

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

## DNA BARCODING IKAN HIAS INTRODUKSI

Melta Rini Fahmi, Ruby Vidia Kusumah, Idil Ardi, Shofihar Sinansari, dan Eni Kusrini

Balai Riset Budidaya Ikan Hias

(Naskah diterima: 1 Maret 2017; Revisi final: 20 Maret 2017; Disetujui publikasi: 3 April 2017)

### ABSTRAK

Identifikasi spesies menjadi tantangan dalam pengelolaan ikan hias introduksi baik untuk tujuan budidaya maupun konservasi. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi molekuler ikan hias introduksi yang beredar di pembudidaya dan pasar ikan hias Indonesia dengan menggunakan *barcode* DNA gen COI. Sampel ikan diperoleh dari pembudidaya dan importir ikan hias di kawasan Bandung dan Jakarta. Total DNA diekstraksi dari jaringan sirip ekor dengan menggunakan metode kolom. Amplifikasi gen target dilakukan dengan menggunakan primer FishF1, FishF2, FishR1, dan FishR2. Hasil pembacaan untai DNA disejajarkan dengan sekuen yang terdapat pada genbank melalui program BLAST. Identifikasi dilakukan melalui kekerabatan pohon filogenetik dan presentasi indeks kesamaan dengan sekuen genbank. Hasil identifikasi menunjukkan sampel yang diuji terbagi menjadi lima grup, yaitu: *Synodontis* terdiri atas lima spesies, *Corydoras*: empat spesies, *Pseudoplatystoma*: tiga spesies, *Botia*: tiga spesies, dan *Leporinus*: tiga spesies dengan nilai bootstrap 99-100. Indeks kesamaan sekuen menunjukkan sebanyak 11 spesies memiliki indeks kesamaan 99%-100% dengan data genbank yaitu *Synodontis decorus*, *Synodontis eupterus*, *Synodontis greshoffi*, *Botia kubotai*, *Botia lohachata*, *Rasbora erythromicron*, *Corydoras aeneus*, *Gyrinocheilus aymonieri*, *Eigenmannia virescens*, *Leporinus affinis*, *Phractocephalus hemiliopterus*. Dua spesies teridentifikasi sebagai hasil hibridisasi (kawin silang) yaitu Leopard catfish (100% identik dengan *Pseudoplatystoma faciatum*) dan *Synodontis leopard* (100% identik dengan *Synodontis notatus*). Hasil analisis nukleotida pencari diperoleh tujuh nukleotida untuk *Synodontis decora*, 10 nukleotida untuk *Synodontis tanganyicae*, 13 nukleotida untuk *Synodontis euterus*, empat nukleotida untuk *Synodontis notatus*, dan 14 untuk *Synodontis greshoffi*. Kejelasan identifikasi spesies ikan menjadi kunci utama dalam budidaya, perdagangan, manajemen, konservasi, dan pengembangan ilmu pengetahuan.

**KATA KUNCI:** ikan introduksi; DNA *barcoding*; BLAST; *invasive alien species* (IAS)

**ABSTRACT:** *DNA barcoding of exotic ornamental fish. By: Melta Rini Fahmi, Ruby Vidia Kusumah, Shofihar Sinansari, and Eni Kusrini*

*Species identification becomes a new challenge in the management of ornamental fish either for cultivation, or for conservation proposes. The objective of this study was to identify currently existing introduced ornamental fish in Indonesian farmers and markets using DNA barcodes COI gene. Fish samples were collected from farmers and importers of ornamental fish in Bandung and Jakarta. Total genome was extracted from caudal fin tissue using the column method. Amplification of the target gene was done by using FishF1, FishF2, FishR1, and FishR2 primers. DNA sequence was aligned with the sequences from genbank by BLAST program. Species identification was decided through the phylogenetic tree and similarity index with genbank sequences. The results showed that all of tested samples fall into five groups; **Synodontis** consisted of five species, **Corydoras** four species, **Pseudoplatystoma** four species, **Botia** three species, and **Leporinus** three species with 99-100 bootstrap value. Sequence similarity index showed around 11 species have 99%-100% similarity index with sequence data on genbank which are **Synodontis decorus**, **Synodontis eupterus**, **Synodontis greshoffi**, **Botia kubotai**, **Botia lohachata**, **Rasbora erythromicron**, **Corydoras aeneus**, **Gyrinocheilus aymonieri**, **Eigenmannia virescens**, **Leporinus affinis**, **Phractocephalus hemiliopterus**. Two species were identified as hybridization product (interbreeding) including leopard catfish (100% identical with **Pseudoplatystoma faciatum**)*

---

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

and the leopard *Synodontis* (100% identical with *Synodontis notatus*). Analysis of nucleotide diagnostic showed *Synodontis decora* has seven nucleotides diagnostic, *Synodontis tanganyicae* 10 nucleotides, *Synodontis euterus* 13 nucleotides, *Synodontis notatus* four nucleotides, and *Synodontis grashoffi* 14 nucleotides. The correct identification of fish species is a useful tool for aquaculture, global marketing, management or conservation, and academic/scientific purpose.

**KEYWORDS:** introduction fish; DNA barcoding; BLAST; invasive alien species (IAS)

## PENDAHULUAN

Industri ikan hias merupakan sektor usaha yang melakukan perdagangan dan transportasi ikan hidup antarnegara di seluruh dunia, sehingga industri ini diduga sebagai pintu penyebaran berbagai jenis ikan dari suatu negara ke negara lain. Ikan yang masuk ke suatu wilayah yang bukan habitat aslinya sebagai akibat dari aktivitas manusia dikenal dengan istilah ikan introduksi atau beberapa istilah yang digunakan seperti *introduced*, *alien*, *exotic*, *non-indigenous*, atau *non-native species* (Kumar, 2000). Tidak terkecuali di Indonesia, produksi ikan hias nasional juga diperoleh dari budidaya ikan introduksi selain ikan-ikan asli perairan Indonesia (*endogenous species*) yang diperoleh dari hasil tangkapan di alam. Bahkan produksi budidaya ikan hias nasional didominasi oleh ikan-ikan hias introduksi tersebut. Introduksi dan penyebaran ikan-ikan *alien species* ke dalam suatu wilayah dianggap menjadi salah satu penyebab utama ancaman keragaman ikan di alam (Lee, 2002; Semmens *et al.*, 2004; Dudgeon *et al.*, 2006) terutama ikan-ikan yang mendiami perairan tawar seperti ekosistem danau (Canónico *et al.*, 2005). Lalu lintas perdagangan ikan hias dianggap menjadi salah satu pintu masuknya ikan *exotic* tersebut ke suatu perairan atau wilayah. Negara Australia menyatakan selama 20-30 tahun terakhir seiring dengan meningkatnya perdagangan ikan hias maka kehadiran ikan introduksi juga mengalami peningkatan. Dari 40 spesies ikan introduksi yang ditemukan di perairan Australia 30 spesies di antaranya merupakan ikan yang masuk melalui pintu perdagangan ikan hias (Lintermans, 2004; Koehn & Mackenzie, 2004).

Selain pengaruh dan ancaman ikan introduksi terhadap keragaman sumber daya hayati (biodiversitas), keberadaan ikan introduksi ini juga memberikan nilai ekonomis yang cukup signifikan dalam meningkatkan pendapatan pembudidaya ikan hias di Indonesia. Sekitar 80% produksi budidaya ikan hias nasional berasal dari budidaya ikan hias introduksi (Satyani & Subamia, 2014). Oleh karenanya pengaturan, peredaran, dan pengelolaan sumber daya ikan hias introduksi ini sering menjadi bagian diskusi dan perdebatan antara pembudidaya ikan maupun pemerhati lingkungan (*ecologist*). Dhar & Ghosh (2015) menjelaskan beberapa kendala dan tantangan dalam pengelolaan sumber daya ikan hias di antaranya sistem

perdagangan ikan hias belum mampu membedakan asal usul ikan yang diperdagangkan apakah berasal dari hasil tangkapan alam atau hasil budidaya, tingginya angka *inbreeding* yang memengaruhi kualitas ikan, tingginya angka hibridisasi sehingga spesies asli semakin sulit ditemukan, nomenklatur ikan yang diperdagangkan umumnya masih mengacu pada nama dagang (*common name*), sehingga kelompok-kelompok ikan yang memiliki kesamaan karakter cenderung diklasifikasikan sebagai hewan satu jenis dan tantangan terakhir yaitu lalu lintas perdagangan ikan hias introduksi yang berdampak pada fenomena invasif (*alien species*).

Organisasi ikan hias dunia, *Ornamental Fish International* (OFI) merilis sebanyak 5.325 spesies ikan hias telah diperdagangkan di dunia. Umumnya ikan hias tersebut dikoleksi oleh penghobi dari alam dan selanjutnya diperdagangkan sebagai ikan hias dengan menggunakan nama dagang (*common name*). Kondisi ini terjadi karena pemberian nama ilmiah suatu spesies membutuhkan waktu yang cukup lama, serta lembaga dan personal yang memiliki kompetensi untuk melakukan identifikasi taksonomi ikan sangat terbatas. Situasi tersebut yang melatarbelakangi OFI mempublikasi standar nama dagang (*common names*) ikan hias di seluruh dunia (Hensen *et al.*, 2010).

Kejelasan identifikasi spesies merupakan masalah utama dalam pengelolaan sumber daya ikan, baik ikan introduksi maupun endemik. Frankham *et al.* (2002) menyebutkan kejelasan taksonomi dan adaptasi ikan merupakan tahap awal konservasi biologi. Dengan ditemukannya teknik perbanyakan untai DNA melalui PCR (*Polymerase Chain Reaction*), maka ilmu biologi mengalami evolusi menjadi biologi molekuler, termasuk untuk identifikasi spesies. Taylor & Harrist (2012) menyebutkan bahwa identifikasi taksonomi, serta penentuan batasan spesies dapat dilakukan melalui *barcoding* gen tunggal atau lokus DNA. Lebih lanjut Hebert *et al.* (2003) menjelaskan bahwa gen *cytochrome oxidase* (COI) dapat berfungsi sebagai *barcode* genetik untuk semua makhluk hidup. Peran *barcode* DNA sebagai alat (*tool*) identifikasi telah memberikan kontribusi banyak pada identifikasi ikan karena dapat diaplikasikan pada semua stadia makhluk hidup dari telur hingga dewasa (Rasmussen *et al.*, 2009).

Penggunaan *barcode* DNA dalam identifikasi ikan hias introduksi telah dilakukan pertama kali oleh Collins *et al.* (2012), yaitu terhadap 172 spesies Cyprinid. Ikan hias yang berasal dari famili Cyprinid umumnya adalah jenis-jenis ikan hias yang digemari oleh masyarakat dan beredar sangat luas di pasar ikan hias internasional, seperti jenis danio, rasbora, barb, puntius, dan lain-lain. Sebagian ikan-ikan tersebut sulit diidentifikasi dengan menggunakan karakter morfologi karena fenomena *cryptic spesies*, sehingga identifikasi ikan tersebut sulit dilakukan (Collins *et al.*, 2012). Di Indonesia beberapa ikan hias introduksi telah banyak dikembangkan seperti jenis Synodontis, Corydoras, Tiger Catfish, dan lain-lain bahkan sebagian di antaranya ditemukan dengan status hibrida. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi molekuler ikan hias introduksi yang beredar di pembudidaya dan pasar ikan hias Indonesia dengan menggunakan *barcode* DNA gen COI. Data yang diperoleh sangat berguna dalam pengelolaan dan manajemen ikan introduksi di perairan Indonesia.

## BAHAN DAN METODE

### Koleksi Sampel

Sampel ikan yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari pembudidaya dan importir ikan hias di kawasan Bandung dan Jakarta dengan kriteria pembenihan ikan dilakukan secara kawin suntik (*induced breeding*). Sampel ikan dibawa ke Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias (BPPBIH) Depok, selanjutnya dilakukan dokumentasi dan pengambilan sampel DNA. Sampel DNA diambil dari sirip anal dan disimpan dalam alkohol 96% hingga kegiatan molekuler dilakukan. Identifikasi ikan dengan menggunakan karakter morfologi dilakukan sesuai dengan kunci identifikasi Nelson (2006) dan publikasi ilmiah terkait, sedangkan informasi asal ikan diperoleh dari situs [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org).

### 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  $1 \times$  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 *PCR*. Primer yang digunakan adalah FishF1: 5'-TCA-ACC-AAC-CAC-AAA-GAC-ATT-GGC-AC-3' dan FishF2: 5'-TCG-ACT-AAT-CAT-AAA-GAT-ATC-GGC-AC-3' untuk *forward*, dan FishR1: 5'-TAG-ACT-TCT-GGG-TGG-CCA-AAG-AAT-CA-3'

dan FishR2: 5'-AC-TCA-GGG-TGA-CCG-AAG-AAT-CAG-AA-3' untuk *reverse* dengan target produk PCR masing-masing sepanjang 707 pb dan 650 bp (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) sebanyak 35 siklus. Runutan nukleotida hasil PCR selanjutnya dibaca dengan menggunakan *Applied Biosystems* melalui *Macrogen Korea*.

### Analisis Data

Hasil runutan nukleotida gen COI disesuaikan dengan database atau *library* yang tersimpan dalam genbank yaitu *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) melalui program BLAST, untuk mendapatkan persentase kesamaan dengan *data base*. Sisi homolog runutan nukleotida gen COI DNA mitokondria dari spesies yang diperoleh dan hasil penelusuran melalui program BLAST selanjutnya disejajarkan (*multiple alligment*) dengan menggunakan *ClustalW*. Identifikasi spesimen dilakukan melalui konstruksi pohon kekerabatan dan persentase indeks kesamaan. Analisis penanda genetik, keragaman genetik, jarak genetik dari runutan nukleotida gen parsial COI DNA mitokondria dilakukan menggunakan program MEGA versi 5 (Tamura *et al.*, 2011).

## HASIL DAN BAHASAN

### Koleksi

Hasil survai dan koleksi sampel menunjukkan bahwa ikan hias introduksi saat ini merupakan komoditas yang banyak dan umum dibudidayakan seperti kelompok Characiformes, Cypriniformes, Siluriformes, dan Perciformes (Tabel 1). Kurang lebih 500 spesies ikan introduksi telah dikembangkan dan beredar di wilayah Indonesia (data eksportir *unpublish*). Namun pada penelitian ini sampel yang diambil lebih difokuskan pada beberapa kriteria di antaranya adalah ikan-ikan yang pemijahannya dilakukan dengan menggunakan metode kawin suntik.

Dari Tabel 1 terlihat ikan dari kelompok Characiformes, Siluriformes, dan Perciformes umumnya berasal dari Amerika Selatan dan Afrika, sedangkan jenis Cypriniformes berasal dari perairan Sungai Mekong dan India. Mengacu pada data yang dirilis oleh *Global Invasive Species Database* (<http://www.iucngisd.org/gisd/>) sebanyak 21 spesies dari kelompok Perciformes, sembilan spesies dari kelompok Siluriformes, dan 12 spesies dari kelompok Cypriniformes terdata sebagai spesies yang memiliki

Tabel 1. Daftar ikan koleksi yang digunakan pada penelitian ini

Table 1. List of fish collection used in this study

<b>Ordo Order</b>	<b>Famili Family</b>	<b>Nama ilmiah Scientific name</b>	<b>Nama dagang Common name</b>	<b>Negara asal Origin</b>
Characiformes	Anostomidae	<i>Abramites hypselonotus</i>	Marbled headstander	Sungai Amazon, Amerika Selatan <i>Amazon River, South America</i>
Characiformes	Anostomidae	<i>Leporinus affinis</i>	Black-banded leporinus	Sungai Amazon, Amerika Selatan <i>Amazon River, South America</i>
Characiformes	Anostomidae	<i>Leporinus striatus</i>	Striped leporinus	Sungai Amazon, Amerika Selatan <i>Amazon River, South America</i>
Characiformes	Characidae	<i>Paracheirodon axelrodi</i>	Cardinal tetra	Sungai Negro, Amerika Selatan <i>Negro River, South America</i>
Cypriniformes	Cobitidae	<i>Ambastaia sidthimunki</i>	Dwarf botia	Sungai Mekong <i>Mekong River</i>
Cypriniformes	Cobitidae	<i>Botia kubotai</i>	Polka-dot loach	Myanmar
Cypriniformes	Cobitidae	<i>Botia lohachata</i>	Reticulate loach	Myanmar
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Danio margaritatus</i>	Galaxy rasbora	India, Myanmar
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Danio erythromicron</i>	Emerald Dwarf Rasbora	Myanmar
Cypriniformes	Cyprinidae	<i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	Siamese algae-eater	Sungai Mekong <i>Mekong River</i>
Gymnotiformes	Sternopygidae	<i>Eigenmannia virescens</i>	Glass knifefish	Amerika Selatan <i>South America</i>
Perciformes	Cichlidae	<i>Cyphotilapia frontosa</i>	Humphead Cichlid	Afrika (Africa)
Perciformes	Cichlidae	<i>Pterophyllum altum</i>	Altum angelfish	Sungai Amazon, Amerika Selatan <i>Amazon River, South America</i>
Perciformes	Cichlidae	<i>Tropheus moorii</i>	Blunthead cichlid	Afrika, endemik Danau Tanganyika <i>Africa, Lake Tanganyika endemic</i>
Siluriformes	Mochokidae	<i>Synodontis leopard</i>	-	<i>Cross breeding</i>
Siluriformes	Mochokidae	<i>Synodontis grashoffi</i>	-	Danau Tanganyika, Afrika <i>Lake Tanganyika, Africa</i>
Siluriformes	Pimelodidae	<i>P. fasciatum</i> x <i>P. hemiliopterus</i>	Leopard	Sungai Amazon, Amerika Selatan <i>Amazon River, South America</i>
Siluriformes	Pimelodidae	<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	Redtail catfish	Sungai Amazon, Amerika Selatan <i>Amazon River, South America</i>

Tabel 1. Lanjutan

Table 1. Continued

Ordo Order	Famili Family	Nama ilmiah Scientific name	Nama dagang Common name	Negara asal Origin
Siluriformes	Pimelodidae	<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	Barred sorubim	Sungai Amazon, Amerika Selatan Amazon River, South America
Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras matae</i>	Masked corydoras	Amerika Selatan South America
Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras rabauti</i>	Rust corydoras	Amerika Selatan South America
Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras simulatus</i>	Olga cory	Amerika Selatan South America
Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras</i> sp.		Amerika Selatan South America
Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras weitzmani</i>	Twosaddle corydoras	Amerika Selatan South America
Siluriformes	Mochokidae	<i>Synodontis petricola</i>	Pygme leopard catfish	Danau Tanganyika, Afrika Lake Tanganyika, Africa
Siluriformes	Mochokidae	<i>Synodontis euterus</i>	Featherfin synodontis	Danau Tanganyika, Afrika Lake Tanganyika, Africa

potensi sebagai *invasive alien species*. Namun dari 26 spesies yang mewakili ordo Perciformes, Siluriformes, dan Cypriniformes hasil koleksi pada penelitian ini, tidak ada dilaporkan sebagai spesies yang bersifat menginfeksi lingkungan atau *invasive alien species*.

Dari 5.325 spesies ikan hias air tawar telah diperdagangkan secara internasional (Hensen *et al.*, 2010) diduga keberadaannya menjadi faktor utama dalam penyebaran ikan introduksi dari satu lokasi ke lokasi lainnya bahkan sebagian dari ikan-ikan tersebut telah tercatat sebagai *invasive alien species* (Corfield *et al.*, 2008). Hampir sama dengan negara Australia, di Indonesia ikan-ikan dari Famili Poeciliidae dan Cichlidae mendominasi komposisi ikan hias introduksi yang diproduksi dan diperdagangkan. Arthington (1991) menyebutkan kedua famili tersebut bersifat eurytermic yaitu ikan yang mampu hidup pada rentang suhu yang lebih besar. Faktor suhu diduga sebagai kunci utama kesuksesan ikan introduksi beradaptasi dengan lingkungan baru (Arthington, 1991).

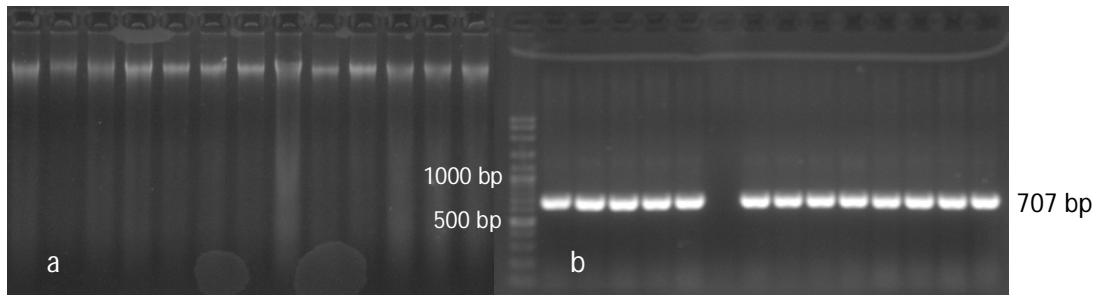
#### DNA Barcoding

Sebanyak 73 sampel DNA ikan hias introduksi yang mewakili 23 spesies dari 26 spesies hasil koleksi berhasil diekstraksi dan diamplifikasi dengan menggunakan *barcode* DNA primer FishF1 dan FishF2 (Gambar 1). Kemurnian hasil ekstraksi DNA ditunjukkan

dengan adanya pita (*band*) genom di atas marker dengan nilai *absorbance* berkisar antara 1.046 hingga 2.450, dan konsentrasi DNA berkisar antara 148-315 ng/ $\mu$ L.

Hasil pembacaan dan pencocokan runutan DNA *barcoding* dengan database genbank NCBI disajikan pada Lampiran 1. Hasil pencocokan tersebut selanjutnya dikonfirmasi dengan situs [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org) atau [www.itis.gov](http://www.itis.gov), untuk menentukan nama spesiesnya. Mengacu hasil pencocokan sekuen pada Tabel Lampiran terdapat 12 spesies yang memiliki kesamaan nama ilmiah dengan database genbank NCBI yaitu; *Synodontis decorus* dengan nilai kesamaan sekuen sebesar 99%, *Synodontis eupterus* (99%), *Synodontis greshoffi* (99%), *Botia kubotai* (100%), *Botia lohachata* (99%), *Rasbora erythromicron* (99%), *Corydoras aeneus* (93%), *Gyrinocheilus aymonieri* (99%), *Eigenmannia virescens* (95%), *Leporinus affinis* (98%), *Phractocephalus hemiliopterus* (98%).

Di samping itu, terdapat lima spesies yang memiliki perbedaan nama antara database NCBI dan nama ilmiah yang digunakan pada penelitian ini, namun tingkat kecocokan sekuennya berkisar antara 99%-100%. Di antaranya adalah (1) *Synodontis leopard* teridentifikasi 99% identik dengan *S. notatus*, hal ini sesuai dengan hasil wawancara dengan pembudidaya diketahui bahwa *S. leopard* merupakan hasil persilangan antara *S. notatus* dan *S. multipunctatus*; (2) *S. petricola* teridentifikasi 99% identik dengan *S. aff. tanganyicae*,



Gambar 1. Total DNA hasil ekstraksi (a) dan amplifikasi gen COI menggunakan primer FishF1 dan FishR1 dengan produk PCR sebesar 707 bp

Figure 1. Total genome (a) and amplification of COI gene (PCR products around 707 bp) using primer FishF1 and FishR1

namun data yang terdapat pada *Fishbase* menunjukkan kedua nama spesies tersebut tidak termasuk sinonim tapi dua spesies yang berbeda; (3) *Botia sidthimunki* teridentifikasi sebesar 99% identik dengan *Ambastaia sidthimunki*. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelusuran *Fishbase* yang menunjukkan kedua nama spesies tersebut adalah *synonym*; (4) *Pseudoplatystoma faciutum* teridentifikasi sebesar 100% identik dengan *Pseudoplatystoma corruscans*, penelusuran *Fishbase* menunjukkan kedua nama spesies tersebut bukan *synonym*; (5) *Rasbora galaxy* teridentifikasi sebesar 99% identik dengan *Danio margaritatus*, hasil penelusuran data *Fishbase* juga menunjukkan kedua nama spesies tersebut bukan *synonym*.

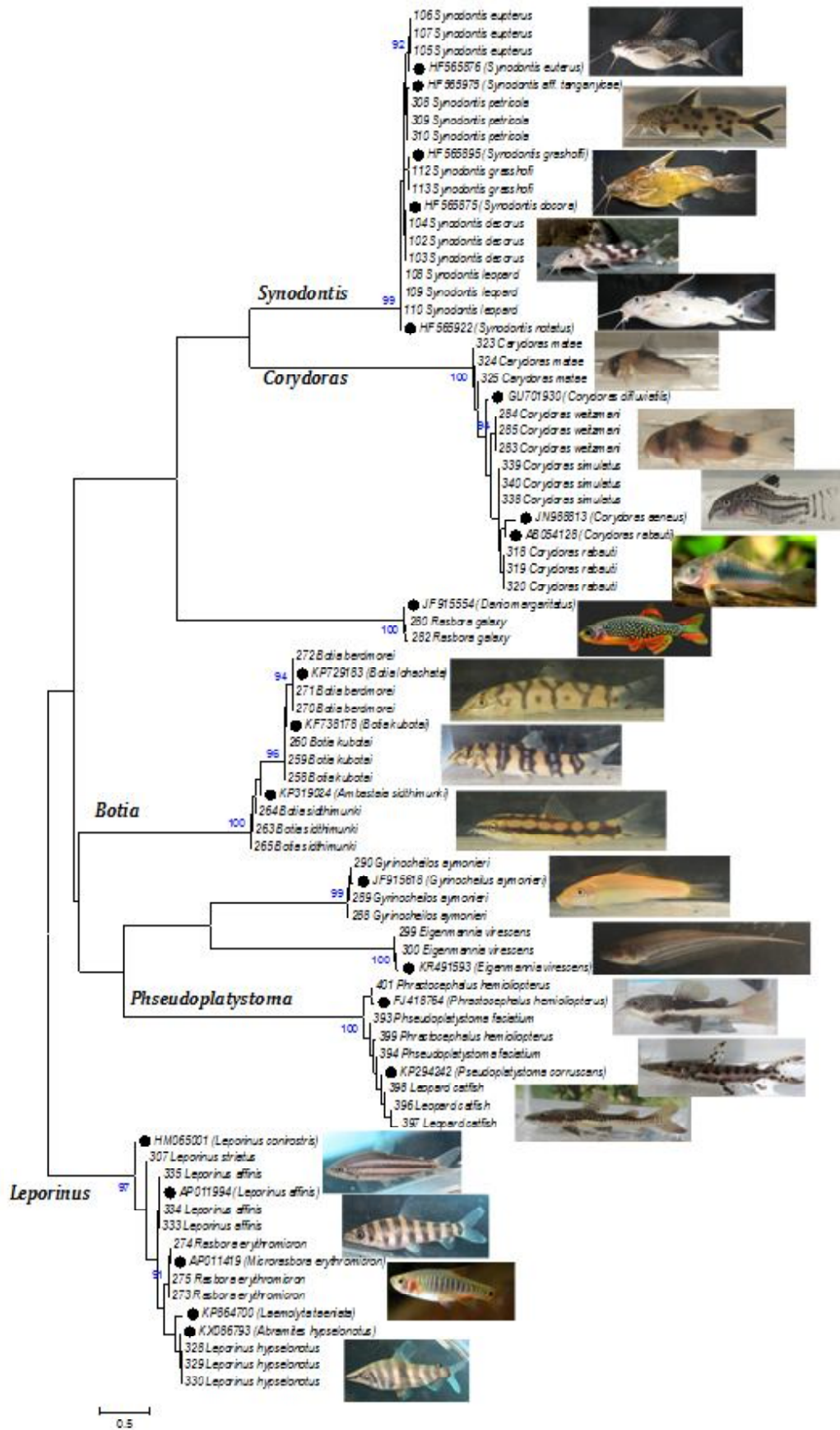
Hasil pencocokan juga memperlihatkan empat spesies lainnya hanya memiliki tingkat kesamaan yang cukup rendah dengan sekuen yang terdapat pada *database* NCBI yaitu *Corydoras weitzmani*, *Corydoras matae*, *Leporinus striatus*, dan *Leporinus hypselonotus*. Hal ini menunjukkan bahwa sekuen DNA *barcoding* keempat spesies tersebut belum cocok dengan sekuen yang tersimpan dalam *database* NCBI. Pemberian nama spesies telah menjadi permasalahan para ahli taksonomi dari tahun ke tahun. Berbagai metode identifikasipun dikembangkan untuk validasi nama spesies seperti identifikasi spesies dengan menggunakan foto digital (*image*) melalui *Image Recognition System* (IRS) dan *Integrated Photo-based Online Fish-Identification System* (IPOFIS), identifikasi dengan menggunakan karakter genetik melalui *Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) dan DNA *barcoding* (Fischer, 2013).

Penentuan nama spesies ikan hias sering dihadapkan pada berbagai kendala di antaranya adalah pertama; laju pemberian nama dagang ikan hias jauh lebih cepat dibandingkan dengan nama ilmiah oleh ahli taksonomi (Hensen *et al.*, 2010). Kedua; adanya perdebatan definisi spesies baik dari konsep biologi

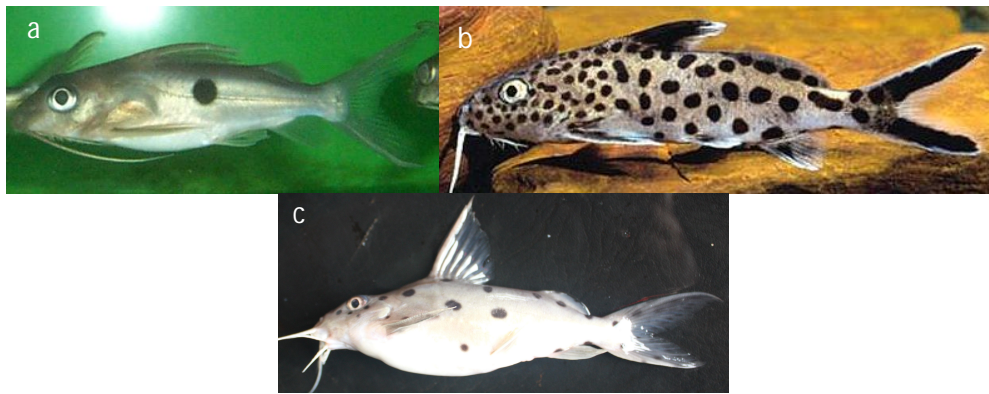
konvensional, biologi molekuler maupun evolusi hingga saat ini (Frankham, 2002). Ketiga adalah adanya fenomena kawin silang (*cross breeding*), rekayasa genetik, proses seleksi (*selective breeding*) yang berdampak pada perubahan karakter-karakter morfologi, sehingga menyulitkan identifikasi secara morfologi. Keempat adalah metode identifikasi yang terus berkembang mulai dari penggunaan karakter morfologi, *photograph (image) recognition process* hingga penggunaan karakter genetik (*molecular identification*), sehingga beberapa jenis ikan secara genetik memiliki urutan sekuen yang berbeda dengan tetuanya dan dikelompokkan sebagai ikan jenis baru, namun sebagian ahli taksonomi belum menyepakati terbentuknya spesies-spesies baru tersebut (Fischer, 2013).

Konstruksi pohon kekerabatan untuk semua hewan uji disajikan pada Gambar 2. Secara umum semua kluster spesies menunjukkan kekerabatan yang sangat tinggi antara sekuen hewan uji dan *database* NCBI, hal ini ditandai dengan nilai *bootstrap* di atas 90. Demikian juga kluster genus yang mengelompok dalam satu cabang pohon kekerabatan dengan nilai *bootstrap* 99-100, seperti *Synodontis* yang terdiri atas lima spesies, *Corydoras* empat spesies, *Pseudoplatystoma* tiga spesies, *Botia* tiga spesies, dan *Leporinus* tiga spesies. *S. leopard* memiliki kekerabatan sangat dekat dengan *S. notatus*, hal ini mendukung informasi yang diberikan oleh pembudidaya bahwa *S. leopard* merupakan hasil kawin silang antara *S. multipunctatus* dan *S. notatus* (Gambar 3).

Kawin silang (*cross breeding*) tidak hanya ditemukan pada genus *Synodontis*, tapi juga pada genus *Pseudoplatystoma*. Hasil wawancara dengan pembudidaya menyebutkan bahwa proses kawin silang pada *Synodontis* umumnya dilakukan karena kelangkaan jumlah ikan jantan dalam satu populasi, sehingga satu jantan ikan *Synodontis* sering digunakan untuk



Gambar 2. Dendrogram gen COI ikan-ikan introduksi potensial (●) *sequence* dari genbank  
 Figure 2. Dendrogram of COI gene of introduced fish (●) *sequences* from genbank



Gambar 3. Persilangan (a) *Synodontis notatus* (<http://www.fishbase.se>) dan (b) *Synodontis multipunctatus* (<http://www.fishbase.se>) yang menghasilkan (c) *Synodontis leopard*

Figure 3. Hybridization of (a) *Synodontis notatus* (<http://www.fishbase.se>) and (b) *Synodontis multipunctatus* (<http://www.fishbase.se>) that produce (c) *Synodontis leopard*

membuahi telur *Synodontis* dari jenis lainnya. Kawin silang pada genus *Pseudoplatystoma* lebih ditujukan untuk mendapatkan *strain* Leopard, karena *strain* ini memiliki harga yang lebih tinggi dibandingkan dengan kedua jenis indukannya.

Kendala dalam mengidentifikasi ikan-ikan hasil hibridisasi pada ikan hias juga disampaikan oleh peneliti lain seperti Kumar (2000). Pada penelitian ini terlihat DNA barcoding mampu mengidentifikasi ikan hasil hibridisasi berdasarkan indeks kesamaan (*index similarity*) dengan sekuen yang tersimpan dalam genbank melalui program BLAST. Tentu kemampuan DNA *barcoding* dalam mengidentifikasi spesies sangat tergantung pada jumlah data yang tersimpan dalam *library genbank* (Fahmi *et al.*, 2016). Penggunaan DNA *barcoding* saat ini telah menjadi solusi pada identifikasi ikan, terutama sampel-sampel yang tidak bisa diidentifikasi secara morfologi seperti ikan pada saat fase larva, potongan bagian badan ikan yang tidak utuh, ikan-ikan yang memiliki kesamaan morfologi namun secara genetik merupakan spesies yang berbeda (*cryptic species*) dan ikan-ikan hasil hibridisasi (Leonart *et al.*, 2006).

Mengacu pada keragaman antar dan inter grup yang dihitung berdasarkan *Maximum Composite Likelihood*, maka nilai keragaman genetik intra-grup adalah 0,089% dan antar-grup 5,277%. Hal ini menunjukkan bahwa keragaman intra-grup sangat rendah atau kurang dari 2%. Nilai keragaman yang lebih dari 2%, menunjukkan bahwa terdapat spesies yang berbeda dengan anggota grup lainnya, sebaliknya nilai keragaman yang kurang dari 3% menunjukkan grup atau klaster berasal dari spesies yang sama (Ribeiro *et al.*, 2012).

### Nukleotida Penciri

Analisis nukleotida penciri (*nucleotide diagnostic*) merupakan tahap awal dalam penentuan penanda molekuler (*molecular marker*) *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). Saat ini SNPs merupakan penanda molekuler yang banyak digunakan untuk identifikasi karena memiliki tingkat sensitivitas dan akurasi yang sangat tinggi untuk masing-masing spesies karena didasarkan apada mutasi single nukleotida (Kalinowski *et al.*, 2010; Eugene *et al.*, 2009). Analisis nukleotida penciri pada penelitian ini dilakukan terhadap genus *Synodontis*. Hasil analisis nukleotida penciri lima spesies *Synodontis* disajikan pada Tabel 2. *Synodontis decora* memiliki tujuh nukleotida penciri, *Synodontis tanganyicae* 10 nukleotida, *SyEnodontis euterus* 13 nukleotida, *Synodontis notatus* memiliki empat nukleotida, dan *Synodontis grasshoffi* memiliki 14 nukleotida penciri. Keberadaan nukleotida penciri merupakan prasyarat dalam identifikasi spesies dengan menggunakan metode DNA *barcoding* (Ward *et al.*, 2005).

*Synodontis* merupakan kelompok ikan hias catfish yang banyak diminati di pasar ikan hias internasional, sekitar 131 spesies genus *Synodontis* telah teridentifikasi ([www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)), 68 spesies di antaranya diperdagangkan sebagai ikan hias menurut data OFI (Hensen *et al.*, 2010). Mengacu hasil wawancara dengan pembudidaya ikan hias, saat ini kurang lebih 16 spesies genus *Synodontis* telah dibudidayakan di Indonesia dan menghasilkan beberapa varietas hibrida. Mengacu pada informasi yang diperoleh dari pembudidaya bahwa *Synodontis Leopard* memiliki tingkat agresifitas lebih tinggi dibandingkan



Tabel 2. Nukleotida penciri untuk lima spesies *Synodontis*

Table 2. Nucleotide diagnostic of five species of *Synodontis*

Spesies Species	Nukleotida ke- (Nucleotide)																
	58	319	475	478	529	646	673	235	238	244	274	286	457	511	523	538	586
<i>Synodontis decora</i>	C	C	C	C	G	G	C	A	A	C	C	T	C	A	C	A	C
<i>Synodontis aff. tanganyicae</i>	T	T	T	T	A	A	T	G	C	T	T	C	T	C	T	G	G
<i>Synodontis euptera</i>	T	T	T	T	A	A	T	A	A	C	C	T	C	A	C	A	C
<i>Synodontis notatus/leopard</i>	T	T	T	T	A	A	T	A	A	C	C	T	C	A	C	A	C
<i>Synodontis greshoffi</i>	T	T	T	T	A	A	T	A	A	C	C	T	C	A	C	A	C

	Nukleotida ke- (Nucleotide)																
	100	218	379	421	427	517	541	547	551	575	601	619	661	76	226	346	508
<i>Synodontis decora</i>	A	A	C	C	C	T	C	C	T	T	A	T	C	G	A	A	C
<i>Synodontis aff. tanganyicae</i>	A	A	C	C	C	T	C	C	T	T	A	T	C	G	A	A	C
<i>Synodontis euptera</i>	G	G	G	A	G	C	T	A	C	C	G	C	A	G	A	A	C
<i>Synodontis notatus/leopard</i>	A	A	C	C	C	T	C	C	T	T	A	T	C	C	G	G	T
<i>Synodontis greshoffi</i>	A	A	C	C	C	T	C	C	T	T	A	T	C	G	A	A	C

	Nukleotida ke- (Nucleotide)													
	73	88	199	250	313	466	493	505	526	544	553	561	607	652
<i>Synodontis decora</i>	C	G	G	A	C	T	C	G	A	A	A	T	T	C
<i>Synodontis aff. tanganyicae</i>	C	G	G	A	C	T	C	G	A	A	A	T	T	C
<i>Synodontis euptera</i>	C	G	G	A	C	T	C	G	A	A	A	T	T	C
<i>Synodontis notatus/leopard</i>	C	G	G	A	C	T	C	G	A	A	A	T	T	C
<i>Synodontis greshoffi</i>	T	A	A	G	T	C	T	A	G	G	G	C	C	T

Keterangan (Note): C = sitosin; G = guanin; A = adenin; T = timin (C = cytosin; G = guanine; A = adenine; T = timin)

dengan ikan *Synodontis* lainnya dan umumnya organ reproduksi ikan tersebut tidak berkembang (steril).

**KESIMPULAN**

Penggunaan DNA *barcoding* gen COI pada penelitian ini mampu membedakan 26 spesies ikan introduksi yang dikoleksi dari pembudidaya dan dua spesies di antaranya merupakan hasil persilangan yaitu dari genus *Synodontis* dan *Phseudoplatystoma*. Hasil analisis nukleotida penciri spesies anggota genus *Synodontis* diharapkan menjadi informasi awal dalam penentuan marka identifikasi dan keragaman spesies anggota genus *Synodontis*.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih disampaikan kepada Bapak Ir. Mulyadi yang telah membantu mendapatkan sampel ikan hias introduksi hasil budidaya. Dr. Nicolas Hubert atas bimbingan dalam mengakses [www. BoldSytem.org](http://www.BoldSystem.org). Penelitian ini dibiayai dari APBN melalui DIPA Balitbang budidaya ikan hias tahun 2015.

**DAFTAR ACUAN**

Arthington, A.H. (1991). Ecological and genetic impacts of introduced and translocated freshwater fishes in Australia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, 33-43.

Canonico, G.C., Arthington, A., McCray, J.K., & Thieme, M.L. (2005). The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 15, 463-483.

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.

Corfield, J., Diggles, B., Jubb, C., McDowall, R.M., & Moore, A. (2008). Review of the impacts of introduced ornamental fish species that have established wild populations in Australia. Department of the Environment, Water, Heritage and the Arts Australia Government.

- Dhar, B., & Ghosh, K. (2015). Identifying ornamental fishes of North-east India through DNA barcoding. *Science and Technology Journal*, (2)2, 43-50.
- Dudgeon, D., Arhtington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.I., Knowler, D.J., Leveque, C., Naiman, R.J., Prieur-Richards, A.H., Soto, D., Stiassny, M.L.J., & Sullivan, C.A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Review*, 81, 163-182.
- Eugene, H., Wong, K., Shivji, M.S., & Hanner, R.H. (2009). Barcoding vertebrates identifying sharks with dna barcodes: assessing the utility of a nucleotide diagnostic approach. *Molecular Ecology Resources*, 9, 243-256. doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02653.x.
- Fahmi, M.R., Prasetyo, A.B., Kusumah, R.V., Hayuningtyas, E.P., & Ardi, I. (2016). Barcoding DNA ikan hias lahan gambut. *J. Ris. Akuakultur*, 11(2), 137-145.
- Fischer, J. (2013). Fish identification tools for biodiversity and fisheries assessments: review and guidance for decision-makers. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy, 118 pp.
- Frankham, R., Ballau, J.D., & Briscoes, D.A. (2002). Introduction to conservation genetic. Cambridge University Press, 607 pp.
- 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.
- Hensen, R.R., Ploeg, A., & Fossa, S.A. (2010). Standard names for freshwater fishes in the ornamental aquatic industry. OFI educational publication 5. Ornamental Fish International. Netherlands.
- Kalinowski, S.T., Novak, B.J., Drinan, D.P., Jennings, J.D., & Vu, N.V. (2010). Molecular diagnostics and DNA taxonomy diagnostic single nucleotide polymorphisms for identifying westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*), Yellowstone cutthroat trout (*Oncorhynchus clarkii bouvieri*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Ecology Resources*, doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02932.x
- Koehn, J.D., & MacKenzie, R.F. (2004). Priority management actions for alien freshwater fish species in Australia. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 38(3), 457-472.
- Kumar, A.B. (2000) Exotic fishes and freshwater fish diversity. *Zoo's Print Journal*, 15(11), 363-367.
- Lee, C.E. (2002). Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 386-391.
- Lintermans, M.(2004). Human-assisted dispersal of alien freshwater fish in Australia. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 38, 481-501.
- Lleonart, J., Taconet, M., & Lamboeuf, M. (2006). Integrating information on marine species identification for fishery purposes. *Marine Ecology Progress Series*, 316, 231-238.
- Nelson, J.S. (2006). Fishes of the World (4<sup>th</sup> ed). New Jersey, USA: John Wiley & Sons, 624 pp.
- 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.
- Ribeiro, A.O., Caires, R.A., Mariguela, C.T., Pereira, L.H.G., Hanner, R., Oliveira, C., Garcia, L.H., Hanner, R., & Oliveira, C. (2012). DNA barcodes identify marine fishes of Sa˜o Paulo State, Brazil. *Molecular Ecology Resources*, 12, 1012-1020. doi: 10.1111/1755-0998.12007.
- Satyani, D., & Subamia, I W. (2014). Panduan pengelolaan dan standarisasi ikan hias air tawar untuk ekspor. Badan Penelitian dan Pengembangan Kelautan dan Perikanan, 78 hlm.
- Semmens, B.X., Buhle, E.R., Salomon, A.K., & Pattengill-Semmens, C.V. (2004). A hotspot of non-native marine fishes: evidence for the aquarium trade as an invasion pathway. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 266, 239-244.
- 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.*, 28(10), 2731-2739. doi: 10.1093/molbev/msr121.
- Taylor, H.R., & Harrist, W.E. (2012). An emergent science on the brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 12, 377-388.
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., & Hebert, P.D.N. (2005). DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 1462, 1847-1857.

Lampiran 1. Hasil pensejajaran sequen hasil penelitian dengan data genbank melalui program BLAST

Appendix 1. Alignment of sequence that obtained in this study and sequence from genebank data through BLAST program

<b>Nama dan kode Names and codes</b>	<b>Panjang sekuen Sequences length</b>	<b>Kode akses (Spesies) Access code (Species)</b>	<b>Persentase kecocokan Percentage similarity identity (%)</b>	
102 <i>Synodontis decorus</i>	694	HF565875.1	<i>Synodontis decora</i>	99
103 <i>Synodontis decorus</i>	714	HF565875.1	<i>Synodontis decora</i>	99
104 <i>Synodontis decorus</i>	692	HF565875.1	<i>Synodontis decora</i>	99
105 <i>Synodontis eupterus</i>	721	HF565876.1	<i>Synodontis euptera</i>	99
106 <i>Synodontis eupterus</i>	711	HF565876.1	<i>Synodontis euptera</i>	99
107 <i>Synodontis eupterus</i>	716	HF565876.1	<i>Synodontis euptera</i>	99
108 <i>Synodontis leopard</i>	705	HF565922.1	<i>Synodontis notatus</i>	98
109 <i>Synodontis leopard</i>	719	HF565922.1	<i>Synodontis notatus</i>	99
110 <i>Synodontis leopard</i>	707	HF565922.1	<i>Synodontis notatus</i>	99
112 <i>Synodontis greshoffi</i>	715	HF565895.1	<i>Synodontis greshoffi</i>	98
113 <i>Synodontis greshoffi</i>	718	HF565895.1	<i>Synodontis greshoffi</i>	99
308 <i>Synodontis petricola</i>	715	HF565975.1	<i>Synodontis aff. tanganyicae</i>	99
309 <i>Synodontis petricola</i>	710	HF565975.1	<i>Synodontis aff. tanganyicae</i>	99
310 <i>Synodontis petricola</i>	716	HF565975.1	<i>Synodontis aff. tanganyicae</i>	99
258 <i>Botia kubotai</i>	709	KF738178.1	<i>Botia kubotai</i>	100
259 <i>Botia kubotai</i>	704	KF738178.1	<i>Botia kubotai</i>	99
260 <i>Botia kubotai</i>	684	KF738178.1	<i>Botia kubotai</i>	99
263 <i>Botia sidthimunki</i>	708	KP319024.1	<i>Ambastaia sidthimunki</i>	99
264 <i>Botia sidthimunki</i>	701	KP319024.1	<i>Ambastaia sidthimunki</i>	99
265 <i>Botia sidthimunki</i>	710	KP319024.1	<i>Ambastaia sidthimunki</i>	99
270 <i>Botia lohachata</i>	722	KP729183.1	<i>Botia lohachata</i>	99
271 <i>Botia lohachata</i>	720	KP729183.1	<i>Botia lohachata</i>	99
272 <i>Botia lohachata</i>	722	KP729183.1	<i>Botia lohachata</i>	98
273 <i>Rasbora erythromicron</i>	708	AP011419.1	<i>Rasbora erythromicron</i>	98
274 <i>Rasbora erythromicron</i>	695	AP011419.1	<i>Rasbora erythromicron</i>	99
275 <i>Rasbora erythromicron</i>	711	AP011419.1	<i>Rasbora erythromicron</i>	98
283 <i>Corydoras weitzmani</i>	718	JN988817.1	<i>Corydoras flaveolus</i>	86
284 <i>Corydoras weitzmani</i>	730	JN988813.1	<i>Corydoras aeneus</i>	86
285 <i>Corydoras weitzmani</i>	719	JN988811.1	<i>Corydoras aeneus</i>	86
318 <i>Corydoras aeneus</i>	691	JN988811.1	<i>Corydoras aeneus</i>	90
319 <i>Corydoras aeneus</i>	763	AB054128.1	<i>Corydoras rabauti</i>	91
320 <i>Corydoras aeneus</i>	703	JN988811.1	<i>Corydoras aeneus</i>	91
323 <i>Corydoras matae</i>	719	GU701930.1	<i>Corydoras difluviatilis</i>	91
324 <i>Corydoras matae</i>	723	GU701930.1	<i>Corydoras difluviatilis</i>	90
325 <i>Corydoras matae</i>	728	GU701930.1	<i>Corydoras difluviatilis</i>	91
288 <i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	720	JF915618.1	<i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	99
289 <i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	713	JF915618.1	<i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	99
290 <i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	721	JF915618.1	<i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	99
299 <i>Eigenmannia virescens</i>	725	KR491593.1	<i>Eigenmannia virescens</i>	94
300 <i>Eigenmannia virescens</i>	724	KR491593.1	<i>Eigenmannia virescens</i>	95

Lampiran 1. Lanjutan  
Appendix 1. Continued

<b>Nama dan kode Names and codes</b>	<b>Panjang sekuen Sequences length</b>	<b>Kode akses (Spesies) Access code (Species)</b>	<b>Persentase kecocokan Percentage similarity identity(%)</b>
307 <i>Leporinus striatus</i>	709	HM065001.1 <i>Leporinus conirostris</i>	92
328 <i>Leporinus hypselonotus</i>	710	KP864700.1 <i>Laemolyta taeniata</i>	88
329 <i>Leporinus hypselonotus</i>	704	KP864700.1 <i>Laemolyta taeniata</i>	88
330 <i>Leporinus hypselonotus</i>	711	KP864700.1 <i>Laemolyta taeniata</i>	87
333 <i>Leporinus affinis</i>	749	AP011994.1 <i>Leporinus affinis</i>	98
334 <i>Leporinus affinis</i>	712	AP011994.1 <i>Leporinus affinis</i>	98
335 <i>Leporinus affinis</i>	711	AP011994.1 <i>Leporinus affinis</i>	99
338 <i>Corydoras simulatus</i>	715	GU701930.1 <i>Corydoras difluviatilis</i>	90
339 <i>Corydoras simulatus</i>	719	GU701930.1 <i>Corydoras difluviatilis</i>	90
340 <i>Corydoras simulatus</i>	710	GU701930.1 <i>Corydoras difluviatilis</i>	90
393 <i>Pseudoplatystoma faciatum</i>	686	KP294242.1 <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	100
394 <i>Pseudoplatystoma faciatum</i>	702	KP294242.1 <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	100
396 <i>Pseudoplatystoma faciatum</i>	683	KP294242.1 <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	97
397 <i>Pseudoplatystoma faciatum</i>	696	KP294242.1 <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	96
398 <i>Pseudoplatystoma faciatum</i>	681	KP294242.1 <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	99
399 <i>Pseudoplatystoma faciatum</i>	680	KP294242.1 <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	96
401 <i>Phractocephalus</i>	701	FJ418764.1 <i>Phractocephalus hemioliopus</i>	98
280 <i>Rasbora galaxy</i>	713	KT768120.1 <i>Danio margaritatus</i>	99
281 <i>Eigenmannia virescens</i>	707	KR491593.1 <i>Eigenmannia virescens</i>	97
282 <i>Rasbora galaxy</i>	706	JF915554.1 <i>Danio margaritatus</i>	99