

First record of semi-aquatic bugs (Hemiptera: Veliidae) from Tasik Ria coastal waters, North Sulawesi, Indonesia

Veibe Warouw^{1*}, Joice R.T.S.L. Rimper¹, Silvana D. Harikedua², Indri S. Manembu¹,
Natalie D. Rumampuk¹

¹ Marine Science Study Program, Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University, Jl. Kampus UNSRAT Bahu, Manado 95115, Indonesia

² Fishery Product Technology Study Program, Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University

*Correspondence: veibe.warouw@unsrat.ac.id

Received: 30 September 2025 – Revised: 20 October 2025 – Accepted: 30 October 2025

ABSTRACT: Semi-aquatic bugs of the family Veliidae (Hemiptera: Heteroptera: Gerromorpha) are primarily associated with freshwater habitats; their occurrence in coastal environments remains poorly documented, particularly in tropical regions. This study reports the first record of Veliidae from the coastal waters of Tasik Ria Beach, North Sulawesi, Indonesia, thereby expanding the known ecological distribution of this family. Specimens were collected from surface-water microhabitats using a sweep net, and key environmental parameters were measured in situ. Morphological identification was based on stereomicroscopic examination of diagnostic characters. Molecular confirmation was obtained through DNA barcoding of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, with sequences compared against the GenBank and BOLD databases. Both morphological and molecular analyses confirmed the specimens' taxonomic placement within Veliidae. Their presence in a coastal habitat indicates greater ecological plasticity and habitat tolerance than previously recognized. This finding establishes important baseline data for future research on the distribution, bioecology, and adaptive strategies of semi-aquatic insects in tropical coastal ecosystems.

Keywords: veliidae; semi-aquatic insects; habitat tolerance; tropical biodiversity; tasik ria

PENDAHULUAN

Serangga semi-akuatik dari famili Veliidae (Hemiptera) merupakan kelompok serangga yang hidup dan beraktivitas di permukaan air, dengan kemampuan memanfaatkan tegangan permukaan sebagai mekanisme utama pergerakan dan bertahan hidup (Cheng, 1976; Andersen, 1982). Famili ini diketahui memiliki distribusi luas, terutama pada habitat perairan tawar seperti sungai, danau, dan rawa, meskipun beberapa spesies dilaporkan mampu beradaptasi pada lingkungan payau hingga pesisir laut (Cheng, 1985; Andersen and Weir, 2004).

Ekosistem pesisir pantai merupakan zona peralihan yang sangat dinamis antara daratan dan lautan, dicirikan oleh fluktuasi lingkungan yang ekstrem seperti variasi salinitas, suhu, arus permukaan, serta intensitas radiasi matahari yang tinggi (Nybakken and Bertness, 2005; Alongi, 2008). Kondisi ini menuntut organisme yang menghuni wilayah pesisir untuk memiliki strategi adaptasi khusus agar dapat bertahan dan berkembang. Namun demikian, kajian keanekaragaman serangga semi-akuatik di wilayah pesisir, khususnya di daerah tropis, masih relatif terbatas dibandingkan dengan studi pada organisme laut lainnya (Cheng, 1985).

Indonesia sebagai negara kepulauan tropis memiliki garis pantai yang panjang dan tingkat keanekaragaman hayati pesisir yang sangat tinggi. Meskipun demikian, dokumentasi

ilmiah mengenai serangga semi-akuatik di wilayah pesisir Indonesia masih sangat terbatas dan sebagian besar penelitian serangga perairan masih berfokus pada ekosistem tawar (Polhemus and Polhemus, 2008). Sulawesi Utara, khususnya kawasan Pantai Tasik Ria, merupakan wilayah pesisir yang dipengaruhi oleh aktivitas daratan, dinamika perairan laut tropis, serta tekanan antropogenik, sehingga berpotensi menjadi habitat unik bagi organisme dengan kemampuan adaptasi tinggi.

Hingga saat ini, belum terdapat publikasi ilmiah yang melaporkan keberadaan serangga semi-akuatik famili Veliidae dari perairan pesisir Tasik Ria maupun wilayah pesisir Sulawesi Utara. Ketiadaan data dasar ini membatasi pemahaman mengenai taksonomi, preferensi habitat, serta potensi peran ekologis Veliidae dalam ekosistem pesisir tropis. Oleh karena itu, pelaporan pertama (*first record*) keberadaan Veliidae di perairan pesisir Tasik Ria menjadi penting sebagai kontribusi awal terhadap inventarisasi keanekaragaman hayati pesisir Indonesia dan sebagai dasar bagi penelitian lanjutan terkait ekologi, adaptasi, dan biologi serangga semi-akuatik di lingkungan laut. Oleh karena itu, diperlukan studi keragaman genetik untuk mendapatkan data molekular dan hubungan kekerabatan evolusioner serangga Veliidae di perairan pesisir Pantai Tasik Ria.



Figure 1. The smallest marine insect (Hemiptera: Veliidae)

MATERIAL DAN METODE

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di perairan pesisir Pantai Tasik Ria, Sulawesi Utara, Indonesia. Titik sampling ditetapkan pada beberapa mikrohabitat permukaan air (misalnya: zona air tenang dekat vegetasi pesisir/mangrove/serasah, area genangan pasang-surut, dan tepi aliran air tawar yang bermuara ke pantai). Parameter lingkungan yang dicatat *in situ* meliputi suhu air, salinitas serta kondisi cuaca/gelombang (tenang–sedang) sebagai informasi pendukung bioekologi (Nybakken and Bertness, 2005; Alongi, 2008).

Pengambilan dan preservasi sampel serangga

Serangga semi-akuatik (Hemiptera: Gerromorpha) (Figure 1) dikoleksi dari permukaan air menggunakan jaring serangga (mesh $\pm 250\text{--}500\ \mu\text{m}$) dengan metode sweep sampling pada permukaan air sepanjang transek pendek (10–20 m), diulang minimal 3 kali (replicate) untuk meningkatkan peluang deteksi spesies. Sampel hidup dipindahkan ke wadah untuk dipisahkan dari kotoran sebelum proses fiksasi/preservasi. Pendekatan koleksi dan penanganan serangga semi-akuatik mengikuti prinsip umum survei Gerromorpha dan studi keanekaragaman Heteroptera perairan (Andersen, 1982; Schuh and Slater, 1995).

Sampel serangga yang sudah dibersihkan kemudian diawetkan dengan 70% etanol untuk keperluan identifikasi secara morfologi. Sedangkan untuk analisa DNA, sebanyak 10 individu serangga diawetkan dalam etanol 95% dan disimpan pada suhu 4°C untuk meminimalkan degradasi DNA (Hebert et al., 2003; Ivanova et al., 2006).

Identifikasi morfologi dan dokumentasi spesimen

Identifikasi morfologi dilakukan di laboratorium menggunakan stereomikroskop. Karakter yang diamati mencakup bentuk tubuh, ukuran, warna/pola pada permukaan tubuh, struktur antena dan rostrum, proporsi kaki (Andersen, 1982; Schuh and Slater, 1995; Schuh and Weirauch, 2020).

Ekstraksi dan Isolasi DNA

Identifikasi molekular dilakukan melalui ekstraksi dan isolasi DNA genom menggunakan AxyPrep multisource genomic DNA miniprep Kit (Axygen Biosciences). Primer yang digunakan adalah gen mitokondria Cytochrome c oxidase subunit I (COI) sebagai barcode standar hewan. Reaksi PCR dilakukan menggunakan primer universal (Folmer et al., 1994; Hebert et al., 2003):

- LCOI490 (Forward): 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
- HCO2198 (Reverse): 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'

Serangga yang telah dikoleksi disimpan dalam kondisi beku di dalam freezer hingga proses analisis dilakukan. Tahap ekstraksi dimulai dengan merendam sampel serangga ke dalam tabung ependorf, kemudian ditambahkan 350 μl DH_2O . Sampel selanjutnya dihancurkan menggunakan pestel dan dikocok menggunakan shaker selama 1 menit hingga homogen. Proses isolasi DNA dilakukan dengan mengikuti prosedur isolasi jaringan dari Axxygen Bioscience. Tahapan awal dilakukan dengan menambahkan 350 μl PBS ke dalam ependorf yang berisi sampel untuk proses pencucian. Selanjutnya ditambahkan 0,9 μl RNase untuk menghilangkan RNA, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 30 detik. Untuk mendegradasi protein, ditambahkan 20 μl Proteinase K dan 150 μl Buffer CL, kemudian kembali dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit.

Sampel kemudian diinkubasi selama 3 jam pada suhu 56°C menggunakan heater. Setelah inkubasi, ditambahkan 350 μl buffer P-D dan dihomogenkan menggunakan vortex selama 30 detik. Untuk memperoleh supernatan, sampel disentrifugasi pada kecepatan $12.000 \times g$ selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dimasukkan ke dalam kolom miniprep yang ditempatkan pada tabung mikro 2 ml, kemudian disentrifugasi selama 1 menit pada $12.000 \times g$. Filtrat yang dihasilkan dibuang, dan kolom miniprep dipindahkan ke tabung mikro 2 ml yang baru.

Selanjutnya, ke dalam kolom ditambahkan 700 μl buffer W1 dan disentrifugasi selama 1 menit pada $12.000 \times g$. Filtrat dibuang, kemudian ditambahkan 700 μl buffer W2 dan kembali disentrifugasi dengan kondisi yang sama. Presipitat yang terbentuk dipindahkan ke kolom mini yang diletakkan pada tabung mikro 1,5 ml. Sebanyak 100 μl eluent kemudian ditambahkan, didiamkan pada suhu ruang selama 2 menit, lalu disentrifugasi selama 1 menit pada $2.000 \times g$. Filtrat yang mengandung DNA disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan lebih lanjut.

Proses amplifikasi DNA gen COI dilakukan menggunakan PCR. Sebanyak 10 μl supernatan dimasukkan ke dalam tabung ependorf 1 ml, kemudian ditambahkan 2 μl primer forward, 2 μl primer reverse, 1 μl MgCl_2 , 25 μl Taq polymerase 2 \times mastermix, 2 μl DNA template, serta 19 μl DH_2O . Amplifikasi PCR dilakukan dengan kondisi awal pre-denaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, diikuti denaturasi

pada 95°C selama 40 detik, annealing pada 50°C selama 40 detik, dan ekstensi pada 72°C selama 50 detik. Tahap final ekstensi dilakukan pada suhu 72°C selama 1 menit, dengan total 35 siklus pengulangan.

Hasil amplifikasi PCR kemudian dianalisis menggunakan elektroforesis untuk memperoleh fragmen DNA. Pita DNA dengan kualitas terbaik dipilih dan dikirim ke First Base Co., Malaysia, untuk proses sekuensing. Data hasil sekuensing berupa urutan basa DNA selanjutnya dianalisis menggunakan metode BLAST dan dibandingkan dengan basis data genetik, sehingga diperoleh identitas genus dari serangga yang diteliti.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Serangga Semi-Akuatik Famili Veliidae

Serangga semi-akuatik yang ditemukan di perairan pesisir Pantai Tasik Ria menunjukkan karakter morfologi yang sesuai dengan ciri diagnostik famili Veliidae. Sampel serangga yang ditemukan umumnya memiliki ukuran tubuh kecil 2-4 mm, tubuh agak pipih secara dorsoventral, serta dilengkapi kaki yang panjang dan ramping sebagai adaptasi utama untuk bergerak di atas permukaan air (Andersen, 1982; Schuh and Slater, 1995). Bentuk tubuh yang relatif ringan dan proporsional ini memungkinkan Veliidae mempertahankan stabilitas saat memanfaatkan tegangan permukaan air sebagai media lokomosi.

Keberadaan rambut-rambut hidrofobik (microtrichia) pada permukaan tubuh dan kaki merupakan adaptasi morfologi yang sangat penting bagi kehidupan di permukaan air. Struktur ini berfungsi mencegah pembasahan tubuh dan membentuk lapisan udara tipis yang meningkatkan daya apung serta efisiensi pergerakan (Andersen and Cheng, 2004; Bush and Hu, 2006). Adaptasi tersebut juga berperan dalam menghadapi kondisi pesisir yang lebih dinamis dibandingkan perairan tawar, seperti percikan air laut dan fluktuasi salinitas.

Secara fungsional, kaki tengah dan kaki belakang yang relatif lebih panjang berperan sebagai alat dorong utama saat bergerak, sedangkan kaki depan digunakan untuk menangkap mangsa kecil di permukaan air. Pola ini konsisten dengan perilaku predator permukaan air yang umum ditemukan pada kelompok Gerromorpha, termasuk Veliidae dan Gerridae (Cheng, 1985; Polhemus and Polhemus, 2008). Karakter morfologi tersebut menunjukkan bahwa spesimen yang ditemukan di Pantai Tasik Ria memiliki adaptasi struktural yang memadai untuk bertahan dan berfungsi secara ekologis di habitat pesisir.

Distribusi dan Signifikansi Biogeografi Veliidae

Famili Veliidae memiliki distribusi kosmopolitan dan ditemukan terutama di wilayah tropis dan subtropis, dengan sebagian besar catatan berasal dari ekosistem perairan tawar seperti sungai, danau, dan rawa (Andersen, 1982; Schuh and Weirauch, 2020). Laporan keberadaan Veliidae di habitat payau dan pesisir relatif terbatas, sehingga temuan di Pantai Tasik Ria memberikan kontribusi penting dalam memperluas cakupan distribusi ekologis kelompok ini.

Distribusi Veliidae di pesisir Sulawesi Utara menunjukkan bahwa ekosistem pesisir tropis dapat berfungsi sebagai habitat alternatif yang mendukung kehidupan serangga semi-akuatik. Keberadaan aliran air tawar, input organik dari

daratan, serta kondisi permukaan air yang relatif tenang di beberapa zona pesisir memungkinkan terbentuknya mikrohabitat yang sesuai bagi Veliidae (Nybakken and Bertness, 2005; Alongi, 2008). Kondisi ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menyatakan bahwa beberapa anggota Gerromorpha mampu beradaptasi pada habitat dengan variasi salinitas yang cukup luas (Cheng, 2009).

Dari perspektif biogeografi, temuan ini memperkuat dugaan bahwa keanekaragaman dan distribusi Veliidae di kawasan Indo-Pasifik, khususnya Indonesia, masih belum terdokumentasi secara menyeluruh. Kurangnya laporan sebelumnya kemungkinan besar disebabkan oleh keterbatasan survei dan fokus penelitian, bukan karena ketiadaan organisme tersebut (Polhemus and Polhemus, 2008). Oleh karena itu, hasil penelitian ini memberikan data dasar yang signifikan untuk melengkapi inventarisasi keanekaragaman hayati serangga semi-akuatik di wilayah pesisir Indonesia.

Bioekologi Veliidae di Ekosistem Pesisir

Secara bioekologi, Veliidae dikenal sebagai predator permukaan air yang memanfaatkan serangga kecil, larva, dan organisme mikroskopis sebagai sumber makanan utama (Cheng, 1985; Andersen, 1993). Keberadaan Veliidae di perairan pesisir Pantai Tasik Ria menunjukkan bahwa jejaring makanan di permukaan air ekosistem pesisir melibatkan komponen serangga semi-akuatik yang sebelumnya kurang mendapat perhatian.

Lingkungan pesisir dicirikan oleh fluktuasi faktor fisik dan kimia, termasuk perubahan salinitas, suhu, serta intensitas cahaya matahari yang tinggi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa serangga semi-akuatik memiliki toleransi fisiologis dan strategi perilaku tertentu untuk menghadapi kondisi tersebut, seperti memilih mikrohabitat yang terlindung atau mengatur aktivitas harian untuk menghindari kondisi ekstrem (Helmuth et al., 2006; Cheng, 2009). Hal ini memungkinkan Veliidae bertahan hidup di zona antarmuka darat-laut yang dinamis.

Paparan radiasi matahari yang intens di perairan pesisir tropis juga menjadi faktor lingkungan penting yang berpotensi mempengaruhi fisiologi serangga permukaan air. Meskipun aspek ini belum dikaji secara spesifik dalam penelitian ini, keberhasilan Veliidae menghuni habitat pesisir mengindikasikan adanya mekanisme adaptasi terhadap stres cahaya dan suhu tinggi, sebagaimana dilaporkan pada beberapa serangga laut dan semi-akuatik lainnya (Cheng, 2009; Warouw et al., 2022).

Selain perannya sebagai predator, Veliidae juga berpotensi menjadi indikator ekologis kondisi lingkungan permukaan air. Perubahan kualitas perairan pesisir, seperti peningkatan pencemaran atau perubahan struktur habitat, dapat mempengaruhi keberadaan dan distribusi Veliidae (Polhemus and Polhemus, 2008). Oleh karena itu, dokumentasi awal keberadaan Veliidae di Pantai Tasik Ria memiliki nilai penting sebagai referensi dasar untuk pemantauan dan pengelolaan ekosistem pesisir di masa depan.

Pelaporan pertama keberadaan Veliidae di perairan pesisir Tasik Ria menegaskan bahwa famili ini memiliki fleksibilitas ekologis yang lebih luas daripada yang selama ini diasumsikan. Temuan ini tidak hanya memperkaya data keanekaragaman hayati regional, tetapi juga membuka peluang penelitian lanjutan terkait adaptasi morfologi,

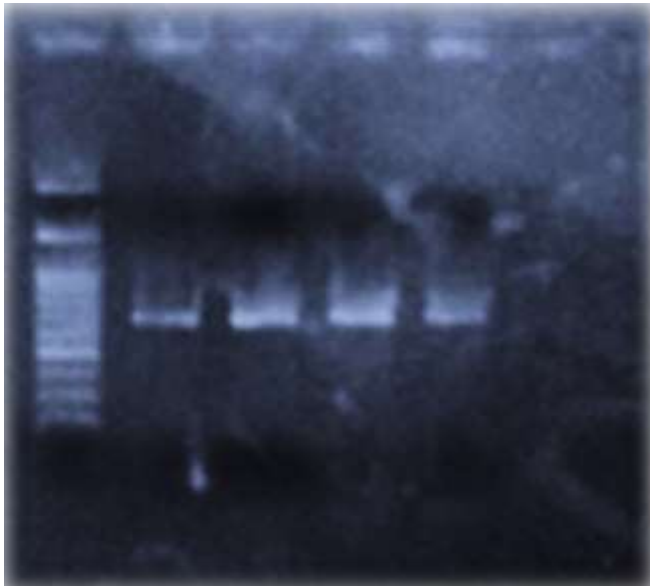


Figure 2. Visualization of mitochondrial DNA amplified with COI primers (658bp).

fisiologi, dan molekuler serangga semi-akuatik di lingkungan pesisir tropis.

Data Bioinformatika DNA serangga

Telah berhasil didapatkan ekstrak DNA serangga dari famili Veliidae yang hidup pada permukaan air laut di perairan pantai Tasik Ria Mokupa. Hasil amplifikasi fragmen DNA target divisualisasi dengan elektroforesis dan

tervisualisasi fragmen DNA target pada 658 bp dibandingkan dengan DNA marker (Figure 2). Hasil visualisasi gel agarose memperlihatkan pita tunggal yang jelas, tebal, dan tidak smear. Hal tersebut menandakan bahwa hasil isolasi DNA memiliki kualitas yang baik karena tidak terlihat pola DNA yang terdegradasi.

Produk PCR dari sampel serangga tersebut kemudian di verifikasi lebih lanjut dengan sequencing, sehingga tingkat kekerabatan genetik sampel dapat dianalisis secara komprehensif berdasarkan data molekuler dengan data yang sudah ada di genbank serta mendapatkan pohon filogeni. Elektroferogram sampel serangga (Figure 3), setiap warna mewakili satu jenis basa nitrogen, pada setiap puncak tertuliskan basa nitrogen untuk masing-masing warna. Urutan nukleotida yang didapat setelah proses sekuensing kemudian diolah menggunakan program BioEdit. Nukleotida A (Adenin) berwarna hijau, nukleotida G (Guanin) berwarna hitam, nukleotida C (Sitosin) berwarna biru dan nukleotida T (Timin) berwarna merah. Berikut merupakan elektroferogram dari sampel serangga, puncak yang tinggi menunjukkan nilai kepercayaan yang tinggi pula.

Semakin tinggi puncak maka makin dapat dipercaya jenis nukleotida yang ditunjukkannya. Puncak yang lemah, rendah dan saling bertumpuk menandakan kurang baiknya hasil analisis sekuensing DNA. Hal yang menyebabkannya antara lain masalah pada DNA template (tidak ada atau jumlahnya yang tidak mencukupi) dan masalah pada primer (jumlahnya tidak mencukupi dan primer tidak berinteraksi dengan template secara efisien) (Yuwono, 2006).

Penyatuan/alignment sekuen *reverse* dan *forward* untuk sampel serangga tertera pada Figure 4. terdapat 658 basa hasil alignment. Hasil alignment tersebut kemudian

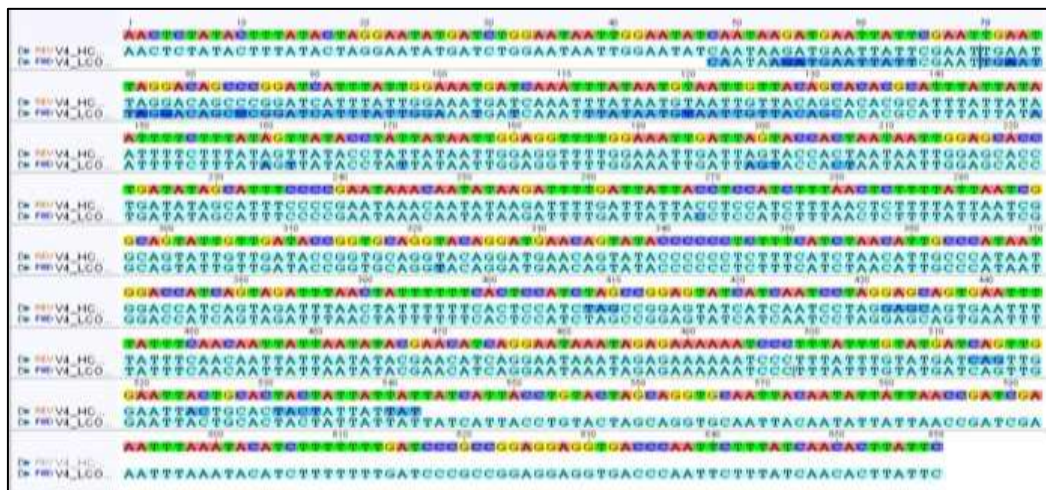


Figure 3. Electroferogram of insect samples

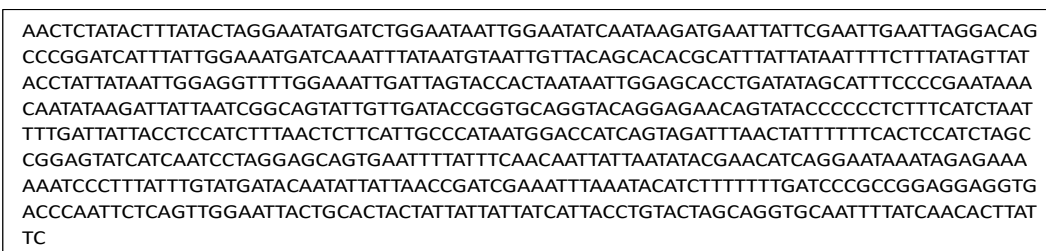


Figure 4. Reverse and forward sequence alignment results

dianalisis dengan program BLAST untuk disejajarkan dengan data yang ada sehingga mendapatkan perbandingan tingkat kekerabatan sampel dengan data pada GenBank.

Hasil analisis BLAST terhadap sekuen gen *cytochrome c oxidase subunit I* (COI) dari sampel serangga menunjukkan tingkat kesamaan yang sangat tinggi dengan sekuen referensi yang tersedia dalam database GenBank (Figure 5). Visualisasi distribusi *top 100 BLAST hits* memperlihatkan dominasi alignment dengan skor tinggi dan cakupan sekuen yang hampir menyeluruh sepanjang panjang sekuen query. Pola ini menegaskan adanya homologi yang kuat antara sekuen COI sampel dengan sekuen pembandingan.

Tingkat kesamaan sekuen COI yang tinggi ($\geq 97-99\%$) secara luas digunakan sebagai ambang batas identifikasi spesies pada serangga laut dan invertebrata lainnya, sehingga hasil BLAST ini memberikan dasar molekuler yang kuat untuk penentuan identitas taksonomi spesies yang dianalisis, termasuk beberapa serangga laut dari family Gerridae (Hebert et al., 2003; Ratnasingham and Hebert, 2007; Warouw et al., 2016). Cakupan alignment yang hampir lengkap juga menunjukkan bahwa fragmen COI yang digunakan bersifat representatif dan tidak mengalami degradasi selama proses ekstraksi DNA dan amplifikasi PCR.

Distribusi BLAST hits yang relatif homogen dengan variasi nukleotida yang rendah juga mengindikasikan rendahnya variasi intraspesifik gen COI pada kelompok ini. Gen COI diketahui berada di bawah tekanan seleksi purifying karena perannya dalam respirasi mitokondria, sehingga cenderung konservatif dalam satu spesies namun cukup variabel antar spesies (Pentinsaari et al., 2016). Karakteristik ini menjadikan gen COI sangat efektif untuk mendeteksi rekaman distribusi baru secara akurat.

Hasil analisis BLASTN terhadap urutan DNA gen COI dari sampel serangga menunjukkan adanya penjajaran sekuen yang signifikan dengan data referensi yang tersimpan dalam database GenBank. Berdasarkan tabel pada Figure 6. *Sequences producing significant alignments*, sekuen query memperlihatkan nilai *percent identity* yang tinggi, *query coverage* yang luas, serta nilai *E-value* yang sangat rendah (mendekati 0,0), yang secara statistik mengindikasikan

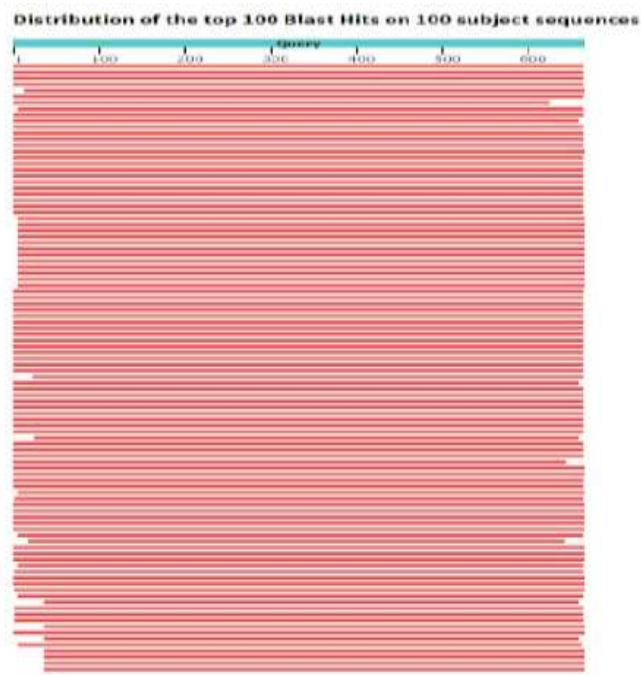


Figure 5. The similarity level of the COI gene sequence (658 bp) from the sample with data from NCBI GenBank

kesamaan sekuen yang sangat kuat dan bukan terjadi secara kebetulan.

Tingkat kesamaan sekuen COI yang tinggi (umumnya $\geq 97\%$) merupakan standar yang secara luas diterima untuk identifikasi spesies pada serangga dan invertebrata lainnya, sehingga hasil ini memberikan bukti molekuler yang kuat bahwa sampel yang dianalisis berkerabat sangat dekat atau identik secara taksonomi dengan spesies referensi di GenBank (Hebert et al., 2003; Ratnasingham and Hebert, 2007). Nilai *query coverage* yang hampir mencakup seluruh panjang sekuen (± 600 bp) juga menunjukkan bahwa fragmen gen COI yang dianalisis bersifat representatif dan sesuai dengan fragmen *DNA barcode* standar.

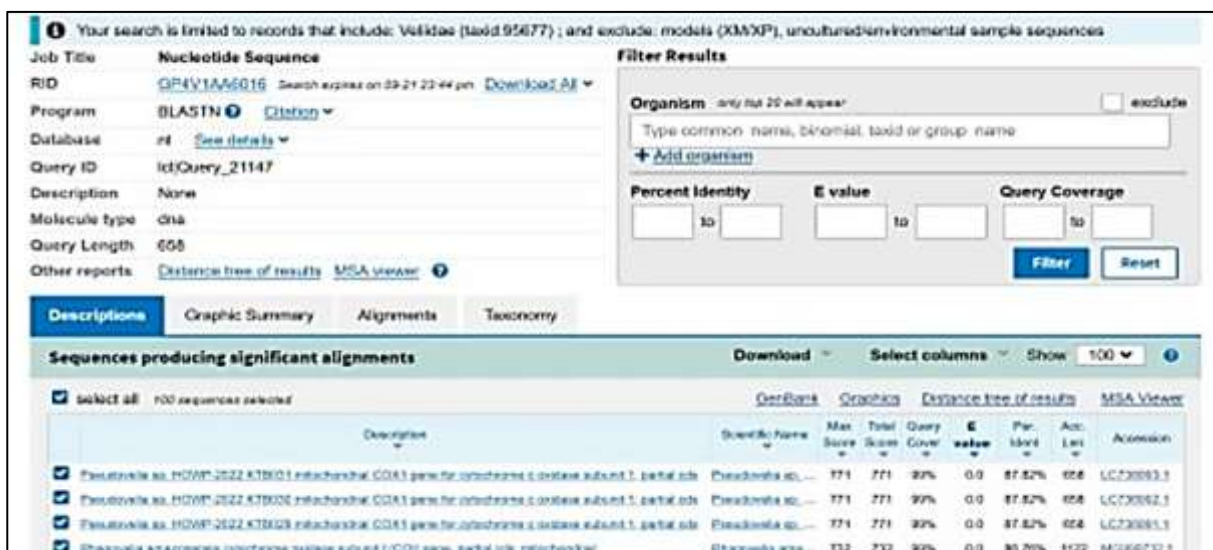


Figure 6. BLAST data alignment for insect DNA sequences with data in GenBank

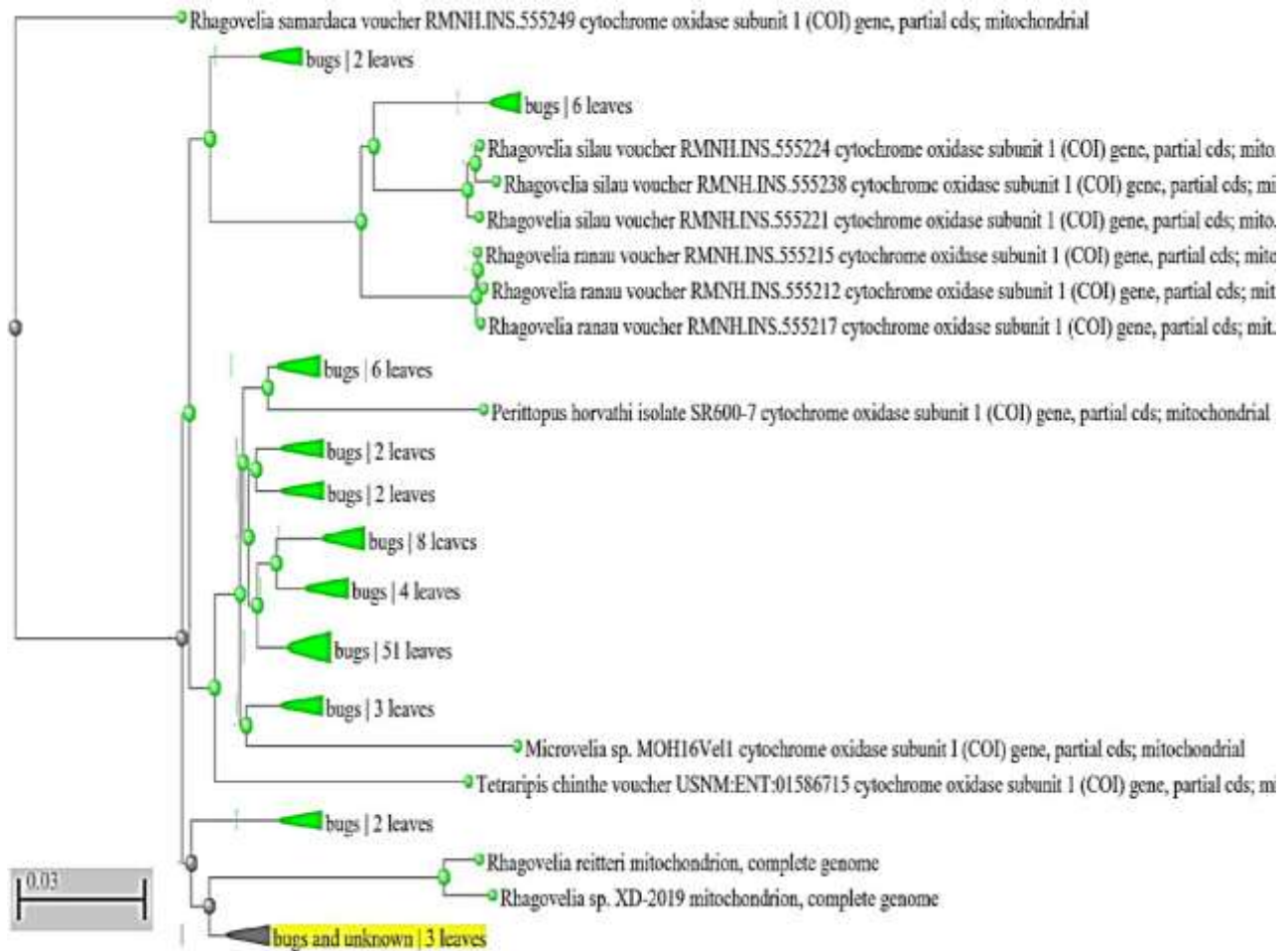


Figure 7. Phylogenetic tree of insect samples based on neighbor joining tree

Nilai *E-value* yang sangat rendah (≈ 0.0) menegaskan bahwa penjajaran antara sekuen query dan sekuen referensi memiliki tingkat signifikansi yang sangat tinggi. Menurut Altschul et al. (1997), semakin kecil nilai *E-value*, semakin kecil kemungkinan bahwa kesamaan sekuen tersebut terjadi secara acak. Oleh karena itu, hasil BLAST ini secara kuat mendukung keakuratan identifikasi molekuler sampel serangga yang diteliti.

Berdasarkan analisa hasil BLAST, hasil penjajaran dengan data yang ada pada GenBank, hasil BLAST menunjukkan bahwa sampel tidak identik dengan sekuen yang tersedia di GenBank, karena nilai kesamaan tertinggi hanya mencapai 87%, yang mengindikasikan perbedaan pada tingkat spesies dan memerlukan konfirmasi filogenetik lebih lanjut yang paling tinggi hanya sebesar 87%. Nilai max identity sebesar $\geq 99\%$ menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies yang sama, sedangkan homologi $\geq 97\%$ dapat dinyatakan bahwa sampel yang dibandingkan berada pada genus yang sama dan homologi antara 80-93% menunjukkan genus yang berbeda. Tetapi hal ini perlu ditelusuri lagi melalui analisis filogenetik dengan melihat percabangan yang dibentuk oleh sampel melalui pengamatan posisi yang ditempati.

Pohon filogeni yang dihasilkan menggunakan metode Neighbor Joining (NJ) berdasarkan sekuen gen *cytochrome c oxidase subunit I* (COI) menunjukkan pola kekerabatan genetik yang jelas antar takson serangga semi-akuatik yang

dianalisis (Figure 7). Metode NJ dipilih karena efektif dalam merekonstruksi hubungan filogenetik berdasarkan jarak genetik, khususnya pada dataset DNA barcoding dengan panjang sekuen yang relatif seragam.

Secara umum, pohon filogeni memperlihatkan pengelompokan yang konsisten antara sekuen sampel penelitian dengan sekuen referensi dari GenBank dalam genus *Rhagovelia*. Sampel penelitian berkelompok dalam satu klade utama bersama beberapa spesies *Rhagovelia* lain, seperti *Rhagovelia ranau*, *Rhagovelia silau*, dan *Rhagovelia smaragdina*. Pengelompokan ini mengindikasikan adanya kedekatan genetik yang tinggi dan menegaskan bahwa sampel yang dianalisis merupakan bagian dari genus tersebut.

Cabang-cabang dengan panjang relatif pendek pada klade *Rhagovelia* menunjukkan rendahnya jarak genetik antar sekuen, yang mencerminkan konservatisme gen COI pada tingkat intraspesifik maupun antar spesies yang berkerabat dekat. Sebaliknya, pemisahan yang lebih panjang antara klade *Rhagovelia* dengan klade lain, seperti *Perittopus*, *Microvelia*, dan *Tetraripis*, menandakan perbedaan genetik yang lebih besar dan mendukung validitas pemisahan taksonomi antar genus dalam famili Veliidae.

Keberadaan beberapa klade kecil dengan jumlah daun (*leaves*) yang berbeda menunjukkan variasi genetik internal dalam kelompok *Rhagovelia*. Variasi ini dapat mencerminkan perbedaan geografis, isolasi populasi, atau adaptasi ekologis terhadap kondisi habitat yang berbeda. Namun demikian,

posisi sampel penelitian yang konsisten berada dalam klade *Rhagovelia* memperkuat identifikasi molekuler yang sebelumnya diperoleh melalui analisis BLAST.

Meskipun sampel menunjukkan kedekatan genetik yang tinggi dengan sekuen *Rhagovelia* yang telah terdaftar di GenBank, hingga saat ini belum terdapat laporan filogenetik berbasis gen COI yang mendokumentasikan keberadaan spesies *Rhagovelia* dari lokasi penelitian. Oleh karena itu, pohon filogeni ini memberikan bukti molekuler kuat yang mendukung klaim sebagai catatan pertama (*first molecular record*) keberadaan genus atau spesies *Rhagovelia* di wilayah tersebut.

Selain itu, pemisahan yang jelas antara klade *Rhagovelia* dan takson pembanding berfungsi sebagai *outgroup* memperlihatkan struktur pohon yang stabil dan konsisten secara evolusioner. Hal ini menunjukkan bahwa hasil rekonstruksi filogeni menggunakan metode *Neighbor Joining* dapat diandalkan untuk menggambarkan hubungan kekerabatan pada kelompok serangga semi-akuatik.

KESIMPULAN

Secara keseluruhan, pohon filogeni berbasis metode *Neighbor Joining* menegaskan bahwa sampel penelitian memiliki afinitas genetik yang kuat dengan genus *Rhagovelia* dan memberikan dukungan filogenetik yang solid terhadap hasil identifikasi morfologi dan BLAST. Temuan ini memperkaya data filogenetik serangga semi-akuatik dan memberikan kontribusi penting terhadap pemahaman biodiversitas serta distribusi evolusioner Veliidae di kawasan tropis.

Ucapan Terima Kasih. Terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM), Universitas Sam Ratulangi, yang telah membiayai kegiatan penelitian ini melalui Daftar Isian Pelaksana Anggaran (DIPA) Badan Layanan Umum Unsrat dengan Nomor Kontrak 389/UN12.13/LT/2023. “Kami menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dengan organisasi manapun mengenai bahan yang didiskusikan dalam naskah ini.”

REFERENSI

- ALTSCHUL, S.F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E.W. AND LIPMAN, D.J. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25 (17), pp. 3389-3402. <https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>
- ALONGI, D.M. (2008) *Coastal Ecosystem Processes*. Boca Raton: CRC Press.
- ANDERSEN, N.M. (1982) *The Semiaquatic Bugs (Hemiptera: Gerromorpha)*. Copenhagen: Scandinavian Science Press.
- ANDERSEN, N.M. (1993) Classification, phylogeny, and zoogeography of the pond skaters (Hemiptera: Gerridae). *Entomologica Scandinavica Supplement*, 44, pp. 1-100.
- ANDERSEN, N.M. and CHENG, L. (2004) The marine insect *Halobates*. *Advances in Marine Biology*, 47, pp. 269-317. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(04\)47004-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(04)47004-2)
- ANDERSEN, N.M. and WEIR, T.A. (2004) Australian water striders (Hemiptera: Gerromorpha). *Zootaxa*, 768, pp. 1-344. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.768.1.1>
- BUSH, J.W.M. and HU, D.L. (2006) Walking on water: biolocomotion at the interface. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 38, pp. 339-369. <https://doi.org/10.1146/annurev.fluid.38.050304.092157>
- CHENG, L. (1976) *Marine Insects*. Amsterdam: North-Holland Publishing Company.
- CHENG, L. (1985) Biology of *Halobates* (Heteroptera: Gerridae). *Annual Review of Entomology*, 30, pp. 111-135. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.30.010185.00051>
- CHENG, L. (2009) Marine insects and their adaptations. *Marine Ecology*, 30(S1), pp. 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2009.00307.x>
- FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R. and VRIJENHOEK, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), pp. 294-299.
- HEBERT, P.D.N., CYWINSKA, A., BALL, S.L. and DEWAARD, J.R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B*, 270(1512), pp. 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- HELMUTH, B., MIESZKOWSKA, N., MOORE, P. and HAWKINS, S.J. (2006) Living on the edge of two changing worlds: forecasting the responses of rocky intertidal ecosystems to climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, pp. 373-404. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110149>
- IVANOVA, N.V., DEWAARD, J.R. and HEBERT, P.D.N. (2006) An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes*, 6(4), pp. 998-1002. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01428.x>
- NYBAKKEN, J.W. and BERTNESS, M.D. (2005) *Marine Biology: An Ecological Approach*. 6th eds. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.
- PENTINSAARI, M., SALMELA, H., MUTANEN, M. and ROSLIN, T. (2016) Molecular evolution of a widely-adopted taxonomic marker (COI). *Molecular Ecology*, 25(14), pp. 352-363. <https://doi.org/10.1111/mec.13528>
- POLHEMUS, D.A. and POLHEMUS, J.T. (2008) Global diversity of true bugs (Heteroptera). *Hydrobiologia*, 595, pp. 379-391. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9033-1>
- RATNASINGHAM, S. and HEBERT, P.D.N. (2007) BOLD: The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes*, 7(3), pp. 355-364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>
- SCHUH, R.T. and SLATER, J.A. (1995) *True Bugs of the World (Hemiptera: Heteroptera)*. Ithaca: Cornell University Press.
- SCHUH, R.T. and WEIRAUCH, C. (2020) *True Bugs of the World*. 2nd edn. Manchester: Siri Scientific Press.
- WAROUW, V., SALAKI, C., MANGINDAAN, R.E.P., TULUNG, M., MARAMIS, R.T.D and MOKOSULI, Y.S. (2016) Isolation and Characterization of Partial Mitochondrial COI Gene from Marine Insect Gerridae, *Stenobates biroi* from Mokuapa Beach Manado, North

Sulawesi, Indonesia. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 6(6), pp. 41-47.
WAROUW, V., RIMPER, R.T.S.L and HARIKEDUA, S.D. (2022). Unique Marine Insects (Hemiptera) From North

Sulawesi and Self-Defense Mechanism Against Sun Exposure. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 6(12), pp. 1986-1989. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v6i12.15>.