

Morphological and Biomolecular of the *Atergatis floridus* Crab in the Intertidal Zone of the Minanga Coast, Manado City

Tamara Angela G. Siahaan¹⁾, Darus Saadah J. Paransa^{2*)}, James J.H. Paulus²⁾, Stenly Wullur²⁾, Remy E.P. Mangindaan²⁾, Pankie Pangemanan³⁾.

¹⁾Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado, Indonesia

²⁾Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu. Manado, Indonesia

³⁾Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado, Indonesia

^{*)}Corresponding author: darusparansa@unsrat.ac.id

ABSTRACT

This study examines the morphology and biomolecules of the *Atergatis floridus* crab found in the Intertidal Zone of the Minanga Beach, Manado City. Species identification was carried out by morphological and biomolecular analysis of DNA barcoding using the COI gene. Samples were collected in February and the isolation stage was in March 2022. The method used was the roaming method, namely exploring the research location to catch samples of crabs on the coast and catching crabs directly using hands protected with gloves and a flashlight for lighting. The morphological characters of concern are the shape of the carapace color and the anterior, posterior and abdominal characters. Furthermore, muscle tissue samples were taken from the crab claws for DNA isolation and sequencing processes at the company's first base laboratories, Malaysia. Based on the results of the research, samples that have been studied morphologically and sequenced show that 99.70% of the species are *Atergatis floridus*.

Keywords: *Atergatis floridus*; DNA barcode; Manado City; morphology

Morfologi dan Biomolekuler Kepiting *Atergatis floridus* di Zona Intertidal Pesisir Pantai Minanga, Kota Manado

ABSTRAK

Studi ini menelaah morfologi dan biomolekuler kepiting *Atergatis floridus* yang terdapat di Zona Intertidal Pesisir Pantai Minanga, Kota Manado. Identifikasi spesies dilakukan dengan pendekatan analisis morfologi dan biomolekuler DNA barcoding menggunakan Gen COI. Sampel dikoleksi pada bulan Februari dan tahapan isolasi pada bulan Maret 2022. Metode yang digunakan adalah metode jelajah, yakni menjelajahi lokasi penelitian untuk menangkap sampel kepiting di pesisir pantai dan penangkapan kepiting secara langsung menggunakan tangan yang dilindungi dengan sarung tangan dan senter untuk penerangan. Karakter morfologi yang menjadi perhatian adalah bentuk warna karapas dan karakter anterior, posterior dan abdomen. Selanjutnya diambil sampel jaringan otot pada bagian capit kepiting untuk dilakukan isolasi DNA dan proses sekuensing pada perusahaan *first base laboratories, Malaysia*. Berdasarkan hasil penelitian sampel yang telah ditelaah secara morfologi dan disekuens menunjukkan bahwa 99.70% spesies tersebut adalah *Atergatis floridus*.

Kata kunci: *Atergatis floridus*; DNA barkoding; Kota Manado; morfologi

(Article History: Received 20-09-2022; Accepted 07-10-2022; Published 12-10-2022)

PENDAHULUAN

Kepiting mempunyai warna, bentuk, dan ukuran yang beragam dan mempunyai kesamaan pada bentuk tubuh (Poore, 2004). Serangkaian warna pada karapas krustasea

menampilkan pola warna bersifat tetap dan spesifik pada setiap spesies (Mcnamara & Milograna, 2015), Kepiting dari ordo dekapoda, infraordo brachyura memiliki lima pasang kaki, dimana satu pasang termodifikasi menjadi sepasang capit dan pasangan kaki

paling belakang berfungsi sebagai kaki jalan (Poupin & Juncker, 2010) atau sebagai kaki renang (Poore, 2004).

Di pesisir pantai Teluk Manado ditemukan Kepiting *Ozius truncatus* (Edwards, 1834) teridentifikasi secara morfologi dengan ciri karapas berbentuk lonjong berwarna coklat kemerahan pada bagian bawah anterior, bagian atas anterior mempunyai dua buah lobus yang menonjol serta punggung bukit yang berada di sebelah kiri dan kanan dari karapas. Memiliki 4 pasangan kaki jalan kecil dan terdapat setae berwarna kuning emas di masing-masing ujung kaki jalan (Rustikasari *et al.*, 2021). Amin *et al.* (2021) menemukan kepiting *Sesarmops* (Edwards, 1837) di pesisir pantai Malalayang Dua, Kota Manado dengan ciri morfologi berbentuk segi empat dengan warna karapas coklat kehijauan dan kekuningan. Bagian Merus pada pasangan kaki jalan ketiga terdapat benjolan berwarna abu-abu dan terdapat corak batik kecoklatan. Ilaria *et al.* (2022) menemukan kepiting *Ozius tuberculosis* (Edwards, 1834) di Pantai Minanga, Perairan Teluk Manado, Kelurahan Malalayang Satu, Kecamatan Malalayang, Kota Manado. (Lepa *et al.* (2022), menemukan kepiting *Ocyropode ceratophthalmus* (Stimpson, 1858) di pesisir pantai Kelurahan Pondang dan Desa Lopana, Kecamatan Amurang Timur, Kabupaten Minahasa Selatan, Teluk Amurang, dengan ciri-ciri morfologi karapas berwarna merah kecoklatan dan ukuran capit berbeda serta ujung capit berwarna putih.

Kepiting *Grapsus sp* yang ditangkap di pesisir perairan pesisir pantai berbatu desa Ranawangko Kec. Tombariri, Kabupaten Minahasa Propinsi Sulawesi Utara, memiliki ciri morfologi yaitu garis garis linier dengan titik warna oranye pada dorsal karapas dan terdapat titik warna oranye pada bagian merus kepiting ini mengandung jenis pigmen karotenoid, seperti β -karoten, ekinenon, kantaksantin, astaksantin dan astasen (Paransa *et al.*, 2019) spesies yang sama dari lokasi pesisir berbatu Desa Manggatasik Kecamatan Tombariri Kabupaten Minahasa Provinsi Sulawesi Utara ditemukan jenis pigmen β -karoten, β -Kriptosantin, astaksantin dan tipe astasen (Abdullah *et al.*, 2018). (Paransa *et al.* (2019), mampu membuktikan melalui identifikasi secara molekuler kepiting yang

diambil dari lokasi Pantai Desa Ranawangko, Kecamatan Tombariri, Kabupaten Minahasa teridentifikasi sebagai kepiting *lightfoot* (*Grapsus albolineatus*) Latreille in Milbert 1812.

Suherman & Arsad, (2020), menyatakan bahwa dalam mengidentifikasi DNA suatu spesies dapat menggunakan Sekuens DNA, dimana penanda salah satu molekuler dari DNA dipakai untuk menjelaskan taksonomi suatu spesies dengan cara pengamatan kode batang DNA atau disebut DNA *barcoding*. Menurut Tallei *et al.* (2017), DNA *barcode* telah banyak digunakan oleh peneliti untuk melihat jarak genetik antar spesies dengan menggunakan gen penyandi protein dalam DNA mitokondria, yakni *Gen Cythrocrome c Oksidase subunit I* (COI). (Hebert *et al.*, 2003), menjelaskan bahwa gen COI pada mtDNA mempunyai banyak kelebihan yaitu sekuens tidak mengalami delesi dan insersi yang begitu banyak dan masih mempertahankan bagian yang bersifat alami.

Identifikasi molekuler sangat penting dilakukan untuk mengkonfirmasi hasil analisis secara morfologi. Beragamnya bentuk, warna dan ukuran dari kepiting tidak menutup kemungkinan adanya spesies yang belum teridentifikasi ataupun terjadinya kesalahan dalam penentuan nama spesies. Mengingat pula bahwa zona intertidal merupakan wilayah pesisir yang banyak menerima gangguan, sehingga rentan terhadap perubahan yang secara tidak langsung dapat mempengaruhi adaptasi organisme didalamnya termasuk kepiting. Oleh karena itu tujuan penelitian ini ialah mengidentifikasi berdasarkan analisis secara morfologi dan saat ini perlu ditunjang dengan analisis molekuler menggunakan Gen COI supaya hasil yang dihasilkan lebih akurat khususnya pada kepiting di Pesisir Pantai Minanga, Kota Manado. Hasil penelitian ini dapat memberikan sumbangsih dalam pengembangan pengetahuan dalam penyediaan database biodiversitas.

METODE PENELITIAN

Sampel kepiting dikoleksi dari Pesisir Pantai Minanga, Malalayang Satu, Kecamatan Malalayang, Kota Manado, Sulawesi utara pada titi koordinat 1°27'29"N dan 124°49'5"E (Gambar 1).



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel ditandai dengan garis berwarna ungu

Teknik Pengambilan Sampel

Survei lokasi dilakukan pada siang hari untuk menentukan tempat pengambilan sampel, aksi penangkapan dilakukan pada malam hari saat surut terendah. Metode pengambilan sampel merujuk pada (Salvanes *et al.*, 2018) yaitu menggunakan metode dengan target pada organisme yang sedang aktif berpindah tempat dengan berjalan atau berenang di pesisir pantai. Tahapan penangkapan sampel mengikuti hasil penelitian dari (Rustikasari *et al.*, 2021); (Amin *et al.*, 2021); (Lepa *et al.*, 2022); dan (Ilaria *et al.*, 2022) dengan cara menjelajahi lokasi penelitian untuk menangkap sampel kepiting di pesisir pantai dan menangkap kepiting secara langsung menggunakan tangan yang dilindungi dengan sarung tangan dan senter untuk penerangan.

Identifikasi Secara Morfologi

Identifikasi kepiting dilakukan dengan mengamati bentuk karapas, bagian anterior, bagian posterior, capit, warna dan corak, periopod, serta abdomen pada kepiting. Telaah morfologi kepiting merujuk pada (P. Ng, 1998); (Widyastuti, 2003); (Poore, 2004); (Ng & Davie, 2007); (Poupin & Juncker, 2010) dan (Wahyudi, 2006).

Analisis DNA Barcoding

Analisis DNA barcoding dimulai dengan isolasi DNA menggunakan Genomic DNA mini kit *Geneaid* mengacu pada protokol yang dikemukakan (Sari *et al.*, 2014), dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel, pengambilan jaringan otot pada kepiting yang terletak dibagian capit dan diletakkan pada tabung ependorf.
2. Perusakan antara membran sel dan mitokondria, dilakukan dengan dua tahapan yaitu:
 - (a) menggunakan *buffer* GP1 dan dihomogenkan, setelah itu diinkubasi;
 - (b) menggunakan *buffer* GP2 dan dimasukkan didalam *freezer*, lalu disentrifugasi. Pellet dibuang dan supernatant dipindahkan ke tube baru.
3. Pemisahan, yaitu memisahkan DNA dengan senyawa ataupun enzim yang masih terikat dengan menambahkan *buffer* GP3 pada *GD column* yang sudah dibungkus *collection tube* dan dihomogenkan lalu disentrifugasi. Campuran yang berada pada *collection tube* dibuang dan DNA yang berada pada *GD column* dimurnikan.
4. Pemurnian, dilakukan sebanyak 2 kali untuk memastikan bahwa sudah tidak ada senyawa ataupun enzim yang masih tertinggal. Pertama dengan *buffer* W1 dan kedua menggunakan *wash buffer*. Masing-masing tahapan pemurnian disentrifugasi. Sampel disentrifugasi kembali tanpa memasukkan cairan apapun.
5. Tahap akhir proses isolasi dengan memasukkan *elution buffer* yang sudah diinkubasi pada *thermoblock* pada *collection tube* baru, lalu disentrifugasi. DNA murni yang telah dihasilkan dimasukkan kedalam *freezer* untuk tahapan amplifikasi.

Amplifikasi DNA

Setelah DNA murni didapatkan, maka dilakukan perlipatgandaan DNA dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Campurkan air murni sebanyak 15 μ l, Kit PCR 20 μ l dan primer LCO1490-HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994) sebanyak 1.5 μ l dan Sampel DNA 2 μ l pada PCR *tube*. Sampel dirunning pada PCR diawali dengan suhu 95°C selama 3 menit, dan kemudian denaturasi 95°C 20 detik, Annealing 47°C 30 detik, dan elongasi 72°C 10 detik. Proses amplifikasi memakan waktu 1 jam 37 menit dengan 35 siklus.

Elektroforesis Gel

Setelah dilakukannya PCR, tahap selanjutnya ialah elektroforesis gel dengan menimbang 0.8 gr bubuk agarose yang dilarutkan dengan larutan TBE buffer 100ml kedalam gelas beker, panaskan menggunakan kompor listrik sampai dengan suhu 280°C selama 10 menit. Setelah mendidih tuang kedalam cetakan agarose dan tunggu hingga mengeras. Setelah mengeras cetakan agarose dipindahkan ke elektroforesis chamber yang sudah dituangkan larutan TBE buffer dan tambahkan etidium bromida 10 μ l. setelah itu sampel PCR tadi dimasukkan kedalam sumur-sumur gel agarose. Kemudian diberi tegangan listrik sebesar 130V sekitar 30 menit. Hasil dari elektroforesis dipindahkan ke UV-transluminator. Hasil elektroforesis gel dikirim ke jasa pelayanan sekuensing *First*

Base Laboratories, Malaysia dengan kode (Sampel TA).

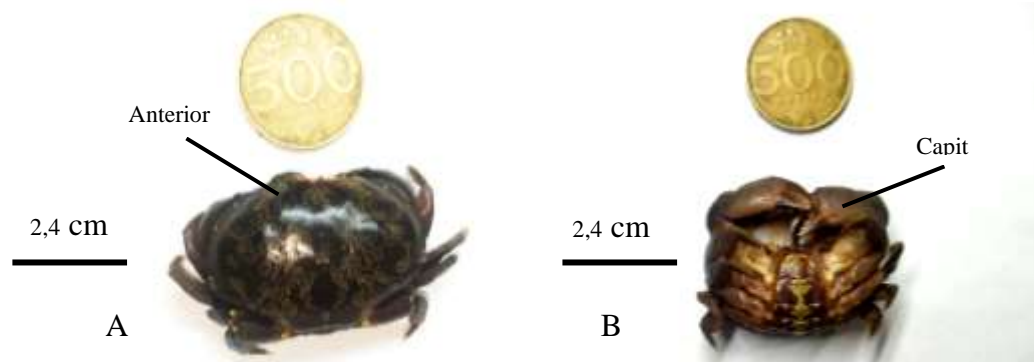
Proses Sekuensing

Hasil amplifikasi gen COI menggunakan *primer* folmer yang divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarose 0.8% melalui UV-Transluminator. Selanjutnya hasil amplifikasi disekuensing di *First Base Laboratories, Malaysia*. Hasil sekuensing diterbitkan dalam bentuk *file* FASTA, dan selanjutnya analisis identifikasi dengan menggunakan situs *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* yang sudah disediakan oleh GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Data yang terbaca menampilkan keragaman jenis kepiting yang memiliki kecocokan karakter DNA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Morfologi

Hasil analisa morfologi menunjukkan bahwa sampel yang ditemukan pada lokasi penelitian memiliki karakteristik, karapas berbentuk oval dan cembung pada bagian dorsal, terdapat corak garis yang simetris pada bagian sisi kanan dan kiri dengan warna hijau kekuningan (Gambar 2A). Karakter lain dicirikan oleh bagian anterior yang lebih lebar daripada posterior, dan tidak memiliki duri pada bagian anterolateralnya serta memiliki capit yang sama besar dan berwarna hitam kecoklatan (Gambar 2B).



Gambar 2. Morfologi *Atergatis floridus*: (A) Dorsal Karapas; (B) Abdomen

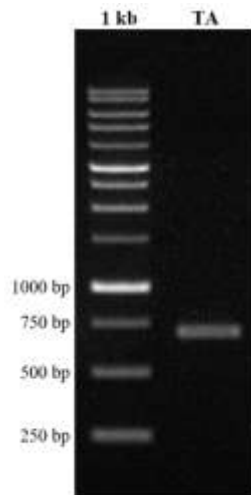
Merujuk pada Poupin & Juncker (2010), karakter morfologi yang ditemukan pada sampel yang dianalisis menunjukkan spesies *Atergatis floridus*. Namun,

Sukmaningrum *et al.* (2020) mendeskripsikan kepiting *Atergatis floridus* memiliki karapas berbentuk heksagonal, ciri ini berbeda dengan sampel kepiting yang ditemukan. Ng & Davie

(2007) menyatakan *Atergatis floridus* memiliki kemiripan dengan kepiting jenis *Atergatis ocyroe*. Perbedaan pada kedua jenis ini terlihat pada bentuk dan corak karapas. Kepiting *Atergatis floridus* mempunyai corak bunga-kekuningan, dan daerah branchial karapas lebih menonjol, Sementara pada *Atergatis ocyroe* memiliki bintik-bintik yang besar berwarna lebih kuning, dan pola warnanya lebih bervariasi. Mcnamara & Milograna (2015), menyatakan perbedaan tersebut sebagai spesies yang terlihat sangat mirip (*cryptic species*). Oleh karena itu untuk meyakinkan perbedaan kedua spesies ini dilakukan analisis DNA barcoding.

Analisis DNA Barcoding

Hasil elektroforesis gel yang divisualisasikan dengan menggunakan UV-Transluminator ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Visualisasi hasil amplifikasi Gen COI kepiting yang ditangkap

Keberhasilan amplifikasi ditandai dengan adanya pita DNA. Visualisasi pita sampel (TA) terbentuk dengan jelas pada sekitar 710 bp, menunjukkan hasil DNA utuh. Novitasari *et al.* (2014) menyatakan bahwa DNA utuh dapat terlihat dari pita yang tebal dan jelas dengan tidak menunjukkan adanya *smear*. Menurut Ylmaz *et al.* (2012) faktor yang mempengaruhi penampakan tampilan tipis dan tebalnya visualisasi elektroforesis tergantung pada kondisi sampel DNA yang digunakan. Pengaruh tampilan hasil amplifikasi ditentukan oleh beberapa faktor: 1) Proses isolasi DNA, 2) Primer yang digunakan, dan 3) faktor kontaminan. Pita sampel (TA) yang berada pada urutan DNA yang sesuai untuk proses sekuensing gen COI.

Menurut Dhar *et al.* (2016), pengkode DNA hewan pada urutan 600-800 bp cocok menggunakan sekuensing gen COI.

Sekuensing gen COI dilakukan dengan metode sanger sekuensing. Menurut Tasma (2016), metode sanger sekuensing yaitu metode dengan menggunakan DNA template serta primer spesifik untuk reaksi dari proses sekuensing. Proses ini dilakukan dengan penjajaran dua arah, dengan arah yang berbeda yaitu forward (LCO1490) dan reverse (HCO2198). Proses sekuensing ini dilakukan oleh perusahaan penyedia jasa bidang genetik *First Base Laboratories, Malaysia*. Penjajaran dua arah (bi-direksional) memiliki keuntungan, dimana sekuens DNA dapat saling mengoreksi dengan sekuens komplementernya apabila terdapat kesalahan jika DNA tidak dapat dibaca (Untu *et al.*, 2015). Selanjutnya Format FASTA pada penelitian ini sudah dilakukan oleh perusahaan *First Base Laboratories, Malaysia* dan memiliki pasang basa sebanyak 658, seperti yang tampak pada Gambar 4.

Ostell *et al.* (2001), menyatakan bahwa format FASTA bersisi baris definisi dan karakter dari sekuens yang digunakan untuk input sebuah variasi dari program analisis. Oleh karena itu format FASTA digunakan dalam melihat hasil *query* dalam BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada GenBank. Pencarian yang menampilkan spesies kepiting (Sampel TA) dalam GenBank yang memiliki kemiripan tertinggi, yaitu *Atergatis floridus* dengan total *score* 1205, *query coverage* yang selaras bernilai 100% dan *E.Value* 0.0, nilai ini menunjukkan bahwa sekuens tersebut identik dengan tingkat kemiripan (*identity*) 99.70% seperti pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 tiap spesies memiliki kode aksensi yang digunakan untuk mendapatkan data pada GenBank dan juga untuk menginput penjajaran (*alignment*) yang memperlihatkan kemiripan dari sekuensing spesies. Penginputan penjajaran (*alignment*) menggunakan aplikasi Mega 11. Menurut Saputri (2018), penjajaran (*alignment*) dapat dilakukan dalam analisis filogenetik untuk melihat jarak genetik serta membantu identifikasi pola struktur dan fungsi sekuens protein.

Jarak genetik Sampel TA dengan kepiting yang ada pada GenBank dapat dilihat melalui *alignment* yang ada pada aplikasi

MEGA 11. Jarak genetik akan muncul dalam bentuk excel seperti Tabel 2.

```
TACACTATATTTTATTTTTGGAGCTTGAGCTGGTATAGTAGGTACCTCATTAAAGACTA
ATTATCCGTGCTGAACTTGGTCAACCAGGTACACTTATTGGCAATGACCAAATTTAT
AACGTAGTTGTGACTGCTCATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTTATACCAATTA
TAATTGGAGGTTTCGGTAACTGACTAGTACCCTTAATATTAGGAGCCCTGATATAG
CCTTCCCCCGGATAAATAATATAAGGTTCTGACTTCTCCCCCATCACTAACTCTCCT
CTTAATAAGAGGAATAGTTGAAAGAGGAGTGGGCACTGGATGAACTGTCTACCCTC
CTTAGCTGCCGCTATTGCCACGCAGGGGCCCTGTAGATATAGGTATTTTCTCCCT
TCACTTAGCTGGAGTATCCTCTATTTTAGGAGCTGTAAATTTTATAACCACCGTTATC
AATATACGCTCATTGGTATAACAATAGACCAAATACCCCTATTTGTATGAGCAGTA
TTTATTACCGCTATTCTTCTTCTTATCCCTTCCAGTTTTAGCAGGTGCTATTACTAT
ACTCCTTACTGATCGTAACTTAAATACATCATTCTTTGACCTGCTGGGGGAGGAGA
CCCTGTTCTATACCAACATTTATT
```

Gambar 4. Format FASTA pada urutan nukleotida (Sampel TA)

Tabel 1. Hasil BLAST pada GenBank

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E. Value	Per. Ident	Accession
Atergatis floridus mitochondrion, complete genome.	<i>Atergatis floridus</i>	1205	1205	100%	0.0	99.70%	NC_037201.1
Brachyura sp. LPdivOTU224 isolate 3 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.	<i>Brachyura sp. LPdivOTU224</i>	1199	1199	100%	0.0	99.54%	HM464283.1
Atergatis floridus voucher BIOUG<CAN>:MaXan001 COI gene, partial sequence; mitochondrial.	<i>Atergatis floridus</i>	1195	1195	99%	0.0	99.54%	DQ889081.1
Select seq HM751012.1 Lophozozymus anaglyptus voucher ZRC 2010.0145 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.	<i>Lophozozymus anaglyptus</i>	1051	1051	91%	0.0	98.33%	HM751012.1
Actaea semblatae isolate De173001-2-1 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial.	<i>Actaea semblatae</i>	734	734	100%	0.00	86.82%	JX502947.1

Berdasarkan Tabel 2, jarak genetik sampel TA paling dekat dengan *Atergatis floridus* (PH) yang berasal dari Philipina (NC_037201.1) sebesar 99.7 dan *Atergatis floridus* (DQ889081.1) sebesar 99.5. Dengan demikian, sampel kepiting yang ditangkap dari pesisir Pantai Minanga, Malalayang Satu, Kecamatan Malalayang, Kota Manado, Sulawesi Utara terkonfirmasi secara molekuler sebagai kepiting *Atergatis floridus*. Hal ini sama dengan hasil identifikasi morfologi. Sampel (TA) memiliki kekerabatan dekat sebesar 99.5 dengan *Brachyura sp.*, dan juga hal ini diketahui bahwa kepiting *Atergatis floridus* masuk pada infraordo Brachyura.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini telah menunjukkan bahwa kepiting yang ditemukan di zona intertidal Pesisir Pantai Minanga Kota Manado dengan karapas berbentuk oval dan cembung pada bagian dorsal, memiliki corak garis yang simetris pada bagian sisi kanan dan kirinya serta dengan corak yang warna hijau kekuningan secara morfologi dan presentase molekuler 99,70% terkonfirmasi sebagai *Atergatis floridus*.

Tabel 2. Jarak Genetik Spesies

No.	Spesimen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	TA	100									
2	MZ559712.1_Chlorodiella spinimera (PG).	85.6	100								
3	MW277770.1_Pseudoliomera speciosa (HI-US).	85.3	85.3	100							
4	JX502947.1_Actaea semblatae (KR).	86.2	86.1	85.0	100						
5	MT162488.1_Atergatis integerrimus (TH).	87.0	85.5	83.8	84.1	100					
6	MW277946.1_Platyopodia eydouxi (HI-US).	90.2	86.2	85.9	85.0	86.2	100				
7	HM464282.1_Brachyura sp. (QLD-AU).	98.3	85.2	84.7	85.9	86.2	89.6	100			
8	HM464283.1_Brachyura sp. (QLD-AU).	99.5	85.3	85.2	86.7	86.9	90.4	98.2	100		
9	DQ889081.1_Atergatis floridus.	99.5	85.3	85.2	86.7	86.9	90.4	98.2	100	100	
10	NC_037201.1_Atergatis floridus (PH).	99.7	85.3	85	86.2	86.7	90.2	98.6	99.5	99.5	100

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M.R.A., Paransa, D.S.J., Mantiri, D.M.H., Angkow, E.D., Angmalisang, P. A., & Mudeng, J. D. 2018. Distribusi Pigmen Karotenoid pada kepoiting grapsus sp dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 2(1), 19–25.
- Amin, F., Paransa, D.S.J., Ompi, M., Mantiri, D.M.H., Boneka, F.B., & Kalesaran, O. 2021. Identifikasi Morfologi dan Keanekaragaman Kepiting pada Timbunan Berbatu di Pantai Pesisir Malalayang Dua Kota Manado. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 9(3), 123–132. <https://doi.org/10.35800/jplt.9.3.2021.37746>.
- Dhar, B., Ghose, A., Kundu, S., Malvika, S., Neelima, D. N., Choudhury, A., & Ghosh, S. 2016. DNA barcoding: Molecular positioning of living fossils (horseshoe crab). In DNA barcoding in marine perspectives. Springer, Cham.
- Edwards, M. H. 1834. *Histoire Naturelle des Crustacés: Vol. I* (pp. 1–468).
- Edwards, M. H. 1837. *Histoire naturelle des Crustacés comprenant l’anatomie, la physiologie et la classification de ces animaux*. Librairie Encyclopedique de Roret: Vol. II (pp. 1–532).
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., & deWaard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.
- Ilaria, C.L., Paransa, D.S.J., Mantiri, D.M.H., Schadu, J.N.W., Darwisito, S., & Manginsela, F.B. 2022. Morphology of Crabs in Minanga Beach, Malalayang Satu, Manado City. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 10(2), 57–66. <https://doi.org/10.35800/jip.v10i2.41688>.
- Lepa, B.G., Paransa, D.S.J., Mantiri, D.M.H., Boneka, F.B., Lumoindong, F., & Tilaar, F.F. 2022. Identification And Diversity of Crab In Pondang And Lopana Beach Waters, South Minahasa. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 10(1), 85–91. <https://doi.org/10.35800/jip.v10i1.38004>.
- Mcnamara, J.C., & Milograna, S. 2015. Adaptive Color Change and the Molecular Endocrinology of Pigment Translocation in Crustacean Chromatophores. In *The Natural History of the Crustacea* (Vol. 4, pp. 68–102).

- Ng, P. 1998. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific. In K. E. Carpenter, Crabs (pp. 1045–1083). Food and Agriculture Organization of United Nations.
- Ng, P.K.L., & Davie, P.J. F. 2007. On the identity of *Atergatis floridus* (Linnaeus, 1767) and recognition of *Atergatis ocyroe* (Herbst, 1901) as a valid species from the Indian Ocean (Crustacea: Brachyura: Xanthidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 16, 169–175.
- Novitasari, D., Elvyra, R., & Roslim, D. 2014. Teknik Isolasi Dan Elektroforesis DNA Total Pada *Kryptopterus apogon* (Bleeker 1851) dari Sungai Kampar Kiri Dan Tapung Hilir Kabupaten Kampar Provinsi Riau.
- Ostell, J.M., Wheelan, S.J., & Kans, J.A. 2001. The NCBI Data Model. In: A. D. Baxevanis & B. F. F. Ouellette (Eds.). *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, Second Edition.
- Paransa, D.S.J., Mantiri, D.M.H., Lumenta, C., Ompi, M., & Pratasik, S.B. 2019. Morphological and Genetic Characteristics of Lightfoot Crab *Grapsus albolineatus* Latreille in Milbert, 1812 from Manado Bay, North Sulawesi. *Jurnal AACL Bioflux*, 12(3), 804–811.
- Poore, G.C. 2004. *Marine decapod Crustacea of southern Australia: A guide to identification*. CSIRO Publishing.
- Poupin, J., & Juncker, M. 2010. A guide to the decapod crustaceans of the south pacific/guide des crustaces decapodes du pacifique sud. SPC FAME Digital Library.
- Rustikasari, I., Paransa, D. S. J., Kaligis, E. Y., Ompi, M., Pelle, W. E., & Pratasik, S. B. 2021. Morphological identification of crabs in the rocky coast of Manado Bay. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 9(2), 210–216. <https://doi.org/10.35800/jip.9.2.2021.35200>.
- Salvanes, A. G. V., Devine, J., Jensen, K. H., Hestetun, J. T., Sjøtun, K., & Glenner, H. 2018. *Marine Ecological Field Methods. A Guide for Marine Biologists and Fisheries Scientists*. John Wiley & Sons.
- Saputri, A. 2018. Analisis dan Visualisasi DNA Multiple Sequence Alignment Menggunakan Dynamic Programming Needleman-Wunsch Dan Neighbor-Joining Tree. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Hidayatullah.
- Sari, S. K., Dwi, L., Mazieda, M. N., & Sulasmi, E. S. 2014. Optimasi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA pada Daun Cabai Rawit (*Capsicum rutescens* cv. Cakra Hijau) Menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Plant) GENE AID. *Proceeding Biology Education Conference*, 65–70.
- Stimpson, W. 1858. *Prodromus descriptionis animalium evertibratorum, quae in Expeditione ad Oceanum Pacificum Septentrionalem, a Republica Federata missa, Cadwaladaro Ringgold et Johanne Rodgers ducibus, observavit et descripsit W. Stimpson. Pars IV. Crustacea Cancroidea et Crystoidea, Cancridae. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 31–40.
- Suherman, S. P., & Arsad, S. 2020. Analisis Filogenetik Dan DNA Barcode Ektoparasit *Octolasmis cor* Yang Terinfestasi Pada Kepiting Bakau *Scylla* spp. *Jambura Fish Processing Journal*, 2(2), 94–100. <https://doi.org/10.37905/jfpj.v2i2.6969>.
- Sukmaningrum, T., Adji, B. K., Pratiwi, E. M., Larasati, B., Sayekti, P. R., Maulana, I., & Eprilurahman, R. 2020. Diversity of crabs in the intertidal zone at Sundak Beach, Gunungkidul, Indonesia. *AIP Conference Proceedings*.
- Tallei, T. E., Koneri, R., & Kolondam, B. J. 2017. Sequence Analysis of the Cytochrome C Oxidase Subunit I Gene of *Pseudagrion pilidorsum* (Odonata: Coenagrionidae). *Makara Journal of Science*, 21(1), 43–52. <https://doi.org/10.7454/mss.v21i1.7536>.
- Tasma, I. M. 2016. Pemanfaatan Teknologi Sekuensing Genom untuk Mempercepat Program Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 34(4), 159–168. <https://doi.org/10.21082/jp3.v34n4.2015.p159-168>.

- Untu, P., Rumengan, I. F. M., & Ginting, E. L. 2015. Identifikasi Mikroba yang Koeksis Dengan *Ascidia Lissoclinum patella* Menggunakan Sekuens Gen 16S rRNA. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 3(2), 23–33. <https://doi.org/10.35800/jplt.3.2.2015.10110>.
- Wahyudi, A. J. 2006. Kepiting Beracun Suku Xanthidae: Kajian dan Hipotesis Faktor-Faktor Penyebabnya. *Jurnal Oseana*, XXXI(4), 31–38.
- Widyastuti, E. 2003. Kepiting Beracun, Suk Xanthidae. *Oseana*, XXVIII(2), 11–19.
- Ylmaz, M., Ozic, C., & Gok, Ihami. 2012. Principles of Nucleic Acid Separation by Agarose Gel Electrophoresis. In *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*. InTech. <https://doi.org/10.5772/38654>.