



Identifikasi Molekuler dan Variasi Genetik Rumput Laut *Halimeda* sp. di Perairan Tapanuli Tengah, Sumatera Utara

Molecular Identification and Genetic Variation of Seaweed *Halimeda* sp. in the Waters of Tapanuli Tengah, North Sumatra

Harya Bimasuci¹, Cecilya Novita Silaen¹, Astrid Fauzia Dewinta¹, Amanatul Fadhilah¹, Nur Rohim¹, Nurasiah Riza¹, Akhmad Rasyid Redha², Karla Amelia³

¹Manajemen Sumber Daya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia 20155

²Teknologi Budidaya Perikanan, Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan, Politeknik Negeri Pontianak, Putussibau, Indonesia 78716

³Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji, Tanjungpinang, Indonesia 29111

Info Artikel:

Diterima: 28 September 2025

Revisi: 26 Oktober 2025

Disetujui: 6 April 2026

Dipublikasi: 29 Mei 2026

Kata Kunci:

DNA Barcoding, Filogenetik, *Halimeda* sp., Tapanuli Tengah, tufA

Penulis Korespondensi:

Harya Bimasuci

Manajemen Sumber Daya Perairan,

Fakultas Pertanian, Universitas

Sumatera Utara, Medan, Indonesia

20155

Email: harya@usu.ac.id



This is an open access article under the [CC-BY-NC-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/) license.

Copyright © 2026 by Authors.

Published by Program Studi

Manajemen Sumberdaya Perairan

Universitas Maritim Raja Ali Haji.

How to cite this article:

Bimasuci, H., Silaen, C. N., Dewinta, A. F., Fadhilah, A., Rohim, N., Riza, N., Redha, A. R., & Amelia, K. (2026). Identifikasi Molekuler dan Variasi Genetik Rumput Laut *Halimeda* sp. di Perairan Tapanuli Tengah, Sumatera Utara. *Jurnal Akuatiklestari*, 9(2), 162-171. <https://doi.org/10.31629/akuatiklestari.v9i2.7710>

1. PENDAHULUAN

Perairan Indonesia memiliki potensi besar dalam mendukung keberagaman hayati laut, salah satunya adalah rumput laut dari genus *Halimeda*. Rumput laut ini memainkan peran penting dalam ekosistem terumbu karang tropis, baik secara ekologis maupun ekonomis (FAO, 2022). Secara ekologis, *Halimeda* berfungsi sebagai produsen primer yang mendukung rantai makanan laut dan berkontribusi dalam pembentukan sedimen karbonat, yang memperkuat struktur terumbu karang (Hillis-Colinvaux, 1980; Rees et al., 2007). Selain itu, *Halimeda* juga menyediakan habitat dan tempat perlindungan bagi berbagai biota laut, seperti bulu babi, krustasea, dan moluska kecil, yang menjadikannya sebagai

bagian integral dalam menjaga keseimbangan ekosistem pesisir (Handayani, 2019). Secara ekonomis, *Halimeda* memiliki potensi besar dalam industri farmasi, kosmetik, dan pangan fungsional, karena kandungan senyawa bioaktifnya seperti flavonoid, terpenoid, dan saponin yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri (Basir et al., 2016; Basir et al., 2017).

Meskipun demikian, keanekaragaman spesies *Halimeda* di Indonesia, khususnya di wilayah Sumatera Utara, masih kurang dipahami. Meskipun beberapa spesies *Halimeda* seperti *Halimeda opuntia* dan *Halimeda macroloba* telah ditemukan di berbagai perairan Indonesia, data terkait keberadaan dan variasi genetik spesies ini di perairan Sumatera Utara, khususnya di Tapanuli Tengah, masih terbatas (Basyuni et al., 2024). Pengetahuan yang terbatas tentang spesies ini menjadi hambatan dalam upaya konservasi dan pengelolaan sumber daya laut yang berkelanjutan di wilayah tersebut (Rimmer et al., 2021). Oleh karena itu, penelitian ini berfokus untuk mengidentifikasi spesies *Halimeda* dan mengungkap variasi genetiknya di perairan Tapanuli Tengah menggunakan pendekatan morfologi dan molekuler melalui metode DNA *barcoding*.

DNA *barcoding* adalah metode identifikasi molekuler yang menggunakan sekuen gen pendek sebagai penanda spesifik untuk mengidentifikasi spesies secara cepat dan akurat. Metode ini semakin banyak digunakan dalam penelitian keanekaragaman hayati karena keakuratannya dalam mengidentifikasi spesies, terutama pada kelompok organisme yang memiliki kesamaan morfologi namun berbeda secara genetik, seperti pada rumput laut (Hebert et al., 2003; Kasanah et al., 2021). Beberapa penelitian sebelumnya juga telah menggunakan DNA *barcoding* untuk mengidentifikasi spesies *Halimeda* di berbagai wilayah, termasuk penelitian oleh Kasanah et al. (2021), Ximenes et al. (2017), dan Dijoux et al. (2012), yang menggunakan gen plastid *tufA* untuk membedakan spesies *Halimeda* yang memiliki morfologi serupa. Penelitian oleh Pongparadon et al. (2015) juga menunjukkan keberhasilan penggunaan DNA *barcoding* dalam identifikasi alga hijau, termasuk *Halimeda*, di perairan Asia Tenggara.

Dalam hal ini, penanda gen plastid *tufA* dipilih sebagai markah molekuler untuk identifikasi *Halimeda* karena sifatnya yang konservatif namun cukup bervariasi pada tingkat spesies, sehingga dapat membedakan spesies yang sulit dibedakan hanya berdasarkan morfologi (Famà et al., 2002; Vieira et al., 2016). Penelitian sebelumnya oleh Vieira et al. (2016) dan Pongparadon et al. (2015) juga membuktikan bahwa gen *tufA* memberikan resolusi tinggi dalam analisis hubungan kekerabatan berbagai jenis *Halimeda* di wilayah Indo-Pasifik, bahkan di antara spesies yang memiliki bentuk morfologi yang sangat mirip.

Selain itu, variasi genetik antar spesies *Halimeda* dapat memberikan informasi penting terkait hubungan kekerabatan dan keragaman genetik yang ada di perairan Tapanuli Tengah. Pengetahuan tentang variasi genetik ini tidak hanya bermanfaat untuk pemahaman taksonomi dan filogeni *Halimeda*, tetapi juga untuk mendukung pengelolaan sumber daya laut secara berkelanjutan dan berbasis ilmiah (Neiva et al., 2023). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *Halimeda* yang ada di perairan Tapanuli Tengah dan menganalisis variasi genetik serta hubungan kekerabatannya menggunakan metode DNA *barcoding* dengan penanda gen *tufA*. Data yang diperoleh diharapkan dapat memperkaya informasi mengenai keanekaragaman hayati laut di Sumatera Utara dan mendukung upaya konservasi serta pemanfaatan *Halimeda* secara berkelanjutan di wilayah tersebut.

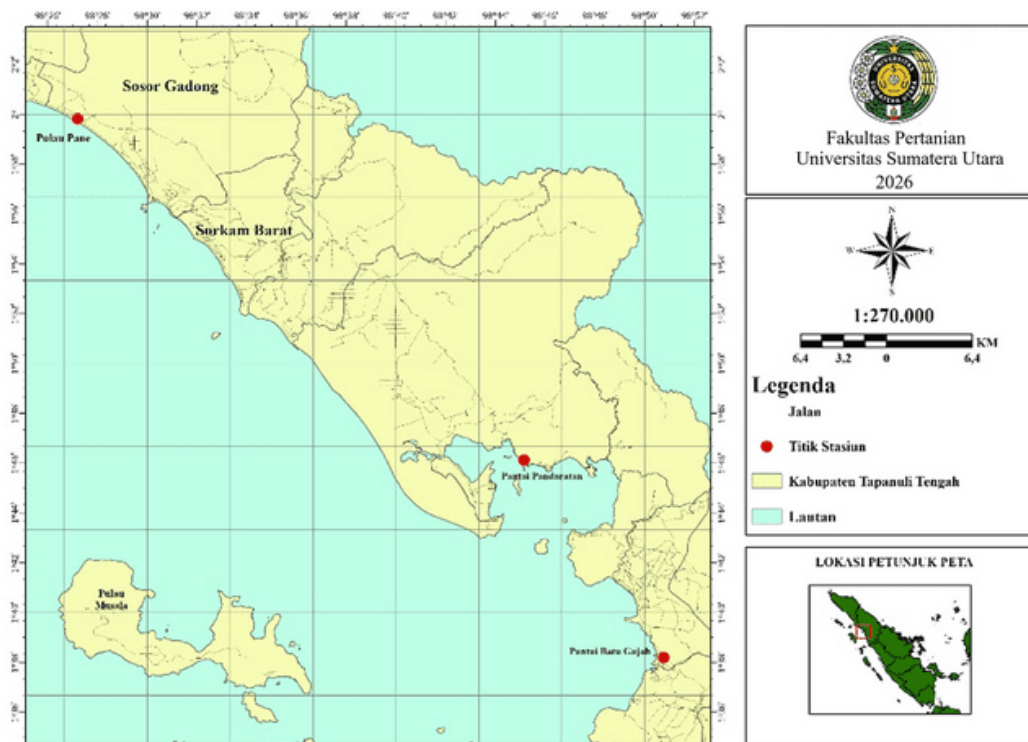
2. BAHAN DAN METODE

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember 2024 di perairan Tapanuli Tengah, Sumatera Utara. Peta lokasi penelitian disajikan pada Gambar 1. Pengambilan sampel dilakukan di tiga lokasi berbeda yang dipilih berdasarkan keanekaragaman hayati dan representasi perairan pesisir di wilayah tersebut. Lokasi pertama berada di Pulau Pane, Kecamatan Sosorgadong (3°42'34.0"S 98°40'20.2"E), yang dikenal dengan keberagaman biota laut dan kedalamannya yang relatif dangkal. Lokasi kedua terletak di Pantai Pandaratan, Kecamatan Tapanuli Tengah (3°46'12.7"S 98°41'04.1"E), yang memiliki perairan dengan kondisi terumbu karang yang cukup baik dan menjadi habitat bagi berbagai jenis rumput laut. Lokasi ketiga berada di Pantai Batu Gajah, Kecamatan Pandan (3°54'15.6"S 98°47'19.3"E), yang juga merupakan wilayah dengan potensi keanekaragaman hayati laut yang kaya. Ketiga lokasi ini dipilih dengan tujuan untuk mendapatkan sampel yang representatif dari kondisi perairan yang berbeda di Tapanuli Tengah.

2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini mencakup milimeterblok, gunting, sikat, *tissue*, penggaris, masker, sarung tangan, *notebook*, serta spidol permanen untuk pencatatan. Selain itu, karung goni, botol, dan aluminium foil digunakan untuk pengumpulan dan penyimpanan sampel rumput laut. Untuk analisis laboratorium, digunakan *autoclave*, *sentrifuge* (Thermo Scientific), *vortex* (Thermo Scientific), *micropipet* (D-Lab), dan *PCR tube*. Mesin PCR konvensional (Biorad) digunakan untuk proses PCR sampel. Proses gel elektroforesis dilakukan dengan alat *Submarine Electrophoresis System* (Mupid ExU) untuk verifikasi hasil amplifikasi DNA, sementara *laminar air flow* dan *UV transilluminator* digunakan untuk visualisasi hasil gel elektroforesis. Perangkat lunak MEGA XI digunakan untuk analisis filogenetik dan analisis jarak genetik. Bahan yang digunakan meliputi rumput laut *Halimeda* sp., serta reagen dan bahan kimia seperti *GeneAid Genomic DNA Minikit* (GP1, GP2, GP3 Buffer, Elution Buffer, RNase A), alkohol 96%, larutan TAE (*Tris Acetate EDTA*), *Agarose*, *DNA Loading Dye*, dan *DNA Ladder*. *PCR Mastermix* dan primer *tufA-F* serta *tufA-R* juga digunakan dalam amplifikasi DNA, sedangkan *Fluorescein* digunakan sebagai pewarna untuk elektroforesis.



Gambar 1. Peta Lokasi Sampling. (A) Pulau Pane, Kecamatan Sosorgadong; (B) Pantai Pandaratan, Kecamatan Tapan Nauli; (C) Batu Gajah, Kecamatan Pandan.

2.3. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan pengambilan sampel rumput laut *Halimeda* sp. dari tiga lokasi yang telah disebutkan, menggunakan metode random purposive sampling. Pengambilan sampel dilakukan dengan snorkeling di Pantai Pandaratan dan Batu Gajah, serta menyusuri pantai di Pulau Pane untuk memperoleh sampel yang representatif. Setiap sampel yang diambil sepanjang 2-3 cm dari *thallus* yang lebih muda dibersihkan dari kotoran dan benda asing menggunakan sikat, lalu dimasukkan ke dalam botol berisi alkohol 96% untuk konservasi. Setelah itu, sampel yang telah diawetkan dianalisis morfologinya di laboratorium dengan mengamati karakteristik *thallus*, segmen, dan holdfast menggunakan referensi literatur yang ada (Hillis-Colinvaux, 1980).

Untuk identifikasi molekuler, ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *Geneaid Genomic DNA Minikit*. Setelah DNA berhasil diekstraksi, amplifikasi dilakukan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer TufA-F: 5' - TGA AAC AGA AMA WCG TCA TTA TGC -3' dan TufA-R : 5' -CCT TCN CGA ATM GCR AAW CGC -3' (Famà *et al.*, 2002). Profil amplifikasi PCR dilakukan dengan tahapan denaturasi awal pada 94°C selama 4 menit, kemudian diikuti dengan siklus denaturasi pada 94°C selama 45 detik, *annealing* pada 54°C selama 60 detik, dan elongasi pada 72°C selama 60 detik, yang diulang sebanyak 35 siklus. Setelah siklus amplifikasi selesai, dilakukan *post*-elongasi pada 72°C selama 5 menit untuk memastikan seluruh produk DNA telah teramplifikasi dengan baik.

Hasil PCR kemudian diverifikasi menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% untuk memverifikasi amplifikasi yang berhasil. Produk PCR yang berhasil dianalisis lebih lanjut melalui sekuensing untuk memperoleh data urutan genetik. Sekuensing dilakukan dengan Apical Scientific (Singapore) melalui PT. Genetika Science. Hasil sekuensing tersebut kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak MEGA XI (Tamura *et al.*, 2021) untuk membandingkan urutan yang diperoleh dengan database referensi dan membangun pohon filogenetik guna menentukan hubungan kekerabatan antar spesies *Halimeda* sp. yang ditemukan di perairan Tapanuli Tengah.

2.4. Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan melalui dua metode utama: identifikasi morfologi dan identifikasi molekuler. Identifikasi morfologi dilakukan dengan membandingkan sampel yang diperoleh dengan referensi morfologi *Halimeda* sp. yang ada dalam literatur, seperti karakteristik *thallus*, segmen, dan *holdfast*. Sementara itu, identifikasi molekuler dilakukan dengan ekstraksi DNA dari sampel menggunakan *Geneaid Genomic DNA Minikit*. Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan teknik PCR dengan primer tufA. Hasil amplifikasi selanjutnya diverifikasi menggunakan elektroforesis gel agarosa dan disekuensing untuk mendapatkan data genetik yang lebih detail. Data hasil sekuensing kemudian dibandingkan dengan database referensi melalui BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) untuk memastikan spesies dan variasi genetiknya.

2.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari identifikasi morfologi dan molekuler akan dianalisis secara deskriptif dan komparatif. Untuk analisis morfologi, data akan dibandingkan dengan referensi literatur yang ada untuk memastikan identifikasi





yang akurat. Analisis molekuler dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA XI untuk membangun pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor-Joining* dan model *Kimura 2-Parameter*. Jarak genetik antar spesies *Halimeda* sp. yang ditemukan akan dihitung menggunakan metode *pairwise distance*. Analisis filogenetik ini digunakan untuk melihat hubungan kekerabatan antar spesies *Halimeda* yang ada di perairan Tapanuli Tengah dan memberikan gambaran tentang variasi genetik antar populasi *Halimeda* sp.







3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Identifikasi Morfologi

Terdapat tiga komponen utama yang digunakan untuk mengidentifikasi *Halimeda* secara morfologi: penampilan *thallus*, bentuk segmen, dan tipe holdfast. *Thallus Halimeda* terdiri dari rangkaian segmen datar dengan bentuk yang bervariasi, yang dihubungkan oleh nodus, segmen basal, dan holdfast untuk melekat pada substrat (Hillis-Colinvaux, 1980). *Halimeda* memiliki tiga jenis pertumbuhan *thallus*, yaitu tegak (*erect*), gantung (*pendant*), dan menyebar (*sprawling*). Segmen *Halimeda* tersusun oleh filamen yang terorganisasi membentuk segmen, dan bentuk segmen yang umum ditemukan adalah *reniform* (ginjal), *ovate* (oval), *cuneate* (segitiga terbalik), *obovate* (oval terbalik), dan *eliptical-discoid* (cakram). *Holdfast* adalah bagian dari makroalga yang digunakan untuk menempel pada substrat, yang umumnya terdiri dari rhizoid yang membentuk cabang-cabang tidak teratur seperti benang kusut (Hillis-Colinvaux, 1980). Terdapat tiga tipe holdfast pada *Halimeda*, yaitu *bulbous* (menyerupai umbi), *rock-grower* (batu penanam), dan *sprawling* (menyebar). Karakteristik ini diperoleh dari referensi Algaebase (Guiry & Guiry, 2023), Watung et al. (2016), dan Pongparadon et al. (2015) sebagai acuan untuk mengidentifikasi *Halimeda* sp. di ketiga lokasi penelitian. Hasil Identifikasi morfologi disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Morfologi *Halimeda* sp.

Kode Sampel	<i>Thallus</i>	Identifikasi Morfologi
BGH1		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan, berwarna hijau tua-putih, dengan panjang 9,2 cm. • Segmen datar berbentuk jantung. • Holdfast <i>sprawler</i> (menyebar). • Spesies: <i>Halimeda opuntia</i>.
BGH2		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan, berwarna hijau tua dan sedikit, dengan panjang 7,6 cm. • Segmen-segmen tumbuh tidak beraturan. • Holdfast <i>sprawler</i> (menyebar). • Spesies: <i>Halimeda opuntia</i>.
BGH3		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan, berwarna hijau tua, panjang <i>thallus</i> 9 cm. • Segmen tumbuh tidak beraturan dan berbentuk <i>reniform</i> (jantung). • Holdfast <i>sprawler</i> (menyebar). • Spesies: <i>Halimeda opuntia</i>.
BGH4		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> gantung (<i>pendant</i>), berwarna hijau tua, panjang <i>thallus</i> 9,2 cm. • Holdfast <i>rock grower</i> (batu penanam). • Segmen berbentuk <i>cylindrical</i> (silindris). • Spesies: <i>Halimeda gigas</i>.

Kode Sampel	Thallus	Identifikasi Morfologi
PH1		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> gantung tumbuh membentuk kipas, berwarna hijau muda, panjang <i>thallus</i> 7,8 cm. • Holdfast <i>rock grower</i> (batu penanam). • Segmen membentuk <i>cylindrical</i> (silindris). • Spesies: <i>Halimeda gigas</i>.
PH2		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan amorf, panjang <i>thallus</i> 9,8 cm. • Segmen berbentuk <i>cylindrical</i> (silindris). • Berwarna hijau tua keputihan. • Spesies: <i>Halimeda gigas</i>.
PH3		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan, berwarna putih kehijauan, panjang <i>thallus</i> 8,8 cm. • Segmen tumbuh tidak beraturan, memiliki ukuran yg besar. • Spesies: <i>Halimeda gigas</i>.
PNH1		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan tebal, berwarna hijau putih, panjang <i>thallus</i> 8,6 cm. • Segmen berbentuk jantung, cabang-cabangnya padat dan tidak beratur. • Holdfast <i>sprawler</i> (menyebar). • Spesies: <i>Halimeda opuntia</i>.
PNH2		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan amorf, berwarna hijau keputihan, panjang <i>thallus</i> 11 cm. • Segmen berbentuk <i>reniform</i>. • Holdfast <i>sprawler</i> (menyebar). • Spesies: <i>Halimeda opuntia</i>.
PNH3		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Thallus</i> membentuk gumpalan amorf, berwarna hijau keputihan, panjang <i>thallus</i> 11 cm. • Segmen berbentuk <i>reniform</i>. • Holdfast <i>sprawler</i> (menyebar). • Spesies: <i>Halimeda opuntia</i>.

Penelitian ini mengidentifikasi dua spesies *Halimeda*, yaitu *Halimeda opuntia* dan *Halimeda gigas*, di perairan Tapanuli Tengah. Di Pantai Batu Gajah, sampel BGH1–BGH3 yang diklasifikasikan sebagai *Halimeda opuntia* menunjukkan *thallus* berbentuk gumpalan padat dengan segmen reniform, sementara sampel BGH4 yang teridentifikasi sebagai *Halimeda gigas* memiliki *thallus* menggantung dan segmen silindris dengan perlekatan *rock grower*. Di Pantai Pandaratan, sampel PH1–PH3 yang semuanya *Halimeda gigas* menunjukkan *thallus* berbentuk kipas dengan segmen silindris. Di Pulau Pane, sampel PNH1–PNH3 yang teridentifikasi sebagai *Halimeda opuntia* menunjukkan *thallus* gumpalan dengan segmen reniform dan tipe *holdfast sprawling*.

Perbedaan morfologi antara *Halimeda opuntia* dan *Halimeda gigas* terlihat dari bentuk *thallus* dan segmen, serta tipe perlekatan. *Halimeda opuntia* memiliki *thallus* menyebar dengan segmen reniform dan perlekatan *sprawling*, sedangkan

Halimeda gigas memiliki *thallus* menggantung dengan segmen silindris dan perlekatan *rock grower*. Penelitian ini sesuai dengan Hillis-Colinvaux (1980) yang menyatakan bahwa *Halimeda* bisa tumbuh tegak, gantung, atau menyebar, tergantung pada substrat dan kondisi lingkungan. Selain itu, bentuk segmen juga dipengaruhi oleh intensitas cahaya, di mana segmen atas di tempat terang berbentuk reniform, dan segmen bawah lebih kompleks di tempat teduh (Pongparadon et al., 2017). Hasil analisis molekuler dengan gen *tufA* mendukung identifikasi morfologi, memperlihatkan hubungan yang kuat antara morfologi dan adaptasi lingkungan.

Hasil identifikasi morfologi menunjukkan adanya variasi bentuk, ukuran, warna, dan tipe perlekatan pada *thallus Halimeda* yang berbeda di setiap lokasi, yang mendukung klasifikasi awal spesies menjadi *Halimeda opuntia* dan *Halimeda gigas*. Perbedaan morfologi ini menunjukkan bahwa spesies *Halimeda* tumbuh di habitat yang berbeda dan memiliki ciri khas yang dapat digunakan sebagai dasar awal dalam pengelompokan. Namun, karena morfologi *Halimeda* bersifat plastis dan dipengaruhi oleh faktor lingkungan, hasil identifikasi morfologi ini perlu diverifikasi lebih lanjut melalui analisis molekuler.

3.2. Analisis BLAST

Identifikasi molekuler dilakukan dengan pendekatan berbasis sekuens DNA untuk memperkuat hasil identifikasi morfologi. Proses ini diawali dengan tahapan editing dan pensejajaran (*alignment*) sekuens DNA hasil amplifikasi menggunakan MEGA XI, guna memperoleh urutan sekuens yang terbaca jelas. Sekuens yang telah diedit kemudian dianalisis menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada situs *GenBank* NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Hasil analisis BLAST disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil *Basic Local Alignment Search Tool* pada Sampel

Lokasi Sampel	Kode sampel	Spesies	Query Cover (%)	e-Value	Per. Ident (%)	Accession Number (Top match)
Batu Gajah	BGH1	<i>Halimeda opuntia</i>	100	0.0	99,88	KU220843.1
Batu Gajah	BGH2	<i>Halimeda opuntia</i>	96	0.0	100,00	KU220843.1
Batu Gajah	BGH3	<i>Halimeda opuntia</i>	97	0.0	100,00	KU228043.1
Batu Gajah	BGH4	<i>Halimeda gigas</i>	100	0.0	99,51	KT887743.1
Pandaratan	PH1	<i>Halimeda gigas</i>	100	0.0	100,00	KT887743.1
Pandaratan	PH2	<i>Halimeda gigas</i>	100	0.0	100,00	KT887743.1
Pandaratan	PH3	<i>Halimeda gigas</i>	100	0.0	100,00	KT887743.1
Pulau Pane	PNH1	<i>Halimeda opuntia</i>	100	0.0	100,00	KU220843.1
Pulau Pane	PNH2	<i>Halimeda opuntia</i>	95	0.0	100,00	KU220843.1
Pulau Pane	PNH3	<i>Halimeda opuntia</i>	95	0.0	100,00	KU220843.1

Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel dari Pantai Batu Gajah (BGH1–BGH3) yang diklasifikasikan sebagai *Halimeda opuntia* memiliki kemiripan 99,88% - 100%, dengan *query cover* 96 – 100% dibandingkan dengan sekuens referensi *Halimeda opuntia* yang terdapat dalam *GenBank*. Sampel BGH4, yang teridentifikasi sebagai *Halimeda gigas*, menunjukkan kemiripan 99,51% dan *query cover* 100% dibandingkan dengan sekuens referensi *Halimeda gigas* yang terdaftar di *GenBank*. Di Pantai Pandaratan, semua sampel (PH1–PH3) yang teridentifikasi sebagai *Halimeda gigas* memiliki identik (100% *percent identity*) dengan sekuens *Halimeda gigas* yang ada dalam database. Di Pulau Pane, sampel PNH1–PNH3 yang teridentifikasi sebagai *Halimeda opuntia* juga menunjukkan kemiripan identik (100% *percent identity* dengan *query cover* >95, dengan urutan referensi yang sama.

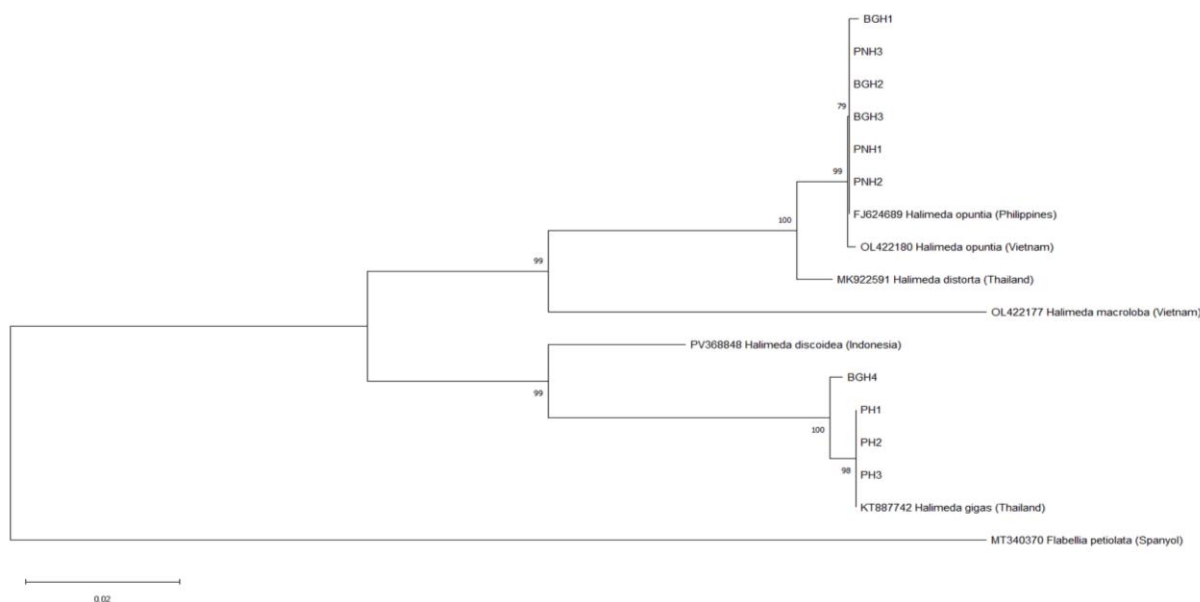
Hasil analisis BLAST mendukung identifikasi morfologi yang dilakukan sebelumnya. Kemiripan yang tinggi antara sekuens sampel dan urutan referensi dalam database menunjukkan bahwa metode DNA barcoding, terutama dengan menggunakan gen *tufA*, efektif dalam mengidentifikasi spesies *Halimeda*. Perbedaan kemiripan yang sedikit lebih rendah pada sampel *Halimeda gigas* di Pantai Batu Gajah (BGH4) dan Pantai Pandaratan (PH1–PH3) kemungkinan disebabkan oleh variasi genetik alami antar populasi atau perbedaan asal geografis yang mempengaruhi urutan genetik.

BLAST juga menunjukkan bahwa spesies *Halimeda opuntia* dan *Halimeda gigas* di perairan Tapanuli Tengah memiliki hubungan genetik yang kuat dengan spesimen lain yang tercatat di database *GenBank*, yang mengonfirmasi kesesuaian hasil identifikasi morfologi dengan data molekuler.

3.3. Analisis Filogenetik dan Jarak Genetik

Hasil analisis filogenetik diperoleh melalui metode *Neighbor-Joining tree* dengan replikasi *bootstrap* 1000 kali dengan *Kimura 2 parameter model* pada *software* MEGA XI disajikan pada Gambar 2. Pohon filogenetik yang dihasilkan dalam penelitian ini menggambarkan hubungan antar sampel *Halimeda* yang diuji dan data sekunder dari *GenBank*. Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel *Halimeda opuntia* yang diperoleh dari Pantai Batu Gajah (BGH1–BGH3) dan Pulau Pane (PNH1–PNH3) membentuk satu klade yang sangat mirip dengan spesimen *Halimeda opuntia* dari Filipina (FJ624689) dan Vietnam (OL422180), yang didukung dengan nilai *bootstrap* mencapai 100%. Hal ini menunjukkan bahwa sampel-sampel tersebut sangat serupa secara genetik, memperkuat dugaan bahwa mereka termasuk dalam satu spesies atau sangat dekat secara filogenetik. Meskipun demikian, variasi haplotipe dalam klade ini mengindikasikan perbedaan genetik yang mungkin dipengaruhi oleh faktor lingkungan, isolasi geografis, dan dinamika arus laut (Kool et al., 2011). Klade kedua,

yang terdiri dari sampel BGH4, PH1, PH2, dan PH3, teridentifikasi sebagai *Halimeda gigas* dengan kemiripan genetik yang sangat tinggi, dimana pada pohon filogenetik ditandai dengan seluruh sampel mengelompok membentuk klade bersama dengan sekuen pembanding *Halimeda gigas* dari Thailand (KT887742). Perbedaan posisi cabang ini secara jelas membedakan *Halimeda gigas* dari *Halimeda opuntia*, menunjukkan bahwa kedua spesies tersebut memiliki garis keturunan yang berbeda (Pongparadon *et al.*, 2015).



Gambar 2. Pohon filogenetik *Neighbor-Joining* pada sampel *Halimeda*.

Hasil filogenetik menunjukkan bahwa sampel *Halimeda opuntia* yang berasal dari Pantai Batu Gajah dan Pulau Pane memiliki kesamaan genetik yang signifikan dengan spesimen *Halimeda opuntia* dari Filipina dan Vietnam, memperlihatkan kedekatan genetik yang sangat kuat dengan nilai *bootstrap* 100%. Variasi haplotipe dalam klade ini, meskipun terisolasi oleh jarak geografis, mencerminkan perbedaan genetik yang disebabkan oleh faktor seperti isolasi geografis dan arus laut yang mempengaruhi penyebaran spesies (Balisco *et al.*, 2023; Limmon *et al.*, 2023). Hal ini juga menunjukkan bahwa meskipun *Halimeda opuntia* tampak memiliki bentuk morfologi yang serupa di berbagai lokasi, perbedaan genetik dapat muncul sebagai akibat dari kondisi ekosistem lokal yang beragam.

Sementara itu, sampel *Halimeda gigas* dari Pantai Pandaratan dan Batu Gajah menunjukkan bahwa meskipun terpisah secara geografis, sampel-sampel ini memiliki haplotipe yang sangat mirip dengan nilai *bootstrap* yang tinggi. Nilai *bootstrap* yang tinggi menunjukkan ranting pohon filogenetik memiliki dukungan keabsahan statistik yang baik, sementara kedekatan posisi ranting dalam satu batang yang sama menunjukkan tingkat konektivitas genetik yang sangat tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua lokasi tersebut terhubung oleh sistem arus laut yang mendukung penyebaran genetik antar populasi tanpa adanya hambatan laut yang signifikan (Verbruggen *et al.*, 2007).

Di sisi lain, *Halimeda opuntia* menunjukkan kedekatan kekerabatan dengan *Halimeda distorta* (GenBank: OL422182), meskipun keduanya berbeda morfologinya. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa meskipun ada perbedaan fisik antara kedua spesies, keduanya masih memiliki hubungan filogenetik yang dekat (Verbruggen *et al.*, 2013), sedangkan *Halimeda macroloba* (OL422177) terpisah dengan jelas dalam klade yang didukung oleh nilai *bootstrap* tinggi (99%), menunjukkan bahwa ia memiliki perbedaan genetik yang signifikan dibandingkan dengan spesies *Halimeda* lainnya, mendukung pemisahan taksonomi yang jelas (Nguyen *et al.*, 2022; Steinhagen *et al.*, 2023).

Setelah diketahui pola kekerabatan antar sampel melalui pohon filogenetik, analisis selanjutnya dilakukan untuk menghitung jarak genetik guna memberikan nilai numerik yang menggambarkan tingkat divergensi genetik, serta berfungsi sebagai pelengkap dan penguat interpretasi terhadap struktur cabang dan pengelompokan yang terbentuk pada pohon filogenetik. Hasil jarak genetik disajikan dalam Tabel 3.

Jarak genetik antar spesimen *Halimeda* dari Perairan Tapanuli Tengah menunjukkan pola kedekatan yang kuat, khususnya pada sampel dari dua lokasi, yaitu Batu Gajah (BGH1–BGH3) dan Pulau Pane (PNH1–PNH3). Ketiga sampel dari masing-masing lokasi memiliki jarak genetik yang sangat kecil, yaitu 0,000 hingga 0,001, yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan genetik yang signifikan antar individu di dalam lokasi tersebut maupun antara lokasi-lokasi tersebut. Hal ini sejalan dengan pernyataan (Verbruggen *et al.*, 2007), yang menunjukkan bahwa spesimen-spesimen ini kemungkinan besar berasal dari populasi yang sama secara genetik dan semuanya teridentifikasi sebagai *Halimeda opuntia*, berdasarkan perbandingan dengan sekuens yang ada di GenBank.

Tabel 3. Hasil Analisis Jarak Genetik *Pairwise* Menggunakan Nilai Kimura-2 Parameter, dengan 1000 *Bootstrap*

	BGH1	BGH2	BGH3	BGH4	PH1	PH2	PH3	PNH1	PNH2	PNH3	H.opu	H.opun	H.gig	H.mac	H.disc	H.dist	OUT GRUP
BGH1 <i>Halimeda opuntia</i>																	
BGH2 <i>Halimeda opuntia</i>	0.001																
BGH3 <i>Halimeda opuntia</i>	0.001	0.000															
BGH4 <i>Halimeda gigas</i>	0.127	0.125	0.125														
PH1 <i>Halimeda gigas</i>	0.128	0.127	0.127	0.005													
PH2 <i>Halimeda gigas</i>	0.128	0.127	0.127	0.005	0.000												
PH3 <i>Halimeda gigas</i>	0.128	0.127	0.127	0.005	0.000	0.000											
PNH1 <i>Halimeda opuntia</i>	0.001	0.000	0.000	0.125	0.127	0.127	0.127										
PNH2 <i>Halimeda opuntia</i>	0.001	0.000	0.000	0.125	0.127	0.127	0.127	0.000									
PNH3 <i>Halimeda opuntia</i>	0.001	0.000	0.000	0.125	0.127	0.127	0.127	0.000	0.000								
FJ624689 <i>H. opuntia</i> (Philippines)	0.001	0.000	0.000	0.125	0.127	0.127	0.127	0.000	0.000	0.000							
OL422180 <i>H. opuntia</i> (Vietnam)	0.003	0.001	0.001	0.125	0.127	0.127	0.127	0.001	0.001	0.001	0.001						
KT887742 <i>H. gigas</i> (Thailand)	0.128	0.127	0.127	0.005	0.000	0.000	0.000	0.127	0.127	0.127	0.127	0.127					
OL422177 <i>H. macroloba</i> (Vietnam)	0.097	0.096	0.096	0.135	0.140	0.140	0.140	0.096	0.096	0.096	0.096	0.096	0.140				
PV368848 <i>H. discoidea</i> (Indonesia)	0.105	0.103	0.103	0.056	0.058	0.058	0.058	0.103	0.103	0.103	0.103	0.103	0.058	0.121			
MK922591 <i>H. distorta</i> (Thailand)	0.013	0.011	0.011	0.126	0.127	0.127	0.127	0.011	0.011	0.011	0.011	0.013	0.127	0.096	0.103		
Outgrup MT340370 <i>Flabellia petiolate</i> (Spanyol)	0.238	0.236	0.236	0.230	0.230	0.230	0.230	0.236	0.236	0.236	0.236	0.238	0.230	0.256	0.220	0.227	

Jarak genetik antara spesimen *Halimeda opuntia* dari Batu Gajah (BGH1–BGH3) dan Pulau Pane (PNH1–PNH3) dengan spesimen *Halimeda opuntia* dari Filipina (FJ624689) dan Vietnam (OL422180) berkisar antara 0,000 hingga 0,127. Nilai ini tergolong rendah, yang mengindikasikan adanya kedekatan genetik antar populasi meskipun terpisah secara geografis. Hal ini memperkuat pemahaman bahwa *Halimeda opuntia* memiliki distribusi luas di kawasan Indo-Pasifik dan tetap mempertahankan identitas genetik yang stabil (Pongparadon et al., 2015; Verbruggen et al., 2005). Kesesuaian genetik ini juga tercermin dalam pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan yang erat antar spesimen tersebut, yang didukung dengan nilai *bootstrap* yang tinggi.

Selain itu, spesimen *Halimeda gigas* dari lokasi Batu Gajah dan Pantai Pandaratan menunjukkan jarak genetik yang sangat rendah terhadap spesimen *Halimeda gigas* dari Thailand (KT887742), dengan nilai jarak genetik 0,005 hingga 0,007. Ini menunjukkan bahwa spesimen ini sangat berkerabat dekat dan kemungkinan berasal dari populasi yang sama, atau ada aliran gen antar wilayah. Hal ini sesuai dengan temuan Pongparadon et al. (2015), yang menyatakan bahwa *Halimeda gigas* tersebar luas di kawasan Indo-Pasifik tropis, khususnya di perairan dangkal yang memiliki kondisi oseanografi serupa.

Perbandingan genetik antara *Halimeda opuntia* dan *Halimeda gigas* menunjukkan jarak genetik sebesar 0,127, yang tergolong tinggi dalam analisis molekuler. Hal ini mengonfirmasi bahwa kedua spesies ini tidak berasal dari satu garis keturunan yang sama meskipun berada dalam genus yang sama (Nguyen et al., 2022). Verbruggen et al. (2005) menjelaskan bahwa perbedaan jarak genetik antar spesies dalam *Halimeda* bisa mencapai 0,160, yang menunjukkan adanya perbedaan genetik yang cukup signifikan antara spesies-spesies yang berbeda dalam genus tersebut, baik dalam hal morfologi, habitat, maupun distribusi geografis.

Sementara itu, *Halimeda opuntia* dan *Halimeda macroloba* memiliki nilai jarak genetik yang cukup tinggi, yaitu antara 0,096 hingga 0,140. Nilai ini berada jauh di atas ambang batas perbedaan antar spesies yang umumnya digunakan dalam studi molekuler alga hijau, yaitu $\geq 0,04$ atau 4% (Cui et al., 2022). Perbedaan ini menunjukkan bahwa meskipun *Halimeda opuntia* dan *Halimeda macroloba* memiliki kemiripan morfologi dalam beberapa aspek, keduanya telah mengalami divergensi genetik yang cukup lama, sehingga mereka tidak lagi berasal dari garis keturunan yang sama.

Jarak genetik antara *Halimeda opuntia* dan *Halimeda distorta* menunjukkan kedekatan yang cukup besar. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua spesies ini mungkin memiliki kesamaan morfologi, terutama pada bentuk segmen yang kadang tumpang tindih, seperti bentuk oval pada *Halimeda opuntia* dan segmen berliku pada *Halimeda distorta*, yang dapat menyebabkan ambiguitas dalam identifikasi lapangan jika hanya mengandalkan morfologi (Hillis-Colinvaux, 1980; Kooistra & Verbruggen, 2005; Verbruggen et al., 2005). Kedekatan genetik ini kemungkinan mencerminkan proses evolusi divergen yang belum terlalu lama berlangsung, atau variasi lokal yang disebabkan oleh tekanan lingkungan yang serupa.

4. SIMPULAN

Penelitian ini mengidentifikasi spesies *Halimeda* dari Perairan Tapanuli Tengah menggunakan gen plastid tufA, dengan sampel BGH1, BGH2, BGH3, PNH1, PNH2, dan PNH3 teridentifikasi sebagai *Halimeda opuntia*, sedangkan sampel BGH4, PH1, PH2, dan PH3 teridentifikasi sebagai *Halimeda gigas*. Hasil analisis morfologis dan molekuler melalui BLAST menunjukkan bahwa kedua spesies ini memiliki ciri khas yang membedakan, yaitu *Halimeda opuntia* dengan *thallus* berbentuk gumpalan padat dan segmen reniform, serta *Halimeda gigas* dengan *thallus* menggantung dan segmen silindris. Analisis gen plastid tufA juga mengungkapkan adanya dua haplotipe yang berbeda secara genetik, dengan jarak genetik antarindividu yang sangat rendah dalam satu spesies (0,000–0,005), namun cukup tinggi antara *Halimeda opuntia* dan *Halimeda gigas* (0,127). Berdasarkan temuan ini, disarankan agar penelitian selanjutnya menggunakan lebih dari satu

penanda genetik (multigenetik), seperti rbcL, ITS, atau 18S rRNA, untuk meningkatkan akurasi identifikasi molekuler dan memberikan gambaran filogenetik yang lebih kuat dan menyeluruh.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai sebagian melalui hibah penelitian Talenta Perintis Fakultas Pertanian USU No. 1/UN5.4.10.K/PT.01.03/TALENТА/RBI/2025 tahun 2025. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Ibu Rosneli dari Fakultas Pertanian USU atas bantuan yang telah diberikan dalam proses isolasi DNA. Penghargaan yang sama juga ditujukan kepada Ibu Angelia Victory Septyawati, Ibu Azro Atiqah Vonna, dan Ibu Dea Putri Ferbina Br. Tarigan atas dukungan mereka selama proses PCR di laboratorium.

6. REFERENSI

- Balisco, R. A. T., Ticzon, V. S., Samaniego, B. R., Huang, W.-C., Gonzales, B. J., & Liao, T.-Y. (2023). Marine fishes of Palawan, Philippines: Species diversity, new records, and conservation status. *Regional Studies in Marine Science*, 60, 102825. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2023.102825>
- Basir, A., Manitiri, D. M. H., & Gerung, G. S. (2016). Antioxidant Activity Test of Total Extract of *Halimeda opuntia* Linnaeus and *Halimeda macroloba* Decaisne from Totok Bay Waters. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 2(1), 30-37.
- Basir, A., Tarman, K., & Desniar, D. (2017). Antibacterial and Antioxidant Activity of Green Algae *Halimeda gracilis* from Seribu Island District. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 211-218. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.17507>
- Basyuni, M., Puspita, M., Rahmania, R., Albasri, H., Pratama, I., Purbani, D., Aznawi, A. A., Mubaraq, A., Al Mustaniroh, S. S., Menne, F., Rahmila, Y. I., Salmo Iii, S. G., Susilowati, A., Larekeng, S. H., Ardli, E., & Kajita, T. (2024). Current biodiversity status, distribution, and prospects of seaweed in Indonesia: A systematic review. *Heliyon*, 10(10), e31073. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31073>
- Cui, J., Chen, C., Tan, H., Huang, Y., Chen, X., Xin, R., Liu, J., Huang, B., & Xie, E. (2022). Taxonomic Delimitation of the Monostromatic Green Algal Genera *Monostroma* Thuret 1854 and *Gayralia* Vinogradova 1969 (Ultrichales, Chlorophyta). *Diversity*, 14(9), 773. <https://doi.org/10.3390/d14090773>
- Dijoux, L., Verbruggen, H., Mattio, L., Duong, N., & Payri, C. (2012). Diversity of *Halimeda* (Bryopsidales, Chlorophyta) in New Caledonia: A Combined Morphological and Molecular Study. *Journal of Phycology*, 48(6), 1465-1481. <https://doi.org/10.1111/jpy.12002>
- Famà, P., Wysor, B., Kooistra, W. H. C. F., & Zuccarello, G. C. (2002). Molecular phylogeny of the genus *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyta) inferred from chloroplast *tufA* gene. *Journal of Phycology*, 38(5), 1040-1050. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.t01-1-01237.x>
- FAO. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2023). *AlgaeBase. World-wide electronic publication, University of Galway*. <https://www.algaebase.org>
- Handayani, T. (2019). Peranan Ekologi Makroalga Bagi Ekosistem Laut. *Oseana*, 44(1), 1-14.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hillis-Colinvaux, L. (1980). Ecology and Taxonomy of *Halimeda*: Primary Producer of Coral Reefs. In *Advances in Marine Biology* (Vol. 17, pp. 1-327). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60303-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60303-X)
- Kasanah, N., Ulfah, M., Nugroho, A., Wijjana, A. P. A., & Triyanto. (2021). *Rumput laut Indonesia: Keanekaragaman rumput laut Nusa Tenggara Timur*. Universitas Gadjah Mada Press.
- Kool, J. T., Paris, C. B., Barber, P. H., & Cowen, R. K. (2011). Connectivity and the development of population genetic structure in Indo-West Pacific coral reef communities. *Global Ecology and Biogeography*, 20(5), 695-706. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00637.x>
- Kooistra, W. H. C. F., & Verbruggen, H. (2005). Genetic patterns in the calcified tropical seaweeds *Halimeda opuntia*, *H-distorta*, *H-hederacea*, and *H-minima* (Bryopsidales, Chlorophyta) provide insights in species boundaries and interoceanic dispersal. *Journal of Phycology*, 41(1), 177-187. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04095.x>
- Limmon, G. V., Masdar, H., Muenzel, D., Shalders, T. C., Djakiman, C., Beger, M., Jompa, J., & De Brauwier, M. (2023). A cause for hope: Largely intact coral-reef communities with high reef-fish biomass in a remote Indonesian island group. *Marine and Freshwater Research*, 74(6), 479-490. <https://doi.org/10.1071/MF22075>
- Neiva, J., Bermejo, R., Medrano, A., Capdevila, P., Milla-Figueras, D., Afonso, P., Ballesteros, E., Sabour, B., Serio, D., Nóbrega, E., Soares, J., Valdazo, J., Tuya, F., Mulas, M., Israel, Á., Sadogurska, S. S., Guiry, M. D., Pearson, G. A., & Serrão, E. A. (2023). DNA barcoding reveals cryptic diversity, taxonomic conflicts and novel biogeographical insights in *Cystoseira* s.l. (Phaeophyceae). *European Journal of Phycology*, 58(3), 351-375. <https://doi.org/10.1080/09670262.2022.2126894>
- Nguyen, T. H., Nguyen Nhat, N. T., Nguyen, X. T., & Nguyen, V. X. (2022). Morphological variation and haplotype diversity of (*Halimeda macroloba*) and (*H. opuntia*) (Chlorophyta: *Halimedaceae*) from Southern Vietnam. *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, 22(2), 165-176. <https://doi.org/10.15625/1859-3097/16689>
- Pongparadon, S., Zuccarello, G. C., Phang, S.-M., Kawai, H., Hanyuda, T., & Prathep, A. (2015). Diversity of *Halimeda* (Chlorophyta) from the Thai-Malay Peninsula. *Phycologia*, 54(4), 349-366. <https://doi.org/10.2216/14-108.1>
- Pongparadon, S., Zuccarello, G. C., & Prathep, A. (2017). High morpho-anatomical variability in *Halimeda macroloba* (Bryopsidales, Chlorophyta) in Thai waters. *Phycological Research*, 65(2), 136-145. <https://doi.org/10.1111/pre.12172>
- Rees, S. A., Opdyke, B. N., Wilson, P. A., & Henstock, T. J. (2007). Significance of *Halimeda* bioherms to the global carbonate budget based on a geological sediment budget for the Northern Great Barrier Reef, Australia. *Coral Reefs*, 26(1), 177-188. <https://doi.org/10.1007/s00338-006-0166-x>
- Rimmer, M. A., Larson, S., Lapong, I., Purnomo, A. H., Pong-Masak, P. R., Swanepoel, L., & Paul, N. A. (2021). Seaweed Aquaculture in Indonesia Contributes to Social and Economic Aspects of Livelihoods and Community Wellbeing. *Sustainability*, 13(19), 10946.

- <https://doi.org/10.3390/su131910946>
- Steinhagen, S., Hoffmann, S., Pavia, H., & Toth, G. B. (2023). Molecular identification of the ubiquitous green algae *Ulva* reveals high biodiversity, crypticity, and invasive species in the Atlantic-Baltic Sea region. *Algal Research*, 73, 103132. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103132>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Verbruggen, H., Clerck, O. D., Schils, T., Kooistra, W. H. C. F., & Coppejans, E. (2005). Evolution and phylogeography of *Halimeda* section *Halimeda* (Bryopsidales, Chlorophyta). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(3), 789-803. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.06.015>
- Verbruggen, H., Leliaert, F., Maggs, C. A., Shimada, S., Schils, T., Provan, J., Booth, D., Murphy, S., De Clerck, O., Littler, D. S., Littler, M. M., & Coppejans, E. (2007). Species boundaries and phylogenetic relationships within the green algal genus *Codium* (Bryopsidales) based on plastid DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(1), 240-254. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.01.009>
- Verbruggen, H., Tyberghein, L., Belton, G. S., Mineur, F., Jueterbock, A., Hoarau, G., Gurgel, C. F. D., & De Clerck, O. (2013). Improving Transferability of Introduced Species' Distribution Models: New Tools to Forecast the Spread of a Highly Invasive Seaweed. *PLoS ONE*, 8(6), e68337. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068337>
- Vieira, H. H., Bagatini, I. L., Guinart, C. M., & Vieira, A. A. H. (2016). *tufA* gene as molecular marker for freshwater Chlorophyceae. *ALGAE*, 31(2), 155-165. <https://doi.org/10.4490/algae.2016.31.4.14>
- Watung, P. M. M., Kepel, R. C., & Lumingas, L. J. L. (2016). The inventory of macroalgae in the Mantehage Island waters, Wori sub-district, North Minahasa district in North Sulawesi Province. *JURNAL ILMIAH PLATAX*, 4(2), 84-108. <https://doi.org/10.35800/jjp.4.2.2016.14077>
- Ximenes, C. F., Cassano, V., De Oliveira-Carvalho, M. D. F., Bandeira-Pedrosa, M. E., Gurgel, C. F. D., Verbruggen, H., & Pereira, S. M. B. (2017). Systematics of the genus *Halimeda* (Bryopsidales, Chlorophyta) in Brazil including the description of *Halimeda jolyana* sp. Nov. *Phycologia*, 56(4), 369-381. <https://doi.org/10.2216/16-77.1>