

DNA BARCODING, IDENTIFIKASI MORFOLOGI DAN KEPADATAN POPULASI GENUS *TRIDACNA* DI PERAIRAN MALUKU UTARA

DNA BARCODING, MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION AND POPULATION DENSITY OF GENUS *TRIDACNA* IN NORTH MALUKU WATER

Namira Hadadi¹, Hawis Madduppa¹, Irma Shita Azaraly², dan
Nurlita Putri Anggraini^{1*}

¹Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, FPIK-IPB, Bogor, 16820, Jawa Barat

²Pusat Riset Oseanografi, Badan Riset Inovasi Nasional (BRIN), Jakarta, 14430, DKI Jakarta,

*E-mail: nurlitaputrianggraini@gmail.com

ABSTRACT

*Tridacna (kima) is a giant bivalve that is important to ecology. Attractive sizes and colours are the main attraction of overexploitation. Protection must occur, such as density measurement, size variations, and species identification based on morphology and DNA barcodes. This study aimed to identify clams using the DNA barcode method and to evaluate their population size and density in North Maluku waters. The research method uses DNA barcodes, morphological identification of mantle colour and shell size variations, and measurements of the density of clams found in North Maluku waters. The results were helpful based on DNA barcoding. They helped detect the morphology of the same results. Namely, three types of clams, *Tridacna crocea*, *Tridacna squamosa*, and *Tridacna maxima*, were detected. Differences in the shell's size and shape and the mantle's colour strengthen the three types as distinct species. In addition, the clade shape of the phylogenetic tree between the samples and GenBank data from the same clade. The condition of clam density in these waters showed the same results as other locations, namely less than 1/m². A value density of < 1 m² may suggest that the species is declining or lead to over-exploitation. Thus, this research data can be used as a reference for assessing chemical conservation activities.*

Keywords: *evaluation of density, evaluation of size, overexploitation, species decreased*

ABSTRAK

*Tridacna (kima) merupakan bivalvia yang berukuran besar dan memiliki peran penting dalam ekologi. Ukuran dan warna menarik yang menjadi daya tarik hingga mengalami overexploitation. Langkah perlindungan perlu dilakukan, salah satunya pengukuran kepadatan, variasi ukuran yang banyak ditemukan dan identifikasi spesies berdasarkan morfologi dan DNA barcoding. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi kima dengan metode DNA barcoding serta mengevaluasi ukuran dan kepadatan populasinya di Perairan Maluku Utara. Metode penelitian menggunakan DNA barcoding dan identifikasi morfologi berupa warna mantel dan variasi ukuran cangkangnya serta pengukuran kepadatan kima yang ditemukan di Perairan Maluku Utara. Hasil identifikasi berdasarkan DNA barcoding dan identifikasi morfologi menunjukkan hasil yang sama, yaitu terdeteksi tiga jenis kima, *Tridacna crocea*, *Tridacna squamosa*, dan *Tridacna maxima*. Perbedaan ukuran dan bentuk cangkang serta warna mantel yang timbul, memperkuat ketiga jenis tersebut sebagai spesies yang berbeda. Selain itu, bentuk clade pohon filogenetik antara sampel dengan data genbank membentuk clade yang sama. Kondisi kepadatan kima pada perairan ini menunjukkan hasil yang sama dengan lokasi lain, yaitu nilainya kurang dari 1 /m². Nilai kepadatan < 1 m² dapat mengarahkan bahwa spesies tersebut mengalami penurunan atau mengarah pada overexploitation. Sehingga, data penelitian ini dapat dijadikan sebagai referensi penilaian untuk kegiatan konservasi kima.*

Kata kunci: *evaluasi kepadatan, evaluasi ukuran, overexploitation, penurunan spesies*

I. PENDAHULUAN

Tridacna (kima) termasuk dalam filum bivalvia yang berukuran besar, mudah dikenali karena memiliki warna yang khas dan sebagian besar berasosiasi dengan ekosistem terumbu karang. Kima dibagi menjadi dua genus, yaitu *Hippopus* dan *Tridacna*. Genus *Hippopus* terbagi menjadi dua jenis, yaitu *Hippopus hippopus* dan *Hippopus porcellanus*. Genus *Tridacna* terbagi menjadi delapan spesies, yaitu *Tridacna gigas*, *Tridacna maxima*, *Tridacna crocea*, *Tridacna squamosa*, *Tridacna derasa*, *Tridacna rosewatari*, *Tridacna tevoroa* dan *Tridacna costata* (bin Othman *et al.*, 2010; Kumayanjati, 2015). Setiap jenis kima memiliki preferensi habitatnya sendiri, seperti pada jenis *T. derasa*, *T. squamosa*, *T. gigas*, *T. crocea*, dan *T. maxima* memiliki sebaran yang luas di Perairan Hindia dan Pasifik (bin Othman *et al.*, 2010). Habitat kima banyak ditemukan berasosiasi dengan terumbu karang seperti genus *Tridacna*, hal ini karena *Tridacna* membutuhkan substrat keras untuk menempel dan membenamkan diri (Rizkifar *et al.*, 2019). Keberadaan *Tridacna* di ekosistem terumbu karang memiliki beberapa fungsi secara ekologis yang membantu pertumbuhan terumbu karang, yaitu sebagai biofilter alami untuk mengatur proses eutrofikasi dan salah satu yang memproduksi kalsium karbonat untuk pertumbuhannya (Soo & Todd, 2014; Vicentuan-Cabaitan *et al.*, 2014; Neo *et al.*, 2015). Bentuk, ukuran dan warna khas pada mantelnya menjadikan ciri khas dan daya tarik dari kima. Hal tersebut yang membuat kima bernilai tinggi, karena baik cangkang maupun dagingnya dapat digunakan baik sebagai bahan kerajinan, terutama kerajinan tangan (Neo & Loh, 2014; Nijiman *et al.*, 2015; Larson, 2016; Albert *et al.*, 2017; Mies *et al.*, 2017; Lyons *et al.*, 2018) maupun sebagai sumber makanan (Allo *et al.*, 2010; Claus, 2017). Daging kima banyak diperjual belikan di pasar Jepang,

Hongkong, Australia, dan USA (Wabnitz *et al.*, 2003; Nijiman *et al.*, 2015). Kondisi ini dapat mengarah pada *overexploitation* (Richter *et al.*, 2008; Ramah *et al.*, 2019; Neo *et al.*, 2019). Selain *overexploitation*, *Tridacna* juga terancam karena adanya perusakan habitat baik yang dilakukan secara sengaja ataupun karena perubahan iklim (NMFS, 2018). Kedua kondisi tersebut dapat memengaruhi penurunan kepadatan dari *Tridacna*. Beberapa penelitian yang menunjukkan nilai kepadatan rata-rata *Tridacna* kurang dari 0,1 ind/m² (Yusuf *et al.*, 2009; Wakum *et al.*, 2017; Harahap *et al.*, 2018; Triandiza *et al.*, 2019). Langkah yang dilakukan untuk mengurangi *overexploitation* dari kima, yaitu Konvensi perdagangan internasional (CITES) memasukan jenis ini kedalam *appendix II*, untuk mengatur penggunaan berlebih agar populasi kima dapat pulih. Selain itu, Pemerintah sendiri memasukan kima sebagai hewan yang dilindungi dan tertulis dalam undang-undang No. 5 Tahun 1990 tentang konservasi sumberdaya alam hayati dan ekosistemnya serta Peraturan Pemerintah No. 7 Tahun 1999 tentang pengawetan tumbuhan dan satwa.

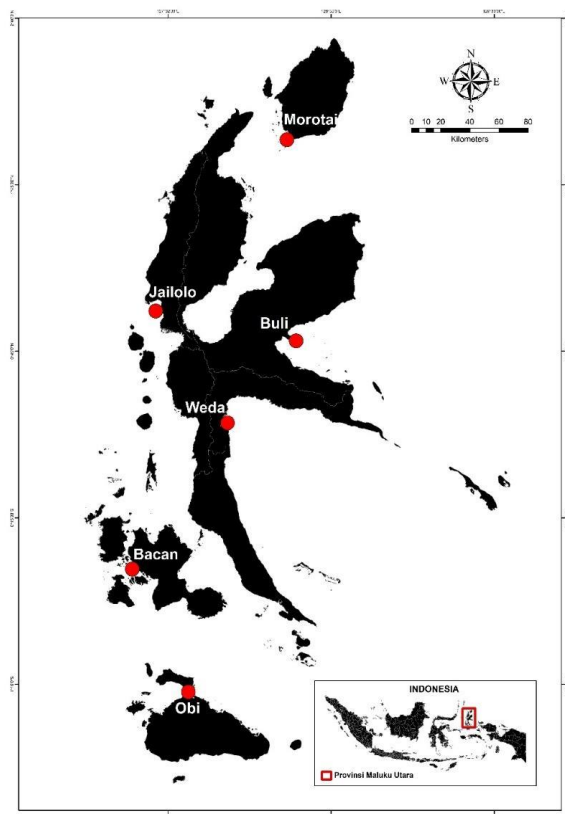
Identifikasi spesies perlu dilakukan untuk menjawab berbagai isu biologi, seperti diversitas, biosekuriti, spesies konservasi dan pencegahan pandemic (Dayrat, 2005; Frézal & Leblois, 2008; Ni *et al.*, 2012; Mamat *et al.*, 2021). Isu tersebut yang akan mengarahkan pada prioritas area untuk kegiatan konservasi, terutama kima (Beger *et al.*, 2014; DeBoer *et al.*, 2014). Klasifikasi kima banyak dilakukan berdasarkan karakteristik cangkang dan mantelnya (Mamat *et al.*, 2021). Pendekatan morfologi merupakan dasar dari identifikasi taksonomi, namun identifikasi secara taksonomi dapat mengarahkan pada kesimpulan yang kurang tepat (Pathwardhan *et al.*, 2014), terutama pada kelompok kima. Pada kasus *Tridacna maxima* berdasarkan penelitian Tang (2005); Kubo & Iwai (2007) menyatakan jenis ini termasuk dalam kriptik

spesies, karena pengamatan mantel yang memiliki variasi yang banyak serta ditemukan beberapa spot dan pola pita. Karakteristik yang kompleks pada setiap wilayahnya, seperti paleo dan kondisi oseanografi sekarang serta iklim berpengaruh terhadap genotip dan memberikan pengaruh fenotip dari spesies ini (Carpenter *et al.*, 2011). Kombinasi identifikasi morfologi dengan analisis genetik dapat membantu dalam memverifikasi suatu spesies untuk mencegah terjadinya *misleading identification* (Lizano & Santos, 2014). Analisis genetika yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan target lokus 16S rRNA yang memiliki kinerja yang sama dengan COI dalam mendeskripsikan spesies serta mampu menggambarkan kekerabatan untuk spesies laut (Guo *et al.*, 2011). Penelitian kima di perairan Maluku Utara memiliki informasi yang sedikit terkait data, kelimpahan dan identifikasi spesies. Penelitian sebelumnya dilakukan di Perairan Maluku Tenggara, di Pulau Kei terkait kelimpahan dan struktur dan genetika populasi *Tridacna crocea* (Triandiza *et al.*, 2019; Kusnadi *et al.*, 2022). Terdapat beberapa tujuan yang dihasilkan dari penelitian ini, yaitu: 1. Mengidentifikasi *Tridacna* dengan menggunakan identifikasi morfologi dan DNA barcoding, 2. Pembuatan pohon filogenetik untuk melihat seberapa dekat kekerabatan dari *Tridacna* yang ditemukan di Perairan Maluku Utara, 3. Melihat variasi panjang *Tridacna* yang tersebar di perairan tersebut, serta mengukur kepadatan populasi *Tridacna* di Perairan Maluku Utara. Penelitian ini secara umum bertujuan sebagai langkah awal untuk kegiatan, baik pengelolaan, manajemen maupun konservasi *Tridacna* di Perairan Maluku Utara.

II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan pada beberapa lokasi penelitian di Provinsi Maluku Utara, yaitu Pulau Morotai, Pulau Jailolo, Pulau Buli, Pulau Weda, Pulau Bacan dan Obi (Gambar 1). Analisis identifikasi morfologi dilakukan secara *insitu*, dilakukan dengan menggunakan *scuba diving* dan difoto serta diukur. Analisis genetika dilakukan di Laboratorium Biodiversitas dan Biosistematika Kelautan, ITK, FPIK, IPB University.



Gambar 1. Penelitian di Provinsi Maluku Utara lingkaran merah merupakan titik pengambilan sampel serta pengukuran morfometrik dan kepadatan populasi *Tridacna*.

2.2 Pengambilan Sampel

Penentuan stasiun pengamatan dilakukan dengan metode *Purposive sampling*, yaitu titik yang paling banyak ditemukan genus kima (English *et al.*, 1997). Titik yang paling banyak ditemukan, akan diasumsikan sebagai habitatnya. Titik keberadaan kima ditandai dengan pelampung buatan pada tiap-tiap individu yang ditemukan. Kima ditemukan pada ke dalam 3 hingga 21 m sehingga pengambilan sampelnya menggunakan alat SCUBA.

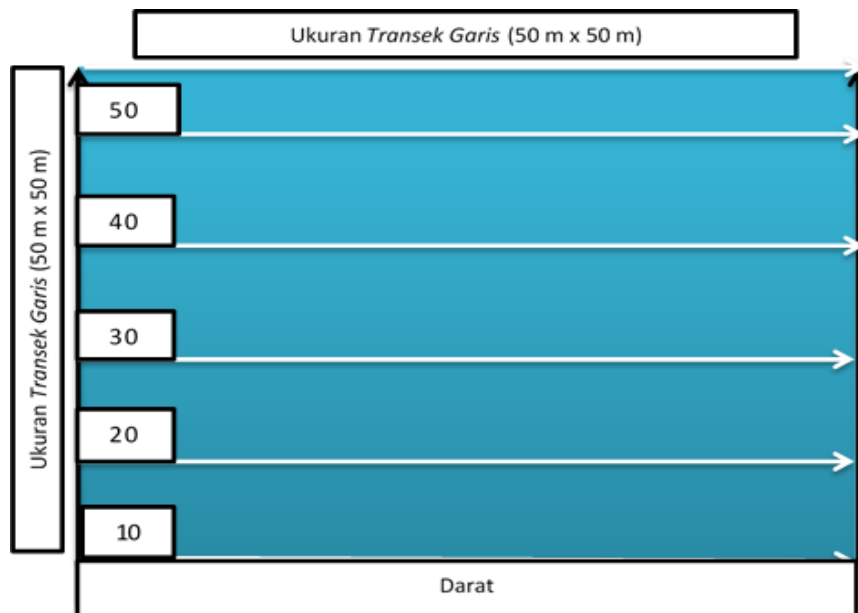
Metode pengambilan sampel dilakukan dengan metode LIT (*Line Intercept Transect*) yang ditarik sepanjang 50 m secara horizontal (Gambar 2). Pengamatan dilakukan setiap sepuluh meter sampai pada titik transek terakhir. Setiap titik yang dilalui, dilakukan pencatatan berupa identifikasi spesies yang ditemukan dan jumlah individu yang teramati setiap titiknya (English *et al.*, 1997). Dokumentasi dilakukan untuk memperkuat hasil identifikasi saat penyelaman serta pengukuran dengan menggunakan kaliper.

Pengambilan jaringan kima tidak bersifat merusak dan mengikuti beberapa

literatur sebelumnya. Kima yang ditemukan diambil sedikit jaringan dibagian mantelnya dan jaringan dimasukkan ke dalam 1,5 ml botol *microcentrifuge* dan dipreservasi dengan ethanol 96% (Mamat *et al.*, 2021; Lizano & Santos, 2014).

2.3 Analisis Laboratorium dan Analisis Data

Ekstraksi DNA menggunakan larutan *Chelex* 10% dan larutan ini terdiri dari dua layer, yaitu natan dan supernatant (Walsh *et al.*, 1991). Jaringan yang sudah dipreservasi, diambil dan dipotong, setelah itu dimasukkan ke dalam bagian supernatannya. Jaringan yang telah masuk ke dalam larutan *Chelex* 10%, dipanaskan menggunakan *dry bath* selama 60 menit pada suhu 95 °C (Nuryanto *et al.*, 2007). Pada proses amplifikasi/PCR, penelitian ini menggunakan target marka 16S rRNA mitokondria. Target primer yang digunakan adalah primer *universal* 16SAR-L (5' - CGCCTG TTTATCAAAAACAT-3') dan 16SBR-H (5'-CCGGTCTGAACT CAGATCACGT-3') yang digunakan untuk mengamplifikasi fragment DNA 16S rRNA



Gambar 2. Desain pengambilan sampel pada tiap-tiap lokasi penelitian dengan metode Transek Garis (50 m x 50 m), garis warna hitam adalah garis vertikal dan warna putih adalah garis horizontal.

(Palumbi *et al.*, 1996; Richter *et al.*, 2008; Ni *et al.*, 2012; Lizano & Santos, 2014; Lee *et al.*, 2022). Reaksi PCR dibuat dengan total volume 25 µl, yang didalamnya terdapat 1 µl DNA hasil ekstraksi, 12,5 µl KAPA Master Mix, 1,25 µl (10 mM) masing-masing primer, dan 9 µl ddH₂O. Kondisi PCR pada penelitian terdiri dari 40 siklus yang terdiri dari tiga tahapan, denaturasi 94°C selama 30 detik, annealing pada 50°C selama 30 detik dan extension pada 72°C selama 45 detik (Ni *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2022).

Produk hasil PCR selanjutnya dielektroforesis ke dalam agarose 1% yang mengandung 25 µg/ml EtBr dengan menggunakan ladder 1000 bp pada tegangan 100 v selama 20 menit. Hasil elektroforesis divisualisasikan di bawah sinar UV atau GelDoc. Apabila hasil amplifikasi menunjukkan pita band positif, maka sampel tersebut akan dilanjutkan untuk proses sekuensing. Proses sekuensing dilakukan di *Sequencing facility 1st Base* Malaysia.

Hasil sekuensing yang diterima berupa file kromatogram dengan format AB1 dan dianalisis menggunakan *software* MEGA 6. Analisis dimulai dari proses *editing* sekuens berupa proses trim (pemotongan urutan basa DNA di depan dan dibelakang) untuk menghindari kesalahan dalam pembacaan kromatogramnya. Analisis selanjutnya dengan proses penjejajaran atau *alignment* terhadap urutan rantai basa nukleotidanya dengan menggunakan metode ClustalW yang ada pada *software* MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013). Hasil dari proses *editing* ini berupa urutan basa yang sudah rapih dan tidak ditemukan stop kodon didalamnya. Data hasil *editing* yang diperoleh dicocokkan dengan data yang tersedia di *GeneBank*, NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*) menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (<http://blast.ncbi.nlm.nih/-gov>).

Hasil yang didapat dari proses BLAST berupa *list* spesies dengan nilai %

identifikasi dan % *query cover* yang mendekati 100%. Hasil identifikasi BLAST akan dibandingkan dengan identifikasi morfologi dengan melihat warna mantel, bentuk cangkang dan ukuran panjang kima. Pengukuran panjang kima dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 cm. Identifikasi spesies menggunakan beberapa referensi, seperti *The Distribution and Status of Giant Clams* (Family Tridacnidae) (Othman & Todd, 2010), *Endangered and threatened wildlife; 90-day finding on a petition to list Chinook salmon in the Upper Klamath-Trinity Rivers Basin as Threatened or Endangered Under the Endangered Species Act* (NMFS, 2018) dan *Conservation Status Reassessment of Giant Clams* (Neo & Todd, 2013) serta didukung oleh referensi lainnya. Analisis pohon filogenetik dibuat dengan metode *Neighbour-Joining* dan *Maximum Likelihood* dengan total *bootstrap* sebesar 1000. Kedua metode tersebut dijalankan dengan metode Kimura 2-Parameter (K2P) berdasarkan *best fit model* pada MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013).

2.4 Kepadatan Populasi

Kepadatan populasi dihitung dengan menggunakan rumus (Krebs, 1989):

$$D_i = \frac{X}{A}$$

Keterangan: D_i adalah kepadatan suatu jenis (ind/m^2); X adalah jumlah individu perjenis yang diperoleh; dan A adalah luas area yang terukur (m^2).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Spesies Identifikasi berdasarkan DNA Barcoding

Total yang teramplifikasi menggunakan target 16S rRNA sebanyak 91 individu dan dilanjutkan ke proses *sequencing* untuk mendapatkan urutan nukleotida. Hasil *sequencing* dilanjutkan ke

proses edit *sequence* (*alignment* dan *trim*) dengan menggunakan *software* MEGA 6. Panjang *basepair* yang didapatkan dari hasil *editing* sebesar 496 bp. Panjang *basepair* pada penelitian Lizano & Santos (2014) menggunakan target dan primer yang sama didapatkan sebesar 413 bp. Panjang basa hasil *editing* digunakan untuk mendeskripsikan spesies menggunakan analisis BLAST (*Basic Local Alignment System Tool*) yang berbasis *online*. Analisis BLAST merujuk pada web NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*) dan mensititasi *accession number* sebagai sumber referensi kesamaan deskripsi spesies dengan hasil penelitian. Hasil BLAST tersedia pada Tabel 1, 2, dan 3 dengan nilai persentase identifikasi yang didapat antara 98–100%. Persentase hasil BLAST dan identifikasi spesies pada penelitian ini menunjukkan bahwa 16S rRNA dapat

digunakan untuk mendeskripsikan jenis kima. 16S rRNA banyak digunakan untuk identifikasi spesies dan menggambarkan hubungan filogenetik antara organisme laut (Guo *et al.*, 2011; Lizano & Santos, 2014). Jenis kima yang teridentifikasi ada tiga jenis, yaitu *Tridacna crocea*, *Tridacna maxima*, dan *Tridacna squamosa*. Hasil identifikasi morfologi dengan identifikasi molekular pada penelitian ini menunjukkan hasil identifikasi yang sama pada setiap sampelnya.

Pengukuran jarak genetik dibedakan menjadi dua level, yaitu inter- dan intraspesies. Perbandingan interspesies menunjukkan perbandingan nilai jarak genetik antar spesies yang masih didalam satu family, Tridacnidae. Perbandingan intraspesies menunjukkan perbandingan nilai jarak genetik didalam satu jenisnya. Adapun nilai interspesiesnya bervariasi,

Tabel 1. Informasi identifikasi kima jenis *Tridacna crocea* yang diambil di Perairan Maluku Utara.

No	ID Sampel	%Query	%Ident	Accession number	Spesies
1	Bacan_1	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
2	Bacan_2	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
3	Bacan_6	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
4	Bacan_7	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
5	Bacan_8	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
6	Bacan_9	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
7	Bacan_12	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
8	Bacan_13	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
9	Bacan_17	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
10	Bacan_18	99	100	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
11	Buli_1	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
12	Buli_3	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
13	Buli_5	99	100	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
14	Buli_6	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
16	Buli_7	99	100	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
17	Buli_10	99	100	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
18	Buli_11	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
19	Buli_12	99	100	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
20	Buli_13	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
21	Buli_16	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
22	Buli_17	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
23	Jailolo_3	99	99	KJ508351.1	<i>Tridacna crocea</i>
24	Jailolo_4	99	100	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
25	Jailolo_5	99	100	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>

No	ID Sampel	%Query	%Ident	Accession number	Spesies
26	Jailolo_6	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
27	Jailolo_10	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
28	Jailolo_13	99	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
29	Jailolo_14	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
30	Jailolo_15	99	98	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
31	Jailolo_15	99	100	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
32	Jailolo_17	99	100	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
33	Moro_2	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
34	Moro_4	99	98	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
35	Moro_5	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
36	Moro_8	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
37	Moro_9	99	100	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
38	Obi_3	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
39	Obi_5	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
40	Obi_7	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
41	Weda_2	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
42	Weda_3	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
43	Weda_4	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
44	Weda_5	99	100	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
45	Weda_6	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
46	Weda_7	100	99	KJ508350.1	<i>Tridacna crocea</i>
47	Weda_10	100	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
48	Weda_15	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
49	Weda_19	99	100	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
50	Weda_20	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>
51	Weda_22	99	99	MK249738.1	<i>Tridacna crocea</i>

Tabel 2. Informasi identifikasi kima jenis *Tridacna maxima* yang diambil di Perairan Maluku Utara.

No	ID Sampel	%Query	%Ident	Spesies	Accession number
1	Bacan_3	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
2	Bacan_4	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.2
3	Bacan_5	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.3
4	Bacan_11	99	99	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.4
5	Bacan_14	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.5
6	Bacan_15	99	98	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.6
7	Buli_4	99	98	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.7
8	Buli_9	99	98	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.8
9	Buli_15	99	98	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
10	Buli_18	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
11	Jailolo_2	99	98	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
12	Moro_1	99	99	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
13	Moro_3	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
14	Moro_7	99	98	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
15	Moro_10	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
16	Obi_4	98	92	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
17	Obi_6	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
18	Obi_8	99	99	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
19	Weda_9	99	99	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1
20	Weda_18	99	100	<i>Tridacna maxima</i>	MW604124.1

Tabel 3. Informasi identifikasi kima jenis *Tridacna squamosa* yang diambil di Perairan Maluku Utara.

No	ID Sampel	%Query	%Ident	Spesies	Accession number
1	Bacan_16	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.2
2	Buli_2	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
3	Buli_8	99	93	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.0
4	Buli_14	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
5	Jailolo_1	99	99	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
6	Jailolo_7	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
7	Jailolo_8	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
8	Jailolo_9	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
9	Jailolo_11	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
10	Jailolo_12	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
11	Jailolo_18	99	98	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
12	Moro_6	99	99	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
13	Obi_1	100	99	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
14	Obi_2	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
15	Weda_1	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
16	Weda_8	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
17	Weda_11	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
18	Weda_12	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
19	Weda_13	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
20	Weda_14	99	99	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
21	Weda_16	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
22	Weda_17	99	100	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1
23	Weda_21	99	99	<i>Tridacna squamosa</i>	MW604009.1

Tabel 4. Jarak genetik dari ketiga spesies kima dan satu *outgroup* dari jenis *Cerastoderma edule* dengan metode Kimura 2-Parameter dan 1000 *bootstrap*.

Jenis	<i>Tridacna crocea</i>	<i>Tridacna maxima</i>	<i>Tridacna squamosa</i>	<i>Cerastoderma edule</i>
<i>Tridacna crocea</i>	0,008			
<i>Tridacna maxima</i>	0,057	0,019		
<i>Tridacna squamosa</i>	0,031	0,059	0,003	
<i>Cerastoderma edule</i>	1,109	1,139	1,120	n/c

mulai dari 0,031–0,059 dan jarak intraspesiesnya antara 0,003–0,019. Jarak dengan *outgroup*, *C. edule* menunjukkan nilai antara 1,109–1,139 (Tabel 4). Besarnya nilai jarak genetik pada umumnya berkisaran pada 3% atau 0,03, baik untuk pembeda interspesies maupun intraspesies (Hebert *et al.*, 2003; Lizano & Santos, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok *Tridacna* dengan *outgroup* adalah *sister group*, karena

merujuk pada nilai jarak genetiknya (Lizano & Santos, 2014).

Hasil analisis filogenetik menunjukkan terdapat tiga *clade* besar yang terdiri dari tiga jenis, yaitu *Tridacna crocea*, *Tridacna maxima*, dan *Tridacna squamosa* dengan satu *outgroup* (Gambar 3). Analisis pohon filogenetik dianalisis menggunakan data yang ada dan digabungkan dengan data yang terdapat pada GenBank sebagai

referensi. Pohon dianalisis menggunakan metode *Neighbor-joining* dan *Maximum-likelihood*, dan fungsi penggunaan kedua metode tersebut untuk menguatkan bahwa pohon yang terbentuk dari analisis ini membentuk pohon yang sama (Mamat *et al.*, 2021). Hasil membentuk pohon monofiletik, *Tridacna crocea* dan *Tridacna squamosa* berada dalam satu *clade* yang sama dan *Tridacna maxima* berada pada *clade* yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa *Tridacna maxima* merupakan *sister taxa* dari *Tridacna crocea* dan *Tridacna squamosa*. Semua sampel yang diambil membentuk *clade* yang sama dengan data referensi yang ada di GenBank. Bentuk *clade* yang terbentuk sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lizano & Santos (2014) dengan menggunakan target 16S.

Secara morfologi, *Tridacna maxima* dan *Tridacna crocea* memiliki bentuk yang sama, seperti pada warna mantelnya dan substrat tempatnya ditemukan (Lizano & Santos, 2014; Hui *et al.*, 2016). Identifikasi morfologi ini yang dapat memberikan *misleading identification* pada spesies ini, terutama pada ukuran pada saat fase *juvenile* (Waheed, 2016). Pada penelitian ini, penggunaan COI membantu dalam mengidentifikasi spesies dan mendukung data morfologi yang ditemukan pada penelitian ini.

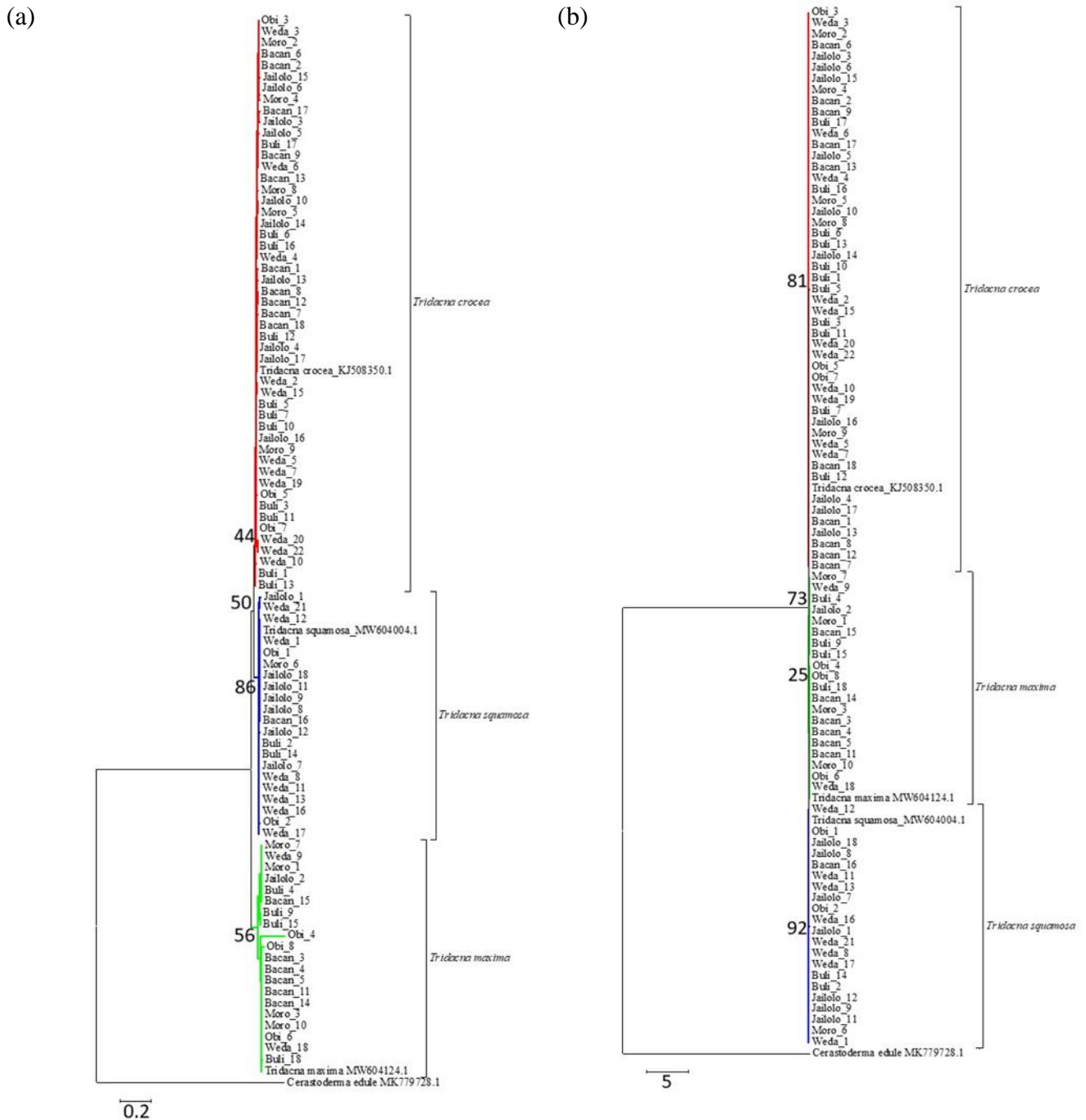
3.2. Identifikasi Morfologi

Kunci identifikasi genus *Tridacna* sebagian besar ditentukan oleh bentuk luar cangkang dan warna mantel luarnya (Mamat *et al.*, 2021). Perbedaan antara *Tridacna* dengan *Hippopus* yang paling terlihat adalah warna pinggiran mantelnya. Pada genus *Hippopus* mantel yang dimiliki lebih pucat dan cangkangnya tidak memiliki sisik (Schneider and Foighil, 1999) (Gambar 4d). Pada *Tridacna* umumnya memiliki warna cangkang yang lebih mencolok dan melewati bagian tepi cangkangnya (Calumpong, 1992; Findra *et al.*, 2017).

Bentuk cangkang *Tridacna* dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu kelompok dengan cangkang bersisik (*Tridacna squamosa*, *Tridacna maxima*, dan *Tridacna crocea*) dan kelompok cangkang tanpa sisik (*Tridacna derasa* dan *Tridacna gigas*) (Findra *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini, pengamatan morfologi difokuskan pada ukuran cangkang dan warna mantel yang dibentuk *Tridacna*, karena ukuran cangkang dapat memberikan gambaran umum sebaran stadia dari populasi *Tridacna* di Perairan Maluku Utara (Tabel 1).

Tridacna crocea memiliki bentuk yang sama dengan *Tridacna maxima* namun memiliki ukuran yang lebih kecil dan sedikit tidak asimetri (NMFS, 2018). Ukuran maksimalnya mencapai 15 cm dengan rata-rata pertumbuhan 11 cm. Memiliki jumlah sisik 6–7, kecuali dibagian tepi atas cangkangnya (Hernawan, 2012). Bagian luar cangkang memiliki warna *greyish white* yang dibalut dengan warna kuning atau *pinkish orange* (NMFS, 2018). Pada penelitian ini, *Tridacna crocea* yang memiliki ukuran terkecil ada di wilayah Buli, 2–4 cm, dan ukuran terbesar di wilayah Jailolo, 10–15 cm. Variasi ukuran *Tridacna crocea* pada masing-masing wilayah memiliki stadia kebanyakan dalam bentuk dewasa yang siap bereproduksi, kecuali pada wilayah Morotai (3–12 cm) yang memiliki stadia larva hingga dewasa dan Buli (2–4 cm) yang banyak ditemukan pada stadia *juvenile*. *Tridacna crocea* yang berukuran <2 cm merupakan *Tridacna* dalam stadia *juvenile*, 2–4 cm merupakan *post-juvenile* sedangkan > 4 cm adalah *Tridacna* dewasa dan telah memasuki masa hermaproditnya (Fitt, 1991). *Tridacna crocea* memiliki umur kematangan individunya antara 5–6 tahun dan dengan panjang ukuran cangkangnya sebesar 8–9 cm (NMFS, 2018). Sebagai pembanding penelitian, *Tridacna crocea* yang ditemukan di kawasan Wangi-Wangi, memiliki kisaran panjang cangkang 2-9,5 cm untuk kawasan

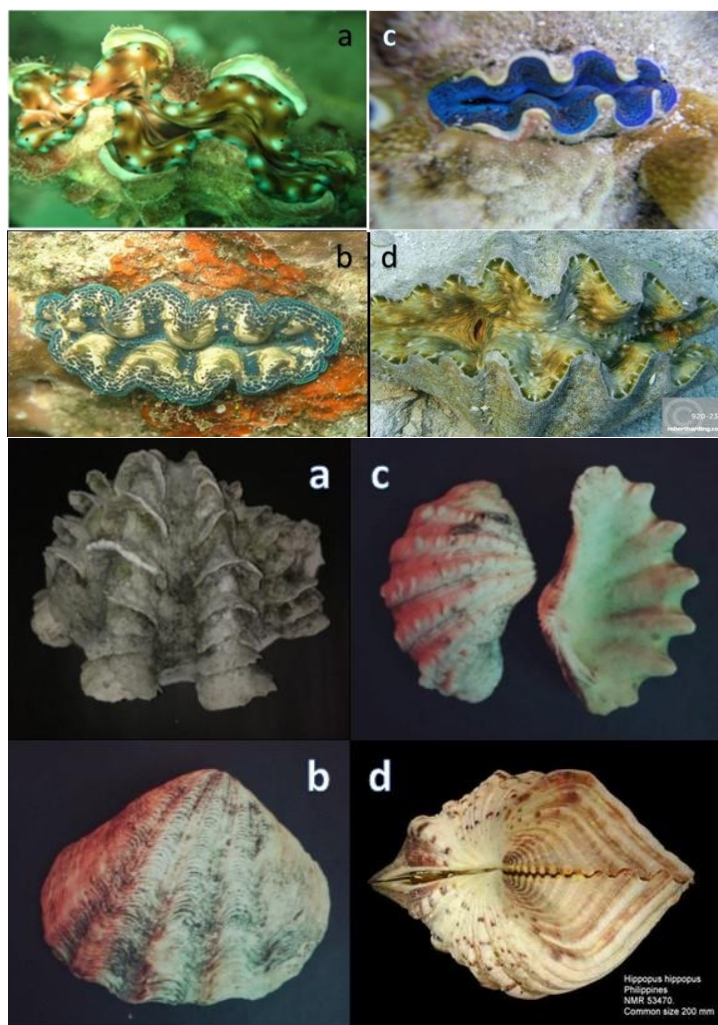


Gambar 3. Analisis pohon filogenetik dari kelompok *Tridacna* dan menggunakan *outgroup* *Cerastoderma edule* dengan menggunakan *bootstrap* 1000. (a) Analisis dengan *Maximum likelihood*, (b) Analisis dengan *Neighbor joining*.

Keledupa dan Tomia kisaran panjang cangkang 1,5-10 cm (Findra, 2016). Warna mantel yang ditemukan pada jenis *Tridacna crocea* berwarna cokelat dengan pinggirannya berwarna biru. Mantel pada *Tridacna crocea* sering ditemukan memiliki

warna yang lebih terang dan warna serta polanya bervariasi seperti hijau, biru, ungu, cokelat dan oranye (Kinch & Teitelbaum, 2009; NFMS, 2018).

Tridacna squamosa memiliki sisik dengan jumlah 6–8 cm yang berbentuk



Gambar 4. Bentuk morfologi *Tridacna squamosa* (a), *Tridacna crocea* (b) dan *Tridacna maxima* (c), dan *Hippopus hippopus* (d) (KKP Kementerian Kelautan dan Perikanan).

Tabel 5. Variasi ukuran (panjang cangkang) (cm) pada genus *Tridacna* di Perairan Maluku Utara.

Jenis	Panjang Cangkang (cm)					
	Jailolo	Bacan	Morotai	Obi	Weda	Buli
<i>Tridacna crocea</i>	10 - 15	8 - 14	3 - 12	5 - 12	9 - 13	2 - 4
<i>Tridacna squamosa</i>	6 - 38	8 - 20	25 - 40	11 - 29	12 - 35	9 - 14
<i>Tridacna maxima</i>	7 - 8	10 - 15	8	10	5 - 12	4 - 9

seperti pisau dengan susunan teratur secara radial. Sisik tersebut tersebar hingga bagian umbo, namun ukurannya semakin kecil (Hernawan, 2012). Pertumbuhannya bisa mencapai 40 cm dan pada umumnya ditemukan pada ukuran 30 cm (Kinch &

Teitelbaum, 2009; Hernawan, 2012; Neo *et al.*, 2015; NMFS, 2018). Bagian luar cangkang berwarna *grayish white*, terkadang berwarna rona oranye, kuning atau merah muda dengan sisik seperti pisau dengan corak yang berbeda (NMFS, 2018). Pada

penelitian ini, ukuran terbesar berada pada wilayah Morotai, dengan ukuran 25–40 cm dan ukuran terkecilnya pada wilayah Buli dengan ukuran 9–14 cm. Pada wilayah lain, di Kepulauan Seribu ukuran *Tridacna squamosa* berkisar 5,24–31,71 cm dan di Perairan Manado, ukurannya ditemukan berkisar 9,5–31,28 cm (Yusuf *et al.*, 2009). Variasi ukuran yang ditemukan kebanyakan dalam bentuk *post-juvenile*, namun pada wilayah Morotai, individunya ditemukan hanya dalam bentuk dewasa. Pada wilayah perbandingan, kedua wilayah tersebut menunjukkan keberagaman stadia mulai dari *juvenile* hingga dewasa. Menurut Fitt (1991), *Tridacna squamosa* yang berukuran <10 cm merupakan stadia *juvenile*, 10–20 cm merupakan *post-juvenile* dan yang berukuran >20 cm telah memasuki masa dewasa. Berbeda dengan yang disampaikan NMFS (2018), *Tridacna squamosa* mulai memasuki tahapan dewasa pada ukuran 6–16 cm, ukuran tersebut setara dengan umur 1 hingga 4 tahun. Identifikasi mantel *Tridacna squamosa* yaitu terdapat bintik putih dan disekitarnya berwarna cokelat. Warna corak mantel dari *Tridacna squamosa* memiliki berbagai variasi campuran antara hijau, biru, oranye dan kuning (Kinch & Teitelbaum, 2009).

Tridacna maxima termasuk dalam kelompok kima yang memiliki sisik dengan jumlah 6–8 yang terdapat dibagian margin atas dengan bentuk pertumbuhan cangkang yang memanjang. *Tridacna maxima* memiliki ukuran hingga mencapai 35 cm, namun pada umumnya ditemukan rata-rata berukuran 25 cm (Kinch & Teitelbaum, 2009; Hernawan, 2012; NMFS, 2018). Bagian luar cangkang berwarna *grayish white* yang dikelilingi warna kuning atau *pinkish orange* (Kinch & Teitelbaum, 2009). Ukuran terbesar dari jenis ini ada di wilayah Bacan, 10–15 cm dan ukuran terkecil ada di wilayah Buli, 4–9 cm. Pada wilayah Kepulauan Seribu, ukuran *Tridacna maxima* berkisar 6,19–19,22 cm dan pada Perairan Manado, berkisar 9,78–13,91 cm (Yusuf *et*

al., 2009). Pada penelitian ini, stadia yang paling banyak ditemukan dari jenis ini kebanyakan pada stadia *post-juvenile* sedangkan pada dua wilayah ini lebih banyak ditemukan pada stadia *post-juvenile* hingga dewasa. *Tridacna maxima* yang berukuran <4 cm merupakan *Tridacna* dalam stadia *juvenile*, 4–5 cm merupakan *post-juvenile* sedangkan >15 adalah *Tridacna* dewasa dan telah memasuki masa dewasa (Fitt, 1991). Menurut NMFS (2018), *Tridacna maxima* mengalami tingkat kematangan seksual secara bertahap, dimulai pada ukuran 6 cm, *Tridacna maxima* mulai memasuki fase kematangan awal. Pada ukuran 10 cm tingkat kematangannya mencapai 50% dan pada ukuran 14 cm atau lebih, tingkat kematangan mencapai 100%. Mantel *Tridacna maxima* pada penelitian ini teridentifikasi berwarna biru dengan bintik kecil berwarna *blackish blue*. Berbeda dengan *Tridacna maxima* di lokasi Terumbu Bemban, Singapura memiliki ciri berwarna cokelat dan terdapat bintik berwarna cokelat yang lebih tua dari sekitarnya (Neo & Todd, 2013). *Tridacna maxima* memiliki berbagai warna mantel dari berbagai bentuk dan variasi warna, seperti *grayish yellow*, *bluish green*, *blackish blue*, ungu serta berwarna cokelat (Kinch & Teitelbaum, 2009; NMFS, 2018).

Terdapat beberapa faktor yang memengaruhi perbedaan ukuran cangkang kima, yaitu faktor lingkungan. Banyak penelitian yang melaporkan bahwa beberapa parameter lingkungan memengaruhi pertumbuhan jenis *Tridacna maxima*, seperti suhu, paparan, kejernihan air, dan pergerakan air (Hart *et al.*, 1998; Joubert *et al.*, 2014; Mohammed *et al.*, 2019). Kebanyakan laju pertumbuhan *Tridacna* dipengaruhi oleh pH (Mohammed *et al.*, 2019). pH rendah dapat memperlambat laju pertumbuhan pada spesies *Tridacna squamosa* dan *Tridacna maxima* (Toonen *et al.*, 2012). Adapun perbedaan warna mantel pada setiap jenis *Tridacna* dikarenakan

adanya simbiosis dengan Zooxanthellae yang berada di jaringan mantelnya (Confforth & Santos, 2005).

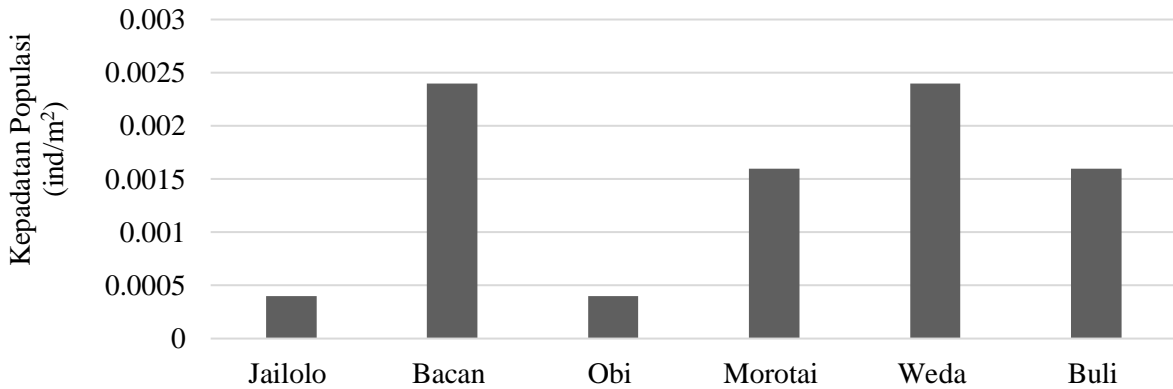
3.3. Kepadatan Populasi

Hasil total individu yang didapat pada penelitian ini berjumlah 127 individu yang ditemukan di Perairan Maluku Utara dengan komposisi 70 individu dari jenis *Tridacna crocea*, 25 individu dari jenis *Tridacna squamosa*, dan 22 individu dari jenis *Tridacna maxima*. Hasil per lokasi per spesies disajikan dalam bentuk grafik (Gambar 5, 6, dan 7).

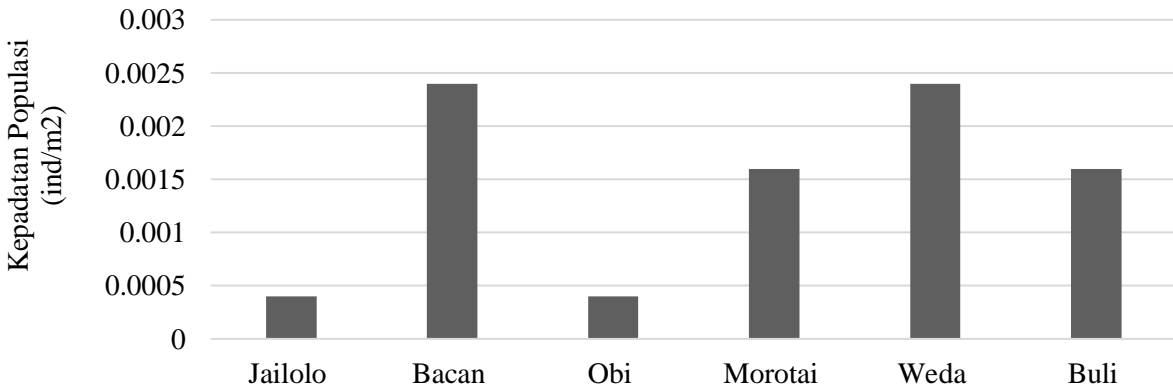
Kepadatan populasi dari jenis *Tridacna crocea* tertinggi ada pada lokasi Morotai dan Buli, 0,0072 ind/m² dan kepadatan populasi terendah di lokasi Obi, 0,0008 ind/m² (Gambar 4). Rata-rata dari kepadatan populasi dari jenis ini sebesar 0,005±0,002 ind/ m², dibandingkan dengan

lokasi lain dengan spesies yang sama seperti Kepulauan Seribu (0,028 ind/m²), Manado (0,009 ind/m²), dan Pulau Ayem (Raja Ampat) (0,016 ind/m²), nilai kepadatan di perairan ini terbilang rendah, dibanding dengan lokasi pembandingnya (Yusuf *et al.*, 2009; Wakum *et al.*, 2017).

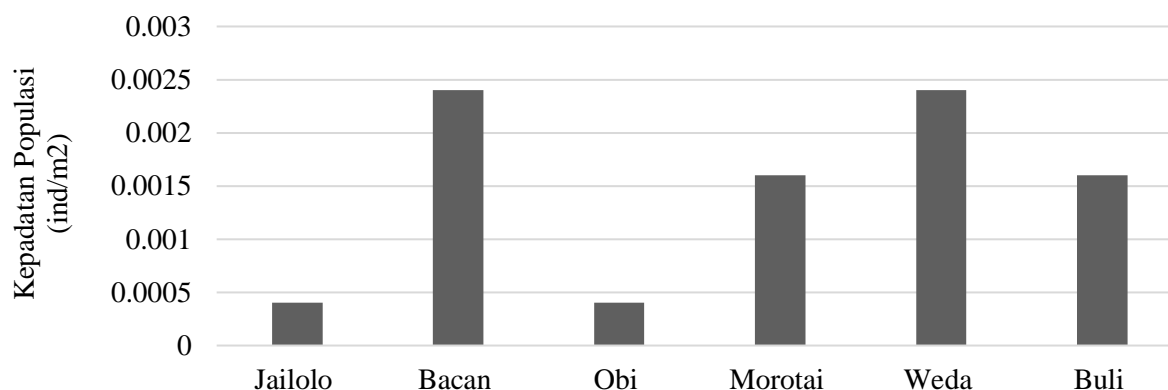
Kepadatan jenis *Tridacna squamosa* tertinggi pada lokasi Weda dengan jumlah sebesar 4 ind/m² dan kepadatan terendah pada lokasi Bacan dan Morotai dengan masing-masing nilai kepadatan sebesar 0,4 ind/m² (Gambar 5). Rata-rata kepadatan populasi pada jenis ini sebesar 0,002±0,001 ind/m², nilai yang sama ditunjukkan di Pulau Ayem, Raja Ampat (0,002 ind/m²) (Wakum *et al.*, 2017). Hasil kepadatan di wilayah Kepulauan Seribu (0,026 ind/m²) dan Manado (0,021 ind/m²) menunjukkan nilai kepadatan yang lebih tinggi (Yusuf *et al.*, 2009).



Gambar 5. Kepadatan populasi dari jenis *Tridacna crocea* pada masing-masing lokasi di Perairan Maluku Utara.



Gambar 6. Kepadatan populasi dari jenis *Tridacna squamosa* pada masing-masing lokasi di Perairan Maluku Utara.



Gambar 7. Kepadatan populasi dari jenis *Tridacna maxima* pada masing–masing lokasi di Perairan Maluku Utara.

Kepadatan populasi dari jenis *Tridacna maxima* tertinggi pada lokasi Bacan dan Weda dengan jumlah kepadatan masing–masing sebesar 0,0024 ind/m², sedangkan kepadatan terendah pada lokasi Jailolo dan Obi dengan jumlah kepadatan sebesar 0,0004 ind/m². Rata–rata kepadatan populasi pada jenis ini sebesar 0,002 ± 0,0008 ind/m². Pulau Ayem (0,03 ind/m²) dan Kepulauan Seribu (0,02 ind/m²) memiliki nilai kepadatan yang lebih tinggi dibandingkan di Perairan Maluku Utara. Namun, kepadatan spesies ini di Perairan Manado (0,0005 ind/m²) jika dibandingkan dengan Perairan Maluku Utara (Yusuf *et al.*, 2009; Wakum *et al.*, 2017).

Populasi *Tridacna* pada wilayah tertentu memiliki nilai kepadatan yang <1 per m² berdasarkan pada beberapa penelitian Yusuf *et al.* (2009) dan Wakum *et al.* (2017). Nilai kepadatan populasi *Tridacna* terbesar yang ditemukan pada jenis *Tridacna crocea* dengan nilai rata–rata kepadatan sebesar 0,005±0,002 ind/m² dibanding dua jenis lainnya. Hal ini dikarenakan *Tridacna crocea* memiliki nilai fekunditas yang sangat tinggi, tiap individu dapat menghasilkan telur sebanyak 8 sampai 9 juta telur (Tisdell, 1994; NMFS, 2018). Walaupun memiliki nilai mortalitas yang tinggi, namun populasinya dapat meningkat dengan program kultur (Tisdell, 1994; NMFS, 2018). Pada spesies *Tridacna maxima*, pertumbuhan yang lambat dapat

memengaruhi proses pematangan seksualnya, untuk mencapai ukuran 10 cm memerlukan waktu 5 tahun, begitupun seterusnya. Hal ini yang membuat *Tridacna maxima* menjadi jenis yang memiliki tingkat kematangan lama (NMFS, 2018; Chamber, 2007). *Overexploitation* juga menjadi salah satu penyebab penurunan populasi dari *Tridacna* Indo–Pasifik, terutama di Indonesia (Larson 2016; Neo *et al.*, 2017). Selain *overexploitation*, *Tridacna* juga terancam karena adanya perusakan habitat baik yang dilakukan secara sengaja ataupun karena perubahan iklim (NMFS, 2018).

IV. KESIMPULAN

Hasil identifikasi kima di Perairan Maluku Utara terdeteksi sebanyak tiga spesies, yaitu *Tridacna crocea*, *Tridacna squamosa* dan *Tridacna maxima*. Ketiga hasil tersebut berdasarkan hasil identifikasidari pengamatan morfologi dan pengukuran panjang kima serta DNA Barkoding menggunakan target 16S rRNA. Marka ini mampu mendeskripsikan jenis kima hingga tingkat spesies, hal ini ditunjukkan dengan tingkat persentase BLAST sebesar 98–99%. Analisis filogenetik dari ketiga jenis kima membentuk pohon monofiletik dan didukung oleh nilai jarak genetik pada tiap jenisnya. Pada spesies *Tridacna crocea* dan *Tridacna squamosa* membentuk satu *clade*

besar dan berpisah dengan *Tridacna maxima*. Secara identifikasi morfologi, terdapat beberapa *feature unique* pada masing-masing spesies tersebut dibagian mantel. Pada jenis *Tridacna crocea*, mantel berwarna coklat dengan pinggiran biru, sedangkan *Tridacna squamosa*, mantelnya terdapat bintik putih dan disekitarnya berwarna coklat, dan jenis *Tridacna maxima* mantelnya berwarna biru dengan bintik kecil berwarna *blackish blue*. Selain warna mantel, ketiga jenis tersebut memiliki variasi ukuran yang berbeda-beda sesuai dengan lokasinya. Ukuran memberikan pengaruh pada laju pertumbuhan dari kerang kima, dan kebayakan ditemukan dalam *post-juvenile*, dengan kepadatan individunya rata-rata $< 0,1$. Penggunaan *tools* DNA Barkoding dan identifikasi morfologi pada suatu spesies dapat menghasilkan data yang lebih akurat. Kima salah satu jenis yang sulit diidentifikasi secara morfologi, sehingga kedua metode ini sangat direkomendasikan untuk digunakan secara berbarengan. Nilai kepadatan dan ukuran yang ditemukan mengarah pada jenis ini mengalami *overexploitation*. Arah *overexploitation* menandakan bahwa kebanyakan kima diburu pada fase memasuki dewasa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Tim Peneliti teman-teman angkatan S1 (Ridwan Kamarullah, Herman Musa, dan Marjuki Ismail) dan Laboratorium Marine Biodiversity dan Biosystematika ITK IPB yang telah megijinkan saya untuk mengelola dan analisis sampel selama masa penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Albert, D.D.A, V. Bujeng, & S. Chia. 2017. Traditional shell artefact production in Northern Sabah. *Sabah Soc J.* 33: 45–55. <https://www.academia.edu/49221593>
- Allo, M.K., H. Setiawan, I.N. Dewi, A.R. Bisjoe, Nurhayati, & M. Qiptiyah. 2010. Studi Etnoekologi Kima Lubang (*Tridacna Crocea*) dan Ikan Malaja (*Sigamus Canaliculatus*) di Kawasan Taman Nasional Taka Bonerate. Makassar (ID): Balai Penelitian Kehutanan Makassar.
- Beger, M., K.A. Selkoe, E. Treml, P.H. Barber, S. von der Heyden, E.D. Crandall, R.J. Toonen & C. Riginos. 2014. Evolving coral reef conservation with genetic information. *Bulletin of Marine Science.* 90: 159–185. https://digitalcommons.csumb.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1009&context=sns_fac
- bin Othman, A. S., G. H. S. Goh & P. A. Todd, 2010. The distribution and status of giant clams (family Tridacnidae)— A short review. *Raffles Bulletin of Zoology*, 58: 103–111. <https://scholarbank.nus.edu.sg/handle/10635/102556>
- Calumpang, H. P. 1992. The Giant Clam: An Ocean Culture Manual. Australian Center for International Agricultural Research (ACIAR). Canberra. 68 pp.
- Carpenter, K.E., P.H. Barber, E.D. Crandall, M.C.A. Ablan-Lagman, Ambariyanto, G.N. Mahardika, B.M. Manjaji-Matsumoto, M.A. Juinio-Meñez, D.S. Mudjekeewis, C.J. Starger & A.H.A. Toha. 2011. Comparative phylogeography of the Coral Triangle and implications for marine management. *Journal of Marine Biology*.vol. 2011. Article ID 396982. 14 p. <https://doi.org/10.1155/2011/396982>
- Chambers, C.N. 2007. Pasua (*Tridacna maxima*) size and abundance in Tongareva Lagoon, Cook Islands.

- SPC Trochus Information Bulletin*. 13: 7-12. https://coastfish.spc.int/News/Trochus/Trochus13/Trochus13_07_Chamberrs.pdf
- Claus, C.A. 2017. Beyond Merroir: The Okinawan Taste for Clams. *Gastronomica*. 17(3): 49–57.
- Coffroth, M.A., & S.R. Santos. 2005. Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium*. *Protist* 156: 19-34. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2005.02.004>
- Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biol. J. Linn. Soc.* 85(3): 407–415. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>
- DeBoer, T.S., Naguit, M.R.A., M.V. Erdmann, M.C.A. Ablan-Lagman, Ambariyanto, K.E. Carpenter, A.H.A. Toha, & P.H. Barber. 2014. Concordance between phylogeographic and biogeographic boundaries in the Coral Triangle: conservation implications based on comparative analyses of multiple giant clam species. *Bulletin of Marine Science*. 90(1): 277–300. <https://doi.org/10.5343/bms.2013.1003>
- English S., C. Wilkinson, & V. Baker. 1997. Survey Manual for Tropical Marine Resources. 2nd Edition. Australian Institute of Marine Science. 383p.
- Fitt, W.K. 1991. Mariculture of Giant Clam. Di dalam: Menzel W. Editor. Estuarine and Marine Bivalve Mollusca Culture. Boston (US): CRC Press. Inc Boca Raton. 284-293p.
- Findra, M.N., I. Setyobudiandi, N.A. Butet & D.D. Solihin. 2020. Status populasi sumber daya kima (*Tridacnidae*) di Perairan Taman Nasional Wakatobi. Proc. Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan III (Kendari: UHO EduPress) 126-32.
- Findra, M.N., I. Setyobudiandi, N.A. Butet, & D.D. Solihin. 2017. Genetic profile assessment of giant clam genus *Tridacna* as a basis for resource management in Wakatobi National Park waters. *Ilmu Kelautan*, 22(2): 67-74. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.22.2.67-74>
- Frézal, L., & R. Leblois. 2008. Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(5): 727-736. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.05.005>
- Guo, X., X. Dai, D. Chen, T.J. Papenfuss, N.B. Ananjeva, D.A. Melnikov, & Y. Wang. 2011. Phylogeny and divergence times of some racerunner lizards (Lacertidae: *Eremias*) inferred from mitochondrial 16S rRNA gene segments. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 61(2), 400-412. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.06.022>
- Harahap, S.A., Y. Yanuar, & Y. Ilham. 2018. Diversity and abundance of giant clams in Anambas Islands, Indonesia. E3S Web of Conferences 47: 1-9. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20184703005>
- Hart, A.M., J.D. Bell, & T.P. Foyle. 1998. Growth and survival of the giant clams, *Tridacna derasa*, *T. maxima* and *T. crocea*, at village farms in the Solomon Islands. *Aquaculture*. 165(3-4): 203–220. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00255-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00255-5)
- Hebert, P.D.N., S. Ratnasingham, & J.R. deWaard. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B:*

- Biological Sciences*; 270: S96-S99. <https://doi.org/10.1098%2Frsbl.2003.0025>
- Hernawan, U.E., 2012. Taxonomy of Indonesian giant clams (Cardiidae, Tridacninae). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 13(3): 118–123. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d130303>
- Hui, M., W.E. Kraemer, C. Seidel, A. Nuryanto, A. Joshi, & M. Kochzius. 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*. 82(3): 403–414. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyw001>
- Joubert, C., C. Linard, G. Le Moullac, C. Soyeux, D. Saulnier, V. Teaniniuraitemoana, C.L. Ky, & Y. Gueguen. 2014. Temperature and food influence shell growth and mantle gene expression of shell matrix proteins in the pearl oyster *Pinctada margaritifera*. *PloS one*. 9(8), p.e103944. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103944>
- Kinch, J. & A. Teitelbaum. 2009. Proceedings of the Regional Workshop on the Management of Sustainable Fisheries for Giant Clams (Tridacnidae) and CITES Capacity Building. *Secretariat of the Pacific Community, Noumea, New Caledonia*. 51 pp.
- Kreb, C.J. 1989. Ecology Methodology. Hamper & Row Inc. Publisher. New York.
- Kubo, H. & K. Iwai. 2007. On two sympatric species within *Tridacna* “maxima”. *Annu. Rep. Okinawa Fish. Ocean Res. Ctr.* 68:205–210.
- Kumayanjati, B. 2015. Kima Biota Eksotik perairan Indo-pasifik. *Oseana* (XI) (4): 11-21.
- Kusnadi, A., D. Kurnianto, H. Madduppa, N.P. Zamani, P.S. Ibrahim, U.E. Hernawan, R.T. Utami & T. Triandiza. 2022. Genetic diversity and population structure of the boring giant clam (*Tridacna crocea*) in Kei Islands, Maluku, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 23(3): 1273–1282. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230311>
- Larson, C. 2016. Shell trade pushes giant clams to the brink. *Science*, 351: 323-324. <https://doi.org/10.1126/science.351.6271.323>
- Lee, L.K., M.L. Neo, Z.F. Lim, K.S. Hii, H.C. Lim, A.A. Chan, H. Gu, P.T. Lim, & C.P. Leaw. 2022. Population status and genetic diversity of two endangered giant clams (*Tridacna squamosa* and *Tridacna maxima*) on the fringing reefs of Perhentian Islands, Malaysia. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 32(6): 1005-1021. <https://doi.org/10.1002/aqc.3807>
- Lizano, A.M.D & M.D. Santos. 2014. Updates on the status of giant clams *Tridacna* spp. and Hippopus hippopus in the Philippines using mitochondrial CO1 and 16S rRNA genes. *Philipp Sci Lett*, 7(1), pp.187-200.
- Lucas, J.S. 2014. Giant clams. *Curr Biol* 24 (5): 183-184. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.11.062>
- Lyons, Y., D. Cheong, M.L. Neo, & H.F. Wong. 2018. Managing giant clams in the South China sea. *Intl J Mar Coastal Law*. 33: 1-28. <https://doi.org/10.1163/15718085-13301048>

- Mamat, N.S., Y.U.S.R.I. Yusuf, S.A. Md nor, S. Md Sheriff, M.N. Ismail, & N. Mohd Husin. 2021. Dna barcoding of endangered giant clams in islands off the east coast of peninsular Malaysia. *Journal of Sustainability Science and Management*. 16(5): 35-47. <https://doi.org/10.46754/jssm.2021.07.003>
- Mies, M., P. Dor, A.Z. Güth, & P.Y.G. Sumida. 2017. Production in giant clam aquaculture: Trends and challenges. *Rev Fish Sci Aquac*. 25: 286-296. <https://doi.org/10.1080/23308249.2017.1285864>
- Mohammed, T.A.A., M.H. Mohamed, R.M. Zamzamy, & M.A.M. Mahmoud. 2019. Growth rates of the giant clam *Tridacna maxima* (Röding, 1798) reared in cages in the Egyptian Red Sea. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 45(1): 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.02.003>
- Neo, M.L. & P.A. Todd. 2013. Conservation status reassessment of giant clams (Mollusca: Bivalvia: Tridacninae) in Singapore. *Nature in Singapore*. 6(3): 125-133.
- Neo, M.L, & K.S. Loh. 2014. Giant clam shells ‘graveyard’ at Semakau Landfill. *Singapore Biodiversity Records*. 248-249.
- Neo, M.L., W. Eckman, K. Vicentuan, S.L.M. Teo, & P.A. Todd. 2014. The ecological significance of giant clams in coral reef ecosystems. *Biological Conservation*, 181: 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.004>
- Neo, M.L., W. Eckman, K. Vicentuan, S.L.M. Teo, & P.A. Todd. 2015. The ecological significance of giant clams in coral reef ecosystems. *Biol. Conserv.*, 181: 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.004>
- Neo, M.L., C.C.C. Wabnitz, R.D. Braley, G.A. Heslinga, C. Fauvelot, S. Van Wynsberge, S. Andréfouët, C. Waters, AS-H. Tan, E.D. Gomez, M.J. Costello, & P.A. Todd. 2017. Giant clams (Bivalvia: Cardiidae: Tridacninae): A comprehensive update of species and their distribution, current threats and conservation status. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 55: 87-388. <https://doi.org/10.1201/b21944-5>
- Neo, M.L., K.K. Lim, S.Y. Yang, G.Y. Soong, G.D. Masucci, P. Biondi, H.B. Wee, H. Kise, J.D. Reimer. 2019. Status of giant clam resources around Okinawa-jima Island, Ryukyu Archipelago, Japan. *Aquat Conserv*. 29:1002–1011. <https://doi.org/10.1002/aqc.3033>
- NMFS. 2018. Endangered and threatened wildlife; 90-day finding on a petition to list Chinook salmon in the Upper Klamath-Trinity Rivers Basin as Threatened or Endangered Under the Endangered Species Act. *Fed Reg*. 83: 8410-8414.
- Ni, L., Q. Li, L. Kong, S. Huang, & L. Li 2012. DNA barcoding and phylogeny in the family Mactridae (Bivalvia: Heterodonta): Evidence for cryptic species. *Biochemical Systematics and Ecology*. 44: 164-172. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.05.008>
- Nijman V., D. Spaan, & K.A.I. Nekaris. 2015. Large scale trade in legally protected marine mollusc shells from Java and Bali, Indonesia. *PLoS One* 10 (12): e0140593. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140593>
- Nuryanto, A., D. Duryadi, D. Soedharma, & D. Blohm. 2007. Molecular phylogeny of giant clams based on

- mitochondrial DNA cytochrome c oxidase I gene. *HAYATI Journal of Biosciences*, 14(4): 62-166. <https://doi.org/10.4308/hjb.14.4.162>
- Palumbi, S.R., D. Hillis, C. Moritz (Eds.). 1996. *Molecular Systematics*, Sinauer, Sunderland. pp. 205-247.
- Patwardhan, A., S. Ray, & A. Roy. 2014. Molecular markers in phylogenetic studies-a review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*; 2(2): 1-9. <https://doi.org/10.4172/2329-9002.1000131>
- Ramah, S., N. Taleb-Hossenkhani, P.A. Todd, M.L. Neo, & R. Bhagooli. 2019. Drastic decline in giant clams (Bivalvia: Tridacninae) around Mauritius Island, Western Indian Ocean: implications for conservation and management. *Marine Biodiversity*. 49: 815-823. <https://doi.org/10.1007/s12526-018-0858-9>
- Richter, C., H. Roa-Quiaoit, C. Jantzen, M. Al-Zibdah, M. Kochzius. 2008. Collapse of a new living species of giant clam in the Red Sea. *Current Biology*, 18(17): 1349-1354. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.07.060>
- 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*; X(1): 74-83. <https://jurnal.unpad.ac.id/jpk/article/view/23046>
- Schneider, J.A. & D.Ó. Foighil, 1999. Phylogeny of giant clams (Cardiidae: Tridacninae) based on partial mitochondrial 16S rDNA gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 13(1): 59-66. <https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0636>
- Soo, P. & P.A. Todd. 2014. The behaviour of giant clams (Bivalvia: Cardiidae: Tridacninae). *Marine Biology*. 161(12): 2699-2717. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2545-0>
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, S. Kumar. 2013. MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Bio Evol*. 28 (10): 731-2739. <https://doi.org/10.1093/molbev%2Fmsr121>
- Tang, Y.C. 2005. The systematic status of *Tridacna maxima* (Bivalvia: Tridacnidae) based on morphological and molecular evidence. [Disertasi]. National Taiwan Ocean University. 114 pp.
- Tisdell, C., Y.C. Shang, & P. Leung. 1994. Economics of commercial giant clam mariculture. *Economics of commercial giant clam mariculture*. 306pp.
- Toonen, R.J., T. Nakayama, T. Ogawa, A. Rossiter, & J.C. Delbeek. 2012. Growth of cultured giant clams (*Tridacna* spp.) in low pH, high-nutrient seawater species - specific effects of substrate and supplemental feeding under acidification. *J. Mar. Biol. Assoc.*, 92: 731-740. <https://doi.org/10.1017/S0025315411000762>
- Triandiza, T., N.P. Zamani, H. Madduppa, U.E. Hernawan. 2019. Distribution and abundance of the giant clams (Cardiidae: Bivalvia) on Kei Islands, Maluku, Indonesia. *Biodiversitas*, 20: 884-892. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200337>
- Vicentuan-Cabaitan K., M.L. Neo, W. Eckman, S.L.M. Teo, & P.A. Todd. 2014. Giant clam shells host a multitude of epibionts. *Bull Mar Sci.*,

- 90 (3): 795-796.
<https://doi.org/10.5343/bms.2014.1010>
- Wabnitz, C., M. Taylor, E. Green & T. Razak. 2003. From Ocean to Aquarium. UNEP-WCMC, Cambridge, UK. 64 pp.
- Waheed, Z .2016. Patterns of coral species richness and reef connectivity in Malaysia. Netherlands: Leiden University.
- Wakum, A., M. Takdir, & S. Talakua. 2017. Jenis-Jenis Kima dan Kelimpahannya di Perairan Amdui Distrik Batanta Selatan Kabupaten Raja Ampat. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*. 1(1): 43-52. <https://doi.org/10.30862/jsai-fpik-unipa.2017.Vol.1.No.1.16>
- Walsh, P.S., D.A. Metzger, & R. Higuchi. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10(4): 506-513. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1867860/>
- Yusuf, C., Ambariyanto, and Hartati. 2009. Abundance of *Tridacna* (Family Tridacnidae) at Seribu Island and Manado Waters, Indonesia. *Jurnal Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro*, 14(3):150-154. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.14.3.150-154>
- Submitted : 07 May 2023
 Reviewed : 30 November 2023
 Accepted : 15 December 2023

FIGURE AND TABLE TITLES

- Figure 1. Research in North Maluku Province. The red circle is the sampling point and morphometric measurements and population density of *Tridacna*.
- Figure 2. Sampling design at each research location using the Line Transect method (50 m x 50 m), the black line is the vertical line and the white line is the horizontal line.
- Figure 3. Phylogenetic tree analysis of the *Tridacna* group and using the *Cerastoderma edule* outgroup using bootstrap 1000. (a) Analysis with Maximum likelihood, (b) Analysis with Neighbor joining.
- Figure 4. Morphological forms of *Tridacna squamosa* (a), *Tridacna crocea* (b) and *Tridacna maxima* (c), and *Hippopus hippopus* (d) (KKP Ministry of Maritime Affairs and Fisheries).
- Figure 5. Population density of the *Tridacna crocea* species at each location in North Maluku waters.
- Figure 6. Population density of the *Tridacna squamosa* species at each location in North Maluku waters.
- Figure 7. Population density of the *Tridacna maxima* species at each location in North Maluku waters.
- Table 1. Information on the identification of *Tridacna crocea* clams taken in North Maluku waters.
- Table 2. Information on the identification of *Tridacna maxima* clams taken in North Maluku waters.
- Table 3. Information on the identification of *Tridacna squamosa* clams taken in North Maluku waters.
- Table 4. Genetic distance of the three clam species and one outgroup of the *Cerastoderma edule* type using the Kimura 2-Parameter method and 1000 bootstrap.
- Table 5. Variations in size (shell length) of *Tridacna* determined (cm).