



SustainaBlue

HEIs stands for Higher Education Institutions

Teknologi dan Inovasi dalam Eksplorasi Keanekaragaman Hayati Laut



Co-funded by
the European Union

Funded by the European Union. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Education and Culture Executive Agency (EACEA). Neither the European Union nor EACEA can be held responsible for them.

Project: 101129136 – SustainaBlue – ERASMUS-EDU-2023-CBHE



PROJECT PARTNERS

Malaysia



Greece



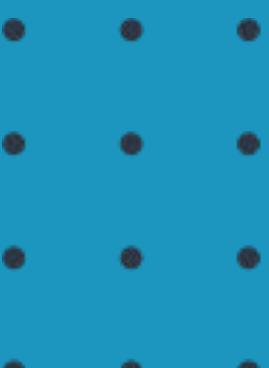
Funded by the European Union. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Education and Culture Executive Agency (EACEA). Neither the European Union nor EACEA can be held responsible for them.

Project: 101129136 – SustainaBlue – ERASMUS-EDU-2023-CBHE

Indonesia



Cyprus





Tujuan

01

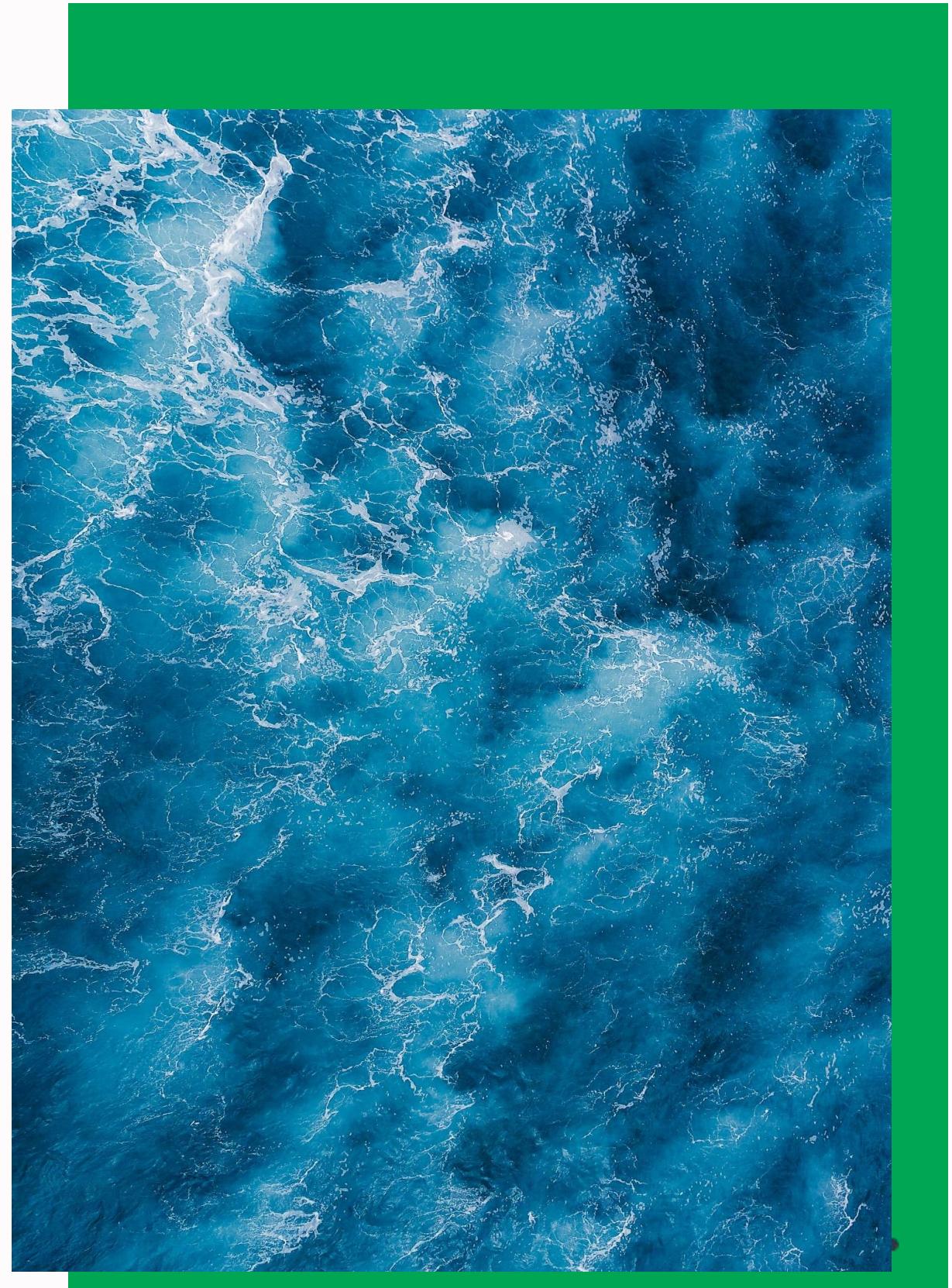
Memahami prinsip-prinsip dasar ilmu omics dan DNA barcoding dalam bioteknologi maritim.

02

Memahami penerapan omics dan DNA barcoding dalam konservasi, perikanan, dan bioprospeksi.

03

Memahami prinsip-prinsip analisis keanekaragaman hayati berdasarkan pendekatan GIS terintegrasi.





Hasil

01

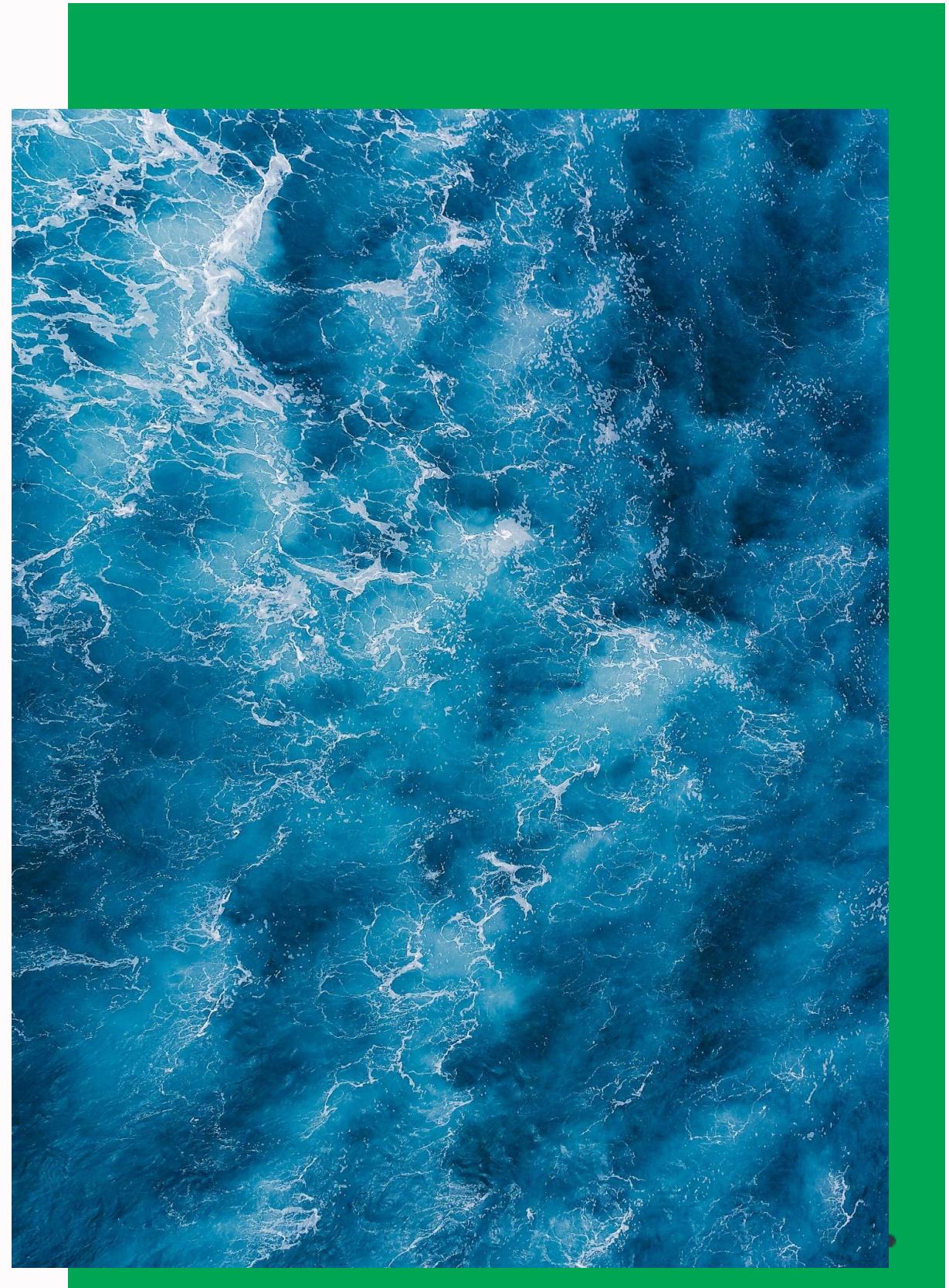
Peserta mampu menjelaskan prinsip-prinsip dasar ilmu omics dan DNA barcoding dalam konteks bioteknologi maritim.

02

Peserta dapat menganalisis penerapan omics dan DNA barcoding dalam konservasi, perikanan, dan bioprospeksi.

03

Peserta mampu mengintegrasikan pendekatan GIS dan ilmu omics dalam analisis keanekaragaman hayati lingkungan laut.





Daftar Isi

01

Pendekatan Omics dalam Bioteknologi Maritim

02

Teknologi Barcoding DNA dalam Identifikasi Spesies dan Analisis Keanekaragaman Hayati

03

Aplikasi Omics dan DNA Barcoding dalam Konservasi, Perikanan, dan Bioprospeksi

04

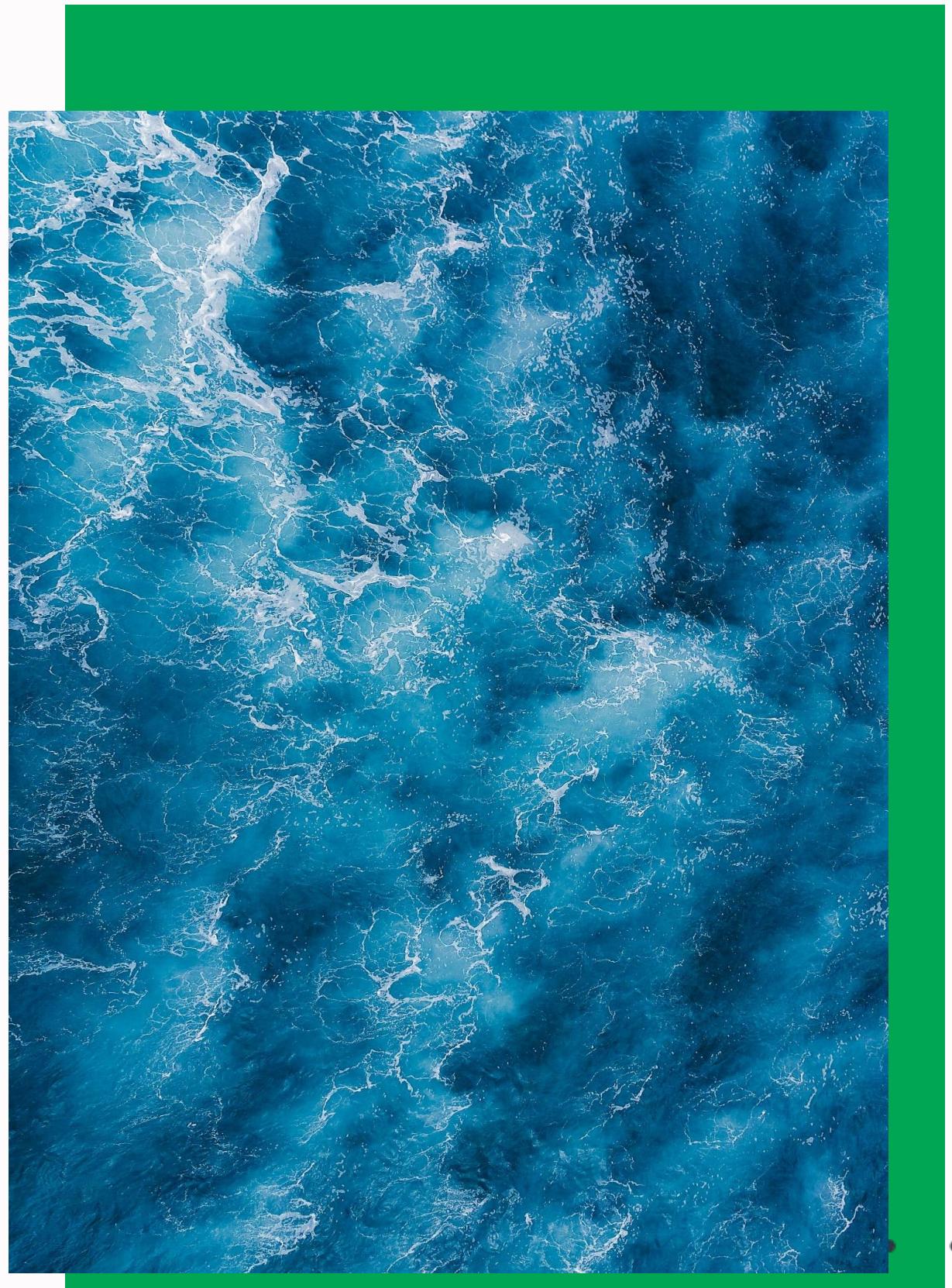
Analisis Keanekaragaman Hayati Terpadu Berbasis GIS

05

Kesimpulan

06

Referensi





SustainaBlue

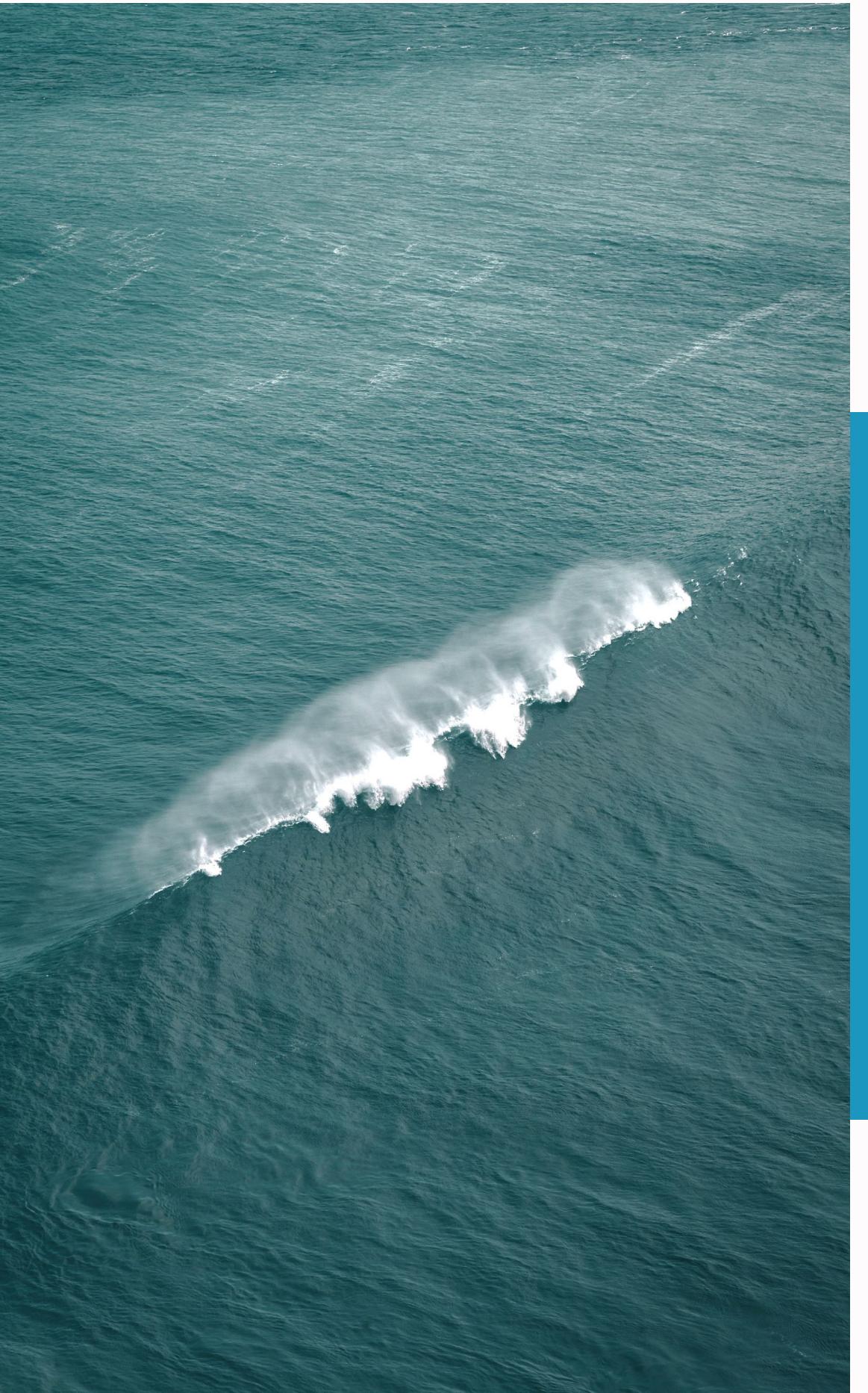
HEIs stands for Higher Education Institutions

01

Pendekatan Omics dalam Bioteknologi Maritim

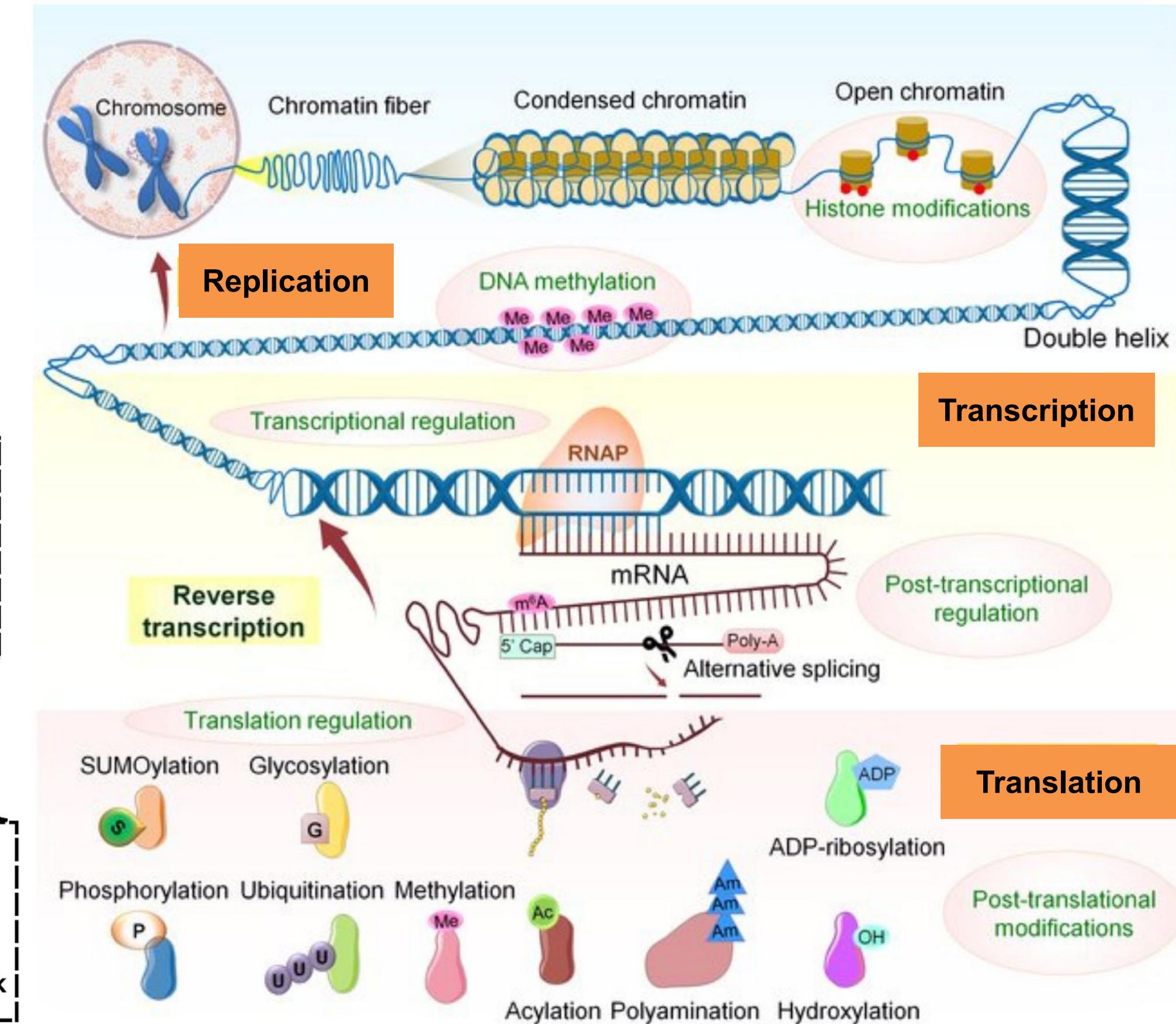
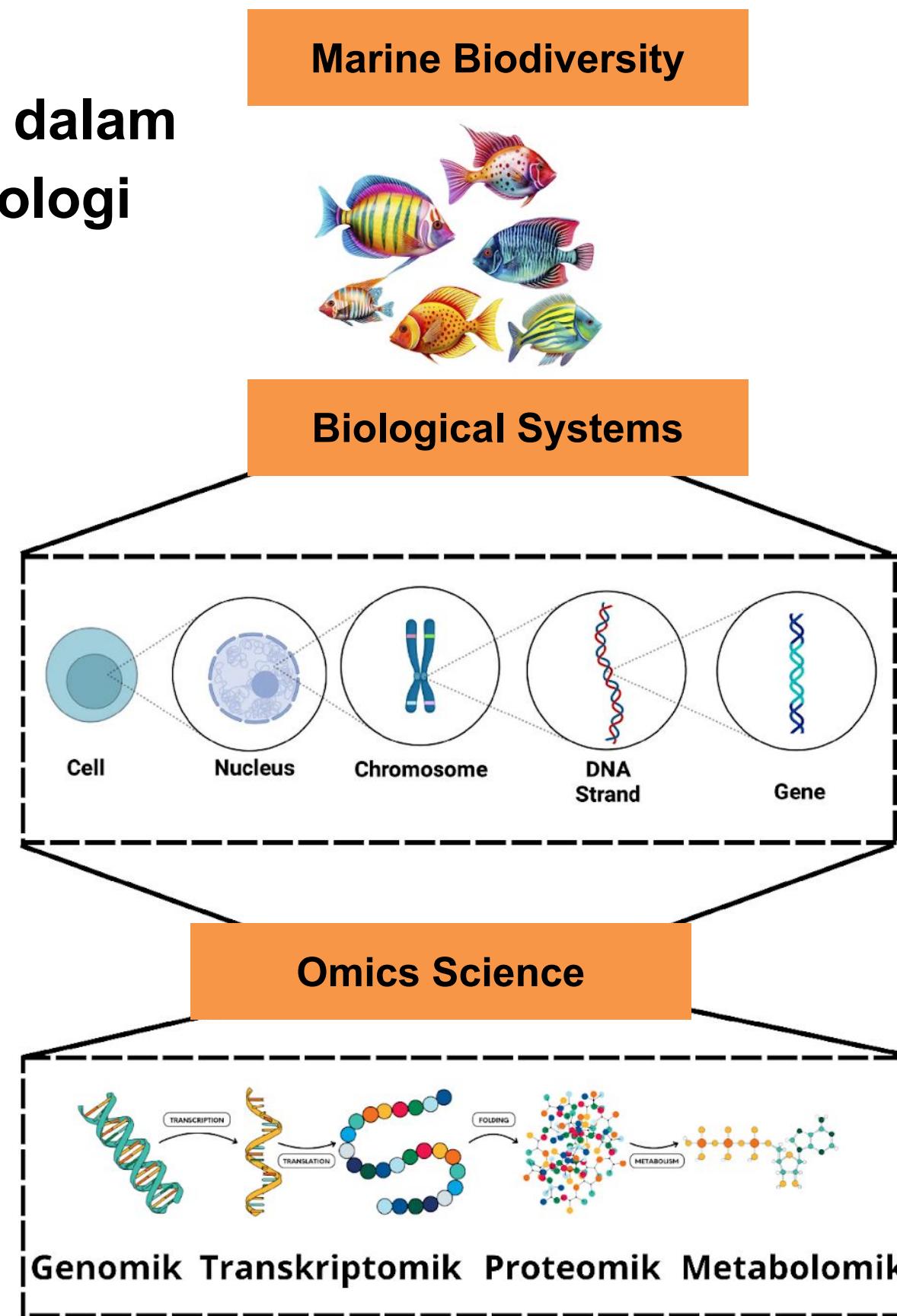


Co-funded by
the European Union



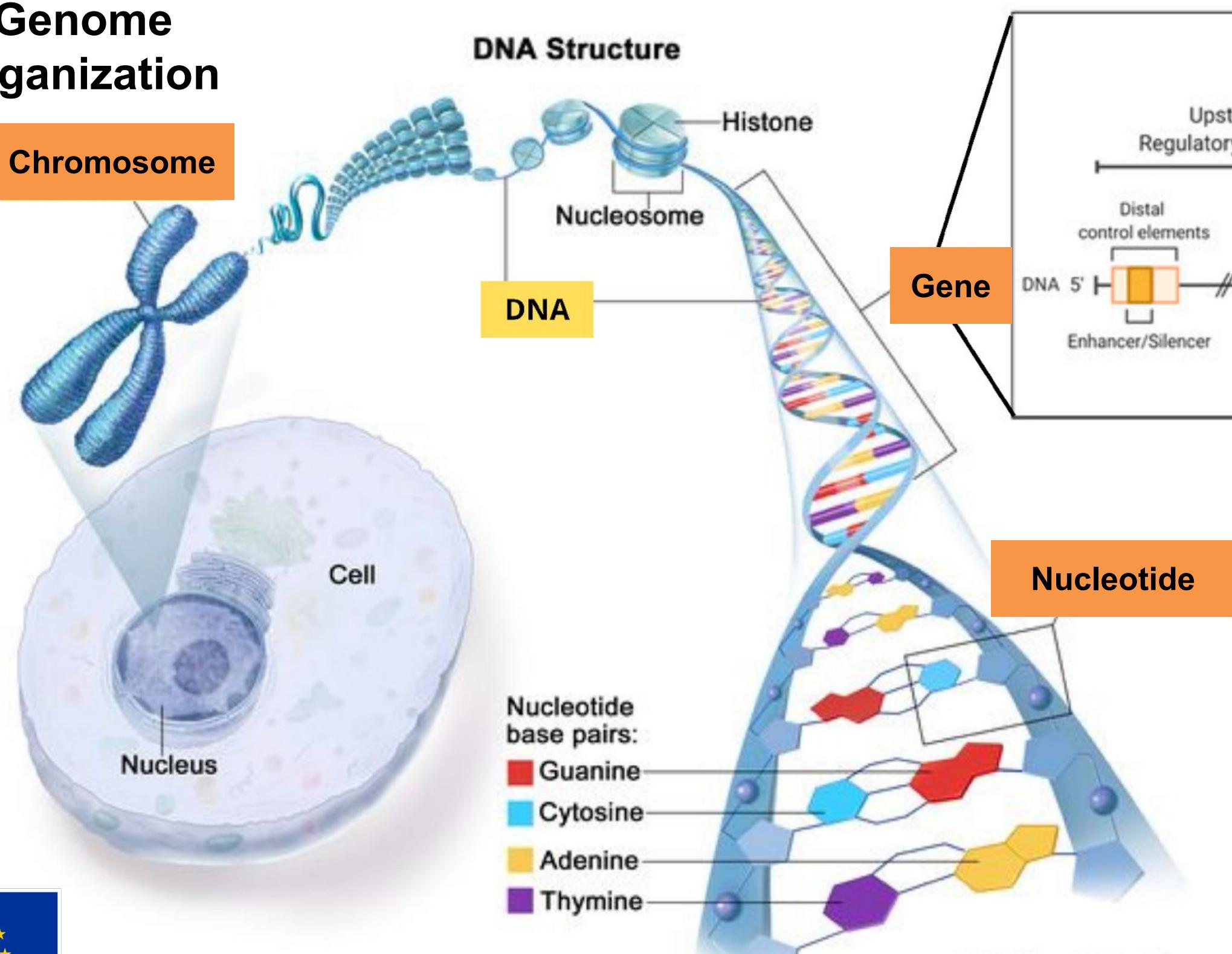
Pengantar Ilmu Omics

Ilmu Omics dalam Sistem Biologi





Genome Organization

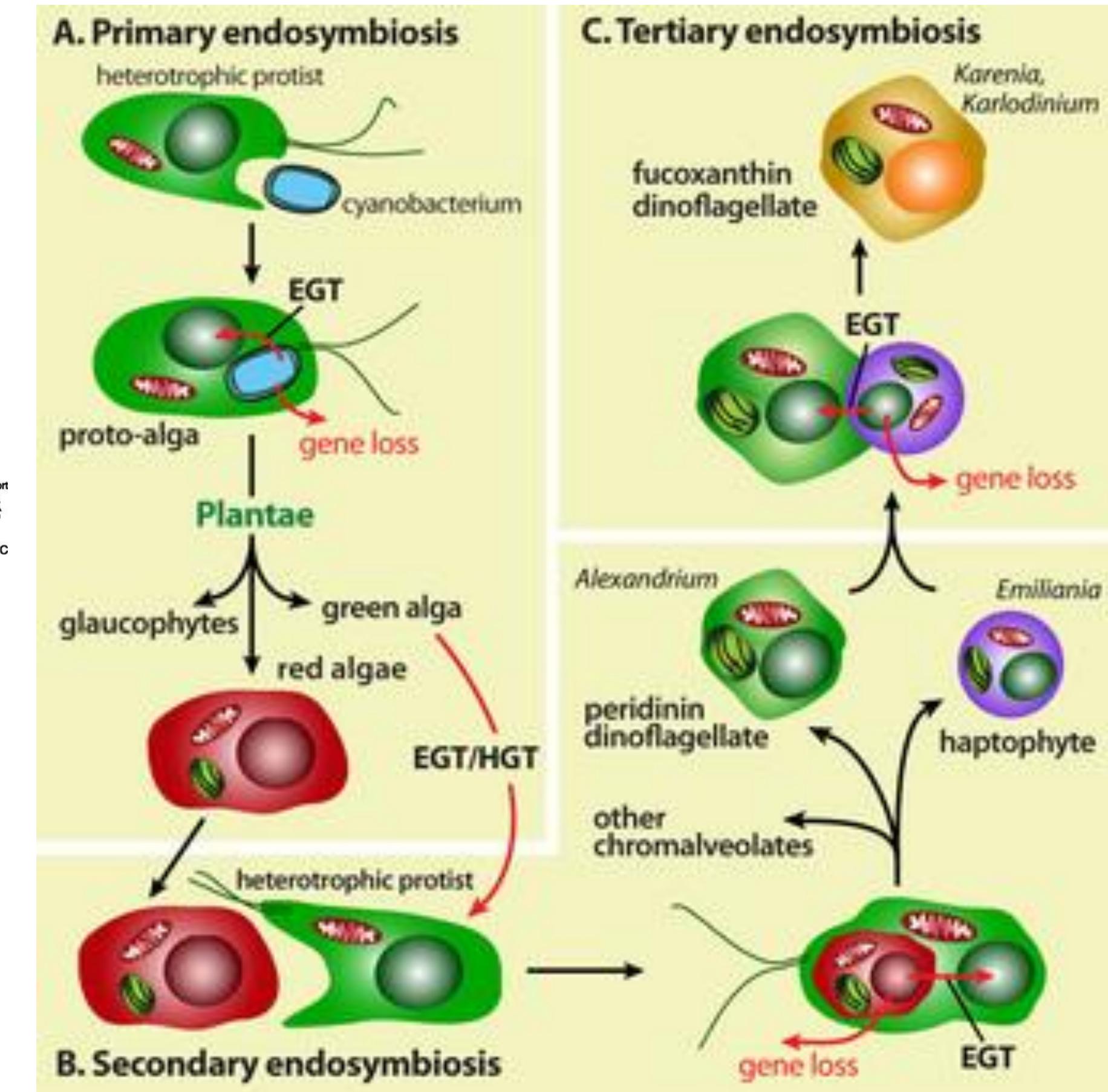
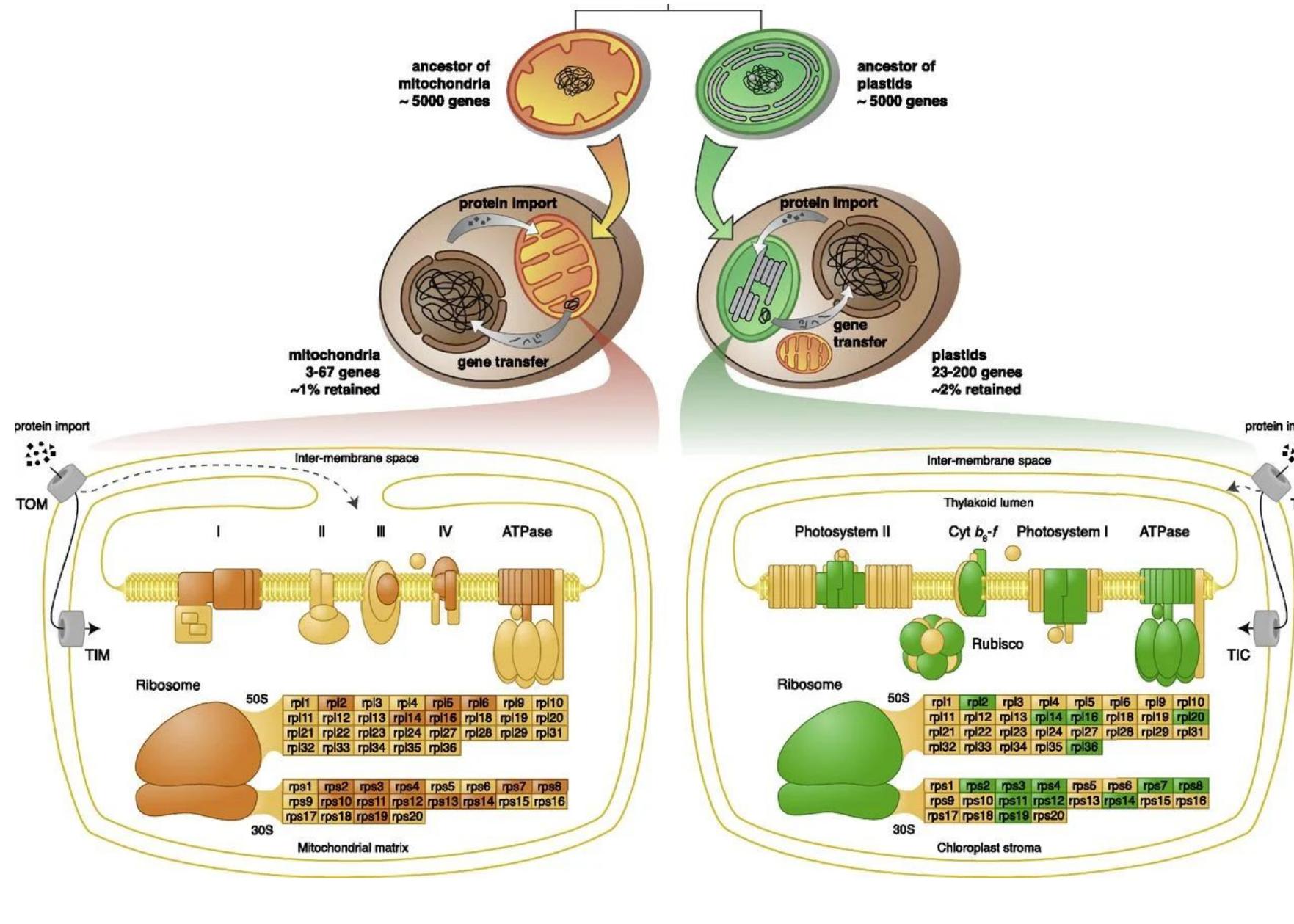


- **Gen** adalah segmen DNA yang mengandung informasi untuk mensintesis molekul protein spesifik, yang menentukan sifat-sifat turun-temurun.
- **Genom** merujuk pada keseluruhan informasi genetik dalam suatu organisme yang dienkode oleh DNA.



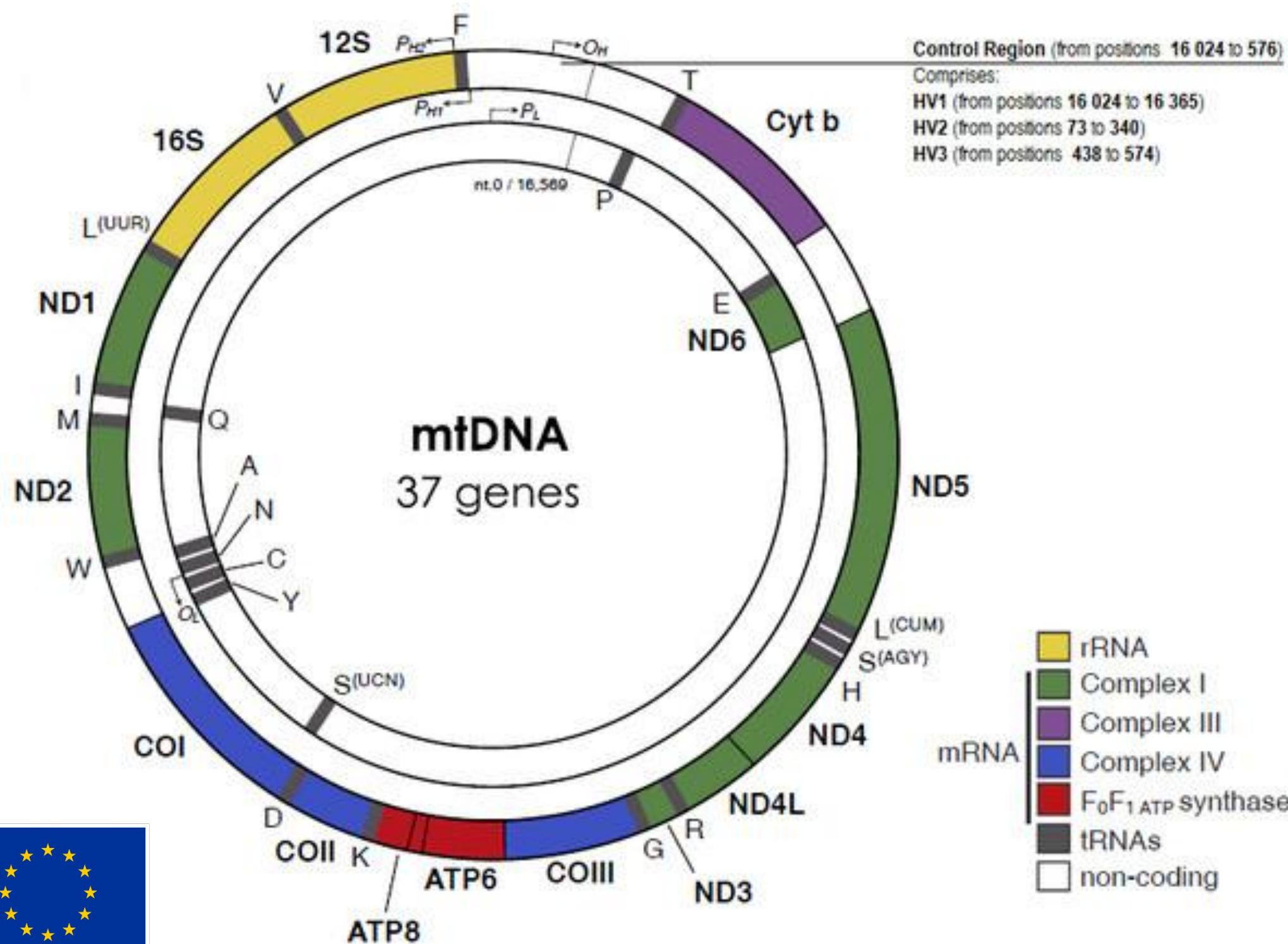
Genomik

Teori Endosimbiosis

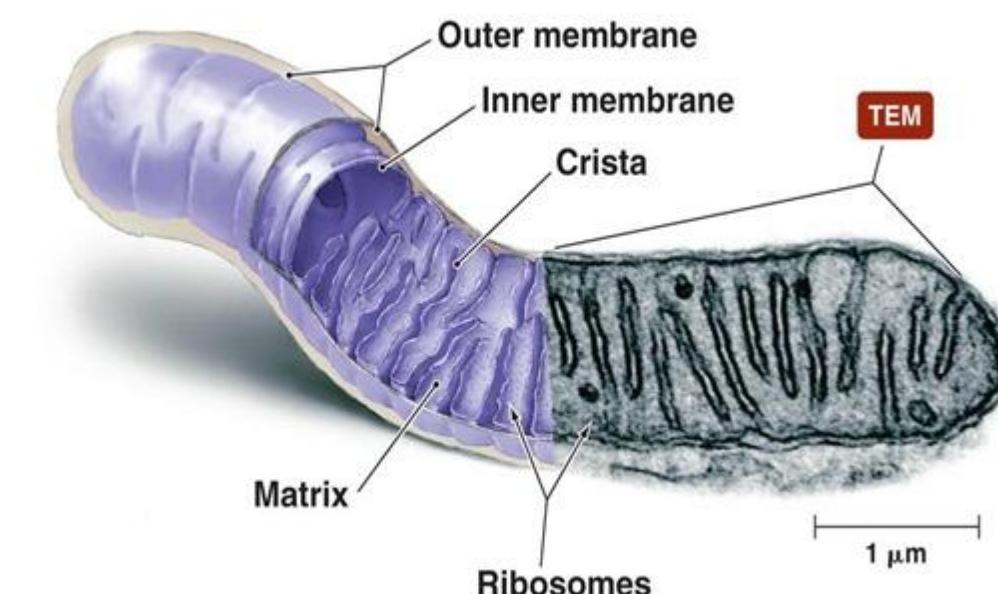




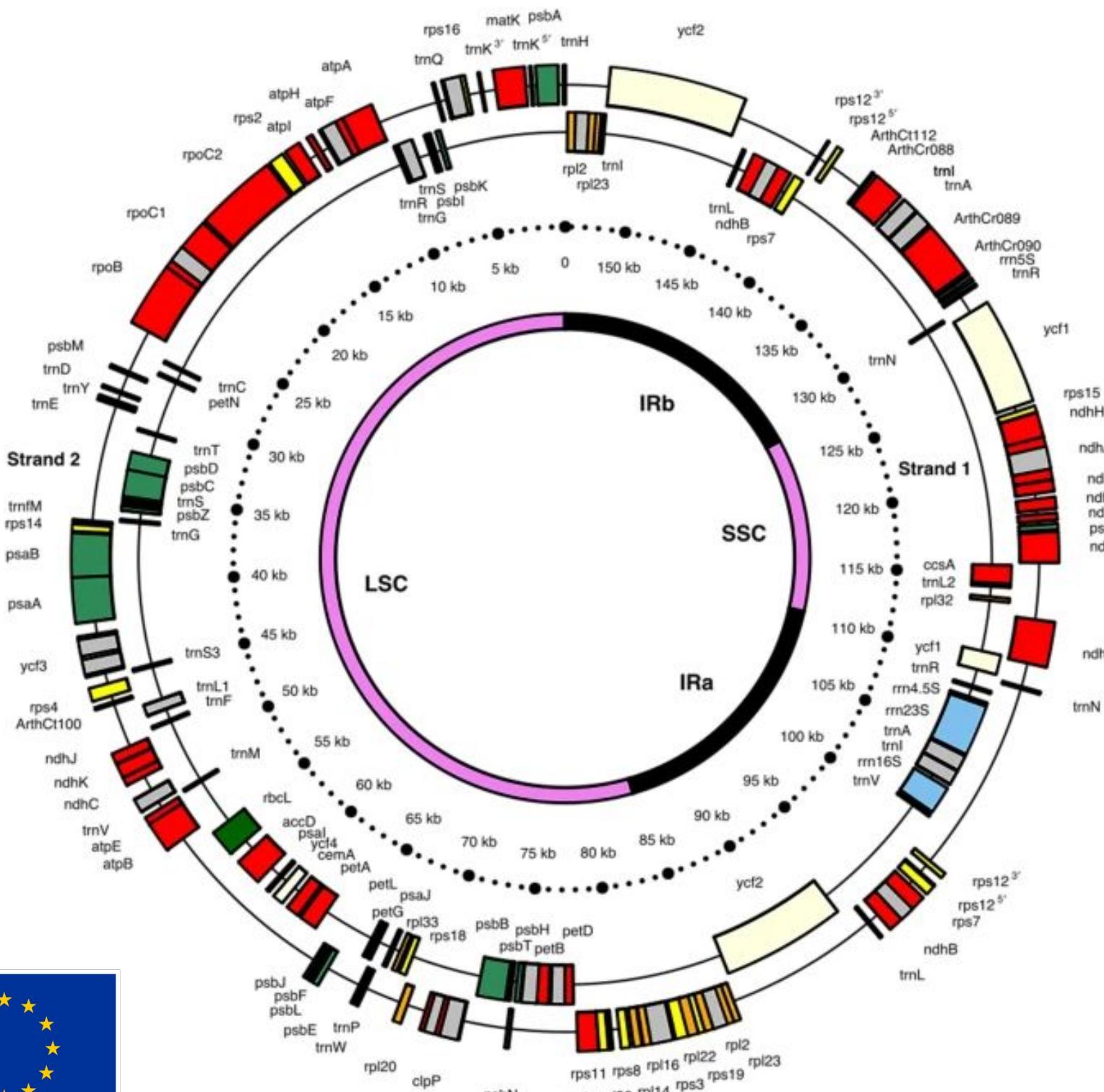
Organelle Genome



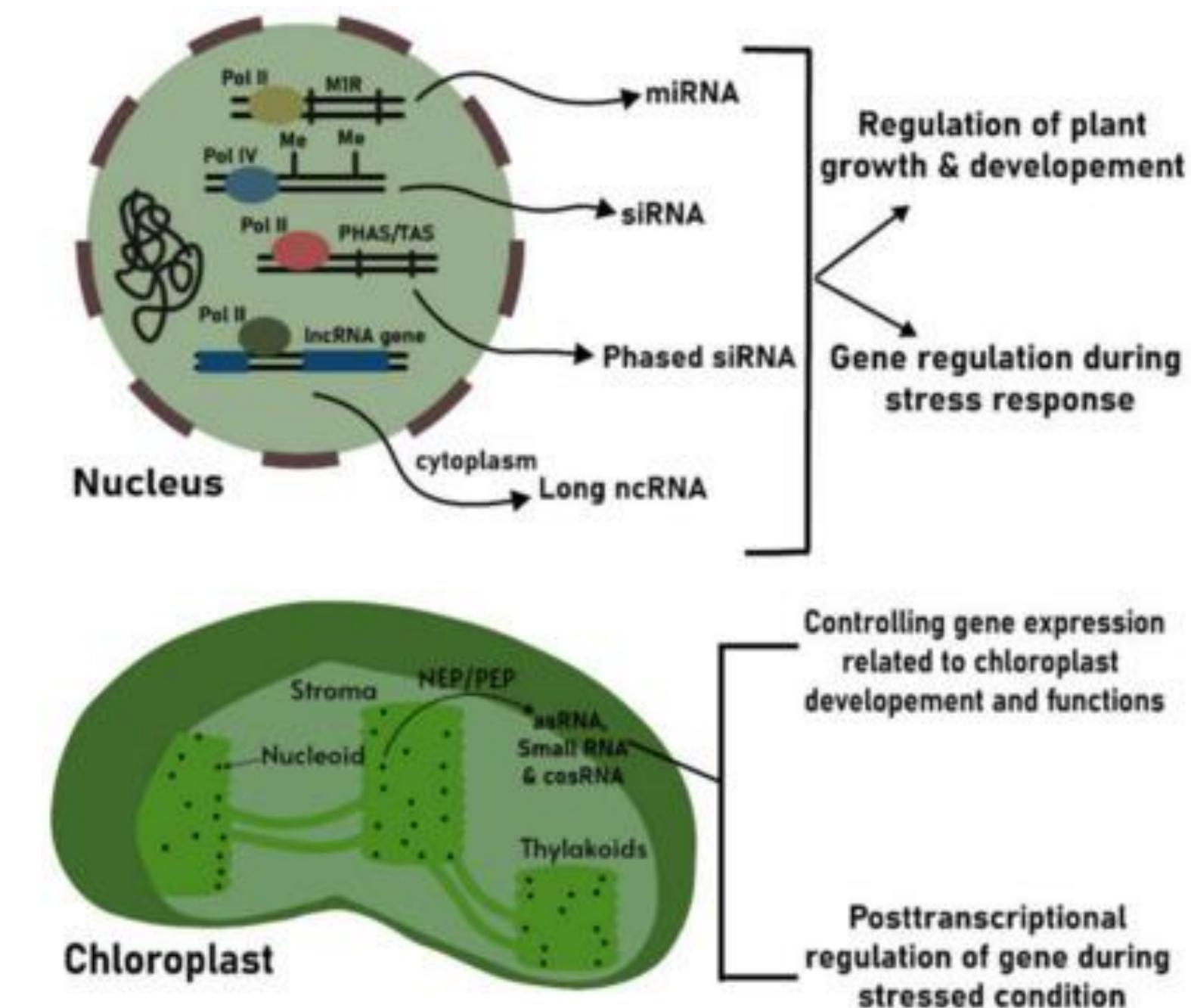
| Nuclear Genome | Mitochondrial Genome |
|---|---|
| 3 billion base pairs (human) | ~16,569 base pairs (human) |
| Linear | Circular |
| Contains histones | Does not contain histones |
| Follows Mendelian inheritance | Follows maternal inheritance |
| ~93% non-coding sequences | ~3% non-coding sequences |
| Follows the universal codon usage rules | Some codons do not follow the universal rules |
| Monocistronic transcription | Polycistronic transcription |
| Replication depends on mitosis | Replication does not depend on mitosis |
| One copy per cell | Multiple copies per cell |



Organelle Genome

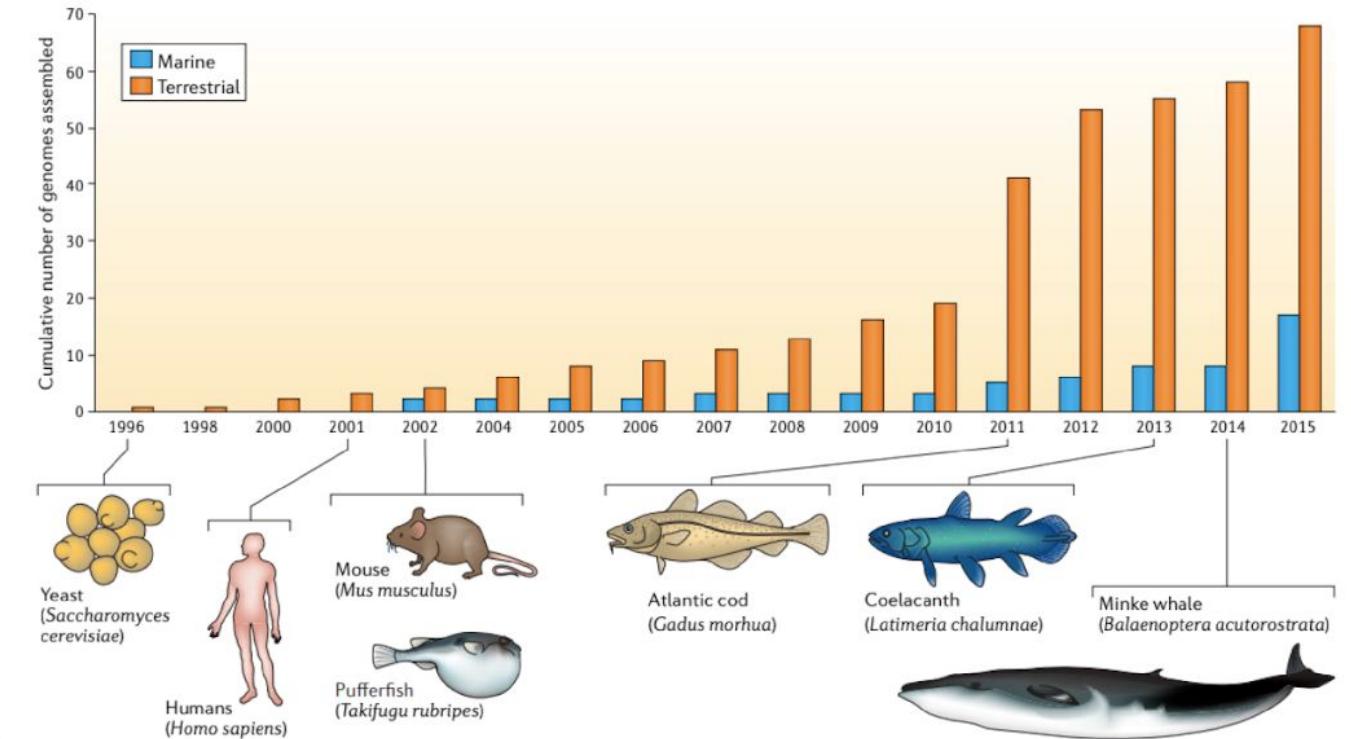
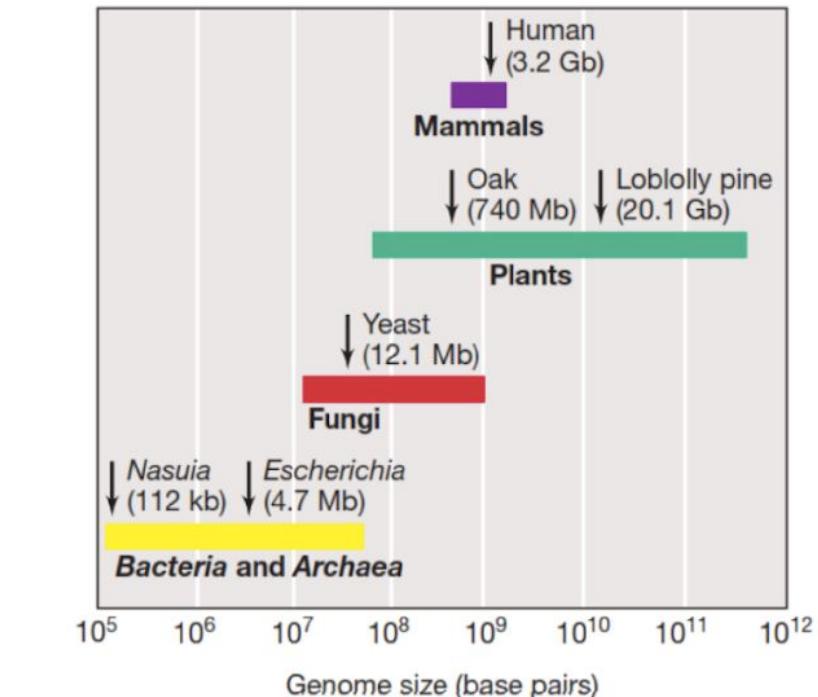
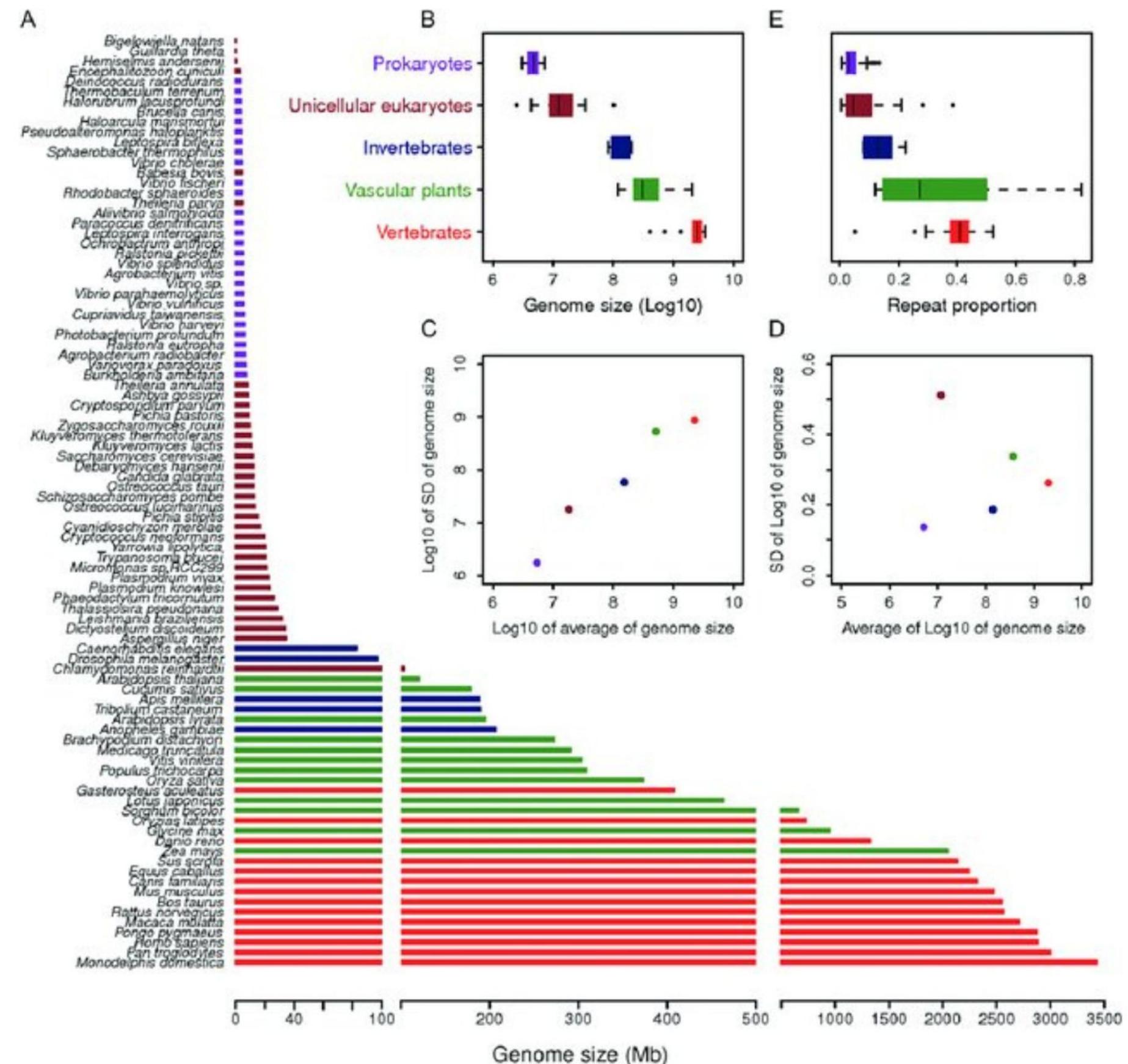


- Semua genom kloroplas yang diketahui berupa molekul DNA melingkar dengan ukuran sekitar 120-160 Kbp. Genom ini mengandung dua wilayah pengulangan terbalik (IR) dengan panjang berkisar antara 6 hingga 76 Kbp, masing-masing mengkodekan salinan ganda dari tiga gen rRNA: 5S, 16S, dan 23S rRNA.





Perbandingan Ukuran Genom



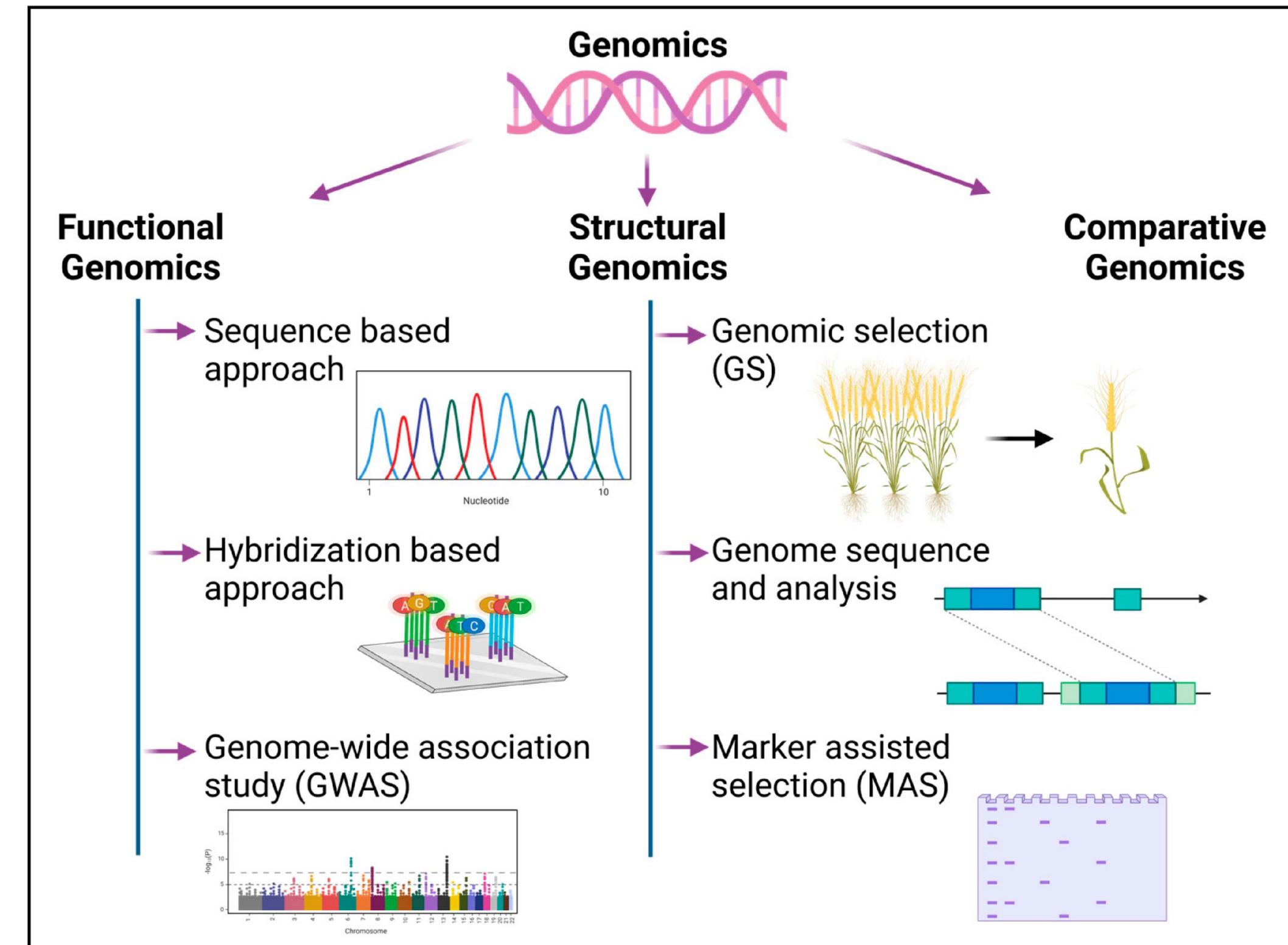
Data perakitan genom dari spesies laut dan darat antara tahun 1996 dan 2015 menunjukkan bahwa jumlah genom referensi untuk spesies laut jauh lebih rendah dibandingkan dengan spesies darat.

Jenis Genomik

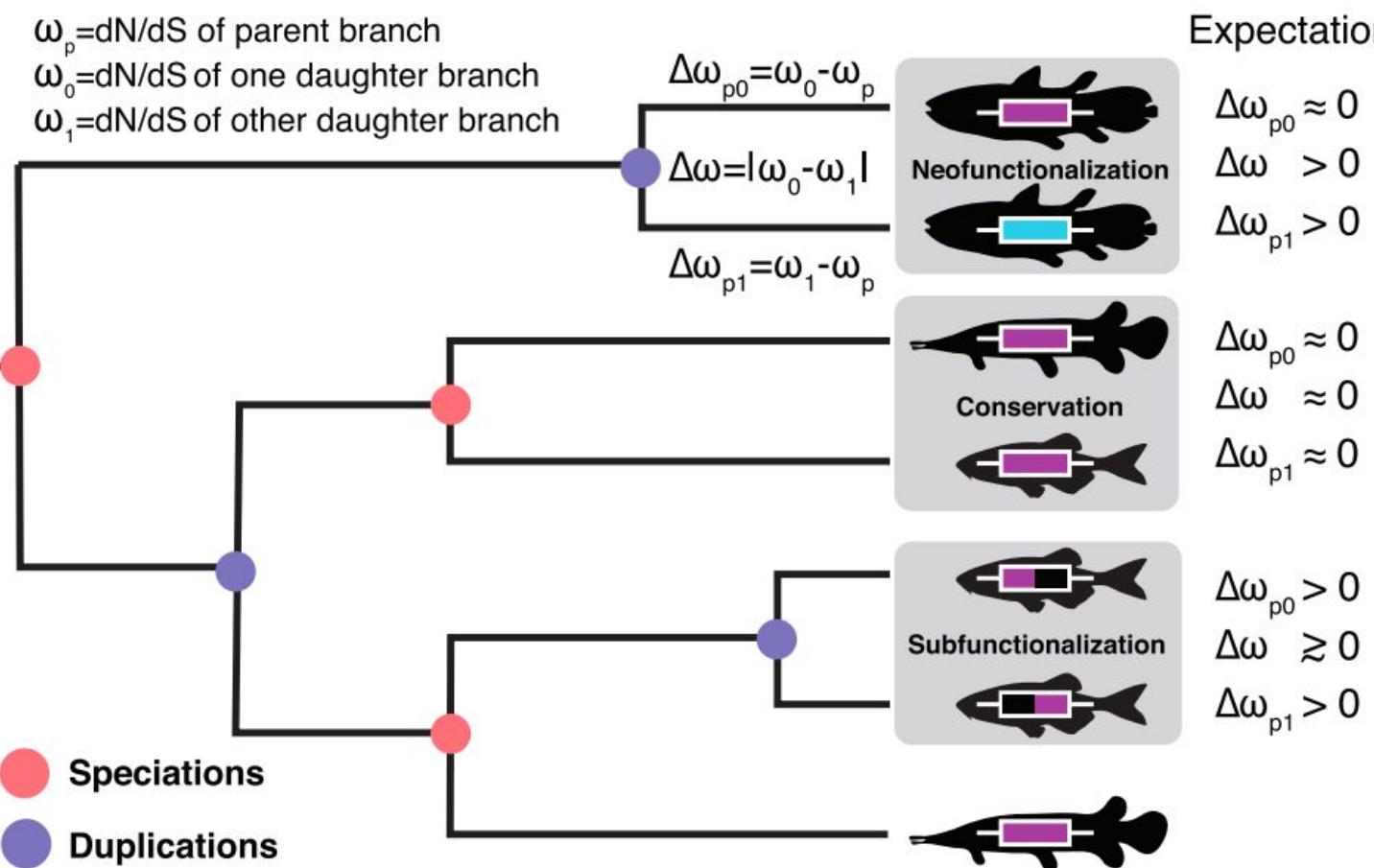
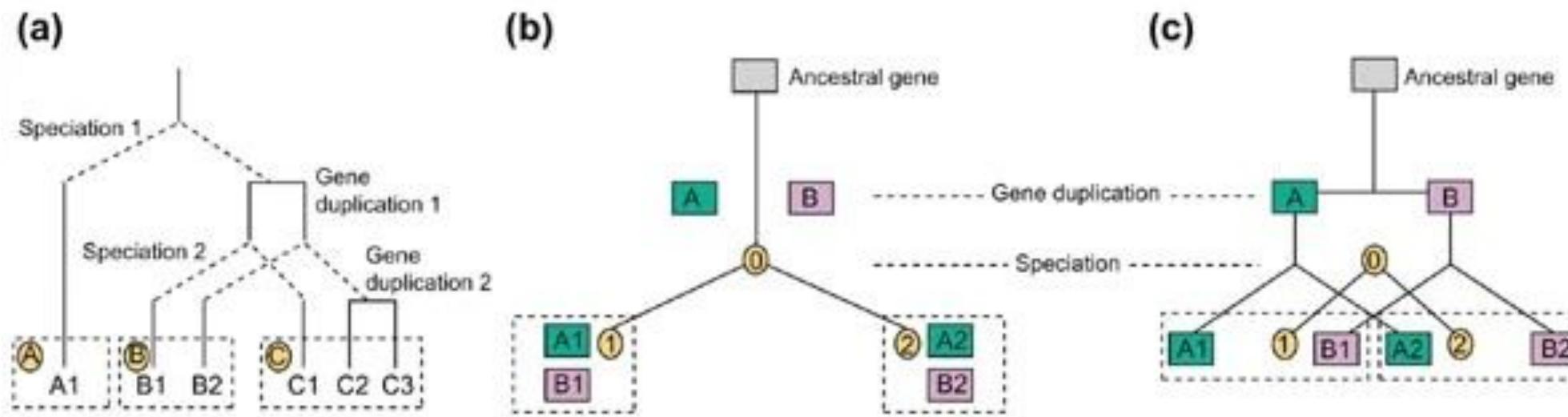
Genomika Struktur □ Pengurutan dan anotasi genom lengkap yang bertujuan untuk mengidentifikasi struktur dasar gen dan elemen genetik.

Genomika Fungsional □ Pengurutan dan anotasi genom lengkap yang bertujuan untuk menentukan fungsi gen dan urutan non-genetik; menggambarkan fungsi gen dan protein, interaksi gen-protein, serta hubungan antara genotipe dan fenotipe.

Genomika Komparatif → Pengurutan dan anotasi genom lengkap yang bertujuan untuk membandingkan urutan genom antar spesies yang berbeda guna mempelajari hubungan evolusioner.



Pendekatan Genomik dalam Keanekaragaman Hayati



- Genom suatu organisme seringkali mengandung beberapa salinan gen dengan urutan yang serupa akibat asal usul evolusi yang sama, yang dikenal sebagai **gen homolog**.
- Gen ortolog**: Gen homolog yang muncul akibat peristiwa spesiesasi antara spesies yang berbeda.
- Gen paralog**: Gen homolog yang terbentuk akibat duplikasi gen dalam genom yang sama.

Hipotesis Ortolog

Perbedaan tekanan seleksi umumnya jauh lebih kecil antara ortolog daripada antara paralog.

Ortolog lebih cenderung mempertahankan fungsi aslinya, sedangkan paralog lebih rentan mengalami divergensi fungsi (neofungsionalisasi).

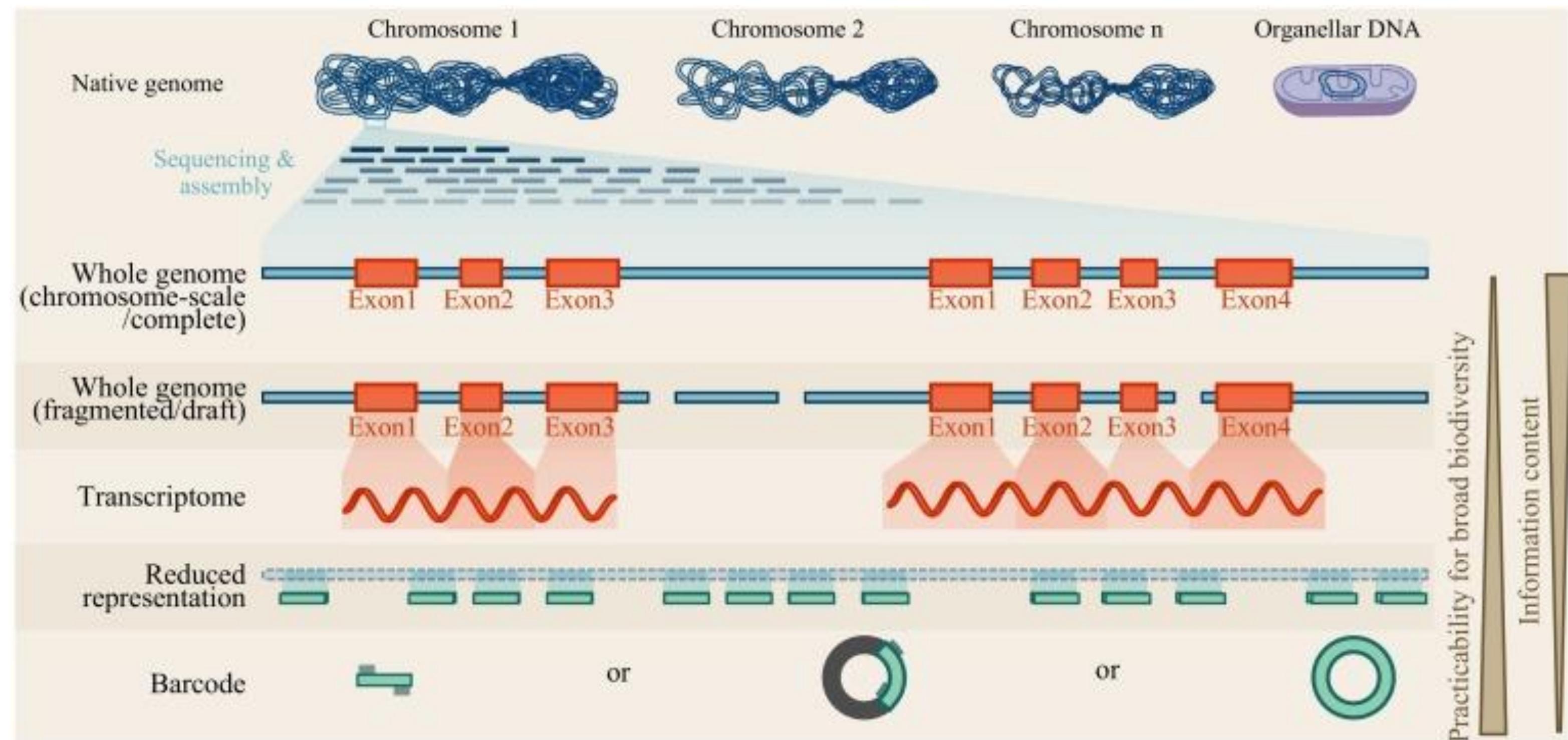
Divergensi evolusi antara paralog seringkali asimetris, di mana salah satu salinan mungkin mengalami seleksi yang lebih longgar atau pergeseran fungsi.

Anotasi genom fungsional → Mempertimbangkan asal usul evolusi gen sebelum menetapkan fungsi mereka.

Sequencing genom lengkap → Memungkinkan identifikasi semua anggota keluarga gen, termasuk paralog, yang mungkin sangat mirip satu sama lain.



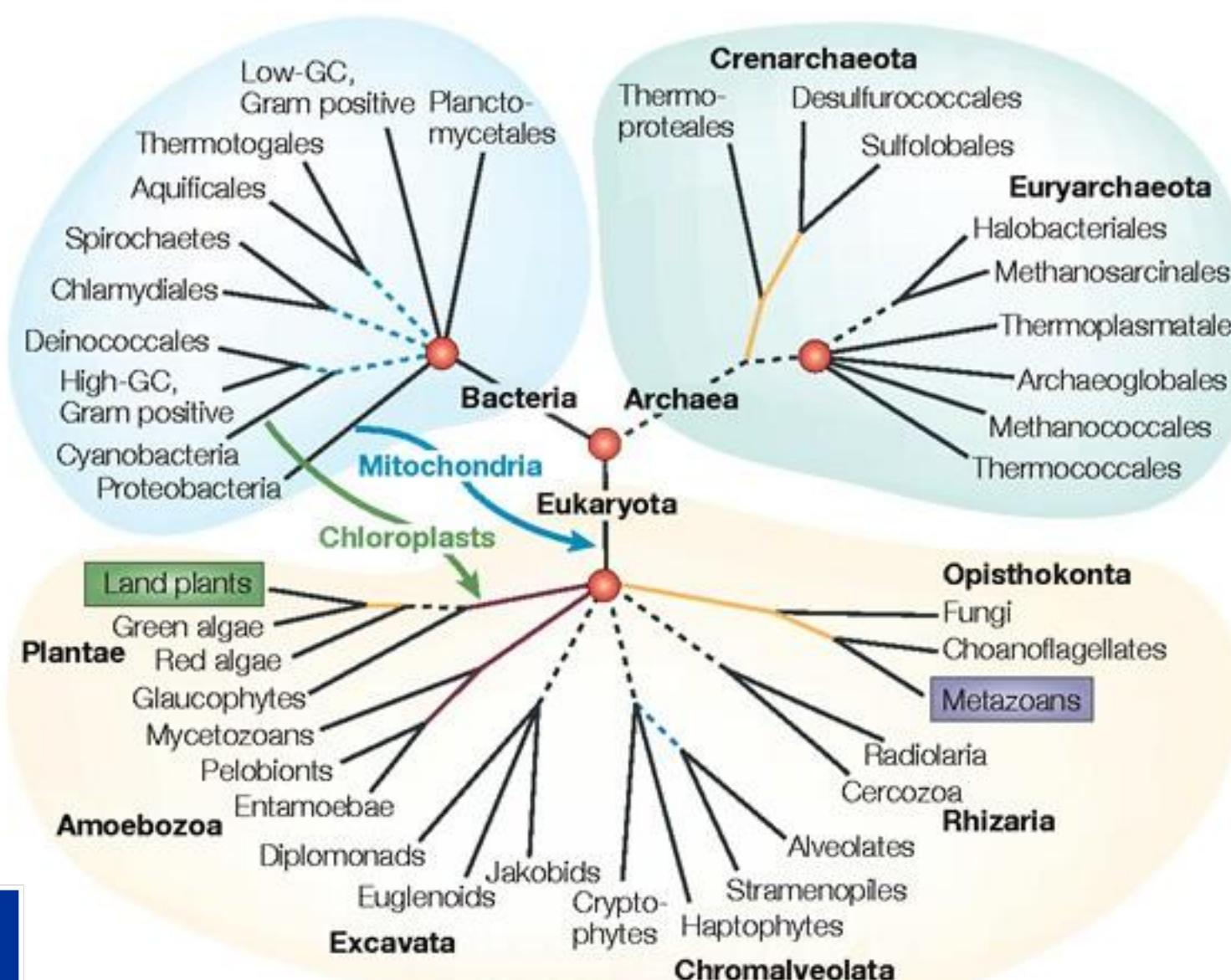
Pendekatan Genomika dalam Keanekaragaman Hayati



Trends in Genetics

Pendekatan Genomika dalam Keanekaragaman Hayati

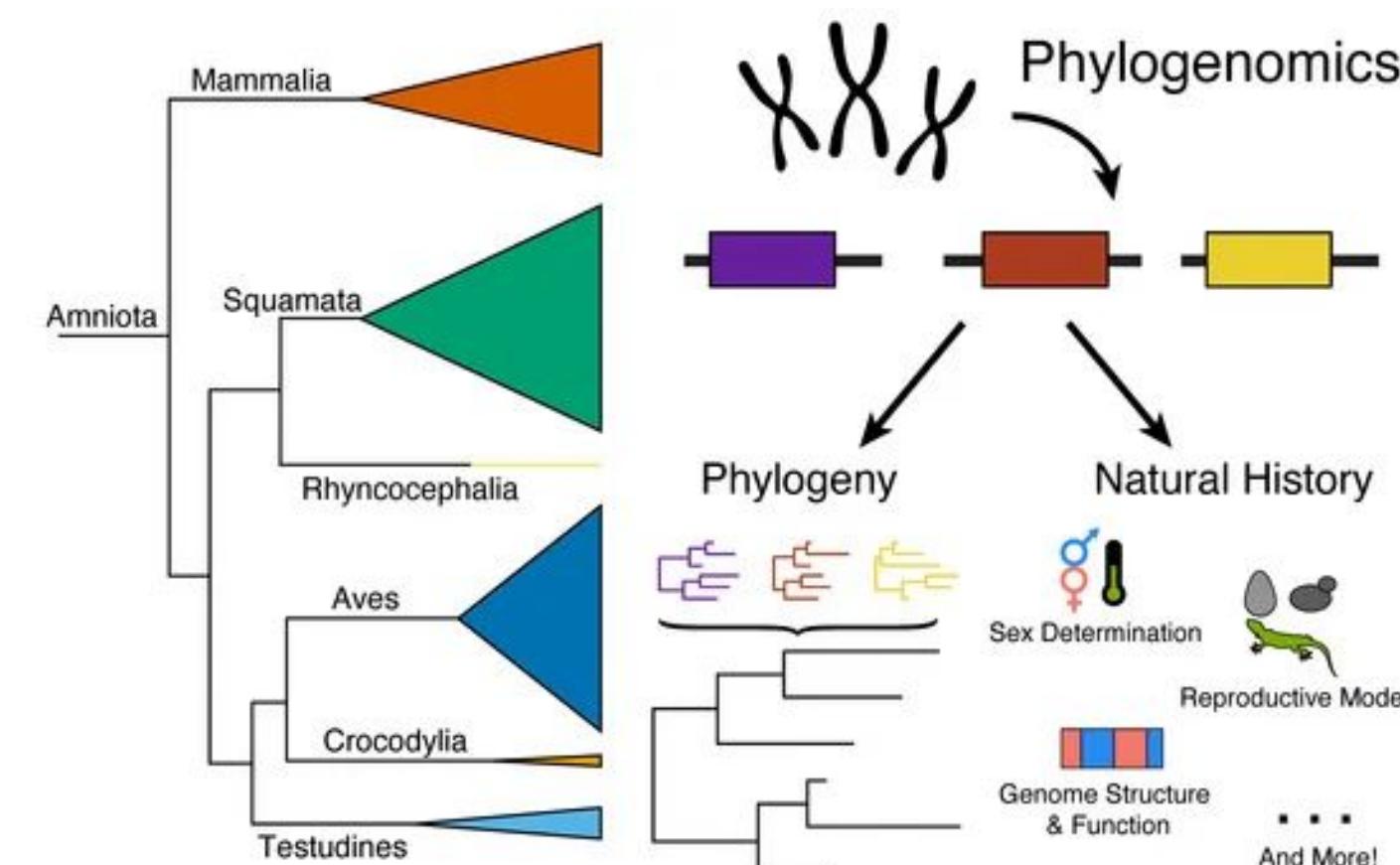
- Genomika berfungsi sebagai landasan untuk merekonstruksi pohon filogenetik yang mencerminkan hubungan evolusi — suatu proses yang dikenal sebagai filogenomika.



Co-funded by
the European Union

Delsuc et al. 2005; Card et al. 2023

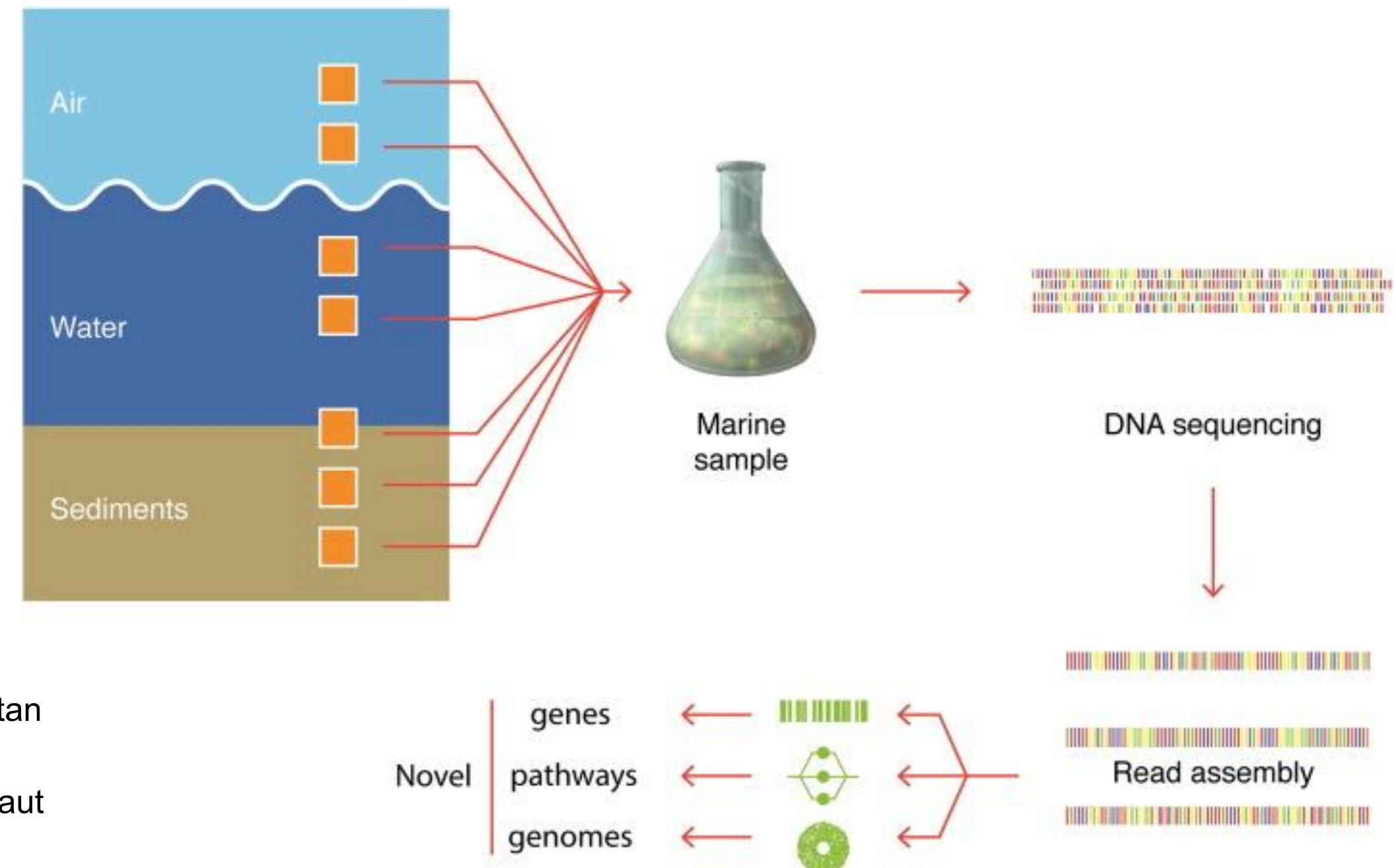
| Aspek | Filogenetik | Filogenomik |
|--------------|---|--|
| Cakupan Data | Gen-gen spesifik | Genom lengkap (seluruh kumpulan gen) |
| Resolusi | Terbatas oleh resolusi penanda biologis | Wawasan beresolusi tinggi |
| Metode | Analisis urutan beberapa penanda biologis | Analisis genom lengkap, termasuk RAD-seq dan UCEs |
| Tantangan | Terbatas oleh resolusi penanda | Komputasi berkemampuan tinggi dan data berkualitas |



Metagenomik

- Metagenomika (juga dikenal sebagai genomika lingkungan) adalah pendekatan yang digunakan untuk menganalisis DNA atau RNA gabungan dari sampel lingkungan yang mengandung organisme yang belum diisolasi atau diidentifikasi.
- Sama seperti total konten genetik suatu organisme disebut genomnya, total konten genetik semua organisme yang menghuni lingkungan tertentu disebut metagenom.
- Analisis metagenomik dapat dilakukan melalui pengurutan DNA untuk mengeksplorasi pola ekspresi gen dalam komunitas organisme di lingkungan tertentu.

Metagenomika laut merupakan pendekatan yang menjanjikan untuk pengembangan industri bioteknologi (misalnya, penemuan enzim dari komunitas mikroba laut). Menutupi lebih dari 70% permukaan Bumi, lautan merupakan reservoir yang sangat besar bagi keanekaragaman hayati mikroba. Mikroba laut memainkan peran krusial dalam rantai makanan laut dan dalam siklus karbon dan energi global.





Metagenomik

Pendekatan Metagenomik

1. Amplicon Sequencing → Mengandalkan pengurutan gen penanda filogenetik setelah amplifikasi PCR.

Berfokus pada satu gen penanda (misalnya, 16S rRNA untuk bakteri, ITS untuk jamur).

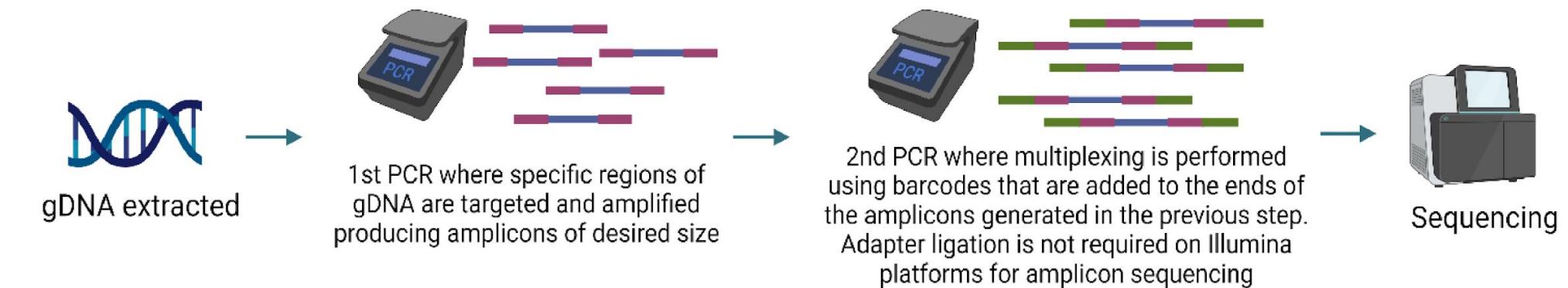
Menggunakan PCR untuk mengamplifikasi gen penanda, yang kemudian diurutkan.

2. Pengurutan Metagenomik Shotgun → Melibatkan pengurutan seluruh DNA dari organisme dalam sampel, bukan menargetkan gen penanda spesifik.

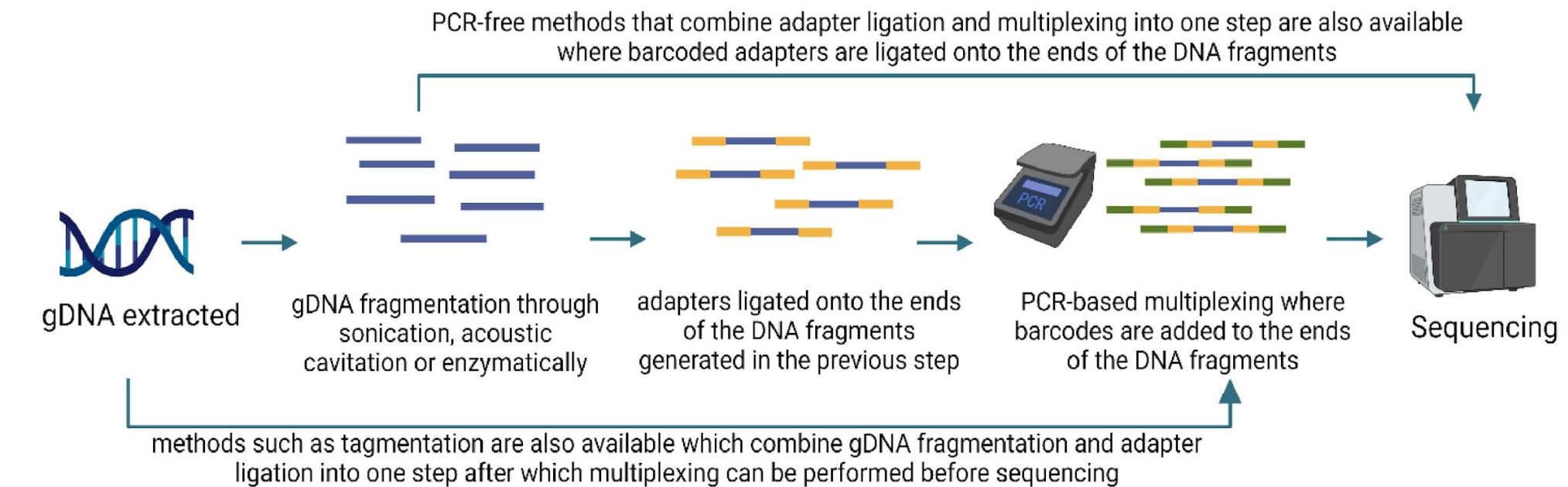
Tidak berfokus pada satu gen, tetapi menganalisis seluruh kandungan DNA sampel.

Memungkinkan analisis komprehensif komposisi taksonomi, fungsi genetik, dan jalur metabolismik.

Amplicon sequencing



Shotgun sequencing





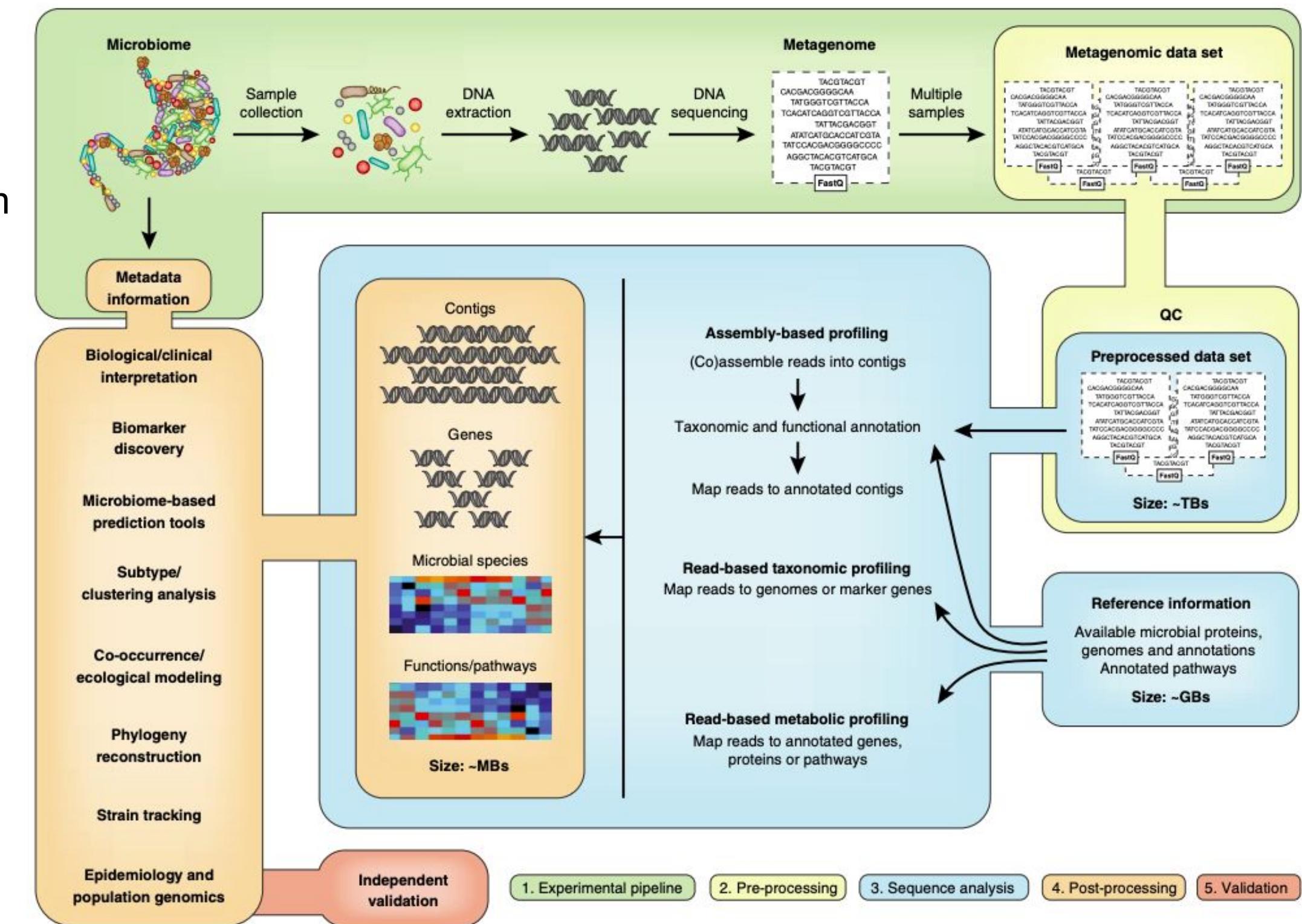
Metagenomik

Metagenomik

Shotgun Metagenomik adalah metode tidak terarah yang digunakan untuk mengidentifikasi komposisi taksonomi, fungsi genetik, dan merekonstruksi genom organisme secara langsung—termasuk mikroorganisme yang tidak dapat dibudidayakan.

Alur Kerja Shotgun Metagenomik:

1. Desain studi
2. Pengumpulan sampel dan ekstraksi DNA
3. Sequencing dan persiapan perpustakaan DNA
4. Analisis bioinformatika
5. Pengolahan pasca dan validasi



Pendekatan Metagenomik

Profiling Berbasis Perakitan

Melibatkan perakitan urutan pembacaan menjadi kontig yang lebih panjang dan pengorganisasianya menjadi genom, gen, atau jalur metabolismik.

Keuntungan:

- Memungkinkan rekonstruksi genom lengkap, termasuk genom mikroorganisme yang tidak dapat dibudidayakan.
- Mengungkap jalur metabolismik baru dan fungsi biologis unik.
- Dapat digunakan untuk membangun pohon filogenetik dan melakukan studi evolusi.

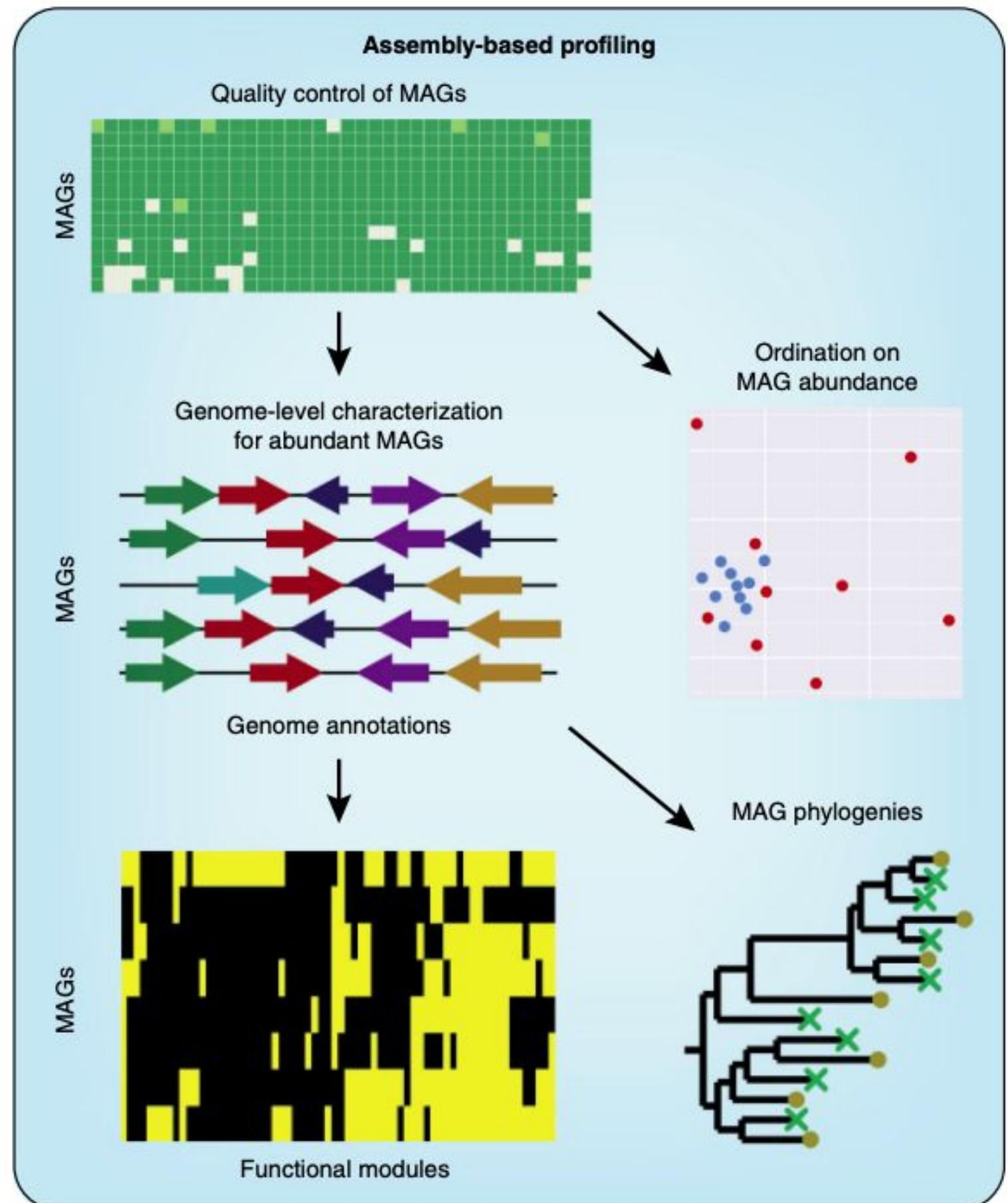
Keterbatasan:

- Membutuhkan cakupan tinggi dan jumlah data urutan yang besar
- Kompleksitas meningkat seiring dengan keragaman komunitas mikroba
- Dapat gagal pada komunitas yang sangat kompleks atau dengan data berkualitas rendah.



Co-funded by
the European Union

Quince et al. 2017



Pendekatan Metagenomik

Profiling Berbasis Baca

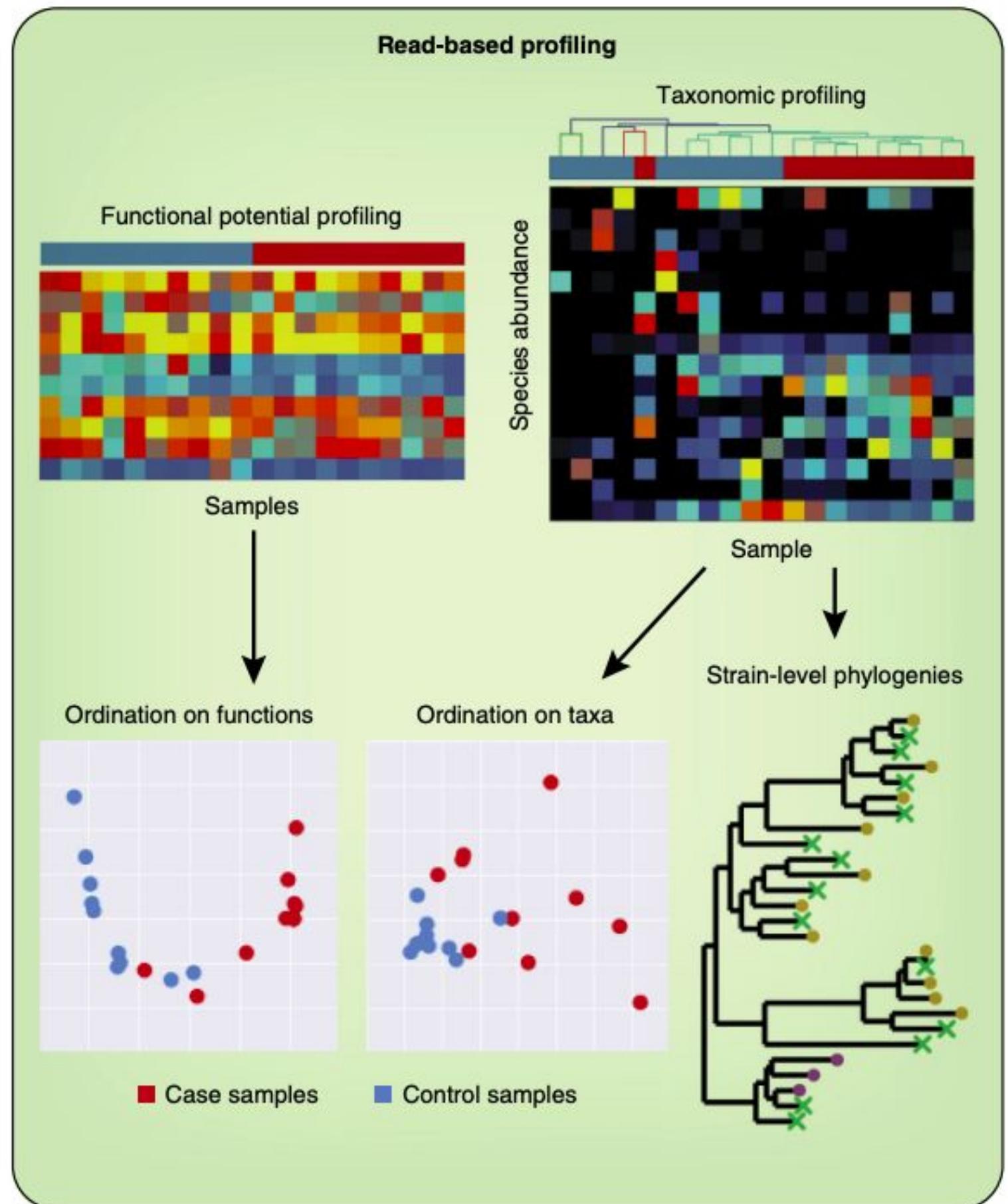
Melibatkan analisis langsung terhadap data baca urutan mentah tanpa menggabungkannya menjadi kontig yang lebih panjang. Pendekatan ini memetakan data baca terhadap basis data referensi.

Keuntungan:

- Lebih cepat dan efisien, ideal untuk analisis skala besar atau pemrosesan sampel berkapasitas tinggi.
- Berguna untuk penyaringan awal, survei taksonomi, atau studi keanekaragaman hayati.

Keterbatasan:

- Bergantung secara signifikan pada basis data referensi — terbatas dalam mendeteksi organisme dengan genom yang belum teridentifikasi.
- Kurang informatif untuk merekonstruksi jalur metabolismik lengkap atau genom baru.



Pendekatan Metagenomik

| Aspect | Assembly-based Analysis | Read-based Analysis (Mapping) |
|--|---|--|
| Comprehensiveness | Can reconstruct multiple complete genomes, but only for organisms with sufficient sequencing coverage for assembly and binning. | Provides aggregate insights into community structure or function, but only based on the fraction of reads that map to the reference database. |
| Community Complexity | In complex communities, only partial genomes may be recovered through assembly. | Can handle communities of varying complexity, especially when sequencing depth and reference coverage are sufficient. |
| Novelty | Can reconstruct genomes of entirely novel organisms without known close relatives. | Cannot identify organisms whose genomes lack close relatives in the reference database. |
| Computational Load | Requires intensive computation, including assembly, mapping, and binning. | More efficient and scalable, suitable for large-scale meta-analyses. |
| Genome-based Metabolism | Can link metabolic potential to phylogeny through fully reconstructed genomes, even for novel diversity. | Typically resolves only aggregate metabolic functions of the community; linking to phylogeny is limited to organisms with available reference genomes. |
| Expert Manual Curation | Requires manual curation for binning, scaffolding, and error detection during assembly. | Generally does not require manual curation, though reference genome selection may require human oversight. |
| Integration with Microbial Genomics | Assembled genomes can be integrated into microbial genomics pipelines designed for isolate-based genome analysis. | Profiles cannot be directly linked to pure-culture isolate genomes. |



Pendekatan Metagenomik

What is the Metagenome?



The Metagenome consists of the genomes of many individual microorganisms present in an environmental sample.



Transkriptomik

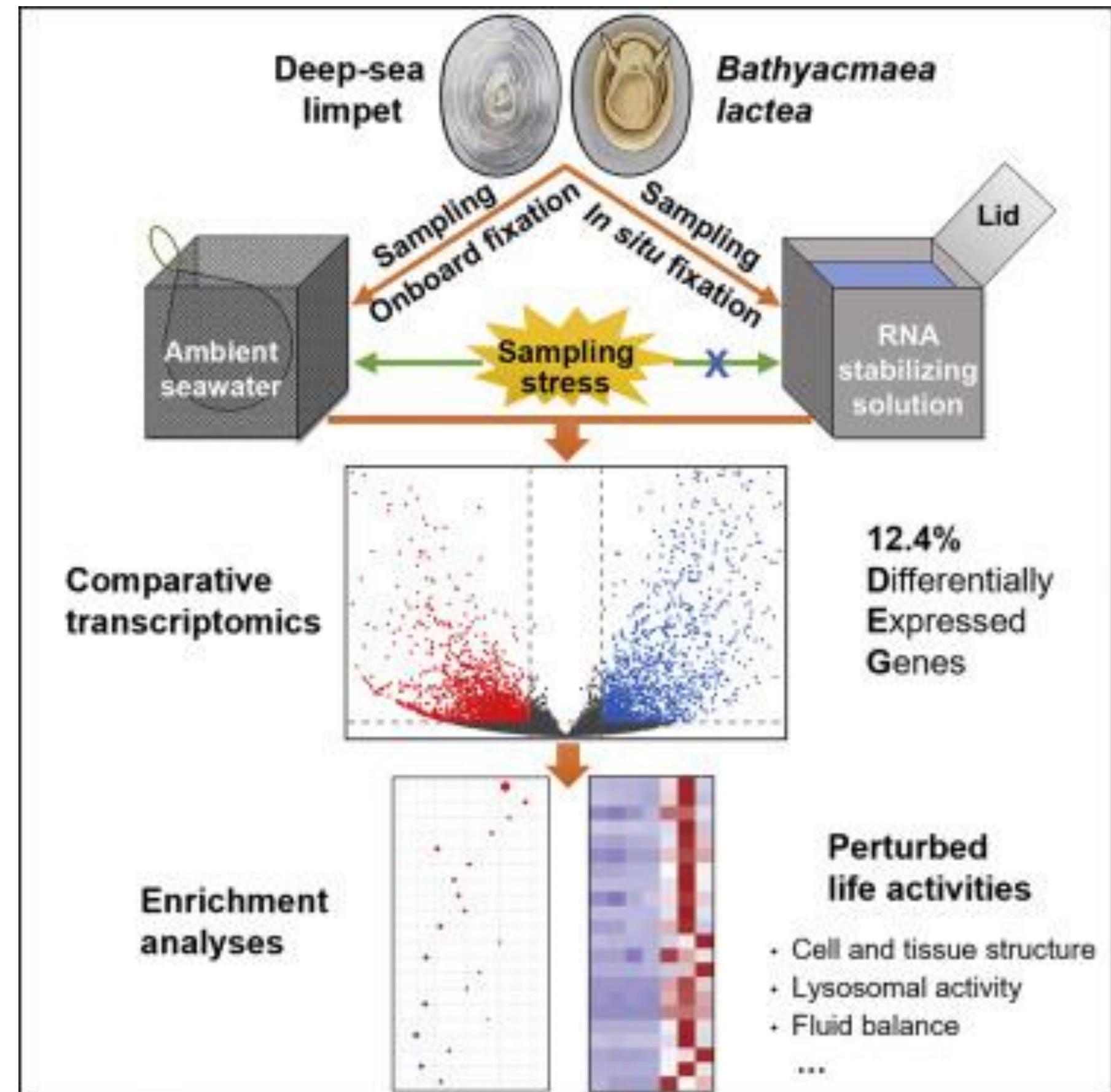
Transkriptomik

Transkriptomik adalah pendekatan yang digunakan untuk mempelajari transkriptom, yang merujuk pada kumpulan lengkap molekul RNA yang disintesis oleh sel atau jaringan dalam kondisi tertentu.

RNA mencerminkan gen yang sedang aktif diekspresikan, memberikan wawasan tentang aktivitas gen pada waktu tertentu dan dalam kondisi spesifik.

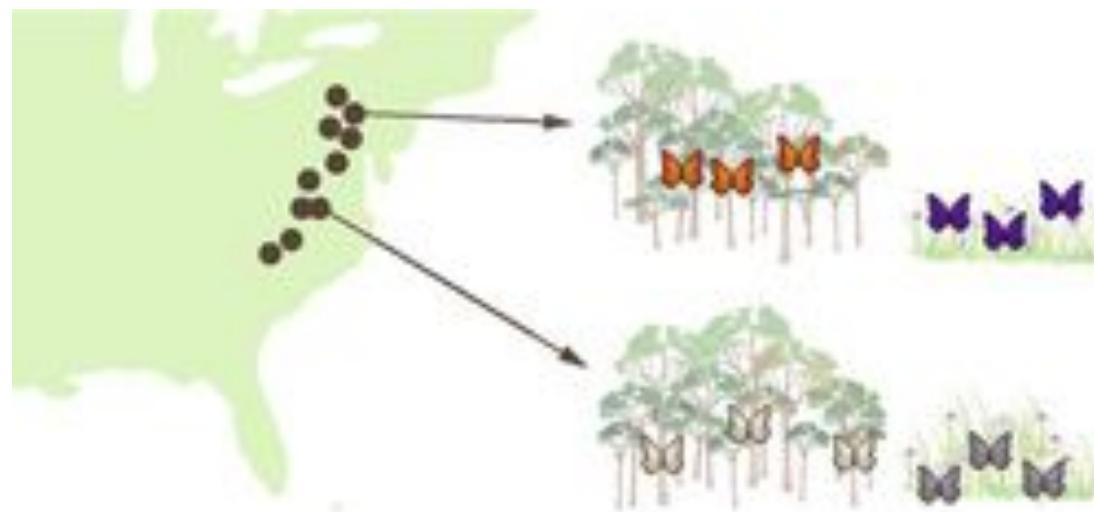
Transkriptomik dapat diterapkan untuk menyelidiki respons stres pada organisme laut (misalnya, selama proses pengambilan sampel dari laut dalam ke permukaan).

Sebuah studi pada spesies *Bathyacmaea lactea* menunjukkan bahwa pengambilan sampel tanpa fiksasi in situ dapat menyebabkan bias yang signifikan dalam ekspresi gen.

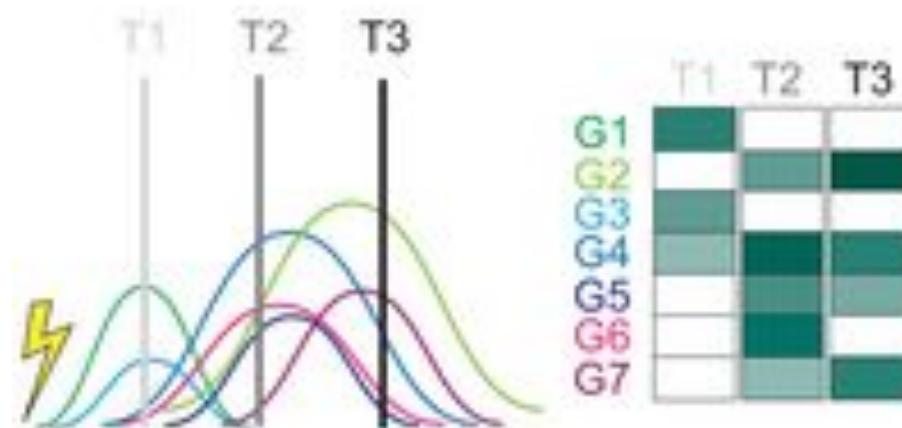


Transkriptomik

Landscape Transkriptomik



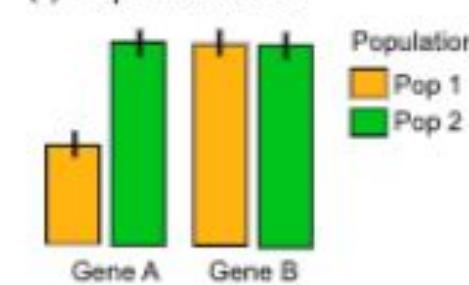
(a) Temporal scales of gene expression



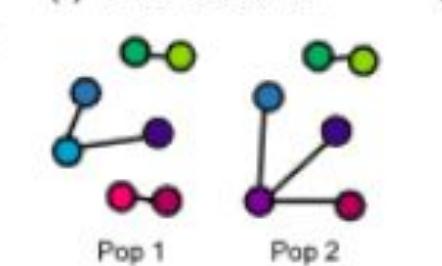
(b) Tissue specific responses



(a) Expression level



(b) Gene networks



(c) Sequence variation

| Gene | Population | Sequence |
|--------|------------|-----------------|
| Gene A | Pop 1 | GCCAU |
| Gene A | Pop 2 | GCCAU |
| Gene B | Pop 1 | AU <u>GU</u> A |
| Gene B | Pop 2 | AUG <u>GU</u> A |

Landscape Transkriptomik

Landscape Transkriptomik adalah pendekatan baru yang mengintegrasikan:

Data ekspresi gen (Transkriptomik)

Data lingkungan berskala besar (pemandangan ekologi)

Tujuan Landscape Transkriptomik adalah untuk memahami bagaimana organisme merespons perubahan lingkungan—seperti pergeseran iklim, polusi, fragmentasi habitat, dan faktor stres lainnya.

Contoh:

Salmon: Transkriptom digunakan untuk mendeteksi respons terhadap suhu, salinitas, atau penyakit.

Terumbu karang: Ekspresi gen dasar dianalisis untuk mengidentifikasi gen yang terkait dengan toleransi panas.

Tantangan dalam Landscape Transkriptomik

Spesifitas waktu: Ekspresi gen dapat berubah dengan cepat; waktu pengambilan sampel yang tepat sangat kritis.

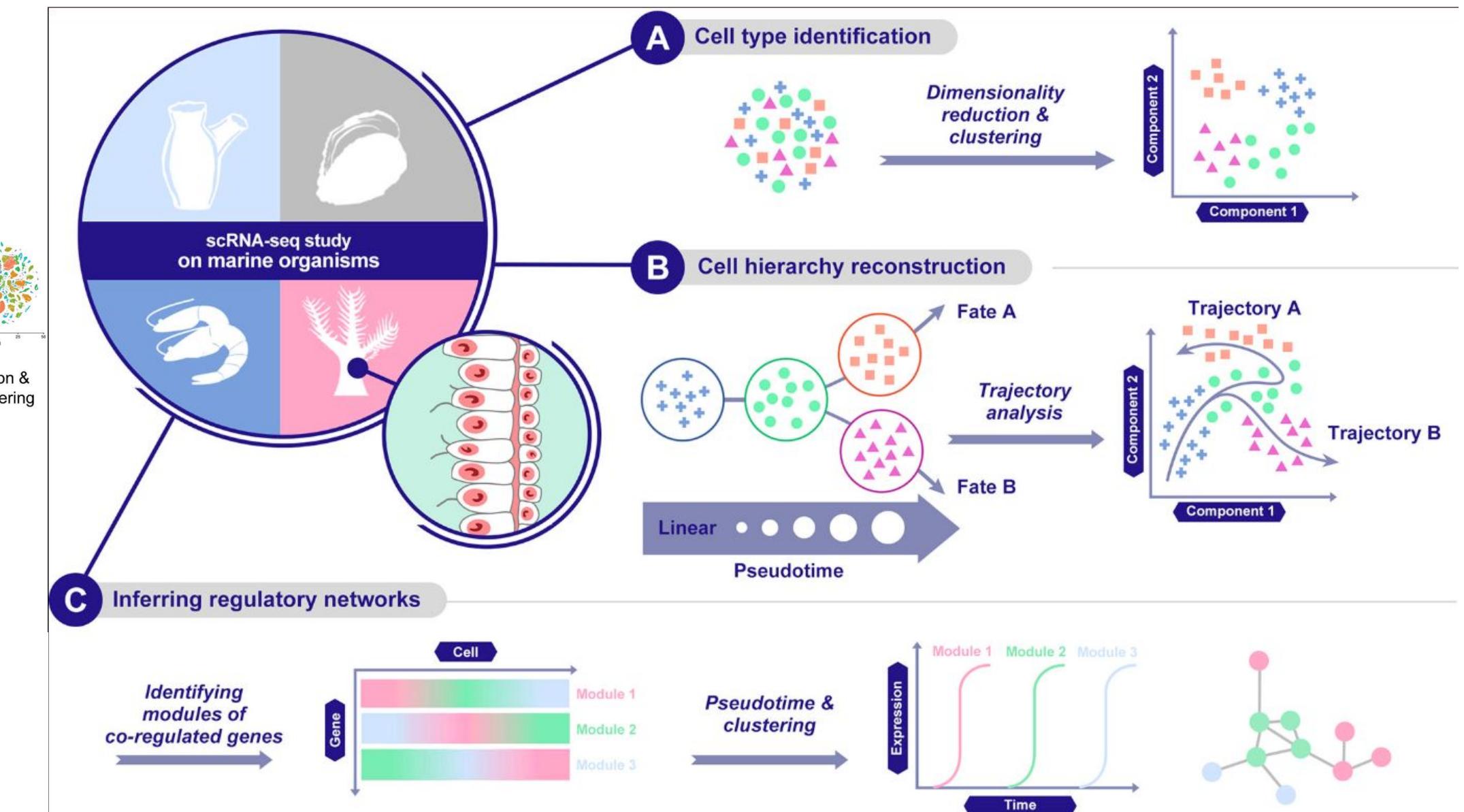
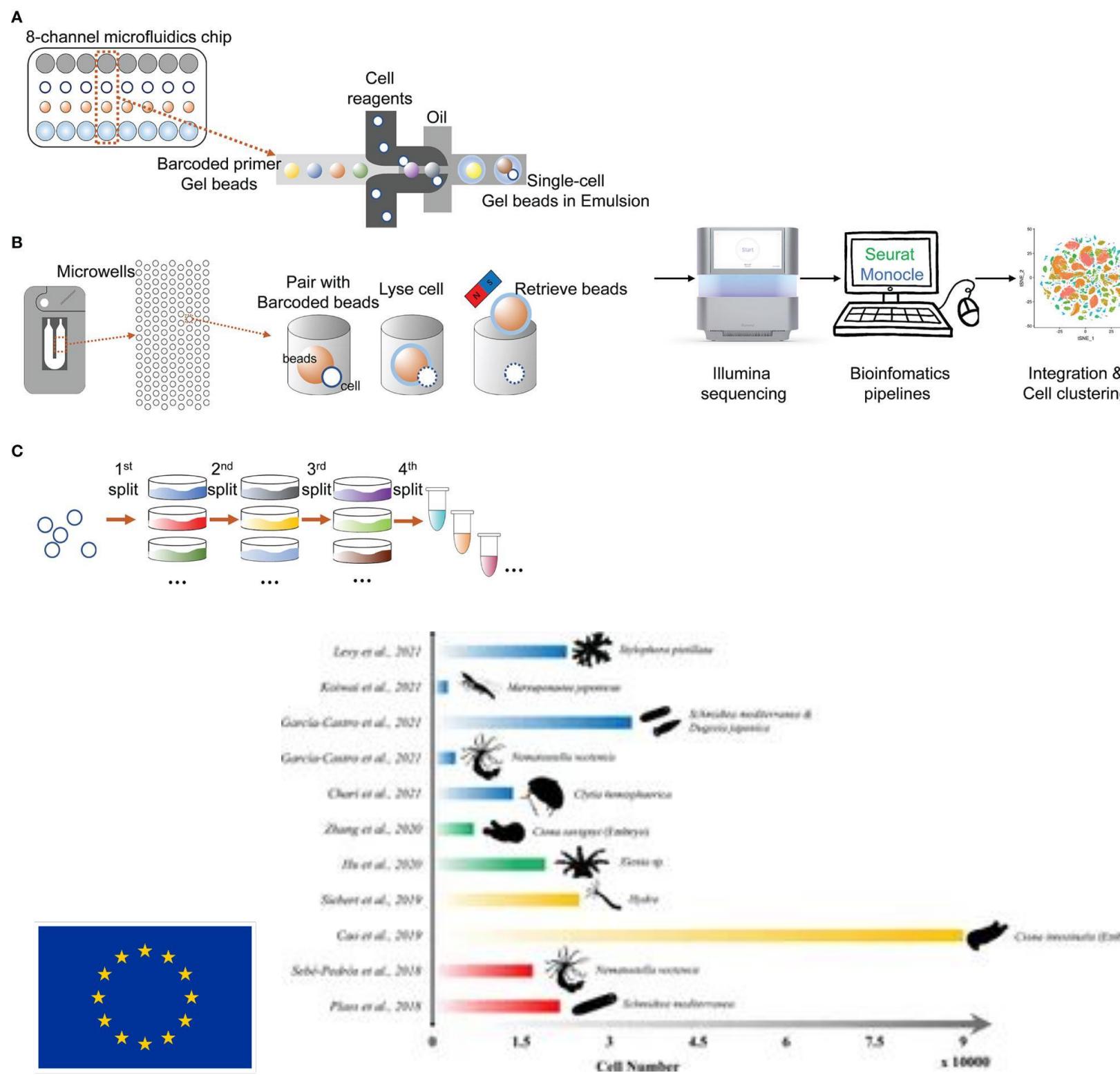
Spesifitas jaringan: Jaringan yang berbeda mengekspresikan set gen yang berbeda, memerlukan pemilihan dan interpretasi sampel yang hati-hati.





Transkriptomik

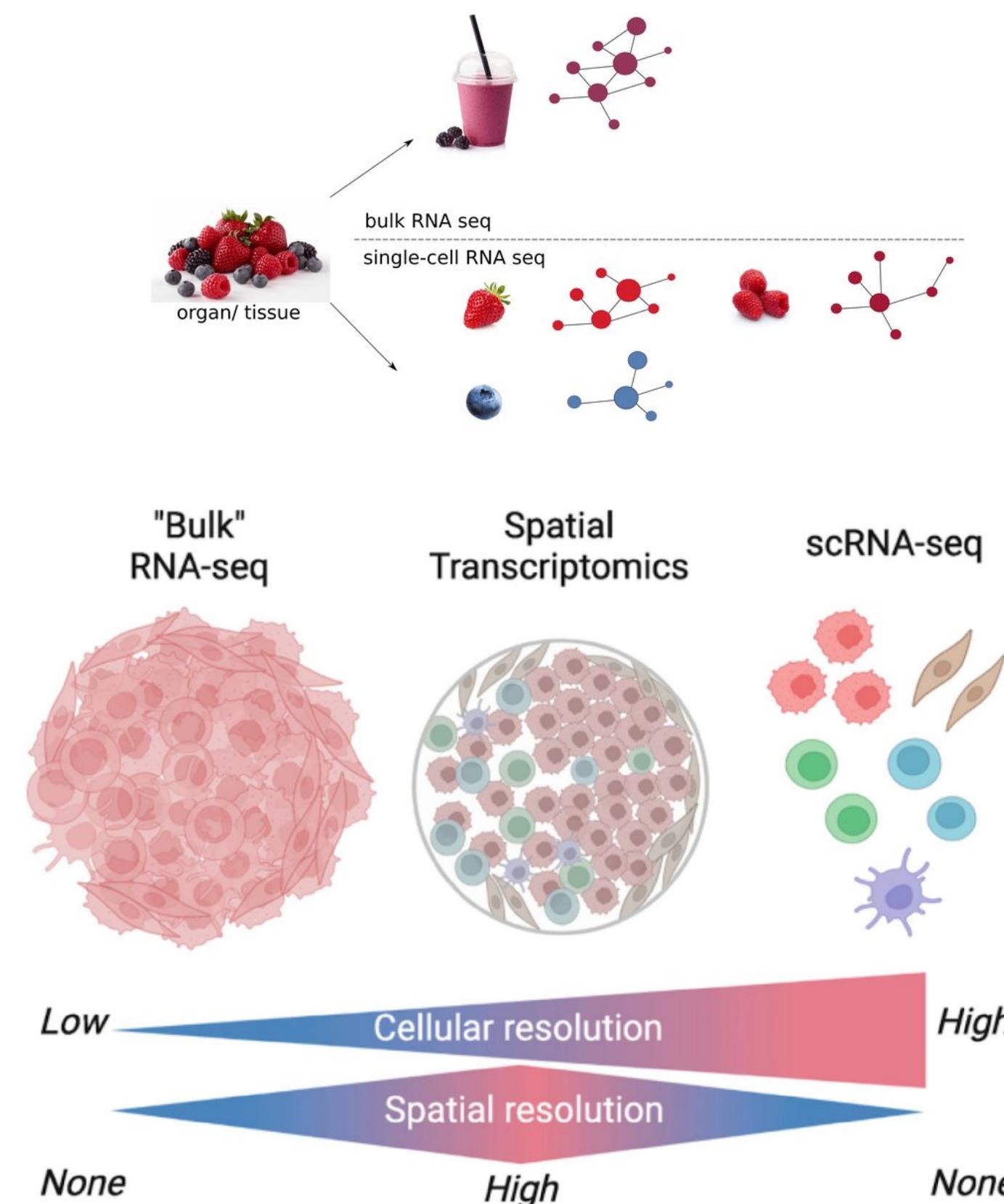
Single Cell Transkriptomik



Single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) adalah teknik yang memungkinkan analisis ekspresi gen pada tingkat sel individu, memberikan wawasan yang lebih rinci dibandingkan dengan RNA-seq konvensional, yang hanya menangkap ekspresi rata-rata di seluruh populasi sel.

Transkriptomik

Single Cell Transkriptomik



| Approach | Advantages | Disadvantages | Applications |
|-------------|--|--|---|
| Bulk | <ul style="list-style-type: none"> - Provides an overall view of gene expression in a cell population. - High throughput. - Cost-efficient and suitable for large-scale sample analysis. | <ul style="list-style-type: none"> - Only provides average gene expression profiles, thus failing to capture single-cell heterogeneity. - Does not provide spatial information of tissues. | <ul style="list-style-type: none"> - Transcriptome profiling. - Tumor diagnosis and prognosis. - Biomarker discovery, identification of functional genes, and studies on large sample cohorts. |
| Single cell | <ul style="list-style-type: none"> - Enables gene expression analysis at the single-cell level. - Allows tumor heterogeneity analysis. - Identification of unique cell types and rare cell populations. | <ul style="list-style-type: none"> - Higher cost. - Limited sensitivity and dependent on advanced techniques. - Does not provide spatial tissue information. | <ul style="list-style-type: none"> - Analysis of tumor and tissue heterogeneity. - Identification of cell types and evolutionary transitions. - Understanding immune responses and tumor microenvironment characteristics. |
| Spatial | <ul style="list-style-type: none"> - Provides spatially localized Transkriptomik information. - 10X spatial Transkriptomik technology offers higher cellular resolution. - High gene detection capability with high multiplexing. | <ul style="list-style-type: none"> - High cost and workflow complexity. - Relatively new technology still under development. | <ul style="list-style-type: none"> - Spatial Transkriptomik analysis. - Emerging technology for tumor microdissection. - Spatial biomarker discovery. - Optimization of immunotherapy. |



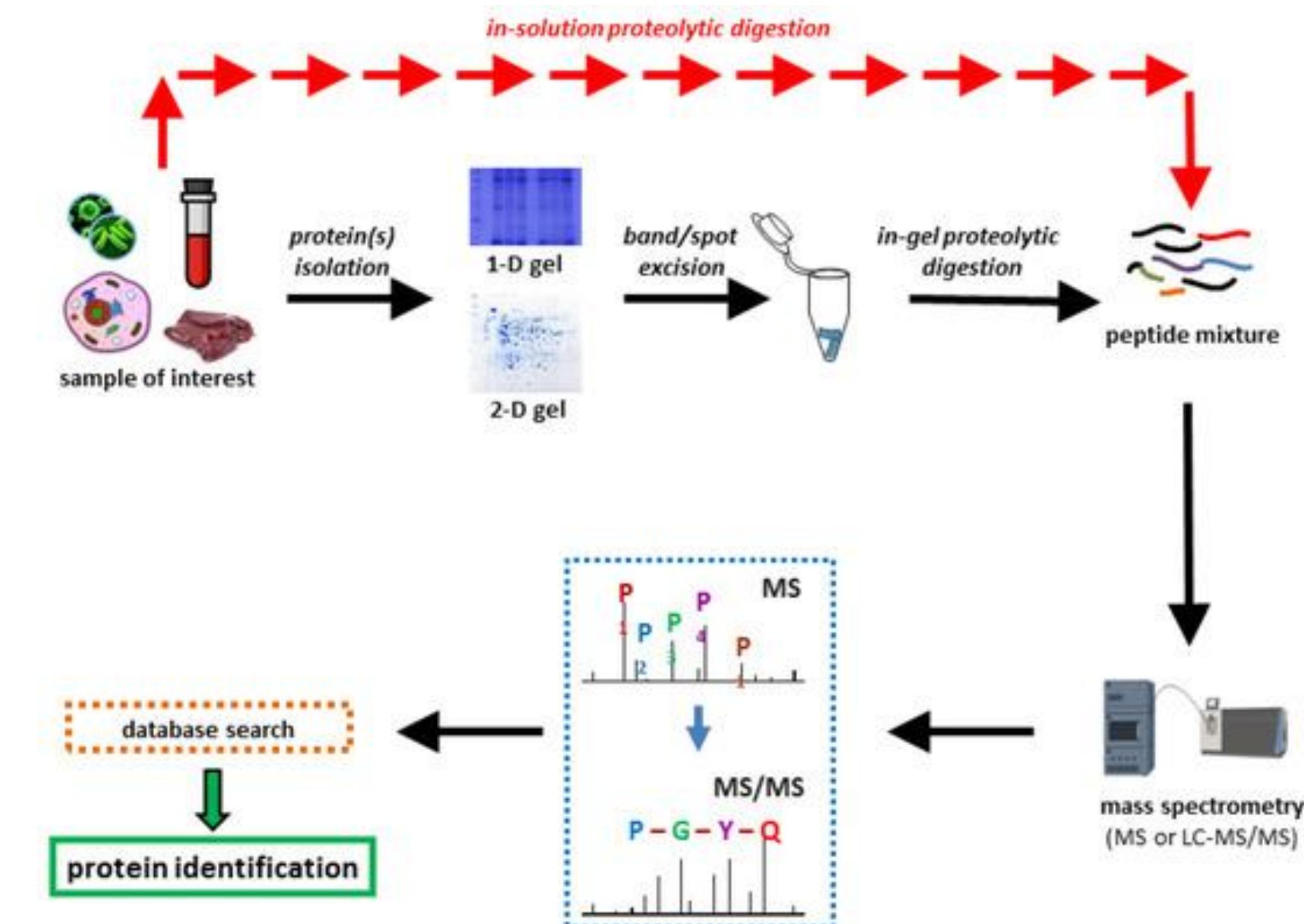
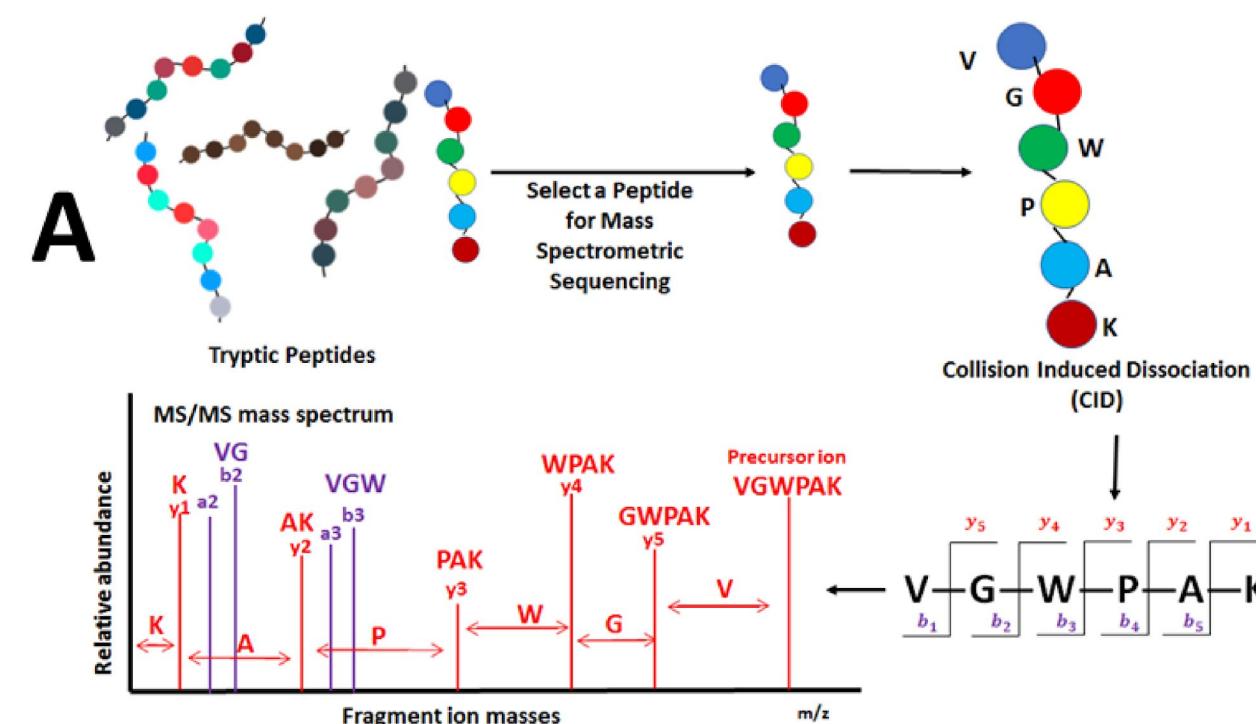
Proteomik

Proteomik

Proteomika adalah studi tentang semua protein (proteom) dalam suatu organisme, termasuk variasi yang disebabkan oleh modifikasi pasca-translasi (PTM), interaksi protein-protein, dan tingkat ekspresi.

Proteomika bottom-up adalah pendekatan utama yang paling umum digunakan, di mana protein dicerna menjadi peptida kecil dan kemudian dianalisis menggunakan kromatografi cair dan spektrometri massa untuk identifikasi dan kuantifikasi protein.

MS/MS Fragmentation of Peptides



proteomiks

proteomiks in Biodiversity Study

Aquatic Sources

Environment

Pollution

Toxics

Stress

Organisms

DNA

RNA

Proteins

Metabolomes



Directed proteomics

Ecotoxicoproteomics

Ecotoxicogenomics

Environmental proteomics

Multi-omics

Protein databases

Aquatic proteomes

Protein biomarkers

Marine medicines

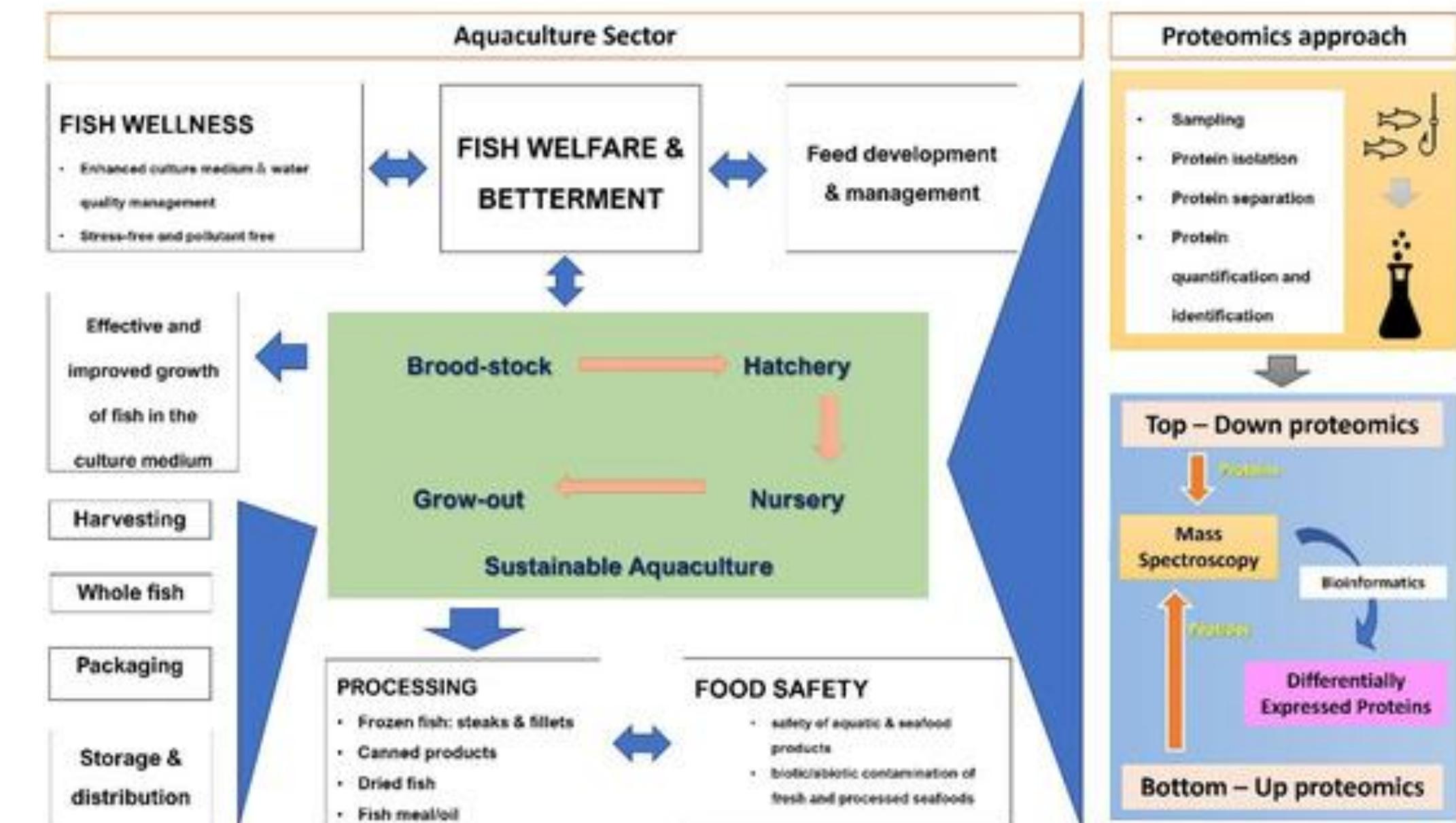
Biosynthesis

Ada tiga bidang utama penelitian proteomika dalam konteks keanekaragaman hayati:

Budidaya perikanan dan perikanan: Mengevaluasi pertumbuhan ikan, stres, dan kesehatan; mengembangkan pakan ikan yang efisien dan ramah lingkungan; memastikan keamanan pangan; dan lain-lain.

Pemantauan polusi lingkungan dan dampaknya terhadap keanekaragaman hayati.

Identifikasi produk alami laut dan obat-obatan (senyawa alami).



Beberapa teknik proteomik yang dapat digunakan:

Elektroforesis Gel 2D

LC-MS/MS

Kuantifikasi berbasis label (iTRAQ, TMT) dan kuantifikasi tanpa label

MALDI-TOF MS

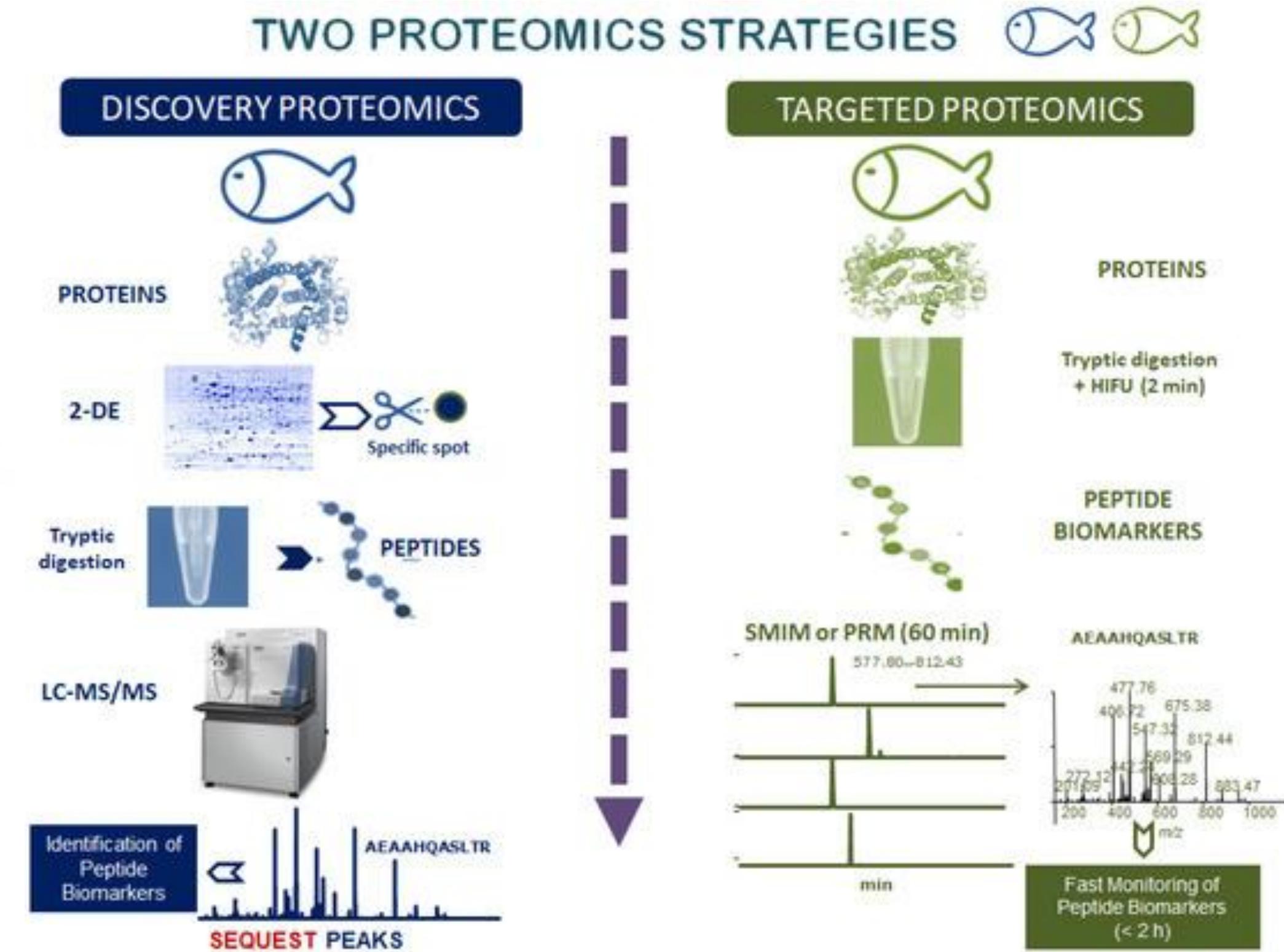
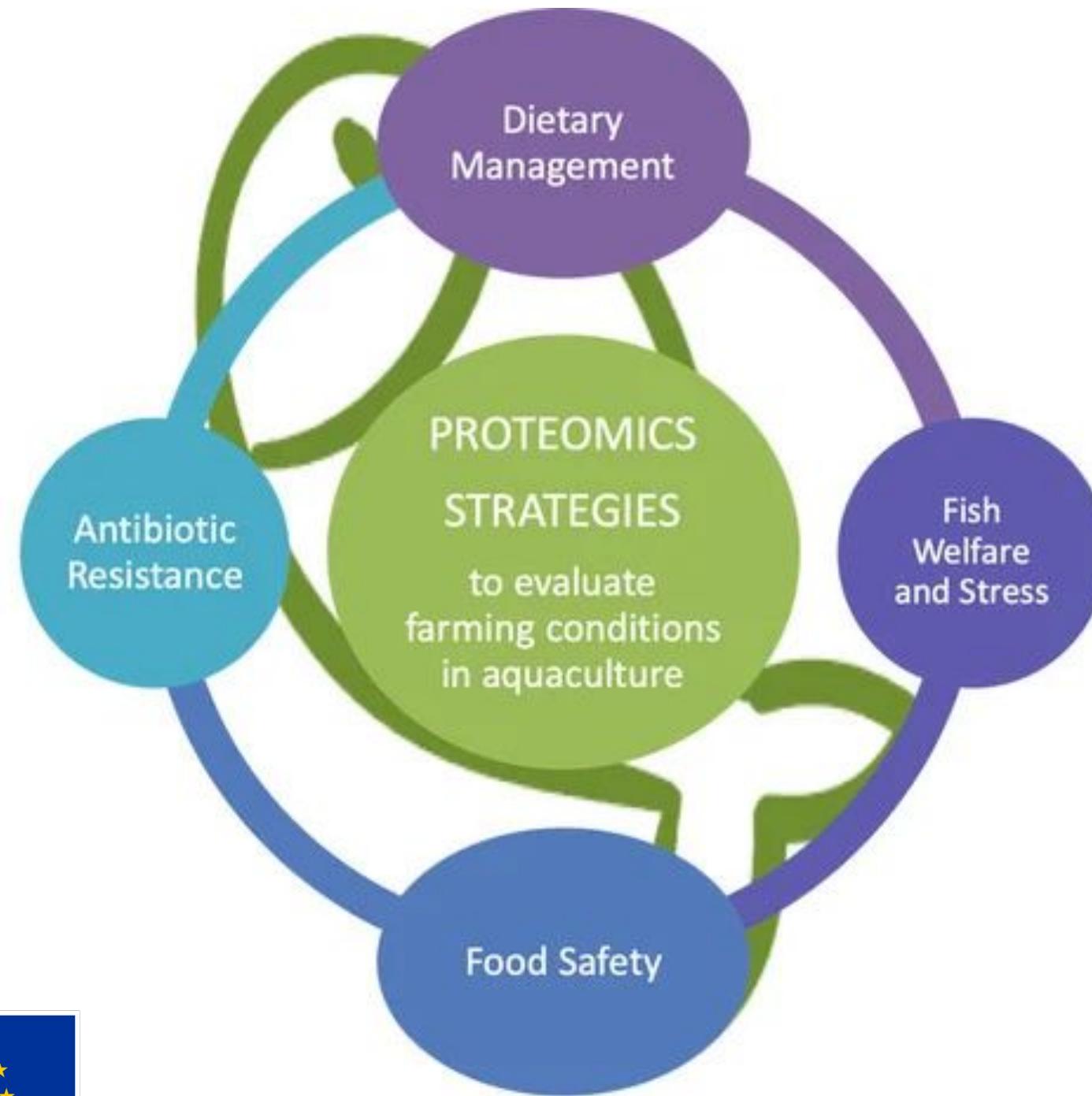
Tantangan utama: kurangnya protokol ekstraksi universal untuk semua organisme akuatik.





Proteomik

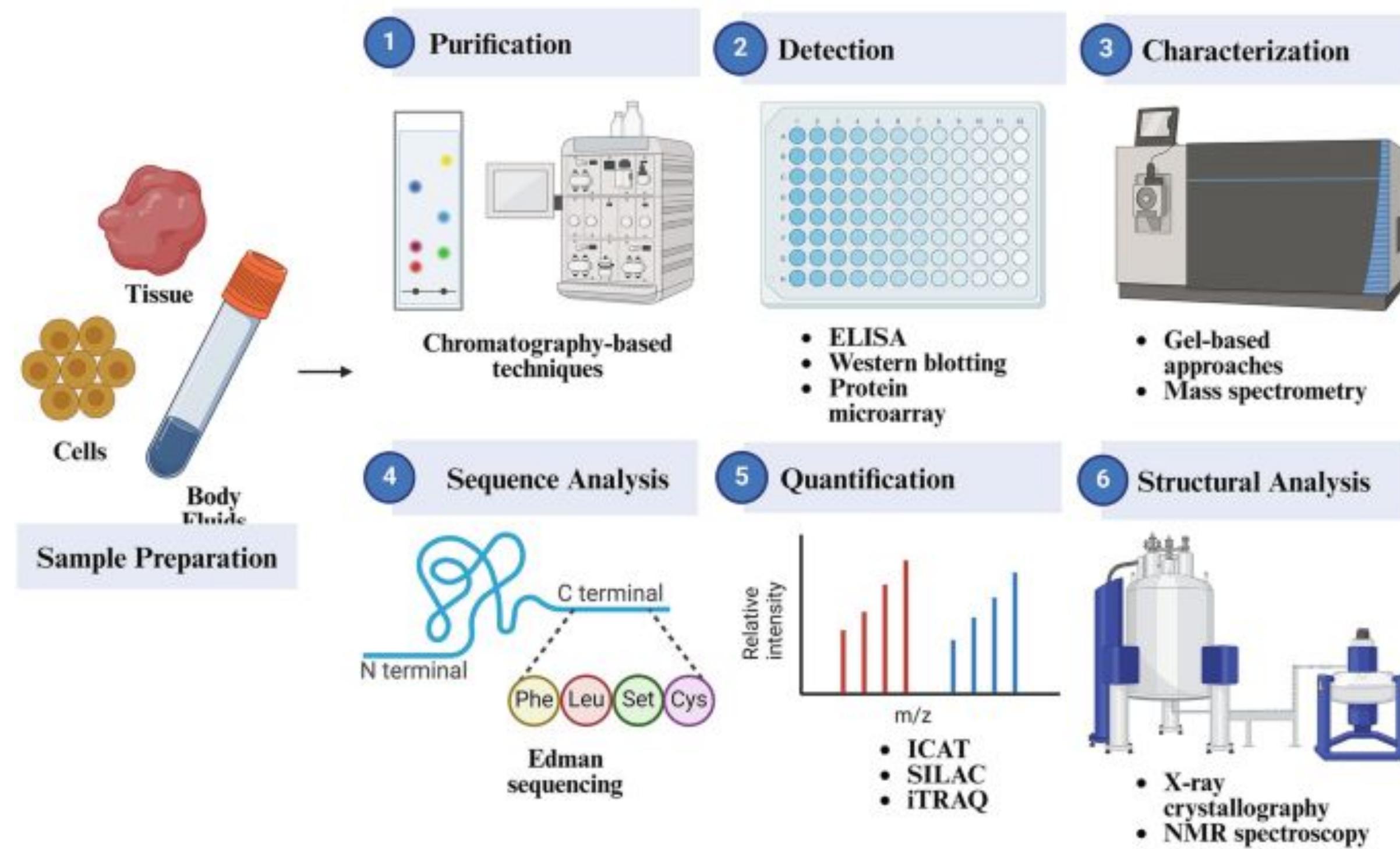
Proteomik dalam Studi Biodiversitas





Proteomik dalam Studi Biodiversitas

Proteomics Workflow

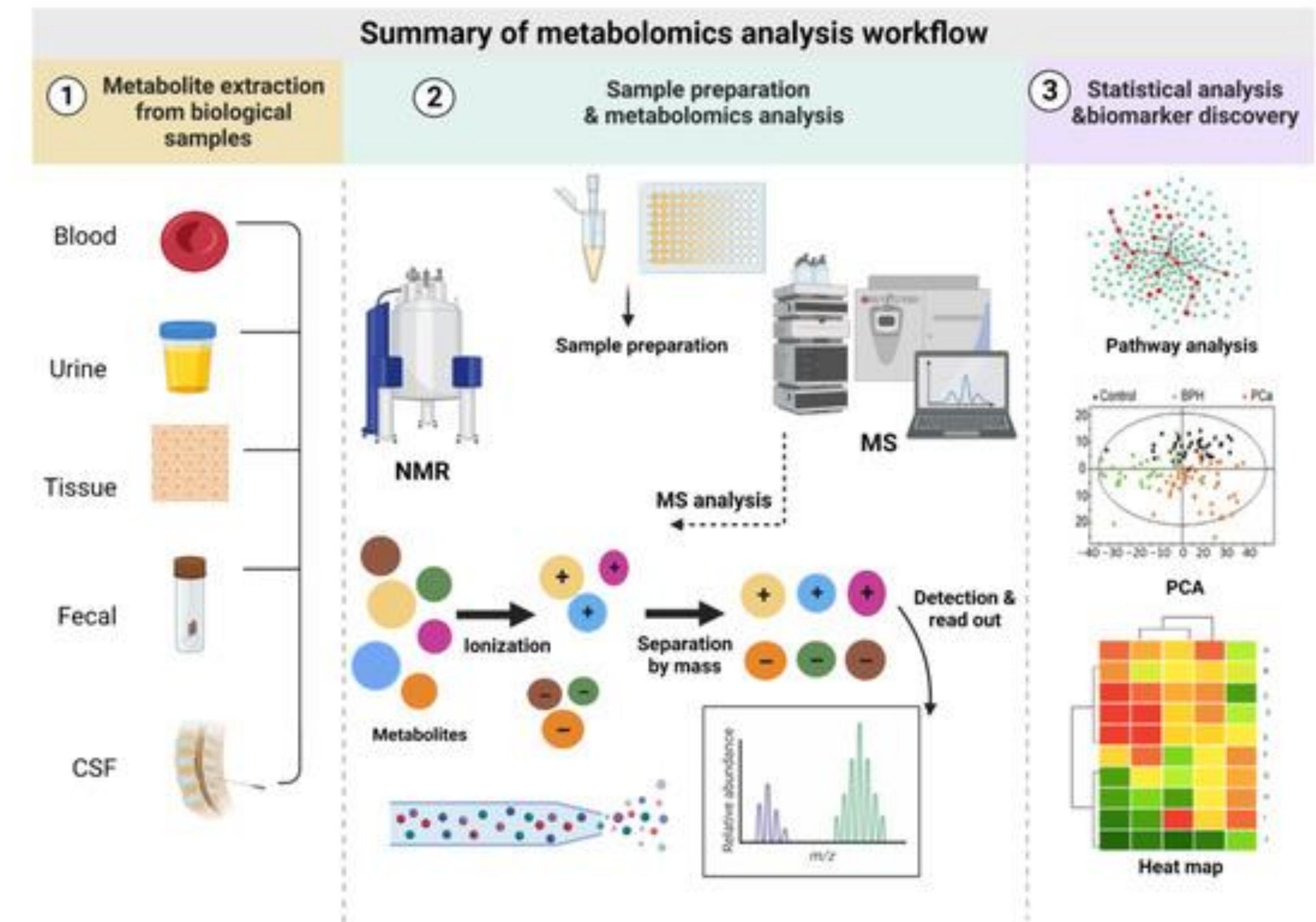


Metabolomik

Metabolomik

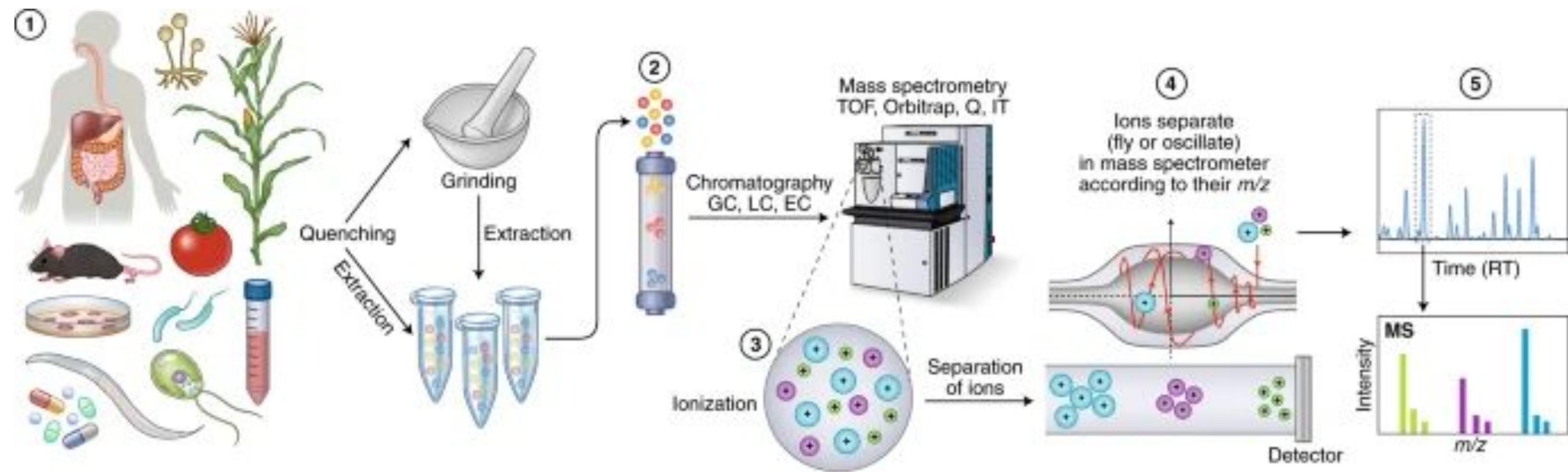
Metabolomik adalah studi sistematis tentang metabolit kecil dalam sampel biologis, memberikan gambaran langsung tentang aktivitas biokimia di dalam tubuh.

Hal ini dapat digunakan untuk mengembangkan biomarker baru.



Metabolomik

Metabolomik



Sample preparation and extraction

- Avoid environmental perturbation during harvesting
- Control environment: harvesting at the same time and under the same conditions
- Snap-freezing in liquid nitrogen
- Enzyme quenching: completely terminate all enzyme activities
- Standards spiked into the quenching solvent
- Grinding, isolation of cells, fast-filtration or aspiration

Sample replication and randomization

- At least four biological replicates, preferably more
- Technical and analytic replicates are worthy of consideration
- Randomization of samples throughout workflows is essential
- In large-scale studies, quality-control samples and batch correction are essential

Chromatography–mass spectrometry

- Separation methods, composition of the mobile phase, column properties and injection volume
- Metabolites are within their range of detection
- Avoid ion suppression: dilution of extracts, sonication, filtration or centrifugation, recovery test
- Choosing ionization source and type of detection mode, MS method, scan number and speed, MS/MS and energy for fragmentation

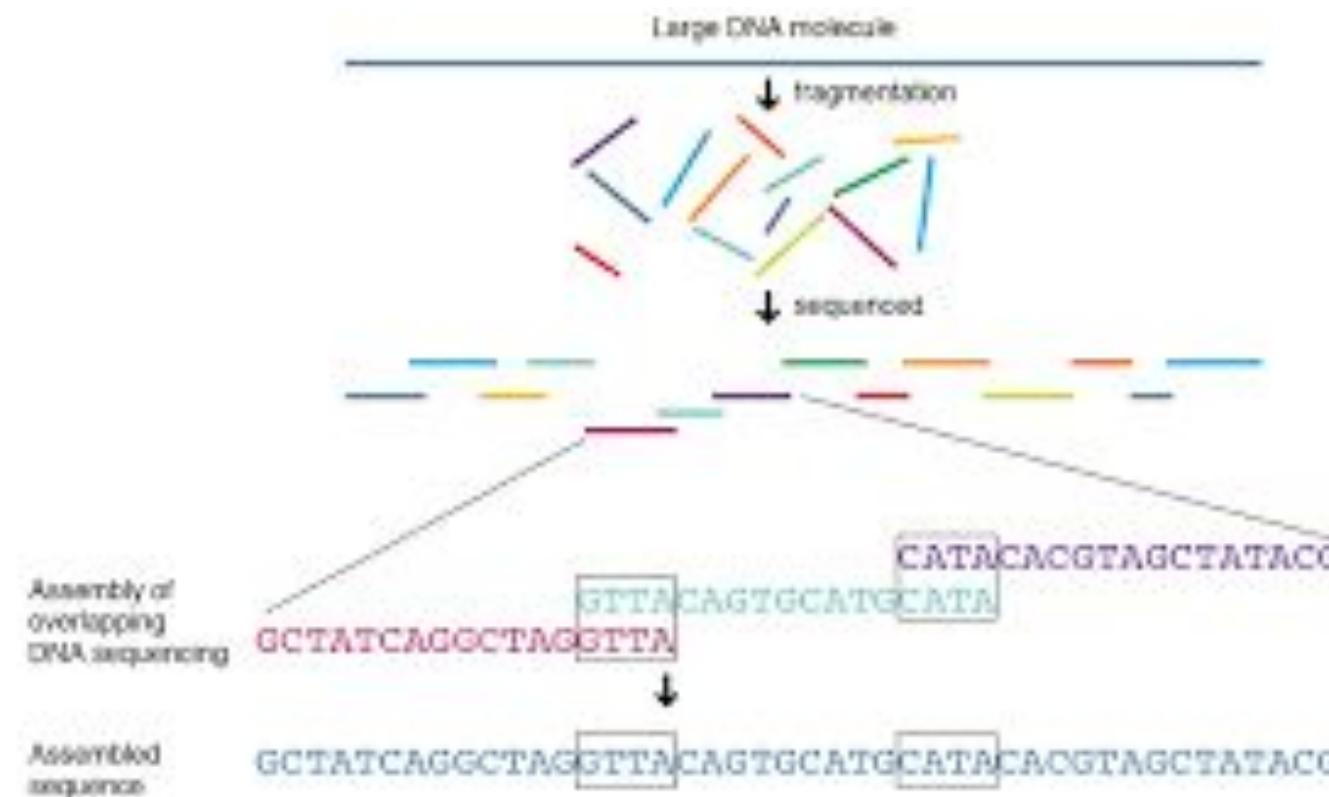


Next-Generation Sequencing

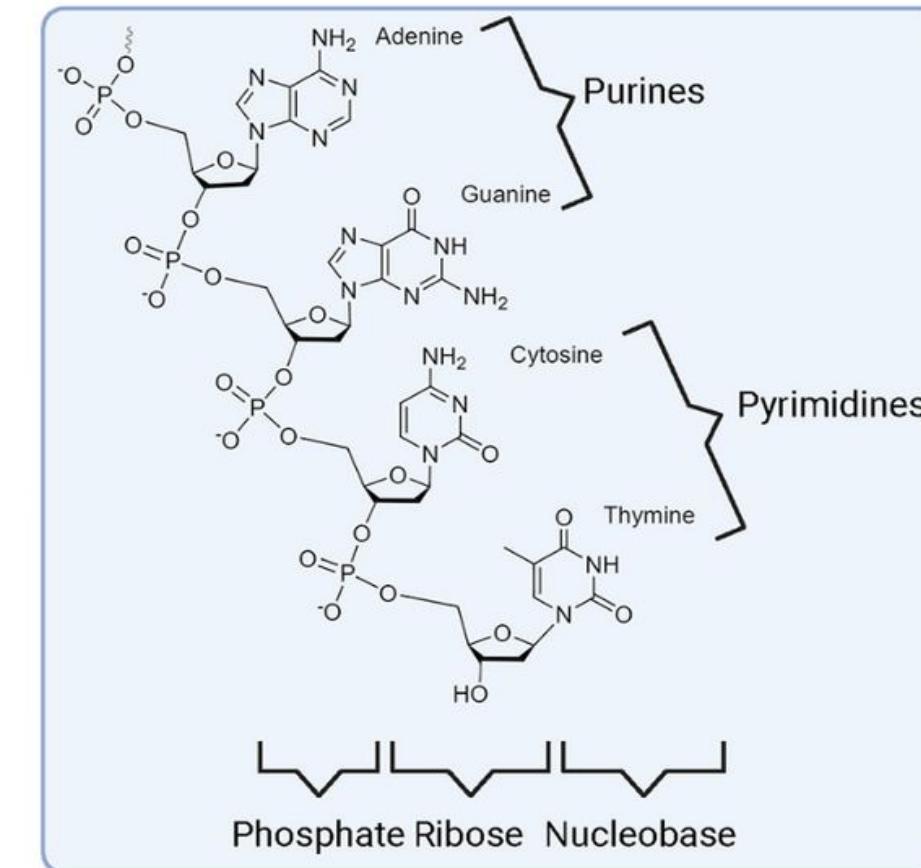
Sequencing Principle

Pendekatan untuk menentukan urutan nukleotida dalam molekul DNA.

Pendekatan ini digunakan untuk memahami informasi genetik, mengidentifikasi gen dan mutasi, serta mendukung penelitian di bidang kedokteran, forensik, evolusi, dan bioteknologi.



Co-funded by
the European Union

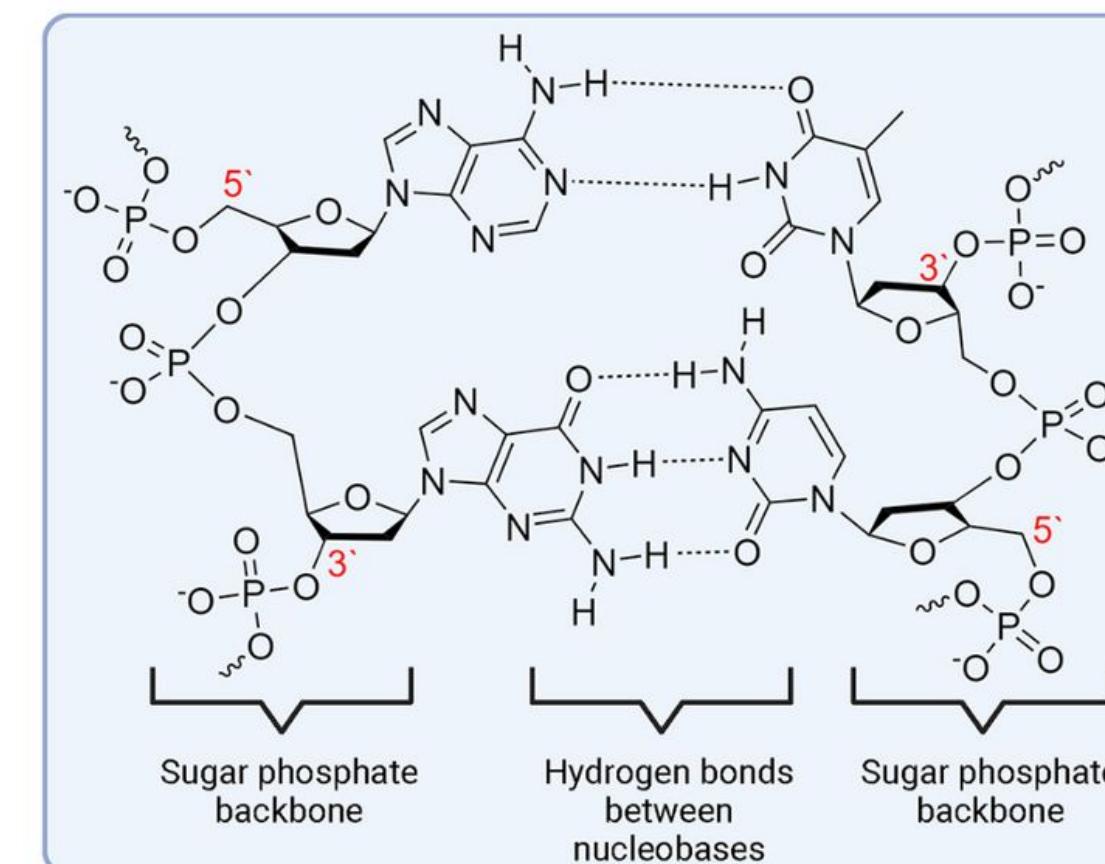


Nitrogen base

Purin



Pirimidin



Pasangan basa:



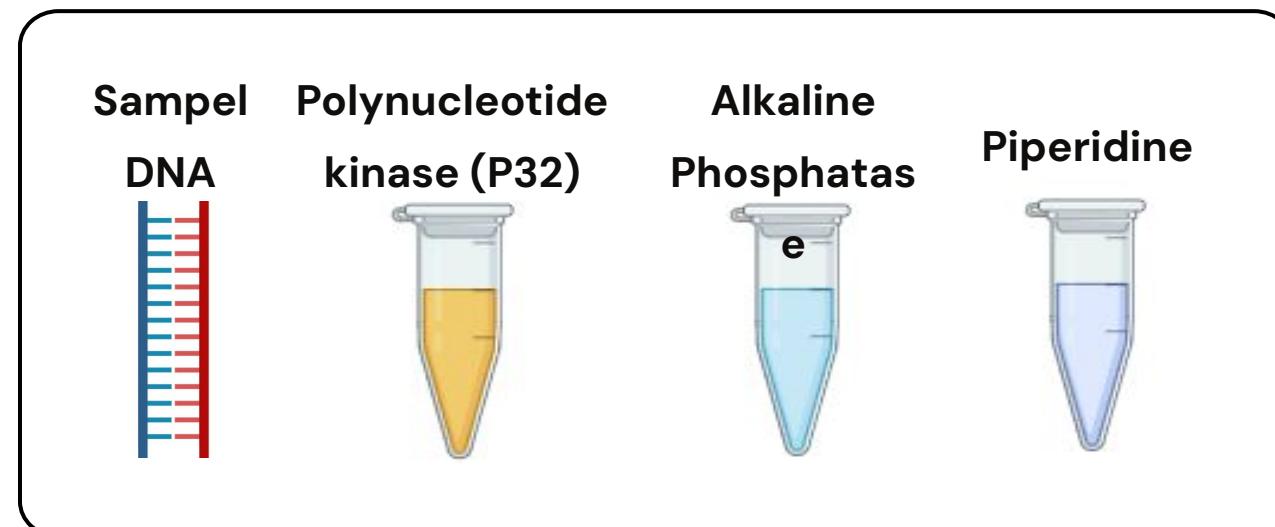
Two hydrogen bonds



Three hydrogen bonds

Next-Generation Sequencing

Maxam-Gilbert Sequencing



Chemical

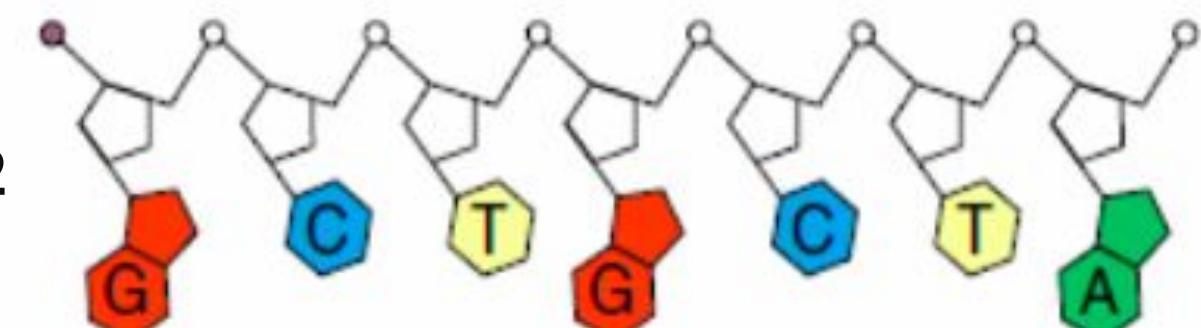
| Reagents | | Hydrazin | Hydrazine + NaCl |
|------------------|-------------|----------|------------------|
| Dimethyl Sulfate | Formic Acid | e | |
| Guanine | Guanine | T C | |
| | + | | |
| Adenine | Cytosine | | |
| Purin | Pirimidin | | |



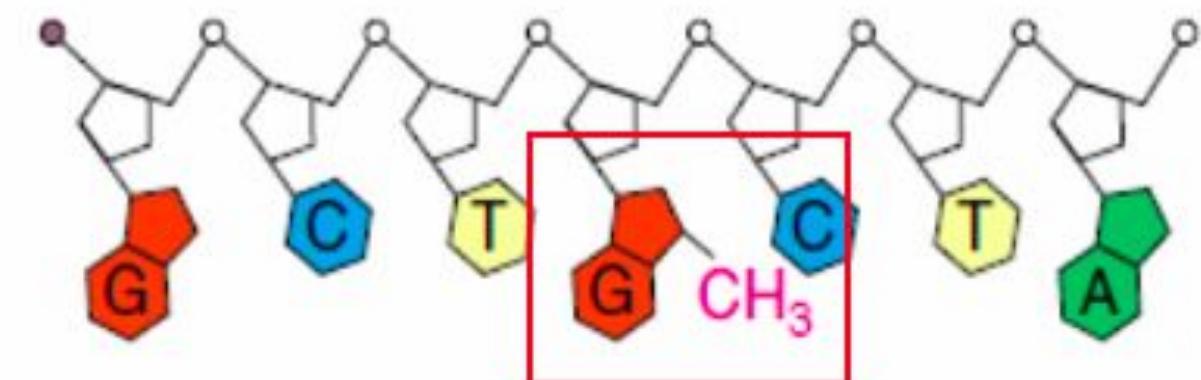
Co-funded by
the European Union

Adkar-Purushothama & Perreault 2020; Rupeika et al. 2024

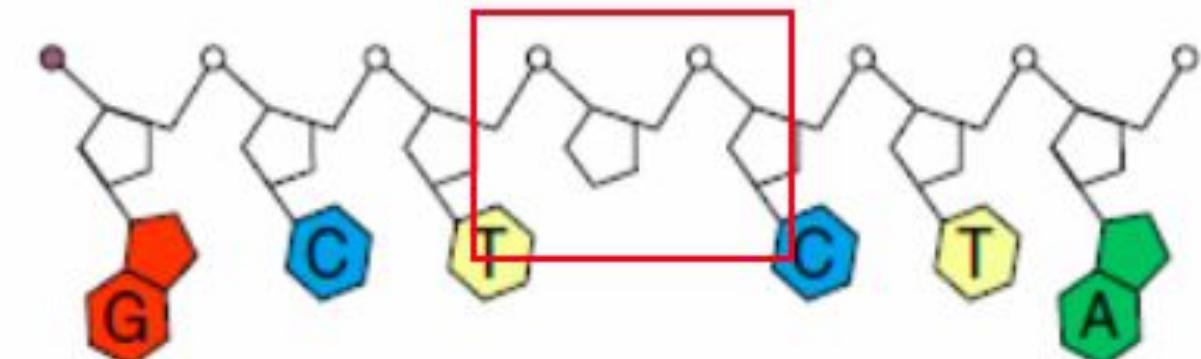
DNA is labeled at one end with P-32



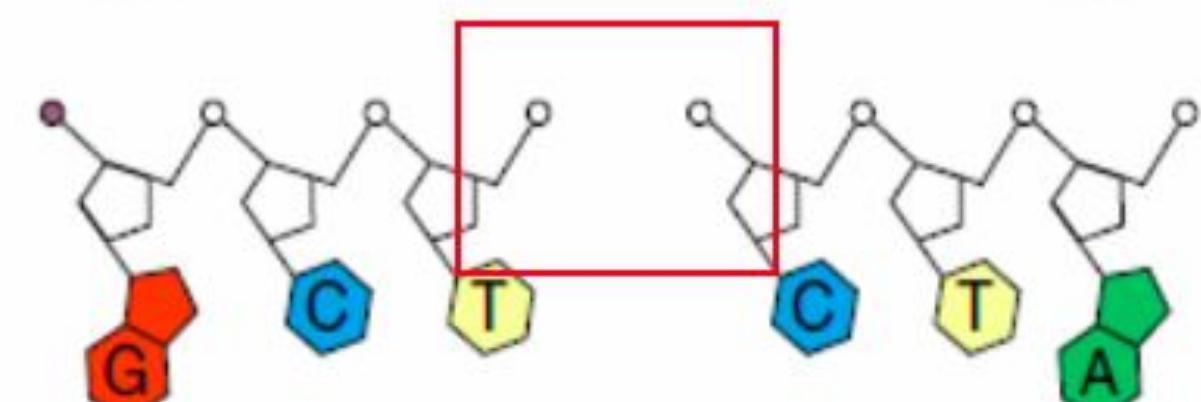
Base modification



Release of reactive bases

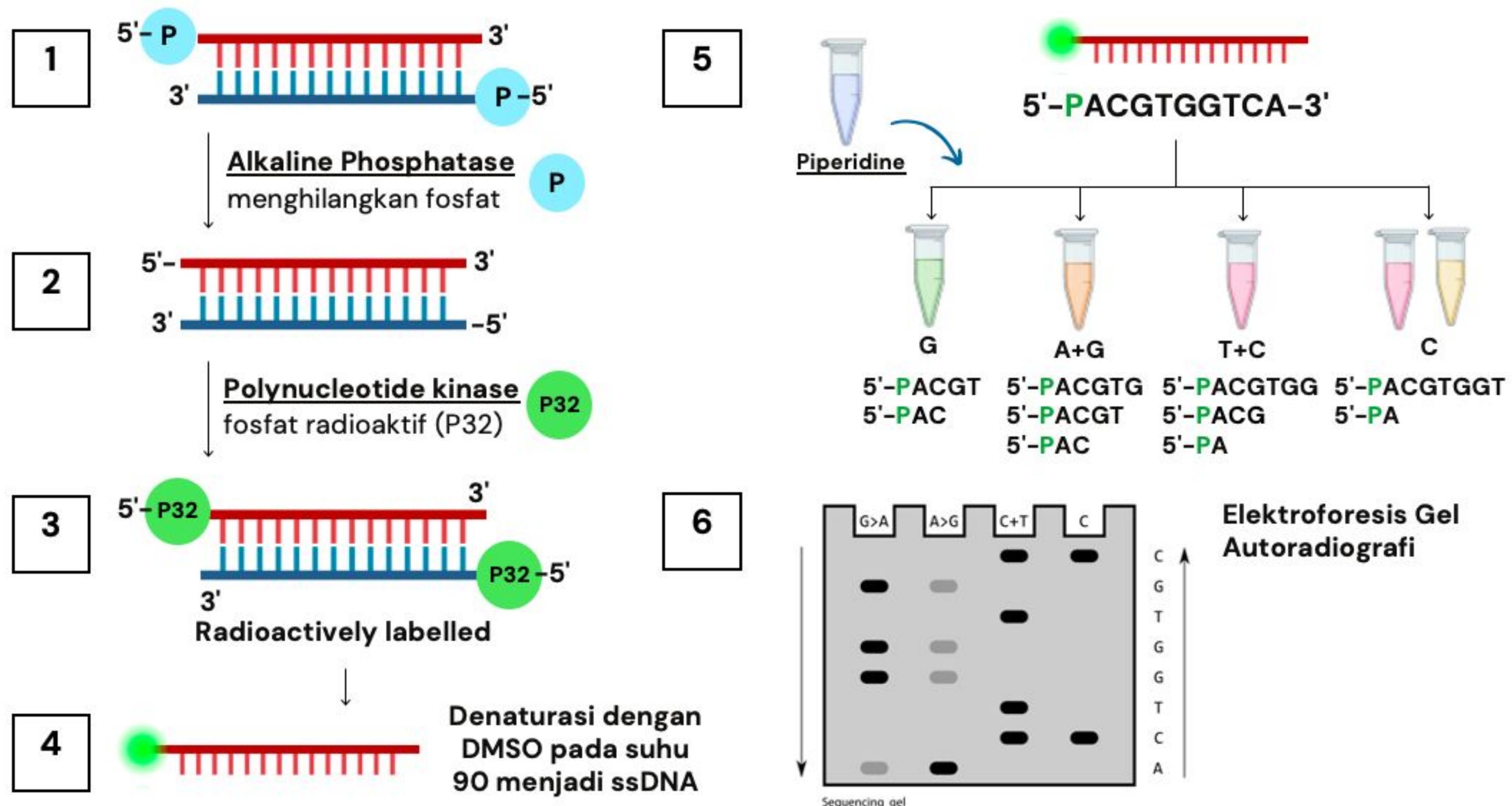


Strand cleavage



Next-Generation Sequencing

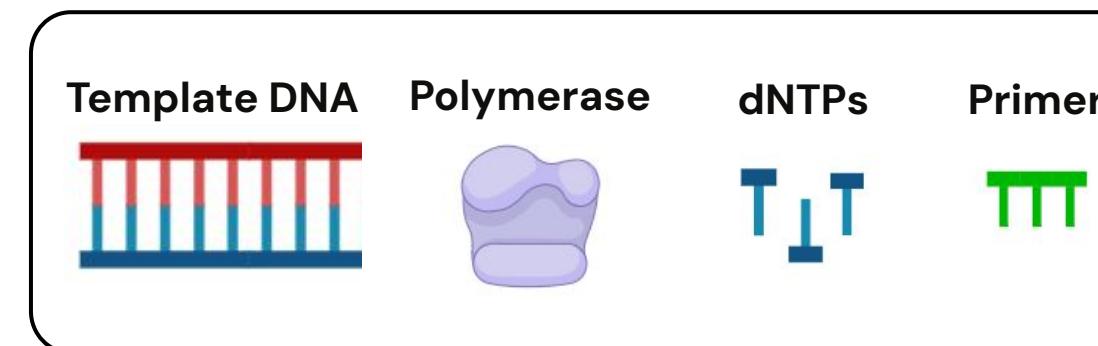
Maxam-Gilbert Sequencing



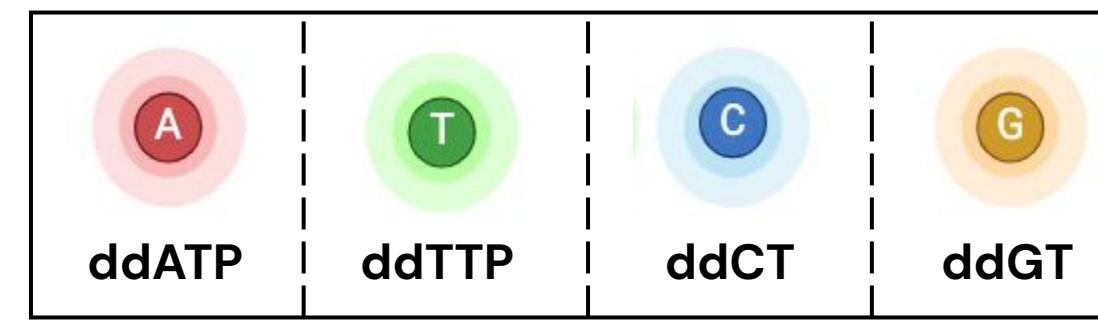
Next-Generation Sequencing

Sanger Sequencing

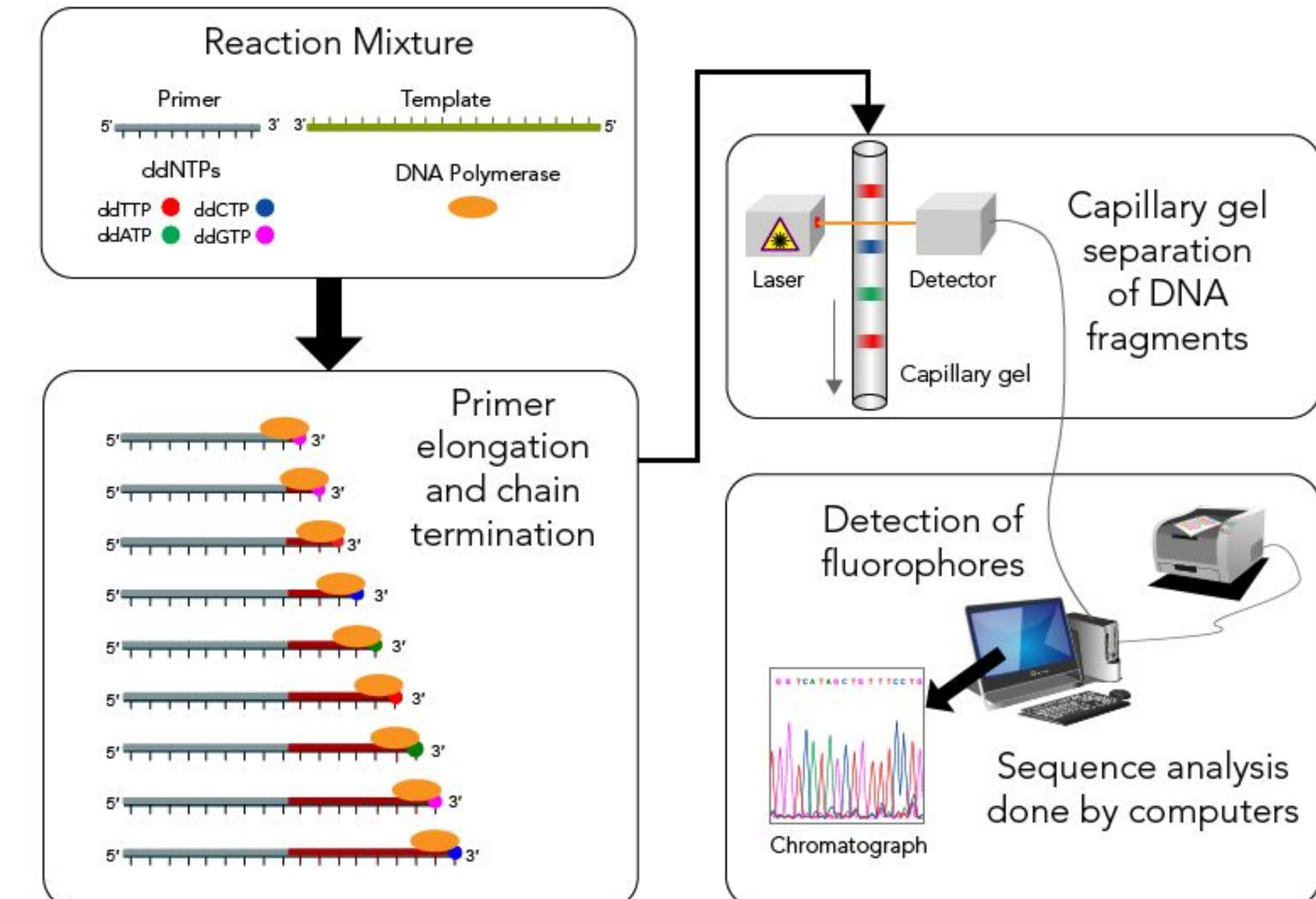
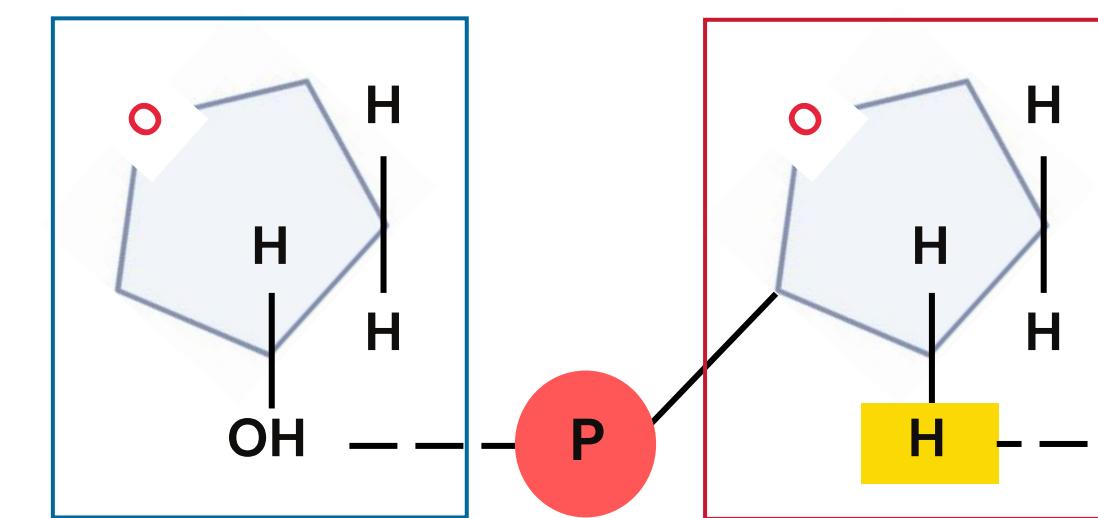
Component



dideoksinukleotida (ddNTPs)



dNTPs ddNTPs





Next-Generation Sequencing

Next-Generation Sequencing

Step 1:

DNA Extraction

Step 2:

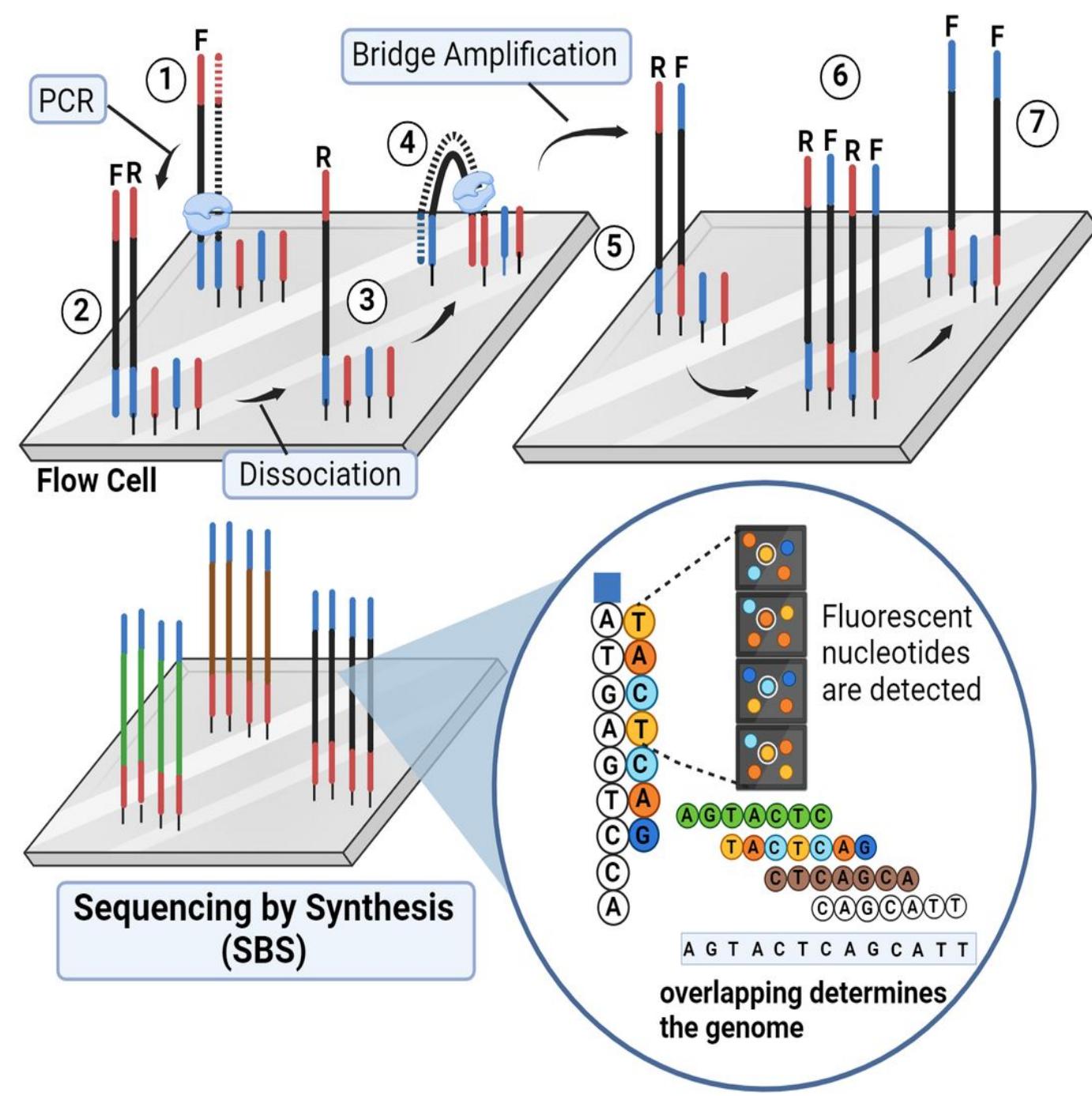
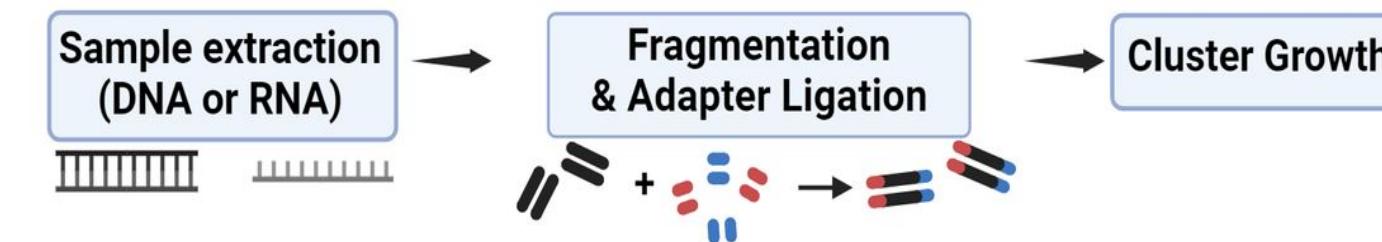
Library Preparation

Step 3:

Sequencing

Step 4:

Analysis



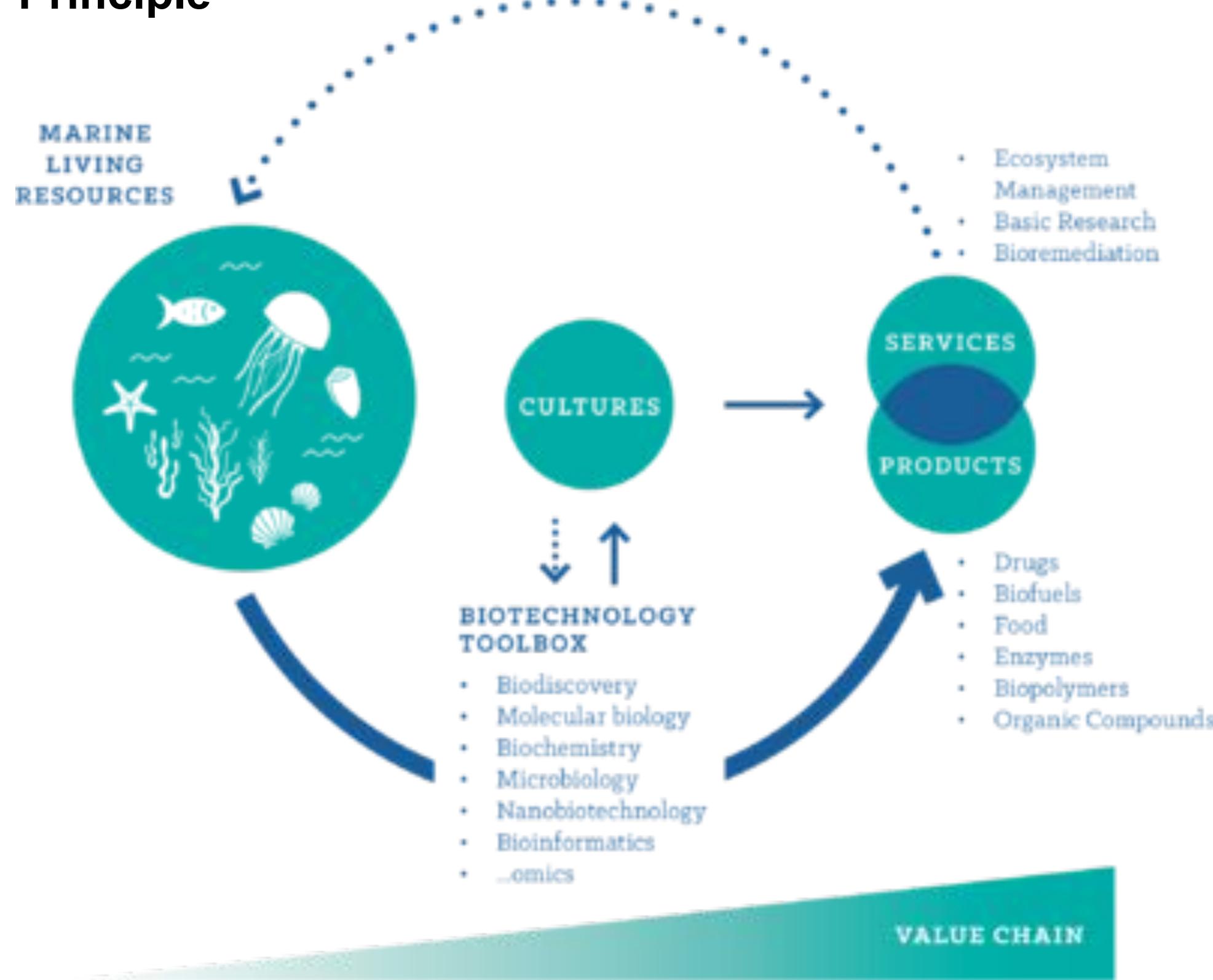
DNA fragments (+adapters) attach to complementary oligonucleotides on the flow

The reverse strand is synthesized, then the double-stranded DNA is denatured, and the original DNA strands are amplified through bridge amplification; the strand folds, and its free end binds to the nearest oligonucleotide, forming a double-stranded bridge, which is then denatured again.

After each amplification cycle, a laser scans the flow cell to activate fluorescent labels on the nucleotide bases.

The light is detected by a computer, and the overlapping bases will determine the genome sequence.

Marine Biotechnology Principle



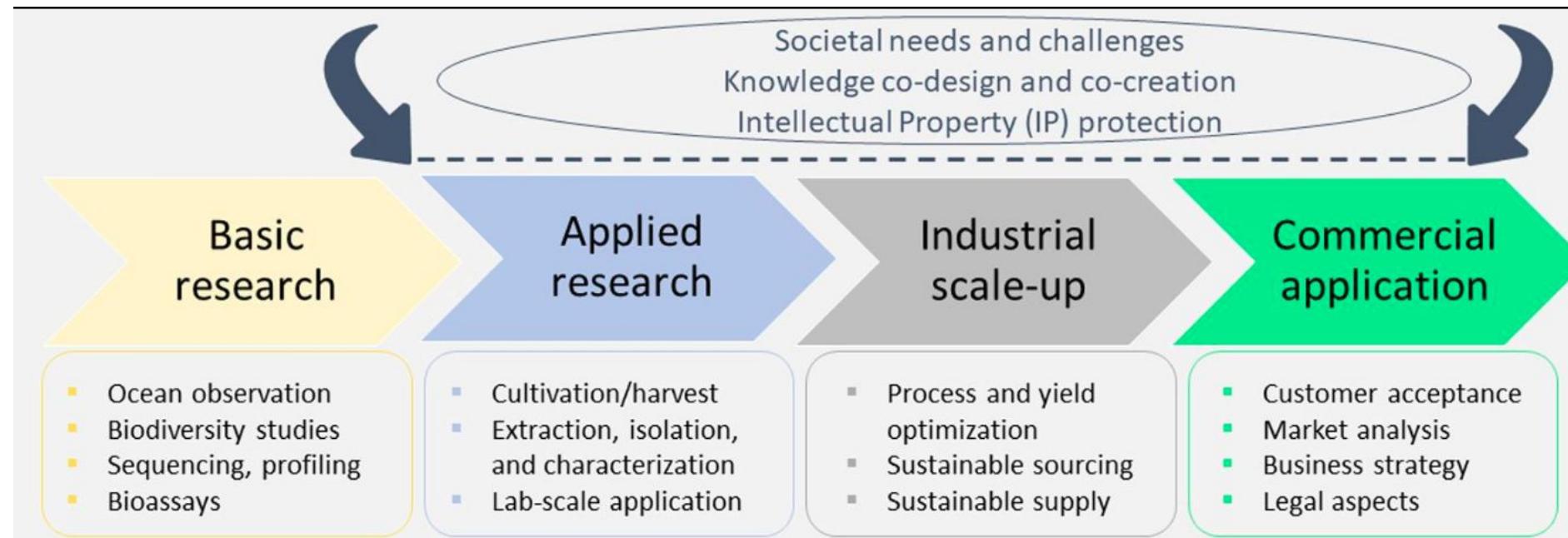
Pendekatan untuk menentukan urutan nukleotida dalam molekul DNA.

Pendekatan ini digunakan untuk memahami informasi genetik, mengidentifikasi gen dan mutasi, serta mendukung penelitian di bidang kedokteran, forensik, evolusi, dan bioteknologi.

Pendekatan ini digunakan untuk memahami informasi genetik, mengidentifikasi gen dan mutasi, serta mendukung penelitian di bidang kedokteran, forensik, evolusi, dan bioteknologi.

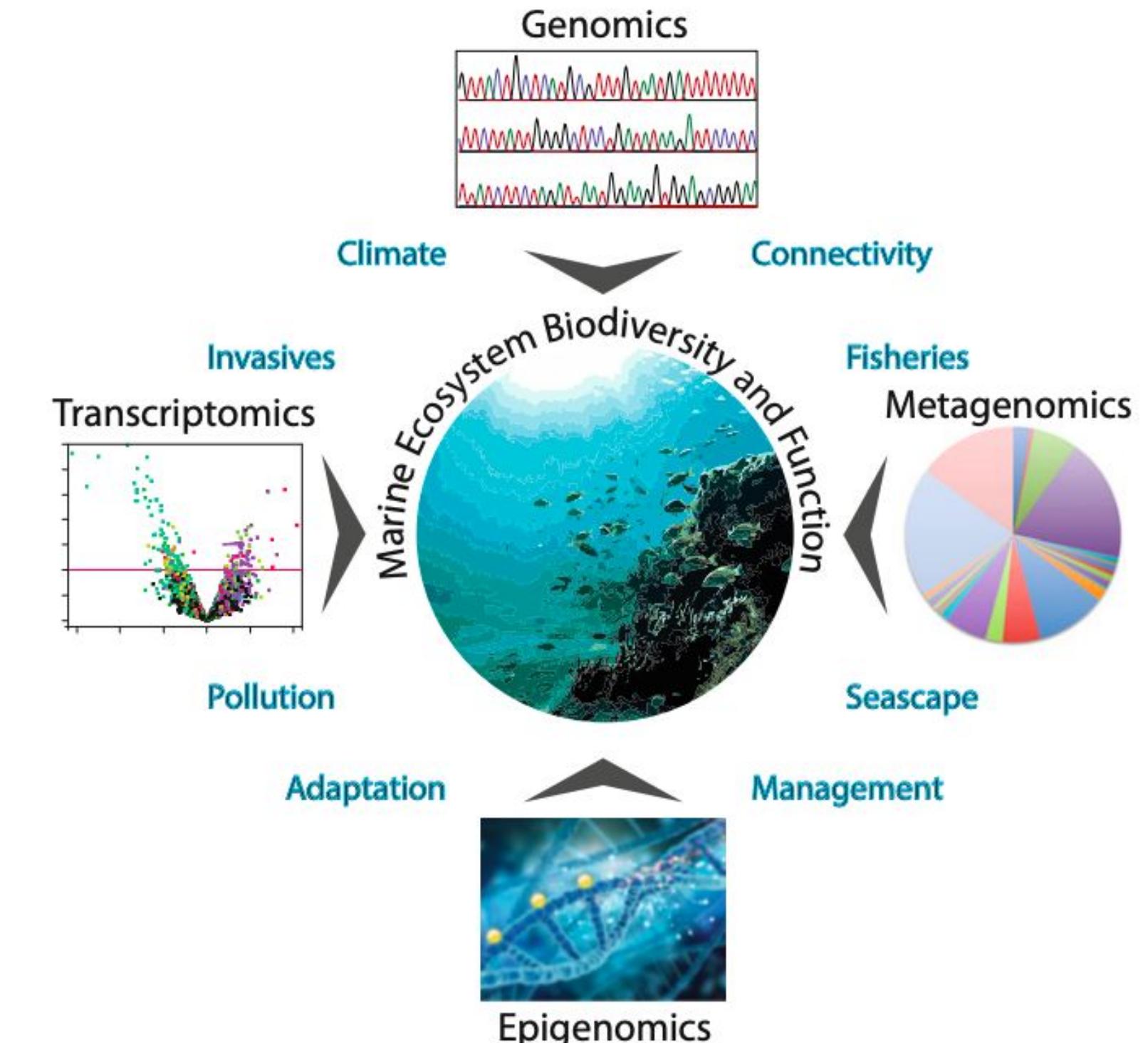


Marine Biotechnology Principle

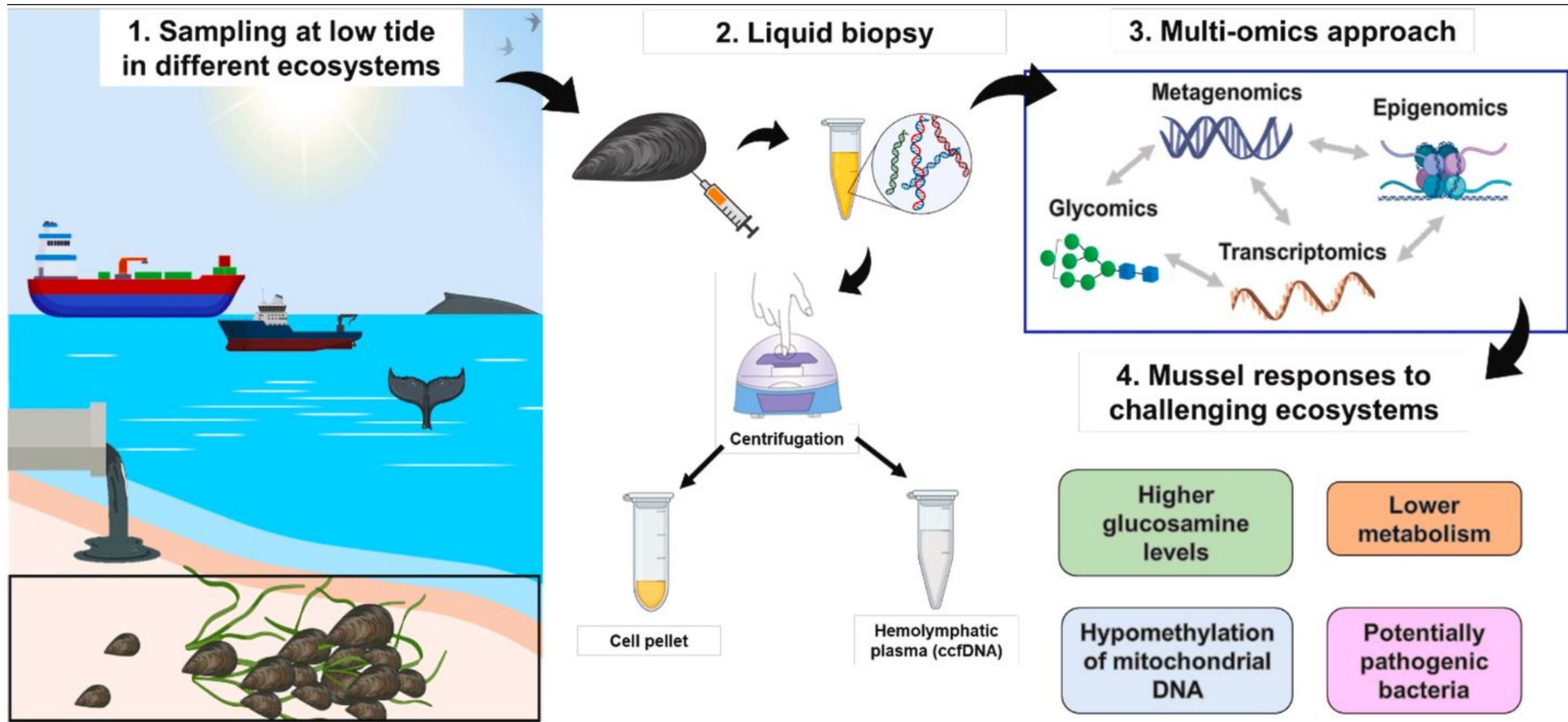


Alur Kerja Bioteknologi Maritim

- Penjelajahan dan bioprospeksi
- Uji laboratorium
- Validasi kebutuhan pasar
- Desain bersama dan penciptaan bersama
- Keterlibatan publik
- Peningkatan skala produksi dan komersialisasi

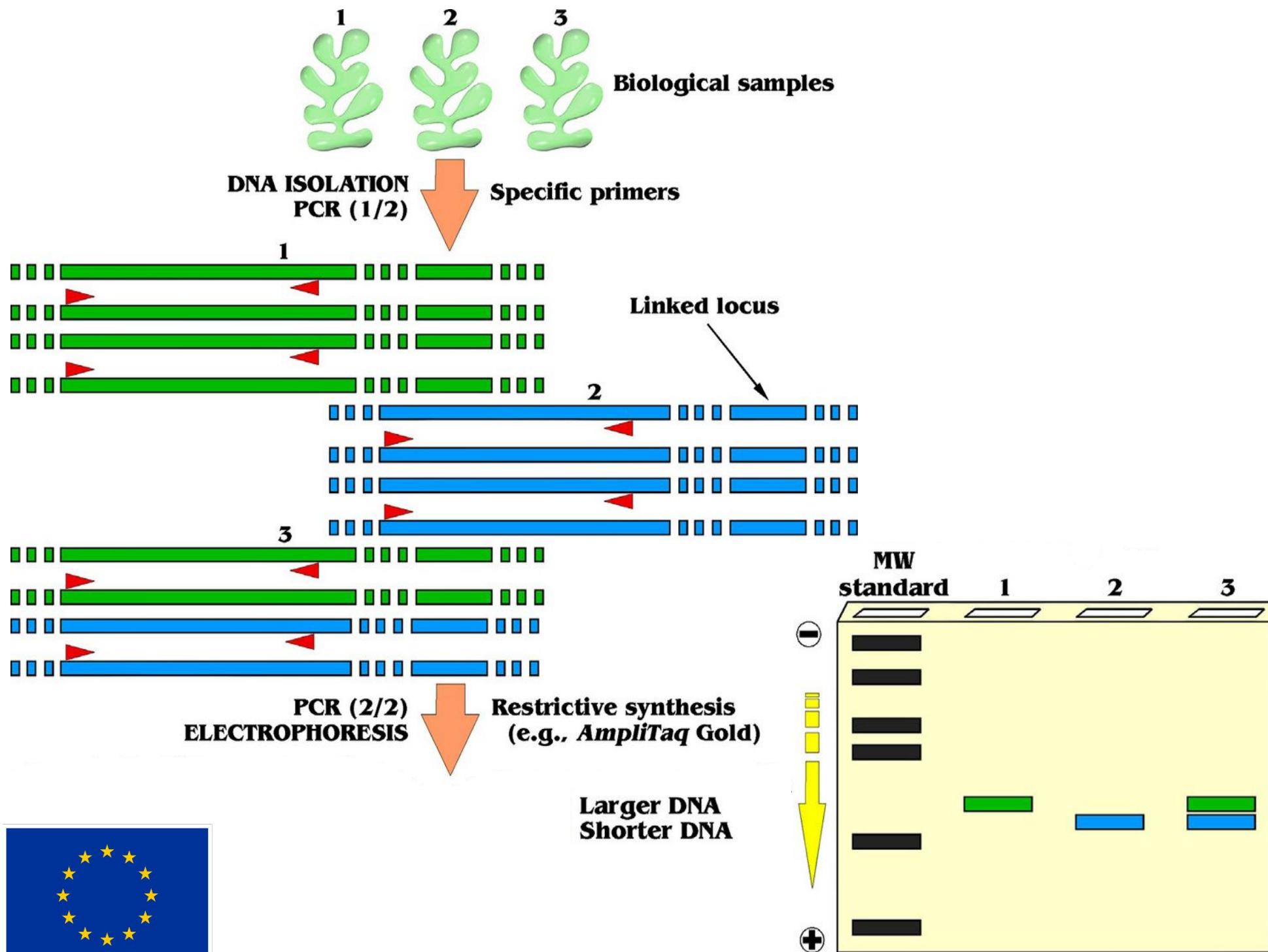


Marine Biotechnology Principle



Microsatellite-based diversity detection

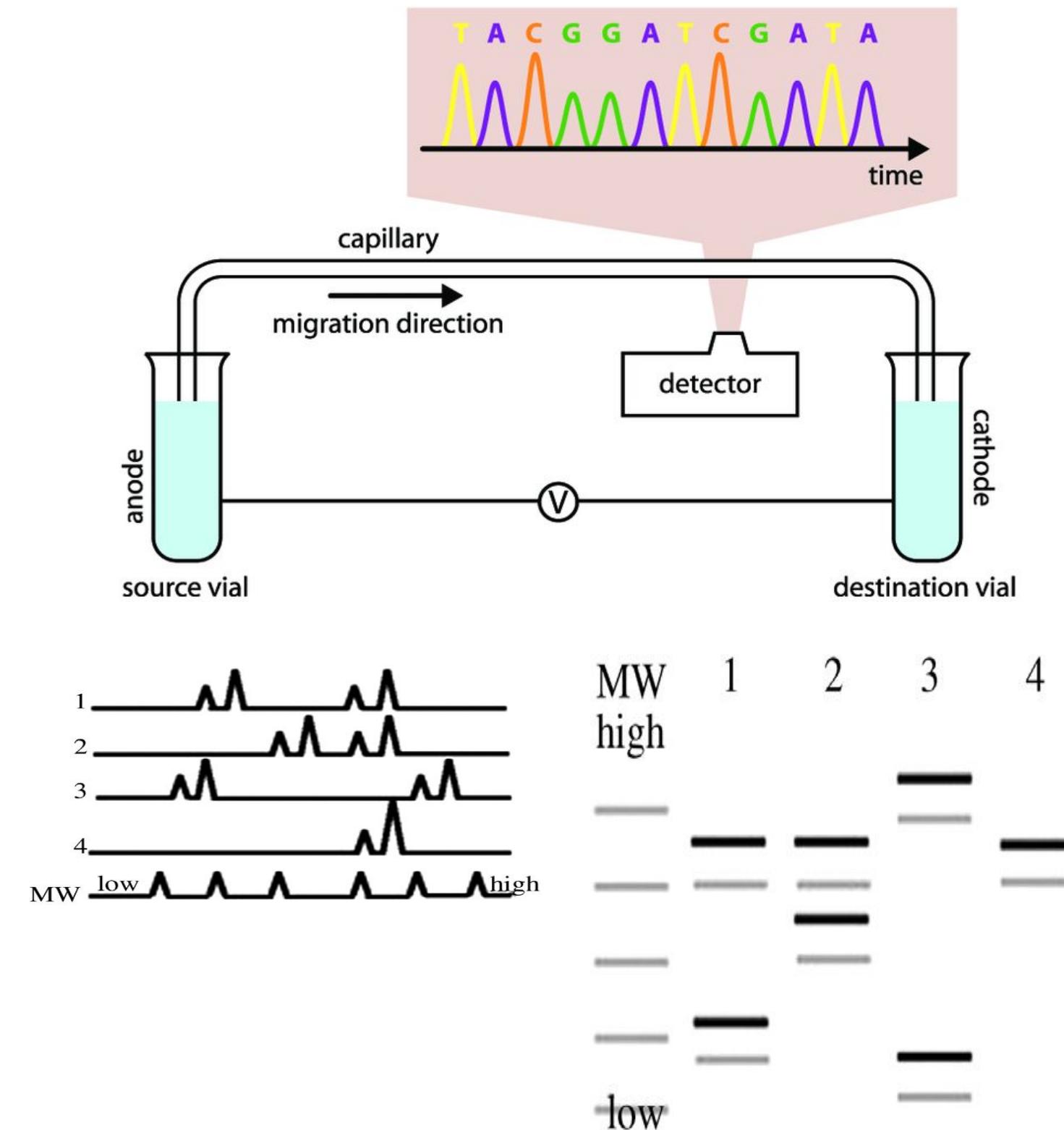
Polyacrylamide Gel Electrophoresis



Co-funded by
the European Union

Dorado et al. 2015; Marwal & Gaur 2020

Capillary Electrophoresis





SustainaBlue

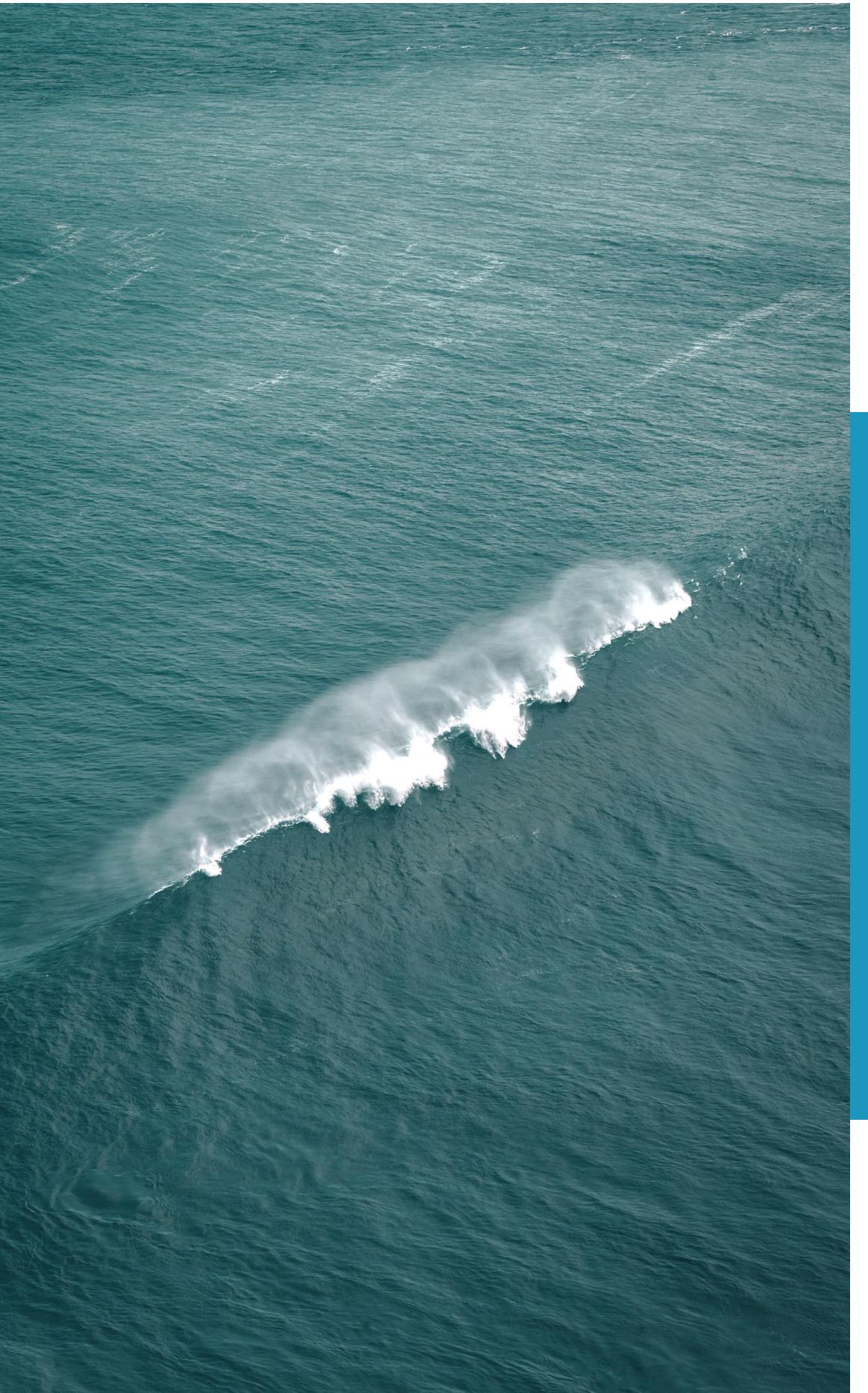
HEIs stands for Higher Education Institutions

02

DNA Barcoding Technology in Species Identification and Biodiversity Analysis



Co-funded by
the European Union

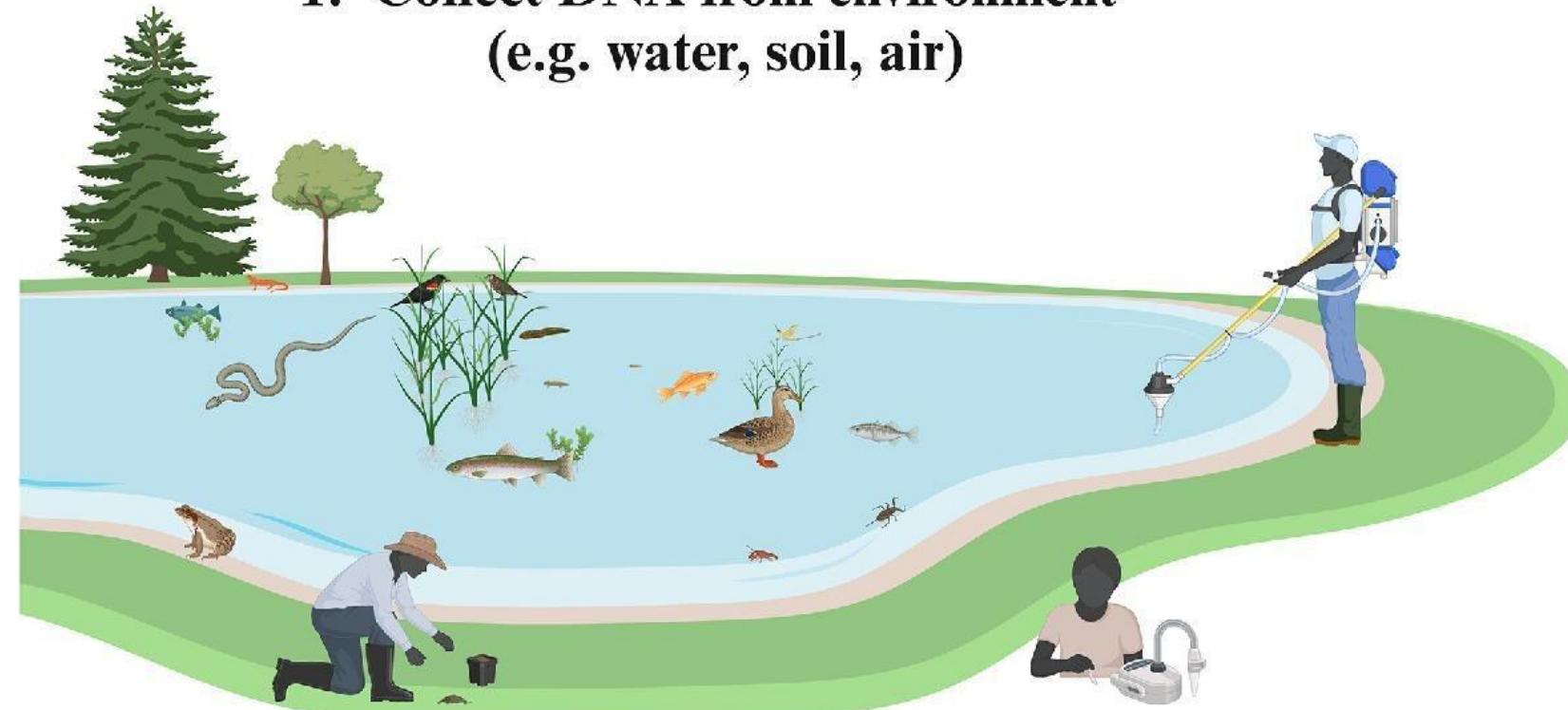




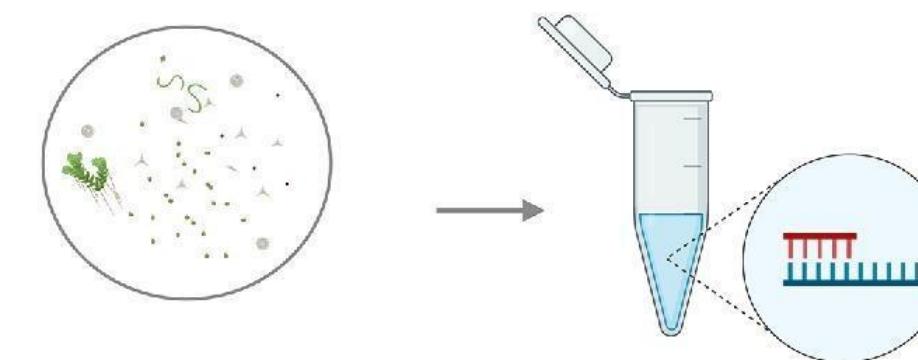
DNA Barcoding

Marine Biodiversity Exploration

1. Collect DNA from environment (e.g. water, soil, air)



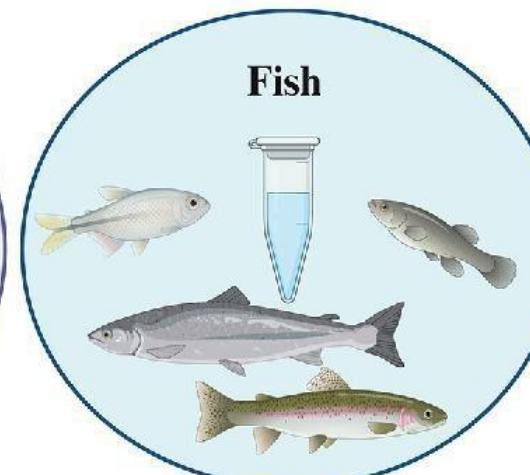
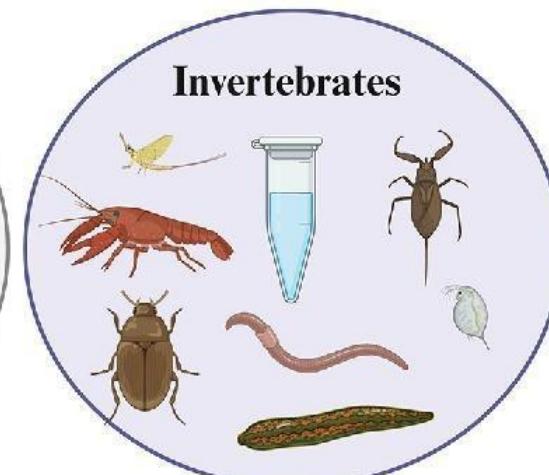
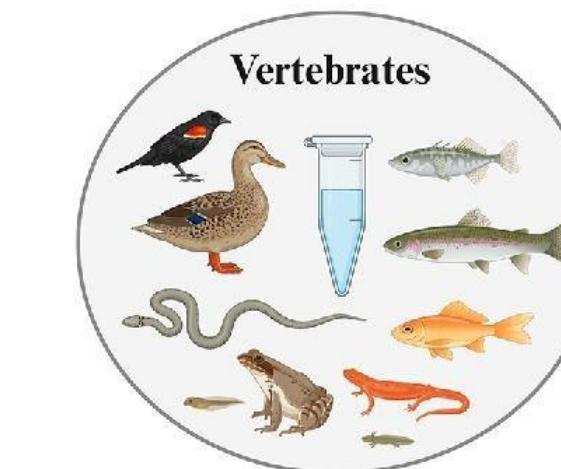
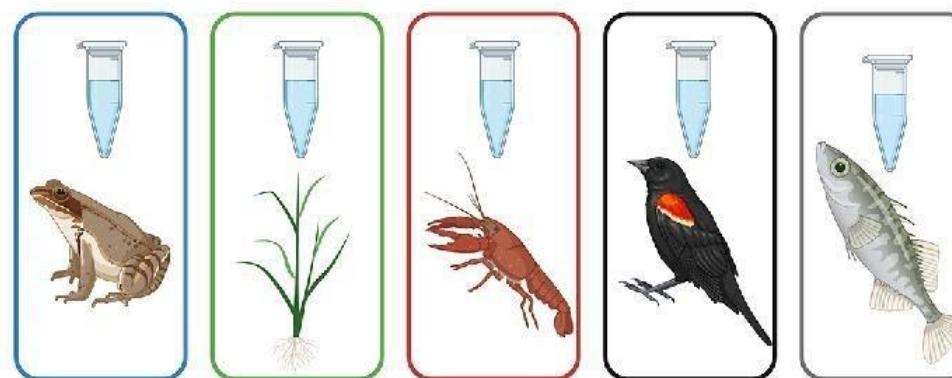
2. Extract eDNA from sample



Environmental sample

eDNA in buffer

3. Analyze eDNA



Option 1: Targeted detection of a single species
(qPCR)

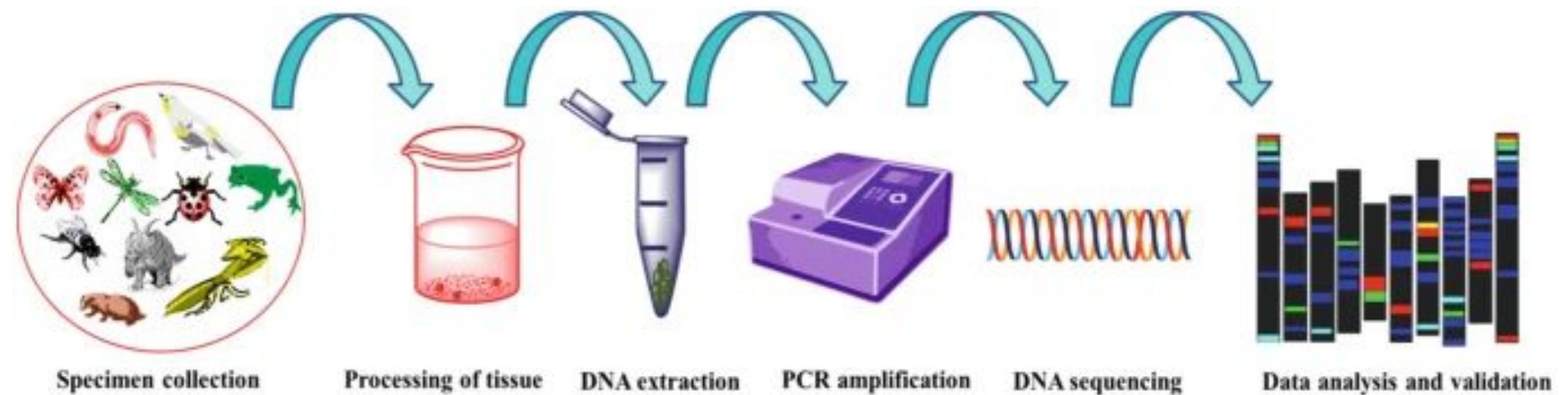
Option 2: Targeted community detection (DNA metabarcoding)



DNA Barcoding

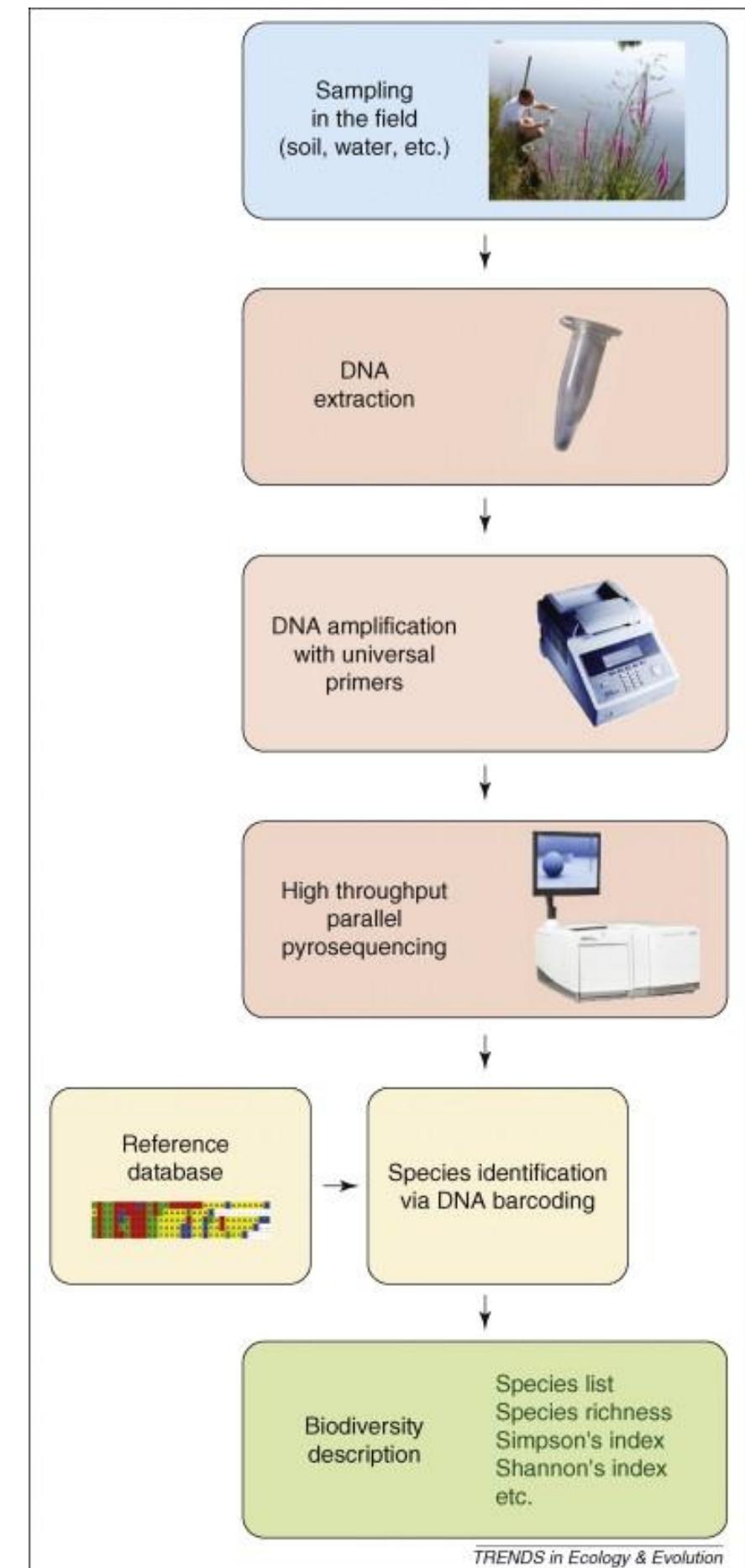
Marine Biodiversity Exploration

DNA barcoding adalah metode untuk mengidentifikasi spesies biologis menggunakan segmen DNA genetik yang pendek dan standar. Pendekatan ini bergantung pada urutan DNA spesifik yang konservatif dalam suatu spesies tetapi bervariasi antar spesies.



Co-funded by
the European Union

Valentini et al. 2009; Suriya et al. 2020



TRENDS in Ecology & Evolution



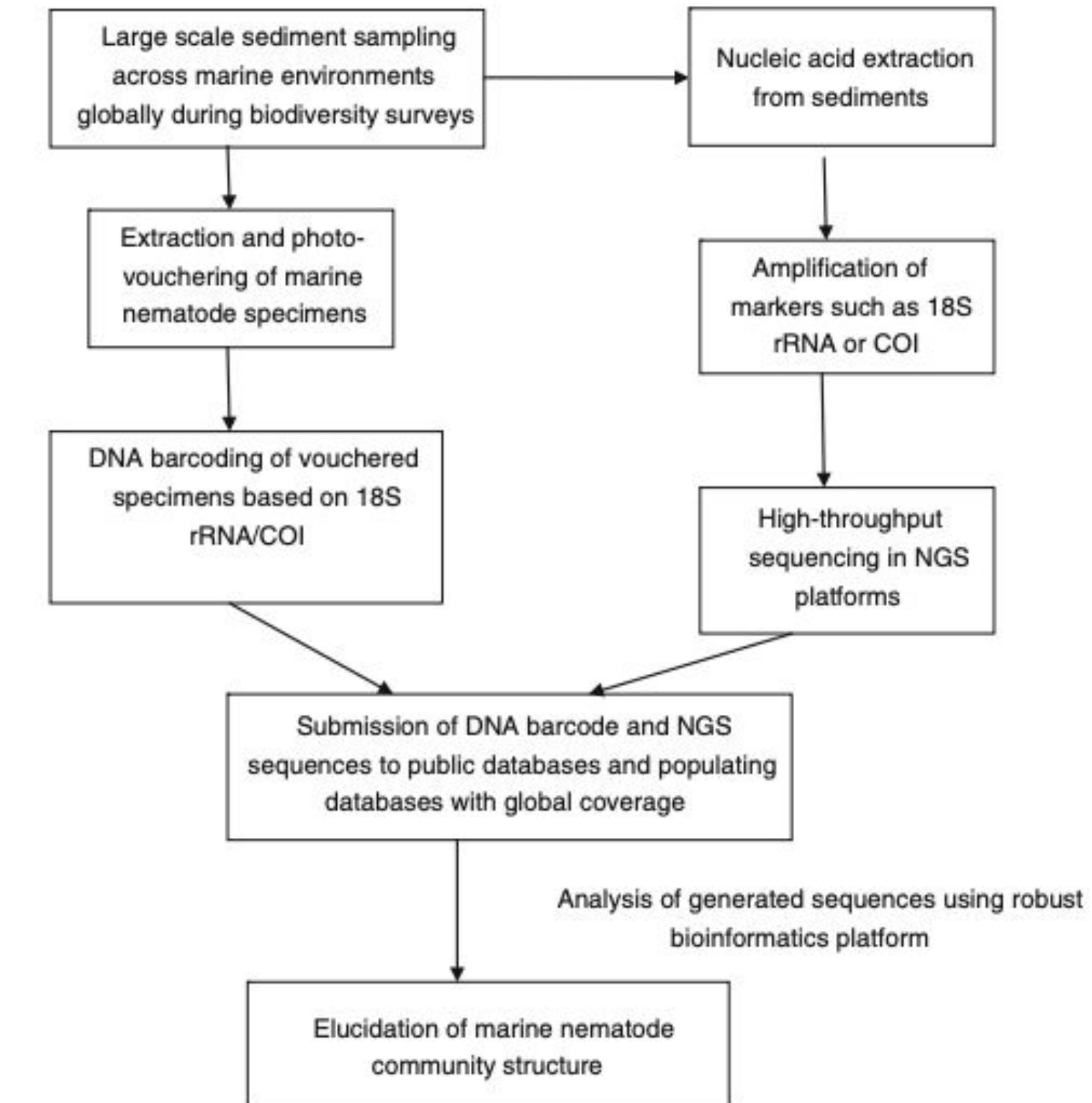
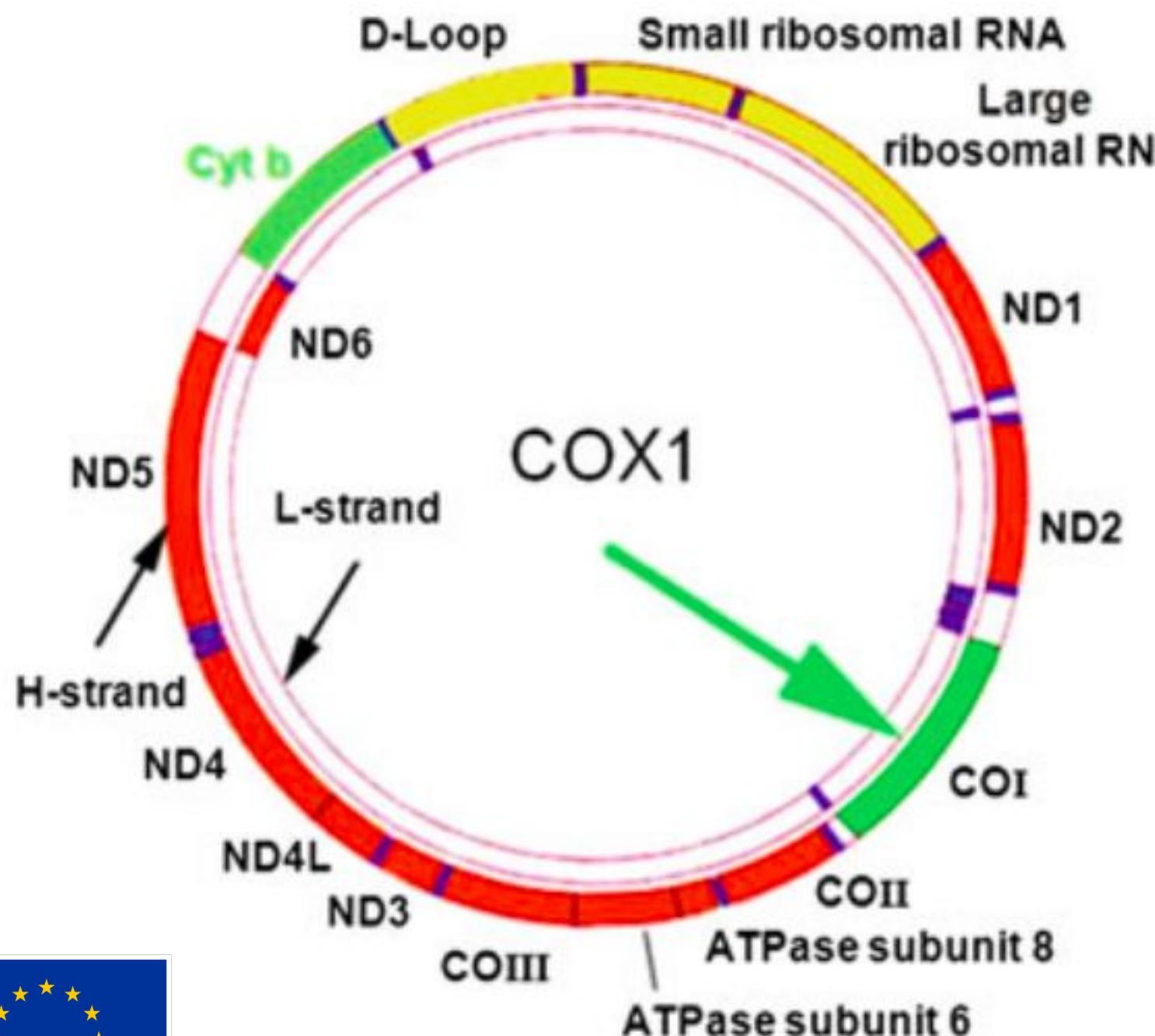
Marine Biodiversity Exploration

| | | |
|----------|--|---|
| Animals | Cytochrome c oxidase subunit I (COI) | <ul style="list-style-type: none"> Located in mitochondrial DNA (mtDNA) Standard marker for animal DNA barcoding |
| Plants | <ul style="list-style-type: none"> Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase large subunit (<i>rbcL</i>) Maturase K (<i>matK</i>) | <ul style="list-style-type: none"> <i>rbcL</i> and <i>matK</i> are in the chloroplast DNA (cpDNA) <i>rbcL</i> is widely used for its broad utility across plant taxa. <i>matK</i> shows greater variation than <i>rbcL</i>, making it useful for species-level identification. |
| Fungi | Internal transcribed spacer (ITS) region | Located between the 18S, 5.8S, and 28S ribosomal RNA genes |
| Bacteria | 16S ribosomal RNA (16S rRNA) | Part of the bacterial ribosomal DNA. |



DNA Barcoding

Marine Biodiversity Exploration

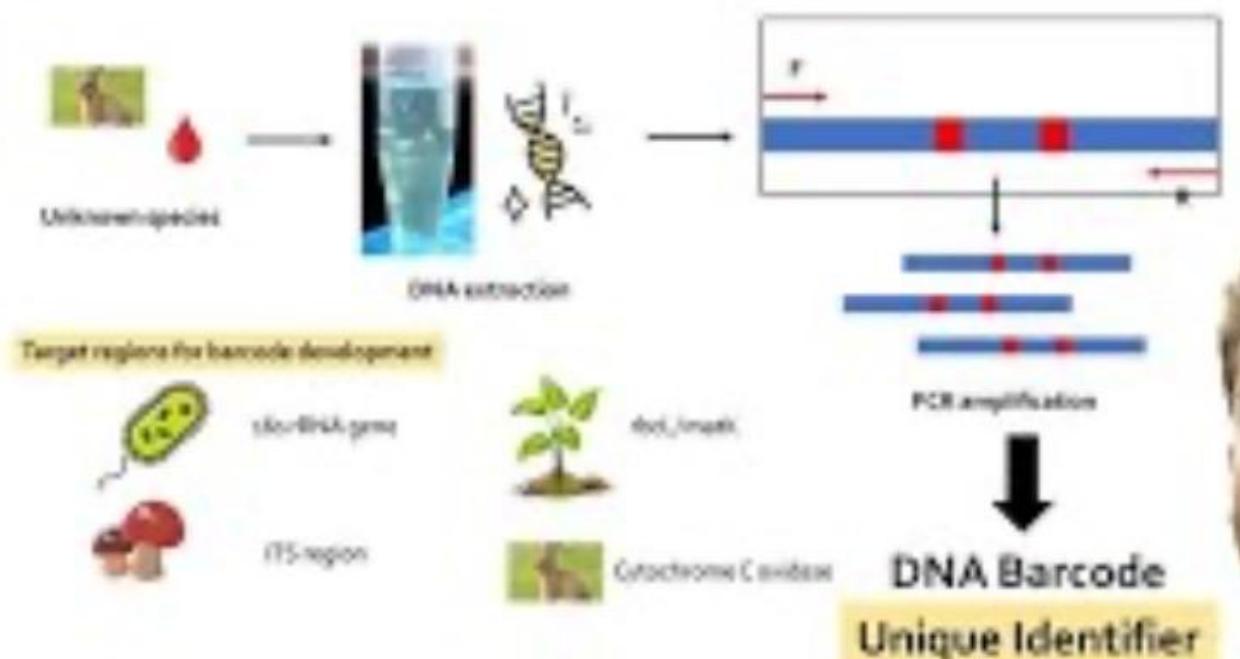


DNA Barcoding

How DNA Barcoding works ?



Similar in appearance





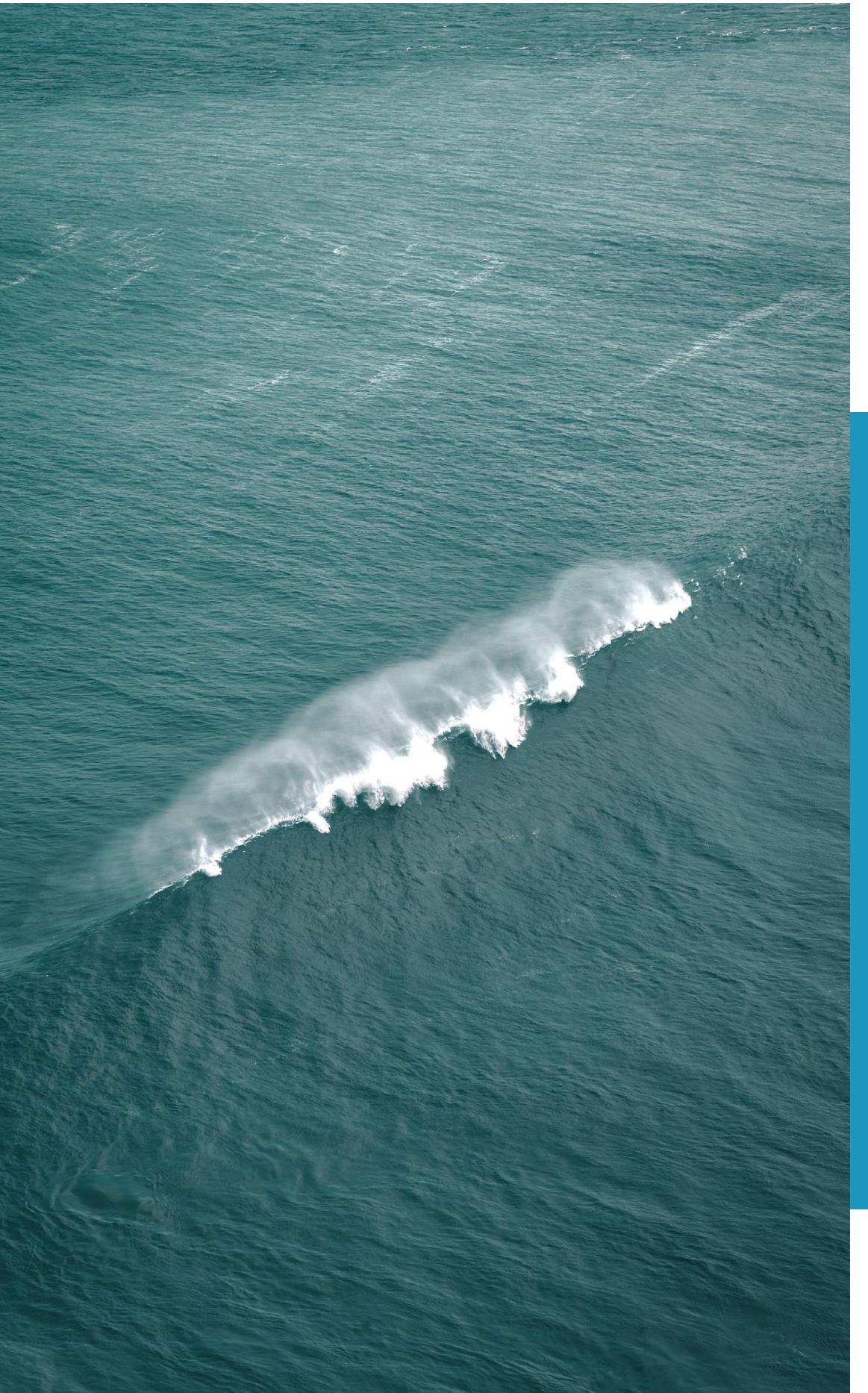
SustainaBlue
HEIs stands for Higher Education Institutions

03

Aplikasi Omics dan DNA Barcoding dalam Konservasi, Perikanan, dan Bioprospeksi



Co-funded by
the European Union



Aplikasi Pendekatan Omiks dan DNA Barcoding

Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang

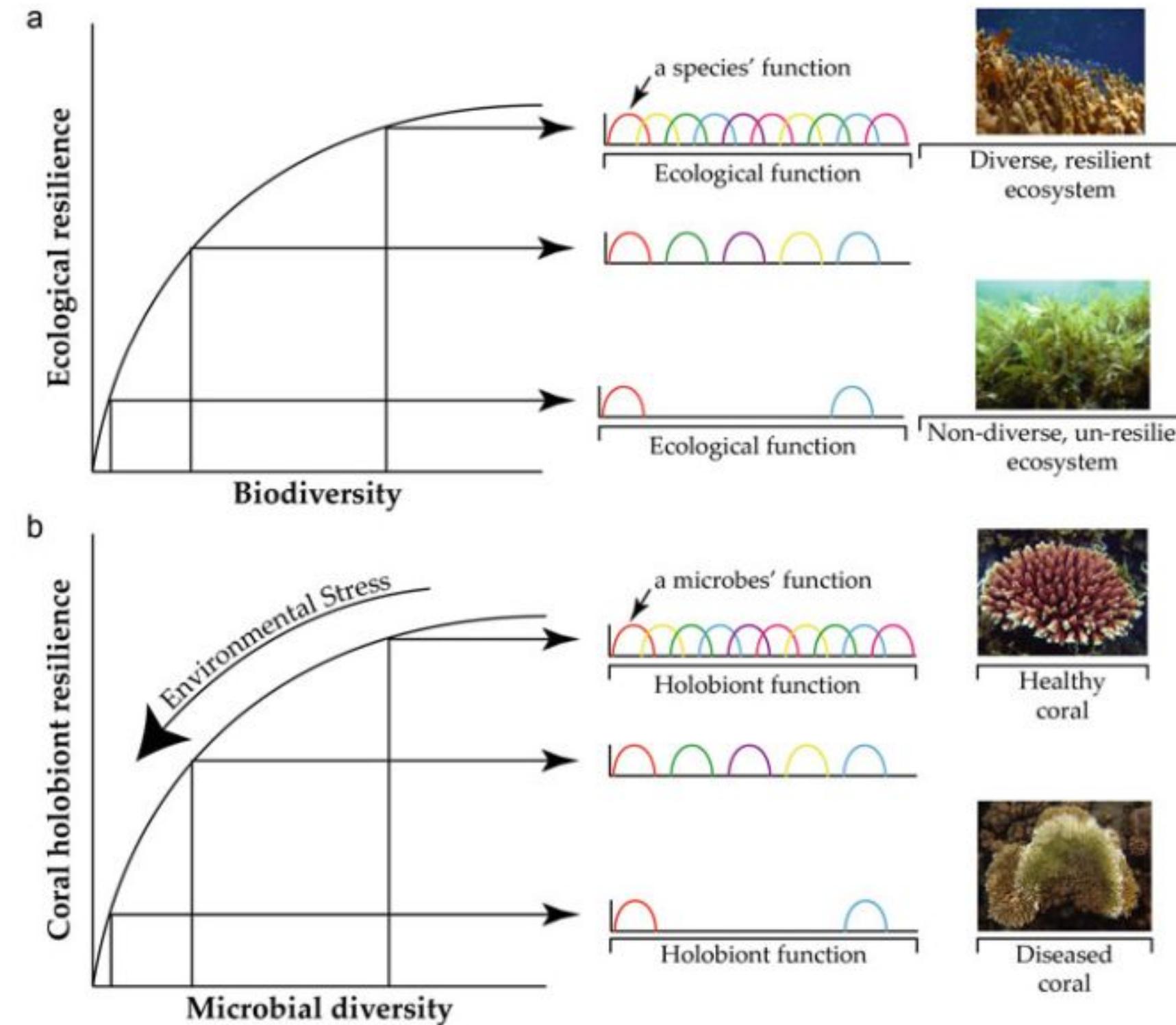
| Stressor | Coral species | Microbial response | Source |
|------------------------------|---|--|---|
| Thermal changes | <i>Acropora muricata</i> | Shift towards <i>Verrucomicrobiae</i> - and α - <i>Proteobacteria</i> -dominated community | Lee et al. (2015) |
| Pollution/proximity to shore | <i>Orbicella faveolata</i> , <i>Porites astreoides</i> ; <i>Orbicella annularis</i> | Increase in bacterial diversity | Morrow et al. (2012); Klaus et al. (2007) |
| Pathogens | <i>Diploria strigosa</i> , <i>Siderastrea siderea</i> ; <i>Orbicella faveolata</i> | Increase in α - <i>Proteobacteria</i> , decrease in β - and γ - <i>proteobacteria</i> ; increase in diversity and <i>Rhodobacterales</i> | Cárdenas et. al. (2012); Sunagawa et al. (2009) |
| Eutrophication | <i>Acropora hemprichii</i> | Increase in diversity | Jessen et al. (2013) |
| Salinity | <i>Fungia granulosa</i> | Increase in abundance of <i>Rhodobacteraceae</i> | Röthig et al. (2016) |

Sensitivitas mikroorganisme dan kemampuannya untuk menunjukkan perubahan yang jelas dalam komposisi dan kelimpahan komunitas sebagai respons terhadap faktor stres spesifik menyoroti potensinya sebagai indikator perubahan dalam ekosistem terumbu karang dan kesehatan inang karang.



Aplikasi Pendekatan Omiks dan DNA Barcoding

Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang



Hipotesis Rivet

Keanekaragaman hayati dalam suatu ekosistem menciptakan redundansi dan komplementaritas fungsional akibat jumlah niche ekologi yang terbatas.

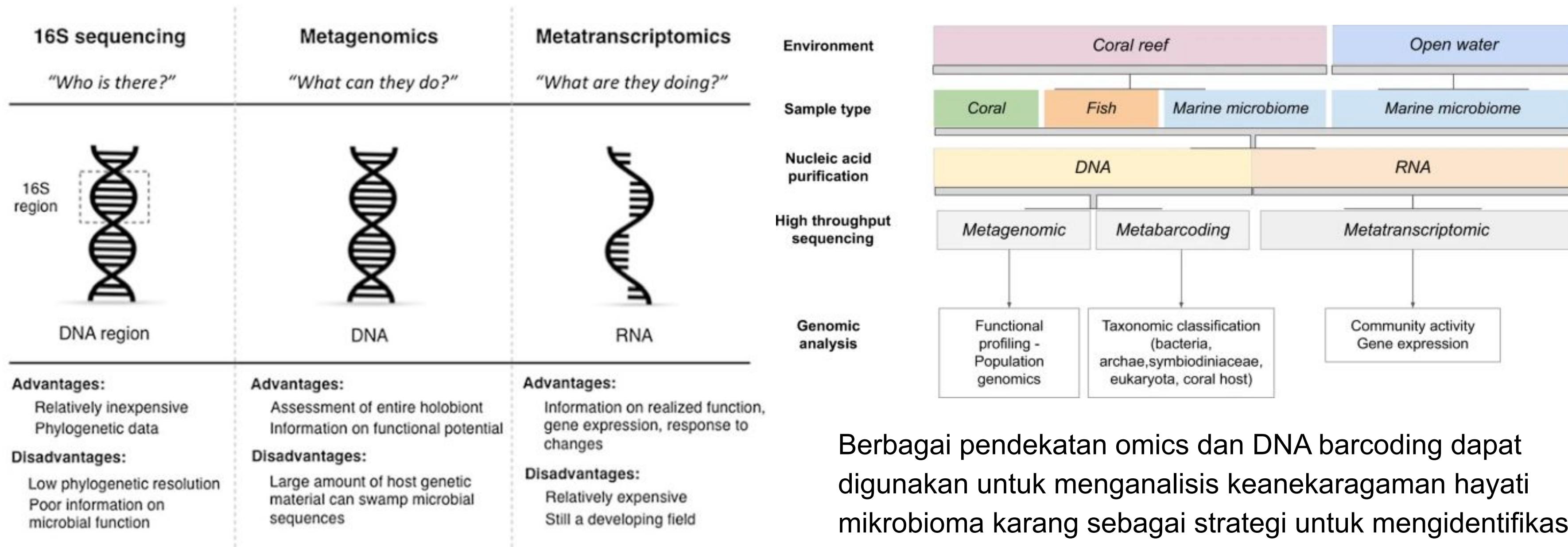
Karena fungsi yang tumpang tindih, ekosistem yang kaya akan keanekaragaman hayati cenderung lebih tahan terhadap perubahan — hilangnya satu atau dua spesies tidak akan secara signifikan mempengaruhi ekosistem secara keseluruhan.

Struktur dan fungsi mikroorganisme dalam holobiont karang dapat mencerminkan peran masing-masing spesies dalam sistem yang sangat beragam.

Mikrobioma karang juga dapat mengalami stres lingkungan dan meresponsnya — yang mengakibatkan penurunan keanekaragaman dan penurunan ketahanan inang karang.



Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang



Co-funded by
the European Union

Boitman et al. 2020; Belser et al. 202

Aplikasi Pendekatan Omiks dan DNA Barcoding

Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang

A Multimarker Approach to Identify Microbial Bioindicators for Coral Reef Health Monitoring—Case Study in La Réunion Island

Pierre-Louis Stenger^{1,2}  · Aline Tribollet³  · François Guilhaumon⁴  · Pascale Cuet⁵  · Gwenaelle Pennober⁶  · Philippe Jourand⁴ 

Received: 3 October 2024 / Accepted: 11 January 2025
© The Author(s) 2025

Abstract

The marine microbiome arouses an increasing interest, aimed at better understanding coral reef biodiversity, coral resilience, and identifying bioindicators of ecosystem health. The present study is a microbiome mining of three environmentally contrasted sites along the Hermitage fringing reef of La Réunion Island (Western Indian Ocean). This mining aims to identify bioindicators of reef health to assist managers in preserving the fringing reefs of La Réunion. The watersheds of the fringing reefs are small, steeply sloped, and are impacted by human activities with significant land use changes and hydrological modifications along the coast and up to mid-altitudes. Sediment, seawater, and coral rubble were sampled in austral summer and winter at each site. For each compartment, bacterial, fungal, microalgal, and protist communities were characterized by high throughput DNA sequencing methodology. Results show that the reef microbiome composition varied greatly with seasons and reef compartments, but variations were different among targeted markers. No significant variation among sites was observed. Relevant bioindicators were highlighted per taxonomic groups such as the Firmicutes:Bacteroidota ratio (8.4%:7.0%), the genera *Vibrio* (25.2%) and *Photobacterium* (12.5%) dominating bacteria; the Ascomycota:Basidiomycota ratio (63.1%:36.1%), the genera *Aspergillus* (40.9%) and *Cladosporium* (16.2%) dominating fungi; the genus *Ostreobium* (81.5%) in Chlorophyta taxon for microalgae; and the groups of Dinoflagellata (63.3%) and Diatomea (22.6%) within the protista comprising two dominant genera: *Symbiodinium* (41.7%) and *Pelagodinium* (27.8%). This study highlights that the identified bioindicators, mainly in seawater and sediment reef compartments, could be targeted by reef conservation stakeholders to better monitor La Réunion Island's reef state of health and to improve management plans.

Keywords Microbiome · Bioindicators · Fringing coral reef · La Réunion Island

Tujuan

- Untuk mengidentifikasi bioindikator mikroba yang dapat digunakan untuk memantau kesehatan terumbu karang.
- Untuk menganalisis komunitas mikroba (bakteri, jamur, alga, protista) dari tiga kompartemen ekosistem (air laut, sedimen, dan puing karang) di Pulau La Réunion, Samudra Hindia.
- Untuk menggunakan pendekatan multi-marker (16S, ITS, 18S, tufA) dan analisis metabarcoding DNA untuk karakterisasi mikrobioma.

Mikrobioma karang memainkan peran penting dalam ketahanan dan ketangguhan karang → berfungsi sebagai bioindikator → sensitif terhadap perubahan lingkungan.

- Mikrobioma ini tidak hanya terdiri dari bakteri, tetapi juga mencakup jamur, alga, dan protista.



Aplikasi Pendekatan Omiks dan DNA Barcoding

Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang



Metode

Sampel dikumpulkan dari tiga lokasi (Toboggan, Copacabana, dan Livingstone) selama dua musim (musim panas dan musim dingin).

Tiga kompartemen ekosistem dianalisis: air laut, sedimen, dan puing karang.

DNA diekstraksi dan dianalisis menggunakan penanda genetik spesifik:

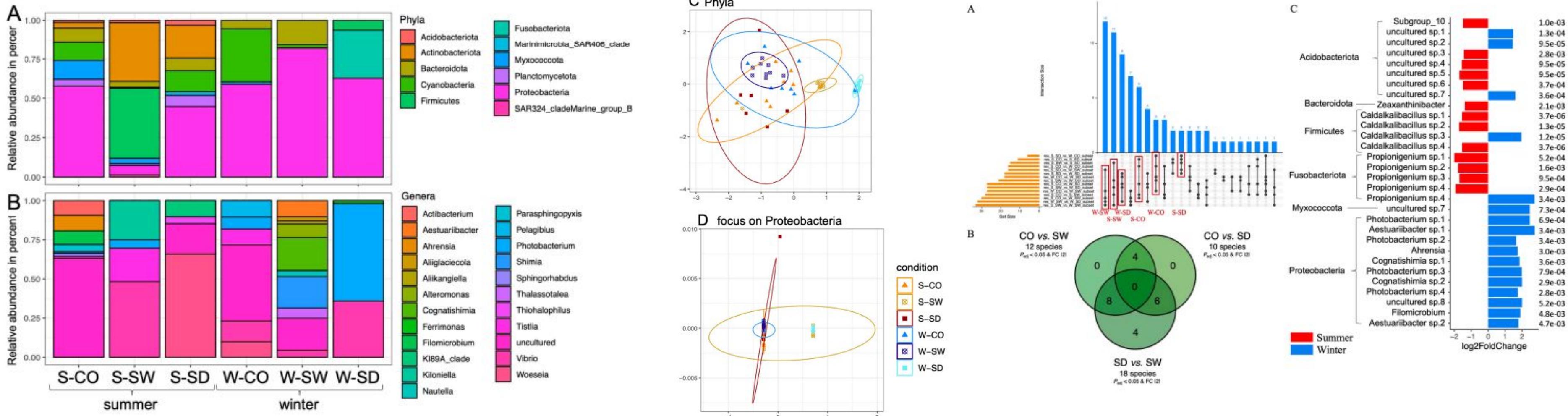
- 16S rRNA untuk bakteri
- ITS2 untuk jamur
- 18S rRNA untuk protista
- tufA untuk mikroalga

Analisis dilakukan menggunakan pipeline QIIME2 dan statistik Bayesian untuk mengidentifikasi Amplicon Sequence Variants (ASVs) sebagai indikator spesifik.



Aplikasi Pendekatan Omiks dan DNA Barcoding

Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang



Hasil

Komunitas bakteri dominan di berbagai musim dan kompartemen adalah Proteobacteria dan Cyanobacteria.

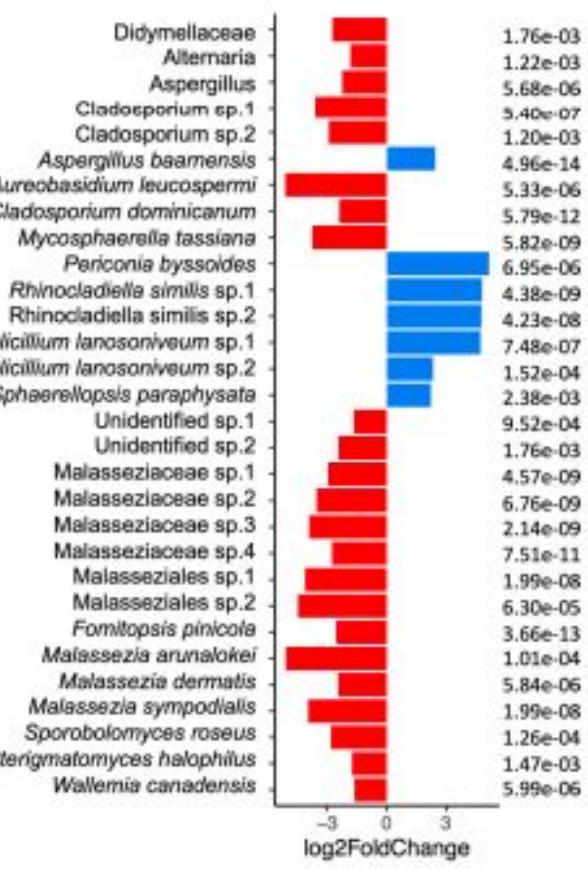
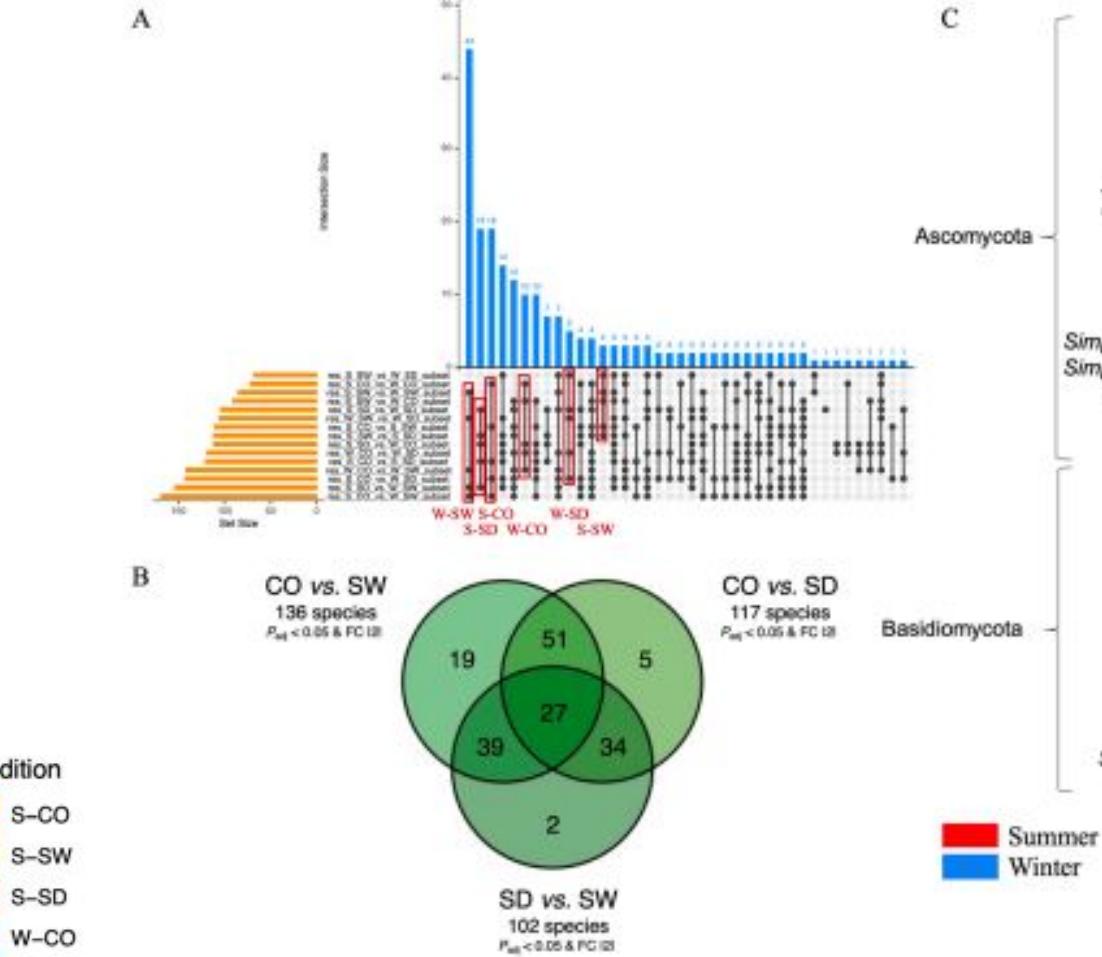
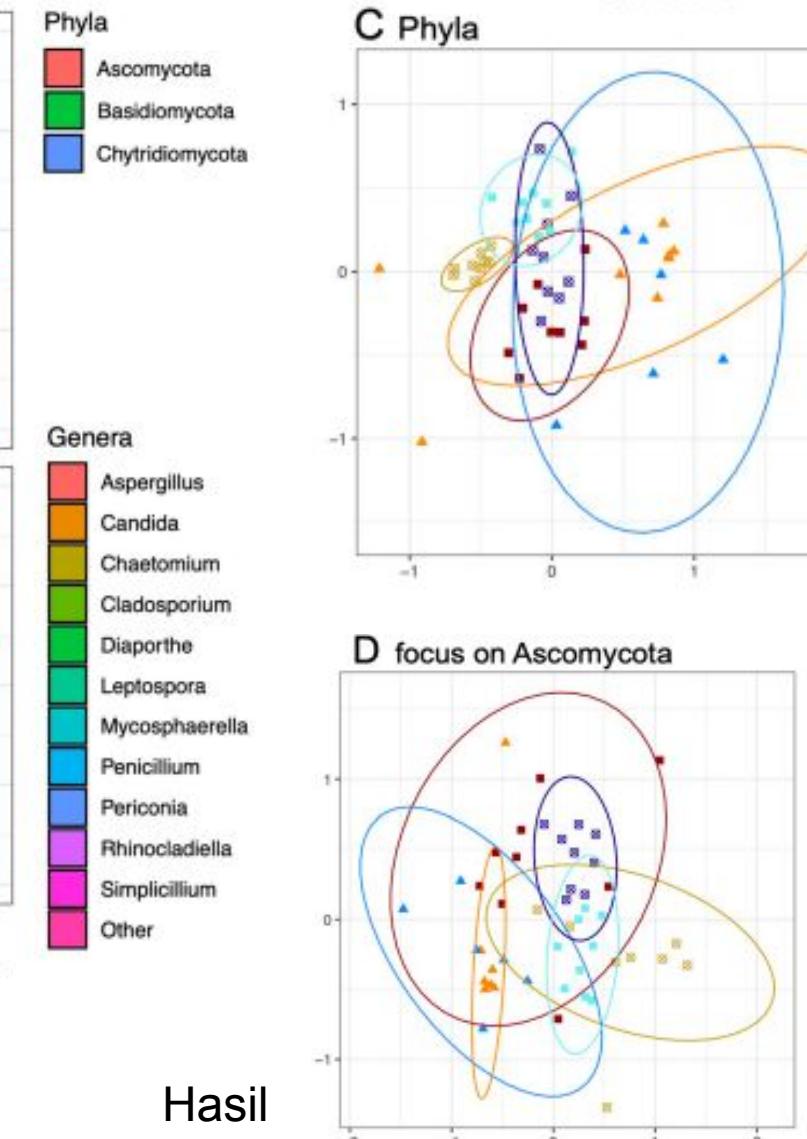
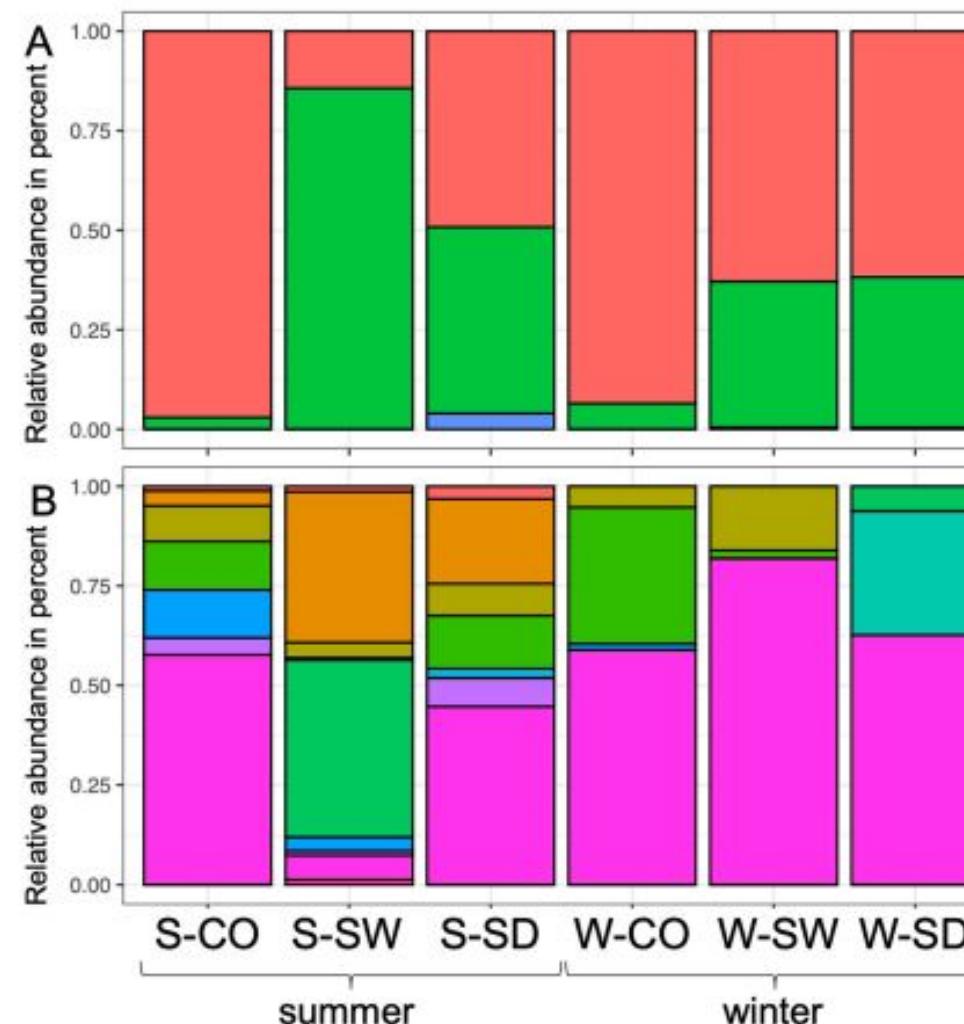
- Teramati pemisahan yang jelas antara komunitas mikroba di air laut dan sedimen tergantung pada musim.

Indikator biologis potensial meliputi Vibrio dan Photobacterium.

- Perbandingan Firmicutes-to-Bacteroidota juga dapat berfungsi sebagai indikator kesehatan terumbu karang.



Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang



ASV jamur sepanjang musim:

Musim panas: Aspergillus, Cladosporium

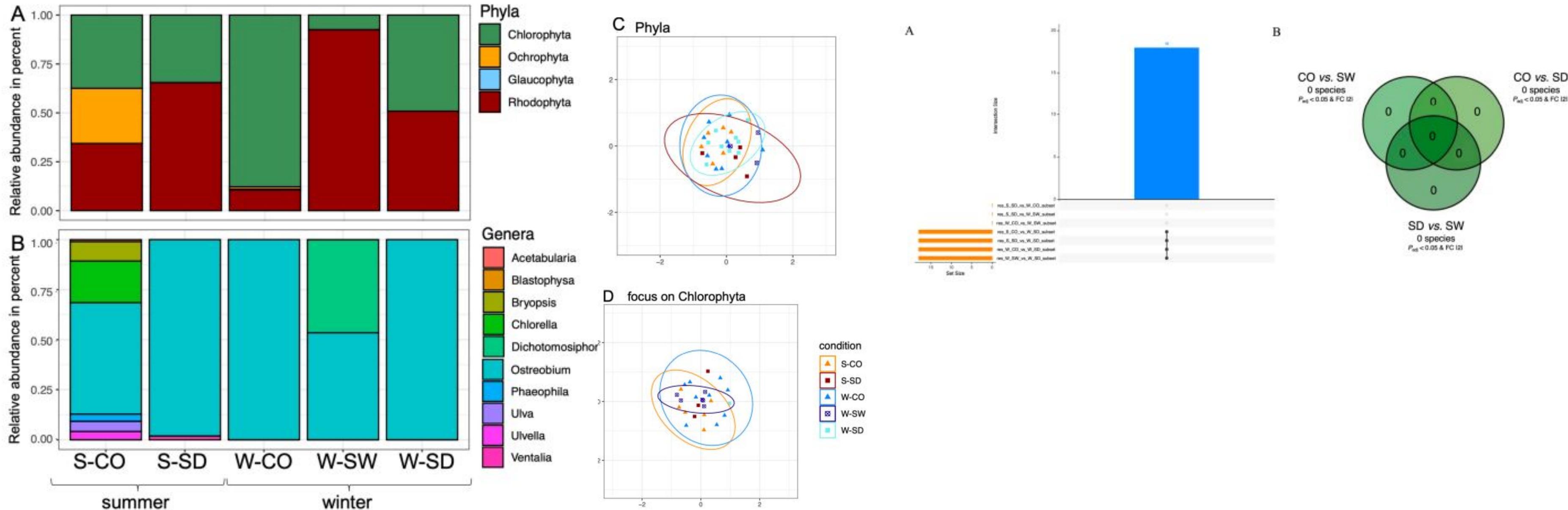
Musim dingin: Periconia, Simplicillium

Indikator biologis potensial:

Aspergillus, Cladosporium, dan rasio Ascomycota terhadap Basidiomycota



Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang

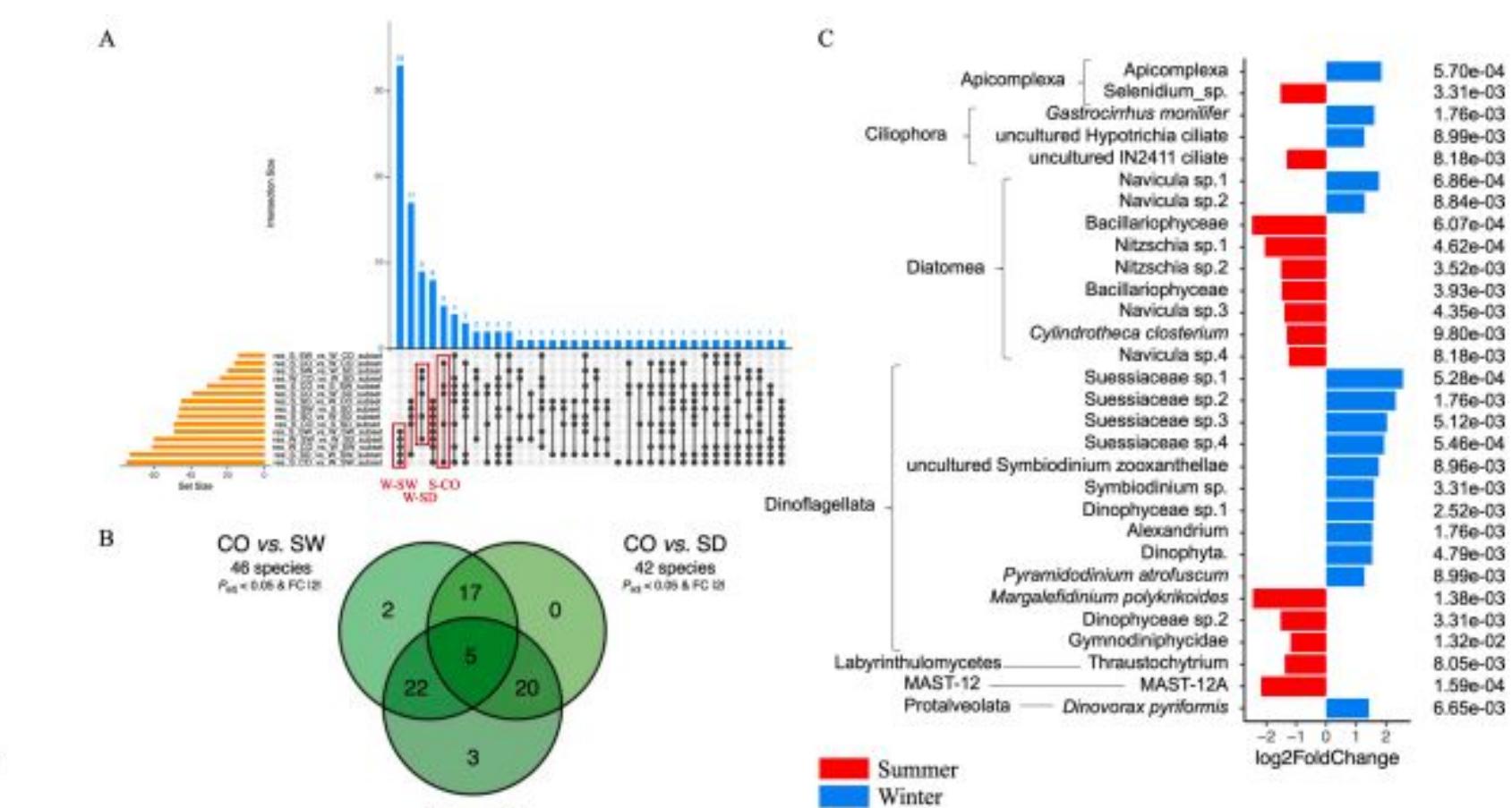
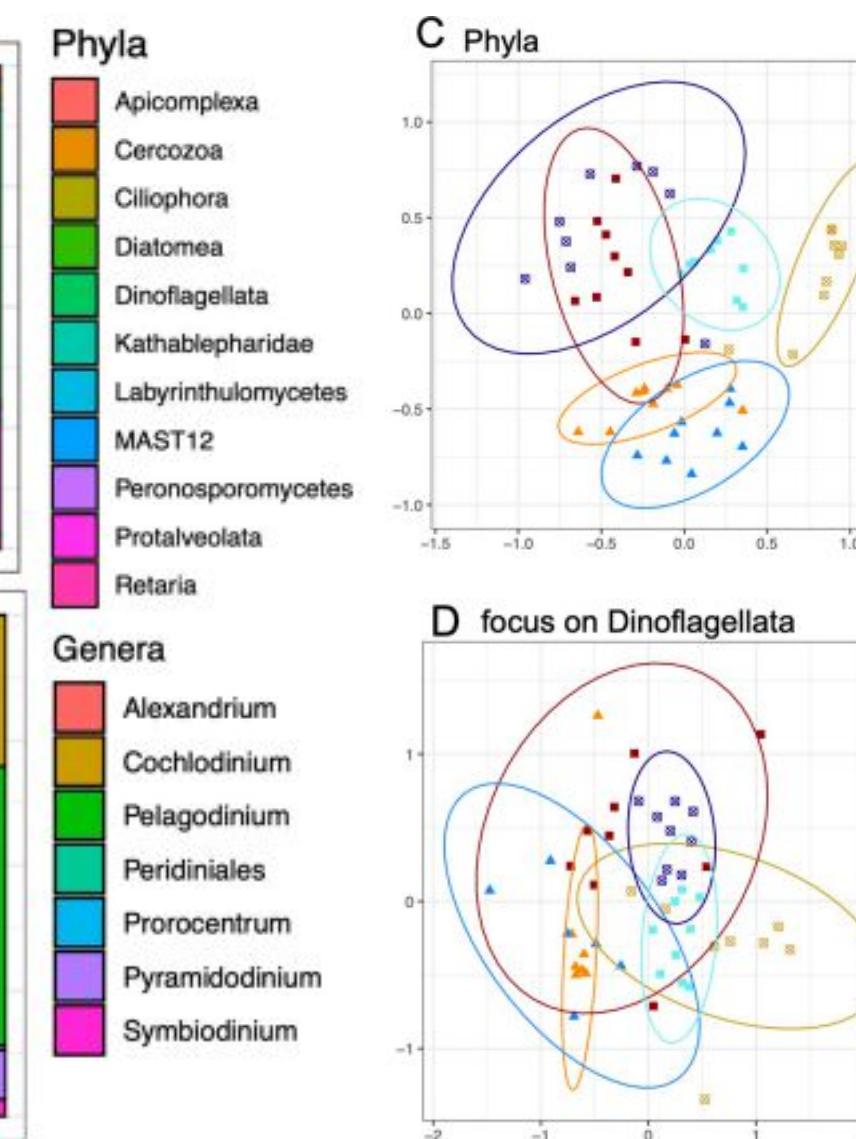
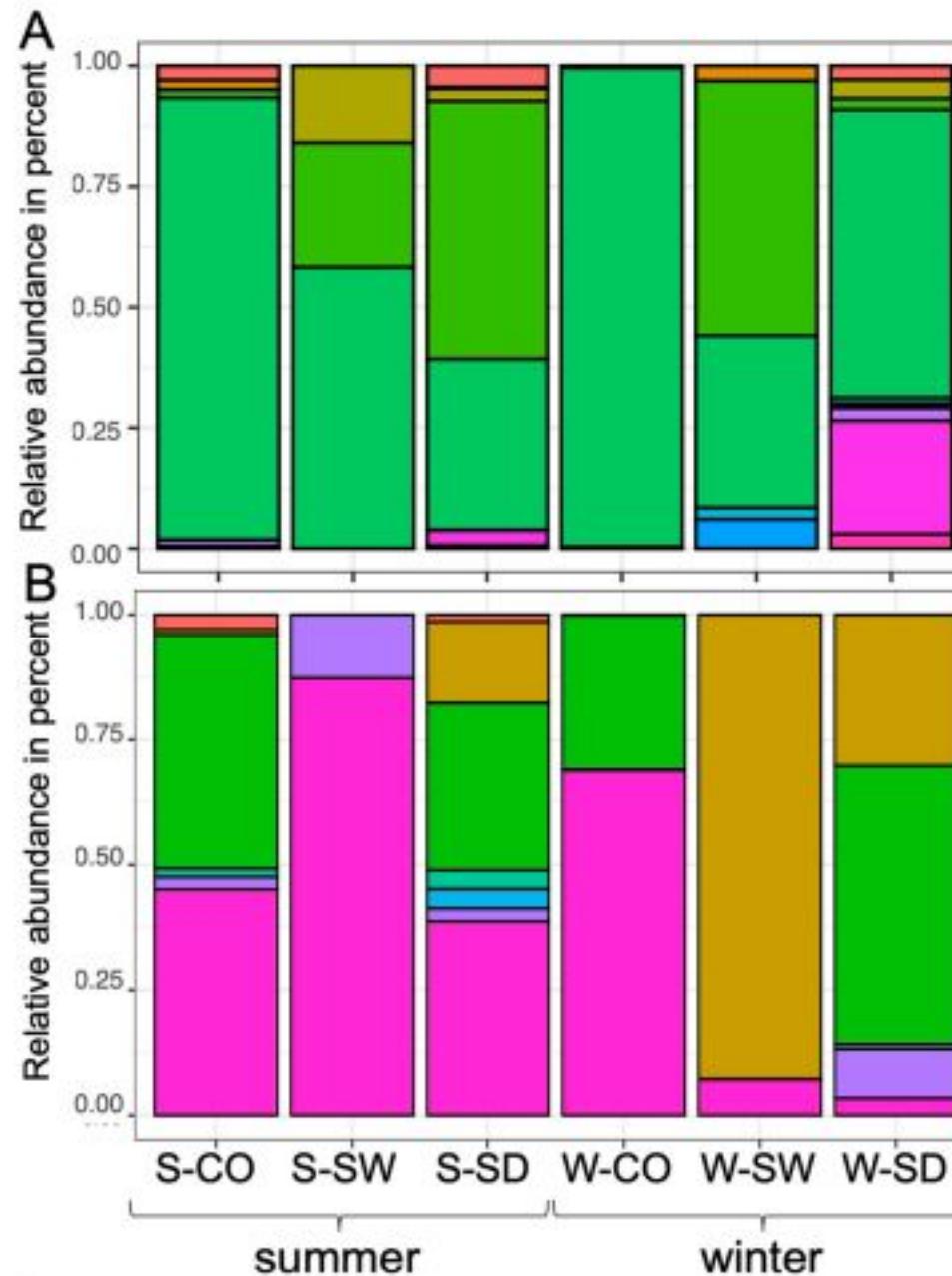


Results

- Dominant genus: *Ostreobium*
- No significant ASV differences were found across conditions, compartments, or seasons → indicating that the **microalgal community is relatively stable under varying conditions.**



Analisis Mikrobioma Karang sebagai Indikator Kesehatan Terumbu Karang



Results

- **Dominant group:** *Dinoflagellates* — including *Cochlodinium*, *Plagodinium*, and *Symbiodinium*
- **Seasonal ASV variation:**
 - **Summer:** *Diatomea*, *Margalefidinium*
 - **Winter:** *Symbiodinium*, *Pyramidodinium*





SustainaBlue

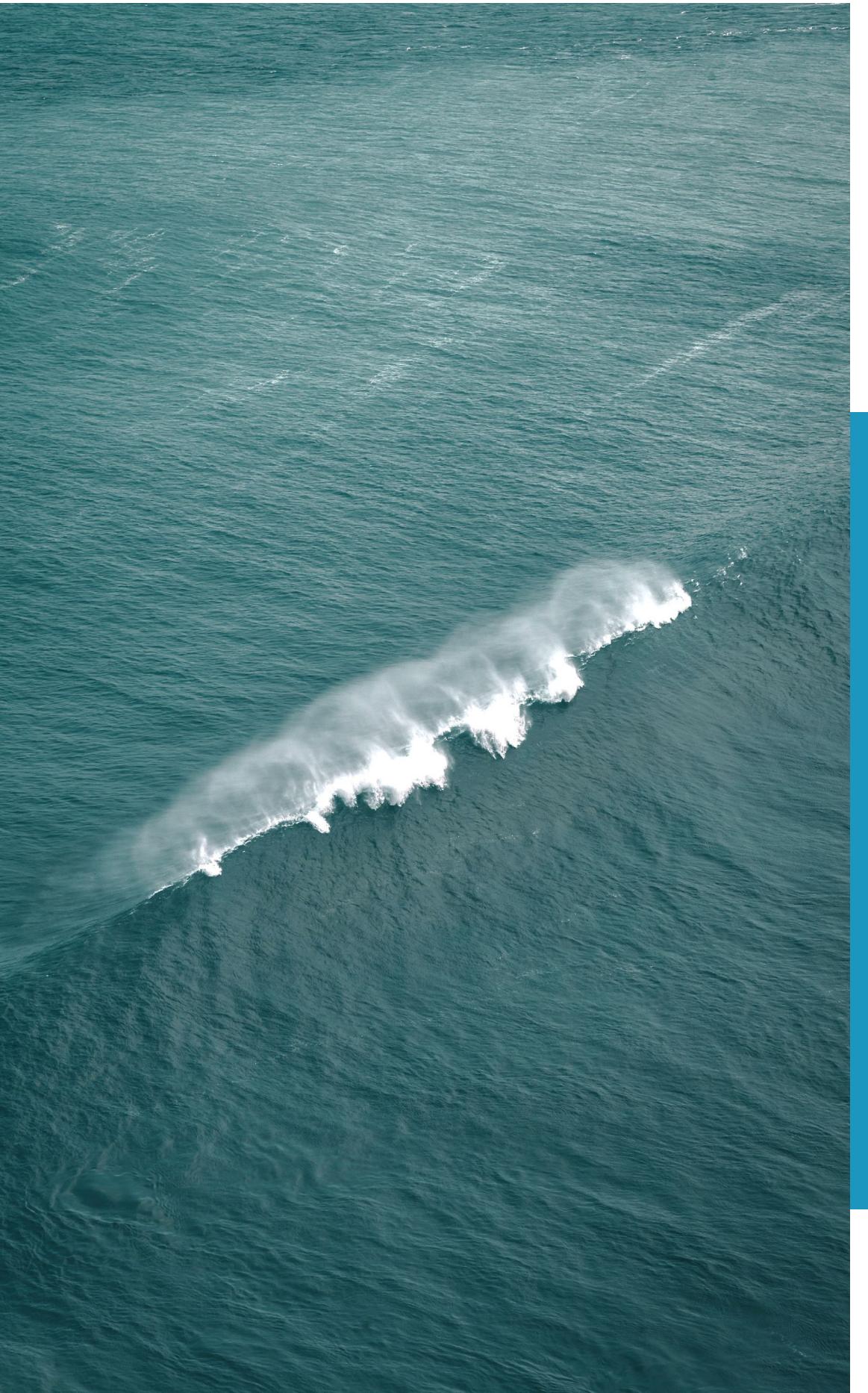
HEIs stands for Higher Education Institutions

04

GIS-based Integrative Biodiversity Analysis

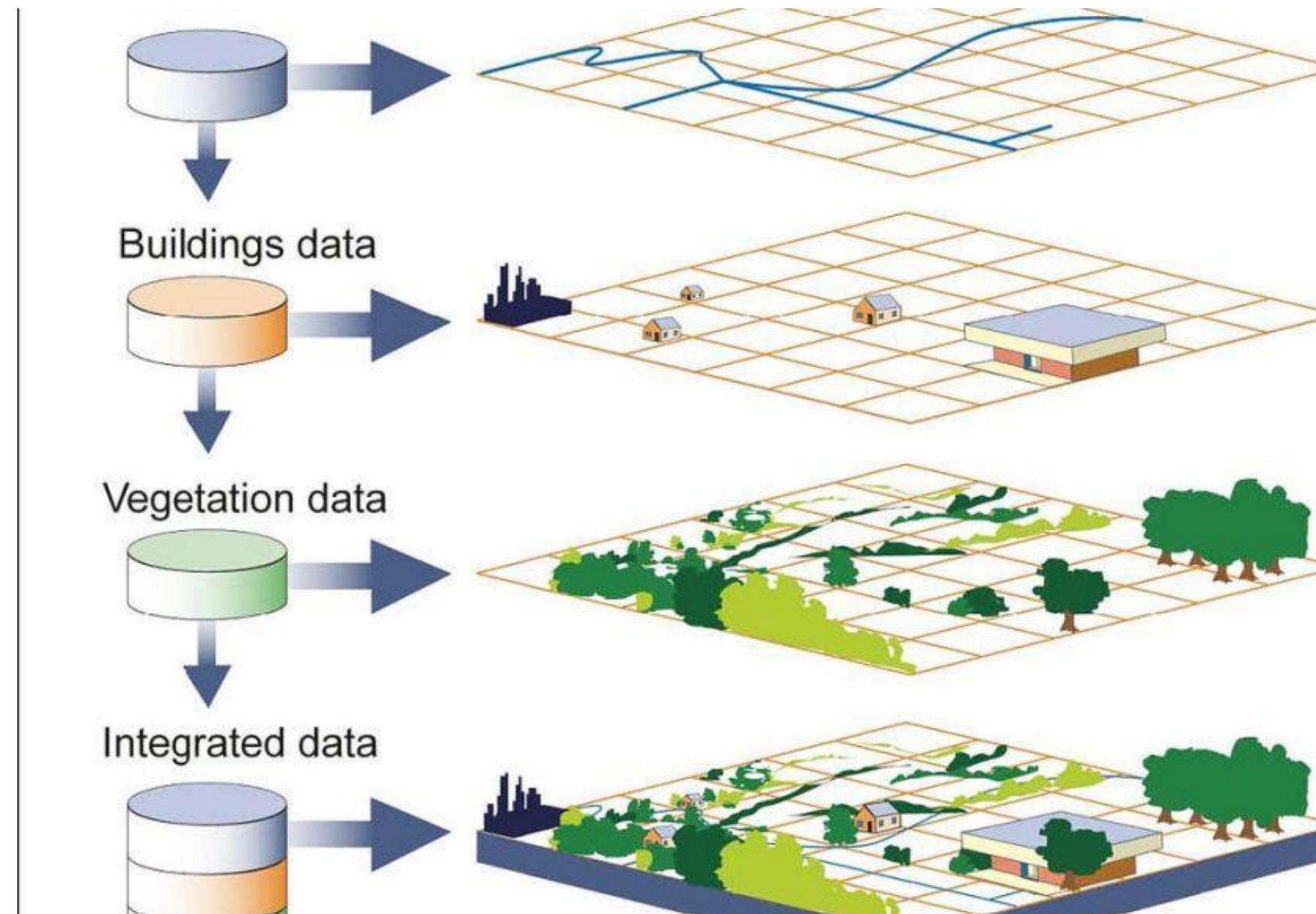


Co-funded by
the European Union



Geographic Information Systems (GIS)

Geographic System



Sistem Informasi Geografis (GIS) adalah sistem berbasis komputer yang digunakan untuk menangkap, menyimpan, menganalisis, dan menampilkan data yang memiliki referensi spasial di permukaan Bumi, seperti koordinat geografis atau alamat.

Sistem ini memungkinkan analisis dan visualisasi pola spasial serta hubungan antara data yang pada awalnya mungkin tampak tidak terkait.

Data GIS disusun dalam lapisan, memungkinkan pengguna untuk menggabungkan dan membandingkan berbagai jenis informasi—seperti demografi, infrastruktur, vegetasi, atau sungai—pada peta interaktif tunggal.

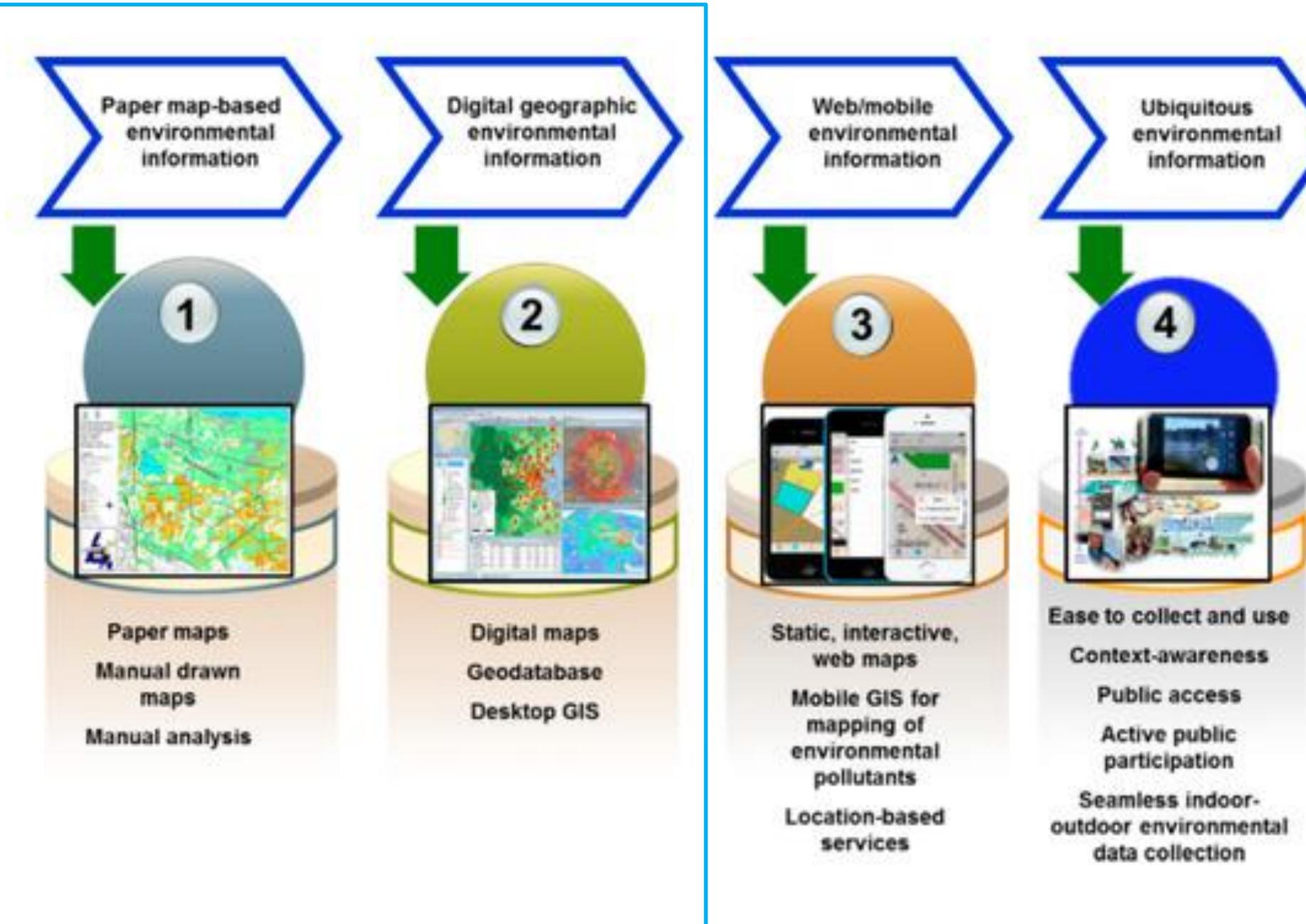
Bagaimana GIS Bekerja

- Masukan data → dari GPS, citra satelit, survei, atau peta analog yang didigitalkan.
- Verifikasi dan integrasi → memeriksa kualitas data dan memastikan format yang konsisten.
- Analisis spasial → menghitung jarak, mendeteksi pola spasial, dan mengidentifikasi area rentan.
- Output → peta interaktif, laporan analitis, dan visualisasi berlapis.



Geographic Information Systems (GIS)

Geographic Systems Evolution



Penggunaan peta fisik untuk mewakili data lingkungan.

Keterbatasan: Tidak dinamis, tidak dapat diperbarui dengan cepat, dan umumnya hanya digunakan oleh ahli.

- Sistem Informasi Geografis (SIG) Berbasis Komputer Lokal

Data lingkungan mulai dikumpulkan dan dianalisis menggunakan perangkat lunak SIG pada komputer mandiri.

Data masih dikumpulkan oleh lembaga resmi (sumber yang berwenang).

Akses tetap terbatas pada lembaga teknis.

- GIS Berbasis Web

GIS menjadi dapat diakses melalui internet.

Masyarakat umum dapat melihat data, tetapi belum dapat berkontribusi.

Akses data meningkat, tetapi interaksi masih satu arah (hanya baca).

- Geospatial Web 2.0 / GIS Partisipatif

Era Web 2.0 memfasilitasi interaksi dua arah: masyarakat tidak hanya melihat tetapi juga berkontribusi data (crowdsourcing).

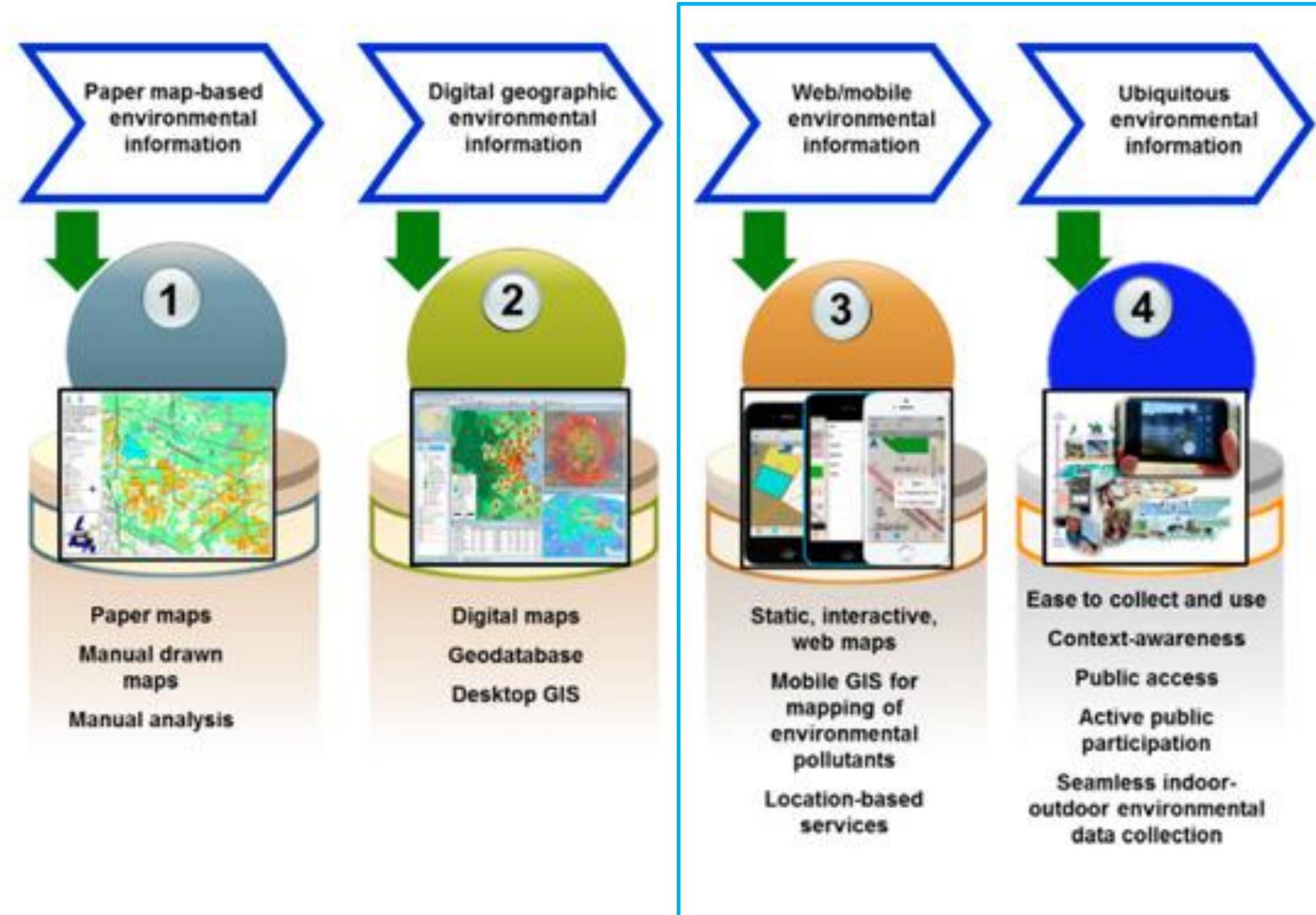
Hal ini melahirkan konsep VGI (Volunteered Geographic Information).

GIS menjadi partisipatif dan kolaboratif.



Geographic Information Systems (GIS)

Geographic Systems Evolution



GIS Mobile

Perkembangan smartphone yang dilengkapi dengan sensor (GPS, kamera) memungkinkan warga untuk melaporkan langsung dari lokasi kejadian.

Data bersifat real-time dan spesifik lokasi.

GIS Ubiquitous

GIS dapat digunakan kapan saja dan di mana saja (ubiquitous).

Teknologi seperti komputasi awan, sensor IoT, dan layanan berbasis lokasi (LBS) mendukung pemantauan dan pelaporan lingkungan secara otomatis dan berkelanjutan.

Warga menjadi bagian dari sistem pemantauan lingkungan yang terdistribusi dan aktif.

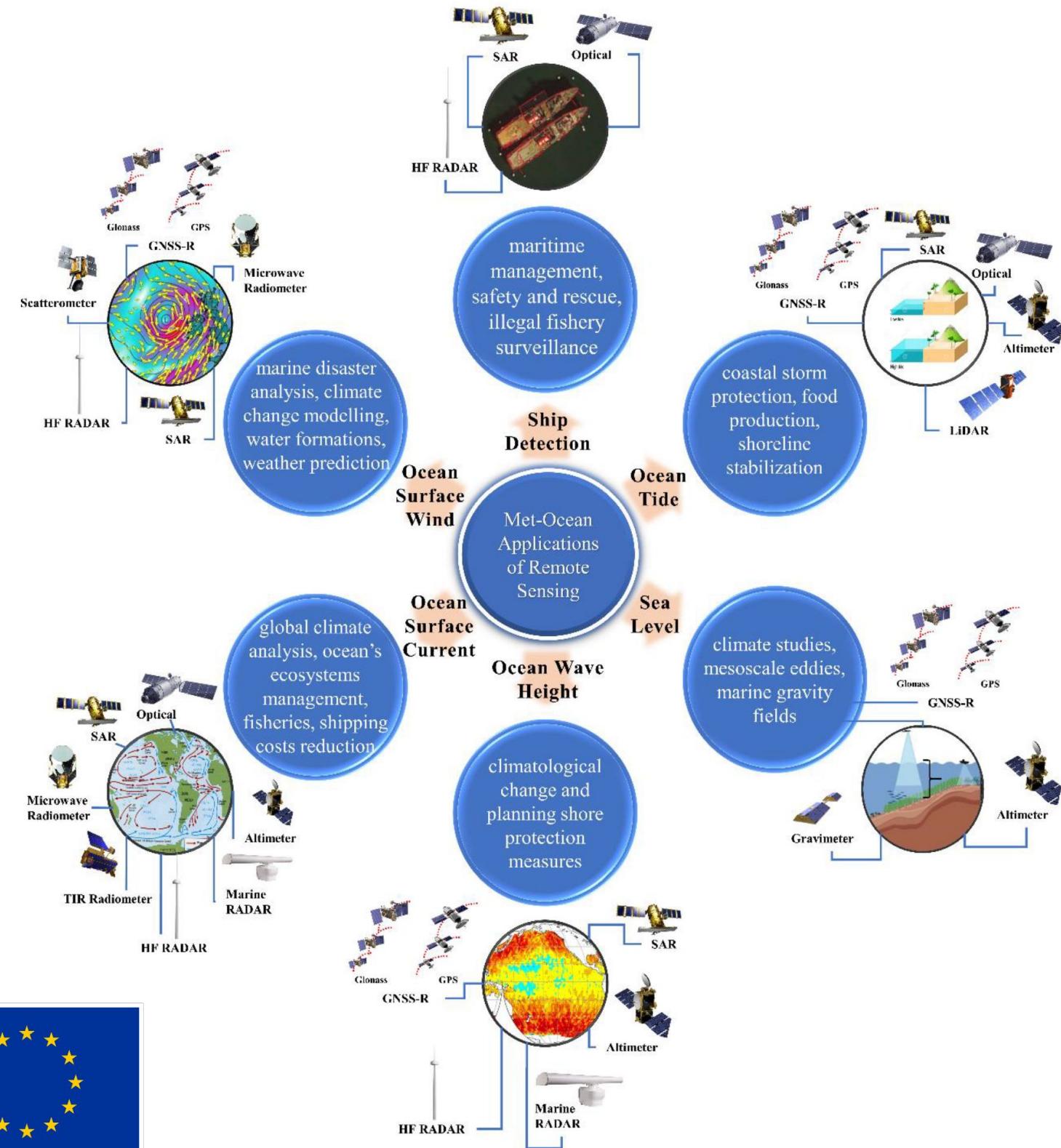


Geographic Information Systems (GIS)



Geographic Information Systems (GIS)

Ocean Remote Sensing



Sistem Penginderaan Jauh dalam Analisis Geografis Maritim

Sistem Pasif

Mengandalkan sumber energi alami, seperti sinar matahari atau radiasi termal dari permukaan Bumi.

- Tidak memancarkan sinyal sendiri.
- Hanya dapat beroperasi selama jam siang.
- Peka terhadap cuaca.
- Contoh: Sensor optik (Landsat, Sentinel-2), radiometer inframerah termal (TIR), radiometer gelombang mikro.

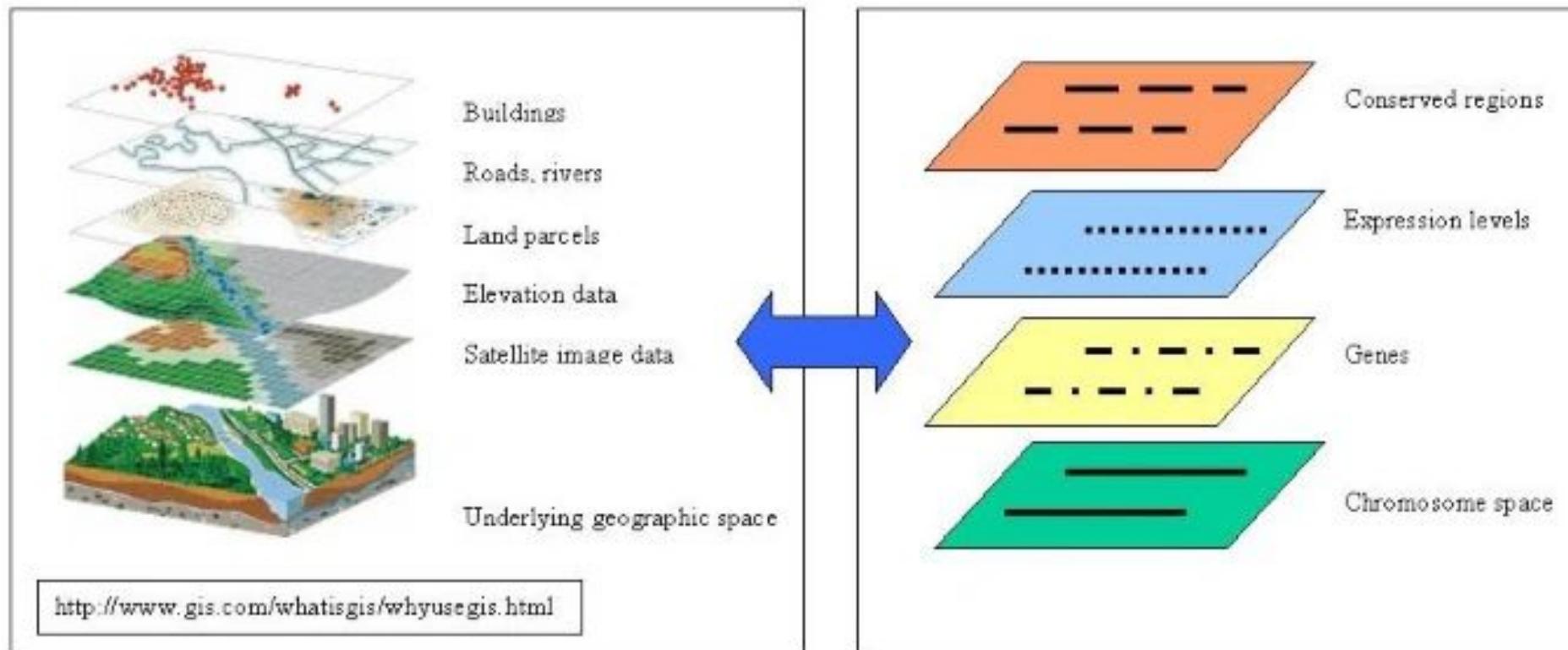
Aplikasi: Warna laut, suhu permukaan laut, pemantauan vegetasi laut dan terumbu karang.

- Sistem Aktif
- Menghasilkan dan mengirimkan sinyal elektromagnetik sendiri, lalu mendeteksi sinyal yang dipantulkan dari objek di Bumi.
- Beroperasi baik siang maupun malam, dalam semua kondisi cuaca.
- Cocok untuk area dengan awan atau kegelapan.
- Contoh: SAR, LiDAR, Scatterometer, Altimeter, radar HF, SONAR.

Aplikasi: Deteksi kapal, pemetaan gelombang dan arus laut, pemantauan pasang surut dan permukaan laut, pemetaan dasar laut (batimetri).

Geographic Information Systems (GIS)

Integration of Omics and GIS



Menggabungkan GIS, Penginderaan Jauh, dan Omics

Omics (misalnya, Metagenomik) mempelajari DNA dari seluruh komunitas mikroba tanpa perlu isolasi atau kultur. Ketika digabungkan dengan data spasial dari GIS, para peneliti dapat:

Mengidentifikasi di mana organisme tertentu berkembang biak.

Menganalisis bagaimana organisme merespons perubahan lingkungan (misalnya, suhu laut, polusi, salinitas).

Mendapatkan wawasan kritis tentang peran keanekaragaman hayati dalam siklus biogeokimia, seperti siklus karbon dan nitrogen.

Aplikasi dalam Pengelolaan Sumber Daya Laut

GIS memetakan dan memantau kondisi fisik habitat laut (misalnya, terumbu karang, padang lamun, dasar laut), sementara omics menyediakan data biologis yang mendalam (misalnya, jenis mikroba, aktivitas enzim, potensi patogenik). Integrasi ini memungkinkan:

- Pemantauan kesehatan ekosistem.
- Perencanaan konservasi yang didasarkan pada data dan terintegrasi.



Kesimpulan

Integrasi omics dan GIS merupakan pendekatan modern yang kuat untuk:

- Memahami peran organisme dalam ekosistem
- Mengelola sumber daya laut secara berkelanjutan
- Memprediksi dampak perubahan lingkungan terhadap kehidupan mikroba—and sebaliknya

Pendekatan ini menggabungkan kekuatan biologi molekuler, analisis geospasial, dan kecerdasan buatan untuk mendukung ilmu lingkungan dan kebijakan konservasi.





Referensi

- Pramanik, D., P.M. Shelake, M.J. Kim, et al. 2021. *Molecular Plant* 14:127-150. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.11.002>.
- Gen-Fish. <https://gen-fish.ca/intro-to-omics/>.
- CSNK2A1 Foundation. <https://www.csnk2a1foundation.org/science-snapshot-the-central-dogma-dna-rna-protein>.
- Villao-Uzho, L., T. Chavez-Navarrete, R. Pacheco-Coello, et al. 2023. *Genes* 14(6):1226. <https://doi.org/10.3390/genes14061226>.
- Li, X., C. Zhu, Z. Lin, et al. 2011. *Mol. Biol. Evol.* 28(6):1901-1911. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr011>.
- Kelley, J.L., A.P. Brown, N.O. Therkildsen, et al. 2016. *Nat. Rev. Genet.* 17:523-534. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.66>.
- Jensen, R.A. 2001. *Genome Biol* 2:1002.1. <https://doi.org/10.1186/gb-2001-2-8-interactions1002>.
- David, K.T., J.R. Oaks, K.M. Halanych. 2020. *PeerJ* 8:e8813. <https://doi.org/10.7717/peerj.8813>.
- Encyclopedia MPDI. <https://encyclopedia.pub/entry/52429>.
- Ebeed, H.T. & S.A. Ceasar. 2024. *South African Journal of Botany* 170:38-47. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.05.015>.
- Delsuc, F., H. Brinkmann, H. Philippe. 2005. *Nat. Rev. Genet.* 6:361-375. <https://doi.org/10.1038/nrg1603>.
- Card, D.C., W.B. Jennings, S.V. Edwards. 2023. *Animals* 13(3):471. <https://doi.org/10.3390/ani13030471>.



Evaluation Answer Key: 1) True, 2) B, 3) False, 4) D





Referensi

- Amorim, A., T. Fernandes, N. Taveira. 2019. *PeerJ* 7:e7314. <https://doi.org/10.7717/peerj.7314>.
- Jones, S.W., A.L. Ball, A.E. Chadwick, et al. 2021. *Front. Genet.* 12:698825. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.698825>.
- Anand, A. & G. Pandi. 2021. *Life* 11(1):49. <https://doi.org/10.3390/life11010049>.
- Dobrogojski, J., M. Adamiec, R. Lucinski. 2020. *Acta Physiologiae Plantarum* 42:98. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03089-x>.
- Chan, C.X. & D. Bhattacharya. 2010. *Nature Education* 3(9):84.
- Allen, J.F. 2015. *PNAS* 112(33):10231-10238. <https://doi.org/10.1073/pnas.1500012112>.
- Adkar-Putushothama, C.R. & J-P. Perreault. 2020. *Int. J. Mol. Sci.* 21:5532.
- Rupeika, E.R., L. D'Huys, V. Leen, et al. *Chem. Biomed. Imaging* 2:784.
- Young, A.D. & J.P. Gillung. 2019. *Systematic Entomology*.
- Ungelenk, M. 2021. *in:* T. Liehr (ed.), Elsevier eBooks, Academic Press, London:87-122.
- Eren, K., N. Taktakoglu, I. Pirim. 2022. *Eurasian J. Med.* 54(Suppl.1):S47-S56.
- Madhumitha, N., P.S. Kumar, D. Manna. 2024. *Chemistry – An Asian Journal* 19(3).
- McGovern, R.A. 2015. Vancouver: University of British Columbia Library.
- Nafea, A.M., Y. Wang, D. Wang, et al. 2024. *Front. Microbiol.* 14:1329330.
- Katara, A., S. Chand, H. Chaudary, et al. 2024. *Journal of Chromatography Open* 5.
- Nolan, K.P., D.Z. Grunspan, E. Myler, et al. 2024. *Genome* 67(8):256-266. <https://doi.org/10.1139/gen-2023-0102>.
- Kodzius, R. & T. Gojobori. 2015. *Marine Genomics* 24:21-30. <https://dx.doi.org/10.1016/j.margen.2015.07.001>.





Referensi

- Quince, C., A.W. Walker, J.T. Simpson, et al. 2017. *Nature Biotechnology* 35(9):833-844. <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>.
- Srinivas, M., O. O'Sullivan, P.D. Cotter, et al. 2022. *Foods* 11(20):3297. <https://doi.org/10.3390/foods11203297>.
- Theissinger, K., C. Fernandes, G. Formenti, et al. 2023. *Trends in Genetics* 39(7):545-559. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2023.01.005>.
- Yan, G., Y. Lan, J. Sun, et al. 2022. *iScience* 25:104092. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104092>.
- Keagy, J., C.P. Durmmond, K.J. Gilbert, et al. 2022. *Mol. Ecol. Resourc.* 25:e13796. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13796>.
- Li, J., H. Wang, C. Li. 2022. *Front. Maret. Sci.* 9:906267. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.906267>.
- Steinheuer, L.M., S. Canzler, J. Hackermuller. 2021. *bioRxiv* (preprint). <https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438193>.
- Ospina, O., A. Soupir, B.L. Fridley. 2023. *in* Fridley, B.L. & X. Wang (eds.). 2023. Springer Nature, London. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2986-4_7.
- Yan, H., X. Ju, A. Huang. 2024. *Int. J. Bio. Sci.* 20(6):2151-2167. <https://doi.org/10.7150/ijbs.92525>.
- Dupree, E.J., M. Jayathirtha, H. Yorkey, et al. 2020. *Proteomes* 8(3):14. <https://doi.org/10.3390/proteomes8030014>.
- Gamage, N.T.G., R. Miyashita, K. Takahashi, et al. 2022. *Proteomes* 10(3):32. <https://doi.org/10.3390/proteomes10030032>.
- Al-Sulaiti, H., J. Almaliti, C.B. Naman, et al. 2023. *Metabolites* 13(8):948. <https://doi.org/10.3390/metabo13080948>.



Evaluation Answer Key: 1) True, 2) B, 3) False, 4) D





Referensi

- Alseekh, S., A. Aharoni, Y. Brotman, et al. 2021. *Nature Methods* 18:747-756. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01197-1>.
- Coastal Wiki. 2016. https://www.coastalwiki.org/wiki/Marine_Biotechnology.
- Rotter, A., M. Barbier, F. Bertoni. 2021. *Front. Mar. Sci.* 8:629629. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.629629>.
- Dorado, G., Unver, T., Budak, H. and Hernández, P., 2015. Molecular Markers. In Reference Module in Biomedical Sciences (pp. 1-12).
- Marwal, A. and Gaur, R.K., 2020. Molecular markers: tool for genetic analysis. In Animal biotechnology (pp. 353-372). Academic Press.
- Suriya, J., M. Krishnan, S. Bharathiraja. 2020. *in* Trivedi, S., H. Rehman, S. Saggu, et al. (eds.). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-50075-7_1.
- Valentini, A., F. Pompanon, P. Taberlet, et al. 2009. *Trends in Ecology & Evolution* 24(2):110-117. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.09.011>.
- Mahadani, P., S. Trivedi, H. Rehman, et al. 2016. *in* Trivedi, S., H. Rehman, S. Saggu, et al. (eds.). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41840-7_5.
- Bhadury, P. 2016. *in* Trivedi, S., H. Rehman, S. Saggu, et al. (eds.). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41840-7_8.
- Belser, C., J. Poulain, K. Labadie, et al. 2023. *Sci Data* 10:326. <https://doi.org/10.1038/s41597-023-02204-0>.
- Roitman, S., F.J. Pollock, M. Mediana. 2020. *in* F. Olesiak & O.P. Pajora. (ed.). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/13836_2018_29.
- Stenger, P-L., A. Tribollet, F. Guilhaumon, et al. 2024. *Microbial Ecology* 87:179. <https://doi.org/10.1007/s00248-025-02495-3>.





SustainaBlue
HEIs stands for Higher Education Institutions

Referensi

- Sadeghi-Niaraki, A., M. Jelokhani-Niarakhi, S-M. Choi. 2020. *Sustainability* 12:6012.
<https://doi.org/10.3390/su12156012>.
- National Geographic Education.
<https://education.nationalgeographic.org/resource/geographic-information-system-gis/>.
- Amani, M., A. Moghimi, S.M. Mirmazloumi, et al. 2022. *Water* 14:3400.
<https://doi.org/10.3390/w14213400>.
- Dolan, M.E., C.C. Holden, M.K. Beard, et al. 2006. *BMC Bioinformatics* 7:416.
<https://doi.org/10.1186/1471-2105-7-416>.



Co-funded by
the European Union



Evaluation Answer Key: 1) True, 2) B, 3) False, 4) D



SustainaBlue

HEIs stands for Higher Education Institutions

THANK YOU

Dr. Retno Lestari, M.Si.



retno.lestari@sci.ui.ac.id



Co-funded by
the European Union

Funded by the European Union. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Education and Culture Executive Agency (EACEA). Neither the European Union nor EACEA can be held responsible for them.

Project: 101129136 – SustainaBlue – ERASMUS-EDU-2023-CBHE

