

KEKERABATAN GENETIK IKAN CEMPEDIK (*Osteochilus spilurus*) DAN IKAN LAIN YANG TERTANGKAP DALAM SERO DI SUNGAI LENGGANG, BELITUNG TIMUR MENGGUNAKAN RAPD

GENETIC RELATIONSHIP OF CEMPEDIK FISH (*Osteochilus spilurus*) AND OTHER FISH TRAPPED IN SERO IN LENGGANG RIVER, EAST BELITUNG USING RAPD

Ardiansyah Kurniawan^{1,*}, Yulian Fakhurrozi², Andri Kurniawan¹

¹Jurusan Akuakultur, Universitas Bangka Belitung, Bangka, Indonesia

²Badan Pengelola Geopark Pulau Belitung, Belitung, Indonesia

*email korespondensi: ardiansyah.singosari@gmail.com

Abstrak

Sungai Lenggang sebagai sungai terbesar di Pulau Belitung memiliki potensi sumberdaya perikanan air tawar yang beranekaragam. Satu diantaranya yang menonjol adalah ikan Cempedik (*Osteochilus spilurus*). Sebagian besar penangkapan ikan ini menggunakan alat tangkap pasif berupa Sero. Beberapa jenis ikan yang berbeda secara morfologi tertangkap bersama Cempedik dalam Sero. Analisa kekerabatan menggunakan Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) pada ikan yang tertangkap dalam sero, ikan Cempedik dari muara sungai, dan spesimen ikan Cempedik dari Pulau Bangka. Analisa PCR-RAPD menggunakan 3 jenis primer yaitu OPA 1, OPA 2 dan OPN 5. *Cyclocheilichthys apogon* dan *Puntius binotatus* memiliki similaritas terendah karena hanya memiliki kesamaan pada 2 lokus. *Osteochilus spilurus* dari lokasi berbeda memiliki kekerabatan terdekat. Sampel *Rasbora* sp menjadi spesies dengan kekerabatan terdekat dengan *Osteochilus spilurus* dibandingkan spesies lainnya. Penghalang geografis diprediksi menjadi pemicu jarak genetik spesies yang sama.

Kata kunci : Sero, Cyprinidae, RAPD, Belitung, Similaritas

Abstract

The Lenggang River, as the largest river on the island of Belitung, has the potential for various freshwater fisheries resources. One of them that stands out is the Cempedik fish (*Osteochilus spilurus*). Most of this fishing uses passive fishing gear in the form of Sero. Several morphologically different fish species were caught with Cempedik in Sero. Kinship analysis used Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) on fish caught in Sero, Cempedik fish from river estuaries, and Cempedik fish specimens from Bangka Island. PCR-RAPD analysis used 3 types of primers, namely OPA 1, OPA 2, and OPN 5. *Cyclocheilichthys apogon* and *Puntius binotatus* had the lowest similarity because they only had similarities in 2 loci. *Osteochilus spilurus* from different locations are closely related. *Rasbora* sp samples became the species with the closest relationship to *Osteochilus spilurus* compared to other species. A geographical barrier is predicted to trigger the genetic distance of the same species.

Keywords: Sero, Cyprinidae, RAPD, Belitung, Similarity

Pendahuluan

Sungai Lenggang merupakan sungai terbesar di Pulau Belitung dengan lebar sungai 230 - 1.520 meter. Daerah aliran sungai Lenggang mencapai 73.590,5 ha dengan panjang 60,28 km, kemiringan relatif datar, dan jenis tanah berpasir [1]. Pembuatan bendungan pada muara sungai di masa kolonial Belanda menyebabkan sungai lebih lebar dibandingkan sungai-sungai lain di Bangka Belitung. Bendungan yang dikenal dengan Bendungan Pice ini dibangun pada masa kolonial Belanda dengan tujuan agar kapal keruk tidak kandas dan tetap beraktifitas penambangan. Saat ini, sungai Lenggang telah dilindungi dari penambangan timah melalui perda Kabupaten Belitung Timur. Meski demikian, cadangan timah yang tinggi di sungai Lenggang

masih menjadi daya tarik penambang ilegal. Pada tepian sungai ditumbuhi tanaman *Pandanus helicopus* yang disebut sebagai *rasau* [2].

Sungai Lenggang juga memiliki potensi sumberdaya hayati perikanan. Ikan kelesak atau arwana, yang menjadi ikon Belitung Timur, pernah mengalami eksploitasi berlebihan di sungai ini sehingga saat ini sulit ditemukan di habitat alaminya. Saat ini nelayan penangkap Arwana beralih ke Ikan Cempedik sebagai target utama tangkapannya. Ikan Cempedik (*Osteochilus spilurus*) merupakan ikan konsumsi populer bagi masyarakat Belitung Timur [3]. Musim tangkapnya terjadi pada awal musim penghujan [1]. Nelayan menggunakan alat tangkap penjebak berupa *sero* dengan kerangka kayu dan jaring menggunakan *waring*. Penangkapan menggunakan sero mampu menghasilkan puluhan

kilogram ikan Cempedik. Penempatan mulut sero yang melawan arus menyebabkan rombongan ikan terjebak ke dalam sero saat berusaha bergerak menuju hulu sungai [4].

Penelitian ikan air tawar di Belitung Timur lebih banyak mengarah pada Ikan Cempedik yang memiliki perbedaan pemanfaatan dibandingkan wilayah lain [5]. Selain Cemedik, terdapat berbagai jenis ikan yang memiliki potensi pemanfaatan di Sungai Lenggang [6]. Demikian juga jenis ikan yang tertangkap bersama dalam sero juga beragam meskipun hanya Cempedik yang bernilai ekonomis tinggi. Mereka tertangkap bersama karena bergerak dalam kelompok yang sama. Secara morfologi dapat dibedakan jenis-jenis ikan yang tertangkap bersama tersebut, namun terdapat beberapa kemiripan karakter morfologisnya. Analisa kekerabatan menggunakan *Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)* memiliki akurasi lebih tinggi dan dapat mengetahui kluster pengelompokannya [7]. Pada kajian ini dilakukan analisa kekerabatan menggunakan RAPD pada ikan yang tertangkap dalam sero di sungai Lenggang dengan pembanding ikan Cempedik yang tertangkap di luar lokasi sero.

Metode

Sampel ikan diambil dari tangkapan nelayan yang menggunakan Sero di desa Lintang, kecamatan Gantung, kabupaten Belitung Timur. Saat ikan didaratkan di dermaga, ikan selain Cempedik dipisahkan dari wadah tangkapan. Hasil pemisahan dikelompokkan berdasarkan karakter morfologinya dan penamaan lokalnya. Dari masing-masing kelompok ikan diambil satu ekor ikan untuk dianalisa kekerabatan genetiknya. Selain berasal dari tangkapan Sero, sampel ikan Cempedik juga diperoleh tangkapan pada bagian bendungan ice di muara sungai dan sampel ikan Pulau Bangka dari spesimen Laboratorium Manajemen Sumberdaya Perairan, Universitas Bangka Belitung. Ikan direndam dalam etanol 96% untuk mempertahankan kondisinya hingga analisa di laboratorium.

Analisa kekerabatan genetik dilakukan di Laboratorium Genetika, Fakultas Biologi, Univeritas Gajah Mada. Analisa menggunakan metode *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*. Analisa menggunakan RAPD dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu isolasi DNA; uji kualitatif hasil isolasi DNA dengan elektroforesis; uji kuantitatif hasil isolasi DNA dengan spektrofotometri; penentuan primer terbaik menggunakan PCR-RAPD dengan primer OPA 1, dengan primer OPA 1, OPA 2 dan OPN 5; skoring hasil PCR-RAPD dengan primer OPA 1, OPA 2 dan OPN 5; dan mengonstruksi

dendogram similaritas berdasarkan skoring hasil PCR-RAPD [8,9].

Isolasi DNA ini dilakukan dengan mengikuti petunjuk gSYNCTM DNA Extraction Kit Geneaid. Hasil isolasi genom DNA di uji kualitatif dengan elektroforesis. Konsentrasi gel agarosa yang digunakan adalah 0,8%. Pembacaan hasil elektroforesis menggunakan UV transilluminator. Uji kuantitatif DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui konsentrasi DNA genom menyesuaikan dengan protokol kit PCR KAPA 2G Fast, konsentrasi DNA genom yang diperlukan untuk proses PCR-ISSR adalah 10 ng-100 ng. Hasil isolasi DNA yang telah diuji secara kualitatif maupun kuantitatif kemudian diamplifikasi dengan tiga primer RAPD menggunakan kit PCR KAPA 2G Fast. Proses optimasi menggunakan tujuh primer yaitu OPA1, OPA2, OPA6, OPA11, OPA20, OPD2, dan OPN5.

Berdasarkan hasil optimasi, primer OPA1 (CAGGCCCTTC), OPA2 (TGCCGAGCTG), dan OPN5 (ACTGAACGCC) kemudian dipilih karena menunjukkan polimorfisme dan pita hasil amplifikasi yang jelas. Optimasi suhu *annealing* dilakukan untuk memperoleh suhu yang tepat yang dapat menghasilkan pita hasil amplifikasi yang jelas. Hasil optimasi menunjukkan suhu *annealing* primer OPA1 pada 40°C, primer OPA2 dan OPN5 pada 37°C. Proses amplifikasi DNA dilakukan mengacu pada protokol Kit PCR KAPA 2G Fast dengan modifikasi (Tabel 1). Proses PCR menggunakan pengaturan *initial denaturation* pada 95°C selama 3 menit, denaturasi 95°C selama 30 detik sebanyak 35 kali, *annealing* sesuai suhu optimasi primer selama 1 menit sebanyak 35 kali, *extension* 72°C selama 2 menit 35 kali, final extension 72°C selama 3 menit, dan *endless* pada 4°C. Hasil PCR divisualisasikan melalui elektroforesis.

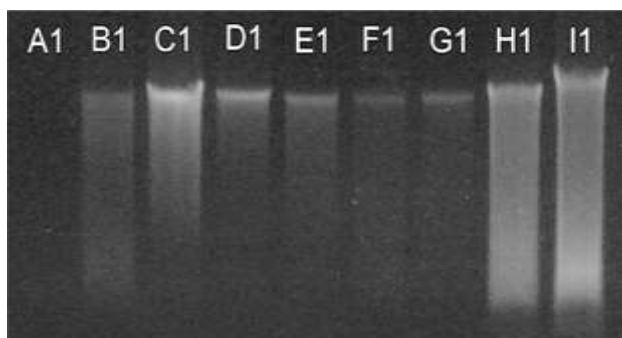
Tabel 1. Komposisi reaksi PCR

Komponen	Konsentrasi Akhir	Volume
KAPA 2G PCR kit	1x	12,50 µL
MgCl ₂		2,00 µL
Primer OPA	10 pmol/ µL	3,00 µL
DNA template	100 ng/ µL	6,00 µL
Water nuclease free		1,50 µL
Total		25,00 µL

Analisa data dilakukan dengan membuat dendogram dengan terlebih dahulu mengubah data hasil PCR-RAPD menjadi data biner, membuat tabel n x t, kemudian menganalisis dengan program MVSP 3.1.

Hasil dan Diskusi

Ikan Cempedik yang ditangkap menggunakan alat tangkap pasif berupa sero, tertangkap bersama dengan beberapa jenis ikan lainnya. Kondisi ini memungkinkan terjadi karena dalam pergerakan bergerombol yang sama. Selain Ikan Cempedik, beberapa jenis ikan diperoleh dalam proses penangkapan dengan dibedakan secara morfologinya sebagaimana pada Gambar 1. Sebanyak 9 sampel diujikan terdiri dari sampel Ikan Cempedik yang diperoleh dari musim sebelumnya (A1), Ikan Cempedik dari Pulau Bangka (B1), Ikan Cempedik dari Desa Lintang (C1), Ikan Cempedik dari Bendungan Pice (D1), Ikan Tempuring atau Kempuring (E1), Ikan Cengkedong (F1), Ikan Bantak (G1), Ikan Kepras (H1), ikan Ban atau Ikan Tanah (I1). Pengujian kualitatif hasil isolasi DNA kesembilan sampel terdapat pada Gambar 1.



Gambar 1. Elektroforesis agarosa konsentrasi 0,8% pada hasil isolasi DNA

Hasil uji kuantitatif DNA menggunakan spektrofotometri disajikan pada Tabel 2. Hasil spektrofotometri menunjukkan hal yang sama dengan hasil uji kuantitatif menggunakan elektroforesis dimana pada tampilan DNA sampel yang kurang terlihat atau kurang kuat memiliki

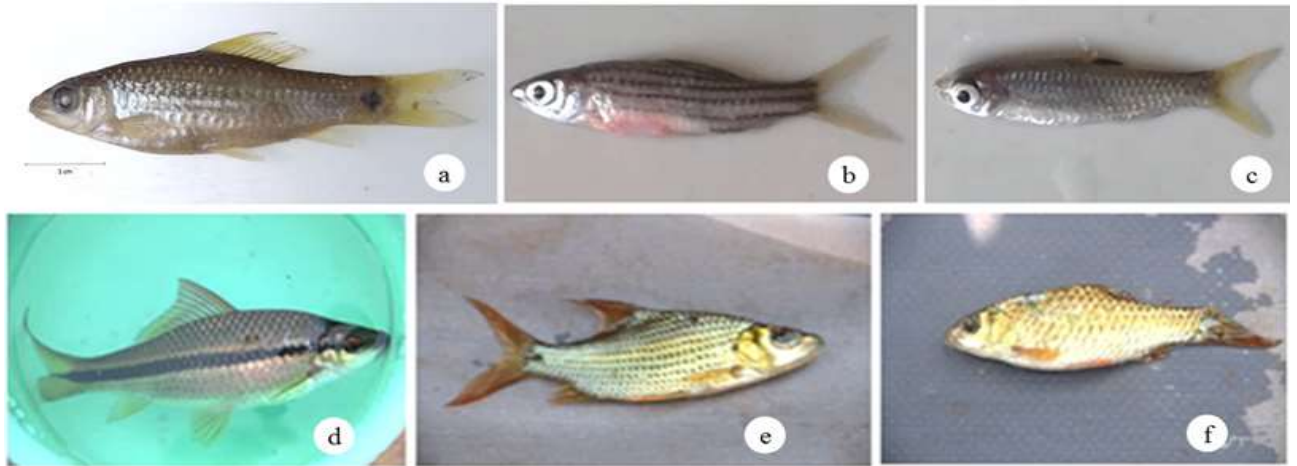
konsentrasi DNA yang rendah. Sebanyak tujuh primer dioptimasi kemudian diseleksi tiga primer, yaitu primer OPA 1, OPA 2 dan OPN 5 yang menghasilkan polimorfisme cukup tinggi serta menghasilkan amplikon (pita DNA hasil amplifikasi) yang cukup jelas. Elektroforesis hasil PCR-RAPD dengan 3 jenis primer, yaitu OPA1, OPA2 dan OPN5 memberikan hasil yang berbeda untuk masing-masing primer. Terdapat beberapa perbedaan pita DNA yang terlihat menggunakan primer berbeda dimana pada primer OPA2 mampu memunculkan pita DNA pada semua sampel, sementara pada primer OPA1 dan OPN5 memiliki kelemahan pada tidak terlihatnya pita DNA sampel H1 dan J1 (Gambar 4).

Total pita DNA yang teramplifikasi oleh primer primer OPA 1, OPA 2, dan OPN 5 pada kesembilan sampel cukup banyak, yaitu sejumlah 175 pita. Ukuran pita ini bervariasi dari 1750-150 bp dengan total 56 lokus DNA yang teramplifikasi. Primer OPA 1 dan OPA 2 menghasilkan jumlah lokus yang sama yaitu 18 lokus dengan ukuran yang berbeda. Lokus yang dihasilkan primer OPA 1 berukuran 1200-260 bp. Lokus yang dihasilkan primer OPA 2 berukuran 1300-240 bp. Primer OPN 5 menghasilkan paling banyak lokus yaitu 20 lokus, dengan ukuran 1750-150 bp. Primer OPA 2 menghasilkan paling banyak pita DNA yaitu 75 pita dan primer OPA 1 menghasilkan paling sedikit pita yaitu 48 pita.

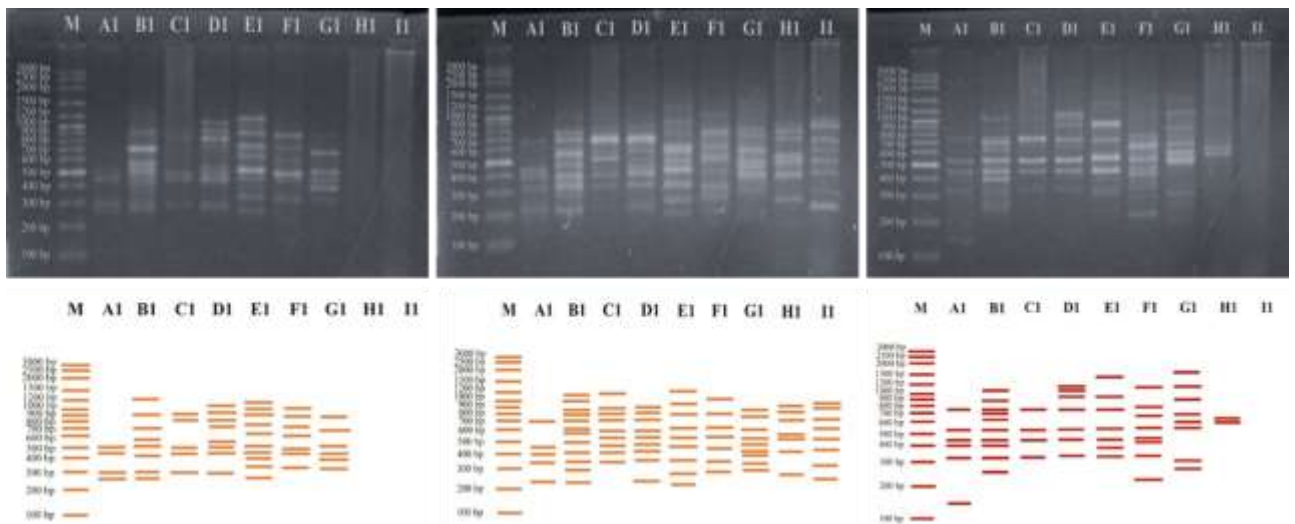
Hasil amplifikasi pada masing-masing sampel menunjukkan bahwa dengan ketiga primer yang digunakan untuk amplifikasi, sampel B1 menghasilkan pita DNA hasil amplifikasi terbanyak, yaitu 29 pita. Sampel I1 menghasilkan sedikit pita DNA hasil amplifikasi, yaitu 8 pita. Sedikitnya pita DNA hasil amplifikasi pada sampel I1 dikarenakan sampel ini tidak teramplifikasi menggunakan primer OPA 1 dan primer OPN 5 dan hanya teramplifikasi ketika menggunakan primer OPA 2 .

Tabel 2. Hasil uji kuantitatif isolat DNA sampel ikan menggunakan spektrofotometri

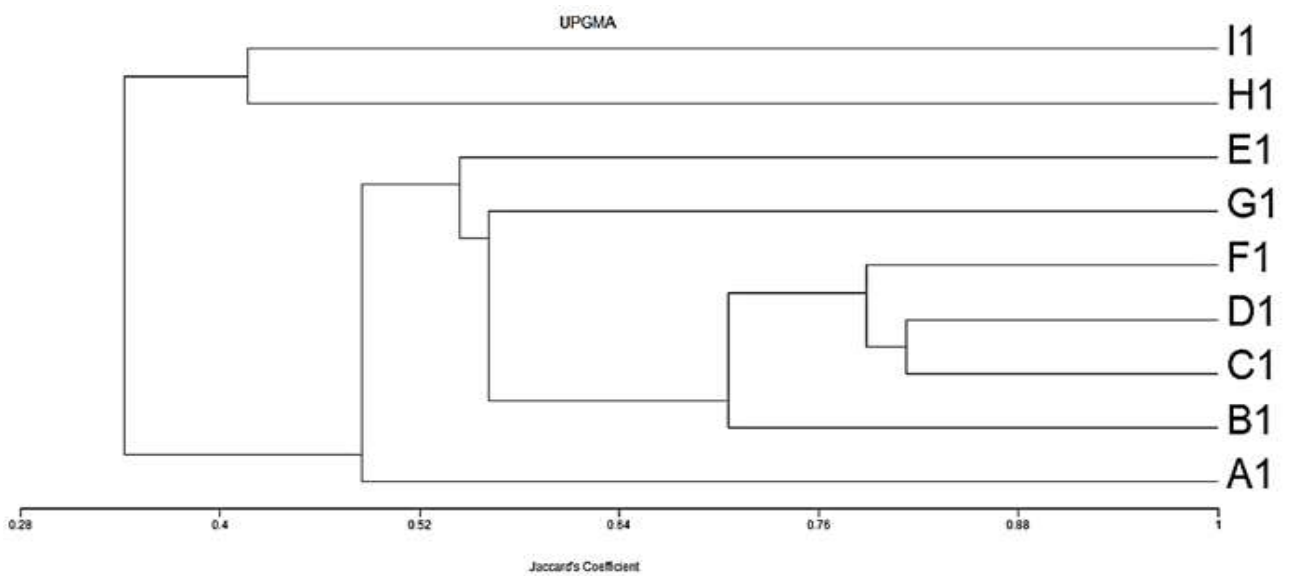
No.	Kode Sampel	Konsentrasi DNA (ng/ μ L)
1.	A1	12,9
2.	B1	64,2
3.	C1	262,0
4.	D1	39,2
5.	E1	36,1
6.	F1	15,5
7.	G1	19,6
8.	H1	188,0
9.	I1	288,0



Gambar 2. Ikan tertangkap alam Sero di Sungai Lenggang, (a) Cempedik (*Osteochilus spilurus*), (b) Kemuring (*Puntius lineatus*), (c) Cengkedong (*Rasbora* sp), (d) Bantak (*Osteochilus wandersii*), (e) Kepras (*Cyclocheilichthys apogon*), (f) Ikan Ban atau Tanah (*Puntius binotatus*)



Gambar 3. Tampilan elektroforesis dan visualisasi pitanya pada hasil PCR-RAPD dengan Primer OPA 1 (kiri), OPA 2 (tengah) dan OPN 5.



Gambar 4. Dendrogram similaritas berdasarkan skoring hasil PCR-RAPD

Analisis variasi molekular pada kesembilan sampel dapat menggunakan dendogram berdasarkan rata-rata koefisien similaritas menggunakan program MVSP 3.1. Perhitungan koefisien similaritas pada program ini menggunakan metode pengklasteran UPGMA dan similaritas menggunakan *Jaccard's Coefficient*. Kelebihan *Jaccard's Coefficient* adalah tidak menggunakan karakter dobel negatif (karakter yang sama-sama tidak dimiliki). Nilai similaritas terendah ditemukan pada sampel H1 *Cyclocheilichthys apogon* dan I1 *Puntius binotatus*. Klaster yang terbentuk pada sampel H1 dan I1 serta klaster yang terdiri atas A1, B1, C1, D1, E1, F1, dan G1 memiliki nilai 0,342 atau similaritas sebesar 34,2%. Similaritas rendah ini disebabkan oleh kesamaan lokus hanya terdapat pada lokus berukuran 550 bp dan 450 bp yang dimiliki oleh anggota kedua klaster.

Sampel H1 dan I1 jarak genetiknya tinggi karena tidak memiliki pita yang mencukupi untuk dibandingkan dengan sampel lainnya. Kesesuaian primer untuk semua sampel diperlukan untuk keakuratan perbandingan yang lebih tinggi [10]. Sampel A1 menjadi kekerabatan terjauh ketiga dalam dendogram ini setelah sampel H1 dan I1. Sampel A1 yang merupakan Ikan Cempedik musim sebelumnya teridentifikasi memiliki kekerabatan yang jauh dengan Ikan Cempedik lainnya dimana kekerabatannya hanya berkisar 50%. Pita yang dihasilkan sampel A1 juga terendah ketiga pada ketiga primer. Sampel A1 memiliki lokus spesifik yang hanya dimiliki oleh sampel ini dan tidak dimiliki oleh sampel lain, yaitu lokus dengan ukuran 150 bp. Kondisi ini diprediksi terjadi akibat penyimpanan sampel yang tidak sempurna. Elektroforesis pada ikan yang telah mengalami kerusakan protein menyebabkan identifikasi menjadi bias [11].

Sampel B1, C1 dan D1 yang secara morfologi diidentifikasi sebagai ikan Cempedik, menunjukkan kekerabatan dengan jarak berbeda-beda. Sampel B1 merupakan sampel ikan Cempedik dari pulau yang berbeda yaitu Pulau Bangka. Pemisahan geografis dalam ribuan tahun diprediksi berdampak pada perbedaannya dengan spesies yang sama dari pulau Belitung. Penggunaan RAPD untuk ikan air tawar yang terpisahkan pembatas geografis dapat menunjukkan perbedaan nyata [12]. Spesies yang sama dengan aliran sungai yang tidak berhubungan dapat memberikan jarak genetik hingga 68% pada analisa menggunakan RAPD [13]. Koefisien similaritas tertinggi ditemukan pada sampel C1 dan D1. Sampel C1 dan D1 memiliki 13 lokus yang sama dari total 16 lokus

yang teramplifikasi. Hal ini disebabkan oleh kedua sampel merupakan spesies yang sama, yaitu *Osteochilus spilurus*, dan berada pada sungai yang sama sehingga dimungkinkan adanya distribusi gen pada proses reproduksinya. Sampel C1 merupakan ikan yang tertangkap nelayan menggunakan Sero, sedangkan sampel D1 ditangkap di muara saat terhanyut luapan air sungai dari bendungan.

Spesies ikan yang sama pada perairan yang terhubung satu sama lain menunjukkan keragaman genetik yang rendah [14]. Sampel F1 (*Rasbora* sp) memiliki similaritas lebih tinggi dengan sampel *Osteochilus spilurus* C1 dan D1 dibandingkan dengan B1. F1 berada dalam lingkungan yang sama dengan C1 dan D1, sedangkan B1 berada pada populasi yang berbeda. Meskipun kedua spesies berbeda dimungkinkan adanya aliran gen yang menyebabkan terjadinya hybrid. Hal ini juga terjadi pada hybrid ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*) memiliki similaritas lebih tinggi dengan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) normal dibandingkan dengan ikan Nilem normal pada analisa RAPD [15].

Sampel E1 (*Puntius lineatus*) menunjukkan similaritas 54,4% dengan klaster yang berisi G1 (*Osteochilus waandersi*), F1 (*Rasbora* sp), D1, C1, dan B1 (*Osteochilus spilurus*). Similaritas sebesar ini disebabkan oleh lokus yang berukuran 1200 bp, 900 bp, 600 bp. Sampel E1 memiliki lokus spesifik yang hanya dimiliki oleh sampel ini dan tidak dimiliki oleh sampel lain, yaitu lokus dengan ukuran 1500 bp dan 1300 bp. Perbedaan spesies menjadi dasar perbedaan dalam klaster tersebut. Jarak genetik antar spesies akan lebih besar dibandingkan dengan spesies yang sama, meskipun dalam genus yang sama [16].

Simpulan

Cyclocheilichthys apogon dan *Puntius binotatus* memiliki similaritas terendah karena hanya memiliki kesamaan pada 2 lokus. *Osteochilus spilurus* dari lokasi berbeda memiliki kekerabatan terdekat. Sampel *Rasbora* sp menjadi spesies dengan kekerabatan terdekat dengan *Osteochilus spilurus* dibandingkan spesies lainnya. Penghalang geografis diprediksi menjadi pemicu jarak genetik spesies yang sama.

Pustaka

- [1] Sabri, F., Aulia, T., & Tresnanda, M. (2017). Analisis Banjir Belitung Timur. In *Proceedings of National Colloquium Research and Community Service* (Vol. 1).
- [2] Fakhurrozi, Y., Kurniawan, A., & Kurniawan, A. (2016). Pengembangan potensi

- ikan cempedik di Belitung Timur: Suatu pendekatan biologis dan etnobiologi. *Scripta Biologica*, 3(4), 1-5
- [3] Kurniawan, A., & Triswiyana, I. (2019). Perception of the economics utilization and sustainability of Cempedik Fish (*Osteochilus spilurus*) in East Belitung Regency. *ECSOFiM (Economic and Social of Fisheries and Marine Journal)*, 7(01), 109-119.
- [4] Kurniawan, A., Fakhurrozi, Y., & Kurniawan, A. (2016). Studi etnozooologi ikan Cempedik di sungai Lenggang, Gantung, Kabupaten Belitung Timur. *Akuatik: Jurnal Sumberdaya Perairan*, 10(1), 6-12.
- [5] Setiawan, J., Kurniawan, A., Sari, S. P., Kurniawan, A., & Fakhurrozi, Y. (2018). Phytoplankton in habitates of Cempedic fish (*Osteochilus spilurus*) in Lenggang river, East Belitung. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 9(2), 45-52.
- [6] Erika, R., Kurniawan, K., & Umroh, U. (2018). Keanekaragaman ikan di perairan sungai Linggang, kabupaten Belitung Timur. *Akuatik: Jurnal Sumberdaya Perairan*, 12(2), 17-25.
- [7] Kawengian, Y. B., Lengkong, E., & Mandang, J. (2016). Keragaman genetik beberapa varietas kentang (*Solanum tuberosum* L.) berdasarkan penanda random amplified polimorphic DNA (RAPD) (genetic diversity of several varieties of potato (*Solanumtuberosum* L) based on random amplified polymorphic DNA (RAPD)). *Jurnal Bios Logos*, 6(2), 61-67
- [8] Purnamaningrum, A., Handayani, N. S. N., Trijoko, & Handayani, C. R. (2016). Assessment of genetic variation in outbreed and inbreed giant tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) using ISSR marker. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1755, No. 1, p. 140009). AIP Publishing LLC.
- [9] Rakshit, A., Paul, A., Bhattacharjee, S., Banik, T., Saran, R., Mandal, B., & Gangopadhyay, K. (2015). Cytogenetic and molecular profiling of spotted snake head fish *Channa punctatus* (Bloch, 1793) from three districts (Nadia, Hooghly and north 24 Parganas) of west Bengal, India. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 3(1), 312-319.
- [10] Ardiansyah, F., Hanum, L., Muharni, M., & Windusari, Y. (2018). Analisis Polimorfisme Padi Varietas Lokal Sumatera Selatan Berdasarkan Pendekatan PCR-RAPD. *Jurnal Lahan Suboptimal: Journal of Suboptimal Lands*, 7(1), 50-58.
- [11] Wulansari, N., Nurilmala, M., & Nurjanah, N. (2015). Detection tuna and processed products based protein and DNA barcoding. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2), 119-127.
- [12] Nugroho, E., Subagja, J., Asih, S., & Kurniasih, T. (2016). Evaluasi keragaman genetik ikan Kancra dengan menggunakan marker mt DNA D-loop dan Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD). *Jurnal Riset Akuakultur*, 1(2), 211-217.
- [13] Kusmini, I. I., Gustiano, R., & Mulyasari, M. (2011). Karakterisasi genetik ikan Kelabau (*Osteochilus kelabau*) dari berbagai lokasi di Kalimantan Barat menggunakan metode RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA). *Berita Biologi*, 10(4), 449-454.
- [14] Mamangkey, J. J., Sulistiono, S., Sjafei, D. S., Soedharma, D., Sukimin, S., & Nugroho, E. (2016). Keragaman genetik ikan endemik Butini (*Glossogobius matanensis*) berdasarkan penanda random amplified polymorphism DNA (RAPD) di danau Towuti Sulawesi Selatan. *Jurnal Riset Akuakultur*, 2(3), 385-393.
- [15] Mulyadi, G. K., Buwono, I. D., & Subhan, U. (2017). Analisis kekerabatan genetik hibrid ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*) dan ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Menggunakan PCR-RAPD. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 8(1), 87-94.
- [16] Ariyanto, D., & Utami, R. (2006). Evaluasi laju pertumbuhan, keragaman genetik dan estimasi heterosis pada persilangan antar spesies ikan patin (*Pangasius* sp.). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 8(1), 81-86.