

ANALISIS POLA PERTUMBUHAN DAN PENDEKATAN DNA BARCODING UNTUK IDENTIFIKASI *Turbo stenogyrus* P. Fischer, 1873 (MOLLUSCA: GASTROPODA)

ANALYSIS OF GROWTH PATTERNS AND DNA BARCODING APPROACH TO IDENTIFY *Turbo stenogyrus* P. Fischer, 1873 (MOLLUSCA: GASTROPOD)

Dandi Saleky¹⁾, Simon P.O Leatemia²⁾, Thomas F. Pattiasina²⁾, Isma²⁾, Rosa D. Pangaribuan¹⁾, Marius A. Welliken¹⁾, Edy H.P Melmambessy¹⁾, Muhammad Dailami^{3)*}

Diterima : 19 Maret 2020

Disetujui : 4 Agustus 2020

Afiliasi Penulis:

¹⁾ Jurusan Manajemen

Sumberdaya Perairan, Universitas
Musamus, Merauke, Indonesia

²⁾ Jurusan Perikanan, Universitas
Papua, Manokwari, Indonesia

³⁾ Program Studi Budidaya

Perairan, Fakultas Perikanan dan
Ilmu Kelautan, Universitas

Brawijaya, Malang, Indonesia

Alamat Korespondensi:

*muhdailami@ub.ac.id

Cara Sitasi:

Saleky, D., S.P.O. Leatemia, T.F. Pattiasina, Isma, R.D. Pangaribuan, M.A. Welliken, E.H.P. Melmambessy & M. Dailami. 2020. Analisis pola pertumbuhan dan pendekatan DBA *barcoding* untuk identifikasi *Turbo stenogyrus* P. Fischer, 1873 (Mollusca: Gastropoda). *Biotropika: Journal of Tropical Biology* 8 (2): 79-86.

ABSTRAK

Pengelolaan dan pelestarian keanekaragaman hayati berawal dari pengetahuan tentang ketersediaan sumberdaya, identifikasi, dan sistematika spesies. Banyaknya spesies Turbinidae dengan berbagai bentuk morfologi dan transformasi bentuk menjadikan identifikasi dengan gen COI sangat penting dalam mempercepat pengungkapan identitas spesies. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan menganalisis pola pertumbuhan dan mengidentifikasi gastropoda Turbinidae dengan pendekatan DNA barcode. Hasil identifikasi berdasarkan karakter morfologi menunjukkan bahwa genus Turbo yang diamati adalah dari spesies Turbo stenogyrus. Analisis pola pertumbuhan menunjukkan bahwa pola pertumbuhan T. stenogyrus adalah allometrik negatif. Amplifikasi DNA dengan gen COI menghasilkan panjang sekuen DNA 650 bp dengan hasil identifikasi sesuai dengan pengamatan morfologi yaitu Turbo stenogyrus. Berdasarkan analisis filogenetik dan jarak genetik, sekuen DNA yang dianalisis membentuk clade yang sama dengan spesies Turbo stenogyrus dengan jarak genetik terdekat 4,2%. Analisis genetik melalui gen COI sangat baik dan memberi kemudahan dalam identifikasi spesies gastropoda.

Kata Kunci: Allometrik negatif, gen COI, jarak genetik, *Turbo stenogyrus*

ABSTRACT

Conservation and management of biodiversity begins with knowledge of resource availability, species identification and taxonomy. Many Turbinidae species with various morphological pattern and its transformation makes the species identification with COI gene is important to disclosure the species identity. This research is conducted with aim to analyze the growth pattern and identification of gastropods turbinidae by using DNA barcoding approach. The morphological identification result shows that the genus Turbo in this study were Turbo stenogyrus. Growth pattern analyze explains that T. stenogyrus has negative allometric growth. The DNA amplification of COI gene produces a total 650 base pairs of DNA sequence with the identification result is T. stenogyrus, this result is concordance with the morphological data. Based on the phylogenetic tree and genetic distance data, DNA sekuens of this sample was in the same clade with T. stenogyrus with 4.2% genetic distance. Genetic analysis with COI gene is good and give simplicity in turban snails species identification.

Keywords: COI gene, genetic distance, negative allometric, *Turbo stenogyrus*

PENDAHULUAN

Pengelolaan dan pelestarian keanekaragaman hayati berawal dari pengetahuan tentang sumberdaya yang tersedia, sumberdaya

yang telah hilang, masalah yang dihadapi serta solusi yang paling efektif dalam identifikasi dan taksonomi [1]. Laju kerusakan lingkungan dan pemanfaatan berlebih dapat berdampak pada terjadinya penurunan populasi dan

kepunahan yang menyebabkan banyak spesies yang belum terungkap sampai saat ini [2].

Turbinidae dikenal dengan nama *bia* mata merupakan gastropoda herbivora pemakan alga [3] yang telah dimanfaatkan secara umum di berbagai daerah [4]. Turbinidae sering ditemukan dan melimpah pada daerah intertidal berbatu di pesisir Manokwari [5]. Pola pertumbuhan gastropoda berbeda tiap jenis sebagai akibat dari faktor fisiologis dan juga faktor ekologis [6]. Analisis pola pertumbuhan dilakukan dalam manajemen pengelolaan dan konservasi perikanan seperti penilaian stok dan biomasa [7]. Banyaknya spesies Turbinidae dengan berbagai bentuk morfologi dan transformasi bentuk dalam setiap tahapan kehidupan organisme menjadikan identifikasi berbasis potongan DNA dengan gen COI dapat membantu mempercepat pengungkapan identitas spesies [8], [9].

Gastropoda Turbinidae terdiri dari berbagai spesies yang mirip secara morfologi, kondisi tersebut dapat mengakibatkan terjadinya kesalahan identifikasi. DNA *barcode* adalah metode identifikasi yang menggunakan sekuen gen pendek yang diambil dari bagian genom organisme yang digunakan dalam studi spesies, ekologi, dan evolusi [10]. DNA *barcoding* digunakan dalam mengidentifikasi secara cepat, tepat, dan mengurangi kesulitan dalam mengidentifikasi spesies [11], penting dalam menghubungkan sejarah kehidupan spesies [12]. Identifikasi dengan pendekatan molekuler telah banyak dilakukan pada beberapa jenis gastropoda seperti Turbinidae [3], *Turbo* sp. [13], *Telescopium telescopium* [14].

Turbinidae memiliki keanekaragaman spesies yang sangat tinggi, yang menyebabkan terjadinya banyak masalah dalam taksonomi. Identifikasi gastropoda pada umumnya menggunakan karakter cangkang untuk membedakan antara spesies Gastropoda tetapi identifikasi berdasarkan cangkang saja tidak cukup mengingat karakter cangkang dapat berubah akibat dari beberapa faktor seperti perubahan lingkungan [15], perubahan bentuk dan warna [16]. Selain karakter morfologi pada cangkang, identifikasi spesies biasanya juga dapat dibedakan dengan menggunakan karakter anatomi yang lebih stabil [17]. Namun pengamatan karakter anatomi yang membutuhkan tahapan pembedahan seringkali menyulitkan. Kondisi-kondisi tersebut, menyebabkan identifikasi dengan DNA *barcoding* menjadi salah satu alternatif metode

yang penting dilakukan, karena hasilnya memiliki tingkat akurasi yang tinggi [18].

Kurangnya informasi tentang *Turbo* sp. khususnya dalam penentuan spesies menjadikan pengelolaan suatu sumberdaya menjadi tidak maksimal. Sehingga analisis pola pertumbuhan dan identifikasi dengan DNA *barcoding* sangat penting dalam kegiatan pengelolaan dan pengungkapan identitas spesies secara cepat, tepat, dan akurat [19].

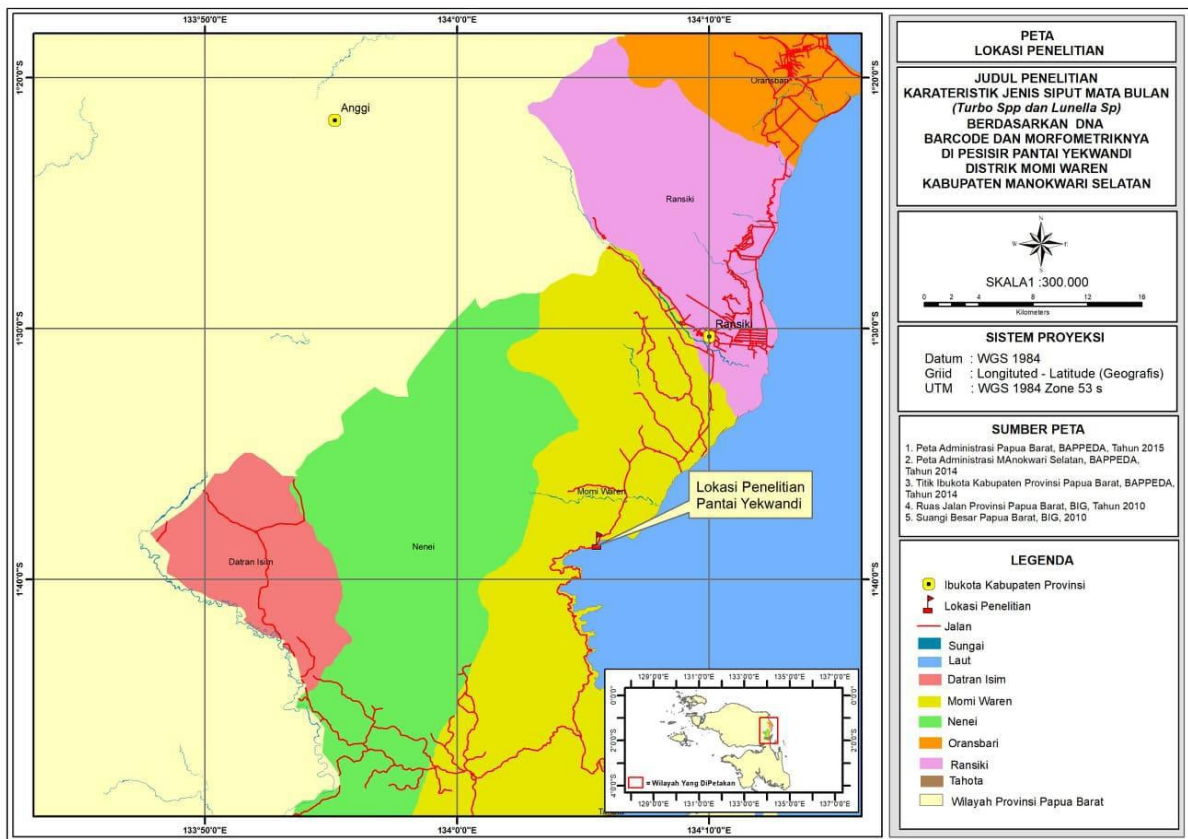
METODE PENELITIAN

Koleksi sampel dan pengukuran morfometrik. Pengambilan sampel *Turbo* sp. dilakukan saat surut terendah, di pesisir Pantai Yekwandi, Distrik Momiwaren, Kabupaten Manokwari Selatan.

Sampel dikoleksi pada saat malam hari karena jenis Gastropoda tersebut adalah jenis nokturnal yang aktif pada malam hari [20]. Sampel kemudian diidentifikasi secara morfologi dengan menggunakan buku identifikasi Gastropoda *Recent and Fossil Indonesian Shells* [19]. Panjang cangkang dan berat total gastropoda diukur dengan menggunakan kaliper dan timbangan digital. Selain itu, dilakukan pula pengambilan jaringan kaki perut yang disimpan dalam *tube* berisi ethanol 95% untuk keperluan analisis molekuler.

Analisis molekuler. Analisis molekuler dilakukan di Sub Laboratorium Genetika, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Papua Manokwari. Isolasi DNA dari jaringan kaki perut dengan menggunakan *extraction kit* (Geneid™ DNA Isolation Kit (tissue)). Amplifikasi gen COI dilakukan dengan menggunakan Go taq green Amplitaq (Promega) dengan total reaksi adalah 50 µl yang terdiri dari ddH₂O (18 µl), go taq green (25 µl), primer *forward* JgLCO1490 (2.5 µl) dan *reverse* JgHCO2198 (2.5 µl) [21], ekstrak DNA (5 µl), DMSO (1 µl) dan BSA (1 µl). Adapun sekuens primer yang digunakan yaitu jgLCO1490 5'-TITCIACIAAYCAYAAARGA YATTGG-3' dan juga HCO2198 5'-TAIACYTCI GGRTGICCRAARAAYCA-3' [21]. Hasil PCR yang teramplifikasi positif kemudian dikirim untuk disekuensing di perusahaan jasa sekuensing yaitu 1st Base Malaysia.

Analisis data. Pola pertumbuhan Gastropoda *Turbo* sp. dilakukan analisis regresi linear dengan menggunakan Microsoft Excel 2010 dengan formula [16]:



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel *Turbo stenogyrus* di Pesisir Pantai Yekwandi Distrik Momiwaren Kabupaten Manokwari Selatan (Sumber: Dokumen Penulis)

Tabel 1. Sekuen DNA *T. sparverius*, *T. bruneus*, *T. setosus*, *T. stenogyrus* dan *Lunella* sp. yang digunakan dalam rekonstruksi filogenetik termasuk lokasi, nomor akses dari *National Center for Biotechnology Information* (NCBI)

Spesies	Lokasi	Acc. Number	Sumber
<i>T. bruneus</i>	Asai	MK273558.1	[3]
<i>T. bruneus</i>	Rendani	MK273557.1	[3]
<i>T. bruneus</i>	Sabah, Malaysia	AM403981	[24]
<i>T. bruneus</i>	Sabah, Malaysia	AM403929	[24]
<i>T. bruneus</i>	St. Johnos Island, Singapura	AM403929	[24]
<i>T. bruneus</i>	St. Johnos Island, Singapura	AM049381	[24]
<i>T. setosus</i>	Pulau Mansinam	-	[13]
<i>T. sparverius</i>	Asai	-	[13]
<i>T. stenogyrus</i>	Japan	AM403916.1	[24]
<i>Lunella</i> sp.	Manokwari selatan	-	-

$$W = aL^b \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

W : berat total (termasuk cangkang)(gram)

L : Panjang total (mm)

a dan b: Konstanta

Nilai b menggambarkan pola pertumbuhan spesies, jika nilai b = 3 menggambarkan pertumbuhan isometrik. Sedangkan jika nilai b ≠ 3 menggambarkan pertumbuhan spesies adalah allometrik [22].

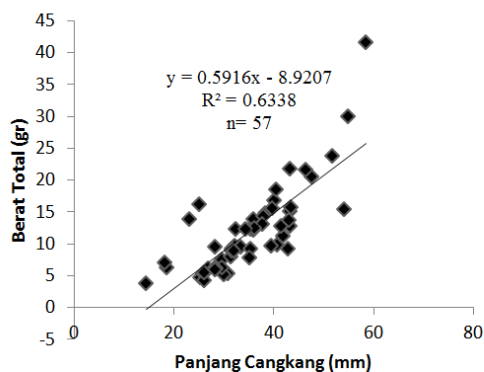
Hasil sekuensing yang didapat kemudian diedit dan diurutkan dengan menggunakan model ClustalW (1.6) [23] pada program MEGA 7 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*). Data hasil sekuen nukleotida yang telah diedit kemudian dicocokkan dengan data yang tersedia pada GenBank di NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dan Boldsystem (<http://www.boldsystems.org>).

Analisis filogenetik menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dengan model Kimura 2-parameter, *bootstrap* 1000x yang dibentuk dari beberapa sekuen DNA yang diambil dari NCBI dan juga sekuen hasil penelitian sebelumnya sebagai sekuen pembanding dalam penelitian ini (Tabel 1).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identitas spesies *Turbo* berdasarkan pengamatan morfologi. Keong *Turbo* yang berhasil dikoleksi memiliki ciri-ciri yaitu memiliki cangkang yang keras, kasar bergerigi dan memanjang dengan *operculum* berwarna putih ataupun putih kehitaman. Warna cangkang hijau dan hitam kecoklatan dengan kisaran ukuran 14,55–58,53 mm. Berdasarkan ciri-ciri tersebut diyakini bahwa seluruh keong yang dikoleksi adalah spesies *Turbo stenogyrus*.

Pola pertumbuhan *Turbo stenogyrus*. Total 57 individu *T. stenogyrus* dikoleksi dari pesisir Pantai Yekwandi, Distrik Momiwaren, Kabupaten Manokwari Selatan. Pengukuran morfometrik meliputi panjang cangkang dan berat total. Ukuran panjang cangkang berkisar antara 14,55–58,53 mm dengan berat total berkisar 3,7 – 41,5 g.

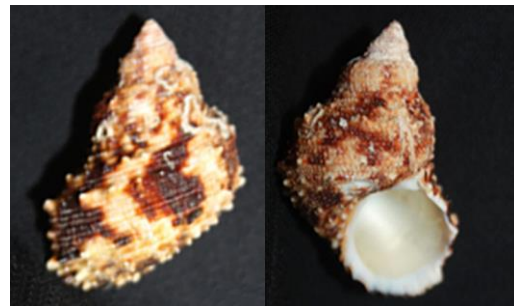


Gambar 1. Regresi linear panjang total dan berat total dari 57 individu *T. stenogyrus*

Gastropoda Turbinidae seperti *T. stenogyrus* adalah jenis gastropoda pemakan alga yang umumnya ditemukan pada daerah rata-rata terumbu karang maupun intertidal berbatu. Spesies *T. stenogyrus* memiliki kemiripan morfologi dengan spesies *T. bruneus*, yang telah dikoleksi sebelumnya pada beberapa lokasi di daerah Kepala Burung Papua [3], [13]. *T. stenogyrus* memiliki bentuk morfologi yang mirip dengan *T. bruneus* karakter morfologi yang mirip dari bentuk,

ukuran dan warna cangkang dan juga keduanya memiliki habitat yang sama yaitu pada intertidal berbatu.

Pola pertumbuhan *T. stenogyrus* dengan persamaan $W = 1.2003L^{0.5916}$ dengan nilai $R^2 = 0,634$. Analisis panjang dan berat menunjukkan hubungan linier dengan persamaan garis $Y = 0,5916x - 8,9207$. Berdasarkan nilai korelasi yang diperoleh, kontribusi panjang cangkang terhadap berat adalah 0,796147. Hasil analisis pola pertumbuhan didapat nilai sebesar 0,5916 ($b > 3$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pola pertumbuhan *T. stenogyrus* adalah allometrik negatif, yang berarti penambahan berat badan lebih lambat daripada panjangnya [3]. *T. stenogyrus* memiliki bantuk cangkang yang relatif kurus. Nilai allometrik negatif pada suatu spesies diidentikan dengan bentuk tubuh yang kurus [25].

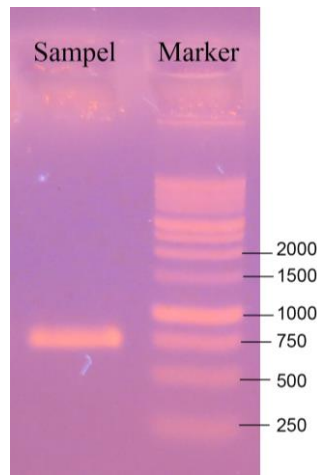


Gambar 2. Morfologi *Turbo stenogyrus* asal Manokwari selatan

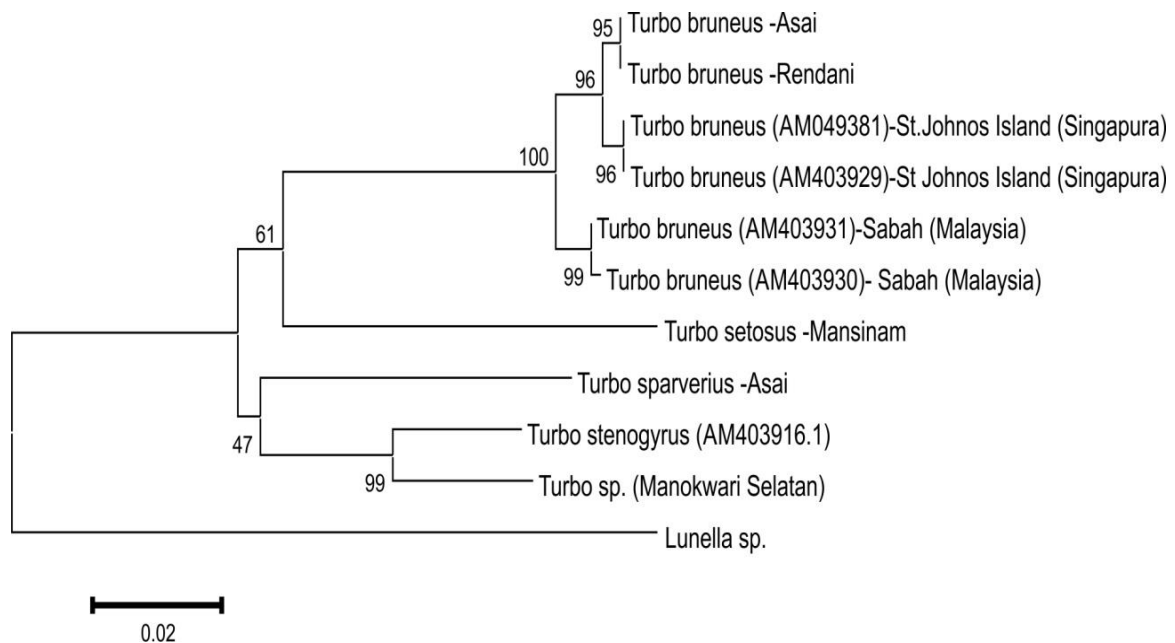
Hasil tersebut banyak dijumpai pada berbagai jenis gastropoda seperti *T. spaverius* (nilai $b = 2.467$), *T. bruneus* (nilai $b = 2.295$) [3], *Telescopium telescopium* (nilai $b = 1.14$) [6], dan berbagai jenis gastropoda air tawar [26].

Karakteristik molekuler. Panjang hasil amplifikasi PCR gen COI dari *T. stenogyrus* dengan menggunakan primer JgLCO1490 dan JgHCO2198 adalah 650 bp (*base pair*). Panjang hasil amplifikasi DNA yang didapatkan sama dengan hasil yang diperoleh pada analisis Gastropoda Turbinidae [3], [13].

Identifikasi spesies menggunakan analisis BLAST pada NCBI memperoleh hasil kemiripan sekuen sebesar 96,13 % dan 95,97 % hasil identifikasi menggunakan Bold System (<http://www.boldsystems.org>) menunjukkan bahwa adalah benar bahwa keong Turbinidae yang diteliti adalah spesies *Turbo stenogyrus*.



Gambar 3. Hasil amplifikasi gen COI *Turbo stenogyrus*



Gambar 4. Pohon filogenetik *Turbo* sp. menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dengan model Kimura 2-parameter, *bootstrap* 1000 replikasi. Angka di setiap cabang menunjukkan nilai *bootstrap* yang diperoleh.

Spesies yang mirip secara morfologi (*cryptic*) sering terjadi pada spesies invertebrata, sehingga identifikasi molekuler dan konvensional dilakukan secara bersama sehingga dapat mengungkap keanekaragaman spesies secara cepat dan akurat [27]. Hasil analisis molekuler diperoleh panjang sekuen DNA adalah 650 bp, panjang sekuen tersebut umum diperoleh pada sekuen COI pada Turbinidae [3], [13].

Pohon filogenetik *Turbo* sp. asal Manokwari Selatan (Gambar 4) memperlihatkan *Turbo* sp. asal Manokwari Selatan berada dalam satu *clade* dengan *T. stenogyrus* dengan nilai *bootstrap* 99. Sedangkan *T. bruneus* yang memiliki

kemiripan morfologi dengan *T. stenogyrus* berada pada *clade* yang berbeda bersama *T. setosus*. Pada organisme laut, keragaman, dan diferensiasi genetik sangat dipengaruhi oleh respon adaptasi organisme terhadap kondisi lingkungan [28], interaksi kompleks antar dinamika oseanografi dan sifat ekologis [29].

Tingginya nilai *bootstrap* yang terbentuk mengindikasikan percabangan pada pohon filogenetik yang terbentuk memiliki tingkat validitas dari percabangan tersebut. Dengan didukung oleh nilai *bootstrap* yang tinggi dan sangat stabil, dengan demikian semakin tinggi nilai *bootstrap* maka kestabilannya makin baik [30].

Tabel 2. Jarak genetik antara *Turbo stenogyrus* asal Manokwari Selatan dengan beberapa sekuen yang diambil dari GenBank

No	Spesies	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	<i>Turbo bruneus</i> (Asai)	-								
2	<i>Turbo bruneus</i> (Rendani)	0,000	-							
3	<i>Turbo bruneus</i> (AM049381)- St.Johnos Island (Singapura)	0,006	0,006	-						
4	<i>Turbo bruneus</i> (AM403931) - Sabah (Malaysia)	0,016	0,016	0,016	-					
5	<i>Turbo bruneus</i> (AM403930) - Sabah (Malaysia)	0,017	0,017	0,017	0,002	-				
6	<i>Turbo bruneus</i> (AM403929) - St Johnos Island (Singapura)	0,006	0,006	0,000	0,016	0,017	-			
7	<i>Turbo sparverius</i> (Asai)	0,108	0,108	0,112	0,104	0,106	0,112	-		
8	<i>Turbo setosus</i> (Mansinam)	0,110	0,110	0,110	0,106	0,108	0,110	0,122*	-	
9	<i>Turbo stenogyrus</i> (AM403916)	0,104	0,104	0,104	0,093	0,095	0,104	0,090	0,107	-
10	<i>Turbo</i> sp. (Manokwari Selatan)	0,108	0,108	0,108	0,101	0,102	0,108	0,088	0,101	0,042

*Jarak genetik terbesar

Pohon filogenetik (Gambar 2) *T. stenogyrus* asal Manokwari Selatan dengan sekuen tambahan dari Genbank dan sekuen dari penelitian sebelumnya. *T. stenogyrus* membentuk *clade* tersendiri berbeda dengan *clade T. bruneus*. Secara morfologi *T. bruneus* memiliki kemiripan dengan *T. stenogyrus* tetapi berdasarkan analisis pohon filogenetik kedua spesies tersebut terpisah dan masing - masing membentuk *clade* tersendiri. Pohon filogenetik menunjukkan pengelompokan antar sekuen individu. Pohon filogenetik berdasarkan data sekuen adalah hal yang terpenting dan menarik dalam studi evolusi [31]. Pohon filogenetik membentuk grafik dua dimensi yang menunjukkan hubungan di antara organisme atau lebih.

Rekonstruksi pohon filogenetik didukung oleh analisis jarak genetik (Tabel 2), jarak genetik terendah 0,00% antara *T. bruneus* (Asai) dan *T. bruneus* (Rendani) dan tertinggi 12,2% antara *T. setosus* (Mansinam) dan *T. sparverius* (Asai). Sedangkan jarak genetik antar *T. bruneus* dan *Turbo* sp. asal Manokwari Selatan memiliki jarak genetik 10,8% hal tersebut mengindikasikan spesies yang dikoleksi dari pesisir Manokwari Selatan bukanlah jenis *T. bruneus* meskipun memiliki kemiripan morfologi. Jarak genetik terdekat *Turbo* sp. asal Manokwari Selatan adalah dengan jenis *T. stenogyrus* dengan jarak genetik 4,2%.

KESIMPULAN

Pola pertumbuhan *Turbo stenogyrus* adalah allometrik negatif, yang berarti penambahan berat lebih lambat daripada panjang. Berdasarkan analisis filogenetik dan jarak genetik, sekuen DNA yang dianalisis membentuk *clade* yang sama dengan spesies *T. stenogyrus* dengan jarak genetik terdekat 4,2 %. Analisis molekuler memperlihatkan jenis tersebut adalah jenis *T. stenogyrus*. Analisis genetik melalui gen CO1 sangat baik dan memberi kemudahan dalam identifikasi spesies gastropoda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Laboratorium Genetika Molekuler, FPIK, Universitas Papua yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini sehingga dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ji Y, Ashton L, Pedley SM, Edwards DP, Tang Y, Nakamura, A, Kitching, R, Dolman PM, Woodcock P, Edwards FA, Larsen TH, Hsu WW, Benedick S, Hamer KC, Wilcove DS, Bruce C, Wang X, Levi T, Lott M, Emerson BC, Yu DW (2013) Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via

- metabarcoding. *Ecol. Lett.* 16 (10): 1245–1257. doi: 10.1111/ele.12162.
- [2] Jala S, Haumahu S, Uneputty P (2014) Variasi morfometrik dan hubungan panjang berat siput jala. *Jurnal TRITON* 10: 122–130.
- [3] Saleky D, Setyobudiandi I, Toha AHA, Takdir M, Madduppa HH (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 J. Biol. Divers.* 17 (1): 208–217. doi: 10.13057/biodiv/d170130.
- [4] Watson G, Davies J, Wood H, & Cocks A (2018) A comparison of survivorship and function (grazing and behaviour) of three gastropod species used as clean-up crew for the marine aquarium trade. *PLoS One* 13 (6): 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0199516.
- [5] Saleky D, Leatemia SP, Yuanike Y, Rumengan I, Putra ING (2019) Temporal distribution of Gastropods in rocky intertidal area in North Manokwari, West Papua. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik* 3 (1): 1–10. doi: 10.46252/jsai-fpik-unipa.2019.Vol.3.No.1.58.
- [6] Ariyanto D, Bengen DG, Prartono T (2018) Length-Weight relationships and condition factors of *Telescopium telescopium* (Gastropoda: Potamididae) in Banggi coast of Central Java, Java Island, Indonesia. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 6 (2): 548–550.
- [7] Ayoade AA, Ikulala AOO (2007) Length weight relationship, condition factor and stomach contents of *Hemichromis bimaculatus*, *Sarotherodon melanotheron* and *Chromidotilapia guentheri* (Perciformes: Cichlidae) in Eleiyele Lake, Southwestern Nigeria. *Rev. Biol. Trop.* 55 (3–4): 969–977. doi: 10.15517/rbt.v55i3-4.5970.
- [8] Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR, Hebert PDN, Ratnasingham S, & Jeremy R (2003) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc Biol Sci.* 270 (Suppl 1): S96–S99. doi: 10.1098/rsbl.2003.0025
- [9] Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci.* 270 (1512): 313–321. doi: 10.1098/rspb.2002.2218
- [10] Kress WJ, García-Robledo C, Uriarte M, Erickson DL (2015) DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 30 (1): 25–35. doi: 10.1016/j.tree.2014.10.008.
- [11] Madduppa H, Taurusman AA, Subhan B, Anggraini NP, Fadillah R, Tarman K (2017) Short communication: DNA barcoding reveals vulnerable and not evaluated species of sea cucumbers (Holothuroidea and Stichopodidae) from Kepulauan Seribu reefs, Indonesia. *Biodiversitas* 18 (3): 893–898. doi: 10.13057/biodiv/d180305.
- [12] Puillandre N, Strong EE, Bouchet P, Boisselier MC, Couloux A, Samadi S (2009) Identifying gastropod spawn from DNA barcodes: possible but not yet practicable. *Mol. Ecol. Resour.* (9) 5: 1311–1321. doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02576.x
- [13] Leatemia SPO, Manumpil AW, Saleky D, Dailami M (2018) DNA Barcode dan Molekuler Filogeni *Turbo* sp. di Perairan Manokwari Papua Barat. *Prosiding Seminar Nasional MIPA Unipa* 3: 103–114.
- [14] Palanisamy SK, Kumar CP, Paramasivam P, Sundaresan U (2018) Molecular Approach to the identification and phylogenetic biogeography of snail *Telescopium telescopium* using mt-COI gene sequences. *Regional Studies in Marine Science* 35: 1–17. doi: 10.1016/j.rsma.2020.101109
- [15] Razkin O, Gómez-Moliner BJ, Vardinoyannis K, Martínez-Ortí A, Madeira MJ (2017) Species delimitation for cryptic species complexes: case study of *Pyramidula* (Gastropoda, Pulmonata). *Zool. Scr.* 46(1): 55–72. doi: 10.1111/zsc.12192
- [16] Tindi M, Mamangkey NGF, Wullur S, (2017) DNA barcode dan analisis filogenetik molekuler beberapa jenis bivalvia asal perairan Sulawesi Utara berdasarkan gen COI. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* 1(2): 32–38.
- [17] Puillandre N, Cruaud C, Kantor YI (2010) Cryptic species in *Gemmuloborsonia* (Gastropoda: Conoidea). *Journal Molluscan Study* 76(1): 11–23. doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02576.x.
- [18] Layton KKS, Martel AL, Hebert PD (2014) Patterns of DNA barcode variation

- in Canadian marine molluscs. *PLoS One* 9 (4): e95003. doi: 10.1371/journal.pone.0095003.
- [19] 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.
- [20] Alf A, Kreipl K (2015) A new species of the family Turbinidae Rafinesque, 1815 from Saint Brandon, Western Indian Ocean (Mollusca, Gastropoda, Vetigastropoda, Turbinidae). *Spixiana* 38(1): 3–10.
- [21] Geller J, Meyer C, Parker M, Hawk H (2013) Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources* 13(5): 851–861. doi: 10.1111/1755-0998.12138.
- [22] Effendie MI (1979) Method on fish biology. IPB, Bogor, Yayasan Agromedia.
- [23] Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology Evolution* 33(7) 1870–1874. doi: 10.1093/molbev/msw054.
- [24] Williams ST (2007) Origins and diversification of Indo-West Pacific marine fauna: evolutionary history and biogeography of turban shells (Gastropoda, Turbinidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 92(3): 573–592. doi: 10.1111/j.1095-8312.2007.00854.x.
- [25] Zabarun A (2016) Hubungan panjang berat, faktor kondisi dan rasio berat daging Kerang Pasir (*Modiolus moduloides*) di perairan Bungkutoko Kota Kendari. *Jurnal Manajemen Sumberdaya Perairan* 2(1): 21–32.
- [26] Krupanidhi S (2020) Regression analysis of shell morphology of a few of endemic aquatic and terrestrial gastropods as a prelude to their conservation strategy. *Acta Scientific Biotechnology* 1(1): 2–7.
- [27] Vrijenhoek RC (2009) Cryptic species, phenotypic plasticity, and complex life histories: Assessing deep-sea faunal diversity with molecular markers. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 56 (19–20): 1713–1723. doi: 10.1016/J.DSR2.2009.05.016.
- [28] Solas M, Sepúlveda R, Brante A (2013) Genetic variation of the shell morphology in *Acanthina monodon* (Gastropoda) in habitats with different wave exposure conditions. *Aquat. Biol.* 18(3): 253–260. doi: 10.3354/ab00508
- [29] Silva SE, Silva IC, Madeira C, Sallem R, Paulo OS, Paula J (2013) Genetic and morphological variation in two littorinid gastropods: evidence for recent population expansions along the East African coast. *Biol. J. Linn. Soc.* 108(3): 494–508 doi: 10.1111/j.1095-8312.2012.02041.x.
- [30] 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 *Jurnal Biologi Indonesia* 12(1): 119–128. doi: 10.14203/jbi.v12i1.2322.
- [31] Indi DNLP (2011) Filogenetika molekuler: Metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi. *Wartazoa* 30(16114): 1–10.