

DNA Barcoding Analysis of Betok Fish (*Anabas testudineus*) from Kampar, Riau Based on Cytochrome Oxidase Subunit I (*COI*)

Miftahul Rahmah¹, Aldy Riau Wansyah Hasibuan², Tisha Melia³, Hapiz Al Khairi², & Dewi Indriyani Roslim^{4*}

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

²Mahasiswa Program Magister Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada, Indonesia;

³Jurusan Ilmu Komputer, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

⁴Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

Article History

Received : May 28th, 2024

Revised : June 10th, 2024

Accepted : June 28th, 2024

*Corresponding Author:

Dewi Indriyani Roslim, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia;

Email:

dewiindriyaniroslim@gmail.com

Abstract: Ikan betok (*Anabas testudineus*, Bloch 1792) is one of fishes which is a member of family Anabantidae. Betok is an endemic fish in Riau Province. The scientific study about DNA barcoding of betok fish is still rarely. This research aims to analyze the DNA barcode sequence of cytochrome c oxidase I (*COI*) on betok fish. Methods were used in this study such as sampling, total DNA extraction, PCR, electrophoresis, sequencing and data analysis. The *COI* sequence studied had size of 694 bp. The BLASTn analysis showed that the betok fish had the highest similarity of 99.7% with *A. testudineus* and the lowest 93.00% with *A. cobojinus*. There was one nucleotide that characterize the betok fish based on the *COI* sequence namely nucleotide number 309. This study may enrich the DNA barcode database of betok fish in *GeneBank*.

Keywords: *Anabas testudineus*, betok fish, *COI*, DNA barcode, Riau.

Pendahuluan

Provinsi Riau memiliki bentang alam yang unik karena terdiri dari kawasan lahan basah dan mempunyai beragam flora dan fauna (Yasir & Sutrisno, 2019). Salah satunya adalah ikan betok (*Anabas testudineus*). Ikan betok banyak dijumpai di perairan tawar Riau diantaranya Danau Tuok Tongga Siak Hulu (Fauzi *et al.*, 2022) dan Danau Sipogas Rokan Hulu (Fauziah *et al.*, 2017). Ikan betok termasuk ke dalam famili Anabantidae dikenal sebagai ikan papuyu (Banjar) (Husain *et al.*, 2022), ikan betok, betik dan puyu (Riau) (Fauziah *et al.*, 2017; Fauzi *et al.* 2022). Ikan betok memiliki nilai ekonomi yang tinggi (Husain *et al.*, 2022). Pertumbuhan ikan betok cukup lambat, namun minat dan penangkapan ikan betok sangat tinggi (Ndobe, 2020). Informasi mengenai taksonomi ikan betok berdasarkan karakter morfologi telah dilaporkan

di Riau. Namun, identifikasi spesies berdasarkan karakter morfologi dapat menjadi sulit dan dapat menimbulkan kesalahan (Fahmi *et al.*, 2016).

Saat ini telah dikembangkan teknik analisis barcoding DNA untuk tujuan mengidentifikasi organisme secara molekuler menggunakan sekuens barcode DNA yang berukuran pendek (Bingpeng *et al.*, 2018; Roslim *et al.*, 2023). Kemampuan identifikasi yang berkelanjutan terletak pada pembangunan sistem yang menggunakan sekuens barcode DNA. Barcode DNA berdasarkan gen sitokrom c oksidase subunit I (*COI*) pada genom mitokondria telah diterapkan secara luas dalam identifikasi spesies dan studi keanekaragaman ikan air tawar (Tsoupas, *et al.*, 2022). Barcode *COI* sangat efektif digunakan dalam identifikasi spesies termasuk beberapa spesies samar (Neiva *et al.*, 2023).

Efisiensi gen *COI* pada genom mitokondria telah dibuktikan dalam banyak penelitian, Solihah *et al.* (2020) telah berhasil mengidentifikasi 65 taksa yang terdiri dari 61 dari 79 spesies Rasborinae yang diketahui di Sundaland. Selanjutnya penelitian Muchlisin *et al.*, (2022) telah memvalidasi dua spesies dari genus *Tor* (Cyprinidae) *Tor* yang terdapat di perairan Aceh: *Tor tambra* dan *T. tambroides*. Elvyra & Solihin (2015) melaporkan jarak genetik ikan *Kryptopterus limpok* dari Sungai Kampar dengan Sungai Indragiri dan pohon filogeni memperlihatkan bahwa *K. limpok* dari Sungai Kampar dengan Sungai Indragiri membentuk satu kelompok. Penelitian Wang *et al.* (2018) berhasil mengidentifikasi 41 spesies ikan yang termasuk dalam 9 ordo Scorpanifoemes, pesciformes, pleuronectiformes, anguilliformes, osmeriformes, lophiiformes, tetraodontiformes, clupeiformes dan rajiformes. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis barkode DNA pada ikan betok dari Kampar, Riau menggunakan gen *COI*.

Bahan dan Metode

Bahan penelitian

Sampel jaringan otot ikan betok yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Desa Sawah Baru, Kecamatan Kampar, Kabupaten Kampar, Provinsi Riau. Primer yang digunakan untuk proses amplifikasi yaitu Fish-F1 5'-TCA ACC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3', dan Fish-R1 5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA-3 (Ward *et al.*, 2005).

Metode penelitian

Jaringan otot ikan betok diambil untuk ekstraksi DNA total menggunakan *Genomic DNA Mini Kit (Tissue)* dengan prosedur mengikuti intruksi pabrik (*GeneAid*). DNA total kemudian diamplifikasi menggunakan pasangan primer Fish-F1 dan Fish-R1. Amplifikasi menggunakan teknik PCR dimulai dengan 1 siklus pre-PCR pada 95°C selama 3 menit, kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri dari tahap denaturasi pada 95°C selama 30 detik, penempelan primer pada 54°C selama 30 detik, dan elongasi pada 72°C selama 60 detik. Tahap akhir adalah pasca PCR pada 72°C selama 10 menit. Keberhasilan proses PCR diperiksa

dengan menggunakan teknik elektroforesis. Elektroforesis dilakukan pada gel agarosa 1% yang dilarutkan dengan 50 ml larutan TBE 1X, kemudian ditambahkan 1,5 µl etidium bromida dalam buffer TBE 1X, pada tegangan 50 volt selama 45 menit. Setelah itu, sebanyak 40 µl larutan produk PCR dan 30 µl pasangan primer per produk PCR pada tabung berbeda, dikemas dan dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia sebagai perantara, untuk proses sekuensing yang dilakukan di First Base Laboratories, Malaysia (Roslim *et al.*, 2021).

Analisis data

Data sekuens DNA dianalisis secara bioinformatika menggunakan program BioEdit, BLASTn, dan MEGA versi 11 (Tamura *et al.*, 2021).

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis BLASTn

Sekuens DNA *COI* ikan betok telah diperoleh pada penelitian ini dengan ukuran 694 pb pada semua sampel ikan yang diuji. Sekuens tersebut telah didaftarkan di *GeneBank* dengan nomor aksesori OR898902 dan OR898903 (Gambar 1).

```
>OR898902 | Anabas testudineus DIR148 cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds; mitochondrial
AAAGATATCGGCACCCCTCTATTTAGTCTTCGGTGCTTGAGCTGGAATAGTGGGCACCCGCT
CTAAGCCTTCTAATTCGTGCTGAATTAAGCCAGCCAGGCTCCCTTTTAGGTGACGACCCAG
ATTTTAAATGTAATCGTCAACAGCACACGCTTTCGTAATGATTTTCTTTATAGTAATGCCA
ATGATAATCGGGGCTTCGGAACCTGACTAGTTCGCCCTAATGATCGGGCACCAGATATG
GCTTCCCTCGAATAACAACATAAGCTTCTGACTCCTTCCACCCCTTTCTCCTCTCTC
CTTGCTCTGCTGCTAGTAGAAGCCGAGCAGGACAGTGAACCGTTTATCCCCCTTA
GCCAGCAACCTAGCCACGCGAGGACATCCGTAGATTTAACCATCTTTCCCTACACTTG
GCCGGAGTTTCTCTATCTTAGGTGCAATTAACCTCATACACAATTTAATACATAAAA
CCTCCTGCCGCTCAATATCAACACCCCTGTTGCTGATCTGTTCTTATTACCGCT
GTTCTCTCTCCTCCTCCCTCCCGTCTGCTGCTGGAATTAATGCTTCTTACAGAT
CGAACCTGAACACCTCCTTCTTTGACCCAGCAGGCGGAGAGATCCAATCTTTACCAA
CACCTATTCTGATTCTTCGGTCACCCCTGAAGTA
```

```
>OR898902 | Anabas testudineus DIR149 cytochrome oxidase subunit I gene, partial cds; mitochondrial
AAAGATATCGGCACCCCTCTATTTAGTCTTCGGTGCTTGAGCTGGAATAGTGGGCACCCGCT
CTAAGCCTTCTAATTCGTGCTGAATTAAGCCAGCCAGGCTCCCTTTTAGGTGACGACCCAG
ATTTTAAATGTAATCGTCAACAGCACACGCTTTCGTAATGATTTTCTTTATAGTAATGCCA
ATGATAATCGGGGCTTCGGAACCTGACTAGTTCGCCCTAATGATCGGGCACCAGATATG
GCTTCCCTCGAATAACAACATAAGCTTCTGACTCCTTCCACCCCTTTCTCCTCTCTC
CTTGCTCTGCTGCTAGTAGAAGCCGAGCAGGACAGGTTGAACCGTTTATCCCCCTTA
GCCAGCAACCTAGCCACGCGAGGACATCCGTAGATTTAACCATCTTTCCCTACACTTG
GCCGGAGTTTCTCTATCTTAGGTGCAATTAACCTCATACACAATTTAATACATAAAA
CCTCCTGCCGCTCAATATCAACACCCCTGTTGCTGATCTGTTCTTATTACCGCT
GTTCTCTCTCCTCCTCCCTCCCGTCTGCTGCTGGAATTAATGCTTCTTACAGAT
CGAACCTGAACACCTCCTTCTTTGACCCAGCAGGCGGAGAGATCCAATCTTTACCAA
CACCTATTCTGATTCTTCGGTCACCCCTGAAGTA
```

Gambar 1. Sekuens DNA *COI* ikan betok (*Anabas testudineus*) asal Riau

Analisis BLASTn sekuens tersebut menunjukkan bahwa ikan betok memiliki kemiripan tertinggi, yaitu 99,70%, dengan *A.*

testudineus (Genbank: MN640071.1) dengan query cover 97% dan e-value 0%. Sementara itu, kemiripan terendah dengan ikan *A. cobojius* (Genbank: OL873549.1) yaitu 92,69% (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nama spesies ikan betok asal Riau telah berhasil diverifikasi dengan menggunakan barkode DNA *COI* sebagai *A. testudineus*.

BLAST merupakan alat yang digunakan dalam Studi identifikasi berdasarkan gen dengan pencarian homologi, BLAST bergantung pada kesamaan sekuens subjek (*query*) (Wang *et al.* 2021). Penentuan hasil BLAST dalam kemiripan sekuens dengan memperhatikan beberapa data

diantaranya: *query cover*, *E-value* dan persentase identiti (Torkian *et al.*, 2020). Statistik BLAST menampilkan kualitas dari sekuens subjek yang memiliki beberapa pensejajaran terpisah. Nilai *E-value* sangat diperhitungkan dalam analisis BLAST, untuk membantu menentukan apakah sekuens subjek adalah homolog otentik dari keluarga gen yang ditargetkan. Nilai *E-value* mengacu pada jumlah positif palsu yang diharapkan (Nestor *et al.*, 2023). Nilai *query cover* dan persentase identiti yang tinggi (100 %) serta nilai *E-value* semakin mendekati 0 akan semakin baik (Roslim *et al.*, 2023).

Tabel 1. Hasil analisis BLASTn sekuens DNA *COI* ikan betok (*Anabas testudineus*) asal Riau

Aksesi	Query Cover (%)	E value	Identity (%)	Accession
<i>Anabas testudineus</i> Haplotype H3	97	0,0	99,70	MN640071.1
<i>Anabas testudineus</i>	98	0,0	99,27	OM674614.1
<i>Anabas testudineus</i> Voucher KT4_13	97	0,0	99,26	OP491866.1
<i>Anabas testudineus</i> Voucher BIF3719	94	0,0	99,70	KU692244.1
<i>Anabas testudineus</i> Voucher BIF3720	94	0,0	99,70	KU692242.1
<i>Anabas testudineus</i> Voucher BIF3540	94	0,0	99,70	KU692241.1
<i>Anabas testudineus</i> Voucher BIF3541	94	0,0	99,70	KU692240.1
<i>Anabas testudineus</i> Voucher BLF-AT2	94	0,0	99,85	MG407353.1
<i>Anabas cobojius</i> Voucher FBRC ZSI	96	0,0	92,69	OL873549.1
<i>Anabas cobojius</i> Voucher ELRI	93	0,0	93,79	MK213553.1

Variasi nukleotida pada ikan betok

Hasil pensejajaran menunjukkan bahwa terdapat variasi nukleotida pada sekuens DNA *COI* di antara aksesi yang diteliti. Terdapat 52 variasi nukleotida dan satu diantaranya merupakan nukleotida penciri bagi ikan betok, yaitu pada basa ke-309. Pada posisi tersebut, ikan betok asal Riau memiliki basa A sementara aksesi lainnya yang diteliti memiliki basa G (Tabel 2). Variasi tersebut disebabkan oleh mutasi dari 49 substitusi transisi dan 3 substitusi tranversi. Mutasi substitusi transisi adalah perubahan antara basa A (Adenin) dan G (Guanin) atau sesama purin, atau antara basa C (Sitosin) dan T (Timin) atau sesama pirimidin. Mutasi transversi adalah perubahan antara basa purin dengan pirimidin.

Berbagai faktor seperti penyimpangan genetik, faktor ekologi, dan fleksibilitas perkembangan dapat menyebabkan diversifikasi

dan spesiasi tingkat populasi, yang menghasilkan variasi dalam fitur genotipe dan fenotipe sehingga menyebabkan mutasi pada genom ikan (Lostrom *e al.*, 2015). Menurut Quadroni *et al.* (2023) perubahan lingkungan akibat aktivitas manusia menyebabkan terjadinya perubahan pada DNA mitokondria ikan famili Cyprinidae.

Analisis sekuens DNA *COI* pada ikan lais janggut (*Kryptopterus limpok*) juga menunjukkan banyak terjadinya substitusi transisi (Elvyra & Solihin, 2015), demikian pula pada ikan kelabau (*Osteocillus* spp.) (Asiah *et al.*, 2020) dan 85 spesies ikan dari 11 famili (Pleuronectiformes, Tetraodontiformes, Scorpaeniformes, Gasterosteiformes, Clupeiformes, Mugiliformes, Lophiiformes, Myctophiformes, Siluriformes, Anguilliformes, Perciformes) di perairan Yunani (Bingpeng *et al.*, 2018).

Tabel 2. Variasi nukleotida pada sekuens DNA *COI*

No	Nomor nukleotida (vertikal)																									
	2	3	5	5	6	0	1	3	5	6	8	8	9	9	9	0	6	8	0	0	0	0	1	2	2	
	3	1	4	7	8	6	5	1	2	3	5	3	4	0	5	8	4	1	2	0	3	6	9	8	1	4
1	C	A	C	A	T	G	A	C	G	A	G	A	G	C	G	C	A	T	T	A	A	A	A	C	T	T
2
3
4
5
6
7
8
9	G
10
11	T	G	T	G	C	A	.	T	A	G	A	T	A	.	A	T	G	C	C	T	G	.	G	T	C	C
12	T	G	T	G	C	A	.	T	A	G	A	T	A	.	A	T	G	C	C	T	G	.	G	T	C	C

No	Nomor nukleotida (vertikal)																										
	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6
	2	3	7	8	9	9	1	1	3	5	6	7	8	9	0	1	2	2	3	6	6	7	0	0	1	1	
	4	0	8	5	3	9	4	7	2	6	3	4	4	2	1	6	2	8	1	1	7	6	6	9	2	8	
1	T	C	C	C	G	A	A	T	T	T	G	T	C	C	T	T	T	C	C	G	T	G	A	C	A	T	
2
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	C	T	T	T	A	G	G	C	C	C	.	C	T	T	C	A	C	T	T	A	C	A	G	T	G	C	
12	C	T	T	T	A	G	G	C	C	C	.	C	T	T	C	A	C	T	T	A	C	A	G	G	.	C	

Keterangan: 1. *Anabas testudineus* DIR 148 asal Riau, 2. *A. testudineus* DIR 149 asal Riau, 3. *A. testudineus* haplotype H3, 4. *A. testudineus*, 5. *A. testudineus* voucher KT4_13, 6. *Anabas testudineus* voucher BIF3719, 7. *A. testudineus* voucher BIF3720, 8. *A. testudineus* voucher BIF3540, 9. *A. testudineus* voucher BIF3541, 10. *A. testudineus* voucher BLF-AT2, 11. *A. cobojius* voucher FBRC ZSI, 12. *A. cobojius* voucher ELRI, (*) Angka tersusun secara vertikal menunjukkan posisi nukleotida yang mengacu pada ikan betok asal Riau. Tanda titik (.) menunjukkan bahwa nukleotida pada posisi tersebut sama dengan ikan betok asal Riau. Nukleotida berwarna kuning merupakan nukleotida kritis penciri ikan betok asal Riau.

Pohon Filogenetik

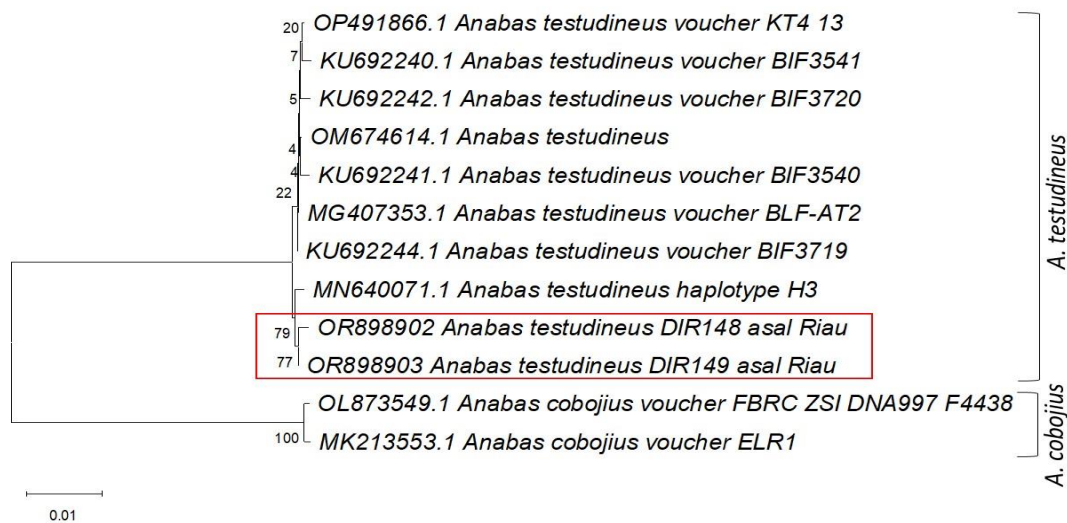
Pohon filogenetik menunjukkan bahwa ikan betok yang diteliti membentuk satu kelompok dengan ikan dari spesies *A. testudineus* dan terpisah dari spesies *A. cobojius* (Gambar 2). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa barcode DNA COI mampu membedakan dan mengelompokkan secara jelas spesies ikan yang berbeda ke dalam kelompok yang terpisah. Nilai bootstrap dengan 1000 kali ulangan dengan 10 kali ulangan penambahan taksa secara bertahap diperuntukan agar cabang pada pohon filogenetik

stabil (Naranjo *et al.*, 2024). Pohon filogenetik memiliki cabang ‘*clade*’. *Clade* atau cabang akan mengelompokkan taksa yang sama berdasarkan habitat (Hu *et al.*, 2013).

Analisis dengan metode *neighbor-joining* (NJ) dalam merekonstruksi pohon (filogenetik) dari data jarak evolusi sehingga menghasilkan evolusioner dari data tersebut. Algoritma yang digunakan dalam membentuk *Neighbor joining Tree* dengan menghubungkan bagian terminal berdasarkan kesamaan setiap individu yang di periksa secara keseluruhan, dan terus digunakan

secara luas dengan efisien dan cepat secara komputasi. Rekonstruksi pohon filogenetik dari

algoritma NJ lebih efisien untuk representasi hubungan evolusi (Cardoso *et al.*, 2024).



Gambar 2. Pohon filogenetik berdasarkan sekuens DNA COI

Kesimpulan

Sekuens DNA COI ikan betok asal Riau telah diperoleh dengan ukuran 694 pb. Ikan betok asal Riau memiliki kemiripan paling tinggi (99,70%) dengan *Anabas testudineus* Haplotype H3. Satu nukleotida penciri ikan betok asal Riau dijumpai pada nukleotida ke-309. Penggunaan barcode DNA COI berhasil memverifikasi nama ilmiah ikan betok asal Kampar, Provinsi Riau sebagai *Anabas testudineus*, famili Anabantidae.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada LPPM Universitas Riau yang telah memfasilitasi penelitian ini.

Referensi

- Asiah, N., Junianto, J., Yustiati, A., Sukendi, S., Fahmi, M. R., Muchlisin, Z. A., Kadapi, M., Windarti, W. (2020). Biometric and genetic differences in kelabau (*Osteochilus* spp.) as revealed using cytochrome c oxidase subunit 1. *F1000Research*, 8: 177. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17319.3>.
- 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198109>.
- Cardoso, P., Guillerme, T., Mammola, S., Matthews, T. J., Rigal, F., Graco-Roza, C., Stahls, G., & Carvalho, J. C. (2024). Calculating functional diversity metrics using neighbor joining trees. *Ecography*, 2024: e07156. <https://doi.org/10.1111/ecog.07156>
- Elvyra, R., Solihin, D. D. (2015). Runutan gen cytochrome c oxydase 1 ikan lais janggut, *Kryptopterus limpok* (Bleeker, 1852) dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri, Provinsi Riau. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 15(3): 235-243. DOI: 10.32491/jii.v15i3.59.
- Fahmi, M. R., Prasetyo, A. B., Kusumah, R. V., Hayuningtyas, E. P., Ardi, I. (2016). Barcoding DNA ikan hias lahan gambut. *Jurnal Riset Akuakultur*, 11(13): 137-145. DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/jra.11.2.2016.137-145>.
- Fauzi, M., El Fajri, N., Saputra, W., Hendrizal, A. (2022). Aspek biologi ikan betok (*Anabas testudineus*) pada Danau Tuok Tonga (Oxbow Lake) Provinsi Riau. *Prosiding Seminar Nasional Ikan XI*, 1(1): 135-144.

- Fauziah, P., Purnama, A. A., Yolanda, R., Karno, R. (2017). Keanekaragaman Ikan (Pisces) di Danau Sipogas Kabupaten Rokan Hulu Provinsi Riau. *Jurnal Biologi Udayana*, 21(1), 17-20. DOI: <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2017.vol21.i01.p04>
- Hu, D. M., Liu, F., Cai, L. (2013). Biodiversity of aquatic fungi in China. *Mycology*, 4(3): 125–168. <https://doi.org/10.1080/21501203.2013.835752>
- Husain, M. F., Limonu, M., Antuli, Z. (2022). Karakteristik fisikokimia kerupuk tepung jagung dengan penambahan daging ikan betok (*Anabas testudineus*). *Jambura Journal of Food Technology*, 4(2): 139-148. DOI: <https://doi.org/10.37905/jjft.v4i2.13899>
- Lostrom, S., Evans, J. P., Grierson, P. F., Collin, S. P., Davies P. M., Kelley, J. L. (2015). Linking stream ecology with morphological variability in a native freshwater fish from semi-arid Australia. *Ecology and Evolution*. 5(16): 3272–3287. DOI: 10.1002/ece3.1590
- Muchlisin, Z. A., Fadli, N., Batubara, A. S., F. M. Nur, M. I., Muhammadar, A. A., Efizon, D., Elvyra, E., Siti-Azizah, M. N. (2022). Taxonomic diversity of the genus *Tor* (Cyprinidae) from Aceh Waters in Indonesia based on cytochrome oxidase sub-unit I (*COI*) Gene. *Zoodiversity*, 56(3): 195–202. DOI: <https://doi.org/10.15407/zoo2022.03.195>
- Naranjo, A. A., Edwards, C. E., Gitzendanner, M. A., Soltis, D. E., Soltis, P. S. (2024). Abundant incongruence in a clade endemic to a biodiversity hotspot: Phylogenetics of the scrub mint clade (Lamiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 192: 108014. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2024.108014>
- Neiva, J., Bermejo, R., Medrano, A., Capdevila, P., Milla-Figueras, D., Afonso, P., Ballesteros, E., Sabour, B., Serio, D., Nobrega, E., Soares, J., Valdazo, J., Tuya, F., Mulas, M., Israel, A., Sadogurska, S. S., Guiry, M. D., Pearson, G. A., Serrão, E. A. (2023). DNA barcoding reveals cryptic diversity, taxonomic conflicts and novel biogeographical insights in *Cystoseira* s.l. (Phaeophyceae). *European Journal of Phycology*, 58(3), 351-375. <https://doi.org/10.1080/09670262.2022.2126894>
- Nestor, B. J., Bayer, P. E., Fernandez, C. G. T., Edwards, D., Finnegan, P. M. (2023). Approaches to increase the validity of gene family identification using manual homology search tools. *Genetica*, 151(6): 325-338. DOI: 10.1007/s10709-023-00196-8
- Quadroni, S., De Santis, V., Carosi, A., Vanetti, I., Zaccara, S., Lorenzoni, M. (2023). Past and present environmental factors differentially influence genetic and morphological traits of italian barbels (Pisces: Cyprinidae). *Water*, 15(2): 325. <https://doi.org/10.3390/w15020325>
- Rafli, Nasmia, Madinawati, Ndobe, S. (2020). Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan betok (*Anabas testudineus*) yang diberikan pakan komersial dengan frekuensi berbeda. *KAUDERNI: Journal of Fisheries, Marine and Aquatic Science*, 2(2): 133-138. DOI: <https://doi.org/10.47384/kauderni.v2i2.47>
- Roslim DI, Putra YO, Dewi YM, Bago Y, Sitohang H, Herman, Fitmawati, Sofiyanti N. (2021). First record of five DNA barcodes on nothospecies cocor bebek (*Kalanchoe × laetivirens*). *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 53(2): 263-377.
- Roslim, D.I., Herman, Adiwirman, Lestari, W. (2023). *Barkoding DNA Jilid 1*. Yogyakarta: Penerbit KBM Indonesia.
- Sholihah, A., Delrieu-Trottin, E., Sukmono, T., Dahrudin, H., Risdawati, R., Elvyra, R., Wibowo, A., Kustianti, K., Busson F., Sauri, S., Nurhaman, U., Dounias, E., Zein, M. S. A., Fitriana, Y., Utama, I. V., Muchlisin, Z. A., Agnese, J.-F., Hanner, R., Wowor, D., Steinke, D., Keith, P., Ruber, L., Hubert, N. (2020). Disentangling the taxonomy of the subfamily Rasborinae (Cypriniformes, Danionidae) in Sundaland using DNA barcodes. *Scientific Reports*, 10: 2818. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59544-9>
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis

- Version 11. (2021). *Molecular Biology and Evolution*, 38(7): 3022-3027. DOI: 10.1093/molbev/msab120
- Torkian, B., Hann, S., Preisner, E., Norman, R. S. (2020). BLAST-QC: automated analysis of BLAST results. *Environmental Microbiome*, 15: 1-8. DOI: 10.1186/s40793-020-00361-y
- Tsoupas, A., Papavasileiou, S., Minoudi, S., Gkagkavouzis, K., Petriki, O., Bobori, D., Koutrakis, E., Leonardos, I., Karaiskou, N., Triantafyllidis, A. (2022). DNA barcoding identification of Greek freshwater fishes. *PLOS One*, 17(1): e0263118. DOI: 10.1371/journal.pone.0263118
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., Hebert, P. D. N. (2005). DNA Barcoding Australia's Fish Species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 360(1462): 1847–1857. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1716>
- Wang, L., Wu, Z., Liu, M., Liu, W., Zhao, W., Liu, H., You, F. (2018). DNA barcoding of marine fish species from Rongcheng Bay, China. *PeerJ*, 6: e5013. DOI 10.7717/peerj.5013
- Wang, L., Lei, T., Han, G., Yue, J., Zhang, X., Yang, Q., Ruan, H., Gu, C., Zhang, Q., Qian, T., Zhang, N., Qian, W., Wang, Q., Pang, X., Shu, Y., Gao, L., Wang, Y. (2021). The chromosome-scale reference genome of *Rubus chingii* Hu provides insight into the biosynthetic pathway of hydrolyzable tannins. *The Plant Journal*, 107(5): 1466–1477. <https://doi.org/10.1111/tpj.15394>
- Yasir, S., Sutrisno, E. (2019). Potensi dan keragaman hayati cagar alam Bukit Bungkok. *Jurnal Zona*, 3(1): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.52364/jz.v3i1.32>