

Kode batang DNA ikan lais genus *Kryptopterus* asal Sungai Mahakam Kalimantan Timur

[Barcoding DNA of catfish species genus *Kryptopterus* from Sungai Mahakam Kalimantan Timur]

Jusmaldi^{1,✉}, Dedy Duryadi², Ridwan Affandi³, M.F. Rahardjo³, Rudhy Gustiano⁴

¹Program Studi Biologi FMIPA Universitas Mulawarman

Jln. Barong Tongkok, Kampus Gunung Kelua Samarinda 75123

²Departemen Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam IPB

Jln. Agatis, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

³Departemen Manajemen Sumber Daya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB

Jln. Agatis, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

⁴Balai Penelitian dan Pengembangan Budi Daya Air Tawar, Badan LITBANG KP

Jln. Sempur No. 1 Bogor 16129

Diterima: 3 Juni 2014; Disetujui: 23 September 2014

Abstrak

Penelitian kode batang DNA spesies ikan lais genus *Kryptopterus* asal Sungai Mahakam Kalimantan Timur menggunakan gen COI DNA mitokondria dilakukan dengan tujuan untuk mengungkap penanda genetik (kode batang DNA), karakterisasi genetik dan pohon genetik. Amplifikasi daerah gen COI DNA mitokondria dilakukan dengan menggunakan pasangan primer COI FishF1 dan COI FishR1 terhadap tiga spesies ikan lais yang terdiri atas *Kryptopterus apogon* (N=3), *K. micronema* (N=6), dan *K. limpok* (N=1). Hasil penelitian menunjukkan penyejajaran berganda pada gen parsial COI DNA mitokondria antara spesies *K. apogon*, *K. micronema*, dan *K. limpok* diperoleh tiga situs nukleotida spesifik sebagai penanda genetik (kode batang DNA). Analisis karakterisasi genetik pada genus *Kryptopterus* berdasarkan gen parsial COI DNA mitokondria menunjukkan situs nukleotida yang bervariasi sebesar 13,58%, substitusi nukleotida lebih besar pada kodon ketiga dan bersifat transisi dari pada transversi. Konstruksi ulang pohon genetik berdasarkan nilai *p-distance* dapat memisahkan kelompok spesies *K. apogon*, *K. micronema*, dan *K. limpok* dengan nilai *bootstrap* sempurna.

Kata penting: DNA mitokondria, gen COI, *Kryptopterus*

Abstract

DNA barcoding of genus *Kryptopterus* catfish from Mahakam River, East Kalimantan by using mitochondrial DNA COI gene has been performed to obtain genetic marker (barcoding DNA), genetic characteristics and genetic tree. Amplification of mitochondrial COI gene regions was conducted by using COI Fish F1 and COI Fish R1 primers on the three catfish species consist of *Kryptopterus apogon* (N=3), *K. micronema* (N=6), and *K. limpok* (N=1). Based on partial COI mtDNA multiple alignment, we obtained three specific nucleotide site as genetic marker. Meanwhile, genetic characteristic analysis revealed 13.58% of nucleotide variation. Nucleotide substitution was greater at the third codon and transitional substitution was greater than transversion. Genetic tree reconstruction based on *p-distance* separated the three catfish species with perfect bootstrap value.

Keywords: mitochondrial DNA, COI gene, *Kryptopterus*

Pendahuluan

Ikan lais merupakan nama umum yang dikenal oleh masyarakat di Indonesia yang ditujukan untuk kelompok ikan bersungut air tawar anggota famili Siluridae (Kottelat *et al.* 1993). Di Indonesia, ikan lais umumnya dimanfaatkan sebagai ikan konsumsi dan diperdagangkan terutama di wilayah Sumatera dan Kalimantan, bahkan

hingga di negara Thailand dan India (Pagdee *et al.* 2007, Elvyra 2009, dan Handayani *et al.* 2009). Selain sebagai ikan konsumsi, ikan lais dari spesies *Kryptopterus bicirrhis* (*glass catfish*) dan *K. macrocephalus* (*marbled glass catfish*) dimanfaatkan sebagai ikan hias dan diekspor ke kawasan Asia Tenggara (Ng & Tan 1997).

Anggota famili Siluridae tersebar di Eropa hingga Asia, di kawasan Asia Tenggara dapat ditemukan di perairan tawar Indochina, Semen-

✉ Penulis korespondensi

Alamat surel: aldi_jus@yahoo.co.id

jung Malaya dan Paparan Sunda (*Sundaland*) terutama pada sungai-sungai yang bermuara ke arah laut Cina Selatan dan Selat Malaka. Di Indonesia ikan lais terutama tersebar di Sumatera dan Kalimantan, lebih dari 32 spesies telah dilaporkan (Kottelat *et al.* 1993 dan Bornbusch 1995).

Di dalam ordo Siluriformes, famili Siluridae dibedakan dengan famili lainnya berdasarkan ciri kepala dan badan yang lebih pipih, tulang punggung fleksibel, dan duri lemah pada sirip dada (Diogo 2005). Secara morfologis ikan lais sulit dibedakan karena kemiripan diantara genus dan spesiesnya. Genus *Kryptopterus* dan *Ompok* memiliki bentuk tubuh dan warna yang mirip dan hanya berbeda pada kehadiran sirip punggung (Kottelat *et al.* 1993). Analisis morfometrik terhadap empat spesies ikan lais (*Ompok hypophthalmus*, *K. limpok*, *K. micronema*, *K. bicirrhis*) menggunakan analisis komponen utama dengan 13 karakter pengukuran belum ditemukan karakter penciri pembeda diantara spesiesnya (Rahman 2010).

Berdasarkan sejarah geologi, sungai-sungai di Sumatera bagian tengah dan Sungai Kapuas di Kalimantan Barat merupakan bagian dari aliran Sungai Sunda Utara purba, sedangkan sungai-sungai di Kalimantan Selatan, Jawa dan sebagian timur Sumatera merupakan bagian aliran Sungai Sunda Timur purba (Voris 2000 dan McConnell 2004). Sungai Mahakam di Kalimantan Timur bukan termasuk bagian dari kelompok Sungai Sunda Utara dan Sungai Sunda Timur purba, sehingga pola penyebaran komunitas ikan di Kalimantan Timur lebih mirip dengan komunitas ikan di Kalimantan Utara dibandingkan dengan di Kalimantan Barat dan Kalimantan Selatan (Yap 2002).

Dari sejarah geologi Sungai Mahakam bukan bagian dari kelompok Sungai Sunda Utara dan Sungai Sunda Timur purba, sehingga diduga

ini akan berkaitan dengan tingkat keragaman genetik fauna ikan yang menghuni kawasan tersebut, khususnya ikan lais. Laporan Christensen (1992) dan Kottelat (1994) berdasarkan identifikasi morfologi menyebutkan bahwa terdapat 14 spesies ikan lais dari Sungai Mahakam.

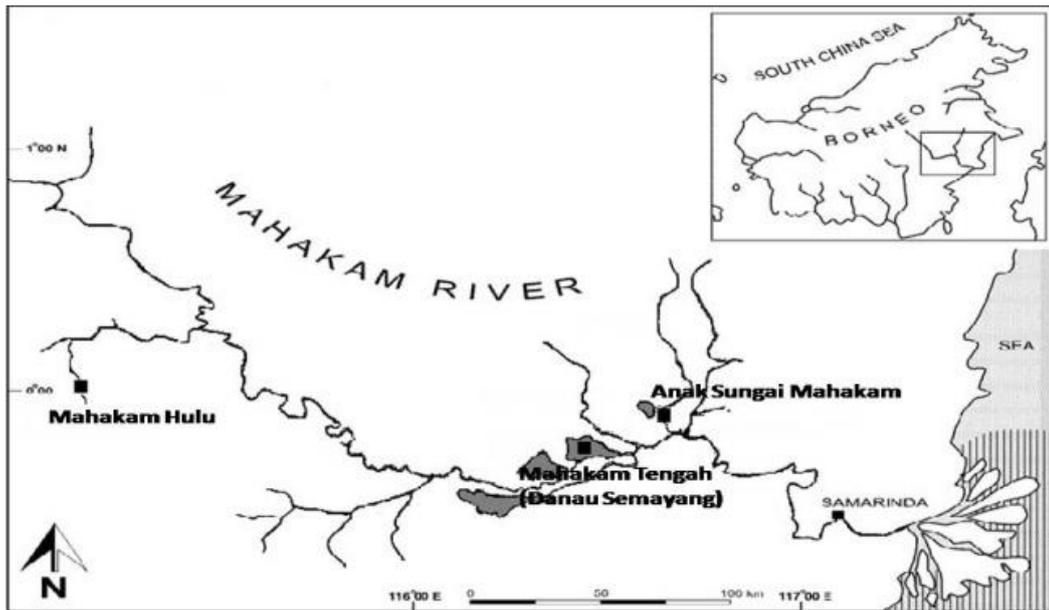
Penelitian kode batang DNA (*DNA barcoding*) menggunakan runutan gen parsial sub unit 1 *Cytochrome c oxidase* (COI) DNA mitokondria pada famili Siluridae masih sedikit dilakukan dan baru dilaporkan pada spesies *O. pabo*, *O. pabda*, dan *O. bimaculatus* dari India (Malarik *et al.* 2012). Selain itu informasi runutan gen COI DNA mitokondria pada genus *Kryptopterus* di dalam data bank gen hingga tahun 2014 masih belum tersedia.

Gen COI DNA mitokondria merupakan salah satu marka molekular yang banyak digunakan sebagai kode batang DNA. Gen COI banyak digunakan sebagai kode batang DNA karena banyak bagian dari runutan nukleotidanya yang bersifat konservatif dan sedikit variasi, sehingga dapat dipakai untuk identitas dan pengelompokan spesies pada berbagai tingkatan taksa hewan termasuk ikan (Hebert *et al.* 2003 dan Ward *et al.* 2005). Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan runutan gen parsial COI DNA mitokondria ikan lais genus *Kryptopterus* asal Sungai Mahakam untuk digunakan sebagai identitas dan pengelompokan spesies (kode batang DNA).

Bahan dan metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli sampai Desember 2013. Koleksi contoh dilakukan di kawasan aliran Sungai Mahakam (Gambar 1) dan dilanjutkan di Laboratorium Biologi Molekular Hewan, Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati & Bioteknologi (PPSHB), Institut Pertanian Bogor untuk keperluan analisis molekuler.



Gambar 1. Lokasi pengambilan ikan contoh di Sungai Mahakam

Koleksi ikan contoh

Sepuluh ikan lais contoh dikoleksi dari kawasan aliran Sungai Mahakam meliputi (a) Mahakam Hulu ($00^{\circ}27'32''$ Selatan; $115^{\circ}1'96''$ Timur): *K. apogon* (N = 3), dan *K. limpok* (N = 1); (b) Mahakam Tengah ($00^{\circ}14'51''$ Selatan; $116^{\circ}31'55''$ Timur): *K. micronema* (N = 2), dan (c) anak aliran Sungai Mahakam ($00^{\circ}9'24''$ Selatan; $116^{\circ}71'55''$ Timur): *K. micronema* (N = 4). Identifikasi spesies ikan dilakukan dengan menggunakan kunci identifikasi Kottelat *et al.* (1993).

Dalam kegiatan molekuler, jaringan otot ikan diambil dari bagian punggung dalam bentuk potongan kecil, dimasukkan ke dalam tabung endorff yang berisi alkohol 96% dan diberi label. Jaringan otot contoh selanjutnya dibawa ke Laboratorium Biologi Molekular Hewan, PPSHB, IPB Bogor.

Isolasi dan purifikasi DNA

Jaringan otot ikan ditimbang 25 mg, dicuci dengan larutan low TE (*Tris-EDTA buffer*) sebanyak tiga kali untuk membebaskan alkohol dari jaringan. Contoh yang telah dicuci kemudian

dimasukkan ke dalam tabung endorff berisi 180 μ l ATL (*Animal Tissue Lysis*). Setelah itu digerus dengan alat Micro SmashTM MS 100 merk Tomy. Tahapan isolasi DNA selanjutnya mengikuti metode *spin-column protocol* dari Qiagen. Kit DNA yang digunakan adalah *Dneasy @Blood* dan *Tissue Kit cat no 69504* (50).

Visualisasi purifikasi DNA

Hasil purifikasi DNA dimigrasikan pada gel agarose 1,2% dalam larutan 1xTBE (*Tris-borate-EDTA*) menggunakan alat *Submarine Electrophoresis* Hoefer, USA. DNA total divisualisasi dengan bantuan UV *transluminator* ($\lambda = 300$ nm), menggunakan gel yang diwarnai dengan *Etidium Bromida* ($0,5\mu\text{gml}^{-1}$).

Amplifikasi DNA

DNA total hasil purifikasi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Primer yang digunakan adalah COI Fish F1 5'-TCAACCAACCACAAAGACA TTGGAC-3' (26 pb) dan COI Fish R1 5'-TAGA

CTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3' (26 pb). Target dari primer menghasilkan produk *PCR* gen COI sepanjang 707 pb (Ward *et al.* 2005).

Kondisi *PCR* yang digunakan adalah pra *PCR* suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi suhu 94°C selama 30 detik, penempelan suhu 52°C selama 30 detik, pemanjangan suhu 72°C selama 30 detik (35 siklus) dan *post PCR* suhu 72°C selama 5 menit.

Perunutan DNA

Produk hasil amplifikasi selanjutnya digunakan untuk proses perunutan DNA. Perunutan DNA dilakukan dua arah yaitu *forward* dan *reverse* dengan menggunakan mesin ABI Prism 3730 kapiler. Perunutan DNA dilakukan oleh 1st BASE Malaysia yang dikirim melalui PT Genetika Science Indonesia.

Analisis data

Hasil perunutan nukleotida gen COI dari arah *forward* dan *reverse* pada setiap spesies disejajarkan untuk mendapatkan konsistensi hasil runutan, kemudian masing-masing ujung fragmen gen COI tempat posisi penempelan primer *forward* dan *reverse* dibuang, sehingga diperoleh satu runutan Gen COI parsial untuk masing-masing spesies. Selanjutnya runutan nukleotida

gen COI parsial DNA mitokondria pada masing-masing spesies ikan lais dilakukan penyejajaran berganda (*multiple alignment*).

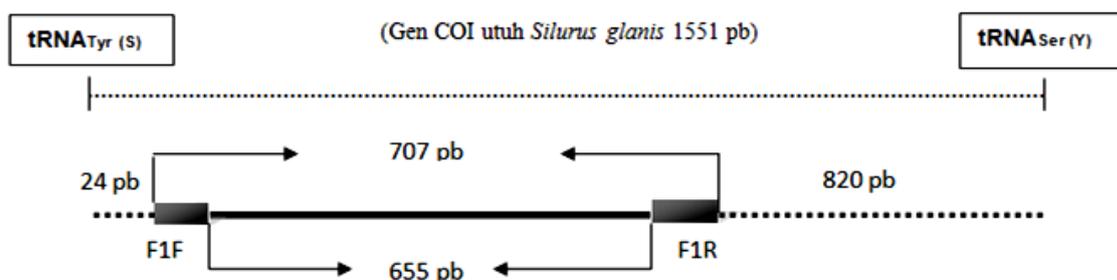
Penyejajaran runutan gen COI DNA mitokondria dilakukan menggunakan *Clustal W*, analisis karakterisasi genetik dan konstruksi ulang pohon genetik dilakukan menggunakan program MEGA versi 5 (Tamura *et al.* 2011). Spesies *out group* yang digunakan dalam konstruksi ulang pohon genetik adalah runutan gen parsial COI DNA mitokondria dari *O. bimaculatus* (Siluridae) (kode akses Bank Gen: FJ230039.1).

Untuk posisi penempelan primer, maka dilakukan penyejajaran primer COI Fish F1 dan COI Fish R1 pada runutan gen COI utuh *Silurus glanis* (Siluridae) (kode akses Bank Gen: AM398435.2) (Vittas *et al.* 2011) sebagai acuan (Gambar 2).

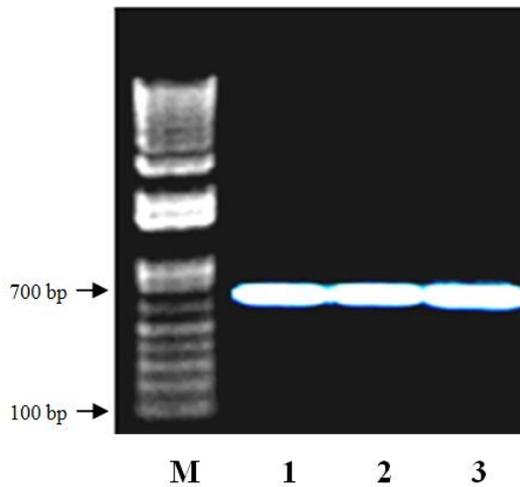
Hasil

Ukuran runutan gen COI Parsial DNA mitokondria ikan lais

Berdasarkan pita elektroforesis dan marker DNA yang digunakan, gen COI ikan lais hasil amplifikasi berukuran sekitar 700 pb (Gambar 3), tetapi setelah dilakukan penyejajaran dari runutan nukleotida pada masing-masing spesies diperoleh ukuran sebesar 707 pb.



Gambar 2. Posisi penempelan primer COI Fish F1 dan COI Fish R1 pada gen COI utuh dari *Silurus glanis* (famili Siluridae)



Gambar 3. Profil pita elektroforesis hasil amplifikasi gen COI spesies ikan lais genus *Kryptopterus* menggunakan primer COI Fish F1 dan primer COI Fish R1. (M) Marker, (1) *K. apogon*, (2) *K. micronema*, (3) *K. limpok*

Karakterisasi genetik spesies ikan lais genus *Kryptopterus*

Semua runutan nukleotida gen COI parsial ikan lais genus *Kryptopterus* yang diamati tidak menunjukkan adanya *insersi*, *delesi* dan kodon *stop*. Analisis penyejajaran berganda pada semua runutan gen COI ikan lais diperoleh nukleotida yang bervariasi sebesar 13,58 % dan yang konservatif sebesar 86,42% (Tabel 1). Dilihat dari posisi nukleotida pada kodon triplet, substitusi nukleotida terbesar pada semua spesies secara berturut-turut berada pada nukleotida ketiga, nukleotida kesatu dan nukleotida kedua. Substitusi nukleotida yang terjadi pada kodon ketiga menunjukkan lebih besar transisi (3,39%) dibandingkan dengan transversi (1,55%). Berdasarkan komposisi basa penyusun runutan gen COI pada semua spesies mulai dari yang terbesar secara berturut-turut adalah sitosin (C), timin (C), adenin (A) dan guanin (G). Pada penelitian ini komposisi basa GC pada semua spesies dalam genus *Kryptopterus* sebesar 46,40%.

Penanda genetik

Pada penelitian ini ditemukan 3 situs nukleotida yang mengalami substitusi dari 53 situs parsimoni informatif dan dapat digunakan sebagai pembeda antara *K. apogon*, *K. micronema* dan *K. limpok*. Substitusi nukleotida tersebut terjadi pada situs ke 567, 573 dan 651 seperti terlihat pada Tabel 2.

Jarak genetik

Berdasarkan nilai *p-distance*, jarak genetik antarindividu dalam satu spesies (intraspesies) kecil dari 2% dan antara spesies berbeda (antarspesies) berkisar dari 7-12%. Dalam penelitian ini jarak genetik antarspesies terjauh ditemukan antara *K. limpok* dan *K. apogon* (Tabel 3).

Hubungan kekerabatan

Hasil konstruksi ulang pohon genetik dilakukan berdasarkan nilai *p-distance* dan metoda *neighbour joining* dengan nilai *bootstrap* 1000 kali pengulangan (Gambar 4). Topologi pohon genetik menunjukkan masing-masing individu dalam spesies yang sama membentuk satu kelompok dan terpisah dari spesies lainnya dengan nilai *bootstrap* sempurna (100, 97 dan 100).

Pembahasan

Penyejajaran runutan gen COI pada semua spesies ikan lais asal Sungai Mahakam menunjukkan sedikit nukleotida yang bervariasi serta tidak ditemukan nukleotida yang mengalami *insersi* dan *delesi*. Gen COI mempunyai runutan nukleotida yang bersifat konservatif serta sedikit *delesi*, *insersi* dan variasi sehingga digunakan sebagai kode batang DNA (Hebert et al. 2003).

Dilihat dari substitusi nukleotida pada kodon triplet dari runutan gen COI ikan lais, dalam penelitian ini paling tinggi terjadi pada posisi ko-

Tabel 1. Karakterisasi nukleotida semua spesies ikan lais genus *Kryptopterus*

Karakter	Semua spesies
Jumlah spesies	3
Jumlah runutan	10
Situs konservatif (%)	611(86,42)
Situs bervariasi (%)	96 (13,58)
Variasi di kodon kesatu (%)	24 (3,39)
Variasi di kodon kedua (%)	15 (2,12)
Variasi di kodon ketiga (%)	57 (8,06)
a. Substitusi transisi (%)	24 (3,39)
b. Substitusi transversi (%)	11(1,55)
Situs parsimoni (%)	53 (7,50)
Situs singleton (%)	43 (6,08)
Persentase Timin	28,20
Persentase Sitosin	28,80
Persentase Adenin	25,40
Persentase Guanin	17,60

Keterangan: (1) Situs parsimoni= ditemukan minimal dua jenis nukleotida, setiap jenis nukleotida dimiliki oleh minimal dua runutan, (2) Situs singleton= nukleotida yang berbeda hanya ditemukan pada satu runutan.

Tabel 2. Situs nukleotida yang mengalami substitusi pada gen COI parsial DNA Mitokondria dalam genus *Kryptopterus*

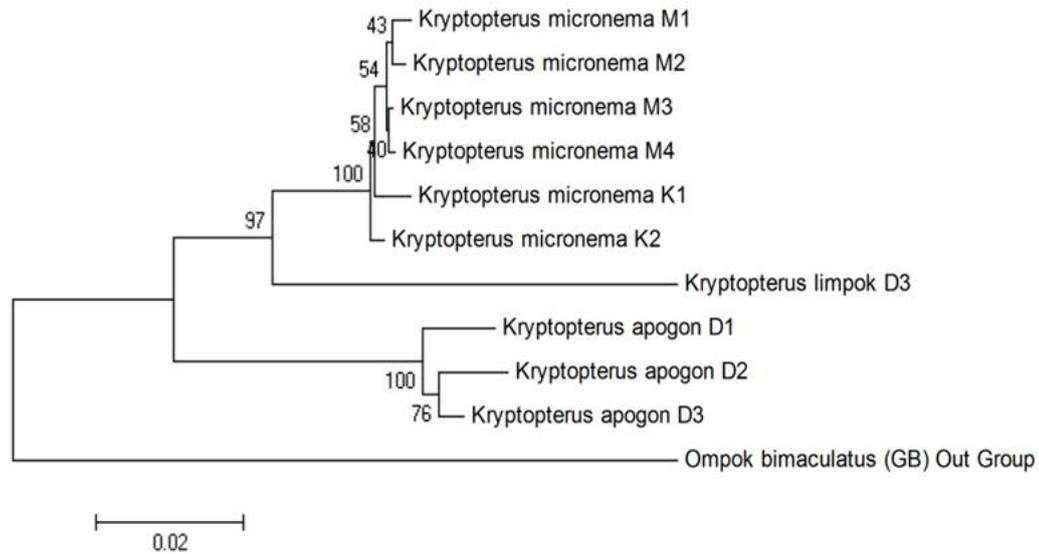
Spesies	Basa nukleotida ke		
	567	573	651
<i>Kryptopterus apogon</i> D1	T	G	A
<i>Kryptopterus apogon</i> D2	T	G	A
<i>Kryptopterus apogon</i> D3	T	G	A
<i>Kryptopterus micronema</i> M1	G	C	G
<i>Kryptopterus micronema</i> M2	G	C	G
<i>Kryptopterus micronema</i> M3	G	C	G
<i>Kryptopterus micronema</i> M4	G	C	G
<i>Kryptopterus micronema</i> K1	G	C	G
<i>Kryptopterus micronema</i> K2	G	C	G
<i>Kryptopterus limpok</i> D3	A	A	C

Keterangan: D= Mahakam Hulu; K= Mahakam Tengah; dan M= Anak Sungai Mahakam

Tabel 3. Jarak genetik antarspesies ikan lais genus *Kryptopterus* dari Sungai Mahakam berdasarkan runutan gen COI parsial dengan spesies pembandingan *O. bimaculatus* dari Gen Bank

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	-	0,02	0,01	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,07	0,12	0,16
2	16	-	0,01	0,08	0,08	0,07	0,08	0,08	0,07	0,11	0,16
3	10	9	-	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,11	0,15
4	52	56	50	-	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,07	0,14
5	49	55	52	3	-	0,00	0,00	0,01	0,01	0,07	0,14
6	52	53	49	3	3	-	0,00	0,01	0,00	0,07	0,14
7	51	54	50	3	2	1	-	0,01	0,01	0,07	0,14
8	54	55	49	6	7	6	5	-	0,01	0,07	0,15
9	53	51	48	6	4	3	4	5	-	0,07	0,14
10	82	79	76	53	52	50	51	52	48	-	0,18
11	111	110	107	102	102	99	100	103	100	126	-

Keterangan: 1= *K. apogon* D1, 2 = *K. apogon* D2, 3 = *K. apogon* D3, 4 = *K. micronema* M1, 5 = *K. micronema* M2, 6 = *K. micronema* M3, 7 = *K. micronema* M4, 8 = *K. micronema* K1, 9 = *K. micronema* K2, 10 = *K. limpok* D3, 11 = *O. bimaculatus* (GB) (*out group*). Nilai di bawah diagonal = jumlah perbedaan nukleotida, diatas diagonal = *p-distance*.



Gambar 4. Konstruksi ulang pohon genetik tiga spesies ikan lais genus *Kryptopterus* yang dianalisis berdasarkan nilai *p-distance* dengan metoda *neighbour joining*, *bootstrap* 1000x

don ketiga dibandingkan dengan kodon kesatu dan kodon kedua. Dapat dikatakan bahwa frekuensi substitusi sinonim pada runutan gen COI ikan lais lebih sering terjadi daripada substitusi non sinonim. Substitusi nukleotida yang terjadi pada posisi kodon ketiga umumnya bersifat sinonim (tidak menyebabkan perubahan aktivitas pada produk yang dikode oleh gen) dan substitusi nukleotida pada posisi kodon kesatu dan kedua bersifat non sinonim (Bofkin & Goldman 2007).

Berdasarkan substitusi nukleotida yang terjadi pada posisi kodon ketiga, substitusi nukleotida transisi lebih besar daripada transversi. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Malakar *et al.* (2012) pada spesies *O. bimaculatus*, *O. pabda* dan *O. pabo* dari India, di mana dari 655 pb runutan gen COI parsial DNA mitokondria diperoleh 0,61% situs yang bervariasi dan substitusi transisi lebih besar daripada substitusi transversi. Substitusi transisi yang lebih besar daripada substitusi transversi juga dilaporkan oleh peneliti lainnya (Santos *et al.* 2003, Vinson *et al.* 2004, dan Ward *et al.* 2005).

Komposisi basa nukleotida GC pada semua spesies dalam genus *Kryptopterus* asal Sungai Mahakam sebesar 46,40%. Hasil yang relatif sama juga dilaporkan oleh Malakar *et al.* (2012), bahwa persentase GC pada *O. bimaculatus* (45,60%), *O. pabda* (49,30%) dan *O. pabo* (46,40%) dari 655 bp runutan gen COI. Ward *et al.* (2005) juga melaporkan komposisi GC genom DNA mitokondria ikan berkisar 38,40-43,20%, sedangkan pada gen COI DNA mitokondria utuh berkisar 42,20-47,10%.

Pada penelitian ini ditemukan tiga situs nukleotida yang mengalami substitusi dan dapat digunakan sebagai penanda genetik (kode batang DNA) untuk pembeda antara spesies *K. apogon*, *K. micronema* dan *K. limpok* asal Sungai Mahakam. Tiga situs tersebut adalah situs nukleotida ke 567 pada spesies *K. apogon* dicirikan oleh nukleotida T, sedangkan pada spesies *K. micronema* dicirikan oleh nukleotida G, dan pada *K. limpok* dicirikan oleh nukleotida A. Situs nukleotida ke 573 pada spesies *K. apogon* dicirikan oleh nukleotida G, pada spesies *K. micronema*

dicirikan oleh nukleotida C, dan pada *K. limpok* dicirikan oleh nukleotida A. Situs nukleotida ke 651 pada spesies *K. apogon* dicirikan oleh nukleotida A, pada spesies *K. micronema* dicirikan oleh nukleotida G, dan pada *K. limpok* dicirikan oleh nukleotida C. Gen COI DNA mitokondria dipelajari dalam skala luas sebagai kode batang DNA karena dapat menentukan identitas sebuah spesies dan mampu membedakan kelompok spesies pada berbagai tingkatan taksa hewan, termasuk pada ikan air tawar dan air laut (Hebert *et al.* 2003, Ward *et al.* 2005, Hubert *et al.* 2008, Wong *et al.* 2011, dan Malakar *et al.* 2012.).

Jumlah *K. limpok* contoh dalam penelitian ini hanya satu individu, mungkin diperlukan contoh yang lebih banyak sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat konsistensi pada penanda genetiknya. Selain itu dalam penelitian ini hanya menggunakan gen COI parsial, diperkirakan penanda genetik pada situs lain kemungkinan masih ada.

Jarak genetik antar individu dalam satu spesies (intraspecies) dalam penelitian ini kecil dari 2% dan antarspecies berbeda (berkisar dari 7% sampai 12%). Hasil yang relatif sama juga dilaporkan oleh Malakar *et al.* (2012) di mana pada spesies *O. bimaculatus*, *O. Pabda*, dan *O. pabo* diperoleh nilai rata-rata jarak genetik intra spesies sebesar 0,35% dan pada antarspecies sebesar 13,1%. Ratnasingham & Hebert (2013) juga melaporkan variasi gen COI pada intra spesies kurang dari 2%, tetapi jika perbedaannya lebih dari 4% merupakan kerabat dekat dan terisolasi secara reproduksi.

Nilai bootstrap yang ditampilkan pada cabang pohon genetik antara *K. micronema* dan *K. limpok* sebesar 97, artinya 97% dari 1000 kali pengulangan *K. limpok* memiliki hubungan kekerabatan dengan *K. micronema*, sedangkan pada kelompok individu spesies *K. apogon* dan *K.*

micronema masing-masing mempunyai nilai bootstrap 100. Cabang pada pohon genetik mewakili hubungan antar unit yang menggambarkan hubungan keturunan dengan leluhur, sedangkan panjang cabang menggambarkan jumlah perubahan evolusioner yang terjadi antara dua nodus (Li & Graur 1991). Topologi pohon genetik yang diperoleh pada penelitian ini dapat memisahkan kelompok ikan lais berdasarkan kelompok genus dan spesiesnya dengan nilai kepercayaan yang cukup tinggi.

Simpulan

Terdapat tiga situs nukleotida sebagai penanda genetik (kode batang DNA) pembeda antara spesies *K. apogon*, *K. micronema*, dan *K. limpok*. Konstruksi ulang pohon genetik menggunakan runutan COI DNA mitokondria dapat memisahkan kelompok spesies *K. micronema*, *K. limpok*, dan *K. apogon* dengan nilai bootstrap sempurna.

Daftar pustaka

- Bofkin L, Goldman N. 2007. Variation in evolutionary processes at different codon positions. *Molecular Biology and Evolution*, 24 (2):513-521.
- Bornbusch AH. 1995. Phylogenetic relationships within the eurasian catfish family Siluridae (Pisces:Siluriformes), with comments on generic validities and biogeography. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 115: 1-46.
- Christensen MS. 1992. Investigations on the ecology and fish fauna of the Mahakam River in East Kalimantan (Borneo), Indonesia. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie*, 77(4):593-608.
- Diogo R. 2005. *Morphological evolution, aptations, homoplasies, constraints and evolutionary trends: catfishes as a case study on general phylogeny and macroevolution*. Science Publishers, United States of America. 491 p.
- Elvyra R. 2009. Kajian keragaman genetik dan biologi reproduksi ikan lais di sungai Kam-

- par Riau. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 126 hlm.
- Handayani T, Buchar T, Anang N. 2009. Aspek biologi ikan lais/ *Sheat Fish* (Siluridae) di Danau Batu dan Danau Tehang. *Journal of Tropical Fisheries*, 3(2):35-46.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, de Waard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London*, 270:313-322.
- Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Taylor E. 2008. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *Plos One*, 3(6): e2490.
- Kottelat M, Whitten AJ, Kartikasari SN, Wirjoatmodjo S. 1993. *Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi*. Periplus Hongkong. 293 p + 84 plates.
- Kottelat M. 1994. The fishes of the Mahakam River, east Borneo: an example of the limitations of zoogeographic analyses and the need for extensive surveys in Indonesia. *Tropical Biodiversity*, 2(3):401-426.
- Li WH, Graur D. 1991. *Fundamental of molecular evolution*. Sinauer Associates Inc., Sunderland. 481 p.
- Malakar AK, Lakra WS, Goswami M, Singh M, Mishra M. 2012. Molecular identification of three *ompok* species using mitochondrial COI gene. *Mitochondrial DNA*, 23(1):20-24.
- McConnell SKJ. 2004. Mapping aquatic faunal exchanges across the Sunda shelf, South-East Asia, using distributional and genetic data sets from the cyprinid fish *Barbodes gonionotus* (Bleeker, 1850). *Journal of Natural History*, 38(5):651-670.
- Ng PKL, Tan HH. 1997. Freshwater fishes of Southeast Asia: potential for the aquarium fish trade and conservation issues. *Aquarium Sciences and Conservation*, 1(2):79-90.
- Pagdee A, Homchuen S, Sangpradub N, Hanjavanit C. 2007. Biodiversity and economic value of wetland resources at Nong Han, Udonthani Province, northeast Thailand. *Natural History Bulletin of the Siam Society*, 55(2):323-339.
- Rahman A. 2010. Keragaman struktur morfologis dan gen *Cytochrome b* DNA mitokondria *Kryptopterus* spp. dan *Ompok* spp. (Siluridae) di DAS Batang Hari Jambi. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 91 p.
- Ratnasingham S, Hebert PD N. 2013. A DNA-based registry for all animal species: the barcode index number (BIN) system. *Plos One*, 8(8):e66213.
- Santos S, Schneider H, Sampaio I. 2003. Genetic differentiation of *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. *Genetics and Molecular Biology*, 26(2):151-161.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10):2731-2739.
- Vinson C, Grazielle G, Schneider H, Sampaio I. 2004. Sciaenidae fish of the Caete river estuary, Northern Brazil: mitochondrial DNA suggests explosive radiation for the Western Atlantic assemblage. *Genetics and Molecular Biology*, 27(2):174-180.
- Vittas S, Drosopoulou E, Kappas I, Pantartzis CN, Scouras ZG. 2011. The mitochondrial genome of the European catfish *Silurus glanis* (Siluriformes:Siluridae). *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 15:25-35.
- Voris H K. 2000. Maps of pleistocene sea-levels in South East Asia: shorelines, river systems, time durations. *Journal of Biogeography*, 27(5):1153-1167.
- Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PDN. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360(1462): 1847-1857.
- Wong LL, Peatman E, Lu J, Kucuktas H, He S, Zhou C, Nanakom U, Liu Z. 2011. DNA barcoding of catfish: Species authentication and phylogenetic assessment. *Plos One*, 6(3): e17812.
- Yap SY. 2002. On the distributional patterns of Southeast-East Asian freshwater fish and their history. *Journal of Biogeography*, 29 (9):1187-1199.