

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jppi>

e-mail: jppi.puslitbangkan@gmail.com

JURNAL PENELITIAN PERIKANAN INDONESIA

Volume 26 Nomor 3 September 2020

p-ISSN: 0853-5884

e-ISSN: 2502-6542

Nomor Akreditasi RISTEK-BRIN: 148/M/KPT/2020



KERAGAMAN GENETIK KIMA KECIL (*Tridacna maxima*) DI PULAU KUR, PULAU BIAK, DAN MANADO SERTA IMPLIKASINYA UNTUK KONSERVASI

GENETIC DIVERSITY OF SMALL GIANT CLAM *Tridacna maxima* IN KUR ISLAND, BIAK ISLAND AND MANADO AND THEIR IMPLICATIONS TO CONSERVATION

Teddy Triandiza*¹, Agus Kusnadi¹, Novita Sari², Rosmi N. Pesilette¹, Ahmad Ainarwawan³, Suparmo¹, dan Serly Sapulete¹

¹Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI, Jl. Pasir Putih Raya No.1, Ancol Timur, Jakarta Utara-14430, Indonesia

²SMA Al-Hilal, Jl. Soekarno Hatta, Ohojjang Watdek, Kei Kecil, Maluku Tenggara-97611, Indonesia

³Pusat Penelitian Laut Dalam-LIPI, Jl. Y Syaranamual, Poka, Kota Ambon-97233, Indonesia

Teregistrasi I tanggal: 26 Oktober 2020; Diterima setelah perbaikan tanggal: 07 Januari 2021;

Disetujui terbit tanggal: 11 Januari 2021

ABSTRAK

Kima merupakan jenis kerang yang secara ekologis penting pada ekosistem terumbu karang. Biota laut ini mengalami tekanan antropogenik hampir di sebagian besar wilayah Indonesia. Meskipun status spesies kima ini dilindungi berdasarkan Peraturan Pemerintah (PP) No. 7 tahun 1999, namun aktivitas pengambilan ilegal kima di alam masih terjadi. Hal ini tidak hanya menyebabkan penurunan jumlah jenis dan kelimpahan individu, tetapi dapat mengurangi keragaman genetik jenis kima tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian keragaman genetik *Tridacna maxima* berdasarkan marka genetik COI dari Pulau Kur, Pulau Biak dan Manado. Penelitian menggunakan 15 sampel dari Pulau Kur (Penelitian ini), kemudian dibandingkan dengan data genbank (11 sampel dari Biak dan 8 sampel dari Manado). Analisis sekuens DNA mitokondria (mtDNA) *T. maxima* menghasilkan 432 pasang basa. Terdapat 23 haplotipe dengan jumlah situs bervariasi sebanyak 59 situs. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman genetik populasi *T. maxima* termasuk sangat tinggi, yaitu 0,95. Jarak genetik antar populasi, berkisar antara 0,009 (Kur-Manado) sampai 0,051 (Biak-Manado). Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan dua kluster utama, yaitu kluster Kur, Biak, dan Manado, dan kluster Biak. Hasil analisis *Fst* berpasangan menunjukkan perbedaan struktur genetik yang signifikan pada populasi *T. maxima* di Kur dengan Biak (*Fst* = 0,558; *p* = 0,000) dan Manado dengan Biak (*Fst* = 0,427; *p* = 0,012), sedangkan populasi Kur dan Manado tidak menunjukkan perbedaan genetik yang signifikan (*Fst* = 0,087; *p* = 0,064). Upaya Konservasi pada populasi *T. maxima* di Pulau Kur dapat dilakukan melalui penerapan konservasi sumber daya alam dalam bentuk kearifan lokal berupa sasi yang diperkuat dengan pembentukan kawasan konservasi laut daerah (KKLD) di lokasi penelitian. Sedangkan untuk populasi Manado dan Biak adalah penetapan wilayah konservasi. Selain itu, upaya pengawasan dan penegakan hukum terhadap aktifitas perburuan liar perlu ditingkatkan agar upaya konservasi tersebut dapat berhasil sehingga populasi kima tetap lestari.

Kata Kunci: Kima; Populasi; Keragaman Genetik; Mutasi; Struktur Genetik

ABSTRACT

Giant clams are ecologically important bivalves in coral reefs. These marine organisms have been under anthropogenic pressures in almost all part of Indonesia. Even though this species is protected under Government Regulation (PP) No. 7, 1999, but the illegal harvesting is still happened. This not only caused the declining the number of individual and species, but also could lead to a decrease the genetic diversity of this species. Therefore, it is necessary to conduct research on the genetic diversity of *Tridacna maxima* based on COI genetic markers from Kur Island, Biak Island and Manado. The study used 15 samples *T. maxima* from Kur Islan (This study) then compared with genbank data (11 samples from Biak and 8 samples from Manado). Sequence analysis of

Korespondensi penulis:
namestrina@yahoo.co.id

DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/jppi.26.3.2020.167-179>

mitochondrial (mt) DNA *T. maxima* resulted 432 base pairs, which contained 23 haplotypes with total numbers of 59 polymorphic sites. The results show that genetic diversity of the *T. maxima* population was very high (0.95). The genetic distance between populations in this study ranged from the lowest (0,009) for Kur vs Manado to the highest (0,043) for Biak vs Manado. The filogenetic tree showed that there were two main clades, i.e. 1) *T. maxima* clade of Kur, Biak, and Manado and 2) *T. maxima* clade of Biak. The pairwise method analysis (F_{ST}) showed a significant genetic structure in the population of *T. maxima* in Kur with Biak ($F_{ST} = 0.558$; $p = 0.000$) and Manado with Biak ($F_{ST} = 0.427$; $p = 0.012$), whereas there was relatively no significant differentiation within population in Kur and Manado ($F_{ST} = 0.087$; $p = 0.064$). The conservation effort for *T. maxima* population in Kur island is prioritized by implementing the local wisdom called Sasi with strengthened by the formation of regional marine conservation area on research sites.

Keywords: Giant clam; population; genetic diversity; mutation; structure genetic

PENDAHULUAN

Kima merupakan biota laut yang unik, selain ukuran cangkang yang besar, biota ini hidup secara simbiotik fotosintesis dengan alga zooxanthella (genus *Symbiodinium*) yang hidup di jaringan mantel (Hernawan, 2008; Lucas, 2014; Soo & Todd, 2014). Disamping itu, kima juga berperan penting secara ekologi pada ekosistem terumbu karang (Soo & Todd, 2014; Neo *et al.*, 2015). Keberadaan kima pada terumbu karang berperan penting dalam peningkatan keanekaragaman hayati dan menjadi kontributor utama dalam produktivitas terumbu karang (Cabaitan *et al.*, 2008; Soo & Todd, 2014; Neo *et al.*, 2015). Populasi kima di alam semakin berkurang dan terus menurun jumlahnya karena adanya tekanan antropogenik berupa eksploitasi berlebihan dan perburuan liar terhadap populasi kima dan habitatnya yang telah berlangsung sejak lama (Ambariyanto, 2007), bahkan setelah terbitnya PP 7 tahun 1999 tentang pengawetan tumbuhan dan satwa liar yang di dalamnya termasuk kima sebagai satwa yang dilindungi, perburuan liar terhadap kima masih tetap terjadi terutama di pulau-pulau kecil seperti Kepulauan Kei, Maluku Tenggara. Hal ini tidak hanya menyebabkan penurunan jumlah jenis dan kelimpahan individu, tetapi juga dapat mengurangi keragaman genetik dari populasi tersebut (Launey & Hedgecock, 2001; Madduppa *et al.*, 2018). Hasil penelitian sebelumnya di perairan Raja Ampat, Papua (Wakum *et al.*, 2017) dan Kepulauan Kei (Triandiza *et al.*, 2019) menunjukkan kepadatan populasi kima kurang dari 1 individu/m² atau kurang dari 10.000 individu/ha. Bahkan Hernawan (2010) melaporkan kepadatan kima di Kepulauan Kei Kecil termasuk sangat rendah, yaitu hanya 0,015 individu/m².

Studi genetika populasi dapat memberikan informasi terkait interaksi ekologis (hubungan kekerabatan), pola penyebaran larva, dan mengidentifikasi wilayah yang menjadi pensuplai aliran genetik ke populasi lain (*source population*) dan menerima suplai aliran genetik dari populasi lain (*sink population*) (Hedgecock *et al.*, 2007; Hedgecock,

1986; Selkoe *et al.*, 2008). Selain itu, penelitian terkait keragaman genetik populasi pada biota laut juga memiliki implikasi yang penting terhadap pengelolaan dan konservasi karena menjadi sumber informasi apakah populasi mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan (Jena *et al.*, 2011; Bonde *et al.*, 2012). Marker MtDNA dapat menunjukkan adanya variasi pada situs-situs nukleotida. Menurut Kombong & Arisuryati (2018) perbedaan komposisi nukleotida gen mitokondria COI mengindikasikan adanya variasi genetik. Prehadi *et al.*, (2015) menyatakan bahwa variasi genetik dapat terjadi akibat dari respon terhadap seleksi dan pola adaptasi organisme terhadap perubahan lingkungan. Toro *et al.* (2011) menyatakan bahwa mengetahui variasi genetik dalam populasi merupakan tahap awal dalam memulai upaya pengelolaan dan konservasi. Mempertahankan variasi genetik dalam suatu populasi merupakan langkah penting dalam mempertahankan keberlanjutan populasi dan manajemen populasi bagi spesies yang terancam punah. Tinggi tingkat keragaman genetik memberikan dasar yang cukup untuk perbaikan strain lokal dan restocking spesies (Nuryanto *et al.*, 2007).

Beberapa hasil penelitian sebelumnya di Indo Pasifik Barat terutama kawasan segitiga karang (*coral triangle*) menunjukkan keragaman genetik yang tinggi pada populasi kima *T. crocea* dan *T. maxima*. Selain itu, hasil penelitian pada populasi kima menunjukkan bahwa adanya struktur populasi genetik yang sangat kuat dan pola konektivitas yang kompleks, ditandai dengan aliran gen terbatas hampir di semua lokasi sampel (Findra *et al.*, 2017; Hui *et al.*, 2016; De boer *et al.*, 2014; Naguit *et al.*, 2012; Deboer *et al.*, 2008; Kochzius & Nuryanto 2008; Nuryanto *et al.*, 2007). Pola aliran gen yang terbatas tersebut disebabkan oleh hambatan isolasi jarak geografis, isolasi ekologi, sejarah geologis setempat, kondisi oseanografis dan tekanan lingkungan (Yu *et al.*, 2018; Crispo & Chapman, 2008; Hui *et al.*, 2016). Kondisi tersebut sesuai dengan pola spasial konektivitas yang dikembangkan Spalding *et al.* (2007) yang memetakan ecoregion laut dunia berdasarkan keunikan oseanografi, hdirogeografi, geokimia, dan isolasi

ekologi. Berbagai studi populasi genetik kerang kima menunjukkan pola aliran gen terbatas di Indo-Pasifik Barat disebabkan pola arus laut, hilangnya habitat karena kenaikan permukaan air laut dan isolasi geografi (Fauvelot *et al.*, 2003; Benzie & Williams, 1992a; Macaranas *et al.*, 1992; Benzie & Williams, 1992b).

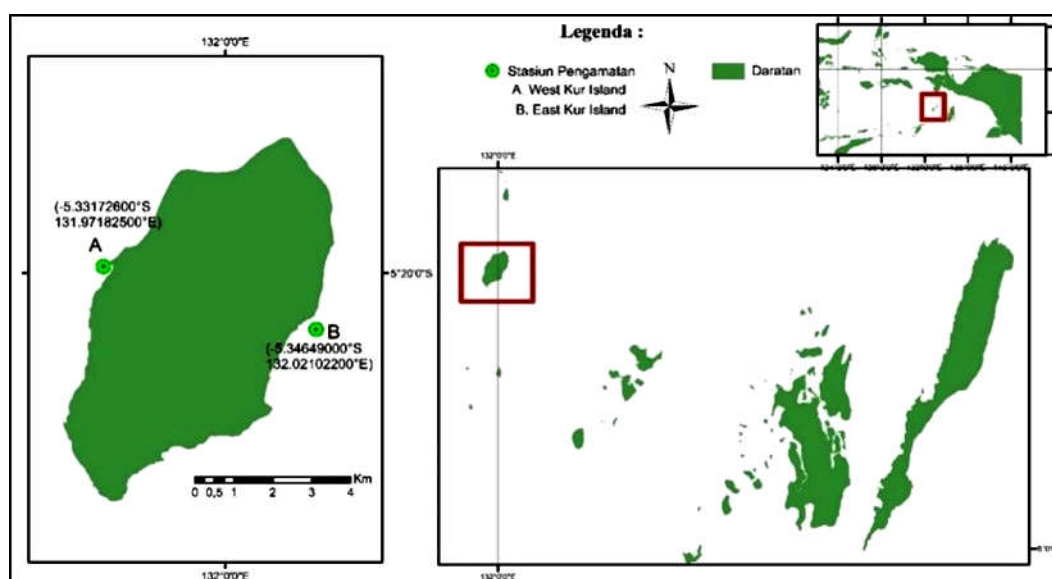
Namun demikian, informasi terkait aspek genetik kima kecil *T. maxima* di perairan laut Pulau Kur Kepulauan Kei hingga sekarang belum tersedia, sedangkan populasinya semakin sedikit. Oleh karena itu, penelitian tentang keragaman genetik dan struktur populasi kima di Pulau Kur perlu dilakukan sebagai bagian dari upaya pengumpulan informasi dasar (*baseline*) yang dapat digunakan dalam penyusunan strategi manajemen pengelolaan dan konservasi populasi kima dan habitatnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman genetik dan struktur genetik populasi kima kecil *T. maxima* dari Pulau Kur serta membandingkannya dengan data *genbank* (11 sequen dari Biak dan 8 sequens dari Manado). Diharapkan informasi tersebut dapat bermanfaat bagi para *stakeholder* baik pemerintah

daerah maupun instansi yang kompeten terutama yang bergerak dalam bidang konservasi sehingga populasi kima kecil *T. maxima* tetap terjaga.

BAHAN DAN METODE

Material DNA

Penelitian ini menggunakan 15 sampel jaringan *T. maxima* yang diperoleh dari Perairan Pulau Kur, Kepulauan Kei (Gambar 1), dan 19 sequen *T. maxima* dari Genbank (11 sequens dari Pulau Biak dan 9 sekeun dari Manado) yang diperoleh dari database NCBI (Tabel 1). Sampel kima *T. maxima* yang digunakan untuk analisis genetik molekuler adalah jaringan mantel (± 1 cm) yang dipotong menggunakan gunting bedah. Sampel jaringan yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung sampel ukuran 5 ml dan dipreservasi dengan alkohol 96%. Pekerjaan sampel genetik molekuler dilaksanakan di Laboratorium Biodiversitas dan Biosistematika Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel.
Figure 1. Sampling site.

Ekstraksi DNA, PCR, dan Sekuensing

Sebanyak 15 Sampel kima *T. maxima* diisolasi dan diekstraksi menggunakan panduan standar dari kit komersial *Genomic DNA mini kit for blood (Geneaid)*. Hasil ekstraksi diamplifikasi dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Primer yang digunakan adalah primer untuk invertebrata LCO1490: 5'-GGT CAA CAA ATC ATA

AAG ATA TTG G-3' dan HCO2198: 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCAAAAAT CA-3' (Folmer *et al.*, 1994) dan primer spesifik untuk kima LCO: 5'-GGG TGA TAA TTC GAA CAG AA-3' dan RCO: 5'-TAG TTAAAG CCC CAG CTA AA-3' (Kochzius & Nuryanto, 2008). Target gen COI yang teramplifikasi sepanjang ± 700 bp untuk primer LCO1490 dan HCO2198 dan ± 500 bp untuk primer LCO dan RCO.

Tabel 1. Data sekuens gen COI spesimen *T. maxima* yang diambil dari database NCBI
 Table 1. COI gene sequence data for *T. maxima* specimens were retrieved from the NCBI database

Accesion	Asal Spesimen	Referensi
EU003613.1	Biak	Nuryanto <i>et al.</i> (2008)
KF446469.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446468.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446467.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446467.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446357.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446355.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446352.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446351.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446350.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446349.1	Biak	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446486.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446485.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446474.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446401.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446400.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446399.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446362.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)
KF446361.1	Manado	Deboor <i>et al.</i> (2014)

Amplifikasi dilakukan menggunakan mesin *Thermal Cycler Applied Biosystems (Dlab)* dengan kondisi predenaturasi 94°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri atas denaturasi 94°C selama 1 menit, annealing (penempelan) 43°C selama 90 detik dan ekstensi 72°C selama 1 menit serta ekstensi akhir 72°C selama 5 menit (Nuryanto *et al.*, 2007). Total volume reaksi adalah 27 µl yang terdiri atas 3 µl DNA template, 12,5 iL Thai TAQ buffer, 1,25 iL *mix forward primer*, 1,25 iL *mix reverse primer*, dan 9 iL ddH2O.

Hasil amplifikasi fragmen COI selanjutnya diuji menggunakan metode elektroforesis. Teknik ini menggunakan gel agarose dengan konsentrasi gel 1,0% yang dilarutkan dalam buffer TAE (*Tris Acetate EDTA*) dengan pewarna Ethidium Bromide (EtBr). Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 V dan arus listrik 400 mA selama 20 menit dan kemudian divisualisasikan menggunakan mesin Gel Doc. Hasil amplifikasi PCR yang positif kemudian dikirim perusahaan jasa sequencing (*First Base Malaysia*) untuk dilakukan sequencing dengan menggunakan metode Sanger. Data sukuensing belum diregistrasi di *GenBank*.

Analisis Genetik

Pengeditan hasil sekuensing dan pensejajaran sekuens DNA menggunakan program *Clustal W* dari software MEGA 6 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) (Tamura *et al.*, 2013). Data hasil sekuens nukleotida yang telah diedit kemudian dibandingkan

dengan sekuens DNA pada basis data (*GenBank*) di NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Pohon filogenetik dibangun berdasarkan model evolusi *P-distance*, replikasi *bootstraps* 1000x dengan metode *Neighbor Joining (NJ)*, dan model evolusi Tamura 3 Parameter replikasi *bootstraps* 1000x dengan metode *Maximum Likelihood (ML)* melalui aplikasi Mega 6.0 (Tamura *et al.*, 2013). Analisis jarak genetik berdasarkan rumus yang dikemukakan oleh Nei (1987), dilakukan menggunakan software MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013).

Keragaman haplotype (*Hd*) (Nei 1987) dan keragaman nukleotida (*d*) (Nei & Jin 1989) di analisa menggunakan aplikasi DnaSP 4.0 (Rozas *et al.*, 2003). Struktur populasi di analisa menggunakan aplikasi Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010) dengan deskripsi level jarak antar populasi dilakukan menggunakan *fixation index (F_{st})* (Excoffier *et al.*, 1992). Rekonstruksi sebaran haplotipe di analisa menggunakan aplikasi Network 5.0.0.3 (<http://www.fluxusengineering.com>).

HASIL DAN BAHASAN

Hasil

Keragaman Genetik

Hasil amplifikasi DNA melalui PCR menghasilkan fragmen sepanjang 493-691bp, namun data panjang fragmen DNA sampel yang dianalisis adalah 432bp.

Analisis homologi berdasarkan BLAST-N terhadap *Cytocrom Oksidase I (COI) mtDNA T. maxima* asal P. Kur menunjukkan kemiripan sebesar 98-99% dengan *Gen Bank*. Komposisi nukleotida rata-rata yang ditemukan pada fragemen COI *T. maxima* asal Pulau Kur adalah nukleotida Timin (T) sebesar 36,3%. Cytosin (C) 17,4%. Adenin (A) 26,6% dan Guanin (G) sebesar 19,7%. Hasil penelitian menunjukkan populasi *T. maxima* di Pulau Kur memiliki 4 haplotipe dari 15 sekuen dengan jumlah mutasi substitusi berjumlah 4 mutasi titik dengan komposisi 4 substitusi transisi dan tidak ada substitusi transeversi.

Hasil analisis keragaman genetik 34 sampel *T. maxima* dengan menggunakan program Dnasp dapat dilihat dalam Tabel 3. Keragaman genetik tertinggi

ditemukan di P. Biak dan Manado. Kedua situs menunjukkan nilai Keragaman haplotipe (H_d) dan keragaman nukleotida (δ) tertinggi ($H_d=1\pm 0,039$ dan $1\pm 0,063$; $\delta = 0,0457\pm 0,023$ dan $0,0131\pm 0,008$). Keragaman genetik terendah ditemukan di P. Kur ($H_d=0,733\pm 0,067$; $\delta = 0,0044\pm 0,003$). Pengujian hipotesis mutasi netral pada polimorfisme DNA dilakukan dengan uji Tajima's *D* test (Tajima, 1989) dan Uji Fu's *F_s* test (Fu, 1997). Uji statistik menggunakan Tajima test (*D*) menghasilkan nilai -0,44392 dan hasil tidak signifikan ($P>0,01$). Sedangkan uji netralitas dengan Fu's *F_s* test menghasilkan nilai -1,61650 serta hasil tidak signifikan ($P>0,05$). Nilai negatif pada pengujian menunjukkan ekspansi populasi pada *T. maxima* dan merupakan indikator tingginya keragaman genetik.

Tabel 3. Keragaman genetik *T. maxima* di Pulau Kur, Pulau Biak dan Manado yang dilihat dari jumlah haplotipe (H_n), keragaman haplotipe (H_d), dan keragaman nukleotida (π)

Table 3. Genetic diversity of *T. maxima* in Kur Island, Biak Island, and Manado in terms of Number of Haplotype (H_n), Haplotype diversity (H_d) and Nucleotide diversity (δ)

Population (Sites)	N	Genetic diversity		
		H_n	H_d	π
P. Kur	15	4	0,733±0,067	0,0044±0,003
P. Biak	11	11	1±0,039	0,0457±0,023
Manado	8	8	1±0,063	0,0131±0,008
Total population	34	23	0,95 ±0,025	0,03 ±0,056

Struktur Populasi Genetik

Hasil analisis dengan menggunakan metode jarak berpasangan (F_{ST}) menunjukkan perbedaan genetika yang signifikan antara populasi *T. maxima* dari Pulau Biak dengan populasi Kur ($F_{ST}= 0,5576$; P-value=

0,000) dan Manado ($F_{ST}= 0,4269$; P-value= 0,0117). Sedangkan populasi *T. maxima* dari Pulau Kur dan Manado tidak ada perbedaan genetik yang signifikan, ditandai dengan nilai F_{ST} yang rendah ($F_{ST}= 0,0867$; P-value=0,0596) (Tabel 4).

Tabel 4. Analisis antar populasi *T. maxima* di Pulau Kur, Pulau Biak, dan Manado berdasarkan metode jarak berpasangan (F_{ST}). Nilai F_{ST} (diagonal bagian bawah) and P-value (diagonal bagian atas)

Tabel 4. Inter population analysis of *T. maxima* in Kur Island, Biak Island and Manado on Pairwise *F_{ST}* value (below diagonal) and P-value (above diagonal)

Lokasi	Kur	Biak	Manado
Kur	-	0,000 ^s	0,0596 ^{ns}
Biak	0,5576	-	0,0117 ^s
Manado	0,0867	0,4269	-

diagonal) and P-value (above diagonal)
 Note: ns = not significant ($P>0,05$); s= significant ($P<0,05$)

Perbedaan struktur genetik antar populasi dapat juga dilihat dari jarak genetik (Tabel 5). Hasil analisis jarak genetik menunjukkan bahwa populasi yang memiliki jarak genetik paling besar adalah antara populasi Biak dengan Manado, dengan nilai jarak genetik 0,051. Sedangkan populasi yang memiliki nilai

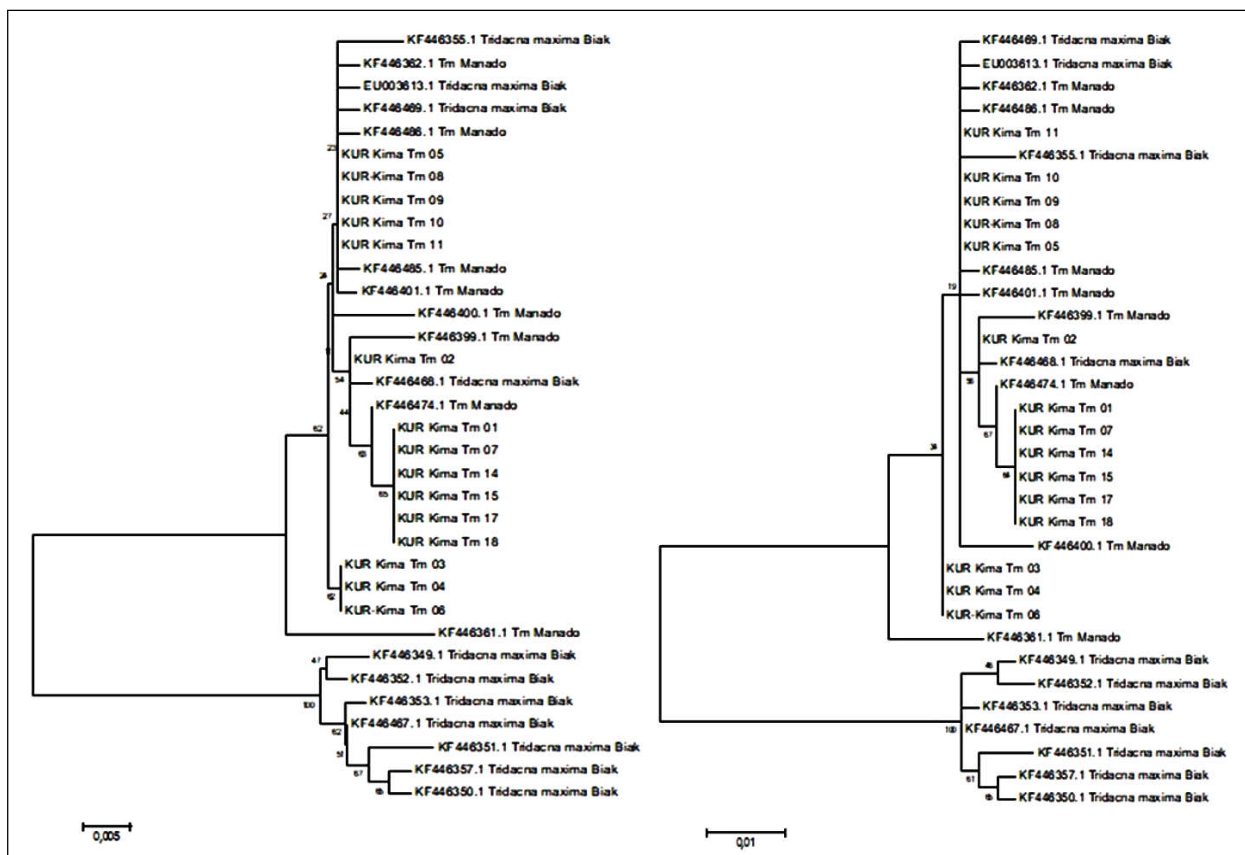
jarak genetik terendah ialah populasi Kur dan Manado, yaitu dengan jarak genetik sebesar 0,009. Nei (1972) menyatakan bahwa nilai jarak genetik 0,010 – 0,099 masuk dalam kategori rendah. Jarak genetik yang rendah mengindikasikan bahwa semakin dekat hubungan kekerabatan kedua populasi tersebut.

Tabel 5. Jarak genetik antar populasi *T. maxima* berdasarkan Nei (1972)
 Table 5. Analysis of genetic distance inter population of *T. Maxima* based on Nei (1972)

Populasi	Kur	Biak	Manado
Kur	-	-	-
Biak	0,049	-	-
Manado	0,009	0,051	-

Hubungan kekerabatan pada populasi *T. maxima* ditunjukkan dengan pohon filogenetik. Hasil analisis pohon filogenetik berdasarkan metode *Neighbor Joining* (NJ) dan metode *Maximum Likelihood* (ML) menunjukkan bahwa ketiga populasi *T. maxima* membentuk dua kelompok/klaster besar. Kelompok pertama terdiri dari populasi Biak, Manado dan Kur. Sedangkan kelompok dua berasal dari populasi Biak

(Gambar 2). Berdasarkan hasil analisis filogenetik dengan 2 metode ini menggambarkan semua garis percabangan membentuk pola yang sama, bersifat monofiletik, memiliki nilai bootstrap yang tinggi pada klade yang ke dua, dan nilai bootstrap yang rendah pada klade pertama. Bootstrap pada metode *Neighbour Joining* cenderung lebih tinggi (62%) dibanding dengan metode *Maximum Likelihood*.



Gambar 2. Pohon filogenetik populasi *T. maxima* berdasarkan metode analisis (A) Neighbour-Joining; (B) Maximum Likelihood.

Figure 2. Phylogenetic tree of *T. maxima* population based on the analysis method (A) Neighbor-Joining; (B) Maximum Possibilities.

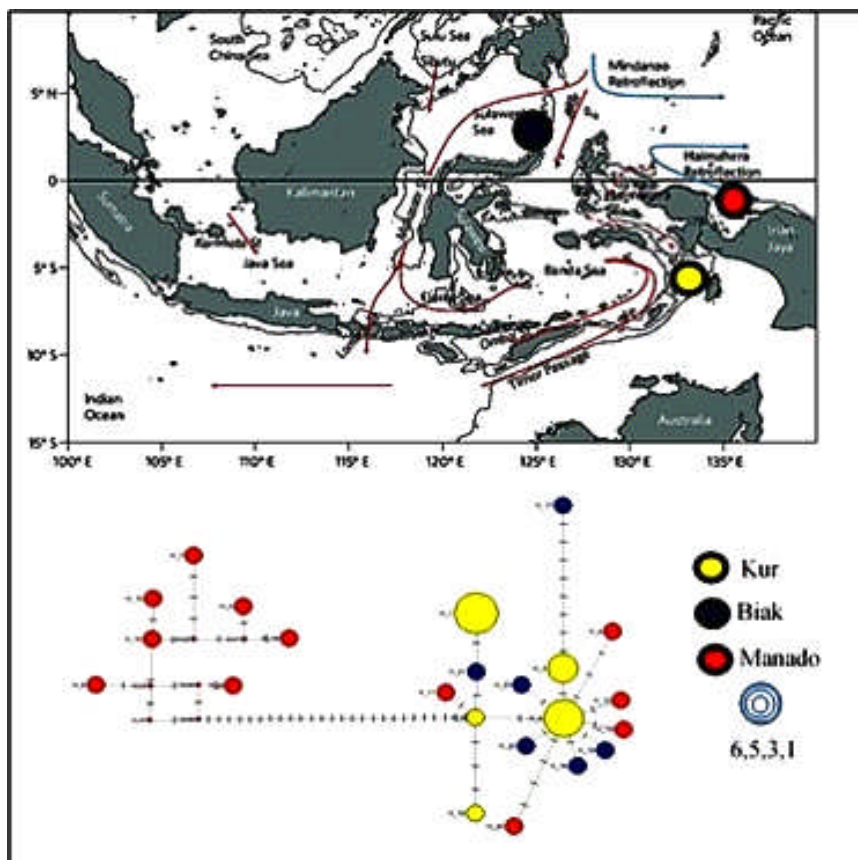
Konektivitas Genetik

Hasil analisis distribusi haplotipe menunjukkan bahwa populasi *T. maxima* memiliki 23 haplotipe dengan 20 haplotipe bersifat spesifik yang hanya terdiri dari 1 individu (Gambar 3). Haplotipe 1 dan 4 merupakan haplotipe dengan jumlah individu

terbanyak yaitu 6 dan 5 individu, dengan distribusi haplotipe hanya di Pulau Kur. Ada dua kelompok utama haplotipe yang ditunjukkan oleh analisis jaringan haplotipe (Gambar 3). Kelompok satu terdiri dari 16 haplotipe yang tersebar di populasi Kur, Biak dan Manado. Kelompok dua terdiri dari 7 haplotipe yang ditemukan hanya di populasi Biak. Kelompok 1

dan kelompok 2 dipisahkan oleh 26 mutasi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terjadi pengelompokan geografis yang berbeda antara populasi Biak dengan

populasi Manado dan Kur yang diindikasikan tidak ada percampuran haplotipe.



Gambar 3. Konektivitas 23 haplotipe dari 34 sampel *T. maxima* di Kur, Biak, Manado dengan menggunakan metode *median joining* (keterangan: lokasi ditandai dengan warna, setiap haplotipe diwakili lingkaran, ukuran lingkaran menunjukkan frekuensi haplotipe).

Figure 3. Connectivity of 23 Haplotype from 34 Sample of *T. maxima* in Kur Island, Biak Island and Manado by using *median joining* method (Note: location signed with colour, every haplotype represented by circle, circle size indicated frequency of haplotype).

Bahasan Keragaman Genetik Kima

Keragaman genetik populasi *T. maxima* di Pulau Kur, Biak dan Manado secara keseluruhan relatif tinggi ($H_d=0,95$) berdasarkan indeks keragaman genetik yang dikembangkan oleh Nei (1987). Tingkat keragaman genetik pada penelitian ini sedikit lebih tinggi dari pada populasi *T. maxima* di Kepulauan Indo-Melayu ($H_d = 0,906-0,940$) (Nuryanto & Kochzius, 2009; DeBoer et al., 2014), dan di Perairan Saudi Arabia ($H_d=0,845$) (Ben Othmen et al., 2020). Namun sedikit lebih rendah dibandingkan keragaman genetik populasi *T. maxima* di Dongsa Atol Laut Cina Selatan ($H_d=0,963$) (Neo et al., 2018). Nilai keragaman genetik yang tinggi umumnya dipengaruhi oleh mutasi gen, ukuran populasi, reproduksi, migrasi / distribusi, dan seleksi alam (Hamilton, 2009; Chiu et al., 2013).

Tingginya keragaman genetik pada penelitian ini diduga karena perkawinan acak antar populasi dan mutasi. Semua spesies *Tridacna* mengalami tahap larva planktotrophic pada siklus hidupnya sebelum menjadi spesies bentik (Lucas, 1988). Larva dispersal *Tridacna* dapat menghabiskan waktu hingga 9-19 hari (Jameson, 1976; Mies & Sumida, 2012; Triandiza & Kusnadi, 2013; Mohamed et al., 2016) melayang mengikuti arus sebelum menetap pada substrat yang keras. Tahap kehidupan planktonik ini berpotensi untuk terdistribusi ke populasi yang jauh dan melakukan percampuran genetik antar populasi melalui perkawinan acak. Selain itu, keragaman genetik yang tinggi pada penelitian disebabkan oleh mutasi. Mutasi adalah perubahan urutan nukleotida pada tingkat gen atau kromosom yang menghasilkan keragaman genetik (Toha et al., 2015). Hasil penelitian sebelumnya di Indo Pasifik Barat menunjukkan

keragaman genetik yang tinggi pada populasi kerang kima. Keragaman genetik tinggi tersebut disebabkan tingginya variasi basa nukleotida. Hui *et al.* (2016) dan De boor *et al.* (2014) mendapatkan keragaman genetik tinggi diikuti dengan tinggi polimorfisme dan keragaman haplotipe. Polimorfisme dan keragaman haplotipe menunjukkan adanya variasi genetik dalam populasi. Toha *et al.* (2015) menyatakan bahwa variasi genetik disebabkan oleh mutasi. Hasil penelitian menemukan 59 situs polimorfik yang terdiri dari 39 situs parsimony dan 20 situs singleton. Analisis jaringan haplotype (Gambar 3) menunjukkan setiap haplotipe pada populasi *T. maxima* dipisahkan oleh 1-26 mutasi.

Populasi Biak dan Manado memiliki keragaman genetik tertinggi pada penanda molekuler fragmen mtDNA COI, sedangkan populasi Kur memiliki keragaman genetik terendah. Variasi genetik berkaitan erat dengan jumlah haplotipe dalam suatu populasi, seperti terlihat dalam Tabel 1. Zein (2007) menyatakan rendahnya keragaman haplotipe dan nukleotide merupakan indikasi rendahnya keragaman genetik. Populasi Kur memiliki keragaman genetik yang lebih rendah diduga karena lokasi yang jauh dan agak terisolasi dari pulau yang lain sehingga peluang terjadi perkawinan *inbreeding* menjadi lebih tinggi. Hasil pengujian hipotesis mutasi netral terhadap populasi *T. maxima* di Pulau Kur menghasilkan nilai Tajima's $D = 1,7579$ dan $Fu's F_s = 1,1817$. Hasil analisis Tajima's & $Fu's F_s$ mengindikasikan bahwa populasi *T. maxima* di Pulau Kur telah menunjukkan adanya potensi perkawinan *inbreeding*. Jarak genetik antara individu *T. maxima* di Pulau Kur berkisar 0,000-0,009. Jarak genetik 0,000 menunjukkan bahwa individu tersebut berasal dari satu keturunan atau berasal dari lokasi yang berdekatan (Nei, 1972). Hasil analisis jarak genetik mengindikasikan telah terjadi *inbreeding* pada populasi *T. maxima* di Pulau Kur. Selain itu, keragaman genetik yang rendah pada populasi *T. maxima* di Pulau Kur diduga karena ada kegiatan eksploitasi yang dibuktikan dengan banyaknya ditemukan cangkang kima di pesisir pantai dan habitat karang yang rusak banyak karang mati yang ditumbuhi alga. Launey & Hedgecock (2001) dan Madduppa *et al.* (2018) menyatakan bahwa eksploitasi menyebabkan penurunan stok populasi dan berdampak terhadap penurunan keragaman genetik. Penurunan populasi juga berdampak pada meningkatnya peluang terjadinya perkawinan *inbreeding* (Zein, 2007).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat struktur genetik yang signifikan pada populasi *T. maxima* dari Biak dengan populasi Kur dan Manado. Analisis F_{ST} berpasangan mendeteksi adanya

diferensiasi genetik yang ditunjukkan dengan nilai F_{ST} tinggi dan P-value signifikan ($P < 0,05$). Analisis jaringan haplotipe menunjukkan populasi Biak membentuk kelompok tersendiri meskipun ada beberapa haplotipe yang tergabung dengan populasi Kur dan Manado, tetapi tidak adanya pencampuran haplotipe antara populasi dan sebagian besar merupakan haplotipe spesifik yang dipisahkan oleh 1-26 mutasi. Analisis jarak genetik menunjukkan bahwa populasi Biak dengan dua populasi lain yaitu Kur dan Manado memiliki jarak genetik yang cukup jauh (4-5%). Diferensiasi genetik yang signifikan pada populasi *T. maxima* dari Biak dengan Kur dan Manado mirip dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan di Indo-West Pasific (Nuryanto & Kochzius, 2009; Hui *et al.*, 2016) yang menunjukkan struktur populasi genetik yang sangat kuat dan pola konektivitas yang kompleks, ditandai dengan aliran gen terbatas hampir di semua lokasi sampel.

Pola isolasi jarak geografis, sejarah geologi, dan kondisi oseanografis merupakan faktor penting yang membentuk struktur populasi genetik dan aliran gen terbatas pada populasi *T. maxima* (Hui *et al.*, 2016). Crispo & Chapman (2008) menyatakan bahwa isolasi ekologi dan struktur geografis turut mempengaruhi struktur populasi genetik. Yu *et al.* (2018) menyatakan bahwa aliran gen yang terbatas dapat disebabkan oleh hambatan geografis, sejarah geologis setempat, dan tekanan lingkungan.

Diferensiasi genetik yang signifikan pada populasi Biak dengan Kur dan Manado diduga disebabkan hambatan oseanografi. Perairan Biak merupakan wilayah perairan yang unik karena letaknya yang berbatasan langsung dengan Samudera Pasifik menyebabkan wilayah ini secara oseanografi sangat yang dipengaruhi oleh Samudera Pasifik. De Boor *et al.* (2008) menyatakan bahwa penyebaran biota laut di Wilayah Papua sangat dipengaruhi oleh empat pola arus yang ditemukan di Samudera Pasifik yaitu *New Guinea Coastal Current* (NGCC), *Halmahera Eddy* (HE), *North Ecuador Coastal Current* (NECC) dan *North Ecuador Current* (NEC). Aliran genetik yang di bawa Larva dispersal *Tridacna* dari Biak mengalir mengikuti pola arus NGCC bergabung dengan Arus lintas Indonesia (Arlindo) yang mengalir dari Samudera Pasifik ke Samudera Hindia melewati Laut Maluku dan Laut Sulawesi. Tidak semua aliran genetik yang di bawa arus NGCC akan bergabung dengan Arlindo, sebagian besar akan berbalik arah kembali ke Biak diduga disebabkan arus Halmahera Edy. De Boor *et al.* (2008) menyatakan bahwa arus Halmahera Edy merupakan penghambat yang menyebabkan aliran terbatas dan struktur genetik pada populasi *T. crocea* di Laut Maluku dan Papua Bagian Utara. Hal tersebut dapat

dibuktikan dari analisis jaringan haplotipe dan rekonstruksi pohon filogenetik, di mana populasi Biak sebagian membentuk kelompok tersendiri dan sebagian bergabung dengan Populasi Kur dan Manado membentuk kelompok lainnya (Gambar 2 dan 3). Selain pengaruh arus, karakteristik unik yang membedakan populasi Biak dengan Populasi Kur dan Manado dipengaruhi letak geografis. Pulau Biak yang berbatasan langsung dengan Samudera Pasifik dan secara spasial berada dalam ekoregion Papua, sedangkan Pulau Kur berada dalam ekoregion Laut Banda dan Manado berada dalam ekoregion Sulawesi (Huffard, et al., 2012). Perbedaan letak geografis tersebut menyebabkan perbedaan batimetri, pola arus, pola suhu dan salinitas permukaan laut (Bahri, 2017).

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa Populasi Kur dan Manado merupakan satu populasi genetik. Analisis F_{ST} berpasangan tidak mendeteksi adanya diferensiasi genetik yang signifikan karena nilai F_{ST} rendah. Analisis jaringan haplotipe menunjukkan bahwa populasi Kur dan Manado berada dalam satu kelompok yang mengindikasikan kedekatan populasi, ditunjukkan dengan jarak genetik yang rendah. Kedekatan genetik tersebut diduga disebabkan karena adanya aliran genetik yang di bawa Larva dispersal *T. maxima* dari Manado mengalir mengikuti arus Arlindo melalui Laut Sulawesi masuk ke Laut Banda sesuai dengan rute Arlindo (Gordon & Fine, 1996).

Implikasi Konservasi

Kima memiliki peran ekologis yang penting pada terumbu karang yang berperan dalam peningkatan keanekaragaman hayati dan menjadi kontributor utama dalam produktivitas terumbu karang. Namun, hasil penelitian menunjukkan bahwa semua jenis kima menghadapi ancaman kepunahan lokal yang ditandai dengan ukuran populasi di alam kurang dari 1 individu per m^2 (Hasni et al., 2017; Harahap et al., 2018; Triandiza et al., 2019; Rizkifar et al., 2019). Pada penelitian ini digunakan data keragaman genetik dan diferensiasi populasi *T. maxima* untuk mengidentifikasi strategi pengelolaan yang efektif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keragaman genetik populasi *T. maxima* sangat tinggi kecuali pada Populasi Kur. Keragaman genetik berdampak secara langsung atau tidak langsung terhadap keberlangsungan suatu populasi (Hughes et al., 2008), karena menjadi sumber informasi apakah populasi mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan. Beberapa penelitian menunjukkan populasi dengan keragaman genetik tinggi memiliki peluang lebih besar untuk beradaptasi dan menghindari resiko kepunahan

(Allentoft & O'Brien, 2010; Jena et al., 2011; Bonde et al., 2012). Populasi dengan keragaman genetik tinggi tetap perlu dijaga kelestariannya. Karena populasi ini sangat berperan penting sebagai sumber genetik yang akan menyuplai aliran genetik ke populasi lain (keragaman genetik rendah). Semua spesies *Tridacna* mengalami tahap larva planktotrophic pada siklus hidupnya sebelum menjadi spesies benthik (Lucas, 1988). Larva dispersal *Tridacna* dapat menghabiskan waktu hingga 9-19 hari (Jameson, 1976; Mies & Sumida, 2012; Triandiza & Kusnadi, 2013; Mohamed et al., 2016) melayang mengikuti arus sebelum menetap di substrat yang keras. Aliran genetik yang dibawa pada tahap kehidupan planktonik ini berpotensi untuk terdistribusi ke populasi yang jauh dan melakukan percampuran genetik antar populasi melalui perkawinan acak. Pada penelitian terlihat ada konektivitas antar populasi *T. maxima* di Biak, Manado, dan Kur. Meskipun ada hambatan oseanografi yang menyebabkan aliran genetik terbatas. Informasi mengenai keragaman genetik juga dapat dipakai dalam manajemen budidaya, yang mana dalam pemilihan kualitas induk untuk budidaya didasarkan pada tingginya variasi genetik (nukleotide) dalam populasi.

Keragaman genetik yang rendah pada populasi Kur diduga disebabkan tekanan antropogenik terutama eksploitasi berlebih dan perburuan liar, hal ini terjadi karena selama ini implementasi PP No. 7 tahun 1999 tidak maksimal terutama penegakan hukum berupa sanksi bagi para pelanggar aturan. Kondisi tersebut semakin parah dengan dikeluarkannya kerang kima dari daftar hewan/satwa yang dilindungi (Permen LHK No. P20 tahun 2018). Eksploitasi berlebih menyebabkan penurunan ukuran populasi yang dapat mengurangi tingkat variabilitas genetik. Penurunan variabilitas genetik dan ukuran populasi menyebabkan peningkatan resiko kepunahan karena mengurangi kemampuan untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan (Keller & Waller, 2002). Oleh karena itu diperlukan strategi dalam pengelolaan dan konservasi kima. Pada populasi Kur, strategi pengelolaan dan konservasi dapat dilakukan melalui penerapan konservasi sumber daya alam dalam bentuk kearifan lokal yang disebut dengan sasi yang diperkuat dengan penerbitan produk hukum berupa peraturan daerah terkait kawasan konservasi laut daerah (KKLD). Sasi merupakan pengelolaan dan perlindungan sumber daya alam di darat dan laut yang dilaksanakan masyarakat adat Maluku (Ummanah, 2013). Praktek sasi tradisional dapat membantu memulihkan populasi kerang kima di Kepulauan Kei khususnya Pulau Kur, sedangkan KKLD diharapkan dapat berperan dalam melindungi kelestarian habitat dan ekosistemnya. Kerang kima umumnya

memerlukan waktu selama 5 tahun hingga mencapai usia dewasa (Beckvar, 1981; Fitt, 1991), oleh karena itu disarankan bahwa sasi dapat dikenakan selama 5 tahun.

KESIMPULAN

Keragaman genetik *T. maxima* pada populasi Kur, Biak, dan Manado cenderung sangat tinggi yaitu antara 0,733-1. Terdapat dua kelompok utama pada struktur genetika populasi *T. maxima* yaitu kelompok pertama terdiri dari populasi Kur, Biak, dan Manado, dan kelompok dua hanya terdiri dari populasi Biak. Terdapat struktur genetik yang signifikan antar populasi biak dengan populasi Kur dan Manado.

PERSANTUNAN

Tulisan merupakan kontribusi dari kegiatan Penelitian Struktur Populasi dan Keragaman Genetik Kerang Kima (*Tridacninae*) di Perairan Kepulauan Kai yang sebagian dana pembiayaannya dibebankan dalam DIPA UPT Loka Konservasi Biota Laut Tual-LIPI T.A 2017-2018. Penulis berterima kasih kepada Aliyadi, Mohammad Silayar, Roni Nahusona, dan Bikri Rahman Pary atas bantuan di lapangan serta Nurlita Putri Anggraini, Fildzah Z. Hulwani, dan Ichtineza H. Hardono untuk pekerjaan laboratorium. Terima kasih diucapkan kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran kegiatan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Allentoft, M. E., & O'Brien, J. (2010). Global Amphibian Declines, Loss of Genetic Diversity and Fitness: A Review. *Divers.* 2: 47-71. doi: 10.3390/d2010047.
- Ambariyanto, A. (2007). *Pengelolaan kima di Indonesia: Menuju budidaya berbasis konservasi*. Dalam: Ambariyanto, A. (ed.). *Penelitian, Konservasi Dan Ekonomi* (pp. 1-11). Semarang: Prosiding Seminar Nasional Moluska.
- Bahri, S. (2017). Struktur populasi dan keragaman genetik penyu lekang (*Lepidochelys olivacea*) dan kaitannya dengan sirkulasi arus di Indonesia. *Thesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Beckvar, N. (1981). Cultivation, spawning and growth of the giant clams *Tridacna gigas*, *Tridacna derasa* and *Tridacna squamosa* in Palau, Caroline Islands. *Aquaculture*. 24: 21-30.
- Ben Othmen, A., Abhary, M., Deli, T., Ouanes, Z., Alhuwaiti, N., Dimassi, N., & Mansour, M. (2020).

Lack of mitochondrial genetic structure in the endangered giant clam populations of *Tridacna maxima* (Bivalvia: Cardiidae: Tridacninae) across the Saudi Arabian coast. *Acta Oceanol Sin.* 39 (2): 28–37. doi: 10.1007/s13131-020-1547-7....

Benzie, J. A. H., & Williams, S. T. (1992a). Genetic structure of giant clam (*Tridacna maxima*) populations from reefs in the Western Coral Sea. *Coral Reefs*. 11(3): 135–141, doi: 10.1007/BF00255467.

Benzie, J. A. H., & Williams S T. 1992b. No genetic differentiation of giant clam (*Tridacna gigas*) populations in the Great Barrier Reef, Australia. *Marine Biology*. 113(3): 373–377, doi: 10.1007/BF00349161.

Bonde, R. K., Mc Guire, P. M., & Hunter, M. E. (2012). A review of the key genetic tools to assist imperiled species conservation: analyzing West Indian manatee populations. *JMATE*. 5 (1) : 8-19.

Cabaitan, P.C., Gomez, E.D., & Alino, P.M. (2008). Effects of coral transplantation and giant clam restocking on the structure of fish communities on degraded patch reefs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 357 (1): 85–98. doi:10.1016/j.jembe.2008.01.001.

Chiu, Y., Bor, H., Tan, M., Lin, H., & Jean, C. (2013). Phylogeography and Genetic Differentiation among Populations of the Moon Turban Snail *Lunella granulata* Gmelin. 1791 (Gastropoda: Turbinidae). *Int J Mol Sci*. 14: 9062-9079. doi: 10.3390/ijms14059062.

Crispo, E., & Chapman, L. J. (2008). Population genetic structure across dissolved oxygen regimes in an African cichlid fish. *Mol Ecol*. 17: 2134–2148. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03729.x.

Deboer, T. S., Subia, M. D., Ambariyanto, Erdmann, M. V., Kovitvongsa, K., & Barber, P. H. (2008). Phylogeography and limited genetic connectivity in the endangered boring giant clam across The Coral Triangle. *Conservation Biology*. 22 (5): 1255-1266. doi: 10.1111/j.1523-1739.2008.00983.x.

Deboer, T. S., Naguit, M. R. A., Erdmann, M. V., Ablan-Lagman, M. C. A., Carpenter, K. E., Toha, A. H. A., & Barber, P. H. (2014). Concordant phylogenetic patterns inferred from mitochondrial and microsatellite DNA in the giant clam *Tridacna crocea*. *Bulletin of Marine Science*. 90: 301–329. doi: 10.5343/bms.2013.1002.

- Excoffier, L., & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetic analysis under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10: 564–567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes; application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* (131): 479-491.
- Fauvelot, C., Bernardi, G., & Planes, S. (2003). Reductions in the mitochondrial DNA diversity of coral reef fish provide evidence of population bottlenecks resulting from Holocene sea-level change. *Evolution*. 57: 1571-1583. doi: 10.1554/02-173.
- 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: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 22(2): 67-74. doi:10.14710/ik.ijms.22.2.67-74.
- Fitt, W. K. (1991). Mariculture of giant clams. In: Menzel, W. (ed) Estuarine and marine bivalve mollusk culture. Florida (US): CRC Press.
- Fu, Y. X. (1997). Statistical test of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. 147: 915-925.
- Gordon, A. L., & Fine, R. A. (1996). Pathway of water between the Pacific and Indian Oceans in the Indonesia seas. *Nature*. 379: 146-149. doi:10.1038/379146a0.
- Hamilton, M. B. (2009). Population Genetics. NJ: John Wiley & Sons, Ltd Publication.
- Hasni, Sadarun B, Ira. (2017). The diversity and density of giant clam in Wawosunggu Island waters, South Konawe. *Sapa Laut*. 2(4): 113-118.
- Harahap SA, Yanuar Y, Ilham Y. (2018). Diversity and abundance of giant clams in Anambas Islands, Indonesia. *E3S Web of Conferences* 47: 1-9. doi:10.1051/e3sconf/20184703005.
- Hedgecock, D. (1986). Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates?. *Bulletin of Marine Science*. 39 (2): 550-564.
- Hedgecock, D., Barber, P.H., & Edmands, S. (2007). Genetic approaches to measuring connectivity. *Oceanography*. 20 (3): 70-79. doi: 10.5670/oceanog.2007.30.
- Hernawan, U. E. (2008). Symbiosis between the giant clams (Bivalvia: Cardiidae) and zooxanthellae (Dinophyceae). *Biodiversitas*. 9(1): 53-58. doi: 10.13057/biodiv/d090113
- Hernawan, U. E. (2010). Study on giant clams (Cardiidae) population in Kei Kecil waters, Southeast Maluku. *Widyariset*. 13 (3): 101-108. doi: 10.14203/widyariset.13.3.2010.101-108.
- Huffard, C.L., Erdmann, M.V., & Gunawan, T. (2012). *Defining geographic priorities for marine biodiversity conservation in Indonesia*. Jakarta: Conservation Internasional.
- Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T. J., Underwood, N., & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*. 11: 609-623. doi: 10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x.
- Hui, M., Kraemer, W. E., Seidel, C., Nuryanto, A., Joshi, A., & Kozhius, M. (2016). Comparative genetic population structure of three endangered giant clams (Cardiidae: *Tridacna* species) throughout the Indo-West Pacific: Implications for divergence, connectivity and conservation. *Journal of Molluscan studies* 2 (3): 403-414. doi: 10.1093/mollus/eyw001.
- Jameson SC (1976) Early life history of the giant clams *Tridacna crocea* Lamarck, *Tridacna maxima* (Röding), and *Hippopus hippopus* (Linnaeus). *Pac Sci*. 30:219–233.
- Jena, S. N., Srivastava, A., Singh, U. M., Roy, S., Banerjee, N., Rai, K. M., ... Sawant, S.V. (2011). Analysis of genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in elite cotton (*Gossypium* L.) germplasm in India. *Crop & Past Sci*. 62: 859–875. doi: 10.1071/CP11161.
- Keller, L. F., & Waller, D. M. (2002). Inbreeding effects in wild populations. *TREE*. 17:230-241. doi: 10.1016/S0169-5347(02)02489-8.
- Kochzius, M., & Nuryanto, A. (2008). Strong genetic population structure in the boring giant clam, *Tridacna crocea*, across the Indo-Malay Archipelago: implications related to evolutionary pro-

- cesses and connectivity. *Molecular Ecology*, 17 (17): 3775–3787. doi:10.1111/j.1365-294X.2008.03803.x.
- Kombong, C.B. S., & Arisuryanti, T. (2018). Komposisi nukleotida sekuen gen mitokondria 16s dan *coi* ikan gabus (*Channa striata* Bloch, 1793) dari Danau Sentani, Jayapura, Papua. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 20 (2): 57-62. doi: 10.22146/jfs.35551.
- Launey, S., & Hedgecock, D. (2001). High genetic load in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*. 159: 255–265.
- Lucas, J.S. (1988). *Giant clams: description, distribution, and life-history*. In: Copland, J. W., & Lucas, J. S. (eds.), *Giant clams in Asia and the Pasific*. Canberra (AU): ACIAR Monograph 9.
- Madduppa, H. H., Timm, J., & Kochzius, M. (2018). Reduced genetic diversity in the clown anemonefish *Amphiprion ocellaris* in exploited reefs of Spermonde Archipelago, Indonesia. *Front. Mar. Sci.* 5 (80): 1-8. doi: 10.3389/fmars.2018.00080.
- Mies, M., & Sumida, P. Y. G. (2012). Giant clam aquaculture: a review on induced spawning and larval rearing. *Int'l Journal of Marine Science*. 2 (9): 62-69. doi: 10.5376/ijms.2012.02.0009.
- Macaranas, J. M., Ablan, C. A., Pante, M. J. R., Benzie, J. A. H., Williams, S. T. (1992). Genetic structure of giant clam (*Tridacna derasa*) populations from reefs in the Indo-Pacific. *Marine Biology*. 113(2): 231–238. doi:10.1007/BF00347276.
- Mohamed, N.A., Yu, Q., Chanfi, M. I., Li, Y., Wang, S., Bao, Z., & Huang, X. (2016). Genetic diversity and population differentiation of small giant clam *Tridacna maxima* in Comoros islands assessed by microsatellite markers. *Springer Plus*. 5 (1852): 1-7. doi: 10.1186/s40064-016-3513-6.
- Naguit, M. R. A., Tisera, W. L., & Calumpang, H. P. (2012). Ecology and genetic structure of giant clams around Savu Sea, East Nusa Tenggara Province, Indonesia. *Asian Journal of Biodiversity*. 3: 174–194. doi: 10.7828/ajob.v3i1.89.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between population. *Am Nat.* 106 (949): 283-292.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press.
- Nei, M., & Jin, L. (1989). Variances of the average numbers of nucleotides substitutions within and between populations. *Mol Biol Evol.* 6: 290-300.
- Neo, M. L., Eckman, W., Vicentuan, K., Teo, S. L. M., & Todd, P. A. (2015). The ecological significance of giant clams in coral reef ecosystems. *Biological Conservation*, 181 (2015):111–23. doi: 10.1016/j.biocon.2014.11.004.
- Neo, M.L., Liu, L. L., Huang, D., & Soong, K. (2018). Thriving population with low genetic diversity in giant clam species *Tridacna maxima* and *Tridacna noae*, at Dongsha Atoll, South China Sea. *Regional Studies in Marine Science*. 24: 278-287. doi: 10.1016/j.rsma.2018.09.001.
- Nuryanto, A., Duryadi, D., Soedharma, D., & Bloom, D. (2007). Molecular phylogeny of giant clams based on mitochondrial DNA cytochrome c oxidase I gene. *HAYATI Journal of Biosciences*. 14 (4): 162-166. doi:10.4308/hjb.14.4.162.
- Prehadi, P., Sembiring, A., Kurniasih, E.M., Rahmad, R., Arafat, D., Subhan, B., & Madduppa, H.H. (2015). DNA barcoding and phylogenetic reconstruction of shark species landed in Muncar fisheries landing site in comparison with Southern Java fishing port. *Biodiversitas*. 16(1):55–61. doi: 10.13057/biodiv/d160107.
- Rizkifar, M. A., Ihsan, Y. N., Hamdani, H., & Sunarto. (2019). Kepadatan dan preferensi habitat kima (*Tridacnidae*) di perairan Pulau Semak Daun Provinsi DKI Jakarta. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 10 (1): 74-83.
- Rozas, J. J., Sanchez-DelBarrio, C., Messeguer, X., & Rozas, R. (2003). DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*. 19: 2496-2497.
- Selkoe, K. A., Henzler, C. M., & Gaines, S. D. (2008). Seascape genetics and the spatial ecology of marine populations. *Fish and Fisheries*. 9: 363-377. doi: 10.1111/j.1467-2979.2008.00300.x.
- Soo, P., & Todd, P. A. (2014). The behaviour of giant clams (Bivalvia: Cardiidae: Tridacninae). *Mar Biol*. 161: 2699–2717. doi: 10.1007/s00227-014-2545-0.
- Spalding, M.D., Fox, H.E., Allen, G.R., Davidson, N., Ferdana, Z.A., Finlayson, M.,... Robertson, J. (2007). Marine ecoregion of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *Bio-science*. 57 (7): 573-583. doi:10.1641/B570707.

- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123: 585-595.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 30(12):2725-2729. doi: 10.1093/molbev/mst197.
- Toha, A.H.A., Widodo, N., Hakim L., & Sumitro, S.B. (2015). Sekilas tentang mutasi. *Kons. Biod. Raja Ampat*. 7: 9-13.
- Toro, M.A., Meuwissen, T.H.E., Fernáandez, J., Shaat, I., & ki-Tanila A.M. (2011). Assessing the genetic diversity in small farm animal populations. *Animal*, page 1 of 15 & The Animal Consortium 2011. doi:10.1017/S1751731111000498.
- Triandiza, T., & Kusnadi, A. (2013). Induced spawning and larval rearing technique of scaly clams (*Tridacna squamosa* lamarck) in the laboratory. *OLDI*. 39 (1): 1-11.
- Triandiza, T., Zamani, N. P., Madduppa, H., & Hernawan, UE. (2019). Distribution and abundance of the giant clams (Cardiidae: Bivalvia) on Kei Islands, Maluku, Indonesia. *Biodiversitas* 20: 884-892. doi: 10.13057/biodiv/d200337.
- Wakum, A., Takdir, M., & Talakua, S. (2017). Jenis – jenis kima dan kelimpahannya di perairan Amdui Distrik Batanta Selatan Kabupaten Raja Ampat. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*. 1:43-51.
- Zein, M. S. A. (2007). Keragaman daerah kontrol DNA Mitokondria Rusa Timor (*Cervus timorensis timorensis*) di Pulau Timor, Alor dan Pantar. *Biota*. 12(3): 138-144. doi:10.24002/biota.v12i3.2799.
- Yu, S., Liu, S., Jiang, K., Zhang, J., Jiang, Z., Wu, Y.,...Trevathan-Tackett, S. M. (2018). Population genetic structure of the threatened tropical seagrass *Enhalus acoroides* in Hainan Island, China. *Aquatic Botany*. 150:64–70. doi:10.1016/j.aquabot.2018.07.005.