



Variasi Sekuens Gen Cytochrome b untuk DNA Barcoding Ikan Wader Pari (*Rasbora* sp.)

*Sequence Variation of Cytochrome b Gene for DNA Barcoding of Wader Stingray (*Rasbora* sp.)*

Dandi Setio Wibowo^{1,2*}, Muhammad Ridho^{1,2}, Mokhamad Ridho Al Kharis^{1,2}

¹¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman

²Departemen Riset, HIMAKUA, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

*Corresponding Author: dandi.wibowo@mhs.unsoed.ac.id

Diterima: 09 Desember 2024, Disetujui: 30 Desember 2024

ABSTRAK

Sitokrom b merupakan mtDNA yang sering digunakan sebagai bahan DNA barcoding untuk berbagai spesies ikan. Ikan wader pari dari subfamili rasborinae masih memerlukan kajian molekuler untuk mengetahui variasi keragaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi yang digunakan Cyt b sebagai DNA Barcoding ikan Wader Pari. Metode penelitian ini secara *in silico* menggunakan komputer, diawali dengan mendapatkan sekuens melalui GeneBank dari website NCBI yang diakses pada 6 Desember 2024. Kemudian dilakukan sekuens multiple alignment, similarity sekuens dan analisis filogenetik menggunakan software genious. Hasil menunjukkan berdasarkan tingkat kesamaan yang berkisar 88-97%, Cyt b sangat berpotensi untuk digunakan sebagai DNA Barcoding Ikan Wader Pari. Hasil filogenetik menunjukkan variasi genetika ikan Wader yang cukup beragam. Filogenetik terdapat 3 clade yang menandakan variasi sekuens ikan wader. Desain primer juga dilakukan untuk mengetahui potensi produk primer yang dapat digunakan sebagai primer universal. Perlunya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penggunaan Cyt b sebagai DNA barcoding Ikan Wader Pari, melalui metode PCR maka potensi Cyt b dan pengetahuan variasi pada populasi *Rasbora* dapat dikaji...

Kata Kunci: Cyt b, DNA, Ikan Wader, Filogenetik

ABSTRACT

*Cytochrome b is an mtDNA that is often used as DNA barcoding material for various fish species. Stingray waders from the Rasborinae subfamily still require molecular studies to determine variations in diversity. This study aims to determine the potential used by Cyt b as DNA Barcoding of Wader Pari fish. This research method is in silico using a computer, starting with obtaining sequences through GeneBank from the NCBI website accessed on 6 December 2024. Then multiple alignment sequences, sequence similarity and phylogenetic analysis were carried out using genious software. The results show that based on the level of similarity ranging from 88-97%, Cyt b has the potential to be used as DNA Barcoding for Stingray Wader Fish. Phylogenetic results show that the genetic variation of wader fish is quite diverse. Phylogenetics there are 3 clades that indicate variations in wader fish sequences. Primer design is also carried out to determine the potential of primer products that can be used as universal primers. Further research is needed to determine the use of Cyt b as DNA barcoding of stingray waders, through the PCR method, the potential of Cyt b and knowledge of variation in the *Rasbora* population can be studied.*

Keywords: Cyt b, DNA, Wader Fish, Phylogenetics

PENDAHULUAN

Identifikasi taksonomi berbasis genetik merupakan teknik yang menggabungkan biologi molekuler dengan bioinformatika, menggunakan urutan DNA sebagai 'barcode' untuk membedakan organisme. Banyak penelitian telah menunjukkan efektivitas teknologi barcode DNA; ini telah digunakan secara luas di berbagai bidang, seperti identifikasi spesies, penemuan spesies baru atau samar, filogeni, evolusi molekuler, survei, penilaian keanekaragaman hayati, inspeksi karantina bea cukai, dan biologi konservasi (Jin, Yu, Yuan, dan Du, 2021). Analisis DNA yaitu melakukan implifikasi segmen DNA dari cytochrome b dan menentukan sekuensing. DNA sekuensing satu satunya metode untuk mengidentifikasi pasangan basa dengan tepat antara individu yang berbeda dan memungkinkan untuk menyimpulkan hubungan evolusi. Selain itu teknik ini sangat mudah, cepat, efisien sehingga banyak digunakan sebagai aplikasi dasar (Achmad, Djamhur, Fabanyo, dan Akbar, 2019).

Metode yang digunakan untuk analisis DNA adalah dengan mengamplifikasi suatu segmen DNA dari sitokrom b (Cyt b) dan mengurutkannya. Sitokrom b adalah bagian dari DNA mitokondria (mtDNA) yang terlibat dalam transpor elektron dalam mitokondria (Fuadi, Lastuti, dan Andriyono, 2022). Variasi sekuens pada Cyt b membuat gen ini sering digunakan untuk membandingkan spesies dalam genus atau famili yang sama. Berdasarkan urutan nukleotida gen Cyt b, wilayah ini dapat memberikan informasi filogenetik pada tingkat interspesifik (Achmad et al., 2019). Berdasarkan ciri tersebut, gen Cyt b dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan

mengenali hubungan antar spesies wader pari dari subfamili rasborinae.

Variasi sekuens untuk evaluasi gen mtDNA telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Gen COI memiliki potensi yang baik untuk digunakan sebagai DNA barcoding ikan Tuna. Persentase kesamaan gen COI berkisar 98,5 – 99,8%. Meski terdapat 2 spesies yang memiliki 100% kesamaan. Tetapi, hasil tersebut layak dipertimbangkan gen COI (Cytochrome Oxidase I) untuk digunakan sebagai DNA Barcoding (Beivy J Kolondam, 2020). Pada penelitian lanjutan oleh gen 16s Rrna menunjukkan hasil yang sangat baik. Kesamaan sekuens pada 96 – 99,8% dan tidak ada persentase kesamaan 100% (Beivy Jonathan Kolondam, 2022). Penelitian lain dan menggunakan gen Cyt b dengan tingkat kesamaan antara sesama spesies tuna bluefin berkisar antara 96,5 sampai 99,6%. Tingkat kesamaan antara sesama spesies tuna Yellowfin berkisar 98,8% sampai 99,3%. Tingkat kesamaan antara sesama spesies tuna jenis lain berkisar 89,6% sampai 94,6% (Beivy Jonathan Kolondam, 2020). Tentunya gen Cyt b juga perlu dikaji untuk mengetahui potensinya sebagai DNA barcoding ikan. Beberapa spesies ikan air tawar juga masih perlu diidentifikasi secara molekuler untuk mengetahui keragaman genetik dari spesies tersebut.

Subfamili rasborinae merupakan kelompok teleost yang terdiri banyak spesies. Menurut Katalog Ikan Eschmeyer (Akademi Ilmu Pengetahuan California), terdiri dari 11 genera dengan 124 spesies otentik. Namun, klasifikasi dalam subfamili ini sebagian besar masih belum terselesaikan. Beberapa spesies telah diganti namanya, dijelaskan ulang, atau digabungkan selama bertahun-tahun, sementara beberapa spesies tetap tidak

pasti sebagai valid, samar, atau tidak diklasifikasikan. Oleh karena itu, jumlah spesies di masing-masing genera dan genera itu sendiri masih belum jelas. Mengenali hubungan dalam subfamili Rasborinae telah menjadi masalah yang menarik selama beberapa dekade, mulai dari studi morfologi hingga studi filogenetik yang dikalibrasi waktu atau penyesuaian untuk mengetahui waktu evolusi. Namun, klasifikasi ini rumit karena keanekaragaman spesies yang tinggi dengan sejumlah besar keanekaragaman samar. Beberapa spesies *Rasbora* telah dikelompokkan yang kemudian diperbarui dan direvisi (Profant, Jørgensen, Austad, Babiak, dan Johansen, 2024). Tang et al. (2010) merekonstruksi sistematika kelompok ini menggunakan Cyt b mitokondria dan COI, bersama dengan opsin nuklir dan gen pengaktifan rekombinasi 1 (RAG1). Sholihah et al. (2021) juga meninjau kembali hubungan dalam subfamili ini menggunakan unit taksonomi operasional molekuler (MOTU), dan membagi subfamili Rasborinae menjadi empat clade yang berbeda.

Rasbora sp. ditemukan di Asia Tenggara, termasuk Indonesia, terutama di pulau Sumatera, Jawa, Kalimantan, Bali, dan Lombok. Secara geografis, daratan Indonesia terpisah dari pegunungan dan perairan pedalaman, yang berfungsi sebagai gudang plasma nutfah, termasuk keanekaragaman ikan rasbora. *Rasbora arundinata*, *Rasbora haru*, *Rasbora maninjau*, dan *Rasbora bindumatoga* adalah empat spesies baru yang ditemukan di Sumatera Utara, Indonesia. Namun, keanekaragaman ini terancam punah akibat penangkapan ikan yang berlebihan, dan budidaya ikan merupakan salah satu metode yang menopang stok ikan asli *Rasbora lateristriata*, juga dikenal sebagai wader pari, adalah ikan yang populer di Jawa. Ikan ini memiliki rasa yang lezat dan tinggi protein (15,75%–47,54%), lemak (12,36%), ferrum (2,9%), dan seng

(3,46%). Budidaya pari wader adalah cara untuk memenuhi permintaan pasar. *R. lateristriata* telah berhasil dibudidayakan di laboratorium, tempat penetasan, dan dalam skala besar.

Informasi mengenai keragaman spesies ikan wader pari masih terus dikembangkan. Belum ada upaya untuk mengetahui keragaman spesies Ikan Wader atau *Rasbora* sp. melalui pendekatan molekuler menggunakan Sitokrom b sebagai barcode DNA. Sehingga, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman spesies pada mtDNA sitokrom b sebagai potensinya untuk digunakan sebagai Barcode DNA Ikan Wader.

MATERI DAN METODE

DNA Mitokondria Spesimen Ikan Wader Pari

Penelitian dilakukan secara in silico menggunakan komputer dengan sistem operasi windows 11 dan aplikasi Microsoft Edge Versi 131.0.2903.70 (64-bit). Penelitian diawali dengan memperoleh informasi sekuens ikan Wader Wader pada 6 Desember 2024 dari website NCBI (National Center for Biotechnology Information) yang diakses secara online (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Website diakses lalu BLAST atau bisa halaman <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> kemudian pilih nukleotida BLAST (BLASTn). Data sekuens yang dihasilkan sebelumnya dimasukkan dan dipilih database yang diinginkan apakah nukleotida atau ESTs. Program yang diinginkan dipilih (ketiganya dapat dicoba dan lihat perbedaan hasilnya) untuk kemudian Blast. Beberapa sequence dipilih, baik complete cds atau partial cds dan sebaiknya tidak memilih complete genome. Download beberapa sequence yang telah dipilih dengan klik download dan pilih fasta menghasilkan 100 spesimen dari spesies Ikan Wader. Sekuens gen Cyt b

dari spesimen Ikan Wader Pari didapatkan dengan melakukan BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) terhadap sekuens pada spesies *Rasbora lateristriata* nomor aksesori LC131274.1 (Kusuma, Ratmuangkhwang, dan Kumazawa, 2016). 10 spesies berbeda dipilih dan DNA Mitokondria semua sekuens untuk analisis telah tercantum pada tabel 1. Terdapat 10 spesimen dari spesies ikan wader pari yang berbeda, lengkap dengan nomor aksesori GenBank.

Penjajaran Sekuens dan Analisis Spesimen

Penjajaran sekuens dilakukan menggunakan algoritma MUSCLE yang terintegrasi dalam software Geneious versi 2025.0.3. Kemudian spesimen dianalisis berdasarkan perbedaan dan indeks kesamaan masing-masing sekuens. Desain primer dilakukan menggunakan Primer3 untuk mengetahui potensi produk primer pada 10 spesies ikan wader. Setelah itu, dilakukan analisis filogenetik untuk mengetahui variasi gen DNA ikan Wader Pari. Filogenetik menggunakan

metode Tamura – Nei pada perangkat lunak Geneious

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pada gambar 1 menunjukkan bahwa sitokrom b cukup baik untuk digunakan sebagai dna barcoding ikan wader pari. Sebanyak 267 titik yang memberikan perbedaan antar spesimen. Perbedaan titik ini menunjukkan keragaman gen *Cyt b* untuk dapat mengidentifikasi berbagai spesies ikan Wader Pari. Pada gambar ini juga ditampilkan label posisi primer yang dapat digunakan sebagai produk PCR sebagai barcoding dna hewan secara umum. Berbagai primer yang penting telah di desain untuk digunakan sebagai DNA Barcoding seperti pada Giusti *et al.* (2017) dimanfaatkan untuk analisis berbagai spesies. Produk primer yang didesain tercantum pada tabel 3.

Cyt b merupakan gen yang ditemukan pada organel mitokondria yang terlibat dalam pengangkutan elektron (Chilmi, Susilowati, Rachmawati, Rokhim, dan Tyautari, 2021). Urutan sekuens pada *Cyt b* merupakan daerah konservatif sehingga

Tabel 1. Nomor aksesori mtDNA Ikan Wader Pari yang diakses dari GenBank

No.	Nama Spesies	Nomor Aksesori	Referensi
1.	<i>Rasbora lateristriata</i>	LC131274.1	Kusuma et al. (2016)
2.	<i>Rasbora elegans</i>	HM224350.1	Tang et al. (2010)
3.	<i>Rasbora sumatrana</i>	HM224369.1	Tang et al. (2010)
4.	<i>Rasbora aprotaenia</i>	MW232442.1	Sholihah et al. (2021)
5.	<i>Rasbora hobelmani</i>	HM224354.1	Tang et al. (2010)
6.	<i>Rasbora rasbora</i>	HM224363.1	Tang et al. (2010)
7.	<i>Rasbora cf. paviana</i>	HM224344.1	Tang et al. (2010)
8.	<i>Rasbora steineri</i>	HM224368.1	Tang et al. (2010)
9.	<i>Rasbora hobelmani</i>	MK784764.1	Chung et al. (2020)
10.	<i>Rasbora rubrodorsalis</i>	HM224365.1	Tang et al. (2010)



Gambar 1. Hasil Alignment Sekuens DNA 10 Spesies Ikan Wader Pari

Tabel 2. Tingkat Similaritas DNA Ikan Wader Pari mtDNA Cyt b

No.	Nama Spesies	Tingkat Kesamaan (%)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	<i>Rasbora lateristriata</i>	100								
2	<i>Rasbora elegans</i>	95,6	100							
3	<i>Rasbora sumatrana</i>	95,2	96,1	100						
4	<i>Rasbora aprotaenia</i>	95,3	97,2	96,5	100					
5	<i>Rasbora hobelmani</i>	94,9	94,9	96,1	95,4	100				
6	<i>Rasbora rasbora</i>	93,6	94,2	94,5	94,1	95,2	100			
7	<i>Rasbora cf. Paviana</i>	92,3	92,4	93,1	93,1	95,6	91,7	100		
8	<i>Rasbora steineri</i>	91,4	91,3	90,8	90,7	90,7	90,5	87,1	100	
9	<i>Rasbora hobelmani</i>	91,2	92,3	92	91,9	93	92,4	89,7	91,7	100
10	<i>Rasbora rubrodorsalis</i>	88,2	88	89	88	88,5	89,1	85,3	88,3	89,2

Tabel 3. Desain Primer Sekuens DNA Mitokondria Ikan Wader Pari

Nama	Min.	Max.	Direction	Sequence	Ukuran	%GC	Tm
206 F	206	225	forward	ACATACATGCCAACGGAGCA	511	50.0	60.0
704 F	704	723	forward	CCAACCTCCTAGGAGACCCA	225	60.0	60.0
22 F	22	41	forward	GACCTACCAACACCAGCCAA	211	55.0	59.9
213 F	213	232	forward	TGCCAACGGAGCATCATTCT	511	50.0	60.0
20 F	20	39	forward	TTGACCTACCAACACCAGCC	206	55.0	59.9
213 R	213	232	reverse	AGAATGATGCTCCGTTGGCA	211	50.0	60.0
697 R	697	716	reverse	CCTAGGAGGTTGGGGGAGAA	511	60.0	60.0
909 R	909	928	reverse	GGGTGAGTGGGCGGAATATT	225	55.0	59.8
206 R	206	225	reverse	TGCTCCGTTGGCATGTATGT	206	50.0	60.0
704 R	704	723	reverse	TGGGTCTCCTAGGAGGTTGG	511	60.0	60.0

banyak penelitian menggunakan gen ini untuk mengklasifikasikan dan menentukan filogenetik suatu spesies satu dengan spesies lainnya. Gen sitokrom b mengandung kelompok karakter diskrit (masing-masing posisi basa pada kodon)

yang memaparkan laju mutasi, sehingga dapat dipergunakan sebagai suatu penanda filogenetik (*marker phylogenetic*) (Kamagi, Gedoan, dan Rengkuan, 2021). Karakter diskrit merujuk pada posisi basa triplet yang hanya diisi oleh 4 protein yaitu Adenin (A), Sitosin (C), Guanin (G)

dan/atau Timin (T) pada struktur RNA. Laju mutasi antar kodon mengacu pada frekuensi terjadinya perubahan urutan basapada generasi berikutnya yang secara filogenetik terhubung. Sehingga, laju mutasi merupakan informasi penting dalam analisis filogenetik. Semua mtDNA memiliki laju mutase lebih cepat hingga 10-17 kali dibandingkan dengan DNA inti (Satiyarti, Nurmilah, dan Rosahdi, 2017).

Cyt b sebagai alat untuk identifikasi harus bisa membedakan semua spesies ikan wader. Dalam tabel telah dibandingkan sekuens gen *Cyt b* dari semua spesimen yang didapatkan. Hasilnya menunjukkan bahwa antar spesimen memiliki perbedaan atau tidak ada yang sama. Hasil ini lebih baik dibandingkan dengan Beivy J Kolondam (2020) menggunakan gen COI untuk DNA Barcoding Ikan Tuna yang masih memiliki kesamaan 100% pada beberapa spesies Tuna yang berpotensi akan terjadi kesalahan identifikasi barcoding dna. Oleh karena itu, tidak adanya kesamaan 100% pada uji similaritas maka akan sangat baik digunakan karena potensi kesalahan barcoding DNA dapat dihindari. Tingkat similaritas antar spesies Ikan Wader berkisar antara 88 – 97%. Adanya perbedaan untuk semua spesies yang dibandingkan memberikan indikasi bahwa penggunaan sekuens gen *Cyt b* sudah sangat baik untuk digunakan sebagai DNA Barcode ikan Wade. Meski begitu, perlu adanya penelitian untuk mengkaji variasi intraspesies gen *Cyt b* dari semua spesies untuk membuktikan hasil ini. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Beivy Jonathan Kolondam (2022) yang melakukan evaluasi sekuens 16s rRNA menunjukkan hasil yang sangat baik untuk digunakan untuk DNA Barcoding ikan tuna dengan tingkat kesamaan yang cukup beragam. Hasil ini juga didukung oleh Beivy Jonathan Kolondam (2020) yang menunjukkan semua spesimen yang digunakan dalam

penelitian ini berbeda satu sama lain menggunakan gen *Cyt b*.

Informasi similaritas sangat diperlukan untuk mengetahui indeks kesamaan antar specimen jika menggunakan DNA barcoding. Semakin tinggi rata rata similaritas dari antar specimen, maka penggunaan mtDNA tersebut semakin baik. Akan tetapi, kesamaan specimen tidak boleh sama dengan 100% untuk menghindari kesalahan identifikasi saat penggunaan barcoding DNA. Hal ini berkaitan dengan variabilitas genetik jika semakin tinggi maka perbedaan antar specimen semakin beragam (Ismail, Wicaksana, dan Daulati, 2015; Sari, 2017). Sehingga, berdasarkan hasil tersebut *Cyt b* sangat baik dan sangat berpotensi untuk digunakan sebagai barcoding DNA ikan wader pari.

Desain primer merupakan langkah awal yang dilakukan sebelum memulai amplifikasi suatu fragmen DNA tertentu. Keberhasilan primer untuk mengamplifikasi suatu fragmen DNA yang menyandikan suatu enzim tertentu dari genom organisme dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya sekuens penyusun primer, ukuran primer, suhu penempelan dan komposisi kandungan GC (Guanin, Cytosin). Kesalahan dalam desain primer dapat berdampak pada ketidak spesifik produk PCR yang dihasilkan dan tidak dapat mengamplifikasi suatu fragmen DNA secara keseluruhan (Indradewi, 2022).

Desain primer berdasarkan algoritma Primer3 menunjukkan terdapat 10 primer yang terdiri dari 5 Primer Forward dan 5 Primer reverse. Primer tersebut memiliki panjang bp masing masing 20 bp. Titik leleh pada 55 – 60 °C, dengan persentase GC sebanyak 55 - 60 %. Hasil ini sesuai pada Cahyadi, Puruhita, Barido, dan Hertanto (2018) yang menyatakan bahwa primer dicirikan pada Panjang 20 bp, titik leleh 55 – 60, dan %GC pada kisaran 55%. Primer memiliki kriteria agar dapat

digunakan dalam proses PCR seperti Suhu, Panjang base pair, hingga ukuran masing masing pasangan primer. Pada PCR diperlukan satu set primer yang masing- masing terletak di kedua ujung fragmen DNA target yaitu primer forward (arah sintesis maju) dan reverse (arah sintesis terbalik), yang dikatalis oleh DNA polymerase. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) digunakan untuk memperbanyak segmen DNA, yang pada kedua ujungnya telah diketahui urutan basanya. Suhu annealing berkisar antara 50 - 65°C. Hasil menunjukkan *temperature melting* 59,03 - 59,04 °C sehingga termasuk dalam primer yang baik (Merdekawati dan Nurhayati, 2023).

Analisis filogenetik berfungsi untuk menentukan kekerabatan antar spesies dengan cara melihat pada percabangan dan clade pada pohon filogenetik. Hasil dari penghitungan jarak genetik yaitu pohon filogenetik. Hasil pembentukan topologi pohon filogenetik dengan menggunakan metode bootstrapping. Semakin tinggi nilai bootstrap (mencapai nilai 100%), maka nilai akurasi dari percabangan pohon filogenetik yang terbentuk semakin tinggi (Bramasta, Faiqoh, Hendrawan, Sembiring, dan Yusmalinda, 2021).

Analisis pohon filogenetik dengan metode *Resampling Bootstrap* sebanyak 1000 kali. Hasil alignment sekuens gen *Cyt b* untuk merkonstruksi pohon filogenetik yaitu 1019 bp. Terdapat 2 spesimen yang berada di clade yang cukup jauh dari pohon filogeni utama yakni *Rasbora hobelmani* dan *Rasbora cf. paviana* yang menjelaskan variasi pada situs Ikan Wader Pari. Terdapat 3 clade berdasarkan hasil filogenetik Ikan wader pari. Clade ini terbentuk karena adanya kemiripan urutan basa nitrogen satu sama lain, urutan basa yang cenderung sama akan terbentuk mengumpul dalam satu clade dan tidak tersusun bercabang. Keragaman genetik dapat terjadi tidak hanya pada intraspesies

namun juga dapat terjadi pada antarspesies (Ardiana et al., 2020).

Hasil ini menunjukkan potensi keragaman spesies ikan wader pari masih cukup baik. Perlunya kajian lebih lanjut mengenai keragaman populasi wader pari di alam liar, tentunya pendekatan molekuler menggunakan *Cyt b* sebagai DNA Barcoding akan sangat berpotensi untuk dikembangkan. Peluang untuk melakukan DNA barcoding ikan wader pari ini cukup baik. Melalui pendekatan molekuler, keragaman dan identifikasi ikan wader pari semakin akurat dan tercatat dengan baik. Prospek penggunaan teknologi DNA barcoding telah membuka peluang untuk identifikasi spesies secara teliti, meskipun hanya dari spesimen jaringan yang sedikit (Dudu, Barbălată, Popa, Georgescu, dan Costache, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan perbandingan sekuens DNA pada setiap spesies Ikan Wader, dapat disimpulkan bahwa gen *Cyt b* dapat digunakan untuk mengidentifikasi 10 spesies berbeda dari Ikan Wader Pari. Indeks similaritas masing masing spesimen berkisar antara 96 – 98,8% yang berarti sangat baik untuk digunakan sebagai DNA barcoding. Tidak ada similaritas 100% yang menunjukkan potensi *Cyt b* dalam mendeteksi spesies secara spesifik melalui keragaman dan perbedaan sekuens. Berdasarkan desain primer menunjukkan ragam produk primer yang berpotensi digunakan. Hasil Filogenetik juga menunjukkan potensi kajian keragaman populasi ikan Wader Pari layak dipertimbangkan karena kekerabatan masing masing spesies sangat berkaitan yang terbagi menjadi 3 clade yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Himpunan Mahasiswa Akuakultur yang telah

mendanai penelitian Divisi Riset dalam Program Kerja HIMAKUA periode ke XV 2024.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, M. J., Djamhur, M., Fabanyo, M. A., dan Akbar, N. (2019). DNA barcoding application of garfish (*Hemirhamphus* sp.) in North Maluku Sea. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 19(3), 463.
<https://doi.org/10.32491/jii.v19i3.506>
- Ardiana, S. A., Astarini, I. A., Putra, I. N. G., Pertiwi, P. D., Sembiring, A., Yusmalinda, A., dan Al Malik, D. (2020). Keragaman Genetik dan Filogenetik Longtail Tuna (*Thunnus tonggol*) yang Didaratkan di Pasar Ikan Pabean, Surabaya. *Musamus Fisheries and Marine Journal*, 107–115.
- Bramasta, R. C., Faiqoh, E., Hendrawan, I. G., Sembiring, A., dan Yusmalinda, N. L. A. (2021). Identifikasi Hiu yang Diperdagangkan di Bali Menggunakan Metode DNA Barcoding dan Analisis Filogenetik. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, 7(1), 84.
<https://doi.org/10.24843/jmas.2021.v07.i01.p12>
- Cahyadi, M., Puruhita, Barido, F. H., dan Hertanto, B. S. (2018). Specific primer design of mitochondrial 12S rRNA for species identification in raw meats. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 102, 012038.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012038>
- Chilmi, L., Susilowati, T., Rachmawati, Y., Rokhim, S., dan Tyautari, I. (2021). Sus sp. uji deteksi gen DNA encoding cyt b pada sampel soft gel candy menggunakan metode pcr.
- Chung, H. H., Kamar, C. K. A., Lim, L. W. K., Liao, Y., Lam, T. T., dan Chong, Y. L. (2020). Sequencing and Characterisation of Complete Mitogenome DNA for *Rasbora hobelmani* (Cyprinidae) with Phylogenetic Consideration. *Journal of Ichthyology*, 60(1), 90–98.
<https://doi.org/10.1134/S0032945220010014>
- Dudu, A., Barbălată, T., Popa, G.-O., Georgescu, S. E., dan Costache, M. (2016). Advantages and limitations of DNA barcoding in identifying commercially-exploited fish species. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 49(1), 45.
- Fuadi, M. C., Lastuti, N. D. R., dan Andriyono, S. (2022). Aplikasi Wilayah Gen Cytochrom-B dalam Studi Populasi Ikan Gabus (*Channa striata*) Secara Molekuler. *Jurnal Ruaya: Jurnal Penelitian Dan Kajian Ilmu Perikanan Dan Kelautan*, 10(2).
- Giusti, A., Tinacci, L., Sotelo, C. G., Marchetti, M., Guidi, A., Zheng, W., dan Armani, A. (2017). Seafood identification in multispecies products: assessment of 16SrRNA, Cyt b, and COI Universal Primers' efficiency as a preliminary analytical step for setting up metabarcoding next-generation sequencing techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(13), 2902–2912.
- Indradewi, R. (2022). Teknik Desain Primer untuk Amplifikasi Gen Tujuan Kloning dari DNA *Agrobacterium tumefaciens*. Perbal: *Jurnal Pertanian Berkelanjutan*, 10(3), 305–309.
- Ismail, A., Wicaksana, N., dan Daulati, Z. (2015). Heritabilitas, variabilitas dan analisis kekerabatan genetik pada 15 genotip pisang (*Musa paradisiaca*) varietas ambon asal Jawa Barat berdasarkan karakter morfologi di Jatinangor Heritability, variability and genetic relationship analysis 15 accession banana (*Musa paradisiaca*) ambon from West Java based on. *Jurnal Kultivasi* Vol, 14(1).

- Jin, L., Yu, J., Yuan, X., dan Du, X. (2021). Fish Classification Using DNA Barcode Sequences through Deep Learning Method. *Symmetry*, 13(9), 1599. <https://doi.org/10.3390/sym13091599>
- Kamagi, D. D. W., Gedoan, S. P., dan Rengkuan, M. (2021). Kajian Keragaman Asam Amino berdasarkan Sekuen Parsial Gen Cyt b Pada Tarsius Sulawesi Utara. *NUKLEUS BIOSAINS*, 2(2), 83–93.
- Kolondam, Beivy J. (2020). Variasi Sekuens Gen COI untuk DNA Barcoding Ikan Tuna. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 8(2), 70. <https://doi.org/10.35800/mthp.8.2.2020.28378>
- Kolondam, Beivy Jonathan. (2020). Comparison of CYB Gene Sequence for Species Identification of Tuna Fish. *Jurnal Ilmiah Platax*, 8(2), 257–263.
- Kolondam, Beivy Jonathan. (2022). Evaluasi sekuens gen 16S rRNA untuk DNA barcoding ikan tuna. *Jurnal Ilmiah Platax*, 10(1), 108–114.
- Kusuma, W. E., Ratmuangkhwang, S., dan Kumazawa, Y. (2016). Molecular phylogeny and historical biogeography of the Indonesian freshwater fish *Rasbora lateristriata* species complex (Actinopterygii: Cyprinidae): Cryptic species and west-to-east divergences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 105, 212–223. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.08.014>
- Merdekawati, F., dan Nurhayati, B. (2023). Desain Primer Gen Pengkode Rna Dependent Rna Polimerase (Rdrp) untuk Deteksi Sars Cov2 dengan menggunakan Real Time Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 15(1), 30–36. <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v15i1.2179>
- Profant, S. W., Jørgensen, T. E., Austad, E., Babiak, I., dan Johansen, S. D. (2024). Mitogenome, Poly(A) Mitotranscriptome, and Molecular Phylogeny of *Rasbora rasbora* (Family Danionidae; Subfamily Rasborinae). *Fishes*, 9(8), 317. <https://doi.org/10.3390/fishes9080317>
- Sari, N. K. (2017). Determining the Genetic Similarities and Variability of Javanese and Arab Ethnic Families with DNA Fingerprint in Malang East Java Indonesia. *Jurnal Ilmiah Sains*, 51–58.
- Satiyarti, R. B., Nurmilah, N., dan Rosahdi, T. D. (2017). Identifikasi Fragmen DNA Mitokondria pada Satu Garis Keturunan Ibu dari Sel Epitel Rongga Mulut dan Sel Folikel Akar Rambut. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 8(1), 13–27.
- Sholihah, A., Delrieu-Trottin, E., Sukmono, T., Dahrudin, H., Pouzadoux, J., Tilak, M., ... Hubert, N. (2021). Limited dispersal and in situ diversification drive the evolutionary history of Rasborinae fishes in Sundaland. *Journal of Biogeography*, 48(9), 2153–2173. <https://doi.org/10.1111/jbi.14141>
- Tang, K. L., Agnew, M. K., Hirt, M. V., Sado, T., Schneider, L. M., Freyhof, J., ... Mayden, R. L. (2010). Systematics of the subfamily Danioninae (Teleostei: Cypriniformes: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(1), 189–214. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.05.021>