

Keragaman Genetik Ikan Uceng (*Nemacheilus*) di Sungai Wilayah Banyumas Berdasar Sekuen Gen *Cytochrome Oxidase Subunit I* (COI)

Genetic Diversity of Stone loaches (*Nemacheilus*) in River of Banyumas Area based on *Cytochrome Oxidase Subunit I* (COI)

Rima Oktavia Kusuma*, Muhammad Sulaiman Dadiono, Baruna Kusuma & Hamdan Syakuri

Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

*Penulis korespondensi, email: rimaoktavia@unsoed.ac.id

Tanggal Submisi: 09 November 2020; Tanggal Revisi: 16 June 2021; Tanggal Penerimaan: 07 September 2021

ABSTRAK Ikan uceng (*Nemacheilus*) merupakan ikan endemik yang hidup di perairan sungai wilayah Banyumas. Penangkapan berlebih serta perubahan kualitas lingkungan menyebabkan penurunan populasinya di alam. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *Nemacheilus* yang hidup di perairan sungai Banyumas serta melihat keragaman genetiknya. *Cytochrome oxidase subunit I* (COI) digunakan sebagai marka molekuler, dimana telah terbukti sebagai penanda (barcode) yang universal dan stabil. Ada bagian dari COI yang bersifat variabel sehingga bagus apabila digunakan melihat keragaman genetik. Hasil BLAST menyatakan bahwa sampel keempat stasiun memiliki nilai per indent 99,54-100% dengan spesies *Neimacheilus chrysolaimos*. Nilai keragaman haplotype (Hd) 0,679, dan nilai keragaman nukleotida 0,00117. Berdasarkan hal tersebut, keragaman haplotype ikan uceng dikategorikan pada tingkat sedang, sedangkan keragaman nukleotida pada tingkat rendah.

Kata kunci: *Nemacheilus*; COI; keragaman genetik

ABSTRACT Stone loaches (*Nemacheilus*) are one of the endemic fish in the river of the Banyumas Area. Overfishing and changing the quality of the environment lead to population decline. This study aims to identify *Nemacheilus* species that lived in the river of the Banyumas area and find out genetic diversity. *Cytochrome oxidase subunit I* (COI) was used as a molecular marker since it was proven to be stable and good as a universal barcode to study genetic diversity. Based on BLAST, samples had 99.54-100% per indent with *Nemacheilus chrysolaimos*. On the other hand, calculation on haplotype diversity (Hd) and nucleotide diversity showed 0.679 and 0.00117 respectively. Based on that reference, haplotype diversity (Hd) of stone loaches were categorized as medium, while nucleotide diversity categorized as low.

Keywords: *Neimacheilus*; COI; genetic diversity

PENDAHULUAN

Ikan uceng (*Nemacheilus*), hidup di perairan tawar, sungai jernih dengan dasar berbatu. Persebaran *Nemacheilus* di Indonesia meliputi pulau Sumatra, Jawa (Fishbase, 2017) Kalimantan (Kottelat, 1993). Di Jawa tengah *Nemacheilus* banyak ditemui di Temanggung, Yogyakarta dan Banyumas. Sungai Pelus, Sungai Mengaji, Sungai Banjarnan, Sungai Kranji merupakan beberapa sungai di wilayah Banyumas yang menjadi habitat ikan *Nemacheilus*. Keempat sungai tersebut memiliki kontur landai dengan dasar berbatu sehingga cocok sebagai habitat ikan uceng. Oleh masyarakat sekitar, ikan ini biasa ditangkap untuk dijadikan bahan makanan maupun untuk komoditi ikan hias. Penangkapan yang tinggi menyebabkan penurunan populasi, sehingga perlu adanya upaya pelestarian untuk menjaga keberlangsungan hidup *Nemacheilus* dan memenuhi aspek ekonominya.

Informasi mengenai jenis spesies *Nemacheilus* di perairan sungai Banyumas belum diketahui, dan antar spesies memiliki ciri morfologi yang mirip, sehingga identifikasi dengan metode *DNA Barcoding* dinilai memiliki akurasi yang tinggi dan lebih efektif. Selain identifikasi, data keragaman genetik diperlukan sebagai langkah awal upaya pelestarian populasinya di alam. Keragaman genetik dapat digunakan

untuk menduga ukuran serta kemampuan populasi dalam beradaptasi. Semakin tinggi keragaman genetiknya maka ukuran populasi semakin besar, dan kemampuan adaptasi spesies dalam populasi tersebut semakin baik suatu populasi dengan genetik yang lebih beragam, lebih tahan terhadap gangguan seperti kondisi lingkungan ekstrim (Ketchum et al., 2016). Pada upaya konservasi dan selektive breeding, induk potensial adalah yang memiliki keragaman genetik tinggi (Ukenye et al., 2019). Salah satu marka molekuler yang sering digunakan untuk identifikasi spesies dan melihat nilai keragaman genetik adalah gen *Cytochrome oxidase subunit I* (COI). COI yang merupakan mtDNA adalah gen penyandi protein dan memiliki peran dalam respirasi sel. COI dianggap memenuhi persyaratan untuk digunakan dalam menentukan identitas spesies pada hampir semua binatang tingkat tinggi. (Hubert et al., 2003) menyatakan bahwa fragmen COI pada intraspesifik memiliki diversitas tidak lebih dari 2%, sedangkan diversitas akan meningkat dengan jauhnya genus maupun filum antar spesies. Berdasar pada hal tersebut COI digunakan sebagai marker untuk studi filogenetika serta identifikasi spesies, keunggulan lainnya adalah tidak adanya intron serta jumlah salinan yang tinggi (100-10000 salinan gen).

Identifikasi spesies menggunakan COI banyak dilakukan

untuk mendukung ciri morfologi yang dimiliki, seperti pada ikan sardin di muara angke yang teridentifikasi sebagai *Dussumieria elopoides* (Rahim & Madduppa, 2020). Walaupun COI memiliki banyak bagian yang *conserve* namun secara umum jika dibandingkan dengan dua gen mitokondrial yang lain seperti 12S dan 16S, COI memiliki kemampuan mutasi yang lebih tinggi (Hebert *et al.*, 2019). Hal ini yang menjadikan dasar bahwa COI juga bisa digunakan untuk studi genetika populasi. Penelitian serupa yang menggunakan gen COI adalah keragaman genetik pada Ikan *Hemibagrus nemurus* di sungai pulau Jawa (Nuryanto *et al.*, 2019) dan Ikan *Tor tambroides* di sungai Batang Tarusan, Sumatra Barat (Wibowo & Kaban, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies dan melihat keragaman genetik dari Genus *Nemacheilus* yang hidup di sungai wilayah Banyumas, Jawa tengah melalui marka molekuler COI.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Genomic DNA Mini Kit Animal Tissue (GENE AID), Primer LCO1490 5'- ggtcaacaaatcataaagatattgg3' dan HCO2198 5'-taaacttcagggtgacca aaaaatca-3' (Folmer *et al.*, 1994), Mytaq HS red mix BIO- 25047, 100bp DNA Ladder Geneaid, RedSafe Nucleic Acid, agarose, TE Buffer.

Metode

Lokasi pengambilan sampel

Sampel ikan *Nemacheilus* diambil di empat titik sekitar aliran sungai, stasiun 1 Sungai Banjaran 7° 23.447' S, 109° 13.530' E, stasiun 2 Sungai Mengaji 7° 25.030' S 109° 11.599' E, stasiun 3 Sungai Kranji 7° 25.044' S 109° 12.419' E dan stasiun 4 Sungai Pelus 7° 23.249' S 109° 14.733' E. Analisa laboratorium berupa ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Pengajaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Jenderal Soedirman, Amplifikasi dengan PCR dilakukan di Laboratorium Genetika Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, sedangkan untuk sekuensing DNA dikirim ke 1st BASE DNA Sekuensing.

Ekstraksi DNA dan amplifikasi

Sampel yang digunakan adalah ekor dari ikan *Nemacheilus*, isolasi DNA mitokondria dilakukan menggunakan Genomic DNA Mini Kit Animal Tissue (GENE AID) yang dilakukan sesuai petunjuk manufaktur. Gen COI diamplifikasi dengan sepasang primer LCO1490 5'- ggtcaacaaatcataaagatattgg3' dan HCO2198 5'-taaacttcagggtgacca aaaaatca-3' (Folmer *et al.*, 1994). Amplifikasi menggunakan metode PCR (*Polymerase chain reaction*) dengan komposisi ddH₂O 18 µL, primer LCO1490 dan HCO2198 masing- masing 2,5 µL, Mytaq HS red mix BIO-25047 25µl dan template DNA 2 µL. Semuanya dimasukkan dalam *tube* PCR untuk kemudian diamplifikasi menggunakan program predenaturasi pada suhu 94 °C selama 4 menit, denaturasi pada suhu 94 °C selama 30 detik, annealing pada suhu 50 °C selama 30 detik dan elongasi pada suhu 72 °C selama 30 detik.

Elektroforesis

Pengamatan hasil PCR secara kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1,2%. Running elektroforesis dengan memasukkan 4 µL produk PCR sebanyak 5 µl dan DNA marka ke dalam sumur gel. Setelah itu, katoda dan anoda dihubungkan pada tegangan 100 volt, 200 ampere selama 30 menit. Visualisasi dilakukan dengan melihat dengan lampu UV, pewarna Redsafe akan berpendar ketika terkena sinar UV.

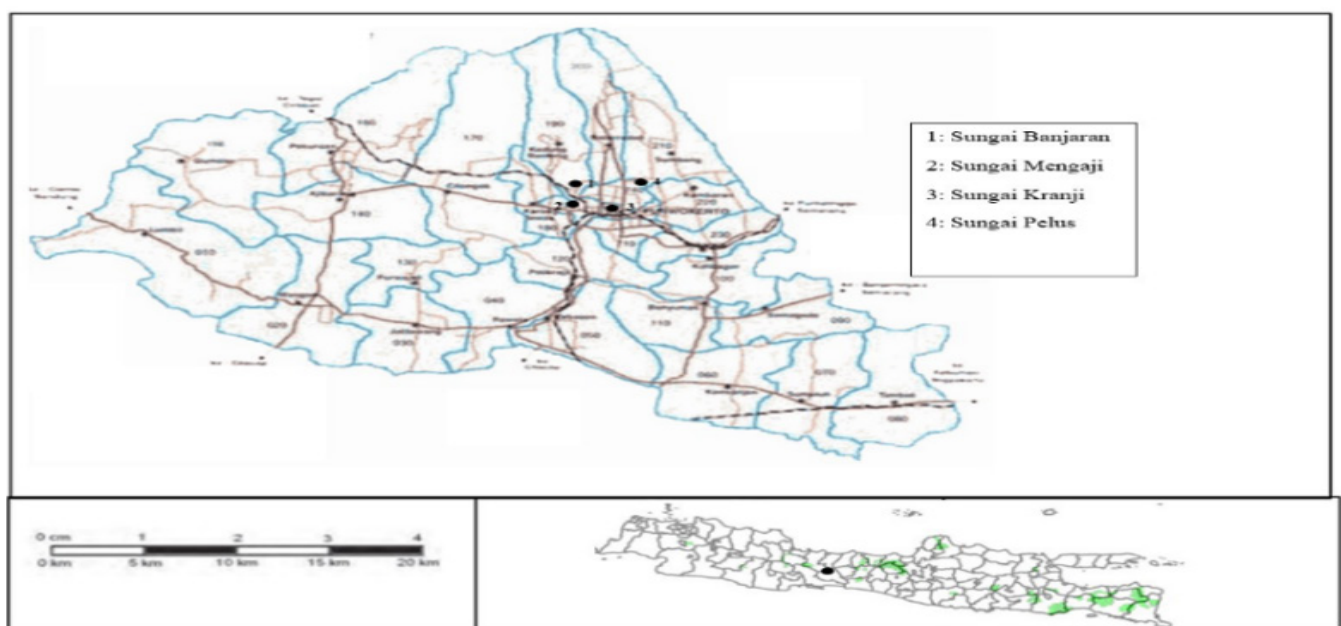
Sekuensing DNA dan pengolahan data

Hasil PCR kemudian dikirim ke 1st BASE DNA untuk disekuensing. Identifikasi spesies dengan membandingkan urutan basa nitrogen pada sequen dengan data di *Genbank* menggunakan BLAST melalui situs NCBI. Kontruksi pohon filogenetik *neighbour likelihood* menggunakan MEGA X 10, menghitung nilai similaritas menggunakan software Phydit, sedangkan untuk melihat keragaman genetik digunakan DNASP 6.

HASIL DAN PEMBAHASAN

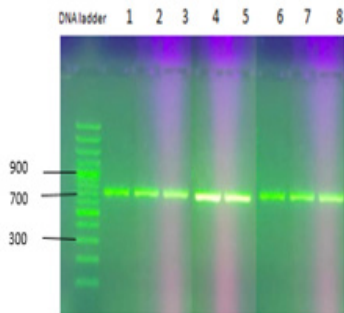
Amplifikasi gen COI

Proses amplifikasi gen COI berhasil mendapatkan fragmen



Gambar 1. Peta stasiun pengambilan sampel ikan, (1) Sungai Banjaran, (2) Sungai Mengaji, (3) Sungai Kranji, (4) Sungai Pelus.

DNA yang secara kualitatif dapat dilihat dengan tingkat ketebalan pita dan warna pada saat elektroforesis. Hasil amplifikasi kedelapan sampel menunjukkan pita yang tebal dan berwarna terang. Hal ini menandakan bahwa DNA hasil PCR memiliki kualitas yang baik (Noor et al., 2014).



Gambar 2. Hasil Amplifikasi gen COI ikan Uceng (*Neimacheilus*) dari sungai di wilayah Banyumas yang dilihat dengan UV transiluminator. Lane pertama adalah 100 bp DNA Ladder (Geneaid). lane no 1 adalah sampel kode BNC1; lane 2 : BNC2; lane 3: KNC1; lane 4: KNC2; lane 5: MNC1; lane 6: MNC2; lane 7: PNC1; lane 8: PNC2.

Hasil Sekuen ekstraksi DNA sampel ditunjukkan dengan urutan basa nukleotida pada fragmen COI dengan panjang berkisar 674-698 Kb. Basa terbanyak yang terdapat dalam sekuen adalah Sitosin (C) dengan prosentase rata-rata 29,9% dan prosentase basa paling sedikit adalah Guanin (G) dengan prosentase rata-rata 19,9%. Salah satu ciri khas gen pengkode COI memiliki komposisi guanin lebih rendah daripada komposisi sitosin (Astuti, 2011). Sedangkan untuk komposisi G+C 49,3% dan A+T 50,7%, komposisi G+C yang tinggi dapat melindungi DNA dari degradasi yang dikibatkan oleh panas, karena ikatan G-C merupakan ikatan yang kuat,

Tabel 1. Komposisi basa nukleotida pada sekuen sampel.

Kode Sampel	T(U)(%)	C(%)	A(%)	G(%)	Total Basa
BNC1	26,6	29,9	23,7	19,8	692
BNC2	26,7	29,8	23,4	20,0	691
KNC1	26,6	29,9	23,5	19,9	674
KNC2	26,6	29,9	23,7	19,8	698
MNC1	26,6	29,9	23,7	19,8	691
MNC2	26,5	30,1	23,7	19,8	684
PNC1	26,6	29,9	23,7	19,9	692
PNC2	26,6	29,9	23,6	19,9	684
Rata-Rata	26,6	29,9	23,6	19,9	672

Tabel 2. Hasil Identifikasi Sampel menggunakan BLAST.

Sampel	Spesies	Query cover (%)	Perindent (%)	Accession number
BNC1	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	97%	100%	MK567487.1
BNC2	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	94%	99,54%	MK567487.1
KNC1	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	96%	99,85%	MK567487.1
KNC2	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	94%	100%	MK567487.1
MNC1	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	94%	100%	MK567487.1
MNC2	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	94%	100%	MK567487.1
PNC1	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	94%	100%	MK567487.1
PNC2	<i>Nemacheillus chrysolaimos</i>	95%	99,85%	MK567487.1

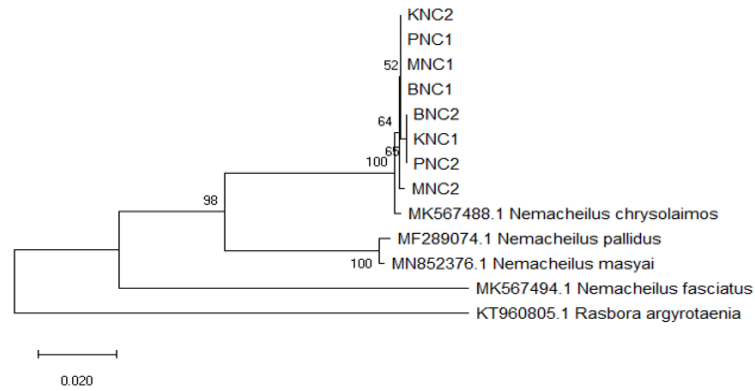
apabila dibandingkan dengan A-T (Gu & Li, 1994).

Identifikasi ikan uceng (*Nemacheilus sp.*)

Sekuen hasil sepasang primer (primer forward dan reverse) disejajarkan terlebih dahulu dengan menggunakan ClustalX, kemudian diedit hingga terbentuk consensus baru. Consensus tersebut dianalisis menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada situs NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*). Ikan uceng dari keempat stasiun teridentifikasi sebagai *Nemacheillus chrysolaimos*, dengan nilai *Query Cover* dan *Per Indent* ditunjukkan di Tabel 2. *Query Cover* merupakan jumlah prosentase dari sekuen yang memiliki kesamaan dengan pasangannya. *Per Indent* menunjukkan prosentase kesamaan antar sekuen yang dimiliki dengan sekuen target. Nilai *Per indent* tertinggi adalah sampel BNC2 berasal dari Sungai Banjarn, KNC2 dari Sungai Kranji, MNC1 dan MNC 2 dari Sungai Mengaji serta PNC1 dari Sungai Pelus memiliki nilai *per indent* 100%. Dengan nilai *per indent* 100% dapat dinyatakan merupakan spesies yang identik.

Berdasarkan hasil identifikasi bahwa ikan uceng yang hidup di keempat stasiun merupakan spesies *Nemacheilus chrysolaimos*. Spesies dari genus *Nemacheilus* yang hidup di perairan sungai Pulau Jawa adalah *N. chrysolaimos* dan *N. fasciatus* (Hadiaty, 2014). Kemungkinan besar telah terjadi migrasi antar sungai, melihat lokasi dari keempat sungai saling berdekatan. Sehingga dapat diduga bahwa spesies *N. chrysolaimos* dari keempat sungai tersebut berasal dari nenek moyang yang sama.

Analisa lebih jauh dilakukan dengan mengkontruksi filogenetik, untuk mengetahui kedekatan satu spesies dengan spesies yang lainnya. Pohon filogenetik dikonstruksi untuk mengetahui kedekatan genetik antara satu spesies dengan spesies lainnya (Nielsen & Yang, 1998). Kontruksi dilakukan menggunakan metode *Neighbour likelihood* dengan *bootstraps* 1000 kali pengulangan pada program MEGAX 10. Sebagai pembandingan diambil dari Genbank MK567488.1 *Neimacheilus chrysolaimos*, untuk *outgroup* memiliki korelasi yang dekat dengan sekuen sampel, tetapi juga memiliki perbedaan yang signifikan antara *outgroup* dengan sekuen sampel. Menurut (Dharmayanti & Indi, 2011) pemilihan sekuen *outgroup* yang terlalu jauh kemungkinan akan berperan dalam prediksi pohon menjadi salah akibat terdapat perbedaan secara random yang lebih banyak antara sekuen *outgroup* dengan sekuen yang lainnya maka dari itu sekuen *outgroup* yang diambil adalah KT 960805 *Rasbora argyrotaena*, MN852376.1 *Nemacheilus masyai*, MF289074.1 *Nemacheilus pallidus*, dan MK567494.1 *Nemacheilus fasciatus*.



Gambar 3. Pohon filogenetik neighbour joining Gen Cytochrome Oksidase subunit I (COI) spesies *Nemacheilus chrysolaimos* dengan 1000 kali pengulangan kedelapan sampel

Tabel 3. Nilai similaritas antar sampel dan dengan sekuen pembandingan yang ada pada Genbank.

Spesies	KNC1	KNC2	BNC2	PNC2	MNC1	PNC1	BNC1	MNC2	<i>N.Chrysol</i>	<i>N.Masyai</i>	<i>N.Pallidus</i>	<i>N.Fachiatu</i>	<i>R.Argyrota</i>
KNC1	–	0/653	0/652	0/653	1/653	1/653	1/649	2/653	3/642	54/649	54/646	94/649	121/649
KNC2	*100	–	0/662	0/669	1/668	1/668	1/654	2/668	3/645	54/651	54/648	94/652	121/652
BNC2	*100	*100	–	0/662	1/662	1/662	1/653	2/662	3/644	54/650	54/647	94/651	121/651
PNC2	*100	*100	*100	–	1/668	1/668	1/654	2/668	3/645	54/651	54/648	94/652	121/652
MNC1	99,85	99,85	99,85	99,85	–	0/668	0/654	1/668	2/645	53/651	53/648	93/652	121/652
PNC1	99,85	99,85	99,85	99,85	100	–	0/654	1/668	2/645	53/651	53/648	93/652	121/652
BNC1	99,85	99,85	99,85	99,85	100	100	–	1/654	2/645	53/651	53/648	93/652	121/652
MNC2	99,69	99,7	99,7	99,7	99,85	99,85	99,85	–	3/645	54/651	54/648	94/652	120/652
<i>N.Chrysol</i>	99,53	99,53	99,53	99,53	99,69	99,69	99,69	99,53	–	51/644	52/644	91/645	120/645
<i>N.Masyai</i>	91,68	91,71	91,69	91,71	91,86	91,86	91,86	91,71	92,08	–	3/648	92/651	116/651
<i>N.Pallidus</i>	91,64	91,67	91,65	91,67	91,82	91,82	91,82	91,67	91,93	99,54	–	91/648	116/648
<i>N.Fachiatu</i>	85,52	85,58	85,56	85,58	85,74	85,74	85,74	85,58	85,89	85,87	85,96	–	127/652
<i>R.Argyrota</i>	81,36	81,44	81,41	81,44	81,44	81,44	81,44	81,6	81,4	82,18	82,1	80,52	–

Hasil kontruksi pohon filogenetik (Gambar 3.) kedelapan sampel yaitu KNC2, PNC1, MNC1, BNC1, BNC2, KNC1, PNC2, MNC2 berada dalam satu clade dan membentuk monofiletik dengan sekuen pembandingan dari gene bank MK 567488.1 *Nemacheilus chrysolaimos* dengan nilai *bootsrap* 100. Kedelapan sampel memiliki kekerabatan yang dekat dengan MN852376.1 *Nemacheilus masyai*, dan MF289074.1 *Nemacheilus pallidus* dengan nilai *bootsrap*. Nilai lebih dari 65 pada percabangan pohon filogenetik menunjukkan tingkat kepercayaan yang tinggi (Batubara *et al.*, 2011).

Konstruksi pohon filogenetik didukung dengan data mengenai similaritas dimana kedelapan sampel memiliki nilai similaritas tinggi yaitu 99,69% - 100%, begitupun dengan data sekuen pembandingan nilai similaritasnya 81,36% - 99,69%. Nilai similaritas terendah adalah antara sampel dengan KT960805.1 *Rasbora argyrota* yaitu 81,3% - 81,6%. Menurut Claverie (2003) nilai presentase similaritas berbanding lurus dengan tingkat homologi antara kedua sekuen. Dengan semakin tinggi nilai similaritas maka tingkat homologi antara kedua sekuen juga makin tinggi. Isolot dengan nilai similaritas mencapai >97% dapat dikatakan bahwa spesies tersebut identik dengan strain yang dibandingkan, nilai similaritas 93% - 97% menunjukkan bahwa isolate berada pada tingkatan genus yang sama, tetapi berbeda spesies.

Diversitas genetik

Keragaman haplotype dan keragaman nukleotida dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil perhitungan diversitas genetik.

Sekuen	N	G+C	NHap	Pi	Hd
Sekuen sampel	8	0,493	8	0,00117	0,679

Ket: N : jumlah sekuen; NHap: jumlah haplotype; Pi: frekuensi haplotype; Hd: haplotipe diversity.

Keragaman haplotype dan keragaman nukleotida dihitung menggunakan software DNA SP, dihasilkan nilai keragaman haplotype sebesar 0,679, nilai keragaman nukleotida 0,00117. Nilai keragaman haplotype berkisar 0,8-1 masuk dalam kategori tinggi, sedangkan nilai kisaran 0,5-0,7 tergolong dalam kategori sedang dan 0,1-0,4 merupakan kategori rendah (Nei, 1987). Hobbs *et al.* (2013) mengkategorikan nilai keragaman haplotype antara 0-0,5 adalah rendah, sementara antara 0,5-1 termasuk dalam kategori tinggi. Berdasarkan hal tersebut, nilai keragaman haplotype *Nemacheilus chrysolaimos* masuk dalam kategori tingkat sedang. Kombinasi keragaman haplotype tinggi sedangkan untuk keragaman nukleotida rendah, mengindikasikan bahwa perbedaan di antara haplotype sangat sedikit (De-Joung *et al.*, 2011).

Penelitian yang sama pada spesies yang lain dilaksanakan untuk melihat keragaman genetik populasi ikan *Neimacheilus faschiatus* yang hidup di sungai-sungai daerah Blitar dan Pasuruan, Jawa Timur memiliki nilai keragaman haplotipe 0,9172 dan nilai keragaman nukleotida 0,5115. Berdasarkan pada nilai tersebut, keragaman genetik ikan *N. faschiatus* masuk dalam kategori tinggi (Riyandini et al., 2020).

Perbedaan nilai haplotype di spesies maupun di antar spesies merupakan hasil dari substitusi, insersi maupun delesi. Secara umum, variasi genetik dapat terjadi dengan adanya mutasi, rekombinasi, seleksi natural, ukuran populasi yang besar, dan migrasi (Barton, 2010). Nilai keragaman haplotipe (Hd) semakin tinggi maka tingkat keragaman genetik suatu populasi akan semakin tinggi, begitupun sebaliknya, nilai keragaman haplotipe yang rendah maka tingkat keragaman genetik populasi tersebut juga rendah (Akbar et al., 2014). Nilai keragaman genetik akan memberikan pengaruh pada beberapa aspek diantaranya ketahanan terhadap penyakit, respon pada perubahan lingkungan, perilaku, dan produktifitas/biomassa.

Variabel keragaman genetik juga bergantung pada populasi (Nuryanto et al., 2012). Populasi besar akan cenderung memiliki keragaman genetik yang lebih besar dibandingkan dengan populasi kecil, dengan adanya korelasi tersebut maka pendugaan ukuran populasi spesies dapat dilakukan. Nilai keragaman *N. chrsolaimos* di sungai wilayah Banyumas masuk dalam kategori sedang, hal ini menunjukkan ukuran populasinya di sungai wilayah Banyumas mengalami penurunan. Penangkapan yang berlebihan dapat dinyatakan sebagai penyebab turunya populasi *N. chrsolaimos*. Dilihat kualitas air dari keempat stasiun (Tabel 4) habitat hidup atau lingkungan *N. chrsolaimos* masih berada di tingkat optimum. Nilai pH 7- 8,5 merupakan nilai ideal bagi kehidupan organisme akuatik, ikan uceng dapat tumbuh optimal pada kisaran pH 8,1- 8,2 (Mahardini, 2019). Kandungan oksigen merupakan faktor pembatas bagi ikan, 7,41- 7,77 adalah kisaran optimum (Tatangindatu et al., 2013). Ikan uceng memberikan respon pertumbuhan yang baik di kisaran DO 5,2- 6,1 mg/l dan suhu 26- 31 °C (Mahardini, 2019).

Tabel 5. Hasil pengukuran kualitas air di keempat stasiun.

Stasiun	DO(mg/l)	pH	Suhu(°C)	TDS(ppm)
1	6,9	7,53	29,4	0,84
2	8,3	8,48	28,4	0,47
3	7,6	7,62	28,1	0,84
4	7,5	8,29	27,8	0,60

Keterangan : (1) Sungai Banjaran, (2) Sungai Mengaji, (3) Sungai Kranji, (4) Sungai Pelus.

Hasil dari penelitian ini memberikan gambaran bahwa penangkapan berlebih (*overfishing*) terhadap *N. chrsolaimos* di sungai-sungai Banyumas haruslah segera dikendalikan. Karena mulai merubah struktur populasi yang ada. Metode ini dapat dikembangkan sebagai alat untuk memantau ukuran populasi suatu spesies di alam.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa spesies *Nemacheilus* yang hidup di sungai wilayah Banyumas adalah

Nemacheilus chrsolaimos. Kekerabatan *Nemacheilus* dari ke empat sungai membentuk monofiletik artinya berasal dari satu nenek moyang. Nilai keragaman haplotipe (Hd) ikan *N. chrsolaimos* populasi Banyumas pada tingkat sedang dengan nilai keragaman nukleotidanya rendah.

Saran

Data keragaman genetik ikan-ikan lokal sungai Banyumas dapat dikoleksi sebagai langkah awal upaya pelestariannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian didanai oleh BLU Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Jendral Soedirman, melalui skema Riset Dosen Pemula tahun anggaran 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, N., N.P. Zamani & H. Madduppa. 2014. Keragaman genetik ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) dari dua populasi di Laut Maluku, Indonesia. *Depik*. 31. 65-73.
- Astuti, D. 2011. Variasi gen mitokondria cytochrome B pada dua jenis burung kakatua putih (*Cacatua alba* dan *C. moluccensis*). *Jurnal Biologi Indonesia*.
- Barton, N.H. 2010. Mutation and The Evolution of Recombination. *Phil. Trans. R. Soc. B* 365, 1281-1294.
- Batubara, A., R.R. Noor, A. Farajallah, B. Tiesnamurti & M. Doloksaribu. 2011. Karakterisasi molekuler enam subpopulasi kambing lokal Indonesia berdasarkan analisis sekuen daerah D-LOOP DNA mitokondria. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 16 (1): 49-60.
- Claverie, J.M and C. Noteredame. 2003. *Bioinformatics for Dummies*. Indianapolis (U.S.): Whey Publishing.
- De-Joung., A. Maaik, N. Wahlberg, M. van Eijk, P.M. Brakefield & B.J. Zwaan. 2011. Mitochondrial DNA Signature for the range-wide population of *Bicyclus anynana* suggests a rapid expansion from recent refugia. *PLoS ONE*. (6): e21385.
- Dharmayanti, N.L.P & I. Indi. 2011. *Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi*.
- Folmer, O., B. Michael, B. Michael & B.B. Hoeh. 1994. DNA primer for the amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *PubMed Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3 (5): 294-9.
- Gu, X & W.H. Li. 1994. A Model for the Correlation of Mutation Rate with G.C. Content and the Origin of G.C.- Rich Isochores, *Journal of Molecular Evolution*. Springer. New York
- Hadiaty, H., R. Kurnia & K. Yamahira. 2014. The loaches of genus *Nemacheilus* (Teleostei: Nemacheilidae) in Sunda Island, with an identification key. *Jurnal Ikhtologi Indonesia*, 14 (2): 83-100.
- Hebert, N., D. Lumbatobing, A. Sholihah, H. Dahruddin, E. Delrieu-Trottin, F. Busson, S. Sauri, R. Hadiaty & P. Keith. 2019. Revisiting species boundaries and distribution ranges of *Neimacheilus* spp. (Cypriniformes: Cyprinidae) in Java, Bali, and Lombok through DNA barcodes: Implication for conservation in biodiversity hot spot.

- Conserv. Genet. 20 (3): 517- 529.
- Hubert, P.D., N.S. Ratnasinghamand & J.R. deWaard. 2003. Barcoding animal life: Cytochrome C Oxidase Subunit I Divergences Among Closely Related Species. Proc. R. Soc. Lond. B (Suppl) 270: S96-S99.
- Hobbs, J.P.A., L. Herwerden, D.R. Jerry, G.P. Jones & P.L. Munday. 2013. High genetic diversity in geographically remote populations of endemic and widespread coral reef angelfishes (genus: *Centropyge*). Diversity 5: 39-50.
- Ketchum, K., N. Remi, M.M. Dieng G. O-Vaughan, J.A. Bur & Y. Idaghdour. 2016. Levels of genetic diversity and taxonomic status of *Epinephelus* species in United Arab Emirates fish markets. Marine Pollution Bulletin.
- Kottelat Maurice. 1993. Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi. Periplus Editions.
- Mahardini, A.T. 2019. Penaruh Perbedaan Jenis Substrat Terhadap Kelulushidupan dan Pertumbuhan Ikan Uceng (*Nemacheilus fasciatus*). Skripsi. Universitas Brawijaya
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. New York. Colombia University Press. New York. 512 pp.
- Nielsen, R & Z. Yang. 1998. Likelihood Models for Detecting Positively Selected Amino Acid Sites and Applications to the Hiv-1 envelope gene. Genetics. 148 (3): 929- 936.
- Noor, S., H. Pramono & S. Aziz. 2014. Deteksi keragaman spesies bakteri metanogen rumen sapi menggunakan kloning gen 16S rRNA dan sekuensing. Scripta Biologica. 1 (4): 1-8.
- Nuryanto, A., M. Bhagawati, M.N. Abulias & I. Indarmawan. 2012. Fish diversity at Cileuleuh River in District of Majenang, Cilacap Regency, Central Java. Jurnal Iktiologi Indonesia 12 (2): 147-153.
- Nuryanto, A., N. Komalawati & S. Sugiharto. 2019. Genetic diversity assessment of *Hemibagrus nemurus* from Rivers in Java Island, Indonesia using COI gene. Biodiversitas. 20 (9).
- Rahim, Z & H. Madduppa. 2020. Identifikasi ikan sardin komersial (*Dussumieria elopsoides*) yang didaratkan di Pasar Muara Angke, Jakarta menggunakan pengamatan morfologi, morfometrik dan DNA barcoding. Jurnal Kelautan. 13 (2).
- Riyandini, A.Y., M.S. Widodo & M. Fadjar. 2020. Cytochrome C oxidase subunit 1 gene (COI) for Identification and genetic variation of loaches (*Nemacheilus fasciatus*). Research Journal of Life Science. 7 (3): 142-154.
- Tatangindatu, F., O. Kalesaran & R. Rompas. 2013. Studi parameter fisika kimia air pada areal budidaya ikan di Danau Tondano, Desa Paleloan, Kabupaten Minahasa. Jurnal Budidaya Perairan. 1 (2): 8-19.
- Ukenye, E.A., I.A. Taiwo & P.E. Anyanwu. 2019. Morphological and genetic variation in tilapia guineensis in West African Coastal waters: A mini-review. Biotechnology Report. 24.
- Wibowo, A & S. Kaban. 2015. Genetic variation of tor tambroides (Bleeker, 1854) along Batang Terusan River, West Sumatra: Implication for stock identification.