Volume 18, No. 3, 2025

ISSN: 1907-9931 (print), 2476-9991 (online)

PENDEKATAN METABARCODING eDNA UNTUK MENDETEKSI KEANEKARAGAMAN SPONS LAUT: SISTEMATIK LITERATUR REVIEW DAN BIBLIOMETRIK ANALISIS

eDNA METABARCODING APPROACH TO DETECT MARINE SPONGE DIVERSITY: SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW AND BIBLIOMETRIC ANALYSIS

Anggi Mayulina Daulay[1]*, Beginer Subhan[1], Andhika Prima Prasetyo[2], Dietriech Geoffrey Bengen[a]

[1]Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, IPB University, Indonesia
[2]Badan Riset dan Inovasi Nasional, Indonesia

*Corresponding author email: anggimayulinadaulay@apps.ipb.ac.id

Submitted: 15 November 2025 / Revised: 19 November 2025 / Accepted: 4 December 2025

http://doi.org/10.21107/jk.v18i3.32404

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis perkembangan, fokus tematik, dan arah riset terkait penggunaan environmental DNA (eDNA) metabarcoding untuk mendeteksi dan mengidentifikasi spons laut (Porifera). Pendekatan yang digunakan adalah systematic literature review (SLR) berbasis PRISMA dan analisis bibliometrik terhadap artikel terindeks Scopus tahun 2009–2025. Dari 116 publikasi awal, 42 artikel memenuhi kriteria inklusi dan dianalisis lebih lanjut menggunakan VOSviewer untuk mengidentifikasi tren publikasi, pola kolaborasi penulis-negara, serta struktur klaster kata kunci. Hasil menunjukkan peningkatan signifikan publikasi sejak 2017, dengan kontribusi terbesar berasal dari Britania Raya, Spanyol, dan Amerika Serikat. Analisis kata kunci menghasilkan lima klaster utama yang mencerminkan arah riset global, yaitu (1) genetika dan biodiversitas, (2) mikrobioma dan metagenomik, (3) ekologi terumbu karang, (4) invertebrata laut, serta (5) lingkungan ekstrem. Meskipun eDNA metabarcoding terbukti sensitif untuk mendeteksi komunitas spons, tantangan utama yang ditemukan mencakup keterbatasan marker gen yang belum universal serta kelengkapan basis data taksonomi yang masih rendah. Novelty penelitian ini terletak pada penggabungan SLR dan bibliometrik secara khusus pada spons laut, sehingga mampu mengungkap kesenjangan geografis, keterbatasan metodologis, serta menawarkan rekomendasi strategis berupa standardisasi protokol, penguatan basis data referensi lokal, dan perluasan kolaborasi internasional, terutama di wilayah megabiodiversitas seperti Indonesia.

***Kata Kunci**: eDNA, metabarcoding, Porifera, bibliometric, keanekaragaman hayati.*

ABSTRACT

This study analyzes the development, thematic focus, and research direction of environmental DNA (eDNA) metabarcoding applied to the detection and identification of marine sponges (Porifera). A systematic literature review (SLR) following PRISMA and a bibliometric analysis of Scopus-indexed publications from 2009–2025 were conducted. From an initial 116 records, 42 articles met the inclusion criteria and were analyzed using VOSviewer to identify publication trends, author–country collaborations, and keyword cluster structures. Results show a substantial increase in publications since 2017, with major contributions from the United Kingdom, Spain, and the United States. Keyword analysis revealed five major thematic clusters: (1) genetics and biodiversity, (2) microbiome and metagenomics, (3) coral reef ecology, (4) marine invertebrates, and (5) extreme environments. Although eDNA metabarcoding demonstrates high sensitivity for sponge detection, key challenges include non-universal genetic markers and incomplete taxonomic reference databases. The novelty of this study lies in integrating SLR and bibliometric approaches specifically for marine sponges, allowing the identification of geographic gaps, methodological limitations, and providing strategic recommendations for protocol standardization, the development of local reference databases, and enhanced international collaboration, particularly in megabiodiverse regions such as Indonesia.

***Keywords:** eDNA, metabarcoding, Porifera, bibliometric analysis, biodiversity.*

PENDAHULUAN

Spons laut (Porifera) merupakan komponen penting dalam ekosistem laut karena mampu menyaring volume air yang besar, memediasi siklus nutrien, menyediakan habitat bagi komunitas mikroba, dan menjaga stabilitas ekosistem terumbu karang maupun lingkungan laut dalam. Peran ekologis yang vital tersebut menjadikan sponsor sebagai indikator penting dalam memahami kondisi ekosistem laut. Namun, meskipun fungsinya signifikan, dokumentasi keanekaragaman spons masih terbatas, terutama di wilayah tropis yang kaya biodiversitas seperti Indonesia. Tantangan ini diperparah oleh sifat morfologi spons yang kerap mirip antarspesies, berubah dalam fase pertumbuhan tertentu, dan sering rusak saat sampling, sehingga identifikasi morfologi menjadi tidak akurat (Colman, 2015; Taylor *et al.,* 2007).

Kesulitan identifikasi berbasis morfologi telah lama menjadi penghambat utama dalam memahami keragaman spons secara komprehensif. Banyak spesies yang kemungkinan terabaikan atau salah teridentifikasi karena karakter anatomi yang tidak stabil atau terlalu sederhana untuk membedakan spesies secara akurat. Ketergantungan ilmuwan terhadap ahli taksonomi berpengalaman dan terbatasnya jumlah taksonom menambah kompleksitas permasalahan tersebut. Pada akhirnya, faktor-faktor ini berkontribusi pada lemahnya basis data taksonomi spons global, khususnya di negara-negara megabiodiversitas.

Kemajuan biologi molekuler dan teknologi sekuensing dalam satu dekade terakhir telah menawarkan solusi bagi keterbatasan identifikasi morfologi. Environmental DNA (eDNA) memungkinkan deteksi organisme tanpa harus mengumpulkan spesimen secara langsung. DNA yang dilepaskan organisme ke air atau sedimen dapat diisolasi dan dianalisis, sehingga memungkinkan deteksi spesies yang sulit diidentifikasi secara visual. Pendekatan ini telah digunakan secara luas untuk berbagai kelompok biota laut seperti ikan, plankton, dan metazoa lainnya, dan terbukti mampu mendeteksi keragaman komunitas dengan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan survei tradisional (West *et al.,* 2021; Dhurjuus *et al.,* 2018).

Metabarcoding eDNA menjadi metode andalan karena memungkinkan identifikasi banyak taksa secara simultan melalui teknologi high-throughput sequencing. Selain meningkatkan efisiensi survei biodiversitas, metode ini juga mampu mengidentifikasi spesies kriptik atau jarang ditemukan, dan memetakan hubungan ekologis secara lebih detail. Namun, dalam konteks spons laut, penelitian yang memanfaatkan metode metabarcoding eDNA masih relatif sedikit. Minimnya penerapan teknik ini pada spons menyebabkan kesenjangan pemahaman yang signifikan terkait bioekologi dan distribusinya, padahal spons merupakan kandidat ideal untuk studi berbasis eDNA mengingat kemampuannya menyaring DNA lingkungan.

Kesenjangan penelitian tersebut menunjukkan perlunya tinjauan sistematis yang mampu merangkum perkembangan metodologi dan hasil empiris penelitian eDNA pada spons. Pendekatan Systematic Literature Review (SLR) berbasis PRISMA menjadi penting karena memungkinkan penyeleksian literatur secara terstruktur, transparan, dan komprehensif. Dengan pendekatan ini, pola temuan dari berbagai penelitian dapat dianalisis secara kritis, termasuk metodologi yang digunakan, tantangan teknis, dan tren hasil yang konsisten.

Selain SLR, analisis bibliometrik memberikan kontribusi signifikan untuk memahami peta situasi penelitian secara global. Melalui analisis bibliometrik, tren publikasi, jaringan kolaborasi antarpeneliti dan negara, serta struktur pengetahuan berbasis kata kunci dapat dipetakan. Pendekatan ini memungkinkan pengamatan terhadap bagaimana suatu bidang keilmuan berkembang dari waktu ke waktu serta mengidentifikasi negara atau institusi yang menjadi pusat kontribusi utama (Donthu *et al.,* 2021).

Berdasarkan hasil seleksi awal, penelitian terkait metabarcoding eDNA pada spons meningkat signifikan sejak 2017, seiring dengan berkembangnya teknologi sekuensing dan semakin mudahnya akses ke perangkat bioinformatik. Namun jumlah publikasi tersebut masih sangat sedikit dibandingkan kelompok biota lain seperti ikan atau mikroorganisme laut. Ketimpangan ini menunjukkan bahwa spons masih mendapatkan perhatian riset yang tidak sebanding dengan peran ekologisnya. Selain itu, sebagian besar kontribusi penelitian masih berasal dari negara-negara maju seperti Inggris, Spanyol, dan Amerika Serikat, sedangkan negara-negara kaya keanekaragaman hayati seperti Indonesia masih minim publikasi dalam topik ini (Mariani *et al.,* 2019; Shea *et al.,* 2023).

Dominasi negara maju dalam penelitian eDNA pada spons mengindikasikan adanya

ketimpangan akses terhadap infrastruktur sekuensing, fasilitas laboratorium, serta pangkalan data referensi genetik. Negara-negara megabiodiversitas yang seharusnya menjadi sumber data biologis utama justru kurang terwakili dalam literatur. Hal ini berpotensi menyebabkan bias geografis dalam pemetaan biodiversitas spons global karena distribusi spesies dari wilayah tropis tidak banyak terdokumentasi. Kondisi ini menekankan perlunya penguatan kapasitas riset di negara berkembang agar kontribusi data menjadi lebih seimbang.

Selain faktor geografis, tantangan metodologis juga turut membatasi penerapan metabarcoding eDNA pada spons. Di antaranya adalah belum adanya marker gen universal yang mampu mendeteksi seluruh taksa spons, variabilitas efisiensi ekstraksi DNA antara sampel, masalah inhibisi PCR, dan keterbatasan pangkalan data referensi yang menyebabkan banyak sekuens tidak teridentifikasi. Selain itu, spons mengandung DNA dari berbagai sumber (seluler dan ekstraseluler), sehingga analisisnya memerlukan optimasi protokol yang lebih ketat (Diana *et al.,* 2022).

Dengan mempertimbangkan berbagai tantangan tersebut, penelitian ini bertujuan menggabungkan SLR dan bibliometrik untuk memberikan gambaran komprehensif mengenai perkembangan penelitian metabarcoding eDNA pada spons laut. Pendekatan ini memungkinkan analisis terintegrasi antara temuan empiris, pola publikasi, struktur pengetahuan, dan kesenjangan penelitian. Hasil penelitian diharapkan tidak hanya memberikan pemahaman mengenai arah perkembangan riset global, tetapi juga memberikan dasar bagi penguatan kontribusi dari negara-negara megabiodiversitas seperti Indonesia dalam penelitian eDNA spons, serta membuka peluang untuk pengembangan protokol yang lebih standar dan basis data lokal yang lebih kuat.sia.

SISTEMATIK LITERATUR REVIEW

Environmental DNA (eDNA) telah menjadi salah satu pendekatan paling inovatif dalam kajian biodiversitas laut karena mampu mendeteksi organisme tanpa harus mengumpulkan spesimen secara langsung. Konsep ini didasarkan pada kemampuan organisme melepaskan fragmen DNA ke lingkungan melalui ekskresi, sekresi, sel kulit, hingga proses dekomposisi. Pendekatan ini menawarkan peluang untuk mengidentifikasi spesies secara lebih efisien, terutama pada organisme yang sulit dijangkau atau jarang ditemui (Thomsen & Willerslev, 2015). Perkembangan eDNA terus meningkat seiring dengan kemajuan metode ekstraksi DNA dan teknologi sekuensing yang semakin sensitif dalam menangkap variasi genetik dari komunitas organisme yang kompleks (Barnes & Turner, 2016).

Teknik metabarcoding kemudian memperkuat fungsi eDNA dengan memanfaatkan platform high-throughput sequencing (HTS) yang memungkinkan identifikasi banyak taksa secara simultan. Dengan menggunakan marker genetik seperti COI, 12S rRNA, dan 18S rRNA, metabarcoding dapat mengungkap struktur komunitas secara komprehensif. Berbagai studi menunjukkan bahwa metabarcoding lebih efektif daripada metode berbasis morfologi dalam mengidentifikasi spesies kriptik, jarang ditemukan, atau yang memiliki variasi morfologi yang tumpang tindih (Deagle *et al.,* 2014; Stat *et al.,* 2017). Integrasi metabarcoding dan eDNA secara konsisten menghasilkan tingkat resolusi taksonomi yang lebih tinggi, menjadikannya alat penting dalam penelitian biodiversitas laut.

Spons laut (Porifera) merupakan salah satu organisme yang paling diuntungkan oleh perkembangan eDNA dan metabarcoding. Secara ekologis, spons memiliki peran penting dalam filtrasi air, siklus biogeokimia, dan menyediakan habitat bagi berbagai mikroorganisme. Namun, identifikasi morfologi spons sangat menantang karena struktur anatominya yang sederhana, plastisitas bentuk yang tinggi, serta tingginya variasi intraspesies. Kesulitan tersebut telah lama menyebabkan rendahnya akurasi identifikasi dan terbatasnya dokumentasi biodiversitas spons, terutama di ekosistem tropis (Cárdenas & Rapp, 2015). Dengan demikian, pendekatan molekuler merupakan solusi tepat untuk mengatasi hambatan taksonomi ini.

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa spons dapat bertindak sebagai reservoir eDNA karena kemampuan filtrasi air yang tinggi. Spons dapat menyimpan DNA dari organisme lain yang terdapat di dalam air, sehingga berpotensi menjadi indikator penting untuk memetakan komunitas biota di sekitarnya (Turon *et al.,* 2018). Pendekatan ini membuka peluang baru untuk memanfaatkan spons tidak hanya sebagai objek kajian, tetapi juga sebagai "bio-sampler" alami. Namun demikian, metode ini masih dalam tahap pengembangan dan berbagai aspek teknis seperti durasi retensi DNA, degradasi DNA, serta variasi efisiensi

filtrasi antar spesies spons masih menjadi tantangan.

Tantangan lainnya dalam metabarcoding spons adalah ketiadaan marker DNA universal yang optimal untuk semua kelompok Porifera. Marker COI misalnya, sering dianggap kurang efektif karena tingginya variabilitas pada beberapa ordo spons. Sebaliknya, marker 18S rRNA lebih stabil tetapi memiliki resolusi spesies yang lebih rendah (Hoshino *et al.,* 2021). Perbedaan karakteristik marker genetika ini menyebabkan hasil metabarcoding membutuhkan analisis bioinformatika yang lebih hati-hati, termasuk pemilihan primer dan metode klasifikasi taksonomi.

Selain keterbatasan marker, salah satu hambatan terbesar dalam penelitian eDNA spons adalah belum lengkapnya database referensi genetik seperti GenBank dan BOLD Systems. Rendahnya representasi sekuens spons dalam pangkalan data global menyebabkan banyak sekuens metabarcoding tidak dapat diidentifikasi hingga tingkat spesies (Collins *et al.,* 2021). Minimnya data referensi ini terutama berasal dari kurangnya studi sekuensing spons di wilayah megabiodiversitas, yang idealnya menjadi pemasok utama data genetik global.

Dalam konteks global, penelitian eDNA dan metabarcoding sangat dipengaruhi oleh ketimpangan geografis. Negara-negara maju seperti Jepang, Australia, Amerika Serikat, dan negara-negara Eropa mendominasi publikasi dalam bidang ini, sedangkan negara megabiodiversitas seperti Indonesia, Filipina, dan Papua Nugini berkontribusi relatif minim (Zinger *et al.,* 2019). Kondisi ini berpotensi menghasilkan bias dalam estimasi keanekaragaman global dan menghambat penilaian konservasi di wilayah tropis. Oleh karena itu, diperlukan peningkatan riset molekuler di kawasan dengan tingkat biodiversitas tertinggi.

Perkembangan metodologi bioinformatika juga berperan penting dalam meningkatkan kualitas analisis metabarcoding. Perangkat lunak seperti QIIME2, DADA2, dan OBITools telah memungkinkan analisis sekuens yang lebih robust melalui proses seperti denoising, filtering, chimera removal, dan klasifikasi taksonomi berbasis algoritma machine learning (Callahan *et al.,* 2016; Bolyen *et al.,* 2019). Dengan semakin majunya perangkat analisis, hasil metabarcoding spons menjadi lebih konsisten dan dapat direproduksi, sehingga memperkuat kredibilitas metode ini dalam penelitian biodiversitas.

Penggunaan eDNA dalam bidang konservasi juga semakin menonjol. Banyak studi menunjukkan bahwa eDNA dapat menjadi alat monitoring yang efektif untuk mendeteksi perubahan komunitas akibat tekanan lingkungan, polusi, atau perubahan iklim (Harrison *et al.,* 2019). Spons, karena sifatnya yang filtrator pasif, dapat berfungsi sebagai indikator perubahan kondisi lingkungan. Dengan demikian, penggunaan metabarcoding eDNA pada spons dapat memberikan data penting untuk upaya konservasi ekosistem laut.

Secara keseluruhan, tinjauan pustaka ini menunjukkan bahwa penggunaan eDNA dan metabarcoding pada spons masih dalam tahap berkembang tetapi memiliki potensi besar. Keterbatasan seperti marker genetik, bias geografis, dan kurangnya data referensi masih menjadi tantangan utama. Namun perkembangan teknologi sekuensing, perangkat analisis bioinformatika, dan meningkatnya perhatian pada konservasi biodiversitas memberikan peluang besar bagi penelitian lanjutan. Oleh karena itu, integrasi pendekatan molekuler dengan pemetaan ekologi, konservasi, dan bioinformatika diperlukan untuk mendorong pemahaman yang lebih kuat mengenai peran dan keragaman spons di ekosistem laut.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan dua pendekatan utama, yaitu Systematic Literature Review (SLR) berbasis pedoman Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) dan analisis bibliometrik untuk memetakan perkembangan penelitian terkait penggunaan environmental DNA (eDNA) dan metabarcoding pada spons laut. Kombinasi kedua metode ini dipilih untuk memberikan gambaran komprehensif mengenai tren penelitian, distribusi publikasi, fokus tematik, serta kesenjangan ilmu pengetahuan yang masih ada.

SLR dilakukan mengikuti empat tahap utama PRISMA, meliputi identifikasi, screening, penilaian kelayakan (eligibility), dan inklusi studi. Pada tahap identifikasi, pencarian artikel dilakukan melalui database Scopus, yang dipilih karena cakupan globalnya yang luas, kualitas indeksasi tinggi, serta relevansi untuk kajian ilmiah internasional. Kata kunci pencarian terdiri dari kombinasi: “environmental DNA”, “eDNA”, “metabarcoding”, “Porifera”, dan “marine sponges”. Pencarian difokuskan pada periode publikasi tahun 2009–2025 karena rentang waktu tersebut mewakili era

modern perkembangan penelitian eDNA dan kemunculan metode metabarcoding.

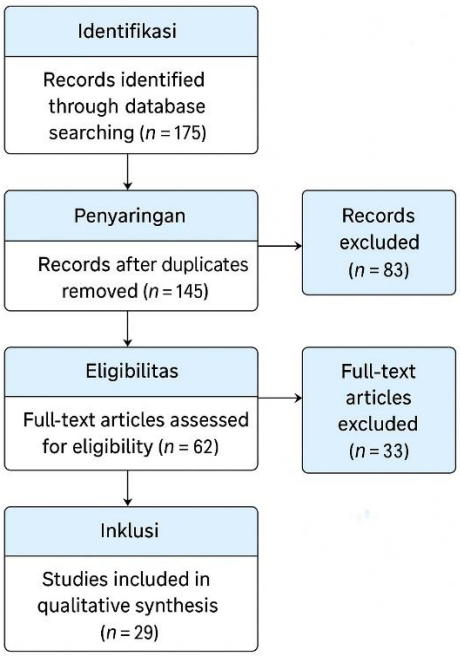
Tahap screening dilakukan dengan menghilangkan duplikasi artikel dan memeriksa judul serta abstrak berdasarkan kriteria inklusi. Artikel diikutsertakan jika memenuhi beberapa kriteria, yaitu (1) penelitian yang menggunakan eDNA atau metabarcoding pada spons laut, baik studi laboratorium, lapangan, maupun bioinformatika; (2) publikasi asli dalam bentuk artikel penelitian; dan (3) tersedia dalam bahasa Inggris. Sementara itu, artikel dieksklusi apabila berupa review, editorial, prosiding singkat, atau tidak membahas spons secara langsung. Pada tahap eligibility, isi artikel dibaca penuh untuk menilai kesesuaian metodologi dan relevansinya terhadap tujuan penelitian.

Artikel yang memenuhi kriteria inklusi kemudian dianalisis menggunakan pendekatan bibliometrik. Analisis bibliometrik dilakukan menggunakan perangkat lunak VOSviewer versi terbaru, yang mampu memvisualisasikan jaringan penulis, kolaborasi negara, kata kunci, dan sitasi. Data bibliografis dari Scopus diekspor dalam format CSV dan diolah untuk menghasilkan representasi grafis berupa co-authorship networks, co-occurrence of keywords, dan citation networks. Teknik ini memungkinkan identifikasi pola kolaborasi ilmiah, fokus tematik, dan peta intelektual dalam penelitian eDNA spons.

Proses pengolahan data bibliometrik mencakup tiga tahap: (1) normalisasi data untuk memastikan konsistensi penulisan penulis, negara, dan kata kunci; (2) pengelompokan (clustering) menggunakan algoritma VOS yang menghasilkan klaster penelitian berdasarkan kedekatan tematik; dan (3) analisis densitas untuk menilai area penelitian yang paling aktif. Pendekatan ini mengikuti metode standar dalam studi bibliometrik yang telah digunakan secara luas dalam pemetaan lanskap penelitian ilmiah (Donthu *et al.,* 2021; van Eck & Waltman, 2014).

Sementara itu, analisis kualitatif terhadap hasil SLR dilakukan untuk mengidentifikasi metode ekstraksi DNA yang digunakan, marker genetik yang diterapkan, strategi bioinformatika, serta tantangan metodologis dalam penelitian eDNA spons. Informasi ini kemudian disintesis untuk menilai konsistensi temuan antar studi dan mengungkap kesenjangan pengetahuan yang masih belum dijawab oleh penelitian sebelumnya.

Penggabungan antara PRISMA dan analisis bibliometrik memberikan dua keuntungan utama: pertama, menghasilkan evaluasi sistematis terhadap kualitas dan relevansi literatur; kedua, menyediakan gambaran visual mengenai struktur pengetahuan, tren publikasi, dan arah perkembangan penelitian secara global. Metode ini tidak hanya memperlihatkan apa yang telah diteliti tetapi juga mengidentifikasi area yang memerlukan eksplorasi lebih lanjut, terutama dalam konteks ekologi spons dan penerapan eDNA di wilayah megabiodiversitas seperti

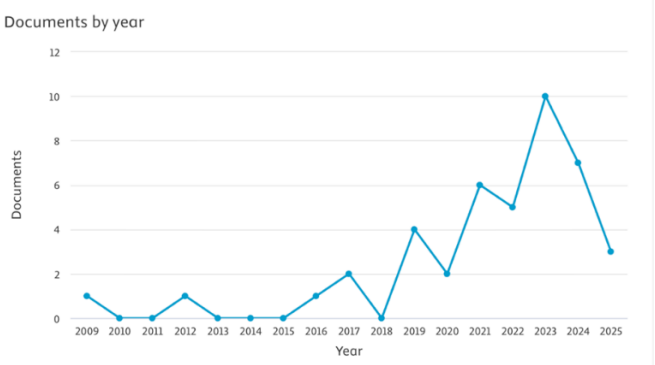


Gambar 1. Tinjauan Literatur Sistematis Aliran Informasi Menggunakan PRISMA

Dokumen ini kemudian dianalisis lebih lanjut dalam studi ini untuk menjawab RQ1: Apakah eksplorasi pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut tetap menjadi subjek yang sangat penting bagi penyelidikan ilmiah di masa mendatang? RQ2: Bagaimana alokasi investigasi penelitian terkait pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut? RQ3: Bagaimana pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut?

Studi ini menganalisis 42 artikel yang terindeks dalam basis data Scopus yang membahas spons laut, porifera DAN metabarkode, DNA lingkungan. Kumpulan data disusun dengan memeriksa jumlah artikel yang diterbitkan, tren publikasi dari waktu ke waktu, dan sumber jurnal. Lebih lanjut, studi ini menyoroti aspek-aspek yang paling berpengaruh di bidang penelitian ini, termasuk penulis terkemuka, afiliasi institusional, dan negara-negara yang berkontribusi pada bidang ini. Pertanyaan penelitian utama (RQ1) yang dibahas dalam studi ini adalah: Apakah eksplorasi pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut tetap menjadi subjek yang sangat penting bagi penyelidikan ilmiah di masa mendatang?

Berdasarkan data yang diperoleh dari basis data Scopus, telah dikonfirmasi bahwa selama tiga dekade terakhir, karya ilmiah tentang pendekatan eDNA metabarcoding untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut masih relatif langka, seperti yang diilustrasikan pada **Gambar 1**. Meskipun demikian, minat penelitian dalam topik ini telah menunjukkan pertumbuhan yang signifikan selama dekade terakhir, dengan perkembangan progresif yang terutama terlihat sejak 2017. Berdasarkan data yang diperoleh dari Scopus, jumlah publikasi mulai meningkat pada tahun 2019, 2021, dan 2023. Tahun-tahun ini merupakan pertumbuhan paling signifikan dalam dua dekade terakhir, dengan masing-masing mencatat tiga publikasi per tahun



Gambar 2. Jumlah publikasi pendekatan eDNA metabarcoding untuk mendeteksi keragaman spons laut

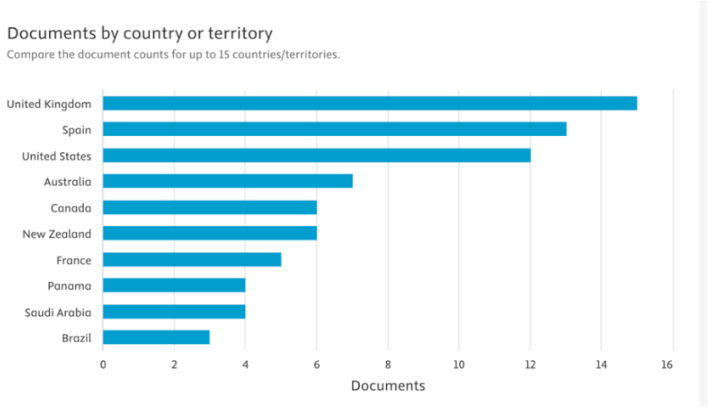
Sejak tahun 2009, literatur tentang pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut masih terbatas, terutama karena minimnya penelitian yang dipublikasikan di jurnal bereputasi. Kesenjangan ini menyoroti peluang penting bagi peneliti masa depan untuk memajukan kontribusi ilmiah di bidang ini. Mengatasi masalah ini penting untuk memperdalam pemahaman ilmiah tentang pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut, dengan implikasi tidak hanya untuk penyempurnaan kerangka kerja metabarkode eDNA tetapi juga untuk memperkuat fondasi konseptual dalam mendeteksi keanekaragaman spons laut. Lebih lanjut, penelitian semacam itu dapat memfasilitasi penerapan pengetahuan yang lebih komprehensif dan berkelanjutan terkait pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut di berbagai bidang ilmiah dan terapan.

RQ2: Bagaimana alokasi investigasi penelitian terkait pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut?

Analisis distribusi penelitian tentang pendekatan metabarcode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut dalam 42 artikel dilakukan dengan mengkategorikan penelitian berdasarkan klasifikasi seperti negara, wilayah, afiliasi, sumber, dan penulis, dengan batasan 10 entri teratas di setiap klasifikasi. Memahami alokasi karya ilmiah tentang pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut sangat berharga bagi akademisi dan praktisi, karena membantu menjelaskan agenda penelitian di masa mendatang, khususnya dalam kemajuan berkelanjutan tentang

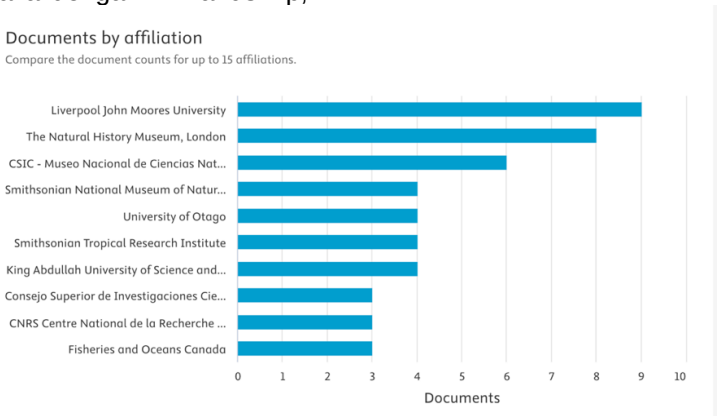
paradigma pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut.

Pertama, distribusi penelitian ilmiah berdasarkan negara atau wilayah geografis menunjukkan bahwa Inggris Raya memimpin dengan 15 artikel, diikuti oleh Spanyol dengan 13 artikel. Amerika Serikat menyumbang 12 artikel, sementara Australia dengan 7 artikel. Kanada dan Selandia Baru masing-masing diwakili oleh 6 artikel, Prancis dengan 5 artikel, Panama dan Arab Saudi menyumbang 4 artikel, sementara Brasil masing-masing menyumbang 3 artikel (lihat **Gambar 2**). Pola ini menunjukkan bahwa penelitian tentang pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut masih terkonsentrasi terutama di negara-negara Eropa, dengan kontribusi yang relatif terbatas dari wilayah lain.



Gambar 3. Jumlah artikel berdasarkan negara atau wilayah (10 negara teratas)

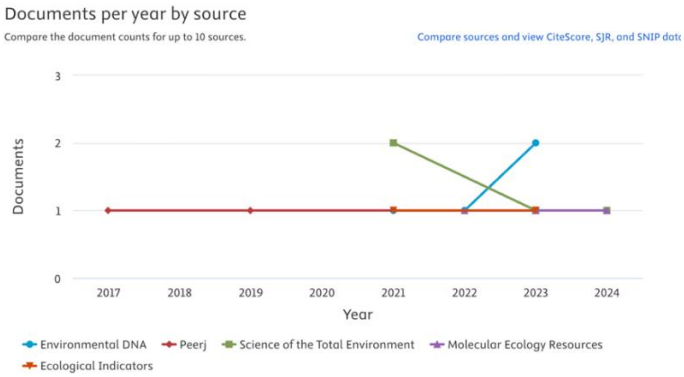
Alokasi penelitian ilmiah terkait pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut, yang dikategorikan berdasarkan negara atau wilayah, menunjukkan Inggris Raya sebagai kontributor utama dengan 15 manuskrip, diikuti oleh Spanyol dengan 13 manuskrip. Negara-negara lain yang telah memberikan kontribusi signifikan antara lain Amerika Serikat dengan 12 manuskrip; Australia dengan 7 manuskrip; Kanada dan Selandia Baru masing-masing dengan 6 manuskrip; Prancis dengan 5 manuskrip; Panama dan Arab Saudi dengan 4 manuskrip; dan Brasil dengan 3 manuskrip. Temuan ini menunjukkan bahwa isu pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut telah menarik perhatian di berbagai negara, yang mencerminkan relevansinya secara global.



Gambar 4. Jaringan Afiliasi Institusi

Kedua, alokasi beasiswa terkait pendekatan metabarcoding eDNA untuk mendeteksi keragaman spons laut berdasarkan afiliasi institusional sebagian besar diwakili oleh Liverpool John Moores University (Inggris) dengan 9 artikel, The Natural History Museum (London) dengan 8 artikel, CSIC-Museo Nacional de Ciencias Naturales (Spanyol) dengan 6 artikel, Smithsonian National Museum of Natural History (AS); University of Otago (Selandia Baru); Smithsonian Tropical Research Institute (Panama); King Abdullah University of Scienceand Technology (Arab Saudi) dengan masing-masing 4 artikel, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (Spanyol); CNRS Centre National de la Recherche Scientifique (Prancis); dan Fisheries and Oceans (Kanada) dengan

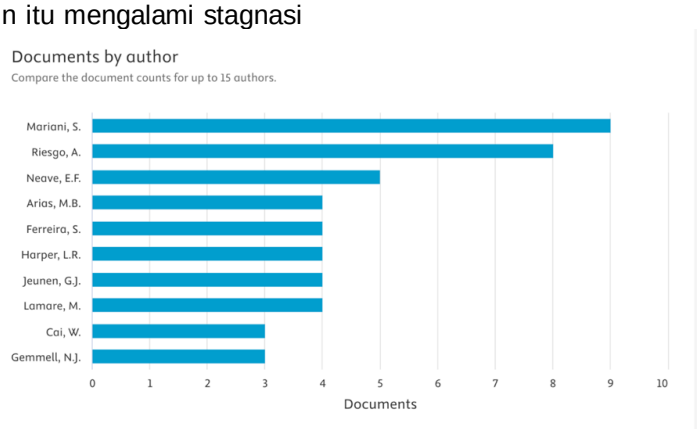
masing-masing 3 artikel (lihat **Gambar 4**). Distribusi ini menunjukkan bahwa penelitian tentang pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut terkonsentrasi di lembaga-lembaga terkemuka di Eropa dan Asia, khususnya di Inggris, London, Prancis, AS, Selandia Baru, Panama, dan Arab Saudi. Pola ini mencerminkan peran sentral organisasi-organisasi penelitian Internasional besar, sementara representasi institusional dari kawasan lain masih relatif terbatas, yang menyoroti perlunya kolaborasi Internasional yang lebih luas dan pengembangan kapasitas di bidang-bidang yang kurang terlibat dalam bidang ini.



Gambar 5. Jumlah artikel berdasarkan sumber

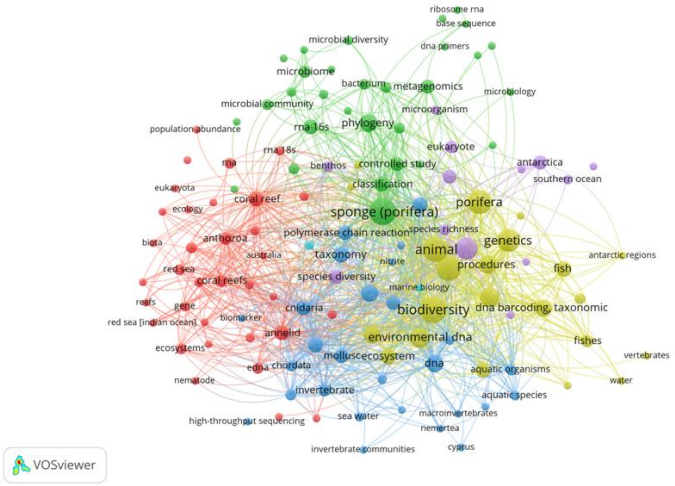
Ketiga, jumlah artikel yang diterbitkan dari berbagai sumber, sebagaimana diidentifikasi melalui analisis Scopus, didistribusikan sebagai berikut: Peerj (1 artikel pada tahun 2017 dan 2019), Indikator Ekologi (1 artikel pada tahun 2021 dan 2023), DNA Lingkungan (1 artikel pada tahun 2022, 2 artikel pada tahun 2023), Ilmu Lingkungan Total (2 artikel pada tahun 2021, 1 artikel pada tahun 2023), dan Sumber Daya Ekologi Molekuler (1 artikel pada tahun 2024). Hal ini mengindikasikan bahwa sumber artikel yang terbit dari tahun 2017-2024 menerbitkan jurnal tertinggi terjadi pada tahun 2021 dan 2023, selain itu mengalami stagnasi tidak mengalami kenaikan, hanya 1 artikel per tahunnya.

Konsistensi tersebut menunjukkan bahwa meskipun topik ini tetap hadir secara ilmiah, topik ini belum mengalami lonjakan minat penelitian atau perluasan interdisipliner yang signifikan. Stagnasi ini menyoroti kesenjangan penelitian dan menggarisbawahi perlunya keterlibatan dan kolaborasi ilmiah yang lebih luas untuk memajukan wacana tentang pendekatan metabarkode eDNA untuk mendeteksi keanekaragaman spons laut.



Gambar 6. Jumlah artikel berdasarkan penulis

Berdasarkan kontribusi penulis (10 Penulis Teratas): Mariani, S. menyumbang sembilan dokumen, diikuti oleh Riesgo, A. dengan delapan dokumen. Neave, E.F. menghasilkan lima dokumen, sementara Arias, M.B., Ferreira, S., Harper, L.R., Jeunen, G.J., dan Lamare, M. masing-masing menyumbang empat dokumen. Selanjutnya, Cai, W., dan Gemmell, N.J. masing-masing menyumbang tiga dokumen. Temuan ini menunjukkan bahwa jumlah penulis yang terlibat dalam penelitian tentang topik ini masih relatif terbatas. Oleh karena itu, diperlukan penelitian ilmiah lebih lanjut untuk memperkaya literatur dan menghasilkan temuan yang lebih relevan untuk agenda penelitian di masa mendatang.



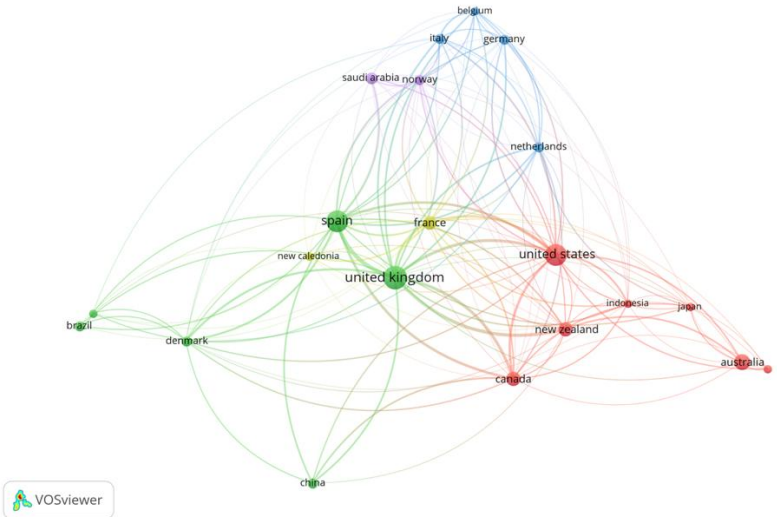
Gambar 7. Visualisasi Co-Occurance

Analisis Co-Occurance Keywords

Peta Co-Occurance kata kunci (**Gambar 6**) menggambarkan dinamika tematik penelitian spons laut dan interseksinya dengan keanekaragaman hayati dan ekologi laut. Analisis ini mengidentifikasi lima klaster utama yang saling melengkapi.

Klaster kuning menekankan genetika dan keanekaragaman hayati, dengan kata kunci seperti genetika, keanekaragaman hayati, kode batang DNA, spesies akuatik, dan DNA lingkungan. Tren ini menunjukkan bahwa penelitian kontemporer semakin banyak menggunakan pendekatan molekuler, khususnya eDNA dan kode batang, untuk mendeteksi dan memantau keanekaragaman hayati laut. Klaster hijau dikaitkan dengan mikrobioma dan metagenomik, termasuk kata kunci seperti mikrobioma, keanekaragaman mikroba, metagenomik, dan komunitas bakteri, yang menggarisbawahi peran simbiosis mikroba pada spons dan kontribusinya terhadap ekosistem laut.

Klaster merah berfokus pada ekologi terumbu karang dan ekosistem laut, dengan kata kunci seperti terumbu karang, anthozoa, ekosistem, Laut Merah, dan ekologi. Penelitian dalam klaster ini menyoroti saling ketergantungan ekologis antara spons dan terumbu karang tropis, dimana spons memainkan peran krusial dalam siklus nutrisi dan dinamika komunitas. Klaster biru mencerminkan perhatian terhadap invertebrata laut yang terdeteksi melalui pengurutan berthroughput tinggi dan eDNA, dengan kata kunci seperti invertebrata, moluska, annelida, chordata, dan nematoda. Terakhir, klaster ungu berkaitan dengan penelitian di Antartika dan lingkungan ekstrem, yang diwakili oleh kata kunci seperti Antartika, Samudra Selatan, dan wilayah Antartika.



Gambar 8. Jaringan visualisasi

Analisis Kolaborasi Internasional

Visualisasi jaringan kolaborasi Internasional (**Gambar 7**) menggambarkan distribusi global penelitian spons laut (Porifera). Ukuran simpul menunjukkan produktivitas publikasi, sementara ketebalan garis menunjukkan intensitas kolaborasi. Analisis menunjukkan bahwa kolaborasi Internasional terkonsentrasi dalam tiga klaster utama.

Klaster pertama (hijau) didominasi oleh Britania Raya dan Spanyol, yang memiliki jaringan luas dengan negara-negara Eropa Barat (Prancis, Denmark, Belgia, Italia), serta kolaborasi antarbenua dengan Tiongkok, Brasil, dan Kaledonia Baru. Dalam klaster ini, Britania Raya muncul sebagai pusat kolaborasi utama. Klaster kedua (merah) menyoroti Amerika Serikat sebagai simpul pusat, dengan koneksi yang kuat ke Australia, Selandia Baru, Kanada, Jepang, dan Indonesia. Jaringan ini mencerminkan kekuatan penelitian di kawasan Atlantik dan Pasifik. Sementara itu, klaster ketiga (biru) terdiri dari negara-negara Eropa Utara, khususnya Jerman, Belanda, Belgia, dan Norwegia, dengan penelitian yang sebagian besar berorientasi pada taksonomi dan keanekaragaman hayati. Selain itu, klaster yang muncul (ungu) mencakup negara-negara dengan kontribusi yang relatif sederhana tetapi peningkatan keterlibatan dalam kolaborasi global, seperti Arab Saudi.

Temuan-temuan ini menunjukkan bahwa penelitian spons laut pada dasarnya bersifat global, dengan pusat-pusat penelitian utama berlokasi di Eropa Barat, Amerika Serikat, dan Jerman. Kolaborasi lintas benua yang melibatkan Asia dan Oseania semakin memperkuat integrasi penelitian, sehingga memajukan pengetahuan ilmiah tentang keanekaragaman hayati laut.

Secara keseluruhan, analisis kata kunci menunjukkan bahwa penelitian spons laut telah berkembang menuju kerangka kerja integratif yang mencakup ekologi, genetika molekuler, mikrobiologi, dan eksplorasi habitat ekstrem. Tren penelitian saat ini dan di masa mendatang mengarah pada pemanfaatan eDNA, metagenomik, dan kode batang sebagai alat utama untuk lebih memahami keanekaragaman hayati spons dan fungsi ekologisnya dalam skala global.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil bibliometrik menunjukkan bahwa publikasi mengenai eDNA dan metabarcoding spons laut mengalami peningkatan signifikan selama satu dekade terakhir. Peningkatan tajam setelah tahun 2017 konsisten dengan laporan Deiner *et al.* (2017) dan Taberlet *et al.* (2018) yang menyebutkan bahwa stabilnya teknologi sekuensing generasi baru mendorong adopsi eDNA secara global. Lonjakan publikasi pada 2019–2023 juga sejalan dengan temuan Harper *et al.* (2023) yang menekankan optimalisasi pipeline bioinformatika dan peningkatan kelengkapan marker genetik dalam studi ekologi molekuler. Hasil ini menunjukkan bahwa eDNA telah beralih dari metode eksperimental menjadi pendekatan standar dalam survei biodiversitas laut.

Interpretasi visual bibliometrik memperlihatkan bahwa riset eDNA spons didominasi oleh negara-negara maju seperti Inggris, Spanyol, Amerika Serikat, dan Australia. Temuan ini sejalan dengan Donthu *et al.* (2021), yang menyatakan bahwa dominasi geografis dalam publikasi ilmiah umumnya dipengaruhi oleh kapasitas laboratorium dan jejaring kolaborasi internasional. Secara ilmiah, hal ini menciptakan bias geografis karena wilayah megabiodiversitas seperti Indonesia dan kawasan Indo-Pasifik masih minim kontribusi meskipun memiliki kekayaan Porifera yang sangat besar (Taylor *et al.,* 2007; Colman, 2015). Ketimpangan ini menunjukkan perlunya memperkuat riset berbasis eDNA di negara-negara tropis untuk mengurangi bias taksonomi global.

Analisis kata kunci menunjukkan empat klaster tematik utama. Klaster pertama berkaitan dengan genetika dan barcoding, menguatkan temuan Leray dan Knowlton (2017) bahwa identifikasi molekuler Porifera menghadapi tantangan resolusi spesies. Klaster kedua mencerminkan penelitian mikrobioma spons, sesuai dengan penjelasan Neave *et al.* (2023) mengenai peran mikroba dalam fungsi ekologis spons. Klaster ketiga terkait ekologi terumbu dan dinamika komunitas, menegaskan fungsi spons sebagai organisme penyaring dalam jejaring ekosistem (Taylor *et al.,* 2007). Klaster keempat berfokus pada eksplorasi lingkungan ekstrem dan evolusi Porifera, sejalan dengan penelitian terbaru pada habitat laut dalam (Capurso *et al.,* 2023). Pola klaster tersebut menunjukkan bahwa penelitian eDNA spons semakin multidisipliner.

Meskipun eDNA berbasis spons menjanjikan, pendekatan ini memiliki tantangan metodologis yang signifikan. Pertama, masalah marker gene merupakan kendala fundamental. Marker COI sering gagal memberikan resolusi spesies pada spons, sebagaimana dijelaskan Dhurjuus *et al.* (2018), sementara 18S memiliki cakupan

luas tetapi kurang informatif untuk membedakan taksa. Kedua, jaringan spons mengandung metabolit bioaktif yang dapat menghambat amplifikasi PCR, menyebabkan rendahnya kualitas sekuensing (Neave *et al.,* 2023). Ketiga, basis data referensi global untuk Porifera masih terbatas, sehingga banyak sekuens eDNA tidak dapat diidentifikasi pada tingkat spesies, sebagaimana dilaporkan Harper et al. (2023). Tantangan ini menegaskan perlunya upaya global untuk memperluas barcoding Porifera, khususnya dari wilayah tropis.

Implikasi konservasi dari temuan ini sangat kuat. Mariani *et al.* (2019) menunjukkan bahwa spons dapat bertindak sebagai "natural samplers" yang menyimpan DNA dari berbagai organisme, termasuk ikan, moluska, dan mikroorganisme. Hal ini sangat bermanfaat untuk monitoring ekosistem di kawasan sulit dijangkau. Integrasi eDNA spons dalam program konservasi dapat meningkatkan sensitivitas deteksi spesies, mempercepat respon ekologis, dan menyediakan data berbasis bukti untuk pengelolaan kawasan konservasi laut (Shea *et al.,* 2023). Indonesia, sebagai negara megabiodiversitas, dapat memanfaatkan teknologi ini untuk memperbaiki sistem monitoring modern pada ekosistem terumbu karang.

Arah penelitian masa depan memerlukan langkah strategis yang konkret. Pertama, pembangunan database referensi DNA spons tropis harus diprioritaskan untuk mengatasi tingginya sekuens tak teridentifikasi (Harper *et al.,* 2023). Kedua, standardisasi marker gene dan protokol eDNA antar-laboratorium perlu dilakukan untuk meningkatkan konsistensi (Deiner *et al.,* 2017). Ketiga, pengembangan model degradasi eDNA berbasis spesies akan membantu memahami kemampuan spons dalam mempertahankan DNA lingkungan. Keempat, integrasi eDNA dengan analisis mikrobioma dapat memperluas pemahaman tentang peran ekologis spons (Neave *et al.,* 2023). Kelima, riset jangka panjang berbasis eDNA di kawasan konservasi Indonesia dapat membuka informasi baru tentang biodiversitas tersembunyi. Keenam, pemanfaatan bioinformatika berbasis AI dapat meningkatkan akurasi klasifikasi sekuens dan mengurangi jumlah "unassigned reads" yang selama ini menjadi hambatan utama (Capurso *et al.,* 2023).

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil tinjauan sistematis dan bibliometrik menunjukkan bahwa penelitian eDNA spons meningkat pesat dalam satu dekade terakhir, dengan empat fokus utama: genetika, mikrobioma, ekologi, dan eksplorasi habitat ekstrem. Namun, penelitian masih menghadapi kendala penting seperti keterbatasan marker gene, inhibisi PCR, dan minimnya database referensi, sementara kontribusi dari wilayah megabiodiversitas seperti Indonesia masih rendah. Temuan ini menegaskan bahwa spons memiliki potensi besar sebagai "natural sampler" untuk survei keanekaragaman hayati laut, tetapi penguatan kapasitas riset lokal dan perbaikan kualitas data menjadi kebutuhan mendesak. Arah penelitian masa depan perlu diarahkan pada pembangunan database DNA spons tropis, standardisasi protokol eDNA, dan pengembangan model degradasi eDNA untuk meningkatkan akurasi identifikasi spesies. Integrasi eDNA dengan riset mikrobioma serta pengembangan analisis berbasis bioinformatika dan AI akan sangat membantu mengurangi sekuens tak teridentifikasi. Selain itu, monitoring jangka panjang berbasis eDNA di kawasan konservasi Indonesia penting untuk menghadirkan data biodiversitas yang lebih komprehensif dan mendukung pengelolaan laut berbasis bukti.

DAFTAR PUSTAKA

Barnes, M. A., & Turner, C. R. (2016). The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. Conservation Genetics, 17(1), 1–17.

Bolyen, E., et al. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. Nature Biotechnology, 37(8), 852–857.

Cai, W., Harper, L. R., Neave, E. F., Shum, P., Craggs, J., Arias, M. B., Riesgo, A., & Mariani, S. (2022). Environmental DNA persistence and fish detection in captive sponges. Molecular Ecology Resources, 22(8), 2956–2966. https://doi.org/10.1111/1755-0998.13677

Callahan, B. J., et al. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nature Methods, 13, 581–583.

Capurso G, Carroll B, Stewart KA. 2023. Transforming marine monitoring: using eDNA metabarcoding to improve the monitoring of the Mediterranean Marine Protected Areas network. Marine Policy, 156, 105807. DOI 10.1016/j.marpol.2023.105807.

Cárdenas, P., & Rapp, H. T. (2015). Demosponges: Spicule diversity and the

evolution of body plans. Integrative and Comparative Biology, 55, 446–457.

Clarke, L. J., Beard, J. M., Swadling, K. M., & Deagle, B. E. (2021). eDNA metabarcoding for ecological community assessment: Comparison of water and sediment sampling in Antarctic environments. PeerJ, 9, e12458. https://doi.org/10.7717/peerj.12458

Collins, R. A., et al. (2021). Barcoding and metabarcoding of marine sponges: Successes and challenges. Molecular Ecology Resources, 21(4), 1026–1043.

Colman, A.S. (2015). Spons symbionts and the marine P cycle. PNAS, 112 (14) 4191-4192. https://doi.org/10.1073/pnas.1502763112

Deagle, B. E., et al. (2014). DNA metabarcoding and the future of biodiversity monitoring. Trends in Ecology & Evolution, 29(3), 190–199.

Deiner, K., Bik, H. M., Mächler, E., Seymour, M., Lacoursière-Roussel, A., Altermatt, F., … Bernatchez, L. (2017). Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. Molecular Ecology, 26(21), 5872–5895. https://doi.org/10.1111/mec.14350

Diana, A., Matechou, E., Griffin, J., Yu, D., Luo, M., Tosa, M., … Griffiths, R. (2022). eDNAPlus: A unifying modelling framework for DNA-based biodiversity monitoring. bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2022.11.22.517562

Djurhuus, A., Pitz, K., Sawaya, N.A., Marquez, R.J., Michaud, B., Montes, E., Karger, F.M., & Breitbart, M. (2018). Evaluation of marine zooplankton community structure through environmental DNA metabarcoding. *Limnology and Oceanography: Methods.* https://doi.org/10.1002/lom3.10237

Donthu, N., Kumar, S., Mukherjee, D., Pandey, N., & Lim, W. M. (2021). How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. Journal of Business Research, 133, 285–296.

Fan, L., McElroy, K., Thomas, T. (2012). Reconstruction of Ribosomal RNA Genes from Metagenomic Data. Plos ONE, Volume 7, Issue 6, e39948.

Fediajevaite J., Priestley V., Arnold R., Savolainen V. (2021). Meta-analysis shows that environmental DNA outperforms traditional surveys, but warrants better reporting standards. Ecol Evol, 11(9), 4803–4815. https:// doi. org/ 10.1002/ ece3. 7382

Gallego, R., Arias, M.B., Lou, A.C., Vives, C.D., N, E.F., Wang, C., Cardenas, P., Steffen, K., Taboada, S., Villamor, A., Kenchington, E., Mariani, S., Riesgo, A. (2024). North Atlantic deep-sea benthic biodiversity unveiled through sponge natural sampler DNA. Communications Biology, 7, 1015.

Harper, L. R., Neave, E. F., & Mariani, S. (2025). DNA State Influences the Uptake and Persistence of Environmental DNA by Marine Sponge Natural Samplers. Ecology and Evolution (in press). https://doi.org/10.1002/ece3.XXXX

Harper, L. R., Neave, E. F., Sellers, G. S., Cunnington, A. V., Arias, M. B., Craggs, J., … Mariani, S. (2023). Optimized DNA isolation from marine sponges for natural sampler DNA metabarcoding. Environmental DNA, 5(3), 438–461. https://doi.org/10.1002/edn3.392

Harrison, J. B., Sunday, J. M., & Rogers, S. M. (2019). Predicting the fate of eDNA in the environment. Molecular Ecology, 28(8), 1973–1988.

Hoshino, T., et al. (2021). Evaluation of universal primers for sponge metabarcoding. Scientific Reports, 11(1), 7501.

Jannel, L.-A., Guilhaumon, F., Valade, P., Chabanet, P., Borie, G., Grondin, H., & Jourand, P. (2024). eDNA metabarcoding, a promising tool for monitoring aquatic biodiversity in the estuaries of Réunion Island (South-West Indian Ocean). Environmental DNA. https://doi.org/10.1002/edn3.XXX

Jeunen, G.-J., Cane, J., Ferreira, S., Strano, F., von Ammon, U., Cross, H., … Gemmell, N. J. (2023). Assessing the utility of marine filter feeders for environmental DNA (eDNA) biodiversity monitoring. Molecular Ecology Resources, 23(4), 771–786. https://doi.org/10.1111/1755-0998.13754

Leray, M., Knowlton, N. (2017). Random sampling causes the low reproducibility of rare eukaryotic OTUs in Illumina COI metabarcoding. Peer J, DOI 10.7717/peerj.3006.

Mariani, S., Baillie, C., Colosimo, G., & Riesgo, A. (2019). Sponges as natural environmental DNA samplers. Current Biology, 29(11), R401–R402. https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.04.031

Neave, E. F., Cai, W., Arias, M. B., Harper, L. R., Riesgo, A., & Mariani, S. (2023).

Trapped DNA fragments in marine sponge specimens unveil North Atlantic deep-sea fish diversity. Proceedings of the Royal Society B, 290(2005), 20230771. https://doi.org/10.1098/rspb.2023.0771

Neave, E.F., Cai, W., Arias, M.B., Harper, L.R., Riesgo, A., Mariani, S. (2023). Trapped DNA fragments in marine spongen specimens unveil North Atlantic deep-sea fish diversity. Proc. R. Soc, B 290, 20230771. https://doi.org/10.1098/rspb.2023.0771

Seongjun, B. (2025). Validation of improved cytochrome c oxidase I (COI) primers for comprehensive biodiversity assessment of ascidians. PeerJ, DOI 10.7717/peerj.19671

Shea, M. M., Kuppermann, J., Rogers, M. P., & others. (2023). Systematic review of marine environmental DNA metabarcoding studies: Toward best practices for data usability and accessibility. PeerJ, 11, e14993. https://doi.org/10.7717/peerj.14993

Stat, M., et al. (2017). Ecosystem biomonitoring with eDNA: Metabarcoding across spatial and temporal scales. Ecology and Evolution, 7(14), 5526–5539.

subterranean assemblages using eDNA metabarcoding in the caves of Christmas Island, Australia. Scientific Reports, 10, 21479.

Taberlet P., Bonin A., Zinger L., Coissac E. (2018). Environmental DNA: For biodiversity research and monitoring. Oxford: Oxford University Press.

Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., & Wagner, M. (2007). Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews,*1(2):295-347. doi: 10.1128/MMBR.00040-06.

Thomsen PF, Willerslev E. 2015. Environmental DNA an emerging tool in conserva-tion for monitoring past and present biodiversity. Biological Conservation, 183, 4–18. DOI 10.1016/j.biocon.2014.11.019.

Thomsen, P. F., & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA—An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. Biological Conservation, 183, 4–18.

Turon, X., et al. (2018). Sponges as eDNA samplers: A new frontier in marine biodiversity assessment. PNAS, 115(8), 1739–1744.

Wesselmann, M., Geraldi, N.R., Marba, N., Hendriks, I.E., Rua, R.D., Duarte, C.M. (2022). eDNA Reveals the Associated Metazoan Diversity of Mediterranean Seagrass Sediments. Diversity, 14, 549. https://doi.org/10.3390/d14070549.

West, K., Travers, M.J., S, M., Harvey, E.S., Richards, Z.T., DiBattista, J.D., Newman, S.J., Harry, A., Skepper, C.L., Heydenrych, M., & Bunce, M. (2021). Large-scale eDNA metabarcoding survey reveals marine biogeographic break and transitions over tropical north-western Australia. *Diversity & Distributions.* https://doi.org/10.1111/ddi.13228

West, K.M., Richards, Z.T., Harvey, E.S., Susac, R., Grealy, A & Bunce, M. (2020). Under the karst: detecting hidden

Zinger, L., et al. (2019). Global patterns of eDNA–metabarcoding research. Nature Ecology & Evolution, 3(7), 1086–1093.