

Isolasi Biogeografis Ikan Kihung (*Channa lucius*) di Danau Rawoijo, Situs Bukit Bangkai, Kalimantan Selatan Berdasarkan Profil Jenis dan Bobot Protein

Tanto Budi Susilo^{1*}, Nur Sobah², Kamilia Mustikasari¹, Rani Sasmita²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70714.

²Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan 70714.

*E-mail: tbsusilo@ulm.ac.id

ABSTRACT

This paper had described the protein profile of kihung or snakehead fish in Rawoijo Lake, the located east of the prehistorics sites, at Bukit Bangkai, South Kalimantan. There had not been many studies of the Kihung (*Channa lucius*) in this prehistoric sites. This information on protein profiles and weights had a strategic role in the management of the site area for educational and scientific tourism purposes. The analysis of kihung fish was carried out by describing morphology, morphometric and meristic calculations and comparison kihung fish from Banjar Regency, almost 400 Km from the Bukit Bangkai sites too. The protein content was measured by the Lowry method. Protein profiles were analyzed using the SDS-PAGE and elaborated using the UPGMA method. The results of morphological observations of kihung fish have a lighter body color and all fins are thick with regular patterns from Lake Rawoijo, while fish from Banjar Regency have a dark brownish body color. These fish have thin fins all with a pattern that is not irregular too. Optimum protein levels dissolved in kihung fish meat from Rawoijo, sample 1; 2; 3; 4; 5 which that was 2.117; 2,619; 2,931; 6,974; 7.601 mg/ml, and samples were 1,704, 2,874; 2,369; 1532; 1,921 mg/ml, respectively, from Banjar Regency. Based on identified the protein weight profile were fructose-bisphosphate aldolase A, aldolase, phosphoglycerate kinase, creatine kinase, enolase, actinin, glutamic dehydrogenase, actin protein, desmin, and albumin. For the expression of fish protein bands from Lake Rawoijo had tend to be thicker than fish protein bands from Banjar Regency. The results of the dendogram construction of the UPGMA method showed that Kihung were more closely related to the intra group of Banjar fish itself and Kihung fish from Lake Rawoijo had formed an inter group. This information had shown one of the evidences that Kihung fish are experiencing a biogeographic isolation at Bukit Bangkai sites.

Keywords: Morphology, Protein profile, *Channa lucius*, Biogeographic isolation.

PENDAHULUAN

Situs prasejarah Bukit Bangkai dan Danau Rawoijo (Gambar 1) secara administratif termasuk dalam wilayah Desa Dukuhrejo, Kecamatan Mantewe, Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan. Secara rinci, danau ini terletak kisaran 500 m di sebelah timur situs Bukit Bangkai. Bukit ini merupakan sebuah ceruk payung yang pernah dimanfaatkan manusia prasejarah ribuan tahun yang lalu (Sugiyanto, 2012).

Hasil kajian arkeologi pada situs Bukit Bangkai menunjukkan bahwa situs ini dulunya difungsikan sebagai tempat tinggal oleh manusia prasejarah dengan ditemukannya sisa pekuburan yang terdiri atas dua individu manusia, lukisan-lukisan yang ada di beberapa dinding gua, serpihan batu, serta cangkang kerang (Sugiyanto *et al.*, 2012) Untuk penelitian tentang kerang sebagai sumber pangan juga sudah dilakukan oleh Ningsih (2016) yang mengindikasikan bahwa cangkang kerang yang ditemukan di dalam Bukit Bangkai berasal dari sungai di sekitar Rawoijo.



Gambar 1. Situs Bukit Bangkai (A), Danau Rawoijo (B) dan Sketsa Danau Rawoijo (C).

Saat ini, situs tersebut dipakai sebagai salah satu destinasi ekowisata di Kalimantan Selatan. Merujuk pendapat Hamrick & Godt, (1990), bahwa spesies dengan daerah geografik yang terbatas atau terisolasi cenderung mempunyai keragaman genetik lebih. Keragaman genetik dapat memicu suatu adaptasi, menyebabkan perbedaan fenotifik populasi, perbedaan yang terjadi

secara umum berupa perubahan pada morfologi dan susunan genetik suatu makhluk hidup tersebut. Isolasi geografi umumnya menghentikan aliran gen (*gene flow*) karena menjadi salah satu faktor penghambat untuk transfer gen dalam sistem suatu populasi.

Di sisi lain, terjadinya isolasi geografis pada suatu tempat dapat diakibatkan antara lain oleh peristiwa glasial seperti pencairan es yang menambah debit air, pergeseran benua dan gunung yang memisah suatu dataran (Avisé *et al.*, 1987). Perbedaan tinggi daratan juga mampu menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya isolasi geografis khususnya untuk suatu perairan, karena perbedaan tinggi 2 dataran menjadi faktor penghambat pergerakan makhluk hidup yang berada di perairan tersebut (Hamrick & Godt, 1990).

Observasi Situs Bukit Bangkai dan Sekitar

Sugiyanto (2013), menyatakan bahwa manusia prasejarah yang menghuni situs Liang Bangkai, diduga kuat juga memanfaatkan sumberdaya makanan yang ada di sekitar gua. Salah satu sumber air yang potensial adalah danau Rawoijo. Danau ini diduga

merupakan danau yang terisolasi secara geografis. Ikannya dikenal terisolir secara biogeografis. Danau ini berfungsi juga tempat pemancingan ikan. Sumber air danau ini hanya berasal dari aliran air Bukit Bangkai dan danau ini tidak pernah mengering meskipun terjadi kekeringan yang ekstrim.



Gambar 2. *Channa lucius* (Muslim, 2013).

Sebaran dan Klasifikasi

Ikan 'kihung' (*Channa lucius*, Gambar 2), termasuk genus *Channa*, adalah ikan yang berasal dari Asia, sedangkan *Parachanna* adalah endemik dari Afrika. Terdapat 29 spesies *snakehead* ditemukan di dunia terdiri atas 3 spesies dari genus *Parachanna* dan 26 spesies dari genus *Channa* (Walter *et al.*, 2004). Penyebaran spesies *snakehead fish* sangat luas mulai dari India, Cina, Srilangka, Nepal, Birma, Pakistan, Banglades, Singapura, Malaysia, Philipina, dan Indonesia. Di Asia Tenggara, ikan gabus ditemukan di beberapa negara, seperti Indonesia,

Malaysia, Brunei Darussalam, Thailand, Singapura, Myanmar, Kamboja, Laos, dan Vietnam. Di perairan umum daratan Indonesia terdapat lima jenis ikan marga *Channa*, yaitu ikan kihung (*Channa lucius* Cuvier), ikan gabus (*C. striata* Bloch), ikan toman (*C. micropeltes* Cuvier), ikan jalai (*C. maruliodes* Bleeker), dan ikan serandang (*C. pleurothalmus* Bleeker) (Said, 2007).

Ciri Morfologi ikan kihung yaitu warna tubuh lebih gelap, sepanjang tubuh berupa loreng hitam, tengah badan berselang seling motif hitam dikelilingi warna kecoklatan, bentuk kepala lebih lancip (Muslim, 2013) Gambar ikan kihung disajikan dalam Gambar 4. Klasifikasi ikan kihung berdasarkan Kottelat & Whitten (1993): Kingdom: Animalia; Phylum: Chordata; Class: Actinopterygii; Ordo: Perciformes; Family: Channidae; Genus: *Channa*; Species: *Channa lucius*.

Kajian Worsham *et al.* (2017), mengindikasikan bahwa danau yang terpisah dengan sumber air lainnya dikarenakan perbedaan tinggi daratan yang ada disekitarnya, dapat mengakibatkan isolasi geografis berakibat pada isolasi biogeografis,

inbreeding dan akhirnya tidak terjadi aliran gen pada sistem populasi. Isolasi geografis menjadi salah satu faktor utama penyebab terjadinya varian morfologi dan genetik pada ikan. Varian ikan berkepala ular (*snakehead*) dapat digunakan sebagai salah satu indikator bahwa suatu kawasan mengalami isolasi geografik. Selanjutnya, lokus penelitian diduga mengalami isolasi geografis yaitu di Danau Rawoijo. Biota yang hidup di Danau Rawoijo diduga kebanyakan merupakan biota gua, hal ini dikarenakan genangan air danau Danau Rawoijo berasal dari dalam gua situs Bukit Bangkai. Pada tinjauan aspek lainnya, ikan dari genus ini diketahui mempunyai kandungan albumin yang tinggi. Albumin merupakan protein globular yang sering diaplikasikan secara klinis untuk perbaikan gizi dan penyembuhan luka paska operasi (Agustin *et al.*, 2016). Selain itu, Zuraini *et al.* (2006) menyatakan komposisi daging ikan *C. lucius* meliputi protein kasar 19,9% (% DW), lemak kasar 11,9%, abu mentah 1,2% dan kelembaban 80,0% (% WW). Ikan ini termasuk ikan dari genus *Channa* yang merupakan salah satu sumber

protein penting bagi manusia di kawasan Asia Pasifik. Fokus penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dampak dari isolasi geografis perairan yang diduga terjadi di Danau Rawoijo terhadap morfologi, ekspresi protein dan profil protein ikan kihung yang hidup di dalamnya.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel ikan diambil dari Danau Rawoijo Kecamatan Mantewe, Batulicin dan dari daerah Kabupaten Banjar masing-masing sebanyak 5 ekor. Ikan yang didapat kemudian diukur secara meristik dan morfometrik sebagai data pelengkap, ikan kemudian di fillet dan di simpan dalam freezer dengan suhu -20°C .

Metode Ammonium Sulfat

Proses ekstraksi sampel berdasarkan metode Dekic et al (2016). Pengendapan protein dengan ammonium sulfat dilakukan berdasarkan metode Burgess (2009). Sebanyak 1 ml supernatan ditambahkan dengan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan berbeda, yaitu dari 20%-80%. Kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan

kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C . Pelletnya disimpan dengan menambahkan buffer Tris-HCl pH 8.8, data penentuan konsentrasi kejenuhan ammonium sulfat.

Pembuatan Kurva Standar

Sebelum membuat kurva standar, dilakukan pembuatan larutan standar terlebih dahulu, dimana larutan standar ini dari beberapa konsentrasi yaitu 0, 0,5, 1, 1,5 serta 2 ppm, dengan komposisi larutan standarnya sebagaimana terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi larutan standar untuk pengujian Lowry

	B	S1	S2	S3	S4
Konsentrasi BSA (mg/ml)	0	0,5	1,0	1,5	2,0
Destilate water (μl)	300	298	296	294	292

Ket. B= Blanko; S=Sampel

Destilate water dimasukkan kedalam mikrotube sesuai dengan tabel diatas, diikuti dengan penambahan BSA yang dimasukkan sesuai dengan volume yang tertera pada tabel. Selanjutnya ditambahkan reagen Lowry sebanyak $600\ \mu\text{L}$ pada setiap mikrotube dan inkubasi selama 15 menit, ditambahkan reagen Follin sebanyak $60\ \mu\text{L}$ dan diinkubasi kembali selama 30 menit sembari

dimasukkan kedalam sumuran mikroplate sebanyak 320 μL . Selanjutnya larutan diukur menggunakan gelombang dengan panjang 650-750 nm, data yang didapat dari nilai absorbansi selanjutnya di plotkan pada kurva dan kurva tersebut yang akan digunakan sebagai kurva standar dalam penentuan kadar protein pada sampel.

Penentuan Konsentrasi Protein Sampel

Penentuan konsentrasi protein (Lowry, 1951) yang terdapat pada sampel dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 60 μL larutan sampel yang mengandung protein kemudian menambahkan *destilate water* sebanyak 240 μL , selanjutnya ditambahkan reagen Lowry sebanyak 600 μL dan diinkubasi selama 15 menit, setelah itu ditambahkan reagen Follin sebanyak 60 μL dan diinkubasi selama 30 menit sembari dimasukkan kedalam sumuran *microplate* sebanyak 320 μL , kemudian dilakukan pengukuran absorbansi larutan menggunakan panjang gelombang 650-750 nm. Penentuan 19 konsentrasi protein pada sampel menggunakan kurva standar yang telah dibuat sebelumnya.

Elektroforesis Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Elektroforesis protein dengan SDS-PAGE terbagi menjadi empat tahapan, yaitu preparasi gel 10% SDS, preparasi sampel dan *running* elektroforesis, pewarnaan gel dan penentuan berat molekul protein sampel (Lowry, 1951).

Preparasi sampel protein ditambahkan dengan 4 \times SB (sample buffer), perbandingan antara sampel: sample buffer adalah 1:2. Campuran protein dan sample buffer dipanaskan pada suhu 90 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit. Gel yang telah memadat dimasukkan ke dalam buffer tank elektroforesis yang telah diberi running buffer, 1 \times Tris-glycine tank 20 buffer - SDS. Sampel yang telah disiapkan dimasukkan sebanyak 15 μL ke dalam sumuran elektroforesis menggunakan mikropipet. Pada salah satu sumuran diinjeksi protein marker Protein Ladder Chromatein dengan berat molekul 10,5; 14,0; 22,0; 29,0; 42,0; 51,0; 62,0; 70,0; 95,0; 130,0; dan 175 kDa. Elektroforesis dijalankan pada tegangan listrik 120 V dengan arus 45 mA selama 3 jam. Untuk pewarnaan gel SDS-PAGE dimasukkan dalam wadah yang berisi reagen pewarna

(1,25 gram Coomassie Brilliant Blue R-250, 225 mL Metanol, 50 mL asam asetat glasial dan 225 mL akuades). Pewarnaan dilakukan selama 30 menit, pewarna yang tidak berikatan dengan sampel dalam gel dilakukan desatining. Gel dimasukkan ke dalam wadah berisi larutan pencuci (225 mL metanol, 50 mL asam asetat glasial dan 225 mL akuades).

Penentuan Berat Molekul Protein

Gel SDS-PAGE diamati dan didokumentasikan. Penentuan berat molekul (MW) protein sampel dilakukan berdasarkan pada kurva standar yang diperoleh dari persamaan garis antara molekul protein marker dengan nilai mobilitas relatifnya (Rf). Penentuan berat molekul protein dilakukan dengan menghitung Rf (*Retention Factor*) dari masing-masing pita (*band*) protein dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Mobilitas Relatif (Rf)} = \frac{\text{Jarak migrasi awal resolving gel sampai tracking gel}}{\text{Jarak Migrasi tracking dye}}$$

Analisis Data

Setiap pita protein yang muncul dikonversi ke dalam bentuk matriks biner dengan memberi nilai satu (1) jika terdapat pita protein dan nol (0)

jika tidak terdapat pita protein. Matriks data biner kemudian diturunkan menjadi matriks jarak genetik, untuk menentukan jarak genetik pasangan genotipe yang terdapat pada individu berbeda dengan menggunakan koefisien similaritas Dice (Nei & Li, 1979), dengan rumus sebagai berikut:

$$F_{ab} = \frac{2n_{ab}}{(n_a + n_b)}$$

Ket.: F_{ab} merupakan koefisien similaritas genetik individu a dan b, n_{ab} adalah jumlah pita protein yang sama posisinya pada individu a dan b, serta n_a dan n_b adalah jumlah pita protein pada masing-masing individu a dan b (Thada & Jaglan, 2013).

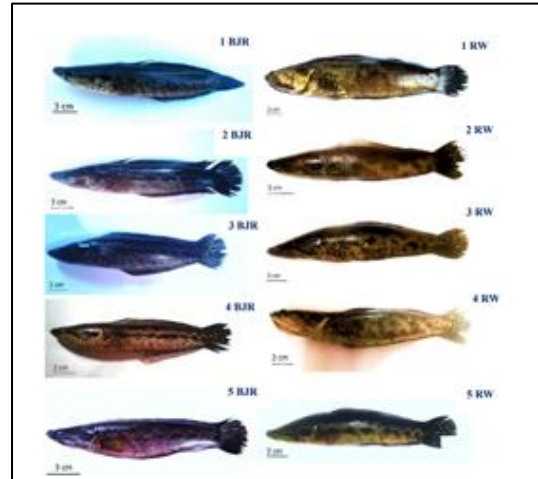
Berdasarkan kemiripan genetik tersebut kemudian dilakukan analisis pengelompokan. Pengelompokan data matriks (*cluster analysis*) dan pembuatan dendrogram dilakukan dengan metode *Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic* (UPGMA) dengan aplikasi komputer Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koleksi Sampel

Penelitian ini berhasil mengkolleksi sampel ikan ‘Kihung’ dari dua tempat berbeda, yaitu masing-masing 5 ekor (Gambar 2) dari Danau Rawoijo, Situs Bukit Bangkai dan daerah sekitar Kabupaten Banjar. Koleksi yang berbeda bertujuan untuk mengetahui kemiripan fenotifik dan/atau genetik melalui ekspresi profil proteinnya.

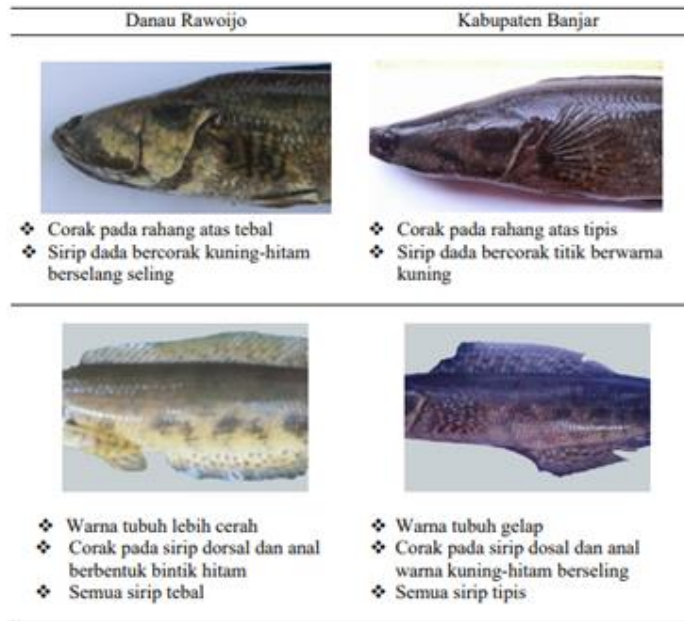
Selanjutnya dilakukan pengukuran morfometrik dan meristik, sedangkan hasil dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Perbandingan fenotifik ikan. Keterangan: BJR= Sampel ikan kihung asal Kabupaten Banjar 5 ekor; RW= Sampel ikan Kihung asal Danau Rawoijo 5 ekor.

Tabel 2. Hasil pengukuran secara meristik dan morfometrik ikan kihung (*Channa lucius*) asal Danau Rawoijo Situs Bukit Bangkai dan ikan Kihung asal Kabupaten Banjar.

Karakter	Nilai Pengukuran <i>C. lucius</i> di Danau Rawoijo		Nilai Pengukuran <i>C. lucius</i> di Kabupaten Banjar	
	Kisaran	Rerata ± SD	Kisaran	Rerata ± SD
Morfometrik				
Panjang Total (cm)	22-37	26,90 ± 5,76	27-28,5	27,62 ± 0,55
Panjang Baku (cm)	21-30	23,00 ± 3,92	23,4-24,1	23,40 ± 0,58
Panjang Kepala (cm)	8-12	8,76 ± 1,81	8,0-8,4	8,10 ± 0,17
Tinggi Badan (cm)	5-8	6,30 ± 1,05	5,0-5,3	5,10 ± 0,14
Berat Badan (g)	116-552	209,60 ± 191,60	172-226	193,20 ± 23,15
Meristik (Jumlah)				
Sirip dorsal/punggung	39	39,00 ± 0,00	39	39,00 ± 0,00
Sirip anal/dubur	27-28	27,40 ± 0,55	27-29	28,20 ± 0,84
Sirip pectoral/dada	32	32,00 ± 0,00	32	32,00 ± 0,00
Sirip pelvic/perut	10	10,00 ± 0,00	10	10,00 ± 0,00
Lateral line	56-57	56,00 ± 0,55	56-61	58,40 ± 2,07
Sisik melintang badan	7,0-19,5	16,20 ± 5,20	16-17	16,20 ± 0,45
Sisik melintang batang ekor	6-10	8,70 ± 1,57	10-11	10,20 ± 0,45



Gambar 3. Perbandingan morfometrik dan meristik ikan Kihung

Berdasarkan *fishbase*, data karakter meristik ditemukan jumlah jari-jari lemah pectoral (dada) pada ikan Kihung asal Danau Rawoijo dan Kabupaten Banjar berjumlah 32, sedangkan data dari *fishbase* jumlah jari-jari lemah sirip pectoral berkisar antara 16-19, dan jari jari lemah sirip Pelvic (perut) ikan kihung asal Danau Rawoijo dan Kabupaten Banjar berjumlah 10 (5-5), namun berdasarkan data *Fishbase* berjumlah 12 (6-6). Sedangkan hasil identifikasi berdasarkan deskripsi morfologi sampel yang dikoleksi cocok dengan deskripsi morfologi pada situs *Fishbase* (Gambar 3). Berdasarkan penjelasan Suryana *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa ikan jika hidup di daerah perairan yang bersih atau tidak

berlumpur warna pada tubuh atau sisik cenderung lebih cerah dibandingkan ikan yang hidup diperairan keruh dan berlumpur. Ikan kihung asal Danau Rawoijo mempunyai sirip lebih tebal dibanding sirip ikan kihung asal Kabupaten Banjar yang cenderung lebih tipis dan transparan, corak pada sirip kedua ikan ini juga mempunyai pola yang berbeda. Pada ikan asal Rawoijo pola corak pada sirip dorsal, anal dan ekor berbentuk bintik hitam dengan latar warna kekuningan dan pada sirip dada bercorak hitam-kuning dengan pola berjejer beraturan dan melengkung beberapa baris mengikuti bentuk sirip, sedangkan pada ikan kihung asal Kabupaten Banjar pola corak hitam dan kuning pada sirip terletak berselang-seling dengan

bentuk seperti kotak pada bagian sirip dorsal, anal dan ekor, sedangkan pada sirip dada pola berbetuk seperti bintik. Perbedaan antar ikan kihung diduga karena isolasi geografi yang terjadi pada Danau Rawoijo, sehingga mengakibatkan ikan beradaptasi dan menyebabkan munculnya perbedaan pada karakter morfologi. Hamrick & Godt (1990) menyatakan bahwa spesies yang hidup pada daerah terisolasi secara geografi cenderung mengalami suatu adaptasi yang mengakibatkan beberapa perubahan pada spesies diantaranya perubahan morfologi dan susunan genetik. Selain pengamatan secara morfologi, sampel ikan kihung juga diukur secara morfometrik dan meristik. Morfometrik adalah ukuran bagian-bagian tertentu dari struktur tubuh ikan (*measuring methods*). Karakter morfometrik yang sering digunakan antara lain: panjang total, panjang baku, panjang cagak, tinggi dan lebar badan, tinggi dan panjang sirip, dan diameter mata.

Hasil pengukuran rata-rata morfometrik ikan kihung asal Danau Rawoijo (Tabel 2) secara berurutan dimulai dari PT; PB; PK; TB adalah 26; 23; 8.76; 6.3 cm, sedangkan rata-

rata perhitungan untuk sampel Kabupaten Banjar secara berturut-turut adalah 27.62; 23.4; 8.1; 5.1 cm. Variabel yang termasuk dalam karakter meristik antara lain: jumlah jari-jari sirip, jumlah sisik, jumlah gigi, jumlah tapis insang, jumlah kelenjar buntu (*pyloric caeca*), jumlah vertebra, dan jumlah gelembung renang. Hasil perhitungan meristik antara ikan kihung asal Danau Rawoijo dan asal Kabupaten Banjar yang memiliki perbedaan adalah pada hasil perhitungan jumlah jari-jari lemah sirip anal.

Pengukuran Kadar Protein

Protein yang didapatkan dari hasil ekstraksi terlebih dahulu diendapkan menggunakan metode fraksinasi ammonium sulfat yang dielaborasi metode Lowry, dengan enam konsentrasi berbeda dengan tujuan memperoleh fraksi kadar protein tertinggi. Dimana, metode ini mengikuti prinsip *salting out* dan *salting in*. Pada fraksi tertentu sesuai jumlah dan jenis protein diselimuti awan ion-ion amonium sulfat pada permukaan protein yang terlarut (Heidelberg, 1990). Secara perlahan mengalami presipitasi atau

pengendapan pada kondisi amonium jenuh. Tabel 3, memperlihatkan hasil pengukuran protein menggunakan metode Lowry, fraksi 30-40% adalah

tertinggi, kecuali sampel 5 (B). Fraksi yang tertinggi dijadikan rujukan untuk analisis selanjutnya.

Tabel 3. Kadar protein ikan kihung asal Danau Rawoijo dan Kab. Banjar

Sampel	Kadar Protein (mg/ml)					
	20-30%	30-40%	40-50%	50-60%	60-70%	70-80%
Kihung 1 (B)	1,279 ± 0,09	1,704 ± 0,08	1,703 ± 0,17	1,140 ± 0,04	1,203 ± 0,11	1,065 ± 0,04
Kihung 2 (B)	1,579 ± 0,04	2,874 ± 0,11	1,621 ± 0,15	1,408 ± 0,27	1,423 ± 0,05	1,595 ± 0,14
Kihung 3 (B)	1,721 ± 0,05	2,369 ± 0,32	1,859 ± 0,25	1,298 ± 0,07	1,140 ± 0,13	1,165 ± 0,06
Kihung 4 (B)	1,386 ± 0,03	1,531 ± 0,09	1,513 ± 0,04	1,368 ± 0,06	1,485 ± 0,05	1,499 ± 0,03
Kihung 5 (B)	1,638 ± 0,46	1,909 ± 0,02	1,921 ± 0,03	1,102 ± 0,02	1,891 ± 0,02	1,070 ± 0,01
Kihung 1 (RW)	0,618 ± 0,03	2,117 ± 0,15	1,107 ± 0,07	1,168 ± 0,05	1,579 ± 0,18	1,494 ± 0,23
Kihung 2 (RW)	1,852 ± 0,10	2,619 ± 0,06	1,537 ± 0,05	1,033 ± 0,13	1,761 ± 0,06	2,092 ± 0,05
Kihung 3 (RW)	2,511 ± 0,11	2,931 ± 0,17	0,549 ± 0,09	1,111 ± 0,04	1,138 ± 0,15	1,278 ± 0,18
Kihung 4 (RW)	5,151 ± 0,43	6,974 ± 0,62	1,862 ± 0,25	1,828 ± 0,05	0,973 ± 0,02	3,292 ± 0,18
Kihung 5 (RW)	2,830 ± 0,01	7,601 ± 0,25	1,890 ± 0,02	1,908 ± 0,05	2,432 ± 0,02	2,483 ± 0,11

Ket.: BJR= Ikan kihung asal Kab. Banjar; RW= Ikan kihung asal Danau Rawoijo; = persentase kejenuhan optimum.

Konsentrasi BSA yang digunakan yaitu 0.0; 0.5; 0.1; 1.5; 2 mg/ml, dilakukan ulangan sebanyak 3 kali (Triplo), sampel dan blanko yang ditambahkan juga diperlakukan sama dengan BSA. Pada kurva standar, jika nilai regresi linier semakin mendekati 1, maka hal ini menunjukkan bahwa kurva tersebut semakin valid. Sebelum melakukan pengujian metode Lowry, hasil ekstraksi protein yang berupa

supernatant terlebih dahulu diendapkan dengan ammonium sulfat dengan enam persentasi kejenuhan berbeda yaitu dari 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% untuk tahap pertama dan 30%, 40%, 50%, 60%, 70% dan 80% untuk tahapan kedua. Perbedaan tingkat persentasi kejenuhan ini dilakukan untuk mengetahui pengendapan protein secara optimal pada sampel. Berdasarkan hasil

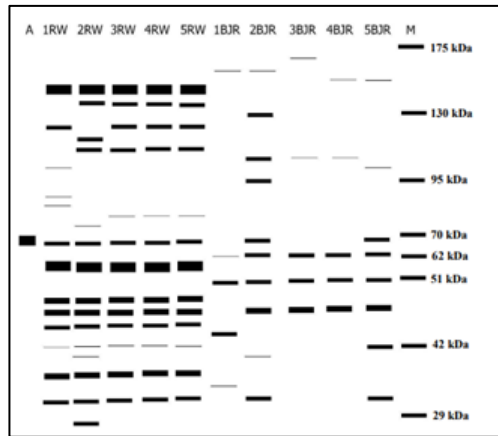
pengujian kadar protein dengan metode Lowry sampel ikan kihung 1; 2; dan 3 asal Kabupaten Banjar, konsentrasi protein tertinggi pada persentasi 30% - 40% dengan nilai protein berturut-turut yaitu 1.704 ± 0.08 ; $2,874 \pm 0.11$; 2.369 ± 0.32 mg/ml, hasil ini dapat dilihat pada Tabel 3. Tiga sampel tersebut diuji bersamaan dengan larutan standar BSA yang mempunyai nilai R2 sebesar 0.9921. Untuk sampel 4 didapatkan konsentrasi protein tertinggi juga pada kejenuhan 30%-40% dengan nilai protein 1.531 ± 0.09 mg/ml, sedangkan untuk sampel 5 didapatkan konsentrasi tertinggi pada kejenuhan 40% - 50% dengan nilai protein 1.921 ± 0.03 mg/ml. kedua sampel tersebut diuji bersamaan dengan larutan standar BSA yang mempunyai nilai R2 sebesar 0.9966. 34. Pada sampel ikan kihung berlabel 1; 2; dan 4 asal Danau Rawoijo (Tabel 4) didapatkan konsentrasi tertinggi pada kejenuhan 30% - 40% dengan nilai protein berturut-turut yaitu 2.117 ± 0.15 ; 2.619 ± 0.06 ; dan 2.931 ± 0.17 mg/ml ketiga sampel tersebut diuji bersaman dengan larutan standar BSA yang mempunyai nilai R2 sebesar 0.9951. Berdasarkan hasil pengujian

Lowry Sampel berlabel 3 dan 5 juga mempunyai konsentrasi tertinggi pada kejenuhan 30% - 40% dengan nilai protein berturut-turut 2.931 ± 0.62 mg/ml dan 7.601 ± 0.25 mg/ml. Seperti sebelumnya dua sampel ini diuji bersamaan dengan larutan BSA yang mempunyai nilai R2 sebesar 0.9904. Hasil pengukuran protein diatas menunjukkan bahwa kadar protein yang ada pada sampel asal Danau Rawoijo mempunyai nilai kadar protein lebih tinggi daripada sampel asal Kabupaten Banjar, hal ini diduga disebabkan oleh ukuran beberapa sampel asal Rawoijo yang lebih kecil.

Profil Protein Dengan SDS-PAGE

Konsentrasi protein yang digunakan masing-masing 4 mg/mL, sedangkan volume masing-masing sampel: buffer yang dimasukkan adalah 10 μ L dalam tiap sumuran gel. Hasil running sampel ikan kihung asal Danau Rawoijo dan ikan kihung asal Kabupaten Banjar serta Protein Ladder Chromatein sebagai marker (Gambar 4).

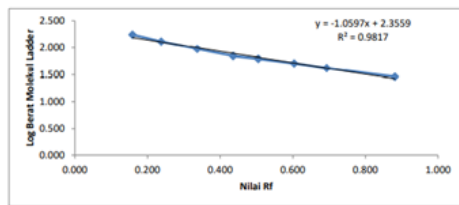
Jenis-jenis protein yang didapatkan dari pengujian dengan metode SDS-PAGE dalam penelitian ini dianalisis



t: — = Sangat Tipis
 — = Cukup Tebal
 — = Tebal
 — = Sangat Tebal

Gambar 4. Sketsa band protein ikan kihung Rowoijo dan Banjar hasil SDS-PAGE (Keterangan: R: sampel ikan Rowoijo, B: sampel ikan Banjar; M: Protein ladder chromatin dan A: Bovin serum albumin).

Jarak Migrasi (cm)	Rf	Log Berat Molekul (MW)	Berat Molekul/ Molecular Weight MW (kDa)	panjang tracking dye (cm)
1.6	0.158	2.243	175	10.1
2.4	0.238	2.114	130	10.1
3.4	0.337	1.978	95	10.1
4.4	0.436	1.845	70	10.1
5.1	0.505	1.792	62	10.1
6.1	0.604	1.708	51	10.1
7	0.693	1.623	42	10.1
8.9	0.881	1.462	29	10.1



Gambar 5. Grafik kurva standart hubungan antara nilai Rf dan log berat molekul (MW) marker *protein Ladder Chromatin*

secara kualitatif untuk membandingkan kemiripan antar spesies ikan kihung asal Danau Rawoijo dengan ikan kihung asal Kabupaten Banjar. Data yang diperoleh kemudian dibuat regresi

linier hubungan antara mobilitas relatif (sumbu x) dengan nilai logaritma berat molekul pita protein marker (sumbu y) dengan nilai $y = -1.0597x + 2.3559$ (Gambar 5).

Penelitian ini menggunakan metode SDS-PAGE untuk mengetahui protein yang terkandung dalam sampel uji berdasarkan berat molekulnya. Penentuan berat 35 molekul protein menggunakan *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) dinilai relatif sederhana, terjangkau dan cepat. Migrasi protein di dalam gel poliakrilamida terutama ditentukan oleh muatan molekul dan juga dipengaruhi oleh ukuran molekul. Standar yang digunakan sebagai pembandingan pada perhitungan ukuran molekul band protein yang ditemukan pada sampel yang di analisis adalah Protein Ladder Chromatein dengan berat molekul 10,5; 14,0; 22,0; 29,0; 42,0; 51,0; 62,0; 70,0; 95,0; 130,0; dan 175 kDa.

Hasil perhitungan jarak migrasi, nilai Rf, dan berat molekul protein marker dapat dilihat pada Gambar 5. Band profil protein yang diperoleh juga ditampilkan pada Gambar 5. Total band protein yang didapat dari

hasil running elektroforesis adalah 100 band (Gambar 5), band terbanyak ditemukan pada sampel ikan kihung asal Danau Rawojo (2RW) yaitu 15 band, dan 13 band protein pada sampel Danau Rawojo (1RW; 3RW; 4RW dan 5RW), sedangkan band protein yang ditemukan pada sampel asal Kabupaten Banjar yaitu 10 band (2BJR), 8 band (5BJR) dan 5 band (1BJR; 3BJR; dan 4 BJR). Ekspresi band protein yang ditemukan pada tiap sumuran mempunyai ketebalan yang berbeda-beda. Mustofa *et al.* (2006), menyatakan bahwa ketebalan band protein dipengaruhi jenis sampel dan kadar protein yang berbeda, sedangkan perbedaan ketebalan pita yang terbentuk menurut Cahyarini *et al.* (2004) dan Aziro *et al.*, (2012) disebabkan adanya perbedaan jumlah dari molekul-molekul yang termigrasi.

Berdasarkan Tabel 4, diperoleh ekspresi band protein sangat tebal (10 band) pada berat molekul 53.7 kDa dan 154.9 kDa yang hanya ditemukan pada sampel asal Danau Rawojo, ekspresi band protein tebal (20 band) dengan berat molekul berkisar antara 37.7 kDa – 48.1 kDa dimana 15 band diantaranya ditemukan pada sampel asal Danau Rawojo, ekspresi band

protein cukup tebal (46 band) diperoleh pada berat molekul berkisar antara 30.9 kDa – 135.7 kDa, sedangkan ekspresi band protein sangat tipis (24 band) diperoleh pada kisaran berat molekul 36.9 kDa – 169.2 kDa.

Semakin rendah berat molekul maka pita protein akan lolos dari pori-pori gel bagian atas. Berat molekul protein yang ditemukan pada sampel asal Danau Rawojo berkisar antara 30.94 kDa – 154.93 kDa, sedangkan pada sampel asal Kabupaten Banjar berkisar antara 33.06 kDa – 169.23 kDa. Dugaan protein yang diidentifikasi adalah protein *Fructosebisphosphate aldolase A* (36.91 kDa); *Aldolase* (39.44 kDa); *Phosphoglycerate kinase* (41.22 kDa); *Creatine kinase* (46.03 kDa); *Enolase* (48.11 kDa), dan *Actinin* (104.14 kDa) berdasarkan Gam *et al.* (2006), protein *Glutamic dehydrogenase* (Purnamasari, 2016), protein *Actin* (42 kDa); *Desmin* (54.92 kDa); dan *Albumin* (70 kDa) berdasarkan Mahboob *et al.* (2010). Protein yang umumnya muncul pada semua sampel ikan kihung asal Danau Rawojo adalah protein *Phenylalanine* (33.94 kDa), *Fructose-bisphosphate aldolase A* (36.91 kDa), *Phosphoglycerate*

kinase (41.22 kDa), *Creatine kinase* (46.03 kDa), *Enolase* (48.11 kDa), dan *Albumin* (70 kDa), sedangkan protein yang umumnya hanya muncul pada ikan kihung asal Kabupaten Banjar adalah protein *Glutamic dehydrogenase* (51.40 kDa) dan *Desmin* (54.92 kDa). Pengujian menggunakan metode SDS-PAGE atau pengujian profil protein menurut Sher *et al.* (2010) umum digunakan karena kesederhanaannya, namun jika dibandingkan dengan pengujian DNA

metode ini kurang optimal, karena hasil ekspresi dan profil protein dari suatu inidividu tergantung dari beberapa faktor seperti faktor usia, hormon dan lingkungan, sehingga menyebabkan ekspresi protein dan profil protein yang dihasilkan berubah-ubah. Sedangkan pengujian tingkat genetik umumnya menggunakan fragmen DNA non koding protein atau gen yang tidak mengkode protein sehingga tidak terpengaruh oleh faktor diatas.

Tabel 4. Berat molekul dan ekspresi protein

Baris Ke-	1RW	2RW	3RW	2RW	5RW	1BR	2BR	3BR	4BR	5BR
1								170,2		
2						165,5	165,5			
3									158,4	158,4
4	154,9	154,9	154,9	154,9	154,9					
5		135,7	135,7	135,7	135,7					
6							129,9			
7	124,2		124,2	124,2	124,2					
8		121,5								
9							111,3	111,3	113,5	
10	104,8									104,8
11		106,5	106,5	106,5	106,5		106,5			
12	104,1									
13	93,3									
14			87,3	87,3	87,3					
15		79,9								
16	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0		70,0			70,0
17						54,9	54,9	54,9	54,9	54,9
18	53,7	53,7	53,7	53,7	53,7					
19						51,4	51,4	51,4	51,4	51,4
20	48,1	48,1	48,1	48,1	48,1					
21	46,0	46,0	46,0	46,0	46,0		46,0	46,0	46,0	46,0
22	44,0	44,0	44,0	44,0	44,0					
23						42,2				
24	41,2	41,2	41,2	41,2	41,2					41,2
25							39,6			
26		39,4								
27	37,7	37,7	37,7	37,7	37,7					
28						36,9				
29	33,1	33,1	33,1	33,1	33,1		33,1			33,1
30		30,9								
Distribusi band	13	15	13	13	13	5	10	5	5	8
Total band	100									

Ket. : RW = ikan kihung asal Rawoijo; BJR = ikan kihung asal Kab. Banjar; = ekspresi band protein sangat tipis (24 band); = ekspresi band protein cukup tebal (46 band); = ekspresi band protein tebal (20 band); = ekspresi band protein sangat tebal (10 band).

Hubungan Keekerabatan Ikan Kihung

Band protein yang diperoleh dikonversi menjadi data matriks biner, data matriks biner, selanjutnya dirubah menjadi data koefisien similaritas

untuk diturunkan menjadi data jarak genetik dengan rumus: $d = 1 - Sb$. Nilai d merupakan jarak genetik, sedangkan Sb adalah nilai koefisien similaritas Dice (Nei & Li, 1979) (Tabel 5).

Tabel 5. Nilai koefisien similaritas genetik antar ikan kihung

OTUs	1RW	2RW	3RW	4RW	5RW	1BJR	2BJR	3BJR	4BJR	5BJR
1RW	1,000	0,643	0,769	0,769	0,769	0,111	0,261	0,111	0,111	0,476
2RW		1,000	0,714	0,786	0,857	0,100	0,400	0,100	0,100	0,348
3RW			1,000	1,000	1,000	0,111	0,348	0,111	0,111	0,381
4RW				1,000	1,000	0,111	0,348	0,111	0,111	0,381
5RW					1,000	0,111	0,348	0,111	0,111	0,476
1BJR						1,000	0,462	0,400	0,400	0,308
2BJR							1,000	0,533	0,533	0,556
3BJR								1,000	0,800	0,615
4BJR									1,000	0,615
5BJR										1,000

Tabel 6. Jarak genetik antara ikan kihung asal Rowoijo dan Kabupaten Banjar

OTUs	1RW	2RW	3RW	4RW	5RW	1BJR	2BJR	3BJR	4BJR	5BJR
1RW	0,000	0,357	0,231	0,231	0,231	0,889	0,739	0,889	0,889	0,524
2RW		0,000	0,286	0,214	0,143	0,900	0,600	0,900	0,900	0,652
3RW			0,000	0,000	0,000	0,889	0,652	0,889	0,889	0,619
4RW				0,000	0,000	0,889	0,652	0,889	0,889	0,619
5RW					0,000	0,889	0,652	0,889	0,889	0,524
1BJR						0,000	0,539	0,600	0,600	0,692
2BJR							0,000	0,467	0,467	0,444
3BJR								0,000	0,200	0,385
4BJR									0,000	0,385
5BJR										0,000

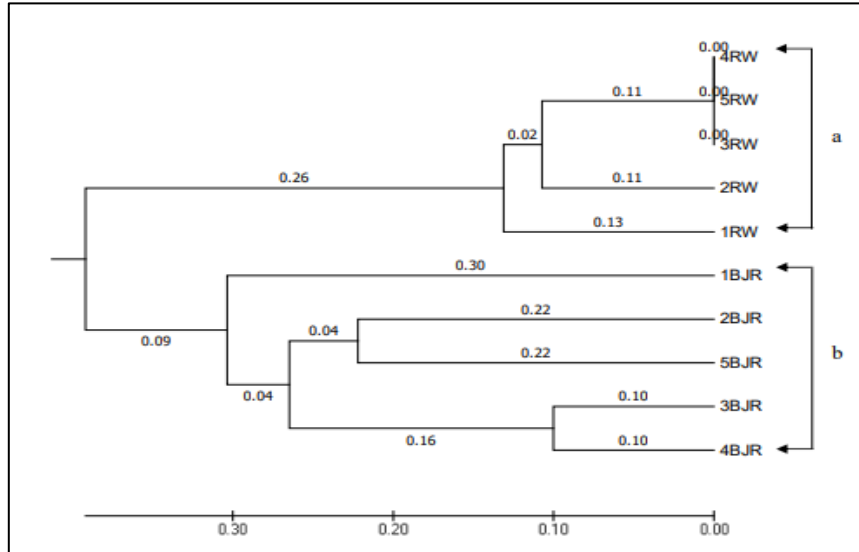
Ket. OUT = *Operational Taxonomic Units*; RW= ikan kihung asal danau Rawoijo; BJR = ikan kihung asal Kab. Banjar.

Analisis kekerabatan berdasarkan metode UPGMA dilakukan dengan menggunakan software MEGA7 (Thada & Jaglan, 2013) untuk konstruksi dendrogram hubungan kekerabatan antara ikan kihung asal

Danau Rawoijo dan Kabupaten Banjar berdasarkan nilai koefisien similaritas dan jarak genetik. Metode UPGMA merupakan metode tertua dan paling banyak digunakan dalam rekonstruksi pohon filogeni. Konsepnya adalah

indeks pairwise distance terkecil antar pasangan organisme yang digunakan untuk menggabungkan suatu individu

atau organisme kedalam satu kelompok. Hasil konstruksi dendrogram UPGMA (Gambar 6)



Gambar 6. Dendrogram filogenetik ikan kihung asal Rawojo dan ikan kihung asal kabupaten Banjar menggunakan metoda UPGMA (Keterangan: Rawojo; BJR: Banjar, a: cluster 1/intra group 1 dan b: cluster 2/ intra group 2).

secara garis besar menampilkan dua Intra Cluster atau grup berbeda yaitu Cluster 1 merupakan profil protein ikan kihung yang berasal dari Danau Rawojo (berkode RW) dan Cluster 2 adalah profil protein ikan kihung asal Kabupaten Banjar (berkode BJR), pada Cluster 1 menunjukkan bahwa tingkat kemiripan atau similaritas profil protein didalam grup ikan kihung asal Danau Rawojo sangat tinggi atau jarak/distance intra group rendah (Tabel 6), dimana nilai koefisien similaritas tertinggi (Tabel 5)

ditemukan pada sampel 4, 5, dan 3 RW dengan nilai 1, nilai ini menunjukkan bahwa ke tiga sampel tersebut memiliki kemiripan yang sangat tinggi dari segi profil protein. sedangkan pada sampel 2 RW dan 1 RW memiliki nilai similaritas cukup tinggi terhadap semua sampel RW dengan nilai similaritas rata-rata 0.7. Data Cluster 2 menunjukkan bahwa tingkat kemiripan atau similaritas profil protein dalam grup (intra group) ikan kihung asal Kabupaten Banjar cukup tinggi, dimana nilai similaritas (Tabel 7) tertinggi

ditemukan pada sampel 3 BJR dan 4 BJR dengan nilai koefisien similaritas 0.8, sedangkan pada sampel 2 BJR dan 5 BJR memiliki nilai similaritas 0.5556, dan nilai similaritas terendah pada Cluster 2 ditunjukkan oleh sampel 1 BJR dengan nilai similaritas terhadap semua sampel BJR. Secara umum, Gambar 6 menyatakan terdapat dua group yang masing-masing intra group hubungan kekerabatannya berdekatan, tetapi secara inter group adalah berjauhan.

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian di atas, pengamatan morfologi ditemukan perbedaan diantaranya pada ikan asal Danau Rawoijo mempunyai warna tubuh yang lebih cerah dan semua sirip yang tebal dengan corak pada sirip dada berwarna kuning hitam berseling dan berjejer beraturan, pada sirip dorsal, anal dan ekor bercorak bintik hitam dengan latar warna kuning, sedangkan ikan asal Kabupaten Banjar memiliki warna tubuh gelap kecoklatan, semua sirip tipis dengan corak pada sirip dada berwarna hitam dan kuning berseling namun tidak beraturan, pada sirip

dorsal, anal dan ekor bercorak hitam dan kuning berseling. Untuk pengujian menggunakan metode Lowry kadar protein optimum terlarut pada daging ikan kihung asal Rawoijo berturut-turut dari sampel 1; 2; 3; 4; 5 yaitu 2.117; 2.619; 2.931; 6.974; 7.601 mg/ml, sedangkan pada sampel asal Kabupaten Banjar berturut-turut yaitu 1.704; 2.874; 2.369; 1.532; 1.921 mg/ml. Dugaan protein ikan yang diidentifikasi berdasarkan profil protein adalah *Fructose-bisphosphate aldolase A*, *Aldolase*, *Phosphoglycerate kinase*, *Creatine kinase*, *Enolase*, dan *Actinin*, *Glutamic dehydrogenase*, protein *Actin*, *Desmin*, dan *Albumin*. Hasil konstruksi dendogram menggunakan metode UPGMA menunjukkan bahwa ikan kihung asal Kabupaten Banjar dan asal Danau Rawoijo memiliki tingkat kekerabatan yang rendah secara inter group.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada LPPM ULM atas hibah DIPA Universitas Lambung Mangkurat Tahun Anggaran 2021 Nomor : SP DIPA – 023.17.2.677518/2021 tanggal 23

November 2020 Universitas Lambung Mangkurat Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Sesuai dengan SK Rektor Universitas Lambung Mangkurat Nomor: 697/UN8/PG/2021 Tanggal 22 Maret 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin R., N. Dewi & S.D. Rahardja. 2016. Laporan Penelitian Efektivitas Ekstrak Ikan Haruan (*Channa striata*) dan Ibuprofen Terhadap Jumlah Sel Neutrofil pada Proses Penyembuhan Luka Studi in Vivo pada Mukosa Bukal Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*. **1**(1).
- Azira, T., Amin. I., and Che Man, Y. B., 2012. Differentiation of bovine and porcine gelatins in processed products via Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) and principal component analysis (PCA) techniques. *International Food Research Journal*. **19**(3), 1175-1180.
- Burgess, R. R. 2009. Protein Precipitation Technique; in *Methods of Enzymology*, Volume 463; Chapter 20. University of Wisconsin, Madison. Elsevier Inc, USA.
- Cahyarini R.D., Ahmad Y., P. Edi. 2004. Identifikasi keragaman genetik beberapa varietas lokal kedelai di Jawa berdasarkan analisis isozim. *Agrosains*. **6**(2), 96-104.
- Dekic, R., J. Friscic., A. Ivanc., & B. Kukavica. 2016. Characterization of Proteins from Popovo Minnow (*Delminichthys ghetaldii* Steindachner, 1882) Muscle. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **I**: 637-642.
- Heidelberg, New York. Englard, S., & Seifter, S. 1990. Precipitation Technique. *Meth. Enzymol.* **182**, 287- 300.
- Gam, L. H., C.Y. Leow., & S. Baie. 2006. Proteomic Analysis of Snakehead Fish (*Channa striata*) Muscle Tissue. *Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. **14**, 25-32.
- Hamrick, J.L., & Godt, M.J.W. 1990. Allozyme Diversity in Plant Species. Department of Botany, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA. pp.43-63.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough., A.L. Farr., & R.J. Randall. 1951. Protein Measurement with The Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 265-276.
- Mahboob, S., M. Farooq., S. Mahmood., N. Nasir., S. Sultana, A.S. Chaudhry., A.S. Al-Akel., H.F.A. Al-Balawi., F. Al-Misned., & K.A. Al-Ghanim. 2012. Phylogenetic Relationship Of Cultured And Wild Labeo Rohita And Cirrhinus mrigala Based On Muscles Proteins Profile In Different Weight Groups: A New Tool In Phylogenetic Analysis. *International Journal of Food Properties*. **15**, 949-960.
- Muslim. 2013. Jenis-Jenis Ikan Gabus (Genus channa) Di Perairan Rawa Banjiran Sungai Kelekar Indralaya Ogan Ilir Sumatera Selatan. Universitas Brawijaya, Research gate.

- Mustofa I, Laba M, Yoes PD, Fedik AR, Aucky H. 2006. Analisis densitometrik protein reseptor fertilisasi (ZP3) pada zona pelusida kambing sebagai kandidat bahan imunokontrasepsi. *Media Kedokteran Hewan*. **22**(2), 12-16.
- Nei, M. & W. M. Li. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variotion in Terms of Retriiction Endonuclease. *Proceeding of The National Academy of Sciences*. **76**(1), 5269 – 5273.
- Said, A. 2007. Beberapa jenis kelompok ikan Gabus (Marga Channa) di daerah aliran Sungai Musi, Sumatera Selatan. *Bawal*. **1**(4), 121-126.
- Sher, A.K., A. Habib., M.K. Shah., K. Ayub., A. Sardar., & Muhammad. 2010. Confirmation of sunflower F1 hybrids using SDS-PAGE analysis. *African Journal of Biotechnology*. **9**(29), 4516-4520.
- Sugiyanto, B. 2012. Potensi Situs Gua Hunian Prasejarah di Kawasan Karst Pegunungan Meratus, Kalimantan selatan. Balai Erkeologi Banjarmasin, Banjarmasin. 45
- _____. 2014. Penelitian ekskavasi Situs Liang Bangkai, Desa Dukuhrejo, Kecamatan Mantewe Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan, tahap V. Laporan Penelitian Arkeologi. Balai Arkeolog Banjarmasin, Banjarbaru,
- Sugiyanto, B., Jatmiko., & Y.N. Cahyaningtyas. 2013. Penelitian ekskavasi Situs Liang Bangkai, Desa Dukuhrejo, Kecamatan Mantewe, Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan, tahap IV. Laporan Penelitian Arkeologi. Balai Arkeologi Banjarmasin, Banjarbaru.
- Suryana, E., R. Elvyra., & Yusfiati. 2015. Karakteristik Morfometrik Dan Meristik Ikan Lais (Kryptopterus limpok, Bleeker 1852) Di Sungai Tapung Dan Sungai Kampar Kiri Provinsi Riau. *JOM FMIPA*. **2**(1), 67-77.
- Thada, V., & D.V. Jaglan. 2013. Comparison of Jaccard, Dice, Cosine Similarity Coeffecient to Find Best Fitness Value for Web Retrieved Documents Using Genetic Algorithm. *International Journal of Innovations in Engineering and Technology (IJJET)*. **2**(4), 202-205.
- Walter, E.J., B. Leiden Ltd, Jr. Courtenay & J. D. Williams. 2004. Snakeheads (Pisces, Channidae) - A Biological Synopsis and Risk Assessment. Geological Survey Circular 1251, U.S.
- Worsham, M. L. D., Eric, P. J., Chris, C. N., & Peter, H. D. 2017. Geographic isolation facilitataes the evolution of reproductive isolation and morphological divergence. *Ecology and Evolution*. 1-11.
- Zuraini A., M.N. Somchit., M.H. Solihah., Y.M. Goh., & A.K. Arifah. 2006. Fatty acid and amino acid composition of three local Malaysian *Channa* spp. *Fish. Food Chemistry*. **97**, 674-678.