

## The DNA Barcode of *cytb* on Selais Bungkok Fish (*Hemisilurus heterorhynchus* Bleeker) Originating from Riau, Indonesia

Roza Elvyra<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Math and Natural Resources Science, Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia;

### Article History

Received : May 23<sup>th</sup>, 2023

Revised : June 09<sup>th</sup>, 2023

Accepted : July 07<sup>th</sup>, 2023

\*Corresponding Author:

**Roza Elvyra**, Department of Biology, Faculty of Math and Natural Resources Science, Universitas Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia;

Email:

[roza.elvyra@gmail.com](mailto:roza.elvyra@gmail.com)

**Abstract:** Selais bungkok (*Hemisilurus heterorhynchus* Bleeker) is one of catfishes which is a member of family Siluridae and order Siluriformes. Selais bungkok is an endemic fish in Riau Province. The scientific study of this fish is still limited including DNA barcoding study. This research aims to analyze the DNA barcode of cytochrome b (*cytb*) on selais bungkok. Methods included collecting the fishes from Kampar River (three individuals) and Tapung River (three individuals); total DNA extraction from the muscle; electrophoresis, PCR, sequencing; and bioinformatics analysis. In this study, *cytb* DNA sequences were obtained from the six individual fishes studied with a size of 339 bp. The six sequences have been registered at GenBank with registration numbers MH633750, MH633751, MH633752 from Kampar River, MH633753, MH633754, and MH633755 from Tapung River. The BLASTn analysis showed that the selais bungkok fish had the highest similarity of 92.63% with *H. mekongensis* and the lowest (90.00%) with selais janggut (*Kryptopterus limpok*). There were three nucleotides that characterize the selais bungkok fish based on the *cytb* sequence such as nucleotide number 205, 229, and 280. The *cytb* sequence can distinguish groups of catfish separately based on their species. Conclusions and recommendations, the *cytb* sequences obtained in this study are the first to be reported in selais bungkok fish and can be used as a reference for identifying this species.

**Keywords:** Catfish, *cytb*, DNA barcode, Riau, selais bungkok fish.

### Pendahuluan

Status taksonomi suatu organisme termasuk hewan sangat penting dalam studi-studi biologi. Status taksonomi dapat ditentukan berdasarkan karakter morfologi atau protein. Namun keduanya memiliki keterbatasan karena variasi yang sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Khususnya pada hewan, identifikasi secara morfologi seringkali dibatasi oleh ketidaklengkapan organ, organ rusak atau tidak lengkap, terdapat perbedaan morfologi jantan dan betina, serta stadia perkembangan hewan (Bingpeng *et al.*, 2018). Keterbatasan identifikasi secara morfologi tersebut dapat diatasi menggunakan teknik barcoding DNA (Ko *et al.*, 2013).

Barcoding DNA merupakan teknik identifikasi organisme, termasuk hewan, menggunakan sekuens DNA pendek berukuran

400-800 pb (disebut barkode DNA) (Martiansyah, 2021). Beberapa sekuens barkode DNA telah dikembangkan untuk tujuan identifikasi organisme dan studi filogenetik secara molekuler. Barkode DNA yang sudah dikembangkan dan diaplikasikan pada ikan diantaranya sekuens DNA *cytochrome b (cytb)* (Fernandes *et al.*, 2017; Cutarelli *et al.* 2018; Giusti *et al.*, 2019; Ghouri *et al.*, 2020), *cytochrome C oxidase subunit I (COI)* (Ude *et al.*, 2020; Lopez-Vaamonde *et al.*, 2021; Batubara *et al.*, 2021), *NADH dehydrogenase subunit 5 (ND5)* (Ahmed, 2022), serta *D-Loop* (Ardura, Planes and Garcia-Vazquez, 2013; Sarmiento *et al.*, 2016; Astarini *et al.*, 2021; Elvyra and Afdizan, 2021).

Provinsi Riau menyimpan kekayaan flora dan fauna endemik. Salah satu fauna endemik Riau adalah kelompok ikan selais. Ada beberapa jenis ikan selais di Riau, diantaranya

*Kryptopterus apogon*, *K. limpok*, *K. bichirrhis*, *Ompok eugeniatius*, *O. hypophthalmus*, dan *Hemisilurus heterorhynchus* (Elvyra *et al.*, 2020) serta *Ceratoglanis scleronema* (Elvyra, 2022). Sampai saat ini, database sekuens barkode DNA pada ikan selais endemik Riau masih sangat terbatas, termasuk pada ikan selais bungkuk (*Hemisilurus heterorhynchus*).

*Hemisilurus heterorhynchus* merupakan salah satu jenis ikan selais yang merupakan anggota dari famili Siluridae dan Ordo Siluriformes. *Hemisilurus heterorhynchus* dan juga ikan selais lainnya hidup di ekosistem paparan banjir dan merupakan ikan endemik Riau. Penduduk Riau menyebut ikan ini dengan nama ikan selais bungkuk. Genus *Hemisilurus* memiliki ciri khusus: sungut rahang atas fleksibel dan tidak melengkung, ujung lubang hidung di atas atau di belakang mata. Sementara ciri khusus *H. heterorhynchus* berupa: tidak ada sirip punggung, sirip dubur mempunyai 90-98 jari-jari, lubang hidung bagian belakang di atas dan belakang mata, sungut rahang atas fleksibel dan melengkung, sungut-sungutnya mencapai mata, panjang mata 4,0-5,5 kali lebih pendek dari panjang kepala (Kottelat *et al.*, 1993; Sari and Elvyra, 2018).

Penyebaran ikan ini di Pulau Sumatra dan Kalimantan. Namun, ikan ini sudah langka dan sulit ditemukan di Sungai Kampar Kiri, Riau (Simanjuntak, Rahardjo and Sukimin, 2006). Oleh karena itu, ikan ini perlu dikaji secara ilmiah sebagai salah satu upaya konservasi. Kajian dapat dilakukan secara secara morfologi maupun molekuler. Penelitian ini bertujuan menganalisis sekuens barkode DNA *cytb* pada ikan selais bungkuk asal Riau. Sekuens yang diperoleh akan memperkaya database ikan selais bungkuk sehingga dapat digunakan untuk keperluan identifikasi ikan ini secara molekuler. Hal ini merupakan salah satu upaya mendukung konservasi ikan selais bungkuk.

## Bahan dan Metode

### Bahan penelitian

Sampel ikan selais bungkuk (*H. heterorhynchus*) dikumpulkan dari nelayan yang mengambil ikan dari Sungai Kampar dan Tapung. Jumlah ikan yang diteliti sebanyak tiga

individu dari Sungai Kampar dan tiga dari Sungai Tapung. Primer yang digunakan L14841 (5'-AAA GCT TCC ATC CAA CAT CTC AGC ATG ATG AAA-3') dan H15149 (5'-AAA CTG CAG CCC CTC AGA ATG ATA TTT GTC CTC A-3') (Elvyra, 2022).

### Metode penelitian

Molekul DNA total diekstraksi dari otot ikan menggunakan *Kit of DNeasy Blood and Tissue (Qiagen)*. Molekul DNA total yang diperoleh kemudian dijadikan cetakan pada proses PCR menggunakan *Kit of TopTaq Master Mix (Qiagen)*. Program PCR yang digunakan meliputi pre-denaturasi pada 94 °C selama 5 menit sebanyak 1 siklus; lalu dilanjutkan 35 siklus yang terdiri dari denaturasi pada 94 °C selama 30 detik, penempelan primer pada 55 °C selama 45 detik, dan elongasi pada 72 °C selama 1 menit; dan diakhiri dengan pasca-PCR pada 72 °C selama 5 menit (Elvyra, 2022). Keberhasilan PCR dideteksi dengan elektroforesis pada 1% gel agarosa. Setelah itu, produk PCR dikirim ke PT Genetika Science Indonesia sebagai agen yang selanjutnya akan mengirimkan sampe ke *Ist Base Malaysia* untuk dilakukan purifikasi dan sekuensing. Sekuensing menggunakan primer yang sama, yaitu L14841 dan H15149.

### Analisis data

Data sekuens DNA dianalisis secara bioinformatika menggunakan program BioEdit, BLASTn, dan MEGA versi 6.0 (Tamura *et al.*, 2013).

## Hasil dan Pembahasan

### Hasil analisis BLASTn sekuens DNA *cytb* ikan selais bungkuk

Hasil penelitian menemukan sekuens DNA *cytb* ikan selais bungkuk dengan ukuran 339 pb pada semua sampel ikan yang diuji. Sekuens tersebut telah didaftarkan di *GenBank* dengan nomor registrasi MH633750, MH633751, dan MH633752 untuk ikan dari Sungai Kampar serta MH633753, MH633754, dan MH633755 untuk ikan dari Sungai Tapung. Analisis BLASTn sekuens tersebut menunjukkan bahwa ikan selais bungkuk memiliki kemiripan tertinggi, yaitu 92,63%, dengan *H. mekongensis*. Sementara itu, kemiripan terendah dengan ikan selais janggut (*Kryptopterus limpok*), yaitu 90,00% (Tabel 1).

Analisis BLASTn tidak menampilkan adanya sekuens *cytb* dari ikan selais bungkuk (*H. heterorhynchus*). Hal ini menunjukkan bahwa sekuens DNA yang diperoleh pada penelitian ini merupakan yang pertama kali dilaporkan dari spesies ini. Data di *GenBank* menunjukkan bahwa baru ada satu data sekuens DNA *cytb* dari genus *Hemisilurus*, yaitu *Hemisilurus mekongensis* (update data 15 Juni 2023). Demikian pula dengan spesies selais lainnya, data sekuens DNA di *GenBank* masih sangat terbatas. Oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi sekuens barcode DNA ikan-ikan endemik lain yang ada di Indonesia lalu mendepositkannya ke database publik seperti *GenBank*. Hal ini untuk memfasilitasi

identifikasi secara molekuler dan mendukung kegiatan konservasi ikan endemik Indonesia.

Syarat sukses identifikasi secara molekuler dengan teknik barkoding DNA adalah pemilihan barcode yang tepat dan tersedianya sekuens DNA barcode organisme target dalam jumlah besar di database publik seperti *GenBank* (Roslim, 2018). *Hemisilurus mekongensis* memiliki nama genus yang sama dengan ikan selais bungkuk sehingga nilai kemiripannya paling tinggi dibandingkan spesies lain yang berbeda genus (Tabel 1). *Hemisilurus mekongensis* juga merupakan jenis ikan bersungut namun memiliki ukuran tubuh yang besar. Ikan ini endemik di Lembah Sungai Mekong, China (Rainboth, 1996).

**Tabel 1.** Hasil analisis BLASTn sekuens DNA *cytb* ikan selais bungkuk (*H. heterorhynchus*)

No	Aksesi	Nama Lokal	Query Cover (%)	E-value	Per. Identity (%)	Nomor Aksesi
1	<i>Hemisilurus mekongensis</i>	Selais	100	2e-136	92,63	DQ119392.1
2	<i>Ceratoglanis scleronema voucher RE_CS1K</i>	Hidung budak	100	2e-125	90,27	MH633756.1
3	<i>Kryptopterus bicirrhys voucher Roza17k</i>	Selais kaca	100	2e-124	89,97	MH745410.1
4	<i>Kryptopterus bicirrhys voucher Roza8k</i>	Selais kaca	100	2e-124	89,97	MH745409.1
5	<i>Kryptopterus bicirrhys voucher Roza4k</i>	Selais kaca	100	8e-123	89,68	MH745408.1
6	<i>Ceratoglanis scleronema voucher RE_CS4T</i>	Hidung budak	99	3e-122	89,64	MH633760.1
7	<i>Ceratoglanis scleronema voucher RE_CS2T</i>	Hidung budak	99	3e-122	89,64	MH633759.1
8	<i>Ceratoglanis scleronema voucher RE_CS4K</i>	Hidung budak	99	3e-122	89,64	MH633758.1
9	<i>Ceratoglanis scleronema voucher RE_CS3K</i>	Hidung budak	99	3e-122	89,64	MH633757.1
10	<i>Ceratoglanis scleronema voucher RE_CS5T</i>	Hidung budak	99	3e-121	89,35	MH633761.1
11	<i>Ompok hypophthalmus voucher Roza14k</i>	Selais danau	97	1e-120	90,00	MH793325.1
12	<i>Ompok hypophthalmus voucher Roza13k</i>	Selais danau	97	1e-120	90,00	MH793324.1
13	<i>Ompok hypophthalmus voucher Roza5k</i>	Selais danau	97	1e-120	90,00	MH793322.1
14	<i>Kryptopterus limpok voucher Roza1k</i>	Selais janggut	97	1e-120	90,00	MH745411.1

### Variasi nukleotida pada sekuens DNA *cytb*

Hasil pensejajaran menunjukkan bahwa terdapat variasi nukleotida pada sekuens DNA *cytb* di antara aksesi yang diteliti. Terdapat 76 variasi nukleotida dan tiga diantaranya merupakan nukleotida penciri bagi ikan selais bungkuk (Gambar 1). Variasi tersebut disebabkan oleh mutasi substitusi. Tidak ada mutasi indels pada sekuens DNA *cytb* yang diteliti. Umumnya, mutasi indels banyak terjadi di daerah non penyandi protein seperti *intergenic spacer*. Sementara itu, pada sekuens DNA penyandi protein hampir tidak dijumpai mutasi indels (HERMAN *et al.*, 2023). Hal ini karena mutasi indels dapat menyebabkan mutasi ubah rangka (*frameshift*) yang akan mengubah protein sehingga protein tersebut tidak dapat berfungsi

sebagaimana mestinya. Sudah diketahui secara umum bahwa gen *cytb* menyandikan enzim cytochrome b.

Enzim ini terlibat dalam rantai transpirasi elektron di dalam sel (Flores-Mireles *et al.*, 2022). Jika terjadi mutasi, maka akan menyebabkan kelainan atau penyakit genetik terkait respirasi (Blakely *et al.*, 2005). Tiga nukleotida penciri bagi ikan selais bungkuk tersebut terjadi pada nukleotida nomor 205, 229, dan 280, yaitu GCG pada ikan selais bungkuk dan AAA pada aksesi lain yang diteliti (Gambar 1). Ketiga nukleotida penciri tersebut merupakan basa ketiga dari triplet kodon penyandi asam amino. Hasil ini sama dengan yang dilaporkan pada ikan selais janggut (*K. limpok*) dan ikan selais panjang lampung (*K. apogon*) bahwa

mutasi pada gen *cytb* lebih banyak terjadi pada basa ketiga dari triplet kodon penyandi asam amino. Mutasi pada basa ketiga dari triplet kodon

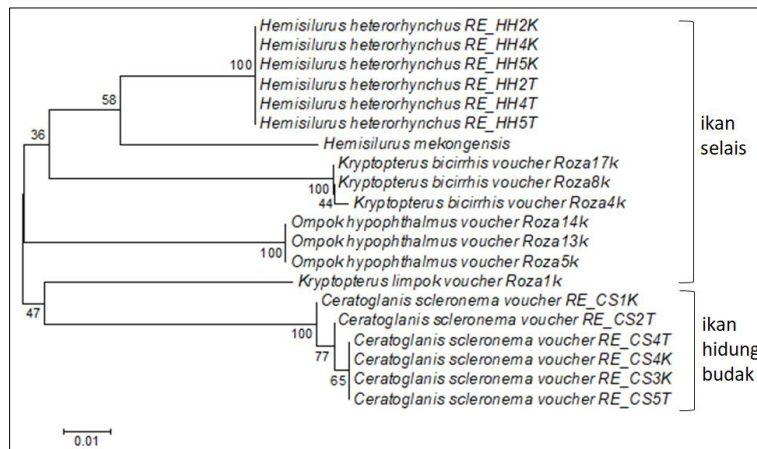
tidak mengubah asam amino yang disandikan (Elvyra *et al.*, 2009).

No	Aksesi	Nomor nukleotida (vertikal)																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH2K	C	T	C	C	C	C	A	C	C	C	C	T	C	A	A	C	T	A	C	A
2	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH4K	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH5K	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
4	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH2T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH4T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
6	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH5T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
7	<i>Hemisilurus mekongensis</i>	C	C	.	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	C	.	.	C	.
8	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS1K	C	C	.	A	A	.	C	.	.	.	.	C	T	G	.	.	T	.	G	C
9	<i>Kryptopterus bicirrhis</i> voucher Roza17k	C	.	G	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	T	A	.	.	G	.	A
10	<i>Kryptopterus bicirrhis</i> voucher Roza8k	C	.	G	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	T	A	.	.	G	.	A
11	<i>Kryptopterus bicirrhis</i> voucher Roza4k	C	.	G	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	T	A	.	.	G	.	A
12	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS4T	C	C	.	A	A	.	C	.	.	.	.	C	T	G	.	.	G	T	.	G
13	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS2T	C	C	.	A	A	.	C	.	.	.	.	C	T	G	.	.	T	.	G	C
14	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS4K	C	C	.	A	A	.	C	.	.	.	.	C	T	G	.	.	G	T	.	G
15	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS3K	C	C	.	A	A	.	C	.	.	.	.	C	T	G	.	.	G	T	.	G
16	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS5T	C	C	.	A	A	.	C	.	.	.	.	C	T	G	.	.	G	T	.	G
17	<i>Ompok hypophthalmus</i> voucher Roza14k	C	C	.	A	.	A	A	.	T	.	.	.	.	C	.	.	C	T	A	C
18	<i>Ompok hypophthalmus</i> voucher Roza13k	C	C	.	A	.	A	A	.	T	.	.	.	.	C	.	.	C	T	A	C
19	<i>Ompok hypophthalmus</i> voucher Roza5k	C	C	.	A	.	A	A	.	T	.	.	.	.	C	.	.	C	T	A	C
20	<i>Kryptopterus limpok</i> voucher Roza1k	C	C	.	A	T	.	A	.	T	.	T	G	.	T	C	.	T	G	G	C

No	Aksesi	Nomor nukleotida (vertikal)																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH2K	C	C	A	C	T	C	C	C	A	C	A	C	G	C	T	C	C	C	T	C
2	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH4K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
3	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH5K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
4	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH2T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
5	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH4T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
6	<i>Hemisilurus heterorhynchus</i> RE_HH5T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
7	<i>Hemisilurus mekongensis</i>	A	.	.	.	.	.	C	.	A	.	T	T	.	.	.	A	T	A	C	A
8	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS1K	.	T	.	T	A	.	T	.	T	A	.	T	C	T	.	.	A	.	A	C
9	<i>Kryptopterus bicirrhis</i> voucher Roza17k	.	.	C	A	C	.	.	T	.	A	.	C	.	.	.	A	.	A	A	.
10	<i>Kryptopterus bicirrhis</i> voucher Roza8k	.	.	C	A	C	.	.	T	.	A	.	C	.	.	.	A	.	A	A	.
11	<i>Kryptopterus bicirrhis</i> voucher Roza4k	.	.	C	A	C	.	.	T	.	A	.	C	.	.	.	A	.	A	A	.
12	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS4T	.	T	.	T	A	.	T	T	.	T	A	.	T	C	T	.	.	A	.	A
13	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS2T	.	T	.	T	A	.	T	T	.	T	A	.	T	C	T	.	.	A	.	A
14	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS4K	.	T	.	T	A	.	T	T	.	T	A	.	T	C	T	.	.	A	.	A
15	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS3K	.	T	.	T	A	.	T	T	.	T	A	.	T	C	T	.	.	A	.	A
16	<i>Ceratoglanis scleronema</i> voucher RE_CS5T	.	T	.	T	A	.	T	T	.	T	A	.	T	C	T	.	.	A	.	A
17	<i>Ompok hypophthalmus</i> voucher Roza14k	.	.	T	A	T	.	C	.	A	.	C	.	T	.	.	A	T	A	.	A
18	<i>Ompok hypophthalmus</i> voucher Roza13k	.	.	T	A	T	.	C	.	A	.	C	.	T	.	.	A	T	A	.	A
19	<i>Ompok hypophthalmus</i> voucher Roza5k	.	.	T	A	T	.	C	.	A	.	C	.	T	.	.	A	T	A	.	A
20	<i>Kryptopterus limpok</i> voucher Roza1k	.	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	T	.	.	.	A	.	A	T	.

Gambar 1. Variasi nukleotida pada sekuens DNA *cytb*.



Gambar 2. Pohon filogenetik berdasarkan sekuens DNA *cytb* pada beberapa aksesi dari famili Siluridae

### **Pohon filogenetik berdasarkan sekuens DNA *cytb* pada beberapa aksesori famili Siluridae**

Pohon filogenetika menunjukkan bahwa enam individu dari ikan selais bungkuk (*H. heterorhynchus*) yang diteliti membentuk satu kelompok dengan nilai bootstrap 100% dan terpisah dari *H. mekongensis*. Demikian pula, individu dari spesies lain membentuk kelompok sendiri terpisah dari spesies lainnya. Pohon filogenetik juga menunjukkan bahwa spesies-spesies ikan selais memiliki hubungan yang dekat dan terpisah dari kelompok ikan hidung budak (Gambar 2).

Nilai bootstrap lebih dari 95% mengindikasikan bahwa pengelompokan yang terbentuk memiliki keakuratan yang tinggi (Elvyra and Afdizan, 2021). Akan tetapi sekuens DNA *cytb* tidak dapat membedakan individu yang berasal dari lokasi sangat berbeda, baik di dalam *H. heterorhynchus* maupun *C. scleronema* (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa sekuens DNA *cytb* baik digunakan untuk membendakan interspesies dibandingkan intraspesies.

### **Kesimpulan**

Sekuens DNA *cytb* telah diperoleh pada penelitian ini dari enam individu ikan selais dan sekuens tersebut telah didaftarkan di GenBank agar dapat diakses publik untuk keperluan identifikasi secara molekuler menggunakan teknik barcoding DNA. Tiga nukleotida penciri ikan selais bungkuk (*H. heterorhynchus*) juga telah diperoleh pada penelitian ini, yaitu pada nukleotida ke 205, 229, dan 280. Sekuens DNA *cytb* yang diperoleh pada penelitian ini merupakan yang pertama kali dilaporkan dan dapat digunakan untuk identifikasi spesies ini.

### **Ucapan Terima Kasih**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada LPPM Universitas Riau yang telah memfasilitasi penelitian serta DRPM yang mendanai penelitian ini melalui Hibah Kompetitif Nasional. Terima kasih juga disampaikan kepada Prof. Dr. Dewi Indriyani Rolslim, M.Si. atas diskusinya.

### **Referensi**

Ahmed, S. (2022). DNA Barcoding in Plants and Animals: A Critical Review. *Preprints*,

- DOI: 10.20944/preprints202201.0310.v1.
- Ardura, A., Planes, S., Garcia-Vazquez, E. (2013). Applications of DNA Barcoding to Fish Landings: Authentication and Diversity Assessment. *Zookeys*, 365: 49–65. DOI: 10.3897/zookeys.365.6409.
- Astarini, I. A., Ningsih, E. N. E. X., Simanungkalit, D., Ardiana, S. A., Al Malik, M. D., Yusmalinda, N. I., ... & Collins, A. (2021). Genetic variation of longtail tuna *Thunnus tonggol* landed in four fish markets in Indonesia based on mitochondrial DNA. DOI: 10.13057/biodiv/d220408.
- Batubara, A.S., Muchlisin, Z.A., Efizon, D., Elvyra, R., Fadli, N., Rizal, S., Siti-Azizah, M.N. & Wilkes, M. (2021). DNA Barcoding (COI Genetic Marker) Revealed Hidden Diversity of Cyprinid Fish (*Barbonymus* spp.) from Aceh Waters, Indonesia. *Biharean Biologist*, 15(1): 39-47.
- Bingpeng, X., Heshan, L., Zhilan, Z., Chunguang, W., Yanguo, W. & Jianjun, W. (2018). DNA Barcoding for Identification of Fish Species in the Taiwan Strait. *PLoS ONE*, 13(6): e0198109
- Blakely, E.L., Mitchell, A.L., Fisher, N., Meunier, B., Nijtmans, L.G., Schaefer, A.M., Jackson, M.J., Trunbull, D.M. & Taylor, R.W. (2005). A Mitochondrial Cytochrome b Mutation Causing Severe Respiratory Chain Enzyme Deficiency in Humans and Yeast. *FEBS Journal*, 272 (14): 3583–3592. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2005.04779.x.
- Cutarelli, A., Galiero, G., Capuano, F. & Corrado, F. (2018). Species Identification by Means of Mitochondrial Cytochrome b DNA Sequencing in Processed Anchovy, Sardine and Tuna Products. *Food and Nutrition Sciences*, 9: 369-375. DOI: 10.4236/fns.2018.94029
- Elvyra, R. & Afdizan. (2021). Analysis of Mitochondrial Control Region Sequence of Tapah Fish (*Wallago leerii*) from Riau Province, Indonesia. *AACL Bioflux*, 14(6): 3799–3805.
- Elvyra, R. (2022). Genetic Characterization of *Ceratoglanis scleronema*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*,

- Sep. 14-15, IOP Publishing, Indonesia*, pp. 1118(1). DOI: 10.1088/1755-1315/1118/1/012065.
- Elvyra, R., Solihin, D.D., Affandi, R., Junior, M.Z., Suhendra, M. (2020). Molecular Characteristics and Phylogenetic Relationships of Silurid Catfishes (*Kryptopterus*, *Ompok* and *Phalacronotus*) from the Kampar River, Indonesia, Based on the Cytochrome b Gene. *Biodiversitas*, 21(8): 3539-3546.
- Elvyra, R., Solihin, D.D., Affandi, R., Junior, Z. & Yus, Y. (2009). Keanekaragaman Genetik dan Hubungan Kekerabatan *Kryptopterus limpok* dan *Kryptopterus apogon* dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri Riau Berdasarkan Gen Sitokrom b. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, 16 (1): 55-61.
- Fernandes, T. J., Costa, J., Oliveira, M. B., & Mafra, I. (2017). DNA Barcoding Coupled to HRM Analysis as a New and Simple Tool for the Authentication of Gadidae Fish Species. *Food Chemistry*, 230: (49–57). DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.03.015.
- Flores-Mireles, D., Camacho-Villasana, Y., Lutikurti, M., Garcia-Guerrero, A.E., Lozano-Rosas, G., Chagoya, V., Gutierrez-Cirlos, E.B., Brandt, U., Cabrera-Orefice, A. & Perez-Martinez, X. (2022). The Cytochrome b Carboxyl-Terminal Region is Necessary for Mitochondrial Complex III Assembly. *Life Science Alliance*, 6(7): e202201858. DOI: 10.26508/lsa.202201858.
- Ghouri, M.Z., Ismail, M., Javed, M.A., Khan, S.H., Munawar, N., Umar, A.B., Nisa, M., Aftab, S.O., Amin, S., Khan, Z. & Ahmad, A. (2020). Identification of Edible Fish Species of Pakistan Through DNA Barcoding. *Frontiers in Marine Science* 7:554183. DOI: 10.3389/fmars.2020.554183.
- Herman, Al-Khairi, H., Wansyah, A.R., Asmania, Utami, R.I., Anzaelina, D.N., Oktaviano, Z., Lestari, W., Adiwirman & Roslim, D.I. (2023). The Ability of *matK* and *trnI-trnL-trnF Intergenic Spacer* to Discern Certain Species Accessions of the Families Solanaceae and Fabaceae. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 55(1): 97–106. DOI: 10.54910/sabrao2023.55.1.9.
- Ko, H.L., Wang, Y.T., Chiu, T.S., Lee, M.A., Leu, M.Y., Chang, K.Z., Chen, W.Y. & Shao, K.T. (2013). Evaluating the Accuracy of Morphological Identification of Larval Fishes by Applying DNA Barcoding. *PLoS ONE*, 8(1): 3–9. DOI: 10.1371/journal.pone.0053451.
- Kottelat, M., Whitten, A.J., Kartikasari, S.N. & Wirdjoatmodjo, S. (1993). *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Jakarta: Periplus edition (HK) in collaboration with the environment Rep. of Indonesia.
- Lopez-Vaamonde, C. *et al.* (2021). Evaluating DNA Barcoding for Species Identification and Discovery in European Gracillariid Moths. *Frontiers in Ecology and Evolution*. DOI: 10.3389/fevo.2021.62675.
- Martiansyah, I. (2021). Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA Barcoding: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik *Syzygium* (Myrtaceae). *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change, Nov. 8, UIN Alauddin Makassar, Indonesia*, pp. 187–195. URL: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>.
- Rainboth, W.J. (1996). *Fishes of the Cambodian Mekong*. FAO species identification field guide for fishery purposes. FAO, Rome, 265 p.
- Roslim, D.I. (2018). Pandan (*Pandanus* sp.), rotan (*Calamus* sp.), and Rengas (*Gluta* sp.) from Kajuik Lake, Riau Province, Indonesia. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61: 1–14. DOI: 10.1590/1678-4324-2018160419.
- Sari, D.M. & Elvyra, R. (2018). Morfometrik Ikan Selais Bungkok (*Hemisilurus heterorhynchus*, Bleeker 1854) di Desa Langgam dan Mentulik Sungai Kampar Provinsi Riau. *Jurnal Riau Biologi*, 3(1): 23–29.
- Sarmiento, K. P., Ventolero, M. F. H., Ramiscal, R. V., Dela Cruz, W. S., & Santos, M. D. (2016). First DNA evidence on the occurrence of Pacific bluefin tuna,

- Thunnus orientalis in northern Philippine waters. *Marine Biodiversity Records*, 9(1), 1-6. DOI: 10.1186/s41200-016-0020-y.
- Simanjuntak, C.P.H., Rahardjo, M.F. & Sukimin, S. (2006). Iktio Fauna Rawa Banjiran Sungai Kampar Kiri. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 6(2): 99-109.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30 (12): 2725-2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197.
- Ude, G. N., Igwe, D. O., Brown, C., Jackson, M., Bangura, A., Ozokonkwo-Alor, O., ... & Das, A. (2020). DNA barcoding for identification of fish species from freshwater in Enugu and Anambra States of Nigeria. *Conservation Genetics Resources*, 12, 643-658. DOI: 10.1007/s12686-020-01155-7.