

BARKOD DNA DAN KEKERABATAN IKAN LAIS TIMAH (*Kryptopterus apogon*) BERDASARKAN GEN SITOKROM C OXIDASE SUBUNIT I (SOI)

DNA Barcode and Phylogenetics of Lais (*Kryptopterus apogon*) based on Cytochrome C Oxidase Subunit I (COI)

Mochamad Syaifudin^{1*}, Indriani Agustini¹, Dade Jubaedah¹, Muslim Muslim¹, Tanbiyaskur¹

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya

*Korespondensi email: msyaifudin@fp.unsri.ac.id

ABSTRACT

Lais (*Kryptopterus apogon*) is highly economic important catfish in South Sumatera. Investigating fish diversity of catfish is of importance for species conservation. Many species or subspecies extincted due to environment decreasing caused by habitat loss, pollution and over fishing. Cytochrome C Oxidase subunit I (COI) is one of mitochondrial DNA markers used for species barcoding in freshwater, brackishwater and marine fish. This research aim to explore the use of COI gene for species barcoding in investigating the diversity of COI nucleotide, constructing phylogenetic tree of Lais, and knowing physical and chemistry characteristic of habitat at Musi and Kelekar River, South Sumatera. The methods used in the research consisted of DNA extraction, PCR (Polymerase Chain Reaction) amplification and sequencing mtDNA COI gene of *Kryptopterus apogon* obtained from Musi and Kelekar River (South Sumatera). A 615 bp (sample code CM1) and 693 bp sequences (sample code CK1 and CK2) of parsial coding were sequenced from this fish. Nucleotide BLAST analyzes showed COI gen can distinguish Lais at Musi and Kelekar River from others fish at GenBank database with high identity (92.29% and 92.21%) to *Phalacronotus bleekeri* (Thailand) and *Phalacronotus apogon* (Australia). Phylogenetic analyzes indicated that obviously, Lais was at the same cluster with others genus in Siluridae family, but different cluster from *Hemibagrus nemurus* (Bagridae), Chanidae and *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). Water quality criteria (water tranparancy, temperature, ammonia, pH and alkalinity) at Musi and Kelekar River were still in tolerance for maintainning survival rate of Lais. Further study using more species in Siluridae family and various habitat are needed to investigate the diversity of DNA of *Siluridae* at South Sumatera water resources.

Key words: Catfish, COI gene, DNA barcode, Kelekar River, Musi River

ABSTRAK

Lais timah (*Kryptopterus apogon*) merupakan salah satu spesies *catfish* ekonomis penting di Sumatera Selatan. Investigasi keragaman ikan sangat penting dilakukan dalam mengupayakan konservasi spesies, hal ini dikarenakan banyak spesies

atau subspecies telah mengalami kepunahan akibat penurunan kualitas lingkungan oleh hilangnya habitat, polusi dan lebih tangkap. Sitokrom C Oksidase subunit I (SOI) merupakan salah satu marker DNA mitokondria yang banyak digunakan sebagai barcode bagi spesies baik, ikan tawar, payau maupun laut. Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui barcode DNA ikan Lais timah berdasarkan sekuen DNA gen SOI, mengetahui kekerabatannya dengan spesies lainnya dalam data *GenBank* dan mengetahui karakteristik fisika dan kimia habitat Sungai Musi dan Kelekar di Sumatera Selatan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari ekstraksi DNA, amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan sekuensing gen SOI mtDNA. Jumlah nukleotida yang berhasil disequensing berukuran 615 pb (pasang basa) untuk kode sampel CM1 dan 693 bp untuk kode sampel CK1 dan CK2. Hasil analisis pencejajaran menggunakan BLAST menunjukkan bahwa gen COI ikan Lais timah asal Sungai Musi dan Kelekar mempunyai kemiripan yang tinggi (92,29% dan 92,21%) dengan *Phalacronotus bleekeri* asal Thailand dan *Phalacronotus apogon* asal Australia. Analisa filogenetik menunjukkan bahwa Lais berada pada kluster yang sama dengan genus lainnya pada family Siluridae, dan terpisah dari *Hemibagrus nemurus* (Bagridae), Chanidae dan *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). Kualitas air meliputi kecerahan, suhu, pH, oksigen terlarut, amoniak dan alkalinitas menunjukkan kisaran yang masih dapat ditoleransi untuk mempertahankan kelangsungan hidup. Namun demikian, barcode DNA perlu dilakukan pada banyak jenis Siluridae lainnya dari beberapa habitat guna mengetahui keragaman DNA ikan Lais yang ada di Sumatera Selatan.

Kata kunci: barcode DNA, gen SOI, Lais Timah, Sungai Musi, Sungai Kelekar.

PENDAHULUAN

Ikan Lais merupakan suku ikan berkumis air tawar yang mempunyai ciri khusus tidak memiliki sirip lemak. Lais merupakan salah satu catfish ekonomis penting di perairan Sumatera Selatan. Ikan ini terdiri dari beberapa jenis, sehingga sering terjadi kesulitan identifikasi disebabkan kemiripan morfologinya. Di Indonesia terdapat 43 jenis, dan empat jenis diantaranya Lais Timah (*Kryptopterus apogon*), Lais Palembang (*Kryptopterus palembangensis*), Lais Tapah (*Ompok fumidus*) dan Lais Indragiri

(*Silurichthys indragiriensis*). Ikan ini mempunyai makanan alami yang sebagian besar terdiri dari ikan-ikan kecil, insekt dan udang (Lukas dan Minggawati, 2014). Ikan Riu-riu (*Pangasius macronema*) adalah jenis ikan yang paling disukai sebagai makanannya. Daerah penyebaran ikan Lais meliputi Pulau Sumatera dan Kepulauan Kalimantan. Di Sumatera, ikan ini dapat ditemukan di Sungai Musi, Batanghari, dan Kuantan, sedangkan di Kalimantan daerah penyebarannya meliputi Sungai Mahakam, Kahajan, Kapuas, Baram,

dan Sarawak (de Beaufort dan Weber, 1965).

Keragaman genetik dalam dan antar spesies sangat penting diketahui untuk konservasi sumberdaya karena hampir semua jenis Lais belum dibudidayakan dan sudah sangat jarang ditemukan di alam. Hal ini disebabkan oleh menurunnya kualitas lingkungan akibat perubahan fungsi lahan, polusi dan lebih tangkap. Maka dari itu, pengelolaan sumberdaya genetik ikan perlu dilakukan dengan mengeksplorasi penggunaan gen COI mitokondria DNA (mtDNA) sebagai barcode universal. Pengelolaan sumberdaya perairan juga perlu dilakukan dengan pengukuran parameter fisika-kimia perairan habitatnya. Marker-marker molekuler baik protein maupun DNA (DNA mitokondria atau DNA inti) mempunyai peran penting dalam akuakultur, seperti: identifikasi spesies, variasi genetik dan struktur populasi, perbandingan antara populasi alam dan budidaya dan program rehabilitasi (Rajiv dan Chauhan, 2010). DNA mitokondria (mtDNA) dapat digunakan untuk mengetahui proses evolusi dengan resolusi tinggi (Brown *et al.*, 1979). Sekuensing DNA mitokondria banyak digunakan untuk membedakan level

spesies (Nagl *et al.*, 2001) dan studi populasi (Rognon dan Guyomard, 1997; D'Amato *et al.*, 2007). Salah satu gen mtDNA yang digunakan untuk membedakan spesies dan populasi adalah sekuens yang terkonserv dari gen sitokrom oksidase subunit I (COI) yang selanjutnya sangat populer sebagai *barcode of life*.

Barcoding DNA merupakan sistem yang dirancang untuk identifikasi spesies secara cepat dan akurat dengan menggunakan wilayah gen yang pendek dan standar. Untuk kelompok hewan, barcode standar adalah fragmen berukuran 658 pasang basa (bp) dari gen Sitokrom C Oksidase Subunit I (COI) DNA mitokondria (Hebert *et al.*, 2003). Sekuen ini banyak digunakan sebagai "*barcode of life*" untuk identifikasi kekerabatan spesies. Barcoding DNA menggunakan COI banyak digunakan dalam bidang perikanan untuk mengetahui kekerabatan spesies (Ward *et al.*, 2005; Wong *et al.*, 2011 dan Syaifudin *et al.*, 2015), keamanan pangan, manajemen konservasi dan kesehatan konsumen (Costa and Carvalho, 2007).

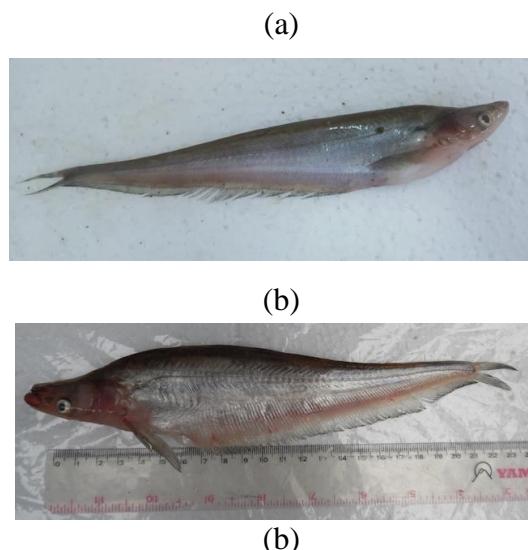
Sebagai *barcode of life* dari DNA universal, gen ini telah banyak digunakan pada ikan-ikan di Australia

(Ward *et al.*, 2005), ikan-ikan laut di Samudera Atlantik Northwest, ikan-ikan di Gulf Persia, Iran (Asgharian *et al.*, 2011), Canada (McCusker *et al.*, 2013), tilapia (Shirak *et al.*, 2009; Wu dan Yang, 2012; Syaifudin *et al.* 2019), catfish (Wong *et al.*, 2011) dan ikan Lais janggut (*Ompok hypophthalmus*). Pada level nukleotida, COI mempunyai dua keuntungan. Pertama, universal primer untuk gen ini sangat efektif sehingga memudahkan amplifikasi (Folmer *et al.*, 1994). Kedua, COI memiliki kegunaan luas dalam mengetahui filogeni dibandingkan gen mitokondria lainnya (Hebert *et al.* 2003). Barcoding DNA mempunyai keuntungan dari segi kecepatan dan akurasi identifikasi spesies, mengontrol pergerakan spesies lintas perbatasan suatu wilayah, melibatkan peneliti lokal dalam jaringan internasional dan menciptakan data dasar biodiversitas. Penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengetahui sekuen nukleotida gen COI DNA mitokondria ikan Lais timah, mengkonstruksi pohon genetik dengan ikan lainnya yang ada pada GenBank, serta mengetahui karakteristik fisika kimia perairan habitat ikan Lais yang tertangkap di Sungai Musi, Sumatera Selatan.

MATERI DAN METODE

Pengambilan sampel

Sampel ikan dan air diambil dari Sungai Musi (kode sampel CM1), tepatnya di Desa Arisan Musi, Kecamatan Muara Belida Kabupaten Muaraenim dan Sungai Kelekar (kode sampel CK1 dan CK2) Sumatera Selatan. Sampel air diambil sebanyak 3 titik, meliputi dua titik di pinggir sungai dan di tengah. Morfologi ikan Lais yang tertangkap dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Lais Timah (*Kryptopterus apogon*) asal Sungai Musi dan Sungai Kelekar. a). asal Sungai Musi; b). asal Sungai Kelekar

Sampel ikan diambil dalam keadaan hidup dan dimasukkan dalam kantung plastik beroksigen, dan selanjutnya diambil sebagian siripnya untuk analisa DNA. Sampel sirip disimpan dalam larutan alkohol absolut dan disimpan pada suhu 4°C hingga dilakukan isolasi DNA.

Isolasi DNA

Total genom DNA diekstraksi menggunakan *Genomic DNA Mini Kit* mengikuti instruksi yang terdapat di manual. Secara umum, ekstraksi DNA terdiri dari 5 tahap: lisis sel, perlakuan RNase, presipitasi protein, presipitasi DNA, dan pelarutan DNA. Tahap inkubasi RNase dilakukan untuk mengurangi kontaminasi RNA. Setiap sampel sirip (sekitar 4 mm²) digunakan dalam isolasi DNA. Sampel DNA selanjutnya disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C. DNA yang diekstraksi divisualisasi integritas pita DNA nya melalui elektrophoresis gel agarose (0.8%), di mana pita DNA yang baik terlihat jelas tanpa adanya degradasi DNA.

PCR

DNA ikan – ikan catfish yang diperoleh dari hasil ekstraksi (lima individu setiap spesies) digunakan untuk mendapatkan gen COI berukuran

655 bp dari DNA mitokondria dengan pasangan primer FishF2-5' TCGACTAATCATAAAGATATCGGC AC 3' dan FishR2-5' ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCA GAA 3' (Ward *et al.* 2005). PCR dilakukan dalam volume akhir 20 µl. Setiap reaksi mengandung 0.75 µl 10 µM FishF2 primer, 0.75 µl 10 µM FishR2 primer, 5.5 µl air bebas-nuklease, 12.5 µl 12x KAPA HiFi HotStart ReadyMix dan 1 µl DNA template (c. 50 ng). Amplifikasi DNA dilakukan dengan tahapan: siklus inisiasi 95°C selama 3 menit diikuti dengan 33 siklus untuk tahapan denaturasi 98°C selama 20 detik, 56°C 30 detik, 72°C 30 detik, 72°C 30 detik dan satu siklus perpanjangan akhir pada suhu 72°C selama 1 menit. Produk amplifikasi dipurifikasi dengan *spin column* mengikuti instruksi dari manual kit purifikasi PCR QIAquick PCR. Produk PCR yang terpurifikasi disekuensing secara komersial berdasarkan *Sanger sequencing* ke Singapura melalui jasa PT. Genetika Science di Jakarta.

Analisa Data

Sekuens COI sampel hasil sekuensing distandardisasi ukurannya terlebih menggunakan software Mega 10 dan disimpan dalam file fasta format.

Sekuen nukleotida gen COI kode sampel CK1 dan CK2 telah didaftarkan pada Barcode of Life Data (BOLD) Systems dengan kode aksesi BOLD: ADN3276. Untuk melengkapi data juga dilakukan pencarian data sekuen gen COI sebagai DNA barcode pada data Genbank menggunakan metode BLAST. Selanjutnya data-data tersebut dikompilasi dengan data-data yang diperoleh selama penelitian untuk kemudian dilakukan pensejajaran (*alignment*) sekuens nukleotida yang hasilnya disimpan dalam bentuk mega format. Analisis filogenetik dan evolusi molekuler dikonstruksi menggunakan metode *Neighbor Joining* (NJ) pada software MEGA versi X (Kumar *et al.* 2018; Stecher *et al.* 2020).

Kualitas Air

Pengambilan sampel fisika perairan meliputi kecerahan dan suhu dilakukan pada 3 titik. Kecerahan (cm)

diukur dengan menggunakan keeping sechi, dan suhu (°C) menggunakan thermometer. Pengambilan sampel kimia perairan meliputi pH, oksigen terlarut, amoniak dan total alkalinitas juga dilakukan pada 3 titik. Parameter pH diukur menggunakan pH meter, oksigen terlarut (mg.L^{-1}) menggunakan DO meter, amoniak (mg.L^{-1}) dan total alkalinitas (mg CaCO_3) dengan menggunakan metode titrimetrik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase identitas spesies

Persentase identitas ikan Lais (Kode sampel CM1, CK1 dan CK2) berdasarkan gen COI dengan ikan lainnya dari data *GenBank* menggunakan pensejajaran nukleotida BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dapat dilihat pada Tabel 1, berikut.

Tabel 1. Persentase identitas ikan Lais (*Kryptopterus apogon*) menggunakan analisis BLAST

| No | Deskripsi | Identity (%) | Aksesi | Asal |
|----|----------------------------------|--------------|------------|-----------|
| 1 | <i>Phalacronotus bleekeri</i> | 92,29% | KF805378*1 | Thailand |
| 2 | <i>Phalacronotus apogon</i> | 92,21% | EF609377*1 | Australia |
| 3 | <i>Belodontichthys dinema</i> | 88,47% | JF781186*1 | Malaysia |
| 4 | <i>Hemisilurus mekongensis</i> | 88,26% | MK448161*1 | Thailand |
| 5 | <i>Belodontichthys truncatus</i> | 87,83% | MK448174*1 | Thailand |
| 6 | <i>Kryptopterus geminus</i> | 87,31% | MK049457*1 | Thailand |
| 7 | <i>Pterocryptis indicus</i> | 87,38% | MK632320*1 | India |
| 8 | <i>Kryptopterus cheveyi</i> | 87,06% | MK049459*1 | Thailand |
| 9 | <i>Pterocryptis barakensis</i> | 86,74% | MK572524*1 | Sweden |

Persentase identitas menunjukkan kemiripan di antara sekeuen organisme, yang mana program BLAST membandingkan sekvens nukleotida dan protein terhadap sekuen-sekuen yang ada di database dan menghitung signifikansi statistiknya. Sekuen gen COI ikan Lais asal Sungai Kelekar (CK1 dan CK2) dan Musi menunjukkan 92,29 % dan 92,21 % identik dengan spesies *Phalacronotus bleekeri* asal Thailand (KF805378*1) dan *P. apogon* asal Australia (EF609377*1). Spesies ikan Lais yang ditemukan mempunyai persentase identitas yang rendah (87,06%) dengan *Kryptopterus cheveyi* (MK049459*1) dari Thailand, meskipun merupakan genus yang sama dari Kryptopterus.

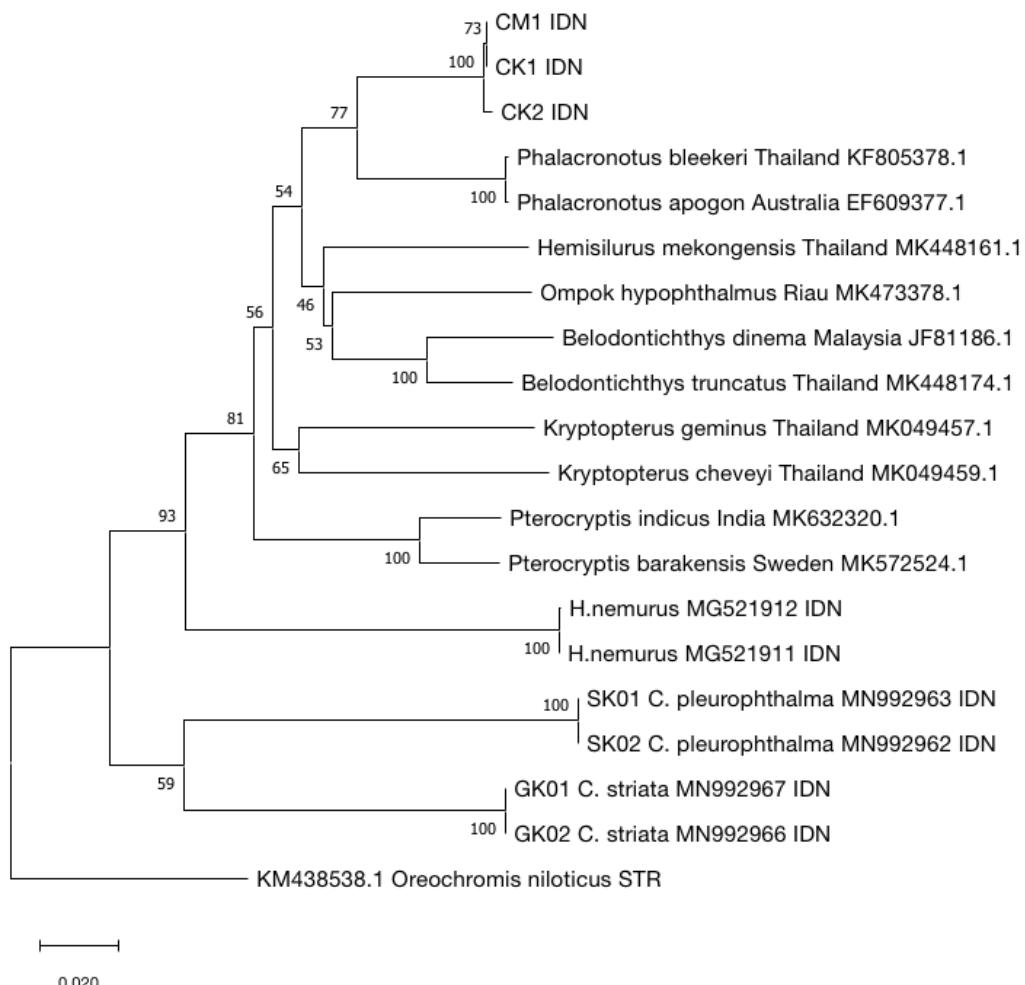
Pohon Genetik

Sekuens DNA gen COI ikan Lais asal Sungai Kelekar dan Musi dikonstruksi pohon genetiknya dengan spesies ikan-ikan lainnya yang diperoleh dari data *GenBank NCBI* menggunakan metode *Maximum Likelihood* dalam *Software Mega 10*. Filogenetik pada Gambar 2, menunjukkan empat cluster yang mewakili empat famili berbeda yaitu Siluridae, Bagridae, Chanidae dan Cichlidae yang terpisah secara

signifikan. Ikan Lais (*Kryptopterus apogon*) dengan kode sampel CM1, CK1 dan CK2 berada dalam claster pertama famili Siluridae mempunyai kekerabatan yang paling dekat dengan dekat dengan *Phalacronotus bleekeri* asal Thailand (KF805378*1) dan *P. apogon* asal Australia (EF609377*1) dengan nilai bootstrap (bv=77). Sesuai dengan persentase identitasnya, CM1, CK1 dan CK2 juga berada pada sub claster terpisah dengan *K. cheveyi* dan *K. geminus* meskipun dengan nilai bootstrap yang cukup rendah (bv = 56). Pada claster pertama (famili Siluridae), *Pterocryptis indicus* dan *P. barakensis* berada pada sub claster terpisah jauh secara nyata (BV=81) dengan genus lainnya. Barcode DNA dari *cytochrome b*, menunjukkan bahwa ikan Lais tergolong menjadi tiga genus yang berbeda yaitu *Phalacronotus*, *Kryptopterus* dan *Ompok* (Elvyra *et al.*, 2020). Jika dibandingkan dengan ketiga famili lainnya, Siluridae mempunyai kekerabatan yang lebih dekat dengan *Hemibagrus nemurus* (Bagridae) dengan nilai bootstrap 93, dibandingkan dengan *C. pleurophthalmus* dan *C. striata* (Chanidae) dan *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). Nilai bootstrap pada pohon filogenetik dikatakan stabil jika nilai

bootstrap di atas 95% dan dikatakan tidak stabil jika nilai *bootstrap* berada

di bawah 70% (Nakano dan Osawa, 2004).



Gambar 2. Pohon genetik ikan Lais (*Kryptopterus apogon*) asal Sungai Kelekar dan Musi yang dikonstruksi menggunakan metode *Maximum Likelihood* dengan *Software Mega*.

Analisis pohon filogenetik bertujuan mengetahui hubungan kekerabatan yang tepat antara organisme (Li dan Graur, 1991) dan melacak perubahan yang terjadi secara cepat yang mampu mengubah suatu spesies (Nielsen dan Yang, 1998).

Pohon filogenetik diperoleh dengan mengidentifikasi urutan basa nukleotida yang homolog pada DNA mitokondria (Dawkin, 2000), sehingga menggambarkan klasifikasi secara taksonomi dari organisme berdasarkan pada sejarah evolusi untuk menentukan

filogeni dari organisme berdasarkan pada karakteristiknya, dimana dua sekuen yang sangat mirip akan berada pada cabang yang berdekatan (Mount, 2001). Mayoritas polimorfisme genetik terjadi secara random, namun demikian perubahan molekuler dapat terjadi karena proses seleksi. Jika hanya menggunakan satu gen homolog maka pohon genetik akan dikonstruksi, namun tidak menunjukkan sejarah evolusi suatu kelompok spesies. Ketika satu spesies terpisah menjadi dua, polimorfisme dapat menunjukkan

waktu asal usul spesies yang direpresentasikan dalam pohon spesies (populasi) (Nei dan Kumar, 2000). Maka dari itu, data sekuens pada banyak spesies memberikan data dasar untuk menentukan hubungan filogenetik antara spesies atau taxa terkait (Hedrick, 2005).

Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air di lokasi pengambilan sampel ikan Lais di Sungai Musi dan Sungai Kelekar dapat dilihat pada Tabel 2, sebagai berikut:

Tabel 2. Parameter kualitas air habitat ikan di Sungai Musi dan Kelekar

| No | Parameter | Sungai Musi | Sungai Kelekar | Kisaran toleransi |
|----|-------------------------|---------------|----------------|-----------------------|
| A | Fisika | | | |
| 1 | Kecerahan (cm) | 37,25 – 39,88 | 35-40 | 30-65 ¹⁾ |
| 2 | Suhu (°C) | 31 | 29,1-31,1 | 27-30 ²⁾ |
| B | Kimia | | | |
| 1 | Oksigen terlarut (mg/l) | 3,1 – 3,3 | 5,2-5,5 | >2 ³⁾ |
| 2 | pH | 7,16 – 7,58 | 7,1-7,4 | 6,5-9 ⁴ |
| 3 | Amoniak (ppm) | 0,17-0,19 | 0,16-0,26 | 0,6-2,0 ⁴⁾ |

¹⁾ Boyd dan Lichkoppler, 1979 *dalam* Soewondo dkk, 2005); ²⁾ Bunasisir *et al.*, 2005; ³⁾ Pescod, 1973; ⁴⁾ Boyd, 1979.

Berdasarkan Tabel 2, suhu yang terukur pada habitat Sungai Musi berkisar 28-31 °C, sedangkan di S. Kelekar adalah 29,1-31,1°C. Suhu merupakan faktor fisika air yang berperan penting dalam kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan. Suhu mempengaruhi nafsu makan, laju

pencernaan dan metabolisme ikan, dan selanjutnya berdampak terhadap pertumbuhan (Zonneveld dkk., 1991). Pada wilayah beriklim tropis, suhu yang optimum untuk pertumbuhan ikan berkisar antara 29-30 °C, sedangkan suhu 26-28 °C dapat mengakibatkan pertumbuhan yang lambat (Boyd, 1990

dan Lawson, 1995). Ikan Lais ditemukan pada Sungai Musi dengan kecerahan 37.25 – 39.88 cm, sedangkan di S. Kelekar berkisar 35-40 cm. Tingkat kecerahan yang baik untuk mendukung produktifitas organisme akuatik berkisar antara 30-65 cm (Boyd dan Licthkoppler, 1979 *dalam* Suwondo dkk, 2005).

Derajat keasaman atau pH (power of Hydrogen) yang terukur pada habitat S. Musi berkisar 7.16 – 7,58, sedangkan di S. Kelekar adalah 7,1-7,4. Nilai pH perairan yang baik untuk pertumbuhan ikan dan kelangsungan hidup berkisar antara 6.5 – 8.5 (Boyd, 1979). Pada pH kurang dari 6,5, ikan akan mengalami pertumbuhan dan reproduksi yang lambat (Lloyd, 1992). pH yang terlalu rendah akan mengurangi jumlah phospor anorganik yang terlarut dan ketersediaan karbondiokasida untuk fotosintesis fitoplankton, sedangkan pada pH yang tinggi akan mengakibatkan kadar amoniak menjadi lebih beracun (Zweig *et al.*, 1999).

Oksigen terlarut yang diperoleh pada S. Musi berkisar 3,1 – 3,3 mg/l, dan pada S. Kelekar adalah 5,2-5,5 mg/l. Oksigen terlarut diperlukan untuk pernapasan dan metabolisme ikan, namun demikian peningkatan suhu

sebesar 1 °C akan meningkatkan konsumsi oksigen sebesar 1%. Selain itu, dekomposisi bahan organik dan oksidasi bahan organik dapat menurunkan kadar oksigen terlarut hingga nol (anaerob) (Effendi, 2000). Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas sehingga jika ketersediaanya di dalam air tidak mencukupi kebutuhan biota budidaya, segala aktivitas biota akan terhambat. Spesies ikan di daerah tropis dapat tumbuh dengan baik pada kisaran 5 mg/l, dengan konsentrasi lethal pada kandungan oksigen terlarut <0,3 mg/l (Zweig *et al.*, 1999).

Amonia (NH_3) pada lokasi pengambilan sampel ikan berkisar 0,11-0,19 mgL⁻¹ untuk S. Musi dan 0,16-0,26 di S. Kelekar. Boyd (1979) menyatakan bahwa tingkat racun NH_3 untuk jangka pendek berada diantara 0,6-2,0 mgL⁻¹ sedangkan Mahyuddin (2011) menyatakan bahwa ammonia total pada media budidaya ikan yang baik adalah <1 mgL⁻¹. Kondisi perairan yang tidak berbeda jauh dan masih termasuk dalam kriteria perairan yang baik untuk mendukung kehidupan ikan dan organisme air lainnya tidak memberikan efek yang mengakibatkan perubahan materi genetik pada ikan (Iriana *et al.*, 2011).

KESIMPULAN

1. Sekuen nukleotida gen COI ikan Lais timah asal Sungai Musi dan Kelekar mempunyai kemiripan yang tinggi (92,29%) dengan *Phalacronotus bleekeri* asal Thailand dan *Phalacronotus apogon* (92,21%) asal Australia.
2. Analisa filogenetik menunjukkan bahwa Lais berada pada kluster yang sama dengan genus lainnya pada family Siluridae, dan terpisah dari *Hemibagrus nemurus* (Bagridae), Chanidae dan *Oreochromis niloticus* (Cichlidae).
3. Kualitas air meliputi kecerahan, suhu, pH, oksigen terlarut, amoniak dan alkalinitas yang diperoleh pada habitat di S. Musi dan Kelekar menunjukkan kisaran yang masih dapat ditoleransi untuk kelangsungan hidup ikan Lais.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kepala Laboratorium Dasar Perikanan Jurusan Perikanan dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Unsri atas support dan fasilitasnya selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsyad. 1973. *Pengantar Ilmu Perikanan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Asgharian, H., Sahafi, H. H., Ardalan, A. A., Shekariz, S., Elahi, E. 2011. Cytochrome c oxidase subunit 1 barcode data of fish of the Nayband National Park in the Persian Gulf and analysis using meta-data flag several cryptic species. *Mol Ecol Resour.* 11(3):461-472.
- Boyd, C. E. 1979. *Water Quality in Warmwater Fish Ponds*. Auburn Univ. 345p.
- Boyd, 1990. *Water quality in Ponds for Aquaculture*. Birmingham, Ala.: Auburn University Press.
- Brown, W., George, M., and Wilson, A. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(4), 1967–71.
- Cholik, F., Jagatraya, A.G., Poernomo, R.P dan Jauzi A. 2005. *Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa*. Masyarakat Perikanan Nusantara, Jakarta.
- Costa, F. O., and Carvalho, G. R. 2007. The barcode of life initiative: synopsis and prospective societal impacts of DNA barcoding of fish. *Genomics, Society and Policy* 3, 29–40.
- D'Amato, M. E., Esterhuyse, M. M., Waal, B. C. W., Brink, D., and Volckaert, F. A. M. 2007. Hybridization and phylogeography of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* in Southern Africa evidenced by

- mitochondrial and microsatellite DNA genotyping. *Conservation Genetics*, 8(2), 475–488.
- Dawkin, R. 2000. Mekanisme Evolusi. Ed ke-5. Lestari, R., Adil, E.I.M., Anita, N., Andri, Wibowo, W.F., Manalu, W., penerjemah. Jakarta (ID): Erlangga. Terjemahan dari: Mechanism of Evolution. Freeland, J. R., Kirk, H., and Peterson, S. D. 2011. *Molecular Ecology* (Second). Wiley-Blackwell.
- DNA barcoding. <http://barcode.sil.edu/DNABarcode.htm>. Diakses pada tanggal 26 Januari 2016.
- Effendi, I. 2000. *Telaah Kualitas Air*. Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Elvyra, R. dan Solihin, D. D., 2015. Runutan gen cytochrome c oxdase I ikan lais janggut, *Kryptopterus limpop* (Bleeker, 1852) dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri, Provinsi Riau. *Jurnal Ikhtiologi Indonesia*. 15(3), 235-243.
- Hardman, M. 2005 The phylogenetic relationships among non-diplomystid catfishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequences; the search for the Ictalurid sister taxon (Otophysi: Siluriformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37, 700–720.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., and de Waard, J. R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Hebert, P.D.N, and Gregory T.R. 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Syst. Biol.* 54(5), 852-859.
- Hedrick, P. W. 2005. *Genetics of Populations* (Third, p. 737). Jones and Bartlett.
- Hoggarth, D.D and Utomo, A.D. 1994. The Fishes Ecology of The Lubuk Lampam River Flood Plain in South Sumatera, Indonesia. *Fisheries Research International Journal. Elsevier. Netherland*, 20, 191-213.
- Iqbal, M. 2011. *Ikan-ikan di Hutan Rawa Gambut Merang-Kepayang dan Sekitarnya*. Merang REDD Pilot Project (MRPP), Palembang. Vi + 92 hal.
- Iriana, I., Kusmini., dan Gustiano, R., dan Mulyasari., 2011. Karakterisasi genetik ikan kelabau (*Osteochilus kelabau*) dari berbagai lokasi di Kalimantan Barat menggunakan metode RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA). *Berita Biologi*. 10 (4). 449-454.
- Kress, J. W., Garcia-Robledo C., Uriarte M., and Erickson, D. L. 2015. DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 30, 25-35. [SEP]
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, and Tamura K. 2018 MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547-1549.
- Stecher G, Tamura K, and Kumar S. 2020 Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution* 37:1237-1239.
- Kuncoro, E. B. 2009. Ensiklopedia Populer Ikan Air Tawar. Penerbit : Lily Publisher. P. 129.

- Lagler, K. F., Bardach, J. E and Miller, R. R. 1977. *Ichthyology*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Lawson, T. B. 1995. *Fundamentals of Aquacultural Engineering*. New York: Chapman and Hall.
- Li, W., Graur, D. 1991. *Fundamental of Molecular Evolution*. Sunderland (GB): Sinauer Associates.
- McCusker, M. R., Denti, D., Van Guelpen, L., Kenchington, E., and Bentzen, P. 2013. Barcoding Atlantic Canada's commonly encountered marine fishes. *Molecular Ecology Resources*, 13(2), 177–88.
- MOUNT, D.W. 2001. *Phylogenetic prediction*. In: Bioinformatic, Sequence and Genome Analysis. Cold Spring Harbor laboratory. New York Press pp. 237 –280.
- Nagl, S., Tichy, H., Mayer, W. E., Samonte, I. E., McAndrew, B. J., and Klein, J. 2001. Classification and phylogenetic relationships of African tilapiine fishes inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 20(3), 361–74.
- Nakano, T., and Ozawa, T., 2004. Phylogeny and historical biogeography of limpets of the order Patellogastropoda based on mitochondrial DNA sequences. *Journal Mollusca Study*, 70, 31–41.
- Nei, M., and Kumar, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics* (1st ed.). Oxford: Oxford University Press.
- Nielsen, R. and Z. YANG. 1998. Likelihood models for detecting positively selected amino acid sites and application to the HIV-1 envelope gene. *Genetics*.148: 929 – 936.
- Pescod MB. 1973. *Investigation of Rational Effluent and Stream Standard for Tropical Countries*. AIT, London.
- Rajiv, K. and Chauhan, T. 2010. Molecular markers and their applications in fisheries and aquaculture. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 1, 281-291.
- Lukas dan Minggawati, I. 2014. Persentase jenis makanan dalam lambung ikan Lais (*Ompok hypophthalmus*) di rawa Sungai Rungan, Kota Palangka Raya. *Zira'ah*, 39 (2), 100-104.
- Robert, T. R. 1989. *The freshwater fishes of Western Borneo (Kalimantan Barat, Indonesia)*. California Academy of Science. 210p.
- Rognon, X., and Guyomard, R. 1997. Mitochondrial DNA differentiation among East and West African Nile tilapia populations. *Journal of Fish Biology*, 51(1), 204–7.
- Suyanto, S. R. 1999. *Budidaya Ikan Lele*. Penebar Swadaya, Anggota IKAPI.
- Syaifudin, M., Penman, D., McAndrew, B. 2015. *Species-specific DNA Markers for Improving the Genetic Management of Tilapia*. PhD thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland-United Kingdom.
- The Chimpanzee Sequencing and Analysis Consortium. 2005. Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. *Nature*, 437, 69-87.
- Utomo, A. D; Nasution, Z dan Ningrat, S. 2003. *Kegiatan Penangkapan*

- Ikan di Sungai Barito. Prosiding Hasil Riset, Pusat Riset Perikanan Tangkap, Badan Riset Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan.* Jakarta. Hal. 149-159.
- Shirak, A., Cohen-zinder, M., Barroso, R. M., Seroussi, E., Ron, M., and Hulata, G. 2009. DNA Barcoding of Israeli Indigenous and Introduced Cichlids. *Israeli Journal of Aquaculture*, 61(2), 83–88.
- Stecher, G., Tamura, K., and Kumar, S. 2020. Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution*, 37: 1237-1239
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., and Hebert, P. D. N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360 (1462), 1847–57.
- Weber, M., De Beaufort, N. W. 1975. *The Fishes of the Indo-Australian Archipelago*. Buku II. E.J. Brill. Leiden.
- Wong, L. L., Peatman, E., Lu, J., Kucuktas, H., He, S., Zhou, C., Na-nakorn, U., and Liu, Z. (2011). DNA barcoding of catfish: Species authentication and phylogenetic assessment. *PLoS ONE*, 6(3), 1–7.
- Wu, L., and Yang, J. I. 2012. identifications of captive and wild tilapia species existing in Hawaii by mitochondrial DNA control region sequence. *PLoS One* 7(12).
- Zein, M. S. A., Sulandari, S. Investigasi asal usul ayam Indonesia menggunakan sekvens hypervariable-1 d-loop DNA mitokondria. *J Vet*. 10 (1):41-49.
- Zonneveld, N., Huissman, E. A., dan Boon, J. H. 1991. *Prinsip-prinsip Budidaya Ikan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.. 318 p.
- Zweig, R. D., Morton, J. D., and Stewart, M. M. 1999. *Source Water Quality for Aquaculture: A Guide for Assessment*. The World Bank, Washington, D.C, USA.