

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

BARCODING DNA IKAN HIAS LAHAN GAMBUT

Melta Rini Fahmi[#], Anjang Bangun Prasetyo, Ruby Vidia Kusumah,
Erma Primanita Hayuningtyas, dan Idil Ardi

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias

ABSTRAK

Perairan gambut merupakan ekosistem unik yang memiliki kekayaan biodiversitas ikan, sebagian besar di antaranya memiliki potensi sebagai ikan hias. Penelitian ini dilakukan untuk melakukan identifikasi dan analisis keragaman genetik, karakter genetik, jarak genetik, dan pohon kekerabatan ikan-ikan yang mendiami perairan gambut Cagar Biosfere Bukit Batu Provinsi Riau. Tahap pertama penelitian ini adalah identifikasi secara morfologi terhadap 29 ikan hasil koleksi yang potensial sebagai ikan hias. Selanjutnya amplifikasi dan *alignment* 675 bp (*base pair*) dari 90 runutan parsial *cytochrome c oxidase* subunit 1 (COI). Hasil penelitian menunjukkan ikan yang diidentifikasi dapat dikelompokkan menjadi enam famili, yaitu Balontidae terdiri atas tiga spesies (12,5%); Cyprinidae 13 spesies (54,17%); Cobitidae satu spesies (4,17%); Siluridae dua spesies (8,3%); Datnoidae satu spesies (4,17%); dan Bagridae empat spesies (16,67%). Beberapa spesies memiliki perbedaan genetik intraspesies lebih dari 3%. Analisis kekerabatan dan *clustering* ikan hias lahan gambut berdasarkan gen COI memiliki nilai *bootstrap* 87-99 per ulangan.

KATA KUNCI: *barcoding* DNA; ikan hias; lahan gambut; keragaman genetik

ABSTRACT: *DNA barcoding of ornamental fish from peat lands. By: Melta Rini Fahmi, Anjang Bangun Prasetyo, Ruby Vidia Kusumah, Erma Primanita Hayuningtyas, and Idil Ardi*

Peat is a unique ecosystem which a high fish biodiversity, and most of them are potential as ornamental fish. This research was conducted to identify and analyze genetic diversity, genetic code, genetic distances, and phylogenies of the fish that inhabit in the Bukit Batu Biosfere Reserves, Riau Province. The first stage of this study was identification of 29 fish species that potential as ornamental fish by using morphological character. The further stages were amplification and alignment of 675 base pairs of 90 partial sequences of cytochrome c oxidase subunit 1 (COI). Results showed that the identification based on COI could be classified into six families. These Families were Balontidae, Cyprinidae, Cobitidae, Siluridae, Datnoidae, and Bagridae which consist of three species (12.5%), 13 species (54.17%), one species (4.17%), two species (8.3%), one species (4.17%), and four species (16.67%), respectively. Some clustered have intra-species genetic divergence more than 3%. Phylogenetic and clustering analysis showed all of the OTU (Operational Taxonomic Unit) has a high bootstrap permutation of 87-99.

KEYWORDS: *DNA barcoding; ornamental fish; peat land; genetic diversity*

PENDAHULUAN

Pada tahun 2003, Paul Hebert dari University of Guelph, Ontario, Kanada, menerbitkan sebuah makalah di *Proceedings of Royal Society* yang menyebutkan gen *cytochrome oxydase* (COI) dapat berfungsi sebagai *barcode* genetik untuk semua makhluk hidup (Hebert *et al.*, 2003). Semenjak dekade tersebut proyek *barcode* hampir semua makhluk hidup pun dimulai, dengan perkembangan teknologi, *barcoding* DNA juga dimanfaatkan sebagai gen tunggal atau lokus untuk

identifikasi taksonomi, serta penentuan batasan spesies (Taylor & Harrist, 2012). Peran *barcode* DNA sebagai alat (*tool*) identifikasi telah memberikan banyak kontribusi seperti identifikasi ikan pada stadia larva hingga dewasa, hingga evaluasi lalu lintas perdagangan ikan (Rasmussen *et al.*, 2009).

Hubert *et al.* (2015) menyebutkan sebanyak 1.172 spesies ikan telah mendiami perairan Indonesia namun keberadaan ikan-ikan tersebut sebagian besar berada dalam kondisi terancam punah dan salah satu penyebabnya adalah perdagangan ikan hias langsung dari hasil tangkapan di alam. Laju eksplotasi yang tidak berimbang dengan upaya budidaya telah menjadi ancaman kepunahan beberapa jenis ikan terutama yang mendiami perairan gambut (*peatland*). Lahan

[#] Korespondensi: Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias. Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok 16436, Indonesia. Tel.: + (021) 7520482
E-mail: meltarini.fahmi@kkp.go.id

gambut merupakan salah satu habitat yang dihuni oleh banyak jenis ikan hias sehingga dijuluki sebagai '*home-land of ornamental fish*'. Hutan dan lahan gambut merupakan ekosistem unik karena terbentuk dari timbunan serasah yang terdegradasi secara anaerob, air gambut cenderung bersifat asam (pH 3-5), berwarna hitam, miskin hara dan sangat kaya bahan organik (Giam *et al.*, 2012).

Sundaland merupakan salah satu dari 26 spot biodiversitas di dunia, yang meliputi Malay Paninsula, Jawa, Kalimantan, dan Sumatera, serta *Sundaland* memiliki wilayah gambut sebesar 36% (160.000 km²) (Miettinen & Liew, 2010; Page *et al.*, 2011). Beberapa dekade terakhir mulai diketahui ikan-ikan yang mendiami perairan gambut adalah ikan-ikan yang memiliki kemampuan adaptasi yang sempit (*stenotopic*) (Ng *et al.*, 1994). Keberadaan ikan-ikan *stenotopic* pada saat ini mulai berada pada kondisi terancam punah karena intensitas kegiatan agroindustri yang cenderung monokultur di wilayah tersebut. Giam *et al.* (2012) memperkirakan laju kepunahan ikan-ikan yang mendiami perairan gambut saat ini mencapai 77% (72 dari 102) spesies *stenotopic* telah mencapai kondisi punah.

Mary *et al.* (2011) menyebutkan lahan gambut dihuni oleh kurang lebih 219 spesies dan 80 spesies di antaranya adalah ikan-ikan yang endemik di perairan tersebut. Lebih lanjut dijelaskan bahwa sebagian besar ikan-ikan yang mendiami perairan gambut baru berhasil diidentifikasi secara intensif setelah 20 tahun terakhir yaitu saat ilmu biologi mengalami revolusi menjadi biologi molekuler. Dengan ditemukannya gen *cytochrome c oxidase* subunit 1 (COI) sebagai penanda dan identifikasi spesies, maka revolusi pada dunia biodiversitas pun dimulai.

DNA *barcoding* adalah sebuah sistem yang dirancang untuk menyediakan proses identifikasi yang akurat, cepat, dan bersifat otomatis untuk semua spesies, karena menggunakan lokus atau gen pendek dan mutasi pada nukleotida pada lokus tersebut menjadi standar taksonomi masing-masing spesies (Hebert *et al.*, 2003). Pada awalnya penemuan DNA *barcoding* ditujukan untuk kegiatan taksonomi ikan, namun saat ini DNA *barcoding* berkembang untuk konservasi genetik yang mengacu pada keragaman genetik intra-inter-spesies. Keragaman spesies menggambarkan dinamika fenotipe selama proses ontogeni yang sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (Blaxter, 2003; Tautz *et al.*, 2002). Beberapa keutamaan DNA *barcoding* dibandingkan dengan identifikasi secara morfologi adalah (1) pada identifikasi secara morfologi sering terjadi tumpang tindih beberapa karakter dengan taksa terdekat sehingga ini sering menjadi kendala dalam identifikasi; (2) DNA *barcoding* dapat

digunakan untuk identifikasi semua stadia perkembangan ikan mulai dari telur hingga dewasa; (3) fenomena *cryptic* spesies dan *cryptic diversity*, lebih banyak diungkap dengan menggunakan DNA *barcoding*.

Mengacu pada fenomena ikan-ikan yang mendiami perairan gambut cenderung berada pada kondisi terancam punah dan perkembangan teknologi DNA *barcoding*, maka perlu dilakukan upaya *assessment* secara cepat terkait potensi dan keragaman ikan di lahan gambut saat ini untuk kegiatan konservasi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi secara molekuler spesies ikan-ikan yang mendiami perairan gambut di Provinsi Riau dan Jambi menggunakan gen COI parsial DNA mitokondria melalui penanda genetik (identitas spesies), karakter genetik, jarak genetik, dan pohon kekerabatan genetik.

BAHAN DAN METODE

Koleksi Sampel

Koleksi sampel dilakukan di perairan gambut Provinsi Riau dan Jambi. Sampel ikan ditangkap dengan menggunakan alat tangkap serokan, jaring lempar, pancing, dan anco. Ikan yang tertangkap didokumentasikan selanjutnya disimpan dalam formalin untuk proses identifikasi karakter morfometrik dan meristik (Kotellat *et al.*, 1993; Robert, 1989) dan sebagian lagi disimpan dalam alkohol 70% untuk kegiatan molekuler.

Ekstraksi dan Amplifikasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan metode *spin-column* mengacu pada prosedur kerja Kit *gSYNC DNA Extration* yang dikeluarkan oleh perusahaan *Geneaid*. DNA hasil ekstraksi dimigrasikan pada gel agarose 1,2% dalam larutan 1x TAE dengan pewarna DNA berupa *cyber safe* (tuliskan produsennya). DNA total divisualisasi dengan bantuan *blue light transilluminator* ($\lambda = 250$ nm). DNA total hasil purifikasi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Primer yang digunakan adalah F15'-TCA-ACC-AAC-CAC-AAA-GAC-ATT-GGA-C-3' (*forward*) dan R15'-TAG-ACT-TCT-GGG-TGG-CCA-AAG-AAT-CA-3' (*reverse*) dengan target produk PCR sepanjang 707 pb (Ward *et al.*, 2005). Kondisi PCR yang digunakan adalah *pra-PCR* (94°C selama lima menit), denaturasi (94°C selama 30 detik), *annealing* atau penempelan (52°C selama 30 detik), ekstensi atau pemanjangan (72°C selama 30 detik), dan *post-PCR* (72°C selama lima menit). Runutan nukleotida hasil PCR selanjutnya dibaca dengan menggunakan *Applied Biosystems* melalui *1st BASE DNA Sequencing Division*.

Analisis Data

Sisi homolog runutan nukleotida gen COI DNA mitokondria dari spesies yang diperoleh selanjutnya disejajarkan (*multiple alignment*). Analisis penanda genetik, keragaman genetik, jarak genetik, dan konstruksi pohon kekerabatan dari runutan nukleotida gen parsial COI DNA mitokondria dilakukan menggunakan program MEGA versi 5 (Tamura *et al.*, 2011).

DNA Barcoding Library

Keberhasilan program DNA *barcoding* sangat bergantung pada pengembangan pustaka acuan DNA *barcoding* untuk tujuan identifikasi secara otomatis melalui sebuah sistem yang dikenal dengan *Barcode of Life Datasystem* (BOLD) yang menghimpun tujuh elemen data, meliputi: (1) nama spesies melalui identifikasi secara morfologi dan foto spesimen, (2) spesimen *voucher*, (3) lokasi geografis tempat koleksi sampel, (4) lembaga atau personal yang melakukan identifikasi, (5) runutan gen COI sekitar 500 bp, (6) primer yang digunakan untuk amplifikasi, dan (7) sistem pelacakan data.

HASIL DAN BAHASAN

Keragaman Genetik Gen COI

Sebanyak 707 bp runutan basa dari 90 runutan (*sequence*) disejajarkan (*alignment*), dengan menggunakan Crustal W program, dan hanya 675 bp yang dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut. Jarak evolusi antar grup yang dihitung berdasarkan substitusi nukleotida secara keseluruhan adalah 0,2327 (23,27%). Matrik substitusi nukleotida semua grup disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan analisis dengan menggunakan *HKY+G+I model* terdapat distribusi yang tidak merata untuk semua nukleotida dengan frekuensi sebagai berikut: adenin (A) sebesar 25,46%; timin (T) sebesar 30,54%; guanin (G) sebesar 26,27%; dan yang paling sedikit adalah sitosin (C) sebesar 17,73%.

Perbandingan antara transisi dan transfersi adalah 1,968 untuk purin, dan 2,872 untuk pirimidin, secara keseluruhan perbandingan transisi dan transfersi adalah 1,301.

Kelompok monopiletik secara taksonomi terbentuk jika spesimen-spesimen yang dianalisis memiliki perbedaan genetik lebih dari 3% (Paul *et al.*, 2003). Jarak genetik antar grup berdasarkan K2P (*Kimura 2 Parameter*) disajikan pada Lampiran 1. Dari Lampiran 1 diketahui bahwa jarak genetik antara kelompok Seluang bintik dan Seluang tasik serkap (dikenal dengan sebutan Rasbora merah) adalah 0,5%. Perbedaan genetik yang rendah ini menyebabkan spesimen tersebut berada pada dalam satu kelompok monopiletik. Demikian juga dengan *Puntius petazona* dan *Puntius rombochelatus*, walaupun secara taksonomi kedua ikan tersebut adalah dua spesies yang berbeda namun berdasarkan perbedaan genetik yang hanya 0,4%; maka kedua spesimen tersebut dikelompokkan menjadi menjadi satu klaster. Rendahnya perbedaan genetik antara *Luceocephalus pulcer* dan *Epalzeorhynchus kalopterus* diduga disebabkan oleh jumlah spesimen yang sangat sedikit (satu ekor).

Perbedaan genetik intra *Operational Taxonomic Unit* (OTU) atau grup *Puntius hexazona*, Seluang garis merah, *Kryptopterus impok*, *Rasbora maculata* lebih rendah dari 3% menyebabkan keempat OTU tersebut tidak dikategorikan sebagai satu kelompok monopiletik. Sementara itu, 26 OTU lagi merupakan satu kelompok monopiletik karena perbedaan genetik intragrup (OTU) kurang dari 3%.

Hubungan Kekerabatan Genetik

Analisis kekerabatan dengan menggunakan program Neighbour-Joining NJ (1.000 *bootstrap*) mengindikasikan 87 spesies hasil analisis DNA *barcoding* dapat dikelompokkan menjadi enam famili, yaitu Balontidae terdiri atas tiga spesies (12,5%); Cypripinidae 13 spesies (54,17%); Cobitidae satu spesies (4,17%); Siluridae dua spesies (8,3%); Datnoidae satu

Tabel 1. Matrik substitusi nukleotida berdasarkan metode *HKY+G+I*
Table 1. Matrix nucleotide substitutions based on methods *HKY+G+I*

Dari/ke- From/to	A	T	C	G
A	-	<i>0.0681</i>	<i>0.0586</i>	0.0778
T	<i>0.0568</i>	-	0.1684	<i>0.0396</i>
C	<i>0.0568</i>	0.1958	-	<i>0.0396</i>
G	0.1118	<i>0.0681</i>	<i>0.0586</i>	-

Keterangan (Note): *Bold*= substitusi transitional; *italic*= substitusi transversal
Bold= transitional substitutions; *italic*= transversional substitutions

Tabel 2. Perbedaan genetik intragrup dan standar deviasi
 Table 2. Genetic divergences intragroup (OTU) and standard deviation

Grup/OTU	Perbedaan genetik intra grup <i>Maximum divergence within group</i>	Persentase Percentage (%)	Standar deviasi <i>Estimated standard error</i>
<i>Desmopuntius pentazona</i>	0.008	0.8	0.006
<i>Desmopuntius hexazona</i>	0.068	6.8 ¹⁾	0.010
<i>Desmopuntius rombochelatus</i>	n/c	n/c	n/c
<i>Puntius tetrazona</i>	0.002	0.2	0.002
<i>Osteocelus</i>	0.002	0.2	0.004
<i>Rasbora</i> sp.-GKN	0.007	0.7	0.004
<i>Pectenocypris</i> sp.-BB	0.002	0.2	0.002
<i>Pectenocypris</i> sp.-TS	0.002	0.2	0.002
<i>Rasbora</i> sp.-GMR	0.120	12.0 ¹⁾	0.018
<i>Rasbora doriocellata</i>	0.003	0.3	0.002
<i>Betta akademis</i>	0.003	0.3	0.004
<i>Mystus bimaculatus</i>	0.002	0.2	0.001
<i>Kryptopterus impok</i>	0.117	11.7 ¹⁾	0.019
<i>Silichthys phaiosoma</i>	0.003	0.3	0.002
<i>Crossocheilus siamensis</i>	0.013	0.1	0.004
<i>Epalzeorhynchus kalopterus</i>	0.003	0.3	0.002
<i>Syncrossus hymenophysa</i>	0.003	0.3	0.002
<i>Pangio kuhlii</i>	0.001	0.1	0.001
<i>Rasbora harlequin</i>	0.003	0.3	0.002
<i>Rasbora maculata</i>	0.260	26.0 ¹⁾	0.038
<i>Peltrobagus</i>	0.006	0.6	0.003
<i>Halostoma taminski</i>	0.052	5.2 ¹⁾	0.012
<i>Anabas testudineus</i>	0.002	0.2	0.001
<i>Sphairichtys ospronemodes</i>	0.015	1.5	0.005
<i>Puntius</i>	n/c	n/c	n/c
<i>Chaka bangkanensis</i>	n/c	n/c	n/c
<i>Luceocephalus pulcer</i>	n/c	n/c	n/c
<i>Mystus</i> Thailand	0.002	0.2	0.004
<i>Datnoides microlepis</i>	0.001	0.1	0.004
<i>Leiocassis porcilopterus</i>	0.001	0.1	0.004

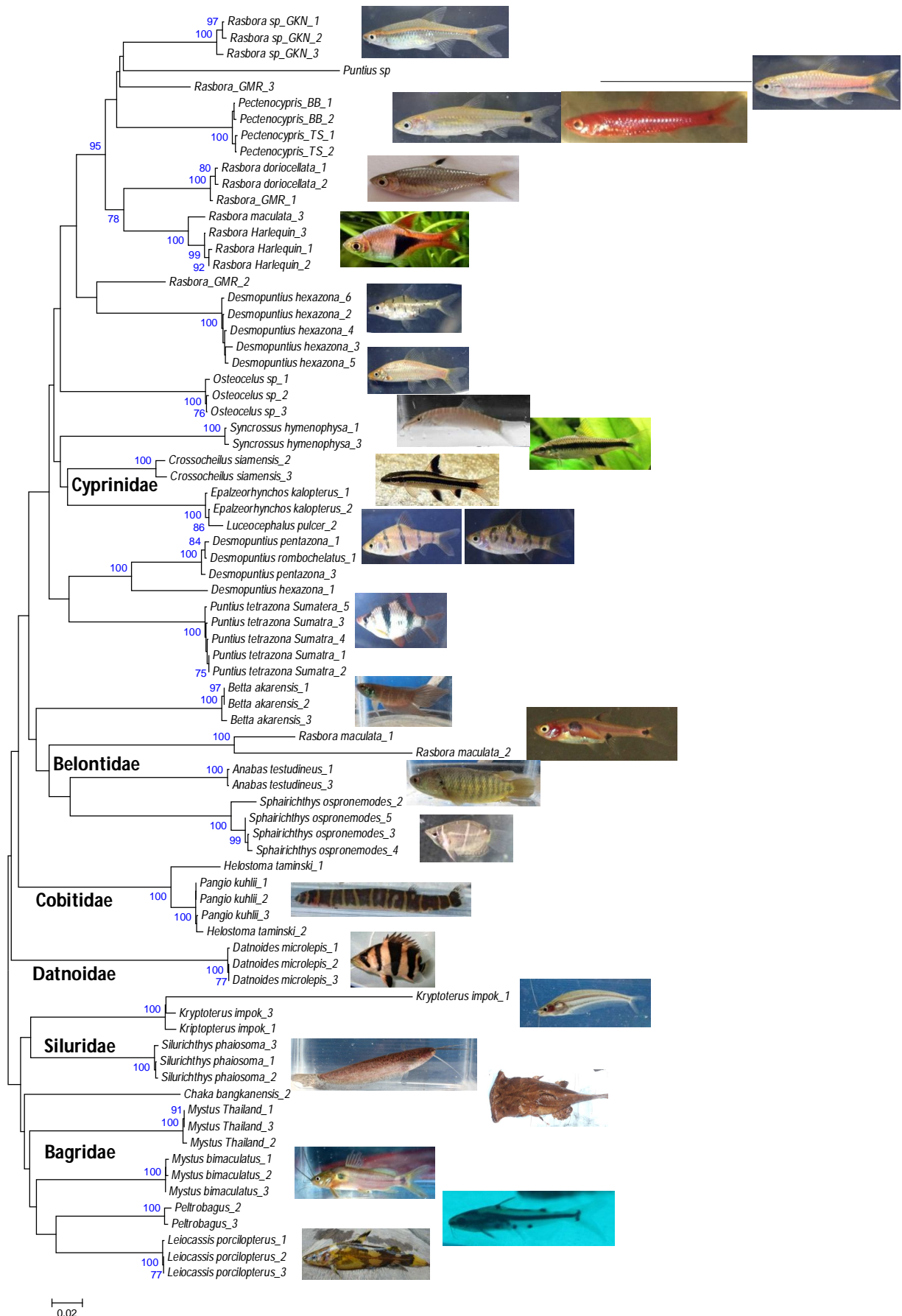
Keterangan (Note): OTU = Operational Taxonomic Unit; ¹⁾ = perbedaan genetik > 3%
 Note: OTU = Operational Taxonomic Unit; ¹⁾ = genetic divergences > 3%

spesies (4,17%); dan Bagridae empat spesies (16,67%) (Gambar 1).

Mengacu pada nilai *bootstrap* masing-masing OTU yang berkisar antara 87 hingga 99 dapat dikatakan bahwa pengelompokan spesies tersebut memiliki tingkat kesamaan yang cukup tinggi. Namun beberapa spesies dari Cyprinidae seperti Seluang garis merah dan *Rasbora maculata* menunjukkan terjadinya fenomena *cryptic* spesies (spesies yang samar). Sebagian besar ikan air tawar yang mendiami perairan tropis terutama lahan gambut memiliki kemampuan adaptasi yang cukup tinggi sehingga terjadi perubahan-perubahan secara morfologi (*radiation of*

morphologyca) yang mengarah fenomena *cryptic* spesies. Cyprinidae merupakan famili yang sangat kompleks dengan penyebaran luas dan keragaman tinggi (Nelson, 2006).

Hubert *et al.* (2015) telah melakukan kajian komposisi ikan-ikan yang mendiami tiga spot biodiversitas di Indonesia yaitu paparan Sundaland, Wallacea, dan Sahul. Wilayah Sundaland didominasi oleh Famili Cyprinidae yaitu 231 spesies dari 241 spesies yang mendiami wilayah Indonesia (95,8%) diikuti oleh Osphronomidae, Gobiidae, Bagridae, Balontidae, Siluridae, dan Cobitidae. Pada wilayah Wallacea dan Sahul masing-masing didominasi oleh famili Gobiidae



Gambar 1. Dendrogram ikan-ikan yang mendiami lahan gambut berdasarkan gen barcoding COI
 Figure 1. Dendrogram DNA barcoding genes (COI) of the fish that inhabit peatland

(52 spesies) dan Melanitidae (47 spesies). Selanjutnya Huber *et al.* (2015) juga menjelaskan tingkat endemis ikan yang mendiami paparan Sunda juga mengikuti pola yang sama, yaitu Cyprinidae (135 spesies) dan Osphronomidae (59 spesies).

DNA Barcoding untuk Konservasi Genetik Ikan Hias Lahan Gambut

Konservasi genetik merupakan upaya mempertahankan keragaman genetik intra-populasi dan intra-spesies, hal ini disebabkan karena dua alasan. Alasan pertama yaitu keragaman genetik sangat diperlukan oleh makhluk hidup untuk beradaptasi, berevolusi, dan melakukan perubahan sehingga dapat menyesuaikan diri dengan perubahan lingkungan yang terjadi secara terus-menerus. Alasan kedua adalah hilangnya keragaman genetik akan menimbulkan potensi *inbreeding* dan menurunkan kebugaran (*fitness*) reproduksi (Frankham *et al.*, 2002).

Frankham *et al.* (2002) menjelaskan bahwa bagian yang sangat penting dalam konservasi genetik adalah kepastian taksonomi baik melalui pendekatan morfologi maupun molekuler. Kepastian taksonomi ini diperlukan untuk beberapa kepentingan di antaranya perlindungan hukum untuk spesies yang terancam punah, peta penyebaran, status spesies endemik atau invasif dan identifikasi spesies yang memiliki nilai ekonomis penting.

Kemampuan gen COI dalam mengidentifikasi spesies-spesies kompleks telah diuji pada beberapa penelitian seperti ikan-ikan famili Cyprinidae (Collins *et al.*, 2012), rainbow (Kadarusman *et al.*, 2012), larva ikan air gambut (Wibowo *et al.*, 2015) dan ikan trout, serta salmon (Rasmussen *et al.*, 2009). Hebert *et al.* (2003) mempublikasikan primer untuk DNA *barcoding* mengapit sekuen dengan kriteria sebagai berikut; tingkat evolusi molekuler yang tinggi, tingkat mutasi delesi atau insersi relatif rendah dibandingkan dengan gen 16S rRNA dan 12S rRNA walaupun memiliki kedekatan kekerabatan spesies.

Seiring dengan tingginya tingkat keragaman yang mendiami paparan Sunda (Sundaland), maka aktivitas penangkapan ikan di wilayah ini juga cukup intensif baik untuk kebutuhan konsumsi maupun ikan hias. Tingkat endemisitas ikan di paparan Sunda didominasi oleh ikan-ikan yang mendiami perairan gambut, di mana salah satu karakter ikan yang mendiami perairan tersebut adalah bersifat endemik sehingga rentan terhadap ancaman kepunahan (Hubert *et al.*, 2015; Ng *et al.*, 1994). Oleh karena itu, salah satu upaya konservasi ikan-ikan yang mendiami perairan tersebut adalah dengan memetakan keberadaan ikan-ikan

tersebut secara komprehensif. Konsorsium internasional DNA *barcoding* telah menyiapkan sebuah sistem yang dapat diakses dengan mudah untuk mendapatkan informasi terkait keberadaan ikan-ikan di Indonesia.

Penelitian ini telah berhasil menambahkan data ikan-ikan yang mendiami perairan Indonesia pada perpustakaan DNA *barcoding* (BOLD SYSTEM). Dengan mengikuti persyaratan yang telah dikeluarkan oleh GenBank, yaitu (1) memiliki sekuen nukleotida sepanjang 500 bp berasal dari situs *barcoding* yang telah disepakati yaitu COI, (2) amplifikasi mengacu pada primer yang telah ditentukan oleh konsorsium, (3) rekam jejak file dapat diakses secara terbuka, dan (4) penamaan spesies telah mengacu pada dokumen yang telah disepakati.

Melalui BOLD SYSTEM, maka salah satu permasalahan status nama ikan-ikan yang mendiami perairan Indonesia telah terselesaikan secara cepat dan otomatis. Pada dekade sebelumnya identifikasi ikan telah menjadi tantangan tersendiri bagi bangsa Indonesia di antaranya (1) Indonesia merupakan negara kepulauan yang terdiri atas kurang lebih 17.000 pulau dan ini menjadi kendala dalam mengelola biodiversitasnya, (2) terkait dinamika politik khusus ikan yang diidentifikasi sebelum tahun 1950 sulit untuk mendapatkan spesimen dan merunut keberadaan ikannya, (3) fenomena "*radiation of morphological*" di mana terjadi keragaman morfologi namun tidak berdampak pada peningkatan biodiversitas (Hubert *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Penggunaan marka genetik COI sebagai DNA *barcoding* telah berhasil mengidentifikasi 26 spesies ikan hias yang mendiami perairan gambut. Keragaman genetik intra-spesies yang cukup tinggi menunjukkan kemampuan spesies beradaptasi terhadap lingkungan yang ekstrem. Pengelompokan OTU berdasarkan DNA *barcoding* memiliki nilai permutasi yang cukup tinggi yaitu 87-99, mengindikasikan DNA *barcoding* sebagai penanda genetik hingga tingkat spesies.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Yayasan Mitra Insani (YMI), Sinar Mas Forestry dan Bapak Ipong, serta Bapak Anwar selaku pengumpul ikan hias di Provinsi Riau dan Jambi yang telah membantu pengumpulan sampel untuk penelitian ini. Dr. Nicolas Hubert atas bimbingan dalam mengakses www.BoldSystem.org. Penelitian ini dibiayai dari APBN melalui DIPA Balitbang Budidaya Ikan Hias tahun 2015.

DAFTAR ACUAN

- Blaxter, M. (2003). Molecular systematics: Counting angels with DNA, *Nature*, 421, 122-124.
- Collins, R.A., Armstrong, K.F., Meier, R., Yi, Y., & Brown, S.D.J. (2012). Barcoding and border biosecurity: identifying cyprinid fishes in the aquarium trade. *PLoS ONE*, 7(1), e28381. Doi: 10.1371/journal.pone.0028381.
- Frankham, R., Ballau, J.D., & Briscoes, D.A. (2002). Introduction to conservation genetic. Cambridge University Press.
- Giam, X., Koh, L.P., Tan, H.H., Miettinen, J., Tan, H.T.W., & Ng, P.K.L. (2012). Global extinctions of freshwater fishes follow peatland conversion in Sundaland. *Front. Ecol. Environ.*, 10(9), 465-470. Doi:10.1890/110182.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., & DeWaard, J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B. Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Hubert, N., Kadarusman, Wibowo, A., Busson, F., Caruso, D., Sulandari, S., Nafiqoh, N., Pouyaud, L., Rüber, L., Avarre, J.C., Herder, F., Hanner, R., Keith, P., & Hadiaty, R.K. (2015). DNA barcoding Indonesian freshwater fishes: challenges and prospects. *DNA Barcodes*, 3, 144-169. Doi: 10.1515/dna-2015-0018.
- Kadarusman, Hubert, N., Hadiaty, R.K., Sudarto, & Paradis, E. (2012). Cryptic diversity in Indo-Australian rainbowfishes revealed by DNA barcoding: Implications for conservation in a biodiversity hotspot candidate. *PLoS ONE*, 7(7), e40627. Doi: 10.1371/journal.pone.0040627.
- Kotellat, M., Whitten, A.J., Kartikasari, S.N., & Wirjoatmodjo, S. (1993). Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi. Periplus Edition.
- Mary, R.C.P., Lahiru, S.W., & Richard, T.C. (2011). Biodiversity and conservation of tropical peat swamp forests. *BioScience*, 61(1), 49-57.
- Miettinen, J., & Liew, S.C. (2010). Degradation and development of peatlands in Peninsular Malaysia and in the islands of Sumatra and Borneo since 1990. *Land Degrad. Dev.*, 21, 285-96.
- Nelson, J.S. (2006). Fishes of the World (4th ed). John Wiley & Sons-New Jersey. USA, p. 114-115.
- Ng, P.K.L., Tay, J.B., & Lim, K.K.P. (1994). Diversity and conservation of blackwater fishes in Peninsular Malaysia, particularly in the North Selangor peat swamp forest. *Hydrobiologia*, 285, 203-18.
- Page, S.E., Rieley, J.O., & Banks, C.J. (2011). Global and regional importance of the tropical peatland carbon pool. *Glob. Change Biol.*, 17, 798-818.
- Paul, D.N.H., Sujeevan, R., & Jeremy, R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R Soc.*, 270, S96-S99.
- Rasmussen, R.S., Morrissey, M.T., & Hebert, P.D.N. (2009). DNA barcoding of commercially important salmon and trout species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) from North America. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8379-8385.
- Robert, T.R. (1989). The freshwater fishes of western Borneo. California Academy of Science.
- 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. *Mol Biol Evol.* doi: 10.1093/molbev/msr121.
- Taylor, H.R., & Harrist. (2012). Invited technical review: An emergent science on the brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 12, 377-388.
- Tautz, D., Arctander, P., Minelli, A., Thomas, R.H., & Vogler, A.P. (2002). DNA points the way ahead in taxonomy. *Nature*, p. 418-479.
- Wibowo, A., Sloterdijk, H., & Ulrich, S.P. (2015). Identifying Sumatran peat swamp fish larvae through DNA barcoding, evidence of complete life history pattern. 2nd Humboldt Kolleg in conjunction with International Conference on Natural Sciences. *Procedia Chemistry*, 14, 76-84

Lampiran 1. Jarak genetik antar grup (OTU) ikan hias lahan gambut berdasarkan sekuan bagian (partial sequence) COI
 Appendix 1. Genetic distances between groups (OTU) of ornamental fish Peatlands based on partial sequence of COI

I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
[1]	[0.026]	[0.002]	[0.026]	[0.029]	[0.032]	[0.031]	[0.031]	[0.030]	[0.034]	[0.036]	[0.036]	[0.045]	[0.034]	[0.026]
[2]	0.188	[0.026]	[0.034]	[0.028]	[0.028]	[0.030]	[0.030]	[0.025]	[0.030]	[0.036]	[0.037]	[0.043]	[0.033]	[0.026]
[3]	0.004	0.187	[0.026]	[0.029]	[0.031]	[0.031]	[0.031]	[0.029]	[0.034]	[0.036]	[0.036]	[0.045]	[0.034]	[0.026]
[4]	0.174	0.237	0.173	[0.029]	[0.031]	[0.032]	[0.032]	[0.030]	[0.033]	[0.036]	[0.037]	[0.043]	[0.034]	[0.026]
[5]	0.196	0.199	0.197	[0.029]	[0.031]	[0.031]	[0.031]	[0.025]	[0.028]	[0.034]	[0.037]	[0.041]	[0.032]	[0.025]
[6]	0.221	0.207	0.219	0.205	[0.023]	[0.023]	[0.023]	[0.019]	[0.024]	[0.036]	[0.035]	[0.043]	[0.033]	[0.030]
[7]	0.213	0.210	0.215	0.210	0.152			[0.021]	[0.025]	[0.039]	[0.035]	[0.051]	[0.035]	[0.030]
[8]	0.214	0.212	0.215	0.211	0.151	0.005		[0.021]	[0.025]	[0.040]	[0.036]	[0.050]	[0.035]	[0.030]
[9]	0.209	0.180	0.208	0.180	0.132	0.005	0.146	[0.021]	[0.025]	[0.034]	[0.030]	[0.039]	[0.027]	[0.025]
[10]	0.231	0.210	0.230	0.191	0.157	0.147	0.167	0.092	[0.014]	[0.037]	[0.036]	[0.042]	[0.031]	[0.029]
[11]	0.254	0.250	0.253	0.236	0.245	0.261	0.263	0.238	0.247		[0.037]	[0.046]	[0.038]	[0.031]
[12]	0.243	0.253	0.245	0.243	0.238	0.233	0.236	0.205	0.242	0.259	0.270	[0.041]	[0.029]	[0.029]
[13]	0.304	0.297	0.304	0.278	0.289	0.315	0.315	0.264	0.274	0.308	0.191	0.231	0.196	0.158
[14]	0.240	0.237	0.240	0.227	0.232	0.237	0.238	0.194	0.209	0.258	0.191	0.265	0.216	0.173
[15]	0.173	0.185	0.172	0.171	0.203	0.204	0.204	0.17	0.189	0.210	0.191	0.231	0.233	0.187
[16]	0.198	0.188	0.197	0.200	0.205	0.209	0.209	0.191	0.216	0.241	0.246	0.303	0.305	0.369
[17]	0.225	0.230	0.225	0.218	0.230	0.229	0.229	0.194	0.215	0.274	0.211	0.318	0.239	0.173
[18]	0.246	0.265	0.245	0.254	0.260	0.232	0.232	0.226	0.245	0.259	0.222	0.283	0.216	0.213
[19]	0.218	0.194	0.220	0.193	0.131	0.151	0.153	0.118	0.105	0.246	0.235	0.279	0.233	0.187
[20]	0.295	0.285	0.296	0.298	0.271	0.278	0.279	0.252	0.262	0.311	0.291	0.328	0.305	0.369
[21]	0.232	0.248	0.233	0.239	0.242	0.250	0.253	0.214	0.226	0.254	0.196	0.272	0.185	0.194
[22]	0.257	0.271	0.257	0.261	0.271	0.24	0.241	0.234	0.255	0.273	0.237	0.297	0.231	0.223
[23]	0.263	0.253	0.264	0.236	0.239	0.257	0.259	0.228	0.230	0.241	0.246	0.316	0.263	0.223
[24]	0.244	0.264	0.243	0.258	0.254	0.264	0.264	0.246	0.252	0.252	0.264	0.335	0.27	0.368
[25]	0.315	0.290	0.315	0.287	0.208	0.220	0.223	0.209	0.223	0.333	0.28	0.394	0.299	0.382
[26]	0.257	0.254	0.258	0.239	0.272	0.291	0.292	0.237	0.254	0.242	0.211	0.260	0.186	0.222
[27]	0.209	0.196	0.208	0.212	0.217	0.218	0.218	0.201	0.222	0.249	0.256	0.316	0.225	0.164
[28]	0.255	0.254	0.256	0.254	0.234	0.265	0.267	0.215	0.219	0.269	0.197	0.272	0.188	0.235
[29]	0.269	0.285	0.268	0.267	0.286	0.286	0.294	0.293	0.259	0.293	0.279	0.26	0.31	0.349
[30]	0.238	0.241	0.236	0.276	0.255	0.258	0.257	0.214	0.235	0.247	0.146	0.255	0.193	0.207

Lampiran 1. Lanjutan
Appendix 1. Continued

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
0.029	0.033	0.036	0.032	0.043	0.033	0.037	0.039	0.035	0.046	0.038	0.030	0.037	0.040	0.035
0.026	0.033	0.038	0.028	0.041	0.035	0.038	0.037	0.039	0.042	0.035	0.028	0.037	0.041	0.035
0.028	0.033	0.036	0.032	0.043	0.033	0.037	0.039	0.035	0.046	0.038	0.030	0.037	0.041	0.035
0.032	0.033	0.033	0.033	0.042	0.040	0.036	0.038	0.039	0.042	0.037	0.034	0.038	0.042	0.036
0.029	0.032	0.037	0.028	0.043	0.035	0.037	0.035	0.039	0.042	0.034	0.031	0.038	0.039	0.041
0.029	0.033	0.038	0.020	0.040	0.036	0.039	0.035	0.036	0.030	0.039	0.031	0.035	0.042	0.036
0.032	0.034	0.035	0.023	0.042	0.037	0.035	0.039	0.038	0.032	0.044	0.033	0.040	0.044	0.039
0.031	0.034	0.035	0.023	0.042	0.038	0.035	0.039	0.038	0.033	0.044	0.033	0.041	0.044	0.039
0.027	0.028	0.032	0.018	0.037	0.031	0.033	0.033	0.035	0.030	0.034	0.028	0.031	0.038	0.031
0.032	0.033	0.036	0.018	0.040	0.034	0.037	0.034	0.037	0.033	0.037	0.032	0.032	0.044	0.035
0.036	0.041	0.037	0.037	0.046	0.037	0.039	0.036	0.037	0.051	0.035	0.037	0.040	0.041	0.037
0.038	0.033	0.033	0.035	0.042	0.029	0.034	0.036	0.038	0.043	0.031	0.039	0.029	0.038	0.022
0.044	0.050	0.041	0.043	0.049	0.040	0.043	0.048	0.051	0.066	0.038	0.047	0.040	0.045	0.039
0.031	0.035	0.032	0.034	0.043	0.027	0.034	0.038	0.039	0.045	0.028	0.032	0.028	0.037	0.028
0.024	0.027	0.031	0.028	0.040	0.029	0.032	0.033	0.038	0.042	0.032	0.024	0.035	0.039	0.030
	0.032	0.038	0.029	0.040	0.033	0.038	0.037	0.041	0.042	0.033	0.004	0.036	0.044	0.033
0.212		0.036	0.032	0.045	0.036	0.037	0.042	0.040	0.044	0.040	0.034	0.037	0.042	0.032
0.255	0.234		0.034	0.043	0.034	0.005	0.039	0.038	0.049	0.035	0.039	0.037	0.038	0.036
0.191	0.218	0.233		0.034	0.034	0.033	0.033	0.037	0.031	0.037	0.030	0.033	0.041	0.034
0.276	0.305	0.298	0.222		0.044	0.042	0.042	0.044	0.056	0.046	0.043	0.046	0.046	0.044
0.231	0.234	0.232	0.227	0.298		0.035	0.035	0.040	0.049	0.026	0.035	0.028	0.038	0.022
0.259	0.248	0.027	0.233	0.300	0.241		0.040	0.039	0.049	0.036	0.039	0.038	0.039	0.038
0.240	0.281	0.26	0.219	0.287	0.242	0.271		0.032	0.044	0.036	0.038	0.036	0.038	0.033
0.279	0.275	0.267	0.254	0.304	0.276	0.276	0.223		0.053	0.036	0.042	0.034	0.041	0.037
0.282	0.295	0.313	0.208	0.352	0.312	0.317	0.296	0.347		0.052	0.043	0.049	0.060	0.048
0.235	0.263	0.241	0.257	0.317	0.181	0.249	0.255	0.256	0.343		0.035	0.030	0.036	0.027
0.011	0.226	0.264	0.203	0.289	0.241	0.267	0.252	0.285	0.29	0.242		0.038	0.046	0.035
0.248	0.246	0.247	0.225	0.311	0.186	0.262	0.246	0.239	0.313	0.206	0.260		0.039	0.027
0.264	0.289	0.275	0.258	0.320	0.257	0.271	0.264	0.281	0.379	0.247	0.304	0.262		0.035
0.226	0.220	0.246	0.229	0.303	0.145	0.261	0.230	0.255	0.307	0.183	0.240	0.187	0.240	