

Molecular Characterization of Danau Selais Fish (*Ompok hypophthalmus*) and Kaporeh Selais Fish (*Ompok eugeneiatus*) from Riau Province of Indonesia using Mitochondrial 12S rRNA

Roza Elvyra^{1*}, Rio Riduan¹, Dewi Indriyani Roslim¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

Article History

Received : September 22th, 2023

Revised : October 18th, 2023

Accepted : October 24th, 2023

*Corresponding Author:

Roza Elvyra,

Program Studi Biologi, Fakultas
Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam, Universitas
Riau, Pekanbaru, Indonesia;

Email: roza.elvyra@gmail.com

Abstract: The floodplain river in Riau is inhabited by various types of vertebrate animals including fish from the genus *Ompok*. The rapid development of species in the *Ompok* genus can cause ambiguity in species identity due to inaccurate identification processes. This research aims to analyze the molecular characteristics of two types of selais fish, namely danau selais fish (*O. hypophthalmus*) and kaporeh selais fish (*O. eugeneiatus*) from Riau based on *12S rRNA* sequences. Methods included sampling of fishes from the Kampar, Tapung and Indragiri Rivers, the total DNA isolation, PCR, electrophoresis, sequencing and data analysis. In this study, the *12S rRNA* DNA sequence of the selais fish studied was 939 bp in size. The sequences consisted of 803 bp of conserved sites (86.15%), 127 bp of variable sites (13.52%), 53 bp of parsimony sites (5.64%) and 73 bp of singleton sites (18.57%), with the composition of Adenine 31.7%, Cytosine 26.9%, Thymine 20.9% and Guanine 20.4%. The average genetic distance between the two species was ± 0.034 , with the lowest genetic distance identified in the species *O. hypophthalmus* and *O. eugeneiatus* from the Indragiri River with a value of ± 0.032 , while the farthest genetic distance was identified in the species *O. eugeneiatus* from the Kampar River and the species *C. gariepinus* (Out group) with a value of ± 0.092 . Transition substitution (19.50%) occurs more frequently than transversion (10.94%). Phylogenetic reconstruction showed that the two species can be separated into distinct groups based on *12S rRNA* sequences.

Keywords: *12S rRNA*, floodplain, *Ompok* sp., Riau, selais fish.

Pendahuluan

Pesatnya perkembangan spesies yang terjadi pada genus *Ompok* dapat menyebabkan terjadinya ambiguitas identitas spesies akibat proses identifikasi yang kurang akurat. Malakar (2009) menyatakan bahwa adanya *mislabeling* yang terjadi pada proses identifikasi morfologi diduga telah memunculkan spesies sinonim dari genus *Ompok* pada data *Fishbase*. Teknik barkoding DNA merupakan salah satu teknik identifikasi yang telah banyak digunakan dalam studi taksonomi spesies untuk mengatasi masalah *mislabeling*, terutama pada perdagangan berbahan baku ikan (Cawthorn *et al.*, 2018;

Bastanlar, 2019; Munguia-Vega *et al.*, 2022). Beberapa keunggulan dari barkoding DNA menggunakan genom mitokondria jika dibandingkan dengan DNA inti adalah bahwa mitokondria terdapat dalam jumlah yang besar di dalam sel sehingga genomnya juga tersedia dalam banyak salinan, memiliki variasi interspesies dan intraspesies, serta memiliki laju mutasi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan genom inti (Yang *et al.*, 2014).

Gen *12S rRNA* salah satu gen mitokondrial yang banyak digunakan untuk kajian filogenetik dan barkoding DNA pada berbagai kelompok hewan, seperti gastropoda laut (Fukunaga *et al.*, 2021), ikan air tawar (Milan *et al.*, 2020),

mamalia dan unggas (Hu *et al.*, 2015), serangga (Prakrongrak *et al.*, 2023), burung dan reptile (Panicker *et al.*, 2019), termatoda (Chan *et al.*, 2022). Kajian barkoding DNA pada ikan endemik Riau masih terbatas, termasuk ikan selais. Ikan selais merupakan jenis ikan yang endemik di Provinsi Riau dan telah ditemukan berbagai macam ikan selais, seperti ikan selais bungkuk (*Hemisilurus heterorhynchus*) (Elvyra, 2023), selais kaca (*Kryptopterus bicirrhis*), selais janggut (*Kryptopterus limpok*), selais danau (*Ompok hypophthalmus*) dan ikan selais kaporeh (*Ompok eugeneiatus*) (Elvyra dan Roslim, 2016).

Kelompok ikan yang termasuk ke dalam genus *Ompok* memiliki ukuran tubuh medium dan sering ditemukan di danau-danau dan sungai-sungai besar seperti Sungai Kampar, Sungai Rokan, Sungai Indragiri, dan Sungai Siak yang ada di Provinsi Riau (Putra, 2017). Ikan dari genus *Ompok* memiliki banyak kemiripan jika dibandingkan dengan beberapa ikan dari famili yang sama. Kesamaan tersebut dapat dilihat dari kesamaan warna dan bentuk tubuh, sedangkan perbedaan pada genus *Ompok* dan *Kryptopterus* hanya dibedakan berdasarkan bagian sirip punggungnya (Elvyra dan Roslim, 2016).

Analisis filogenetik yang telah dilakukan dengan menggunakan 63 karakter morfologi pada Famili Siluridae yang ada di kawasan Eurasia menunjukkan pengelompokan yang tidak konsisten (*non-monophily*) termasuk ikan dari genus *Ompok* dan *Silurus*. Kesamaan ciri morfologi yang terdapat pada beberapa spesies ikan tersebut diduga disebabkan oleh distribusi dan variasi interspesies yang tinggi. Diperkirakan selama 15 tahun terakhir di kawasan Asia Tenggara telah ditemukan 19 spesies baru dari genus *Ompok* (Kottelat *et al.*, 2013).

Perbedaan yang jelas secara morfologi antara ikan selais danau dan ikan selais kaporeh terletak pada jumlah jari-jari sirip dubur. Ikan selais danau memiliki ciri sebagai berikut: sirip punggung mempunyai 3-4 jari-jari, sirip dubur mempunyai 76-84 jari-jari, pada sisi badan ada bintik-bintik atau garis berwarna gelap, cuping sirip ekor meruncing. Sementara itu, ikan selais kaporeh memiliki ciri-ciri sebagai berikut: sirip punggung mempunyai 4 jari-jari, sirip dubur mempunyai 58-62 jari-jari, sungut rahang bawah memanjang melampaui ekor, bintik-bintik

dihubungkan oleh garis warna di sepanjang sisi badan. sirip dubur terpisah dari sirip ekor, cuping sirip ekor meruncing (Kottelat *et al.*, 2013' (Elvyra dan Roslim, 2016). Informasi sekuens *12S rRNA* pada spesies ikan selais danau dan ikan selais kaporeh masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menganalisis karakteristik sekuens *12S rRNA* pada ikan selais danau dan ikan selais kaporeh asal sungai paparan banjir Provinsi Riau. Sekuens yang diperoleh dapat dimanfaatkan untuk mendukung analisis barkoding DNA pada kedua spesies ikan tersebut.

Bahan dan Metode

Bahan penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel DNA total dari ikan selais danau dan ikan selais kaporeh asal Sungai Mentulik, Indragiri, dan Tapung yang ada di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau. Pasangan primer yang digunakan adalah 12S_F: 5'-GTT TCG CAG GCA CAA AGG-3' dan 12S_R: 5'-GTG CAC CTT CCG GTA CAC TT-3' (Riduan, 2019).

Metode penelitian

Amplifikasi gen *12S rRNA* dilakukan dengan menggunakan teknik PCR. Komponen yang digunakan untuk proses PCR ini sesuai dengan komponen PCR pada penelitian Elvyra *et al.*, (2023) dengan mengikuti protokol *kit TopTaq* PCR (*Qiagen*). Proses PCR ini meliputi: tahap pra PCR selama 2 menit pada suhu 94 °C, dilanjutkan dengan PCR sebanyak 35 siklus, masing masing siklus terdiri atas tahap denaturasi pada suhu 94 °C selama 30 detik, tahap penempelan primer pada suhu 53 °C selama 30 detik, tahap elongasi pada suhu 72 °C selama 1 menit; serta diakhiri dengan tahap pasca PCR pada suhu 72 °C selama 7 menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis pada gel agarosa (1,2%) selama 45 menit dengan tegangan 50 volt.

Analisis data

Data hasil sekuensing kemudian dianalisis menggunakan MEGA versi 6 (Tamura *et al.*, 2013). Data yang dianalisis berupa komposisi nukleotida, substitusi nukleotida, jarak genetik menggunakan metode *Pairwise Distance*, serta analisis filogenetik menggunakan metode

Neighbour Joining (NJ) dengan uji *bootstrap* 1000 kali pengulangan. Dua sekuens *12S rRNA* dari dua spesies pembanding, yaitu *Ompok bimaculatus* (KY887474.1) dan *Clarias gariepinus* (NC_027661.1), digunakan dalam pembuatan pohon filogenetik.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Analisis BLASTn Sekuens DNA *12S rRNA*

Daerah gen penyandi *12S rRNA* pada spesies ikan selais danau (*O. hypophthalmus*) dan ikan selais kaporeh (*O. eugeneiatus*) yang berhasil diamplifikasi pada penelitian ini memiliki panjang 939 pb. Sekuens tersebut sudah mendapatkan nomor aksesori dari *GenBank* (Tabel 1). Sekuens tersebut terdiri dari 803 pb *conserve site* (86,15%), 127 pb *variable site* (13,52%), 53 pb *parsimony site* (5,64%) dan ditemukan 73 pb

singleton site (18,57%). Situs polimorfik pada sekuens gen *12S rRNA* yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 2. Panjang sekuens *12S rRNA* yang diperoleh pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan yang ditemukan pada spesies ikan air tawar *Onychostoma ovale*, yaitu sepanjang 959 pb (Zhang et al., 2023).

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sekuens *12S rRNA* memiliki karakteristik konservatif yang sangat tinggi (86,15%). Hal ini sesuai dengan penelitian Yang et al. (2014) yang menemukan bahwa sekuens gen *12S rRNA* memiliki beberapa daerah yang sangat terkonservasi. Keberadaan sekuens terkonservasi diduga dapat mempertahankan struktur sekunder dari *12S rRNA* yang memiliki peranan penting dalam proses translasi protein. Sekuens terkonservasi tersebut berlokasi pada daerah loop di *terminal helix* (*h45, helix 45*) dari gen *12S rRNA* (Liu et al., 2019).

Tabel 1. Nomor aksesori ikan selais danau (*Ompok hypophthalmus*) dan ikan selais kaporeh (*Ompok eugeneiatus*) asal tiga sungai paparan banjir di Provinsi Riau

No	Nama Spesies	Nomor Aksesori
1	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Kampar 1)	MK577451
2	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Kampar 2)	MK577452
3	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Kampar 3)	MK577453
4	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Indragiri 1)	MK577449
5	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Indragiri 2)	MK577450
6	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Tapung 1)	MK577454
7	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Tapung 2)	MK577455
8	<i>Ompok. hypophthalmus</i> (Sungai Tapung 3)	MK577456
9	<i>Ompok eugeneiatus</i> (Sungai Kampar 1)	MK577443
10	<i>Ompok eugeneiatus</i> (Sungai Kampar 2)	MK577444
11	<i>Ompok eugeneiatus</i> (Sungai Kampar 3)	MK577445
12	<i>Ompok eugeneiatus</i> (Sungai Indragiri 1)	MK577440
13	<i>Ompok eugeneiatus</i> (Sungai Indragiri 2)	MK577441
14	<i>Ompok eugeneiatus</i> (Sungai Indragiri 3)	MK577442

Sekuens *12S rRNA* memiliki komposisi Adenin (A) 31,7 %, Sitosin (C) 26,9%, Timin (T/U) 20,9%, Guanin (G) 20,4% serta memiliki jumlah pasangan A+T (52,6%) yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan G+C (47,3%). Nukleotida A memiliki proporsi yang tinggi baik pada kodon 1, 2, dan 3 dengan persentase (34,0%), (28,4%), dan (32,8%) secara berurutan (Tabel 3). Hasil penelitian ini sejalan dengan Satoh et al. (2016) yang menyatakan bahwa dari 250 ikan yang diteliti memiliki presentase adenin

paling tinggi (31,0%) dibandingkan tiga basa lainnya. Demikian pula dengan jumlah A+T lebih tinggi dari pada G+C. Detail komposisi nukleotida yang didapatkan juga menunjukkan bahwa persentase (%) A>T, C>G. Poporsi basa yang tidak seimbang pada sekuens *12S rRNA* tersebut akan menghasilkan bentuk pasangan basa nukleotida yang asimetri, hal yang sama juga dapat ditemukan pada komposisi nukleotida daerah *fourfold degenerate* dan di daerah *intergenic* (Satoh et al., 2016).

8 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . C T T C - C . A . . C T . A A . C G
 9 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . C T T C - C . A . . C T . A A . C G
 10 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . T T T C - C . A . . C T . A A . C G
 11 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . T T T C - C . A . . C T . A A . C G
 12 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . T T T C - C . A . . C T . A A . C G
 13 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . T T T C - C . A . . C T . A A . C G
 14 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . T T T C - C . A . . C T . A A . C G
 15 T T . C A . A . A . T C T T T . T . . T T T C - C . A . . C T . A A . C G
 16 A . T . T G A A C T C . T T . . A C A T T . . A . C C . T C C A T A C A A . C -

Keterangan : (1) *O. bimaculatus* (Genbank), (2) *O. eugeneiatus* (Indragiri 1), (3) *O. eugeneiatus* (Indragiri 2), (4) *O. eugeneiatus* (Indragiri 3), (5) *O. eugeneiatus* (Mentulik 1), (6) *O. eugeneiatus* (Mentulik 2), (7) *O. eugeneiatus* (Mentulik 3), (8) *O. hypophthalmus* (Indragiri 1), (9)

O. hypophthalmus (Indragiri 2), (10) *O. hypophthalmus* (Mentulik 1), (11) *O. hypophthalmus* (Mentulik 2), (12) *O. hypophthalmus* (Mentulik 3), (13) *O. hypophthalmus* (Tapung 1), (14) *O. hypophthalmus* (Tapung 2), (15) *O. hypophthalmus* (Tapung 3), (16) *C. gariepinus* (Genbank)

Variasi Nukleotida pada Sekuens *12S rRNA*

Sekuen *12S rRNA* pada ikan selais danau dan ikan selais kaporeh memiliki rata-rata substitusi transisi sebanyak 19,50% nukleotida, sedangkan rata-rata substitusi transversi yang didapat sebanyak 10,94% nukleotida. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa substitusi transisi memiliki jumlah yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan sustitusi transversi. Substitusi transisi merupakan tipe mutasi nukleotida yang cenderung menghasilkan reaksi kimia sederhana dan tidak menimbulkan banyak

perubahan jika dibandingkan dengan substitusi transversi serta bersifat *conserve* pada asam amino yang dihasilkan (Rosenberg et al., 2003). Wang et al. (2002) telah melakukan penelitian terhadap sekuens *12S rRNA* beberapa spesies ikan dan menemukan bahwa jumlah substitusi transisi lebih banyak dari pada transversi dengan perbandingan (0.51/0.27), berdasarkan penelitian tersebut telah ditemukan bahwa kedua substitusi tersebut terakumulasi pada daerah *loops* struktur sekunder *12S rRNA*.

Tabel 3. Komposisi nukleotida pada sekuens *12S rRNA* ikan selais danau (*Ompok hypophthalmus*) dan dan ikan selais kaporeh (*Ompok eugeneiatus*) asal tiga sungai paparan banjir di Provinsi Riau

Spesies	T(U)	C	A	G	Total	T-1	C-1	A-1	G-1	Pos #1	T-2	C-2	A-2	G-2	Pos #2	T-3	C-3	A-3	G-3	Pos #3
1	21,1	26,831	1,820	3,928	0,20	24,633	7,21	7,309	0,23	26,529	8,21	0,309	0,21	29,431	9,18	1,310	0,19	2,308	0,2	
2	21,2	26,831	1,320	7,926	0,20	24,433	8,21	8,308	0,23	27,428	4,21	3,310	0,20	28,631	8,19	2,308	0,20	28,731	9,19	2,307
3	21,1	26,931	1,220	8,925	0,20	24,733	4,21	8,308	0,23	27,428	4,21	3,310	0,20	28,631	8,19	2,308	0,20	28,731	6,19	5,307
4	21,2	26,831	1,320	7,926	0,20	24,433	8,21	8,308	0,23	27,428	4,21	3,310	0,20	28,631	8,19	2,308	0,20	28,731	6,19	5,307
5	21,1	27,031	1,20	8,925	0,20	24,733	4,21	8,308	0,23	27,728	4,21	0,310	0,20	28,631	5,19	5,308	0,20	28,731	5,19	5,308
6	21,2	26,931	1,220	7,926	0,20	24,733	4,21	8,308	0,23	27,428	7,21	0,310	0,20	28,631	5,19	5,308	0,20	28,731	5,19	5,308
7	21,2	27,031	1,20	7,926	0,20	24,733	4,21	8,308	0,23	27,728	4,21	0,310	0,20	28,631	5,19	5,308	0,20	28,731	5,19	5,308
8	20,8	26,932	0,20	3,926	0,21	23,534	2,21	8,307	0,22	29,028	1,21	0,310	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
9	20,8	26,931	9,20	4,927	0,21	23,534	2,21	8,307	0,22	28,928	0,21	2,311	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
10	20,9	26,832	0,20	3,927	0,21	23,134	5,21	5,307	0,22	28,928	0,21	2,311	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
11	20,9	26,832	0,20	3,927	0,21	23,134	5,21	5,307	0,22	28,928	0,21	2,311	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
12	21,0	26,832	1,20	2,926	0,21	23,134	5,21	5,307	0,22	29,028	1,21	0,310	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
13	20,9	26,831	9,20	4,927	0,21	23,134	2,21	8,307	0,22	28,928	0,21	2,311	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
14	20,9	26,832	0,20	3,927	0,21	23,134	5,21	5,307	0,22	28,928	0,21	2,311	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
15	20,9	26,832	0,20	3,927	0,21	23,134	5,21	5,307	0,22	28,928	0,21	2,311	0,20	28,233	7,18	1,309	0,20	28,233	7,18	1,309
16	19,7	27,632	7,20	0,914	0,18	25,734	2,22	0,304	0,22	27,630	3,20	1,304	0,19	29,433	7,18	0,306	0,19	29,433	7,18	0,306
Rata-rata	20,9	26,931	7,20	4,925	0,20	24,034	0,21	7,307	0,22	28,228	4,21	1,309	0,20	28,532	8,18	6,308	0,4			

Keterangan : (1) *O. bimaculatus* (Genbank), (2) *O. eugeneiatus* (Indragiri 1), (3) *O. eugeneiatus* (Indragiri 2), (4) *O. eugeneiatus* (Indragiri 3), (5) *O. eugeneiatus* (Mentulik 1), (6) *O. eugeneiatus* (Mentulik 2), (7) *O. eugeneiatus* (Mentulik 3), (8) *O. hypophthalmus* (Indragiri 1), (9) *O. hypophthalmus* (Indragiri 2), (10) *O. hypophthalmus* (Mentulik 1), (11) *O. hypophthalmus* (Mentulik 2), (12) *O. hypophthalmus* (Mentulik 3), (13) *O. hypophthalmus* (Tapung 1), (14) *O. hypophthalmus* (Tapung 2), (15) *O. hypophthalmus* (Tapung 3), (16) *C. gariepinus* (Genbank)

Jarak genetik

Jarak genetik rata-rata antara kedua spesies ikan yang diteliti adalah $\pm 0,034$, dengan jarak genetik terendah teridentifikasi pada spesies ikan selais danau (*O. hypophthalmus*) dan ikan selai kaporeh (*O. eugeneiatus*) asal Sungai Indragiri dengan nilai $\pm 0,032$. Sementara itu, jarak genetik terjauh teridentifikasi pada ikan kaporeh asal Sungai Mentulik dan spesies *Clarias gariepinus* (*out group*) dengan nilai $\pm 0,092$ (Tabel 4). Perbandingan jarak genetik intra populasi pada spesies *O. hypophthalmus* dan *O. eugeneiatus* didapatkan jarak genetik $\pm 0,001$ dan $\pm 0,002$, secara berurutan. Rendahnya jarak genetik antara spesies *O. hypophthalmus* dan *O. eugeneiatus* asal Sungai Indragiri dapat

disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah asosiasi habitat serta adanya proses hibridisasi yang terjadi pada kedua spesies tersebut. Bingpeng *et al.* (2018) menyebutkan bahwa hibridisasi yang terjadi antara dua spesies yang memiliki kedekatan filogenetik dapat menghasilkan keturunan yang mewarisi karakter kedua induknya sehingga akan menghasilkan kedekatan genetik pada kedua spesies tersebut. Tingginya nilai jarak genetik yang terjadi pada spesies *O. eugeneiatus* asal Sungai Mentulik dan spesies *C. gariepinus* disebabkan oleh perbedaan taksa pada kedua spesies ikan tersebut. *Clarias gariepinus* merupakan spesies ikan bersungut dari wilayah Afrika Utara (De Alwis *et al.*, 2023).

Tabel 4. Jarak genetik ikan selais danau (*O. hypophthalmus*) dan ikan selais kaporeh (*O. eugeneiatus*) asal sungai paparan banjir di Provinsi Riau

Aksesi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1																
2	0,075															
3	0,075	0,000														
4	0,075	0,000	0,000													
5	0,075	0,003	0,003	0,003												
6	0,075	0,003	0,003	0,003	0,000											
7	0,078	0,003	0,003	0,003	0,002	0,002										
8	0,075	0,032	0,032	0,032	0,033	0,033	0,033									
9	0,075	0,032	0,032	0,032	0,033	0,033	0,033	0,000								
10	0,074	0,033	0,033	0,033	0,034	0,034	0,034	0,002	0,002							
11	0,074	0,033	0,033	0,033	0,034	0,034	0,034	0,002	0,002	0,000						
12	0,074	0,033	0,033	0,033	0,034	0,034	0,034	0,002	0,002	0,000	0,000					
13	0,075	0,034	0,034	0,034	0,036	0,036	0,036	0,003	0,003	0,001	0,001	0,001				
14	0,074	0,033	0,033	0,033	0,034	0,034	0,034	0,002	0,002	0,000	0,000	0,000	0,001			
15	0,074	0,033	0,033	0,033	0,034	0,034	0,034	0,002	0,002	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000		
16	0,091	0,089	0,089	0,089	0,090	0,090	0,092	0,087	0,087	0,085	0,085	0,085	0,085	0,085	0,085	

Keterangan : (1) *O. bimaculatus* (Genbank), (2) *O. eugeneiatus* (Indragiri 1), (3) *O. eugeneiatus* (Indragiri 2), (4) *O. eugeneiatus* (Indragiri 3), (5) *O. eugeneiatus* (Mentulik 1), (6) *O. eugeneiatus* (Mentulik 2), (7) *O. eugeneiatus* (Mentulik 3), (8) *O. hypophthalmus* (Indragiri 1), (9) *O. hypophthalmus* (Indragiri 2), (10) *O. hypophthalmus* (Mentulik 1), (11) *O. hypophthalmus* (Mentulik 2), (12) *O. hypophthalmus* (Mentulik 3), (13) *O. hypophthalmus* (Tapung 1), (14) *O. hypophthalmus* (Tapung 2), (15) *O. hypophthalmus* (Tapung 3), (16) *C. gariepinus* (Genbank)

Hasil analisis menunjukkan bahwa jarak genetik rata-rata intraspecies baik pada spesies ikan selais danau (*O. hypophthalmus*) dan ikan selais kaporeh (*O. eugeneiatus*) pada masing masing habitat adalah $\pm 0,000$ (Tabel 4). Jarak genetik yang didapatkan pada penelitian ini tidak berbeda jauh dari penelitian gen *12S rRNA* sebelumnya yang menemukan bahwa jarak genetik rata-rata intra spesies adalah ($D = 0,03\%$) dan ($D = 0,0\%$) pada *congeneric* spesies atau

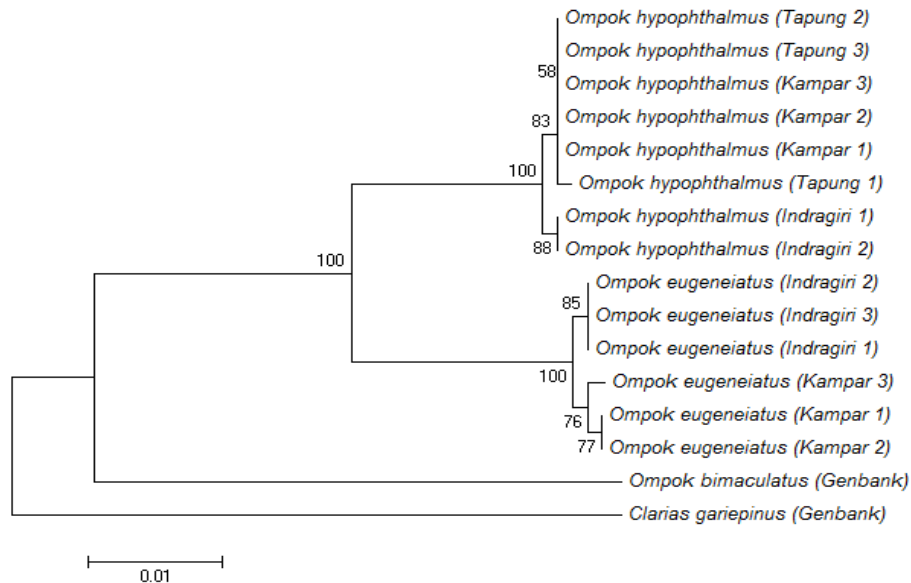
spesies yang berkerabat dekat (Cawthorn *et al.*, 2012).

Analisis filogenetik

Rekonstruksi pohon filogenetik menghasilkan empat kelompok utama, dengan nilai *bootstrap* berkisar antara 58% - 100%. Kelompok pertama terdiri dari spesies *O. hypophthalmus* yang berasal dari Sungai Mentulik, Indragiri, dan Tapung dengan nilai

bootstraps 100%. Kelompok kedua terdiri dari spesies *O. eugeneiatus* yang berasal dari sungai Indragiri dan Kampar dengan nilai bootstrap 100%, sedangkan kelompok ketiga dan keempat

merupakan pembandingan yang masing masing terdiri dari spesies *O. bimaculatus* dan *C. gariepinus* yang diambil dari data *GenBank*.



Gambar 1. Pohon filogenetik spesies *Ompok* berdasarkan sekuens gen *12S rRNA*

Hasil analisis filogenetik terhadap sekuens *12S rRNA* *O. hypophthalmus* dan *O. eugeneiatus* asal sungai paparan banjir Provinsi Riau menunjukkan bahwa sekuens *12S rRNA* berhasil memisahkan kedua spesies tersebut ke dalam dua kelompok berbeda serta memiliki akurasi pemisahan yang baik terhadap spesies pembandingan *O. bimaculatus* dan *C. gariepinus* dengan nilai *bootstraps* 100%. Nilai *bootstraps* yang lebih dari 70% merupakan nilai minimal untuk dapat menghasilkan akurasi filogram yang presisi, serta nilai bootstrap $\geq 95\%$ merupakan indikasi bahwa filogram yang dihasilkan memiliki akurasi tinggi atau merupakan bentuk dari kluster yang sebenarnya (Lemoine et al., 2018).

Spesies *O. hypophthalmus* pada kelompok pertama mengalami pola pengelompokan yang sedikit berbeda, yaitu dengan adanya penggabungan spesies *O. hypophthalmus* yang berasal dari dua habitat berbeda yaitu sungai Mentulik dan Tapung. Hasil ini mengindikasikan bahwa gen *12S rRNA* memiliki eludasi filogenetik yang kurang objektif pada spesies yang berkerabat dekat dan kurang baik jika dijadikan sebagai penanda habitat pada intra populasi. Adanya perbedaan ini juga disebabkan

oleh jarak genetik yang relatif rendah di antara kedua spesies tersebut yaitu $\pm 0,000-0,001$.

Kesimpulan

Sekuens *12S rRNA* telah berhasil diperoleh pada penelitian ini pada spesies ikan selais danau (*O. Hypophthalmus*) dari Sungai Kampar, Sungai Tapung, dan Sungai Indragiri serta ikan kaporeh (*O. Eugeneiatus*) dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri, dengan panjang 939 pb. Sekuens tersebut memiliki 803 pb *conserve site* (86,15%), 127 pb *variable site* (13,52%), 53 pb *parsimony site* (5,64%) dan ditemukan 73 pb *singleton site* (18,57%). Sekuens *12S rRNA* dapat memisahkan spesies ikan selais danau dari ikan selais kaporeh. Namun, sekuens ini tidak dapat memisahkan individu yang berasal dari habitat berbeda.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada LPPM Universitas Riau yang telah memfasilitasi penelitian serta DRPM yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Kompetitif Nasional.

Referensi

- Baştanlar, E. K. (2019). Identification of Mislabelling in Frozen Fish Fillets Based on DNA Barcoding Analysis. *Marine Science and Technology Bulletin*, 8(1): 30–35.
- Bingpeng, X., Heshan, L., Zhilan, Z., Chunguang, W., & Yanguo, W. (2018). DNA barcoding for identification of fish: species in the Taiwan Strait. *PLoS ONE*, 13(16): e0198109.
- Cawthorn D. M., Steinman H. A., & Witthuhn R. C. (2012). Evaluation of 16S and 12S Rna genes as universal markers for the identification of commercial fish species in South Africa. *Gene*, 491(1): 40-48.
- Cawthorn, D. M., Baillie, C., & Mariani, S. (2018). Generic names and mislabeling conceal high species diversity in global fisheries markets. *Conservation Letters*, 11:e12573.
- Chan, A. H. E., Saralamba, N., Saralamba, S., Ruangsittichai, J., & Thaenkham, U. (2022). The potential use of mitochondrial ribosomal genes (12S and 16S) in DNA barcoding and phylogenetic analysis of trematodes. *BMC Genomics*, 23: 104. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08302-4>.
- De Alwis, P. S., Kundu, S., Gietbong, F. Z., Amin, M. H. F., Lee, S.-R., Kim, H.-W., & Kim, A. R. (2023). Mitochondriomics of Clarias fishes (Siluriformes: Clariidae) with a new assembly of *Clarias camerunensis*: Insights into the genetic characterization and diversification. *Life*, 13(2): 482-500.
- Elvyra, R. & Roslim, D.I. (2016). *Keanekaragaman Genetik dan Barkode DNA Ikan Selais di Provinsi Riau*. Pekanbaru: UR Press.
- Elvyra, R. (2023). The DNA barcode of *cytb* on selais bungkuk fish (*Hemisilurus heterorhynchus* Bleeker) originating from Riau, Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(3): 429-435.
- Elvyra, R., Nurasih, N., & Batubara, A. S. (2023). Molecular characterization of Tapah fish (*Wallago leerii*, Bleeker 1851) from Riau Province based on Cytochrome b gen. *Depik: Jurnal Ilmu-ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*, 12(2): 243-349.
- Fukunaga, N., Shimizu, M., Teruya, S., Razali, N. N., Nakashima, S., Tomobuchi, N., Sasaki, T., & Setiamarga, D. H. E. (2021). Reassessment of the mitochondrial 12S-rRNA gene for DNA barcoding of museum specimens of shelled marine gastropods from Japan. *E3S Web of Conferences*, 322: 01028.
- Hu, Z., Wang, Z., Zhang, S., Biang, Y., & Li, C. (2015). Species identification through pyrosequencing 12S rRNA gene. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 5: e561-e563.
- Kottelat, M. (2013). The fishes of the inland waters of Southeast Asia: a catalogue and core bibliography of the fishes known to occur in freshwaters, mangroves and estuaries. *Raffles Bulletin of Zoology*, 27: 1-663.
- Lemoine, F., Entfellner, J.-B. D., Wilkinson, E., Correia, D., Felipe, M. D., De Oliveira, D., & Gascuel, O. (2018). *Nature*, 556(7702): 452-456.
- Liu, S., Shen, S., Wu, P., Li, F., Liu, X., Wang, C., Gong, Q., Wu, J., Yao, X., Zhang, H., & Shi, Y. (2019). Structural insights into dimethylation of 12S rRNA by TFB1M: indispensable role in translation of mitochondrial genes and mitochondrial function. *Nucleic Acids Research*, 47(14): 7648-7665.
- Milan, D. T., Mendes, I. S., Damasceno, J. S., Teixeira, D. F., Sales, N. G., & Carvalho, D. C. (2020). New 12S metabarcoding primers for enhanced Neotropical freshwater fish biodiversity assessment. *Scientific Reports*, 10: 17966.
- Munguia-Vega, A., Weaver, A. H., Domínguez-Contreras, J. F., & Peckham, H. (2022). Multiple drivers behind mislabeling of fish from artisanal fisheries in La Paz, Mexico. *PLoS ONE*, 17(4): e0265960.
- Panicker, V. P., Haridas, P. C., Narayanan, A., Mohammed, S., & Babu, B. C. (2019). Mitochondrial 12S rRNA gene sequence analysis, a tool for species identification. *Journal of Wildlife and Biodiversity*, 3(3): 29-35.
- Prakrongrak, N., Boongsoong, B., & Monthatong, M. (2023). Genetic diversity and phylogenetic analysis of mayfly

- Caenis (Insecta: Ephemeroptera) using Cytochrome C Oxidase I (COI) and 12s rRNA genes from Thailand. *Biodiversitas*, 24(4): 1990-1998.
- Putra, A., Wisna, U. J., & Kusumah, G. (2017). Spatial analysis of the river line and land cover changes in the Kampar Rivers estuary: The influence of the bono tidal bore phenomenon. *Indonesian Journal of spatial and region analysis*, 31(2): 220-231.
- Riduan, R. (2019). Karakterisasi Molekuler Ikan *Ompok hypophthalmus* (Blekker 1846) asal Sungai Kampar Provinsi Riau dengan Menggunakan Penanda *12S rRNA*. [skripsi]. Pekanbaru: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.
- Rosenberg, N. A., Li, L. M., Ward, R., & Pritchard, J. K. (2003). Informativeness of genetic markers for inference of ancestry. *American Journal of Human Genetic*. 73(6):1402-1422.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- Wang H. Y. & Lee S. C. (2002). Secondary stucture of mitochondrial 12S rRNA among fish and its phylogenetic applications. *Molecular Biology and Evolution*, 19(2): 138-148.
- Yang, L., Tan, Z., Wang, D., Xue, L., Guan, M., Huang, T., & Li, R. (2014). Species identification through mitochondrial Rna genetic analysis. *Science reports*, 4: 4089.
- Zhang, R., Zhu, T., & Luo, Q. (2023). The complete mitochondrial genome of the freshwater fish *Onychostoma ovale* (Cypriniformes, Cyprinidae): genome characterization and phylogenetic analysis. *Genes*. 14(6): 1227-1238.