

Variasi Temporal Kelompok Ikan Terumbu Karang di Pulau Tidung Kecil Menggunakan eDNA Metabarkoding dan Sensus Visual

Muhammad Fahmi Zuhdi*, Hawis Madduppa, Neviaty P. Zamani

Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University
Jl. Raya Dramaga, Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

Email: fahmizuhdi@apps.ipb.ac.id

Abstract

Temporal Pattern of Coral Reef Fish Group in Tidung Kecil Island Using eDNA Metabarcoding and Underwater Visual Census

Coral reef fish are play key role in coral reef ecosystem. The presence of reef fish affected by anthropogenic and natural factors, such seasonal changes. This study aimed to ases the temporal variation of coral reef fish group in Tidung Kecil Island using eDNA metabarcoding and Underwater Visual Census. This research was conducted at December 2019 (West season) and August 2020 (East season). Target group are dominated in west season (64.1%) and east season (59.25%) using eDNA metabarcoding. While, major group fish are the highest relative abundance in both season by using Underwater Visual Census. Family Carangidae are the highest species richness (15 species) in wet season and Serranidae (3 species) in east season, respectively. Futhermore, famili Pomacentridae are the most richness species in west and east seasons 10 and 11 species respectively. Thus, it can be concluded these two methods are effective for monitoring structure or abundance of coral reef fish based on seasonal variation.

Keywords : eDNA metabarcoding, coral reef fish, temporal variation

Abstrak

Ikan karang menjadi indikator dalam menilai keanekaragaman hayati di ekosistem tersebut. Keberadaan ikan di ekosistem terumbu karang dapat dipengaruhi oleh faktor antropogenik dan faktor alam salah satunya perubahan musim. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kelimpahan kelompok ikan terumbu karang di Pulau Tidung Kecil menggunakan eDNA metabarkoding dan Sensus Visual. Pengambilan data dilakukan pada bulan Desember 2019 (musim barat) dan Agustus 2020 (musim timur). Ikan target mendominasi pada musim barat dan timur dengan persentase sebesar 64.11% dan 59.25%. Sensus visual berhasil mendeteksi ikan mayor dengan persentase tertinggi 62.5% di musim barat dan 82.8% di musim timur. Famili Carangidae merupakan famili dengan jumlah spesies tertinggi di musim barat (15 species) dan Siganidae di musim timur menggunakan eDNA metabarkoding (3 species). Hasil UVC menunjukkan famili Pomacentridae memiliki jumlah spesies tertinggi di kedua musim (11 dan 10 spesies) menggundakan sensus visual. Dapat disimpulkan bahwa kedua metode tersebut dapat menjadi pendekatan dalam monitoring struktur atau kelimpahan ikan terumbu karang berdasarkan musim.

Kata Kunci : eDNA metabarkoding, ikan terumbu karang, variasi temporal

PENDAHULUAN

Salah satu biota yang mendiami ekosistem terumbu karang adalah ikan

karang. Ikan karang memiliki hubungan yang erat dengan ekosistem terumbu karang (Bengen, 2013). Menurut Adrim *et al* (2012) ikan terumbu karang terbagi berdasarkan

*) Corresponding author
www.ejournal2.undip.ac.id/index.php/jkt

fungsi pemanfaatan dan aspek ekologi yaitu ikan target, ikan indikator, dan kelompok ikan lain-lain (major groups). Kelompok ikan indikator merupakan bioindikator untuk kesehatan ekosistem terumbu karang (Shidqi *et al.* 2018), sedangkan ikan target memiliki nilai ekonomis penting dan menjadi target nelayan (Edrus dan Abrar, 2017), dan ikan mayor umumnya memainkan peran penting dalam rantai makanan di ekosistem terumbu karang (Dewi *et al.* 2018).

Ikan terumbu karang merupakan salah satu faktor kunci dalam menilai keanekaragaman hayati pada ekosistem terumbu karang (Tony *et al.* 2020). Menurut (Madduppa *et al.* 2013) ikan terumbu karang memiliki hubungan yang sangat kuat dengan ekosistem terumbu karang. Beberapa faktor yang mempengaruhi struktur komunitas ikan yaitu aktivitas penangkapan, degradasi habitat (Knowlton dan Jackson, 2008), perubahan lingkungan (Plass-Johnson *et al.* 2015; Polónia *et al.* 2019) dan pengaruh musim. Menurut Chittaro dan Sale (2003) jumlah komunitas ikan dapat bervariasi tergantung dari perbedaan musim. Beberapa telah melaporkan variasi kelimpahan ikan berdasarkan musim (Madduppa *et al.* 2012; Sigsgaard *et al.* 2017; Vaughan *et al.* 2021).

Kondisi keanekaragaman hayati akuatik merupakan informasi penting dalam menjelaskan berbagai proses ekologis, termasuk di antaranya untuk tujuan biomonitoring (Leray *et al.* 2013). Beberapa kegiatan biomonitoring telah dilakukan untuk melihat kaitan antara keanekaragaman dan kelimpahan ikan dengan ekosistem terumbu karang (Adrim *et al.* 2012; Madduppa *et al.* 2013; Tony *et al.* 2020). Kegiatan biomonitoring ikan terumbu karang sebagian besar dilakukan dengan metode Underwater Visual Sensus (UVC) (Stat *et al.* 2019). Metode ini memiliki kelemahan dalam mengidentifikasi spesies cryptic, sehingga membutuhkan keahlian yang memadai (Bozec *et al.* 2011), serta terbatas pada cakupan spasial dan temporal (Boussarie *et al.* 2018).

Teknik DNA lingkungan saat ini dapat menjadi metode alternatif yang efektif dalam

menganalisis kelimpahan ikan (Thomsen *et al.* 2012). Analisis DNA lingkungan dapat diperoleh dari jaringan yang terkelupas, feses atau pembusukan yang dilepaskan di perairan (Takahara *et al.* 2013; Laramie *et al.* 2015; Barnes dan Turner 2016). Beberapa penelitian di berbagai lokasi menunjukkan bahwa metode metabarkoding DNA lingkungan secara efektif dan akurat dapat digunakan dalam survei komunitas ikan karang (Miya *et al.* 2015; Evans *et al.* 2016; DiBattista *et al.* 2017). Selain itu, eDNA memiliki tingkat keberhasilan >90% dalam mengidentifikasi spesies (Jerde *et al.* 2019), dan dapat mengidentifikasi spesies cryptobentik (Brandl *et al.* 2018).

Kondisi oseanografi secara Oleh karena itu, metode analisis DNA lingkungan merupakan salah satu metode alternatif untuk memonitoring keanekaragaman hayati laut (Gordon *et al.*, 2015). Umum di Kepulauan Seribu hampir sama dengan wilayah tropis lainnya, suhu perairan berkisar antara 25.6-32.3°C, salinitas perairan sekitar 28-32‰ (Rositasari *et al.* 2017). Wilayah Kepulauan Seribu umumnya dipengaruhi oleh angin muson atau angin musim yakni angin musim barat dan timur. Musim barat terjadi pada bulan Desember-Februari dan musim timur terjadi sekitar bulan Juni-Agustus, serta musim peralihan I (Maret-Mei) dan peralihan II (September-November). Variasi musim di suatu wilayah dapat menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi ekosistem yang ada di perairan. Salah satunya ekosistem terumbu karang. Menurunnya keanekaragaman terumbu karang karena faktor alam dan antropogenik, secara tidak langsung dapat mempengaruhi keanekaragaman ikan terumbu karang (Bengen, 2013). Tujuan Penelitian ini adalah untuk menganalisis variasi temporal kelompok ikan terumbu karang di Pulau Tidung Kecil menggunakan eDNA metabarkoding dan Sensus Visual.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2019 (Musim Barat) dan Agustus 2020 (Musim Timur). Wilayah Kepulauan Seribu dipengaruhi oleh angin musim yakni musim barat (Desember-Maret) dan timur (Juli-

Agustus) (Rositasari *et al.* 2017). Pengambilan sampel dilakukan di satu titik pengamatan (Gambar 1). Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Biodiveristas dan Biosistemika Kelautan, Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Perikanan, Institut Pertanian Bogor.

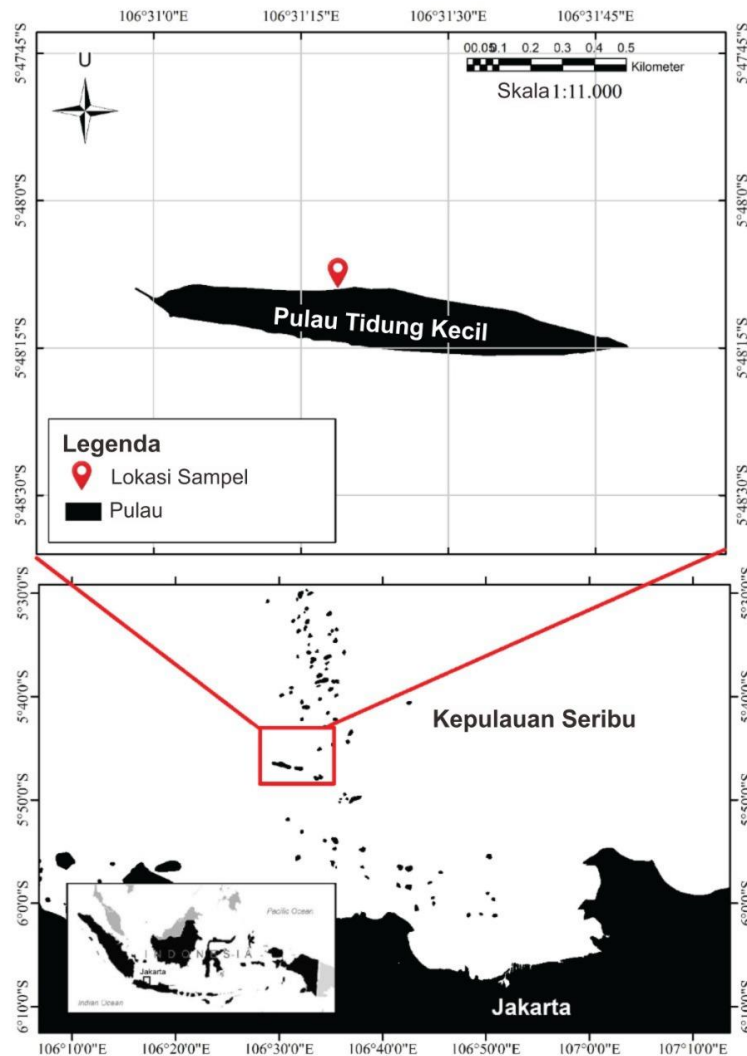
Pengambilan sampel (Visual Sensus)

Pengambilan data ikan terumbu karang menggunakan metode belt transect (English *et al.* 1997). Pengambilan data dilakukan dengan penyelaman SCUBA pada lokasi yang sama dengan lokasi pengambilan sampel air laut. Ukuran garis transek untuk pengambilan data ikan yakni 50 meter. Pengambilan data dilakukan

dengan underwater visual census (UVC) dengan mencatat spesies dan kelimpahan. Transek sabuk mempunyai ukuran panjang 50 meter dan lebar 5 meter, sehingga luasnya 250 m². Identifikasi ikan mengacu pada (Allen *et al.* 2003) dan Froose and Pauly (2021).

Pengambilan Sampel Air Laut (eDNA)

Pengambilan sampel berupa air yang berada di bagian sedimen (Madduppa *et al.* 2020) menggunakan botol sampel volume 1 L. Sampel air kemudian dilakukan proses penyaringan menggunakan seperangkat alat penyaring berupa *Peritaltic Pump* masterflex nomor 13-310-662 dan disaring menggunakan kertas milipore 0.4 μm (Bakker *et al.* 2017). Kertas saring dipotong



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian poin merah merupakan lokasi pengambilan sampel

menjadi dua bagian menggunakan alat pemotong berupa gunting yang telah disterilisasi dengan larutan bleach 70%, yang merupakan replikasi (Pesant *et al.* 2015; Gimmler *et al.* 2016) Kertas saring dimasukkan ke dalam 2 ml *cryotube* yang telah di isi dengan cairan DNA Shield \pm 1 ml yang bertujuan untuk mengawetkan sampel.

Analisis Molekuler

Proses ekstraksi sampel eDNA menggunakan metode kit ZR Soil DNA Miniprep (Zymo Research, USA) sesuai protokol pabrik (Verma dan Satyanarayana 2011; Li *et al.* 2018). Sampel yang diekstraksi berupa kertas saring yang digunakan untuk menyaring sedimen. Amplifikasi DNA atau *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan dengan menggunakan Primer MiFish-U-F-adapt dan MiFish-U-R-adapt (Miya *et al.* 2015). Komponen dalam reaksi PCR adalah 12.5 μ l MyTaq HS Redmix (BIOLINE), 1.25 μ l primer forward dan reverse, 9 μ l H₂O, dan 1 μ l sampel DNA, dengan total volume 25 μ l. Proses PCR menggunakan *Thermo Cycler* dengan kondisi yaitu denaturasi awal 95°C selama 3 menit, kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus PCR yang terdiri dari tahap denaturasi pada suhu 98°C selama 20 detik, tahap annealing primer pada suhu 65 °C selama 15 detik dan tahap elongasi pada suhu 72°C selama 15 detik. Setelah 35 siklus PCR, kemudian dilanjutkan dengan tahap elongasi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit.

Tahap kedua amplifikasi disebut *library preparation*. Pada tahap ini, sampel DNA yang telah melewati PCR tahap satu kemudian dilakukan *quality control* untuk memastikan sampel DNA yang digunakan memiliki kualitas yang baik sehingga hasil yang diperoleh akan lebih akurat. Selanjutnya pada tahap ini, sampel DNA disisipkan *index* (identitas sampel) dengan menggunakan *Nextera XT index kit*. Komponen reaksi PCR kedua menggunakan 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix. Proses PCR kedua menggunakan *Thermo Cycler* dengan kondisi yaitu denaturasi awal 95 °C selama 3 menit kemudian dilanjutkan dengan 12 siklus PCR yang terdiri dari tahap denaturasi 98 °C selama 12 detik, tahap annealing primer

pada suhu 98 °C selama 20 detik dan tahap elongasi pada suhu 72 °C selama 30 detik. Setelah 12 siklus PCR, kemudian dilanjutkan dengan tahap elongasi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Proses elektroforesis menggunakan gel agarosa 1.5% dan etidium bromida, menggunakan perangkat elektroforesis selama 20 menit pada tegangan 120 V. Pita hasil elektroforesis divisualisasi dengan menggunakan sinar ultraviolet di UV transilluminator. Produk PCR yang positif dikirim ke Genetica Science untuk dilakukan tahapan sekuensing dengan menggunakan *Next Generation Sequencing* Illumina Nexseq 500.

Analisis Bioinformatik

Hasil dari produk sekuensing menggunakan tehnik Illumina Nexseq berupa file *fastQ* dianalisis menggunakan perangkat lunak online *MiFish Pipeline* *MiFish Pipeline* (Sato *et al.*, 2018) dengan output berupa reads/sekuens dengan tingkat similaritas diatas 97%, dan 80-97%. Tahapan yang dikerjakan pada *MiFish Pipeline* adalah pemotongan basa awal dan akhir dari sekuens, penyatuan dua reads yaitu R1 dan R2 (merging), Filterisasi pada basa yang tidak terbaca atau yang dikenal sebagai N serat memfilter panjang reads dalam sekuens, proses penghapusan primer dalam sekuens, proses clustering yang membagi sekuens kedalam kelompok cluster, dan penentuan kesamaan sekuens terhadap data set. Kelimpahan individu ikan berdasarkan famili dan spesies mengacu pada (Miya *et al.* 2015). Ikan yang telah terdeteksi kemudian di kelompokkan menjadi tiga kategori yaitu: Ikan indikator, ikan target, dan ikan mayor. Identifikasi jenis ikan berdasarkan kategori kelompok ikan mengikuti FishBase (Froese dan Pauly 2021).

Analisis Data

Ikan karang yang ditemukan menggunakan metode sensus visual diidentifikasi jenisnya berdasarkan buku identifikasi (Allen *et al.* 2003) dan (Froese dan Pauly 2021). Selanjutnya ikan dikategorikan berdasarkan kelompok. Ikan yang telah diidentifikasi, kemudian dihitung kelimpahannya berdasarkan jenis dan

kelimpahan relatifnya (Odum 1998). Uji t dilakukan untuk melihat perbedaan antara

HASIL DAN PEMBAHASAN

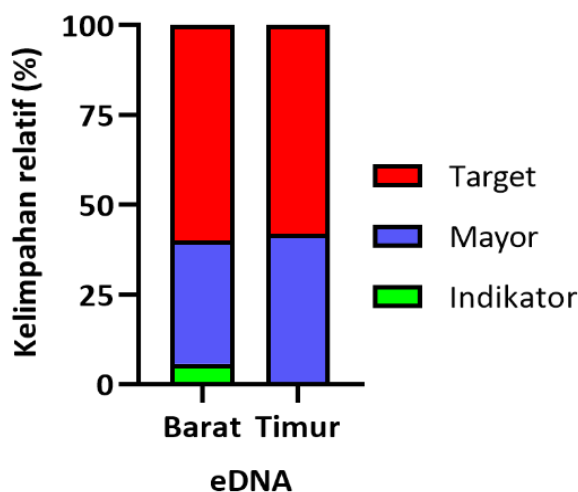
Kelompok ikan terumbu karang yang terdeteksi menggunakan analisis eDNA metabarkoding dan UVC berbeda signifikan pada kelimpahan dan komposisi kelompok ikan terumbu karang antara eDNA metabarkoding dan sensus visual $p < 0.05$. Perbedaan hasil ini diduga disebabkan karena perbedaan metode yang digunakan. Hasil menunjukkan bahwa UVC hanya mengobservasi ikan yang berasosiasi dengan terumbu karang. Sedangkan eDNA metabarkoding dapat mendeteksi jenis ikan yang tidak menetap di terumbu karang seperti (*Sardinella lemuru*, *Auxis thazard*, dan *Rastrelliger brachysoma*), dan beberapa spesies cryptobentik (*Enneapterygius leucopunctatus*, *Pandaka pygmaea*) umumnya kelompok cryptobentik susah untuk diidentifikasi (Brandl et al. 2018). Selain itu, kelimpahan dan komposisi kelompok ikan terumbu karang dapat disebabkan oleh pengambilan sampel dan area sampling (Bengen, 2013).

Hasil analisis menggunakan eDNA pada musim barat dan timur kelimpahan relatif tertinggi kelompok ikan terumbu karang menggunakan eDNA didominasi oleh kelompok ikan target yakni 134 jenis (64.11%)

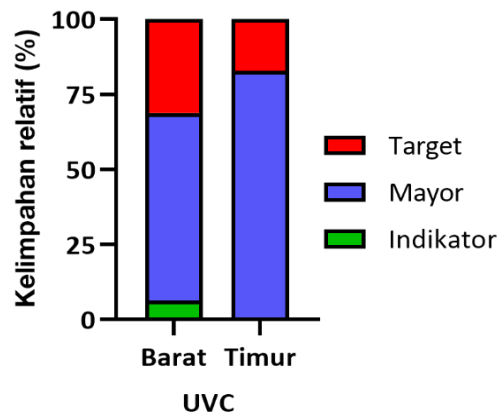
metode eDNA dan UVC.

di musim barat dan 16 jenis (59.25%) di musim timur (Gambar 2). Ikan target merupakan kelompok ikan yang menjadi target nelayan karena memiliki nilai ekonomis penting (Madduppa et al. 2014). Famili Carangidae merupakan famili dengan jumlah spesies terbanyak di musim barat dan timur dengan 15 spesies, Tingginya jumlah jenis dari famili Carangidae diduga disebabkan karena aktivitas penangkapan di lokasi tersebut. Pada musim barat aktivitas penangkapan cenderung menurun pada ikan-ikan target nelayan dikarenakan cuaca buruk pada musim barat cenderung membahayakan nelayan (Martasari et al. 2010). Selain itu, tingginya kehadiran famili Carangidae di ekosistem terumbu karang diduga disebabkan oleh fungsi ekologis ekosistem terumbu karang. Ekosistem terumbu karang dapat dimanfaatkan oleh biota-biota laut seperti ikan sebagai tempat mencari makan, memijah dan pembesaran (Madduppa et al. 2012).

Hasil analisis menggunakan sensus visual atau UVC menunjukkan bahwa ikan mayor memiliki persentase kelimpahan relatif tertinggi di kedua musim 62.5% dan 82.8% (Gambar 3). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Harsindhi et al. (2020) yang melaporkan kelimpahan ikan mayor mendominasi di ekosistem terumbu karang.



Gambar 2. Kelimpahan relatif ikan terumbu karang berdasarkan kelompok menggunakan eDNA di musim barat dan timur.



Gambar 3. Kelimpahan relatif ikan terumbu karang berdasarkan kelompok menggunakan UVC di musim barat dan timur.

Kelompok ikan mayor memiliki kelimpahan tertinggi di ekosistem terumbu karang (Taira *et al.* 2013). Famili Pomacentridae merupakan kelompok ikan mayor dengan jumlah spesies tertinggi dengan jumlah 10 spesies di musim barat dan 11 spesies di musim timur. Famili Pomacentridae merupakan famili yang memiliki kecocokan fisiologi dengan ekosistem terumbu karang (Rungkat *et al.* 2013), dan berperan penting dalam jaring-jaring makanan (Edrus dan Abrar, 2017).

Hasil identifikasi menggunakan eDNA dan UVC ditemukan bahwa kelompok ikan indikator sedikit terdeteksi menggunakan kedua metode baik di musim barat dan musim timur. (Gambar 2 dan 3). Salah satu kelompok ikan indikator yakni famili Chaetodontidae. Famili ini merupakan salah satu bioindikator dalam menilai kesehatan terumbu karang. Rendahnya jumlah jenis ikan indikator yang ditemukan diduga disebabkan karena preferensi habitat yang digunakan oleh kelompok ikan tersebut. Ikan terumbu karang memiliki kecenderungan untuk memilih habitat berdasarkan *lifeform* atau bentuk terumbu karang itu sendiri (Harsindhi *et al.* 2020).

KESIMPULAN

Kelompok ikan target memiliki kelimpahan tertinggi di musim barat dan timur menggunakan eDNA, sedangkan kelompok ikan mayor mendominasi di musim barat dan timur menggunakan UVC.

Terdapat perbedaan yang signifikan antara metode eDNA dan UVC. eDNA dan UVC merupakan dua metode yang saling melengkapi satu sama lain dalam mengamati atau monitoring kelompok ikan di ekosistem terumbu karang.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrim, M., Harahap, S.A. & Wibowo, K., 2012. Struktur Komunitas Ikan Karang di Perairan Kendari. *Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 17(3):154–163. doi: 10.14710/ik.ijms.17.3.154-163.
- Allen, G.R., Steen, R., Human, P. & Deloach, N, 2003. Reef Fish Identification (Tropical Pacific). New World Publication. Florida USA.
- Bakker, J., Wangensteen, O.S., Chapman, D.D., Bousarie, G., Buddo, D., Guttridge, T.L., Hertler, H., Mouillot, D., Vigliola, L. & Mariani, S, 2017. Environmental DNA Reveals Tropical Shark Diversity In Contrasting Levels Of Anthropogenic Impact. *Scientific Reports*. 1:1–11. doi: 10.1038/s41598-017-17150-2.
- Bengen, D.G, 2013. Coral Reef Bio-Ecology Status And Challenge. IPB Press, Indonesia, pp 62-74.
- Bousarie, G., Bakker, J., Wangensteen, O.S., Mariani, S., Bonnin, L., Juhel, J.B., Kiszka, J.J., Kulbicki, M., Manel, S., Robbins, W.D. & Vigliola, L 2018. Environmental DNA illuminates the dark diversity of sharks. *Science Advances*. 4(5):p.eaap9661. doi: 10.1126/sciadv.aap9661.

- Bozec, Y.M., Kulbicki, M., Laloë, F., MouTham, G. & Gascuel, D, 2011. Factors affecting the detection distances of reef fish: Implications for visual counts. *Marine Biology*, 158(5):969–981. doi: 10.1007/s00227-011-1623-9.
- Brandl, S.J., Goatley, C.H., Bellwood, D.R. & Tornabene, L. 2018. The hidden half: Ecology and evolution of cryptobenthic fishes on coral reefs. *Biological Reviews*, 93(4):1846–1873. doi: 10.1111/brv.12423.
- Dewi, C.S.U., Sukandar, Harsindhi, C.J. 2018 *Reef-fish in Bawean Island*. UB Press, Malang, Indonesia, 123.
- DiBattista, J.D., Coker, D.J., Sinclair-Taylor, T.H., Stat, M., Berumen M.L. & Bunce M, 2017. Assessing the utility of eDNA as a tool to survey reef-fish communities in the Red Sea. *Coral Reefs*. 36(4):1245–1252. doi: 10.1007/s00338-017-1618-1.
- Edrus, I.N. & Abrar, M.A, 2017. Diversity of Reef Fish Fungsional Groups in Terms of Coral Reef Resiliences. *Indones Fish Res J*. 22(2):109. doi: 10.15578/ifrj.22.2. 2016.109-122.
- English, S., Wilkinson, C. & Baker, V., 1997. Survey Manual for Tropical Marine Resources, 2nd edn. Australia Institute of Marine Science, Townsville (AU).
- Evans, N.T., Olds, B.P., Renshaw, M.A., Turner, C.R., Li, Y., Jerde, C.L., Mahon, A.R., Pfrender, M.E., Lamberti, G.A. & Lodge, D.M, 2016. Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*. 16(1):29–41. doi: 10.1111/1755-0998.12433.
- Froese, R. & Pauly, D. 2021. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.com. Accessed 20 January 2021.
- Harsindhi, C.J., Bengen, D.G., Zamani N.P., Kurniawan, F. (2020). Abundance and spatial distribution of reef fish based on coral lifeforms at tidung island, Seribu Islands, Jakarta Bay. *AAFL Bioflux*. 13(2):736–745.
- Jerde, C.L., Wilson, E.A. & Dressler, T.L. 2019. Measuring global fish species richness with eDNA metabarcoding. 19:19–22. doi: 10.1111/17550998.12929.
- Knowlton, N. & Jackson, J.B.C, 2018. Shifting baselines, local impacts, and global change on coral reefs. *PLOS Biol*. 6:54. doi: 10.1371/journal.pbio.0060054.
- Laramie, M.B., Pilliod, D.S., Goldberg, C.S. & Strickler, K.M, 2015. Environmental DNA sampling protocol - filtering water to capture DNA from aquatic organisms. *Tech Methods*. doi: 10.3133/tm2a13.
- Leray, M., Yang, J.Y., Meyer, C.P., Mills, S.C., Agudelo, N., Ranwez, V., Boehm, J.T. & Machida, R.J, 2013. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: Application for characterizing coral reef fish gut contents. *Front Zool*. 10(1):1–14. doi:10.1186/1742-9994-10-34.
- Li, Y., Evans, N.T., Renshaw, M.A., Jerde, C.L., Olds, B.P., Shogren, A.J. & Pfrender, M.E. 2018. Estimating fish alpha and beta diversity along a small stream with environmental DNA metabarcoding. *Metabarcoding and Metagenomics*. 2:e24262. doi: 10.3897/mbmg.2.24262.
- Odum, E.P. 1998. *Fundamental ecology*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Madduppa, H.H., Subhan, B., Suparyani, E., Siregar, A.M., Arafat, D., Tarigan, S.A., Alimuddin, Khairudin, D., Rahmawati F. & Bramandito, A 2013. Dynamics of fish diversity across an environmental gradient in the Seribu Islands reefs off Jakarta. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 14(1):17–24. doi: 10.13057/biodiv/d140103.
- Madduppa, H.H., Ferse, S.C., Aktani, U. & Palm, H.W., 2012. Seasonal trends and fish-habitat associations around Pari Island, Indonesia: Setting a baseline for environmental monitoring. *Environmental biology of fishes*, 95(3):383–398. doi: 10.1007/s10641-012-0012-7.
- Maddupa, H.H. 2014. Bioekologi dan Biosistemika Ikan Terumbu: Studi Kasus Kepulauan Seribu. Bogor (ID): IPB Press.
- Madduppa, H. & Sani, L.M.I. 2020. Environmental DNA Sampling Protocol. Department of Marine Science and Technology Faculty of Fisheries and Marine Sciences. Institut Pertanian Bogor.
- Miya, M., Sato, Y., Fukunaga, T., Sado, T., Poulsen, J.Y., Sato, K., Minamoto, T., Yamamoto, S., Yamanaka, H., Araki, H. & Kondoh, M. 2015. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding

- environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species. *Royal Society open science*, 2(7):p.150088 doi: 10.1098/rsos.150088.
- Pesant, S., Not, F., Picheral, M., Kandels-Lewis, S., Le Bescot, N., Gorsky, G., Iudicone, D., Karsenti, E., Speich, S., Troublé, R. & Dimier, C. 2015. Open science resources for the discovery and analysis of Tara Oceans data. *Nature*. 2:150023. doi: 10.1038/sdata.2015.23.
- Pass-Johnson, J.G., Taylor, M.H., Husain, A.A., Teichberg, M.C. & Ferse, S.C., 2016. Non-random variability in functional composition of coral reef fish communities along an environmental gradient. *PLoS ONE* 11:1–18. doi: 10.1371/journal.pone.0154014.
- Polónia, A.R.M., Cleary, D.F.R., Duine, A.A., Van Dijk, J. & De Voogd, N.J. 2019. Assessment of fish community structure along the Jakarta Bay-Pulau Seribu reef complex. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 99(2):503–516.
- Rositasari, R., Puspitasari, R., Nurhati, I.S., Purbonegoro, T. & Yogaswara, D. 2017. Review Penelitian di Teluk Jakarta. Pusat Penelitian Oseanografi, LIPI. Jakarta Utara.
- Rungkat, V.M.E., Tamanampo, J.F.W.S. & Tombakan, J.L. 2013. Community structure of Pomacentridae fish in Coastal Waters on Malalayang Dua Village of Manado Gulf. *Jurnal Ilmiah Platax*, 1:125–131.
- Sato, Y., Miya, M., Fukunaga, T., Sado, T., & Iwasaki, W. 2018. Mitofish and mifish pipeline: A mitochondrial genome database of fish with an analysis pipeline for environmental DNA metabarcoding. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1553–1555. doi: 10.1093/molbev/msy074.
- Sigsgaard, E.E., Nielsen, I.B., Carl, H., Krag, M.A., Knudsen, S.W., Xing, Y., Holm-Hansen, T.H., Møller, P.R. & Thomsen, P.F. 2017. Seawater environmental DNA reflects seasonality of a coastal fish community. *Marine Biology*, 164(6): p128 doi: 10.1007/s00227-017-3147-4.
- Shidqi, R.A., Pamuji, B., Sulistianoro, T., Risza, M., Faozi, A.N., Muhammad, A.N., Muharam, M.R., Putri, E.D., Hartini, R., Valentina, B. & Fakhri, R.Z., 2018. Coral health monitoring at Melinjo Island and Saktu Island: Influence from Jakarta Bay. *Regional Studies in Marine Science*, 18:237-242.
- Stat, M., John, J., DiBattista, J.D., Newman, S.J., Bunce, M. and Harvey, E.S., 2019. Combined use of eDNA metabar-coding and video surveillance for the assessment of fish biodiversity. *Conservation Biology*, 33(1):196–205. doi: 10.1111/cobi.13183.
- Taira, D., Poquita-Du, R.C., Toh, T.C., Toh, K.B., Ng, C.S.L., Afiq-Rosli, L., Chou, L.M. & Song, T., 2018. Spatial variability of fish communities in a highly urbanised reef system. *Urban Ecosystem*, 21(1):85-95.
- Takahara, T., Minamoto, T. & Doi, H., 2013. Using Environmental DNA to Estimate the Distribution of an Invasive Fish Species in Ponds. *PLoS One*. 8(2): p.e56584. doi: 10.1371/journal.pone.0056584.
- Tony, F., Soemarno, Wiadnya, D.G.R. & Hakim, L. 2020. Diversity of reef fish in halang melingkau island, South Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*. 21(10):4804–4812. doi: 10.13057/bio div/d211046.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Møller, P.R., Rasmussen, M. & Willerslev, E. 2012. Detection of a Diverse Marine Fish Fauna Using Environmental DNA from Seawater Samples. *PLoS One*. 7(8):1–9. doi: 10.1371/journal.pone.0041732.
- Vaughan, G.O., Shiels, H.A. & Burt, J.A. 2021. Seasonal variation in reef fish assemblages in the environmentally extreme southern Persian/Arabian Gulf. *Coral Reefs*. 40(2):405-416. doi: 10.1007/s00338-020-02041-2.
- Verma, D. & Satyanarayana, T. 2011. An improved protocol for DNA extraction from alkaline soil and sediment samples for constructing metagenomic libraries. *Applied Biochemistry and Biotechnol.* 165:454–464. doi: 10.1007/ s12010-011-9264-5.