

DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka

DNA Barcoding Based on Gene COI of Kepala Timah and Betok as Pioneer Fishes in Ex-Tin Mining Pit, Bangka Island

Diah Mustikasari¹⁾*, Rina Dwi Agustiani¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi, Universitas Wanita Internasional, Bandung.

*Penulis korespondensi : email : diah.mustikasari83@gmail.com

(Diterima Desember 2020/Disetujui Apri 2021)

ABSTRAK

Aktivitas pertambangan timah di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung menyebabkan terbentuknya kolong yang memiliki kualitas perairan yang tidak ideal bagi organisme perairan pada umumnya. Nilai pH yang asam dan cemaran logam yang tinggi pada umur kolong tertentu menyebabkan hanya sedikit spesies yang mampu hidup dengan baik di ekosistem tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui identitas ikan pioneer di kolong pascatambang timah yang berumur < 1 tahun di Pulau Bangka melalui *barcoding* gen COI. Ikan yang ditemukan di kolong tersebut adalah Ikan Kepala Timah dan Ikan Betok. Determinasi spesies didasarkan pada kesamaan sekuens di NCBI dan BOLD System menunjukkan bahwa Ikan Kepala Timah memiliki similaritas dengan *Aplocheilus panchax* dan morfologinya juga menggambarkan Ikan Kepala Timah adalah *Aplocheilus panchax*. Similaritas sekuens Ikan Betok di NCBI dan BOLD System menunjukkan bahwa Ikan Betok memiliki kemiripan dengan *Anabas testudineusi* dan morfologinya juga menggambarkan Ikan Betok adalah *Anabas testudineusi*. The Kimua 2 Parameters (K-2P) Neighbour-Joining (NJ) mengkonfirmasi dengan jelas bahwa Ikan Kepala Timah yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun adalah *Aplocheilus panchax*, sedangkan Ikan Betok justru berada di luar clade. Hal ini menandakan bahwa Ikan Betok yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun dapat diduga sebagai morfotipe *Anabas testudineusi* yang perlu dikonfirmasi lebih lanjut pada penelitian lainnya, baik secara molekuler maupun morfologi. Data sekuens dari gen COI Ikan Betok yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun diharapkan dapat mendukung ketersediaan data sekuens *Anabas testudineusi* di NCBI dan BOLD System.

Kata kunci: DNA barcoding; kolong timah; Ikan Kepala Timah; Ikan Betok; Pulau Bangka.

ABSTRACT

Tin mining activities in the Bangka Belitung Archipelago Province have led to the formation of pits that have not ideal water quality for aquatic organisms in general. Acidic pH and high metal contamination at certain age under certain causes only a few species are able to live well in these ecosystems. This study aimed to determine the identity of the pioneer fishes in ex-tin mining pit <1 year of Bangka Island through DNA barcoding based on COI gene. The pioneer fish in ex-tin mining pit <1 year were Kepala Timah fish dan Betok fish. Species determination was based on sequences similarity in NCBI and BOLD System showed that Ikan Kepala Timah had similarity with Aplocheilus panchax and its morphology indicated Ikan Kepala Timah was Aplocheilus panchax. The sequences similarity of Betok fish in NCBI and BOLD System showed that Betok fish had similarity with Anabas testudineusi and its morphology showed that Betok fish was Anabas testudineusi. The Kimua 2 Parameters (K-2P) Neighbour-Joining (NJ) clearly confirmed that Kepala Timah fish found in ex-tin mining pit <1 year was Aplocheilus panchax, whereas Betok fish was

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>

located outside clade of the group. It indicated that Betok fish was found in ex-tin mining pit <1 year can be expected as a morphotype of *Anabas testudineus* that needed further confirmation in other studies, both molecularly and morphologically. The sequence data of COI gene of Betok fish found in ex-tin mining pit <1 year was expected can supported available sequence data of *Anabas testudineus* in NCBI and BOLD System.

Keywords: DNA barcoding; ex-tin mining pit; Kepala Timah fish; Betok fish; Bangka Island.

PENDAHULUAN

Aktivitas pertambangan timah di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung telah dilakukan sejak tahun 1668 (Irawan *et al.*, 2014). Konsekuensi ekologis yang ditimbulkan adalah terbentuknya suatu perairan tertutup berupa danau buatan yang dikenal dalam bahasa lokalnya sebagai kolong (Kurniawan, 2019). Perairan kolong pascatambang timah memiliki potensi sebagai ekosistem bagi organisme perairan, meskipun kondisi perairan di awal pembentukannya dapat dikategorikan ekstrem.

Karakteristik perairan di daerah tambang adalah *acid mine drainage* yang memiliki pH asam tinggi sebagai hasil proses oksidasi mineral sulfida (Celebi dan Oncel, 2016). Mineral-mineral tersebut mengalami oksidasi sehingga menghasilkan ion H⁺ (Gonzalez-Toril *et al.*, 2006; Mejia *et al.*, 2009; Heidel dan Tichomirowa, 2011; Dopson dan Johnson, 2012). Keberadaan ion H⁺ yang banyak di perairan berdampak pada pembentukan kondisi pH asam di lingkungan tersebut (Gaikwad dan Gupta, 2008; Hatar *et al.*, 2013).

Kondisi perairan kolong pascatambang timah juga teridentifikasi mengandung sejumlah mineral berupa logam berat seperti Sn, Pb, Zn, Fe, Cr, Cu, Co, Mn, Ni, As, Ga, Hf, Ta, Te, Th, dan V dapat berbahaya bagi organisme (Ashraf *et al.*, 2011; Ashraf *et al.*, 2012a; Ashraf *et al.*, 2012b; Daniel *et al.*, 2014; Kurniawan, 2017; Kurniawan *et al.*, 2019) pada struktur kimia yang toksik (Templeton, 2015). Kondisi ekstrem perairan pascatambang timah menyebabkan tidak banyak organisme yang mampu hidup di perairan tersebut. Sejumlah ikan seperti kepala timah dan sepat (Kurniawan dan Kurniawan, 2012; Kurniawan, 2019) ataupun ikan dari genus *Rasbora*, *Betta*, *Puntius*, *Channa*, *Oreochromis*, *Belontia*, *Anabas*, dan *Trichopodus* (Kurniawan, 2020) ditemukan mampu hidup di perairan tersebut. Hal ini menggambarkan bahwa sejumlah ikan dapat beradaptasi di perairan ekstrem, meskipun belum ada penelitian yang menjelaskan tentang karakteristik molekuler ikan-ikan pioner di kolong tersebut.

Barcoding DNA ikan-ikan pioner tersebut perlu dilakukan untuk mengetahui diversitas genetik ikan. Analisis *DNA barcoding* dilakukan dengan menggunakan gen COI (Cytochrome Oxidase subunit I) sebagai penanda genetik yang sering digunakan untuk mengetahui diversitas genetik hingga kekerabatan organisme (Hajibabaei *et al.*, 2006). Kemampuan dan keberhasilan amplifikasi pada gen COI adalah tahapan penting untuk studi mengenai hubungan kekerabatan, evolusi, dan identifikasi spesies (Aprilia *et al.*, 2014). Pemanfaatan gen COI diharapkan dapat mendukung hasil analisis morfologi ikan-ikan pioner yang diperoleh dari perairan kolong pascatambang timah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui identitas ikan pioneer di kolong pascatambang timah di Pulau Bangka melalui *barcoding* gen COI.

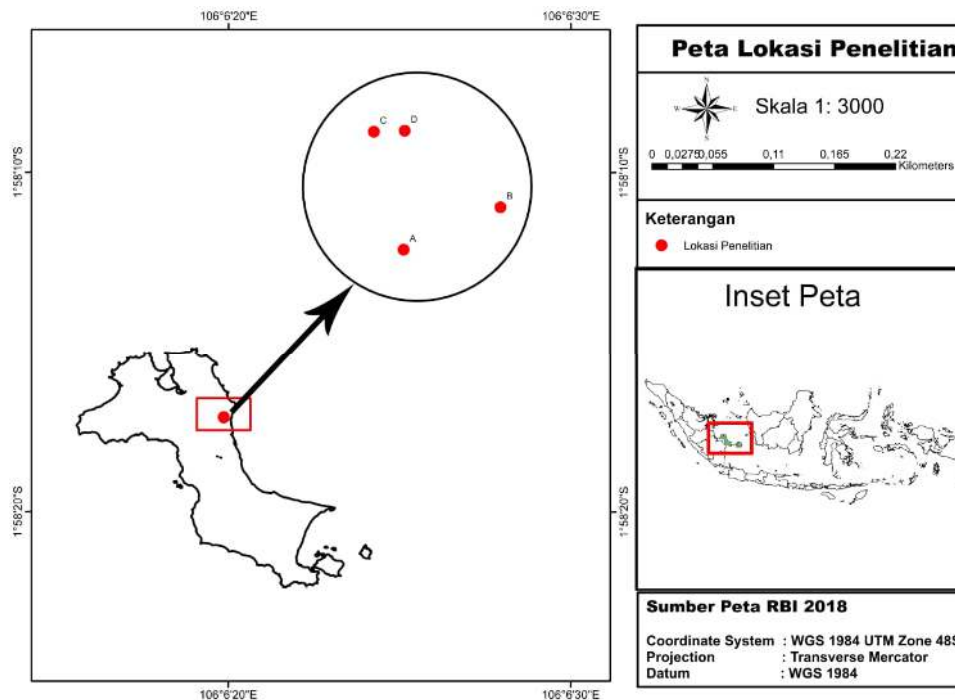
MATERI DAN METODE

Lokasi Penelitian dan Koleksi Sampel

Pengambilan sampel ikan dilakukan di kolong pascatambang timah yang berlokasi di Desa Riding Panjang, Kecamatan Merawang, Kabupaten Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung (koordinat S 01° 58.140'-212'; E 106°06.407'-432'). Kolong tersebut memiliki umur < 1 tahun dan berdekatan dengan kolong lain yang masih ditambang (Gambar 1).

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>



Gambar 1. Peta lokasi penelitian

Materi Penelitian

Sampel ikan pioneer yang ditemukan di kolong tersebut diidentifikasi secara molekuler dengan penanda gen COI. Proses identifikasi molekuler terdiri atas tiga tahapan, yaitu isolasi DNA, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan *sequencing*.

Bahan dan alat yang digunakan di dalam penelitian berkenaan dengan ketiga proses tersebut antara lain sampel jaringan ikan (< 50 mg), kits isolasi DNA ZR Tissue & Insect DNA MiniPrep (Zymo Research, D6016) untuk isolasi DNA yang terdiri atas larutan lysis solution, genomic lysis buffer, DNA pre-wash buffer, g-DNA wash buffer, dan DNA elution buffer, bahan untuk amplifikasi PCR, yaitu ddH₂O, MyTaq Red Mix (Bioline) BIO-25047, agarose 0.8%, 1 kb DNA marker, Primer VF2_t1 (TGAAAACGACG GCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC), Primer FR1d_t1 (CAGGAAACA GCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA), Primer FishF2_t1 (TGAAA ACGACGGCCAGTTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC), Primer FishR2_t1 (CAG GAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA), template DNA (Ivanova *et al.*, 2007). Peralatan yang digunakan antara lain centrifuge, vortex, seperangkat alat elektroforesis, UV transluminator, serta seperangkat alat PCR (agilent surecycler 8800).

Metode Penelitian

Isolasi DNA

Metode yang digunakan dalam proses isolasi DNA adalah genomic DNA extraction dengan ZR tissue & insect DNA miniprep kit (Zymo Research, D6016).

Amplifikasi DNA

Metode yang digunakan untuk amplifikasi DNA adalah metode MyTaq HS Red Mix (Bioline, BIO-25047) dengan tiga tahapan utama. Tahapan proses PCR yang dilakukan yaitu tahap *initial denaturation* pada suhu 96 °C selama 3 menit sebanyak 1 cycle; tahap *denaturation* pada suhu 94 °C selama 10 detik sebanyak 35 cycles; tahap *annealing* pada suhu 50°C selama 30 detik sebanyak 35 cycles; tahap *extension* pada suhu 72 °C selama 45 detik sebanyak 35 cycles; dan tahap *hold* pada suhu 4 °C.

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>

Sekuensing

Proses analisis *sequencing* dilakukan by 1st BASE (www.base.asia.com) dengan metode Bi-directional sequencing untuk mengetahui urutan basa nukleotidanya.

Sequences editing dan data analisis

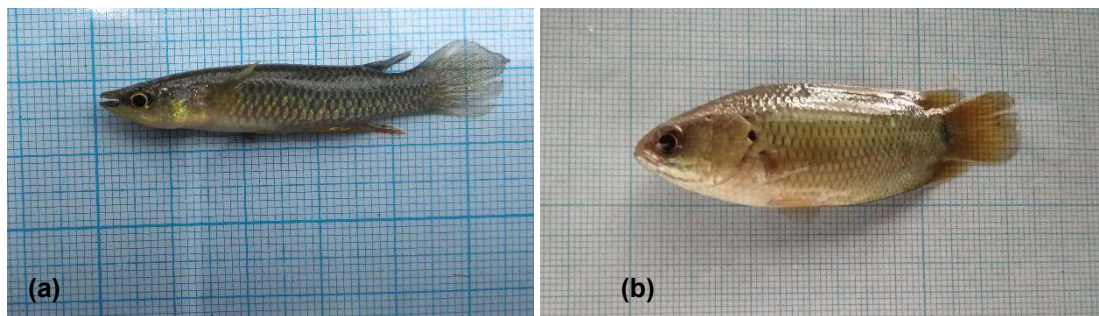
Sequences alignment dilakukan Program Bioedit dan diedit secara manual. *Multiple sequences alignments* dikerjakan menggunakan ClustalW yang diimplementasikan di Bioedit. Status taksonomi dari sekuens dilakukan melalui perbandingan dengan sekuens yang terdapat di National Center for Biotechnology Information (NCBI) menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) dan juga di BOLD System (www.boldsystem.org).

Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan Kimua 2 Parameters (K-2P) tipe pohon Neighbour-Joining (NJ) menggunakan cladistic algorithm dengan bantuan Program MEGA dan pola cabang didukung oleh 1000 *non-parametric bootstraps replicates*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Visualisasi Morfologi Ikan Pioneer

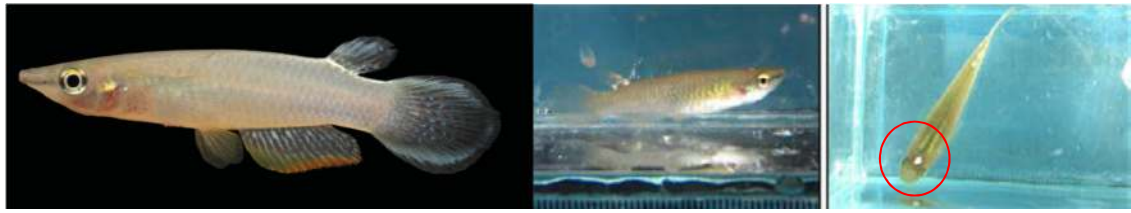
Ikan pioneer yang ditemukan di lokasi penelitian, yaitu kolong berumur < 1 tahun berjumlah dua spesies yang secara umum dikenal di Pulau Bangka sebagai Ikan Kepala Timah dan Ikan Betok (Gambar 2).



Gambar 2. Spesies ikan pioneer yang ditemukan di kolong pascatambang timah umur < 1 tahun, yaitu (a) Ikan Kepala Timah dan (b) Ikan Betok

Ikan Kepala Timah yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun memiliki ciri morfologi yang khas, yaitu bintik putih keperakan di bagian kepala, sirip ekor berberbentuk bulat dan tidak bercagak, dan bentuk kepala picak (*depressed*) dari arah punggung ke mulut, sedangkan tubuh berbentuk pipih (*compressed*). Ikan Betok yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun memiliki ciri morfologi bertubuh pipih, terdapat titik hitam di pangkal ekor dan di depan sirip pectoral (sirip dada) atau di bagian belakang overkolumnya, dan ekor berujung datar yang tidak bercagak.

Karakteristik ini mirip dengan spesies *Aplocheilus panchax* yang memiliki nama umum Ikan Kepala Timah (Trijoko *et al.*, 2016; Katwate *et al.*, 2018) (Gambar 3). *Aplocheilus panchax* merupakan spesies dari Genus *Aplocheilus*, Familia *Aplocheilidae*, Subordo *Aplocheiloidei*, Ordo *Cyprinodontiformes*, dan Kelas *Actinopterygii* (Parenti and Hartel, 2011; Zhang, 2011; Sedlacek *et al.*, 2014; Furness *et al.*, 2015).



Gambar 3. *Aplocheilus panchax* (Trijoko *et al.*, 2016; Katwate *et al.*, 2018)

Ikan Betok yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun memiliki kemiripan secara morfologi dengan *Anabas testudineusi* (Septiyan *et al.*, 2019) (Gambar 4). Ikan Betok memiliki morfologi yang mirip dengan *Anabas testudineusi* yang dikenal sebagai Ikan Betok (Prianto *et al.*, 2014; Trijoko *et al.*, 2016) atau Papuyu (Slamat, *et al.*, 2017). *Anabas testudineusi* merupakan spesies dari Genus *Aplocheilus*, Familia *Anabantidae*, Ordo *Perciformes*, dan Kelas *Actinopterygii* (Behera *et al.*, 2015; Ahmad *et al.*, 2019).



Gambar 4. *Anabas testudineusi* (Septiyan *et al.*, 2019)

Kualitas DNA dan Identifikasi Molekuler

Hasil sekuensing Kedua spesies ikan tersebut dianalisis secara molekuler berdasarkan gen COI untuk mengetahui identitas molekulernya sebagai dasar mempertegas status taksonomi. Tahapan isolasi DNA merupakan tahapan awal untuk mengetahui kualitas DNA sehingga dapat dijadikan DNA template untuk proses PCR dan sekuensing. Hasil analisis kualitas DNA menunjukkan nilai absorbansi $A_{260/280}$ sebesar 1.88 pada Ikan Kepala Timah dan 1.81 pada Ikan Betok (Tabel 1).

Table 1. Kualitas DNA dari proses isolasi DNA

Sampel	Konsentrasi DNA (ng/ μ g)	$A_{260/280}$	$A_{260/230}$
Ikan Kepala Timah	77.9	1.88	2.10
Ikan Betok	49.2	1.81	0.53

Identitas Molekuler Ikan Pioneer

Hasil sekuensing menunjukkan panjang gen COI dari sampel Ikan Kepala Timah adalah 672 bp dan gen COI dari sampel Ikan Betok adalah 675 bp. Sekuens yang diperoleh dari sampel tersebut dianalisis kemiripan atau similaritasnya terhadap gen ikan yang tersedia di NCBI atau BOLD System. Hasil analisis similaritas di NCBI menunjukkan bahwa Ikan Kepala Timah memiliki similaritas dengan *Aplocheilus panchax* dan Ikan Betok dengan *Anabas testudineus*, sedangkan di BOLD System menunjukkan bahwa Ikan Kepala Timah memiliki kemiripan dengan *Aplocheilus panchax* dan Ikan Betok tidak tersedia data similaritasnya (Tabel 2).

Table 2. Similaritas sekuens dari DNA sampel di NCBI dan BOLD System

Sampel	NCBI Identification (Per. Iden)	Spesies	BOLD System Identification (similarity) (%)	Spesies
Ikan Kepala Timah (AKT1)	97.42-99.52%	<i>Aplocheilus panchax</i>	99.08-99.51%	<i>Aplocheilus panchax</i>
Ikan Betok (BTK1)	99.69-100%	<i>Anabas testudineus</i>	NA	NA

NA = Not Available

Nilai absorbansi $A_{260/280}$ tersebut menggambarkan bahwa DNA yang dihasilkan dari isolasi DNA berkualitas baik karena lebih besar dari 1.8 sehingga DNA dapat digunakan sebagai template untuk proses PCR. Salah satu indikator untuk mengukur kualitas DNA adalah rasio DNA yang diamati pada absorbansi A_{260}/A_{280} . Nilai absorbansi A_{260}/A_{280} digunakan untuk menilai tingkat kemurnian DNA. Nilai rasio ~ 1.8 umumnya diterima sebagai DNA yang murni. Rasio absorbansi A_{260}/A_{280} yang < 1.8 menandakan adanya kontaminasi protein, fenol, atau kontaminan lainnya yang mengabsorpsi dengan kuat pada 280 nm dan nilai rasio $> 2,0$ mengindikasikan terkontaminasi RNA (Kolossova *et al.*, 2004; Lucena-Aguilar *et al.*, 2016).

Hasil kualitas DNA tersebut menjadi dasar untuk dilakukannya sekuensing. Hasil sekuensing mengindikasikan kedekatan atau kemiripan genetik (similaritas) Ikan Kepala Timah dan Ikan Betok dengan sejumlah spesies *Aplocheilus panchax* dan *Anabas testudineus* (Tabel 2). Hasil *blasting* yang dimanifestasikan pada pohon filogeni menggambarkan bahwa Ikan Kepala Timah yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun adalah *Aplocheilus panchax* sebagaimana juga telah terkonfirmasi melalui *blasting* di NCBI maupun BOLD System dengan nilai similaritas $> 97\%$. Nilai similaritas $> 97\%$ dapat memperkuat status taksonomi sehingga tidak terdapat keraguan di dalam menjustifikasi kedekatan suatu spesies dengan hasil *blasting* (Nuryanto *et al.*, 2018). Pohon filogeni memposisikan Ikan Kepala Timah berada pada clade yang sama dengan spesies *Aplocheilus panchax* yang ditemukan di beberapa wilayah distribusi seperti Bogor (isolate Bog), Banjarmasin (isolate Ban), Sulawesi (Sul), dan Surabaya (isolate SR) (Beck *et al.*, 2017).

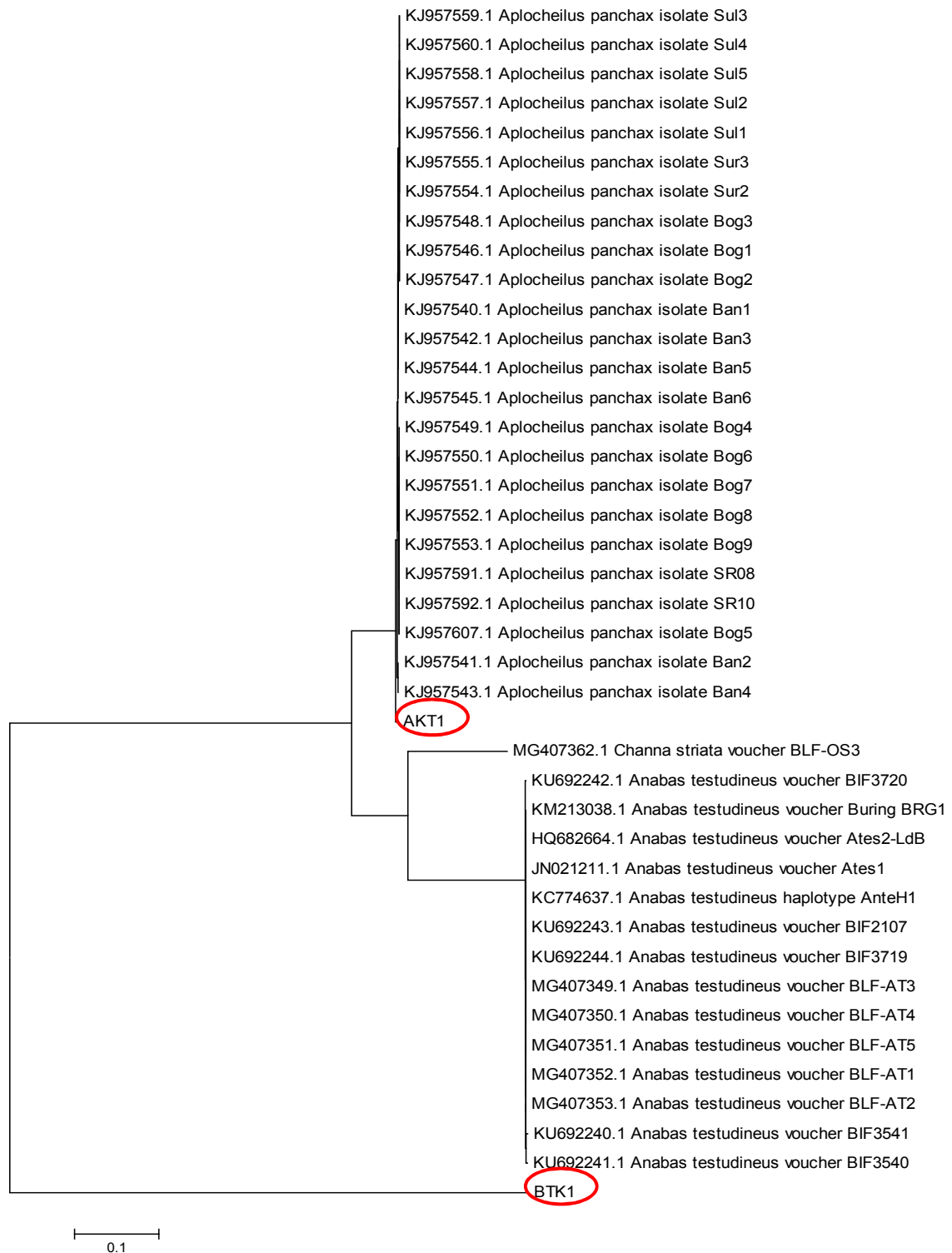
Similaritas sekuens kedua spesies ikan menjadi dasar untuk melakukan konstruksi pohon filogeni dengan menggunakan sejumlah sampel metadata dari gene bank (NCBI) baik ingroup maupun outgroup. Spesies ikan yang dijadikan sampel ingroup adalah *Aplocheilus panchax* dan *Anabas testudineus* yang terkonfirmasi melalui hasil *blasting*, sedangkan sampel *outgroup* yang digunakan adalah spesies *Channa striata* BLF-OS3 (accession MG407362.1). Konstruksi pohon filogeni dari Ikan Kepala Timah, Ikan Betok, dan sekuens pembandingnya ditampilkan dengan topologi pohon Neighbour-Joining pada Kimia 2 Parameters (K-2P) dan bootstrap analysis dengan 1000 replikasi (Gambar 5) yang mendukung hasil *DNA barcoding*.

Pohon filogeni juga menggambarkan bahwa Ikan Betok yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun berada pada clade yang berbeda dengan *Anabas testudineus*, meskipun hasil *blasting* di NCBI menunjukkan similaritas hingga 100%. Hal tersebut dapat menjelaskan suatu dugaan bahwa ikan yang ditemukan diduga suatu morfotipe dari *Anabas testudineus*. Hal ini didukung oleh adanya perbedaan morfologi yang ditunjukkan oleh Ikan Betok dengan *Anabas testudineus* berupa titik hitam di pangkal ekor dan di bagian belakang overkulumnya atau di depan sirip pectoral (sirip dada).

Gen COI merupakan marka genetik umum yang digunakan di dalam *barcoding* DNA karena sekuens COI mampu memisahkan spesies yang berkerabat dekat dari hampir semua filum secara regular, fragmen gen COI memiliki kisaran filogenetik dengan spektrum luas, memiliki laju perubahan sekuens tinggi, dan memperlihatkan adanya divergensi sekuens intraspesies (Nuryanto and Solihin, 2006). Namun demikian, analisis morfologi juga tetap menjadi pembanding yang mendukung suatu justifikasi untuk menunjukkan kemiripan atau similaritas ikan.

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>



Gambar 5. Pohon filogeni berdasarkan gen COI dari Ikan Kepala Timah (AKT1) dan Ikan Betok (BTK1) menggunakan genetic distances Kimura 2-parameter; bootstrap analysis with 1000 replicates

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>

Pohon filogeni menggambarkan dengan jelas bahwa Ikan Kepala Timah tanpa keraguan dijustifikasi sebagai *Aplocheilus panchax* dan Ikan Betok perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menjustifikasi sebagai *Anabas testudineus* yang memiliki morfologi berbeda dengan Ikan Betok lainnya. Analisis sekuens Ikan Betok tersebut dapat menambah ketersediaan sekuens di bank gen sebagai sekuens pembandingan terhadap nilai similaritas pada penelitian lainnya.

KESIMPULAN

Penelitian ini telah berhasil mengungkapkan identitas molekuler ikan pioneer yang ditemukan di kolong pascatambang timah berumur < 1 tahun, yaitu Ikan Kepala Timah dan Ikan Betok berdasarkan gen COI. Barcoding DNA ikan Kepala Timah menunjukkan kesamaan dengan spesies *Aplocheilus panchax* dan dipertegas juga dengan kemiripan morfologinya. Barcoding ikan Betok menunjukkan kemiripan dengan spesies *Anabas testudineus* yang juga ditunjukkan dengan kemiripan morfologi, meskipun berada tidak satu clade dengan *Anabas testudineus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sampaikan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan hibah Penelitian Dosen Pemula dan Universitas Wanita Internasional, (International Women University) Bandung yang telah memfasilitasi penelitian ini melalui Kontrak Penelitian Nomor 1508/SR/EKTOR/UWI/IV/2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A.B., Hadiaty, R.K., de Alwis Goonatilake, S., Fernando, M., and Kotagama, O. 2019. *Anabas testudineus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T166543A60590563
- Aprilia, F.E., Soewondo, A., Widodo., and Toha, A.H.A. 2014. Amplifikasi Gen COI dan 16s rRNA dari Invertebrata Laut *Plakobranchus ocellatus*. *Jurnal Biotropika* 2(5): 276-278
- Ashraf, M.A., Maah, M.J., and Yusoff, I. 2011. Analysis of physio-chemical parameters and distribution of heavy metals in soil and water of ex-mining area of Bestari Jaya, Peninsular Malaysia. *Asian Journal of Chemistry* 23(8): 3493-3499
- Ashraf, M.A., Maah, M.J., and Yusoff, I. 2012a. Speciation of heavy metals in the sediments of former tin mining catchment. *Iranian Journal of Science and Technology* 36(A2): 163-180
- Ashraf, M.A., Maah, M.J., and Yusoff, I. 2012b. Morphology, geology and water quality assessment of former tin mining catchment. *The Scientific World Journal* 2012: 1-15
- Beck, S.V., Carvalho, G.R., Barlow, A., Ruber, L., Tan, H.H., Nugroho, E., Wowor, D., Nor, S.A.M., Herder, F., Muchlisin, Z.A., and De Bruyn, M. 2017. Plio-pleistocene phylogeography of the Southeast Asian Blue Panchax killifish, *Aplocheilus panchax*. *Plos One* 12(7): e0179557
- Behera, S., Devi, L.M., Kumar, S., Gogoi, R., Samanta, P., Jomang, O., and Baksi, S. 2015. External morphology and sexual dimorphism of *Anabas testudineus* in natural environment. *International Journal of Science and Nature* 6(2): 288-292
- Celebi, E.E., and Oncel, M.S. 2016. Determination of acid forming potential of massive sulfide minerals and the tailings situated in lead/zinc mining district of Balya (NW Turkey). *Journal of African Earth Sciences* 2016(124): 487-496
- Daniel, V.N., Chudusu, E.S., Chup, J.A., and Pius, N.D. 2014. Variations of heavy metals in agricultural soils irrigated with tin water in Heipang District of Barkin Ladi, Plateau State, Nigeria. *International Journal of Science and Technology* 3(5): 255-263
- Dopson, M., and Johnson, D.B. 2012. Biodiversity, metabolism and applications of acidophilic sulfur-metabolizing microorganisms. *Environmental Microbiology* 14(10): 2620-2631

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>

- Furness, A.I. 2015. The evolution of an annual life cycle in killifish: adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biological Reviews* 91(3):796-812
- Gaikwad, R.W., and Gupta, D.V. 2008. Review on removal of heavy metals from acid mine drainage. *Applied Ecology and Environmental Research* 6(3): 81-98
- Gonzalez-Toril, E., Gomez, F., Malki, M., and Amils, R. 2006. The Isolation and study of acidophilic microorganisms. In *Methods in Microbiology* Vol. 35: 471-510. Academic Press
- Hajibabaei, M., Smith, M.A., Janzen, D.H., Rodriguez, J.J., Whitfield, J.B., and Hebert, P.D.N. 2006. A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Molecular Ecology Notes* 2006(6): 959-964
- Hatar, H., Rahim, S.A., Razi, W.M., and Sahrani, F.K. 2013. Heavy metals content in acid mine drainage at abandoned and active mining area. In *AIP Conference Proceedings* Vol. 1571, No. 1: 641-646. AIP
- Heidel, C., and Tichomirowa, M. 2011. Galena oxidation investigations on oxygen and sulphur isotopes. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 47(2): 169-188
- Irawan, R.R., Sumarwan, U., Suharjo, B., and Djohar, S. 2014. Strategic model of tin mining industry in Indonesia (case study of Bangka Belitung Province). *International Journal of Business and Management Review* 2(3): 48-58
- Ivanova, N.V., Zemlak, T.S., Hanner, R.H., and Hebert, P.D. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7(4): 544-548
- Katwate, U., Kumkar, P., Britz, R., Raghavan, R., and Dahanukar, N. 2018. The identity of *Aplocheilus andamanicus* (Kohler, 1906) (Teleostei: Cyprinodontiformes), an endemic killifish from the Andaman Island, with notes on *Odontopsis armata* van Hasselt. *Zootaxa* 4382 (1): 159-174
- Kolossova, N., Miller, B., Ralph, S., Ellis, B.E., Douglas, C., Ritland, K., and Bohlmann, J. 2004. Isolation of high-quality RNA from gymnosperm and angiosperm trees. *BioTechniques* 36(5): 821-824
- Kurniawan, A. 2017. Chronosequence effect of post tin mining ponds to metals residu and microecosystem change. *Omni-Akuatika* 13(1): 60-65
- Kurniawan, A. 2019. Diversitas metagenom bakteri di danau pascatambang timah dengan umur berbeda. [Disertasi]. Fakultas Biologi. Universitas Jenderal Soedirman
- Kurniawan, A. 2020. The metal oxides of abandoned tin mining pit waters as an indicator for bacterial diversity. *AAC Bioflux* 13(5): 2892-2992
- Kurniawan, A., and Kurniawan, A. 2012. Analisis variasi genetik ikan di kolong pascatambang timah dengan metode elektroforesis. *Akuatik* 6(2): 6-10
- Kurniawan, A., Oedjijono., Tamad., and Sulaeman, U. 2019. The pattern of heavy metals distribution in time chronosequence of ex-tin mining ponds in Bangka Regency, Indonesia. *Indonesian Journal of Chemistry* 19(1):254-261
- Lucena-Aguilar, G., Sanchez-Lopez, A.M., Barberan-Aceituno, C., Carrillo-Avila, J.A., Lopez-Guerrero, J.A., and Aguilar-Quesada, R. 2016. DNA source selection for downstream

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>

applications based on DNA quality indicators analysis. *Biopreservation and Biobanking* 14(4): 264-270

- Mejia, E.R., Ospina, J.D., Marquez, M.A., and Morales, A.L. 2009. Oxidation of chalcopyrite (CuFeS₂) by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans* like bacterium in shake flasks. In *Advanced Materials Research* 2009(71-73): 385-388. Trans Tech Publications. Switzerland
- Nuryanto, A., Pramono, H., Kusbiyanto, K., Ghifari, M.I., and Andareswari, N. 2018. Barcoding of Fin Clip Samples Revealed High Exploitation of *Plectropomus leopardus* in Spermonde Archipelago. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* 10(3): 629-635
- Nuryanto, A., and Solihin, D.D. 2006. Variasi Sekuens Gen Mitokondrial Sitokrom C Oksidase I dari Siput Lola (*Trochus niloticus*). *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal* 23(1): 31-37
- Parenti, L.R., and Hartel, K.E. 2011. Osteology identifies *Fundulus capensis* Garman, 1895 as a killifish in the family Fundulidae (Atherinomorpha: Cyprinodontiformes). *Copeia* 2011(2): 242-250
- Prianto, E., Kamal, M. M., Muchsin, I., and Kartamihardja, E.S. 2015. Biologi reproduksi ikan betok (*Anabas testudineus*) di Papanan Banjiran Lubuk Lampam, Kabupaten Ogan Komering Ilir. *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap* 6(3): 137-146
- Sedlacek, O., Baciakova, B., and Kratochvil, K. 2014. Evolution of body colouration in killifishes (Cyprinodontiformes: Aplocheilidae, Nothobranchiidae, Rivulidae): is male ornamentation constrained by intersexual genetic correlation?. *Zoologischer Anzeiger* 253(3): 207-215
- Septiyan, R.A., Soendjoto, M.A., and Arifin, Y.F. 2019. Deskripsi lima spesies ikan yang hidup di Kawasan Rawa Desa Malintang, Kecamatan Gambut, Kabupaten Banjar: Survei Pendahuluan. In *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah* 4(3): 630-634
- Slamat, S., Rina, R. K., and Ansyari, P. 2017. Pemuliaan ikan papuyu (*Anabas testudineus*) dengan teknik hybridisasi filogenetik meristik dari tiga tipe ekosistem perairan rawa. *Intek Akuakultur* 1(2): 79-89
- Templeton, D.M. 2015. Speciation in metal toxicity and metal-based therapeutics. *Toxics* 2015(3): 170-186
- Trijoko, T., Yudha, D.S., and Eprilurahman, R. (2016). Keanekaragaman jenis ikan di sepanjang Sungai Boyong—Code Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology* 1(1): 21-29
- Zhang, Z. 2011. Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness (Addenda 2013). *Zootaxa* 2011(3148): 1-237

To Cite this Paper: Mustikasari, D, Agustiani, R. D., 2021. DNA Barcoding Ikan Kepala Timah Dan Betok Berdasarkan Gen COI sebagai Ikan Pioneer di Kolong Pascatambang Timah, Pulau Bangka. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12 (1) : 86-95.

Journal Homepage: <https://journal.ibrahimiy.ac.id/index.php/JSAPI>