenal memiliki keragaman ciri morfologi yang kompleks dan semakin sulit dengan hadirnya evolusi konvergen (Ran *et al.,* 2020). Teknologi yang berkembang menghadirkan identifikasi spesies molekuler menggunakan teknik DNA *barcoding* (Ijaz *et al.,* 2023). Teknik DNA *barcoding* memiliki ketelitian tinggi dan mampu mengidentifikasi secara akurat (Kamal *et al.,* 2021). Pendataan akurat dengan DNA *barcoding* bermanfaat untuk mengetahui keberadaan spesies gastropoda dan kekerabatannya melalui analisis filogenetik. Gen *Cytochrome Oxydase I* (COI) mampu mengidentifikasi spesies secara luas dan evolusi molekuler tinggi (Solichin *et al.,* 2020). Luasnya jangkauan gen COI dalam mengidentifikasikan spesies menjadi solusi dalam melakukan identifikasi spesies gastropoda. Pengetahuan mengenai identifikasi molekuler gastropoda di Kawasan Mangrove Desa Tapak Kecamatan Tugu Kota Semarang cenderung masih sedikit. Oleh karena itu, penting untuk dilakukan identifikasi molekuler dan filogenetik gastropoda menggunakan pendekatan DNA *barcoding* di Kawasan Mangrove Desa Tapak Kecamatan Tugu Kota Semarang.

MATERI DAN METODE

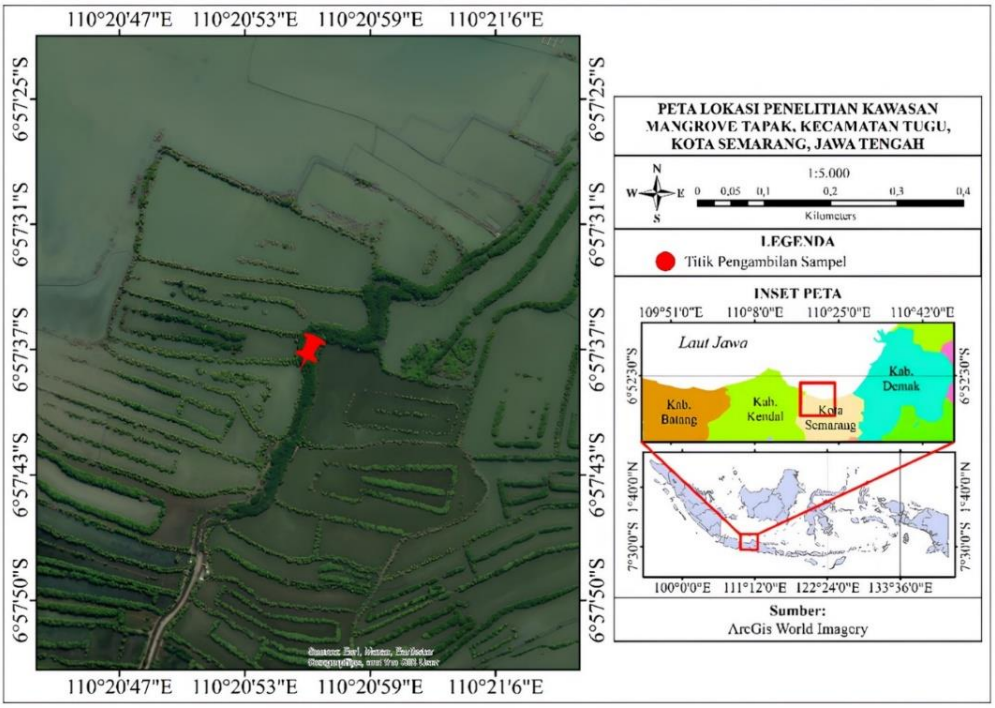
Penelitian dilakukan pada Kawasan Mangrove Desa Tapak Kecamatan Tugu Kota Semarang di daerah dekat tambak pada titik koordinat S 06°57'37.46" E 110°20'56.39". Pengambilan sampel berupa gastropoda dan dilakukan pada bulan September 2023. Lokasi ini dipilih berdasarkan pertimbangan bahwa terdapat beberapa spesies gastropoda yang hidup di substrat daerah mangrove yang dekat dengan area pertambakan. Peta lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 1.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat sampel gastropoda yang didapatkan dari kawasan dekat tambak di Kawasan Mangrove Desa Tapak Kecamatan Tugu Kota Semarang, Chelex 10% (Walsh *et al.,* 1991), ddH_2O, primer *forward* LCOI1490 adalah 5'-GGTCAAATCATAAAGATATTGG-3' dan primer *reverse* HCO2198 5'- TAAACTTC AGGGTGACCAAAAAATCA-3' (Folmer *et al.,* 1994), *MyTaq Red Mix (Bioline),* serbuk agarose, SB Buffer, *Floro Safe,* dan DNA *Ladder.*

Alat yang digunakan antara lain *centrifuge, heating block, vortex,* Spektrofotometer *NanoDrop (Thermo Scientific NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometers), Thermal cycler (BIO-RAD T100 Thermal Cycler),* UV *Transilluminator,* elektroforesis horizontal, *micropipet*, PCR *tube, microtube, white tip*, *yellow tip, software NanoDrop* 2000/2000C dan *software* MEGA X.

Identifikasi Molekuler Gastropoda

Identifikasi molekuler dibagi menjadi empat tahapan, yaitu ekstraksi, amplifikasi, elektroforesis, visualisasi hasil PCR, dan sekuensing DNA. Ekstraksi dilakukan dengan mengambil organ tubuh gastropoda dan menggunakan metode Chelex 10%. Amplifikasi dilakukan dengan komposisi *mix* PCR yang dibuat dalam volume tetap 25 µl, terdiri dari 12,5 µl *MyTaq Red Mix (Bioline),* 1 µl Primer *Forward*



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel Gastropoda

LCO1490 10µM, 1 µl Primer *Reverse* HCO2198 10µM, 8,5 µl ddH_2O, dan 2 µl DNA *template*. Amplifikasi dilakukan menggunakan alat *Thermal cycler (BIO-RAD T100 Thermal Cycler)* dengan pengaturan program sebagai berikut: *pre heat* 95°C selama 2 menit, dilanjutkan dengan 30x siklus *denaturation* 94°C selama 30 detik, *annealing* 45°C selama 1,5 menit, *extention* 72°C selama 1 menit, *final extention* 72°C selama 5 menit (Menabit *et al.,* 2022). Hasil amplifikasi dilanjutkan dengan elektroforesis menggunakan gel agarose 1% yang terbuat dari serbuk agarose 0,4 gram dan SB Buffer 40 ml. Elektroforesis dilakukan dengan pengaturan 30 menit, 100V, dan 400A. Tahapan dilanjutkan dengan visualisasi menggunakan UV *Transilluminator.*

Analisis Urutan DNA dan Filogenetik

Sampel larutan hasil amplifikasi dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia untuk dilakukan proses sekuensing DNA. Hasil sekuens DNA yang didapatkan kemudian diedit menggunakan *software* MEGA X. Validasi dilakukan menggunakan BLAST *(Basic Local Aligment Search Tool)* di *website* NCBI pada laman https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ untuk mengetahui tingkat kesamaan spesies yang ada pada *GenBank library*.

Analisis filogenetik dilakukan penyejajaran dengan metode *Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation* (MUSCLE). Pohon filogenetik dikonstruksi dengan memanfaatkan beberapa spesies pembanding lainnya dari data *GenBank* NCBI (Ayuningrum *et al.,* 2021). Konstruksi filogenetik menggunakan algoritma *neighbor joining* (NJ) dengan analisis 1000 *bootstrap* (Triandini dan Wangiyana, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Molekuler Gastropoda

Sampel yang ditemukan di lokasi penelitian sejumlah dua sampel yang diberi kode GT1 dan GT2 dapat dilihat pada Gambar 2. Sampel kemudian dilanjutkan untuk analisis laboratorium.

Kondisi konsentrasi dan kemurnian DNA dari hasil ekstraksi dapat diketahui menggunakan uji *NanoDrop* (Tabel 1). Konsentrasi DNA yang baik memiliki nilai di atas 100ng/µl dan kemurnian DNA optimal berada pada kisaran 1,8-2,0 (Hikmatyar *et al.,* 2015). Konsentrasi DNA hasil uji *NanoDrop* pada kode sampel GT1 sebesar 1199,9 ng/µl, sedangkan pada kode sampel GT2 dihasilkan sebesar 1383,5 ng/µl. Konsentrasi DNA akan berdampak pada hasil amplifikasi. Konsentrasi DNA terlalu rendah maka fragmen

yang dihasilkan tipis atau tidak terlihat, sedangkan apabila konsentrasi DNA terlalu tinggi menyebabkan fragmen terlalu tebal dan tidak bisa dibaca (Harahap, 2017). Kode sampel GT1 memiliki kemurnian DNA sebesar 1,2, sedangkan kode sampel GT2 sebesar 1,68. Rendahnya nilai kemurnian ini dapat disebabkan oleh adanya kontaminasi protein pada sampel DNA (Ningsih *et al.,* 2018). Berdasarkan hasil uji *NanoDrop* yang sudah dilakukan, dapat diketahui bahwa kedua sampel memiliki nilai konsentrasi yang baik namun memiliki nilai kemurnian yang rendah.

Hasil proses elektroforesis menunjukkan bahwa sampel berhasil tervisualisasi dan sejajar dengan *DNA Ladder* pada kisaran 700bp (Gambar 2). Panjang sekuens nukleotida *P. alata* yaitu 679bp dan *T. telescopium* yaitu 669bp. Primer *forward* LCO1490 dan primer *reverse* HCO2198 memiliki target gen COI pada kisaran 700bp (Triandiza *et al.,* 2022). DNA yang mampu berpendar atau dapat tervisualisasi dengan baik menandakan bahwa proses amplifikasi DNA berhasil.

Analisis Urutan DNA dan Filogenetik

Hasil analisis BLAST memperoleh informasi bahwa spesies gastropoda yang ditemukan di Kawasan Mangrove Desa Tapak Kecamatan Tugu Kota Semarang antara lain adalah *Pirenella alata* dan *Telescopium Telescopium* (Tabel 2). Kedua spesies yang diteliti diketahui memiliki suku *(family)* yang sama yaitu Potamididae. Sampel gastropoda dengan kode GT1 memiliki nilai *Query Cover* sebesar 94% dengan *P. alata.* Sampel dengan kode GT2 memiliki kemiripan sebesar 95% dengan spesies *T. telescopium*. Angka pada *Query Cover* pada hasil BLAST menandakan presentase panjang sekuens dengan suatu spesies yang ada di *GenBank* (Sihotang *et al.,* 2021). Sampel GT1 memiliki *Percent Identity* sebesar 96,12% dengan spesies pembanding, sedangkan GT2 sebesar 99,69%. Besaran angka pada *Percent Identity* menunjukkan kemiripan secara identik pada sekuens sampel dengan sekuens pada *GenBank* (Newell *et al.,* 2013). *E Value* pada hasil BLAST menunjukkan tingkat kekerabatan. Nilai *E Value* yang semakin kecil maka semakin tinggi kekerabatan antara sampel dan target. Sampel GT1 dan GT2 memiliki nilai *E Value* sebesar 0.0 sehingga dapat diketahui bahwa sampel GT1 memiliki kekerabatan yang tinggi dengan *P. alata* dan GT2 memiliki kekerabatan yang tinggi pula dengan *T. telescopium.* Indikator hasil BLAST dapat dikatakan termirip apabila memiliki nilai *Query Coverage* mendekati angka 100% dengan nilai *E Value* mendekati 0 (Gaffar *et al.,* 2021). Berdasarkan indikator ini maka dapat dikatakan bahwa kedua sampel penelitian memiliki hasil termirip dengan spesies pembanding *P. alata* dengan *Ref. Number* M2831975.1 dan *T. telescopium* dengan *Ref. Number* HE680637.1.

(a)

(b)

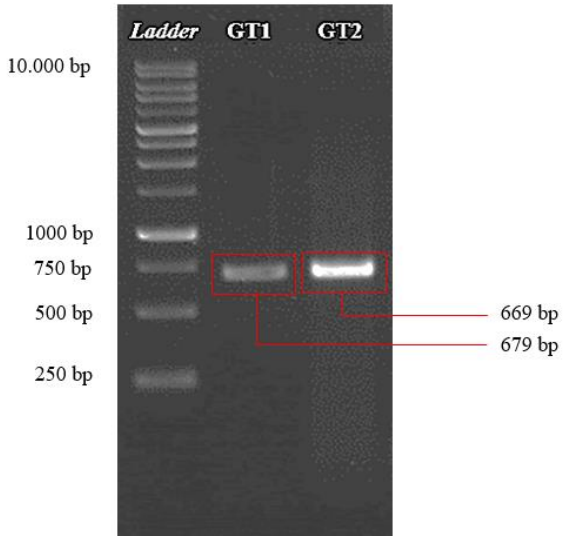
Gambar 2. Sampel Gastropoda (a) Sampel GT1 (b) Sampel GT2

Tabel 1. Hasil Uji Konsentrasi dan Kemurnian DNA

No.	Sampel ID	Konsentrasi Asam Nukleat (ng/µl)	260/280
1.	GT1	1199,9	1,2
2.	GT2	1383,5	1,68

Tabel 2. Hasil Penelusuran Spesies Gastropoda dengan Sistem BLAST

No	Kode Sampel	Hasil Identifikasi	*Query Cover*	*Percent Identity*	*E Value*	*Ref. Number*
1.	GT1	*Pirenella alata*	94%	96,12%	0.0	M2831975.1
2.	GT2	*Telescopium telescopium*	95%	99,69%	0.0	HE680637.1



Gambar 2. Hasil Visualisasi Produk PCR Gastropoda GT1 dan GT2

Hasil konstruksi filogenetik menunjukkan keberadaan 1 kelompok *in group* dan 1 kelompok *out group* (Gambar 3). Kelompok *in group* terdiri dari 2 klade. Spesies yang digunakan sebagai *out group* dalam pembuatan konstruksi pohon filogenetik adalah *Flabellina* sp. yang berasal dari subkelas Heterobranchia, ordo Nudibranchia. Subkelas ini dipilih karena memiliki subkelas yang berbeda dengan klade 1 dan 2. Kelompok *out group* ditentukan sebagai kelompok luar yang memiliki urutan genetik jauh dari taksa kelompok *in group* (DeSalle *et al.,* 2023).

Klade I terdiri dari 5 spesies yaitu spesies sampel GT1, *P. alata, Cerithidea microptera, Pirenella nanhaiensis,* dan *Pirenella incisa.* Terdapat 2 spesies yang memiliki kekerabatan dekat dalam klade I yaitu spesies sampel GT1 dan *P. alata.* Klade I berisi anggota genus *Pirenella* dan 1 genus *Cerithidea.* Genus *Cerithidea* merupakan sinonim dari genus *Pirenella* (Dwijaya *et al.,* 2021).

Berdasarkan hasil penelusuran pada *World Register of Marine Science* (WORMS) juga diketahui bahwa spesies *Cerithidea microptera* (Kiener, 1841) merupakan nama lain dari *Pirenella microptera* (Kiener, 1841). Adanya hal ini dapat dikatakan bahwa klade I terdiri dari genus yang sama. Kekerabatan antara spesies sampel GT1 dan *P. alata* tergolong kekerabatan dekat yang ditunjukkan dengan nilai *bootstrap.* Nilai *bootstrap* antara kedua spesies ini yaitu 88%. Validitas tipologi dari nilai *bootstrap* yang lebih dari 85% tergolong tinggi (Lestari *et al.,* 2018). Kekerabatan terjauh dalam klade I yaitu pada spesies *P. incisa.*

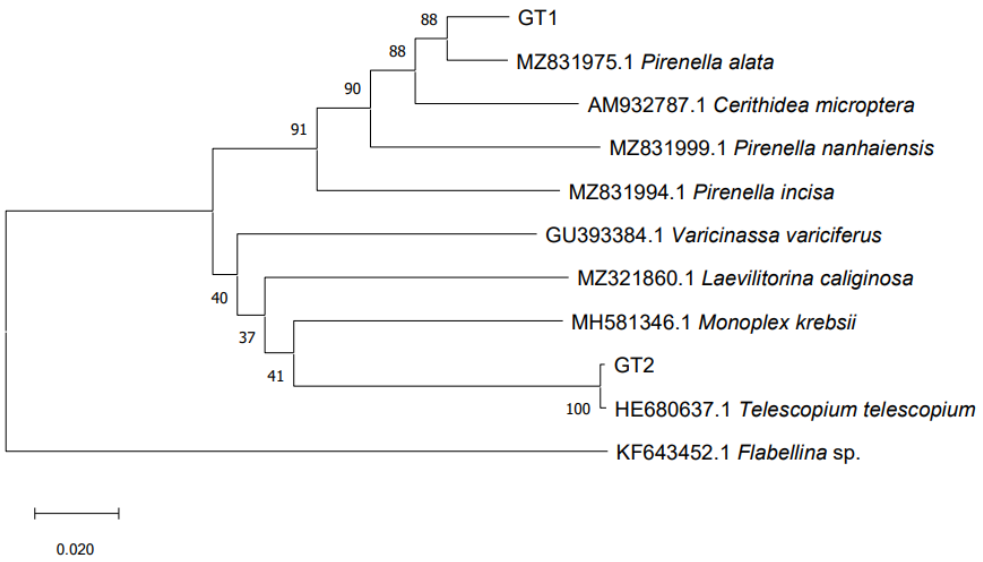
Klade II terdiri atas 5 spesies yaitu spesies

sampel GT2, *T. telescopium, Varicinassa variciferus, Laevilitorina caliginosa,* dan *Monopex krebsii.* Terdapat 2 spesies dengan kekerabatan dekat dalam klade II yaitu spesies dengan kode sampel GT2 dan *T. telescopium* dengan nilai *bootstrap* 100%. Hasil ini menunjukkan kekerabatan terdekat antara spesies sampel GT2 dan *T. telescopium.* Nilai *bootstrap* yang tinggi menjadi indikasi bahwa pengelompokan sudah dapat dipercaya (Pangestika *et al.,* 2015). Kekerabatan terjauh dalam klade II yaitu *V. variciferus.* Adanya nilai kekerabatan yang jauh pada klade II antara spesies sampel GT2 dengan spesies *V. variciferus, L. caliginosa,* dan *M. krebsii* disebabkan oleh tidak adanya spesies lain dalam genus *Telescopium* selain *T. telescopium* dalam hasil BLAST pada NCBI. Berdasarkan hasil penelusuran pada *World Register of Marine Science* (WORMS) juga diketahui bahwa genus *Telescopium* tidak memiliki spesies lain selain *T. telescopium.* Hasil penelusuran tersebut hanya menunjukkan bahwa terdapat beberapa spesies lain seperti *Telescopium indicator* (Montfort, 1810) dan *Telescopium mauritsi* (Butot, 1954), akan tetapi nama spesies tersebut merupakan nama sinonim dari *T. telescopium.* Kekerabatan yang jauh menyebabkan hasil dari konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa panjang cabang pada beberapa spesies yaitu *V. variciferus, L. caliginosa,* dan *M. krebsii* berukuran lebih panjang daripada spesies *T. telescopium.* Kekerabatan yang jauh ditunjukkan dengan ukuran panjang cabang yang lebih panjang (Subari *et al.,* 2021).

Keunggulan dan Keterbatasan Penelitian

Keunggulan dari penelitian ini adalah penggunaan metode identifikasi molekuler berbasis gen COI yang memiliki tingkat akurasi tinggi dalam mengidentifikasi spesies gastropoda. Selain itu, analisis filogenetik yang dilakukan mampu memperjelas hubungan kekerabatan antar spesies secara lebih detail, sehingga dapat menjadi dasar yang kuat untuk studi konservasi dan keanekaragaman hayati di kawasan mangrove. Penggunaan DNA barcoding berbasis gen COI telah diakui sebagai metode yang efektif dan akurat untuk identifikasi spesies di berbagai kelompok hewan, termasuk gastropoda (Weigand *et al*., 2019). Selain itu, COI barcoding mendukung analisis filogenetik dengan data genetik yang dapat meningkatkan pemahaman tentang keanekaragaman spesies.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah jumlah sampel yang terbatas hanya dua individu, sehingga variasi genetik antar populasi tidak dapat dianalisis secara komprehensif. Selain itu, nilai kemurnian DNA pada beberapa sampel tergolong rendah, yang dapat berpotensi mempengaruhi hasil amplifikasi dan interpretasi data. Untuk studi lanjutan, disarankan menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak dari berbagai lokasi berbeda serta mengoptimalkan proses ekstraksi DNA untuk mendapatkan kemurnian yang lebih tinggi. Kualitas DNA yang buruk dapat menyebabkan kegagalan dalam amplifikasi PCR dan kesalahan dalam interpretasi filogenetik (Meng *et al*., 2019).



Gambar 3. Pohon Filogenetik Gastropoda Menggunakan Metode *Neighbor-Joining*

Ukuran sampel yang kecil juga membatasi kemampuan untuk mengungkap variasi genetik yang sebenarnya di dalam populasi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesies gastropoda yang ditemukan di Kawasan Mangrove Desa Tapak, Kecamatan Tugu, Kota Semarang berhasil diidentifikasi sebagai *Pirenella alata* (sampel GT1) dan *Telescopium telescopium* (sampel GT2) berdasarkan analisis molekuler gen COI. Tingginya tingkat kekerabatan antara sampel penelitian dengan spesies targetnya ditunjukkan oleh nilai bootstrap sebesar 88% untuk GT1 terhadap *P. alata* dan 100% untuk GT2 terhadap *T. telescopium*, yang mengindikasikan bahwa sampel yang ditemukan memiliki kesamaan genetik yang erat dengan spesies pembanding. Kondisi ini dapat disebabkan oleh habitat yang serupa, tekanan evolusi yang sama, serta minimnya perbedaan genetik antar populasi dalam satu wilayah geografis, sehingga menghasilkan tingkat kemiripan sekuens DNA yang tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kebmenristek, yang telah memberikan dana penelitian melalui Tahun Anggaran 2023 Penelitian Dasar Kompetitif Nasional (PDKN) dengan hibah Nomor Kontrak Induk: 017/E5/PG.02.00.PL/2023 dan Nomor Kontrak Turunan: 345-06/UN7.D2/PP/IV/2023. Penulis berterima kasih kepada pengulas anonim yang telah memberikan komentar dan saran untuk memperbaiki naskah ini untuk publikasi.

DAFTAR PUSTAKA

Afonso, J.T., Atini, B. & Ledheg, L., 2016. Keanekaragaman Jenis Fauna di Kawasan Ekosistem Mangrove Pantai Atapupu Desa Jenilu Kecamatan Kakuluk Mesak Kabupaten Belu. *Jurnal Pendidikan Biologi,* 1(1): 4-5.

Ayuningrum, D., Novitasari, D.T., Sabdaningsih, A. & Jati, O.E. 2023. Preliminary Molecular Identification of Proteolytic and Lipolytic-enzyme Producing Bacteria Isolated from Sediment of *Litopenaeus vannamei* Pond. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol,* 31(3): 39-49.

DeSalle, R., Narechania, A. & Tessler, M., 2023. Multiple Outgroups Can Cause Random Rooting in Phylogenomics. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* 184: 1-10.

Dwijaya, B.A., Krisnanti, S.A. & Ramdhani, A., 2021. Kontribusi Ekosistem Mangrove Terhadap Komunitas Gastropoda di Pantai Bahagia, Muara Gembong, Bekasi, Jawa Barat. *Syntax Idea,* 3(9): 2057-2071.

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 Biotechnol,* 3(5), 294– 299.

Gaffar, S., Sumarlin., Haryono, M.G. & Pidar, H., 2021. Penentuan Jenis dan Status Konservasi Pari Layang-Layang yang Didaratkan di TPI Gunung Lingkas Kota Tarakan dengan Pendekatan Molekuler. *BIOTROPIKA,* 9(1): 80-87.

Harahap, A.S., 2017. Uji Kualitas DNA Beberapa Populasi Pohon Kapur Sumatera. *Journal of Animal Science and Agronomy Panca Budi,* 2(2): 1-6.

Hikmatyar, M.F., Royani, J.I. & Dasumiati., 2015. Isolasi dan Amplifikasi DNA Keladi Tikus (Thyponium flagelliform) untuk Identifikasi Keragaman Genetik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia,* 2(2): 42-48.

Ijaz, Q.A., Sulaman, A., Baloch, D.M., Shafi, M., Muhammad, F. & Rashid, S., 2023. Identification of Nine Gastropod Species with Three New Records using Cytochrome Oxidase Sub-Unit 1 Marker. *Pakistan Journal of Zoology,* 1(1): 1-4.

Kamal, M.M., Butet, N.A., Rahayu, E.S. & Hakim, A.A., 2021. Identifikasi Karakteristik Molekuler Gen 16S rRNA Parsial pada Paus Sperma (Physeter macrocephalus Linnaeus, 1758). *Habitus Aqua J,* 2(1): 21-28.

Karondia, L.A., Handoko, E.Y. & Handayani, H.H. 2022. Analisa Kerentanan Pesisir Kota Semarang menggunakan Algoritma CVI *(Coastal Vulnerability Index). Journal of Geodesy and Geomatics,* 18(1): 99-111.

Kusuma, C., Iswahyudi., Hidayat, A. & Noorachmat, B.P., 2020. Sustainable Status of Mangrove Forest Ecosystem Management in Langsa City, Aceh, Indonesia. *AACL Bioflux,* 13(1): 125-136.

Lestari, D.A, Azrianingsih, R. & Hendrian., 2018. Filogenetik Jenis-Jenis Annonaceae dari Jawa Timur Koleksi Kebun Raya Purwodadi Berdasarkan Coding dan Non-coding Sekuen DNA. *Journal of Tropical Biodiversity and*

Biotechnology, 3: 1-7.

Mardiyah, S., Wahidin, D., Kaelan. & Armani, A., 2021. Strategi Transformasi Sosial Komunitas Prenjak Tapak dalam Penguatan Ecological Citizenship Terhadap Ketahanan Lingkungan Daerah Kota Semarang. *Jurnal Ketahanan Nasional,* 27(2): 168-186.

Menabit, S., Begun, T., Teaca, A., Muresan, M., Lavin, P. & Purcarea, C., 2022. DNA Barcoding and Distribution of Gastropods and Malacostracans in the Lower Danube Region. *MDPI,* 14(7): 1-16.

Meng, G., Li, Y., Yang, C., & Liu, S. (2019). MitoZ: a toolkit for animal mitochondrial genome assembly, annotation and visualization. *Nucleic Acids Research*, 47(11): 1-7.

Mustofa, V.M., Soenardjo, N. & Pratikto, I. 2023. Analisis Tekstur Sedimen terhadap Kelimpahan Gastropoda di Ekosistem Mangrove Desa Pasar Banggi, Rembang. *Journal of Marine Research,* 12(1): 137-143.

Newell, P.D., Fricker, A.D., Roco, C.A., Chandrangsu, P. & Merkel, S.M., 2013. A Small-Group Activity Introducing the Use and Interpretation of BLAST. *Journal of Microbiology & Biology Education,* 14(2): 238-243.

Ningsih, T. Y., Wahyono, D. J. & Gumilas, N. S. A., 2018. Deteksi Gen Litik BRLF1 Epstein-Barr Virus pada Penderita Karsinoma Nasofaring. *Biosfera,* 35(1): 29-36.

Pangestika, Y., Budiharjo, A. & Kusumaningrum, H.P., 2015. Analisis Filogenetik Curcuma zedoaria (Temu Putih) Berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Biologi,* 4(4): 8-13.

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: 1-7.

Reis, A., Alves, A.T., Dorea, A., Beneli, T.M., Freitas, T.S.S. & Barros, F. 2021. Distribution and Movement of the Mangrove Gastropod *Littoraria angulifera*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science,* 250: 1-6

Sihotang, M.A.E.D., Erwinda, Y.E., Suwarni, E. & Lusianti, E., 2021. Short Communication: Desain Primer dan Analisis in Silico untuk Amplifikasi Gen mt-CoI pada Tikus got (Rattus norvegicus). *Eruditio,* 1(2): 20-29.

Solichin, A., Saputra, S.W., Taufani, W.T. & Ayuningrum, D. 2020. Studi Molekular Udang *Pennaeus (Fenneropennaeus) merguiensis* di Perairan Pantai Utara Jawa. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology,* 16(4): 294-299.

Subari, A., Razak, A. & Sumarmin, R., 2021. Phylogenetic Analysis of Razbora spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis,* 21(1): 89-94.

Triandini, I.G.A.A.H. & Wangiyana, I.G.A.S., 2022. Standardisasi Bahan Herbal Antidiabetes Daun Gyrinops versteegii Secara Molekuler Menggunakan Sekuen rpoC1. *Jurnal Silva Samalas,* 5(2): 9-17.

Triandiza, T., Kusnadi, A., Madduppa, H., Zamani, N.P., Hernawan, U.E., Pesillette, R.N., Yamko, A.K., Anggraini, N.P., Hulwani, F.Z., Hardono, I.C. & Utami, R.T., 2022. Identifikasi dan Analisis Filogenetik Kerang Kima (Genus Tridacna) dari Pulay Kur Menggunakan DNA Barcoding. *Jurnal Biologi,* 15(1): 96-106.

Utina, R., Nusantari, E., Katili, A.S. & Tamu, Y. 2018. Ekosistem dan Sumber Daya Alam Pesisir Penerapan Pendidikan Karakter Konservasi. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Deepublish.

Walsh, P.S., Metzger, D.A. & Higuchi, R. 1991. Chelex-100 As A Medium for Simple Extraction of DNA for PCR Based Typing From Forensic Material. *Biotechniques,* 10: 506-513.

Weigand, H., Beermann, A. J., Čiampor, F., Costa, F. O., Csabai, Z., Duarte, S., & Ekrem, T. (2019). DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: Gap-analysis and recommendations for future work. *Science of The Total Environment*, 678: 499–524.

Widiardja, A.R., Nuraini, R.A.T. &Wijayanti, D.P., 2021. Kesuburan Perairan Berdasarkan Kandungan Nutrien pada Ekosistem Mangrove Desa Bedono, Demak. *Journal of Marine Research,* 10(1): 64-71.