

ARTIKEL

POSISI FILOGENETIK IKAN KOTES (*Channa gachua* (Hamilton, 1822)) DAN IKAN KUTUK (*Channa striata* (Bloch, 1793)) DARI JAWA TIMUR BERDASARKAN URUTAN DNA MITOKONDRIA CYTOCHROME C OXIDASE SUBUNIT I

[Phylogenetic position of the dwarf snakehead (*Channa gachua* (Hamilton, 1822)) and the striped snakehead (*Channa striata* (Bloch, 1793)) from East Java based on mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I sequences]

Wahyu Endra Kusuma^{*1}, Yuni Widyawati¹, Muhammad Dailami¹, Kiki Nur Azzam Kholil¹, Akhsan Fikrillah Parichahya¹, Ifa Sufaichusan¹, Dewa Gede Raka Wiadnya²

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran Malang, Jawa Timur, 65145

²Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jl. Veteran Malang, Jawa Timur, 65145

ABSTRAK

Ikan kotes (*Channa gachua*) dan ikan kutuk (*Channa striata*) adalah spesies dari famili Channidae yang tersebar secara alami di perairan Indonesia. Kedua spesies tersebut memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena beberapa alasan, yaitu sebagai sumber protein bagi masyarakat setempat, memiliki kandungan albumin yang penting bagi kesehatan manusia, serta belakangan ini menjadi populer sebagai ikan hias. Penelitian ilmiah dasar seperti studi filogenetik penting untuk dilakukan guna mendukung upaya domestikasi maupun konservasi. Di penelitian ini, kami melakukan koleksi spesimen *C. gachua* dan *C. striata* dari beberapa lokasi berbeda di Jawa Timur untuk menjelaskan posisi filogenetiknya di antara spesies lain dari genus *Channa*. DNA mitokondria gen sitokrom c oksidase subunit I (COI) dari satu perwakilan individu untuk setiap lokasi telah diurutkan dengan metode *sequencing*. Dalam melakukan analisis filogenetik, sekuens DNA untuk banyak spesies dari genus *Channa* diperoleh dari penelitian sebelumnya. Pohon filogenetik *maximum likelihood* menunjukkan bahwa individu *C. striata* dari Jawa Timur mengelompok bersama dan membentuk *clade* dengan nilai *bootstrap* yang sangat tinggi (100%). Sebaliknya, *C. gachua* dari Jawa Timur berkerabat jauh dengan *C. gachua* dari Jawa Barat dan Kanchanaburi, Thailand, dengan divergensi genetik yang tinggi dengan jarak genetik > 2%. Hasil ini selaras dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa *C. gachua* merupakan spesies kriptik yang terdiri dari dua spesies atau lebih. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan, misalnya mengenai keragaman genetik, struktur populasi, dimana data dapat digunakan untuk merancang manajemen konservasi atau program pemuliaan yang efektif untuk kedua spesies tersebut

Kata kunci: identifikasi morfologi, jarak genetik, konservasi, pohon filogenetik, spesies kriptik.

Diterima: 27 November 2023; **Diperbaiki:** 6 Januari 2024; **Disetujui:** 11 Juni 2024

***Penulis untuk Korespondensi:** e-mail – wahyuendrak@ub.ac.id

ABSTRACT

The dwarf snakehead (*Channa gachua*) and the striped snakehead (*Channa striata*) are species from the family Channidae that are naturally distributed in Indonesia waters. Both species have high economic value for several reasons, i.e., they are protein source for local people, the fish extract contains albumin which important for human health and recently became popular as ornamental fish. Basic scientific research e.g., phylogenetic study is crucial to support efforts on domestication or conservation. In this study, we collected specimens of *C. gachua* and *C. striata* from several different localities in East Java to elucidate their phylogenetic position among other species from the genus *Channa*. Mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene was sequenced from one representative individual for each locality. In performing phylogenetic analysis, DNA sequences for many *Channa* species were obtained from previous studies. A maximum likelihood tree suggested that individuals of *C. striata* from East Java were clustered together and forms a clade with very high bootstrap value (100%). On the contrary, *C. gachua* from East Java is distantly related with *C. gachua* from West Java and Kanchanaburi, Thailand, with high genetic divergence with pairwise genetic distance > 2%. This result is similar with the previous findings, suggesting that *C. gachua* could potentially be a cryptic species. Further studies need to be conducted e.g., genetic diversity, population structure, from which the data can be used to design effective conservation management or breeding program for both species.

Keywords: conservation, cryptic species, genetic distance, morphological analyses, phylogenetic tree.

PENDAHULUAN

Genus *Channa* terdiri dari 56 spesies valid yang sampai saat ini telah dideskripsikan (Rüber *et al.*, 2020; Eschmeyer 2024; Froese dan Pauli, 2024). Genus ini memiliki distribusi geografi yang sangat luas, tersebar mulai dari bagian tenggara Iran dan bagian timur Afghanistan menuju ke arah timur sampai dengan Pakistan, India, Nepal, Bangladesh, Myanmar Thailand, Laos, Malaysia, Indonesia kemudian ke arah utara sampai dengan Korea dan China (Courtenay dan Williams, 2004; Froese dan Pauli, 2024). Dari 56 spesies valid tersebut, sebanyak 12 spesies terdistribusi secara alami dan tersebar di pulau-pulau di Indonesia mulai dari Sumatra, Kalimantan, Jawa, Bali, Lombok, dan Sumbawa. Khususnya di Pulau Jawa, setidaknya dua spesies dari genus *Channa* dapat ditemukan, yaitu *C. gachua* dan *C. striata* (Kottelat *et al.*, 1993; Froese dan Pauli, 2024).

Channa gachua dan *C. striata* memiliki nama vernakular ikan gabus. Namun demikian, di masing-masing daerah di Indonesia kedua spesies ini memiliki nama lokal yang berbeda-beda. *Channa gachua* dikenal dengan nama lokal *kotes*, *hejo gado*, *bogo* dan *benguk*. Sedangkan *C. striata* biasanya dikenal dengan sebutan *kutuk*, *kocolan*, *haruan* dan *rajong*. Kedua spesies ini memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Mereka dimanfaatkan sebagai sumber protein hewani oleh masyarakat, kandungan albuminnya yang tinggi dimanfaatkan sebagai obat, serta akhir-akhir ini populer sebagai ikan hias (Listyanto dan Andriyanto, 2009; Hariati *et al.*, 2019; Harrington *et al.*, 2022). Saat ini, banyak laporan yang menunjukkan bahwa kelimpahan ikan gabus di alam cenderung mengalami penurunan. Jika hal ini tidak segera diperbaiki, bukan tidak mungkin kepunahan lokal terhadap ikan ini akan segera terjadi (Amin *et al.*, 2019; Setyaningrum *et al.*, 2022).

Upaya domestikasi telah dilakukan terhadap spesies ikan gabus, baik untuk tujuan pemuliaan maupun konservasi (Muflikhah, 2007; Muslim dan Syaifudin, 2012). Untuk mendukung upaya domestikasi ini, penelitian dasar mengenai posisi filogenetik dan hubungan kekerabatan baik antar spesies (hubungan interspesifik) maupun antar populasi di dalam spesies (hubungan intraspesifik) sangat penting untuk dilakukan agar dapat merancang manajemen pemuliaan maupun konservasi yang tepat (Moritz, 1995; Vázquez dan Gittleman, 1998; Liu dan Cordes, 2004). Posisi filogenetik *C. gachua* dan *C. striata* telah dianalisis oleh beberapa peneliti sebelumnya dengan menggunakan beberapa marka molekular. Li *et al.* (2006) menggunakan DNA mitokondrial NADH dehydrogenase subunit 2 (ND2) sedangkan Adamson *et al.* (2010) menggunakan Cytochrome *b*. Beberapa peneliti yang lain menggunakan cytochrome c oxidase subunit I (COI) (Serrao *et al.*, 2014; Conte-Grand *et al.*, 2017; Rüber *et al.*, 2020). Namun demikian, spesimen yang digunakan pada sejumlah penelitian tersebut tidak ada yang dikoleksi dari perairan di Indonesia, sehingga posisi filogenetik *C. gachua* dan *C. striata* dari Indonesia di antara spesies *Channa* yang lain belum diketahui.

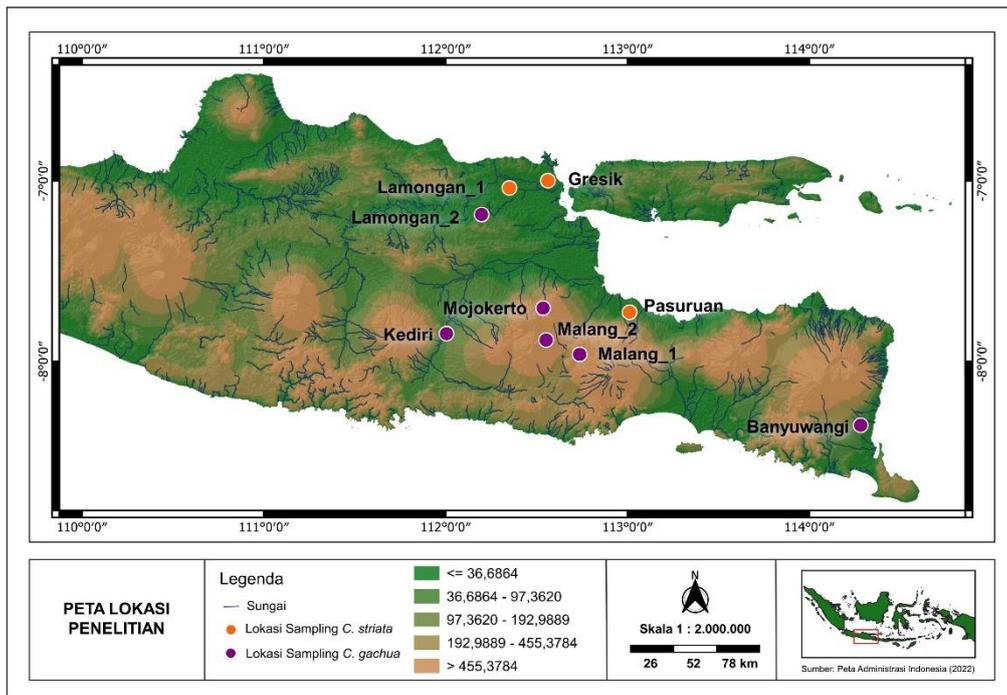
DNA mitokondrial COI parsial (~ 650 bp) merupakan marka molekuler yang diusulkan sebagai marka mitokondrial terstandar yang digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan batas spesies dan disebut sebagai *barcode region* pada sistem *DNA barcoding* (Hebert *et al.*, 2003a; Hebert *et al.*, 2003b). Selanjutnya, marka COI ini juga sering digunakan dan terbukti efektif untuk analisis molekuler pada kelompok ikan khususnya pada spesies ikan dari genus *Channa*. Beberapa penelitian telah dilakukan misalnya untuk mengidentifikasi spesies (Zhu *et al.*, 2013), menganalisis hubungan kekerabatan, baik pada tingkat interspesifik (Lakra *et al.*, 2010; Nguyen dan Duong, 2016) maupun tingkat intraspesifik (Benziger *et al.*, 2011; Jamsari *et al.*, 2011; Tan *et al.*, 2015), serta untuk menentukan posisi filogenetiknya (Praveenraj *et al.*, 2019; Rüber *et al.*, 2020).

Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa *C. gachua* dan *C. striata* merupakan spesies yang cenderung tidak bermigrasi, sehingga adaptasi terhadap habitat lokal dalam waktu tertentu dapat menyebabkan divergensi populasi yang jelas (Adamson *et al.*, 2010; Jamsari *et al.*, 2011). Selain itu, sejarah geologis dan iklim yang kompleks di Pulau Jawa dengan periode fluktuasi naik dan turunnya air laut pada era Pleistosen menyebabkan perubahan aliran sungai, perubahan habitat, serta munculnya hambatan geografi yang dapat mengarah ke divergensi populasi pada spesies yang mendiami wilayah ini termasuk spesies ikan air tawar (Voris, 2000; Lohman *et al.*, 2011). Meskipun *C. gachua* dan *C. striata* tersebar luas di pulau-pulau Indonesia bagian barat, namun penelitian mengenai posisi filogenetiknya terhadap spesies lain dari genus *Channa* masih belum dilakukan sampai saat ini, terutama pada lokasi di Jawa Timur. Pada penelitian ini, kami melakukan koleksi spesimen spesies ikan kotes *C. gachua* dan *C. striata*, dari beberapa lokasi di Jawa Timur. Penelitian ini bertujuan untuk: Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengetahui posisi filogenetik *C. gachua* dan *C. striata* dari lokasi sampling yang berbeda di Jawa Timur terhadap spesies lain dari genus *Channa*, dan (2) mengidentifikasi apakah *C. gachua* atau *C. striata* di Jawa Timur memiliki diversitas genetik besar, baik itu pada tingkatan interspesifik maupun intraspesifik. Hasil dari penelitian ini dapat menjadi informasi dasar untuk mendukung manajemen konservasi yang tepat serta manajemen domestikasi atau pemuliaan di masa yang akan datang.

BAHAN DAN CARA KERJA

Koleksi Spesimen dan Identifikasi Spesies

Sampling untuk mendapatkan spesimen ikan kotes (*C. gachua*) dan ikan kutuk (*C. striata*) telah dilakukan pada bulan Juli 2020 sampai dengan September 2021 di beberapa lokasi di Jawa Timur (Gambar 1). Alat tangkap yang dipakai adalah yang bersifat tidak merusak, yaitu jaring tarik, jala tebar, dan pancing. Koordinat geografis dari setiap lokasi sampling direkam menggunakan GPS. Masing-masing spesimen kemudian diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri morfologinya di lapang sebelum dikonfirmasi ulang secara lebih teliti saat di laboratorium. Konfirmasi spesimen yang berhasil dikoleksi dilakukan dengan analisis morfologi dengan mengukur karakter morfometrik dan menghitung karakter meristik yang mengacu pada Musikasinthorn (1998; 2000). Untuk menunjukkan nama lokasi sampling, spesimen yang berhasil dikoleksi dari dua lokasi berbeda namun masih berada di dalam kabupaten yang sama diberi angka untuk menunjukkan perbedaannya, misalkan Lamongan1 dan Lamongan2, serta Malang1 dan Malang2 (Gambar 1 dan Tabel 1).



Gambar 1. Lokasi sampling ikan kotes (*C. gachua*) dan ikan kutuk (*C. striata*) di Jawa Timur. Individu *C. gachua* (lingkaran ungu) dikoleksi dari enam lokasi, sedangkan *C. striata* (lingkaran oranye) dikoleksi dari tiga lokasi. Informasi lebih lengkap mengenai lokasi dan nomor registrasi individu dapat dilihat pada Tabel 1. (*Sampling locations for the dwarf snakehead (*C. gachua*) and the striped snakehead (*C. striata*) in East Java. Individuals of *C. gachua* (purple circles) were collected from six localities, whereas *C. striata* (orange circles) were collected from three localities. Complete information regarding locations and individual voucher numbers can be seen in Table 1).*

Satu spesimen yang dikoleksi dari masing-masing lokasi sampling kemudian diambil secara acak dan sebagian kecil dari sirip pektoral sebelah kanan dipotong untuk diawetkan di TNESU8 buffer (Asahida *et al.*, 1996). Spesimen ikan yang utuh kemudian diawetkan dengan alkohol 96% serta kemudian disimpan di *Specimen Depository*, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya setelah diberi nomor registrasi (Tabel 1).

Tabel 1. Tabel 1. Lokasi sampling *C. gachua* dan *C. striata* di Jawa Timur. (*Sampling locations of C. gachua and C. striata in East Java*).

No	Lokasi sampling (<i>Sampling locations</i>)*	Spesies (<i>Species</i>)	Jumlah spesimen (<i>Number of specimens</i>)	Koordinat geografi (<i>Geographic coordinate</i>)		Nomor registrasi (<i>Registration number</i>)**
				LS (S)	BT (E)	
1	Sungai kecil, Desa Sedayu, DAS Bengawan Solo, Gresik (Gresik_CSG)	<i>C. striata</i>	7	6°59'56.08"	112°33'40.49"	UB.1.319.1
2	Pasar Desa Pucangro, Kecamatan Kalitengah, DAS Bengawan Solo, Lamongan (Lamongan1_CSL)	<i>C. striata</i>	10	7°02'22.58"	112°20'57.11"	UB.1.317.1
3	Sungai kecil Desa Kedungpring, DAS Bengawan Solo, Lamongan (Lamongan2_CFL)	<i>C. gachua</i>	1	7°11'13.23"	112°11'48.54"	UB.1.318.1
4	Sungai kecil, Kecamatan Pacet, DAS Brantas, Mojokerto (Mojokerto_NGR)	<i>C. gachua</i>	7	7°32.73'00"	112°35.60'00"	UB.1.315.1
5	Sungai kecil, Kecamatan Ngadiluwih, DAS Brantas, Kediri (Kediri_NDL)	<i>C. gachua</i>	6	7°52.63'00"	111°58.45'00"	UB.1.312.1
6	Aliran sungai Kedungrejo, Pakis, DAS Brantas, Malang (Malang1_KDR)	<i>C. gachua</i>	7	7°57'40.00"	112°44'09.00"	UB.1.310.1
7	Aliran Sungai Torongrejo, Junrejo, DAS Brantas, Batu (Malang2_TRJ)	<i>C. gachua</i>	7	7°52'55.00"	112°33'06.00"	UB.1.310.8
8	Danau Ranu Grati, Pasuruan (Pasuruan_PRG)	<i>C. striata</i>	5	7°43'41.43"	113°00'38.83"	UB.1.320.3
9	Sungai Bomo, Banyuwangi (Banyuwangi_KBM)	<i>C. gachua</i>	3	8°21'12.50"	114°16'54.90"	UB.1.126.25

*Keterangan di dalam tanda kurung menunjukkan kode lokasi yang digunakan untuk mengacu individu yang disekuensing pada pohon filogenetik di Gambar 4. **Nomor registrasi ditampilkan hanya untuk individu yang disekuensing (** The captions in parentheses indicate the location codes used to refer to the individuals sequenced on the phylogenetic tree in Figure 4. **Registration numbers are displayed only for sequenced individuals*)

Ekstraksi DNA, amplifikasi PCR dan sekuensing

DNA genomik diekstrak dengan mengacu pada prosedur yang dijelaskan oleh Asahida *et al.* (1996). Secara singkat, untuk tahap penguraian protein, 20 µl Proteinase K (20 mg/ml) ditambahkan di tube 1.5 ml yang berisi potongan sirip dada sebelah kanan di dalam larutan TNESU8 buffer. Larutan ini kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15–20 jam. Setelah diinkubasi, larutan diekstrak menggunakan larutan phenol dan chloroform dengan perbandingan 1 : 1. Setelah diekstrak, alkohol dingin ditambahkan pada larutan untuk proses presipitasi DNA. Langkah terakhir yaitu DNA yang sudah terpresipitasi kemudian dilarutkan menggunakan TE-buffer. Sampel DNA kemudian disimpan pada suhu sekitar -20°C sampai dilakukan analisis lebih lanjut.

DNA mitokondrial pada COI, ~ 655 bp diamplifikasi menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) dengan primer umum (*universal primer*) seperti yang disebutkan oleh Ward *et al.* (2005). Urutan *primer forward* adalah Fish F1 5' TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC 3' sedangkan urutan untuk *primer reverse* adalah Fish R1 5' TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA 3'. Secara singkat, proses PCR dilakukan pada 10 µl larutan reaksi dengan enzim DNA polymerase. PCR dilakukan dengan 30 siklus yang terdiri dari 98°C selama 5 detik, 55°C selama 15 detik dan 72°C selama 20 detik. Produk PCR kemudian dikirim ke Apical Scientific Sdn Bhd, Malaysia, untuk

proses sekuensing. Sekuen DNA yang didapat kemudian diedit dan disusun menggunakan perangkat Sequencher 4.8 (Gene Codes). Sekuen kemudian disejajarkan dan diinspeksi secara manual dengan menggunakan perangkat Mesquite v3.11 (Maddison dan Maddison, 2017).

Analisis filogenetik dan perhitungan jarak genetik

Data sekuen COI untuk analisis filogenetik disusun dengan menggabungkan data sekuen DNA dari penelitian ini dan data yang diunduh dari *GenBank*. Sembilan sekuen COI dari masing-masing lokasi sampling pada penelitian ini ditambah sekuen dari 24 spesies ikan gabus yang diunduh dari *GenBank* terutama berdasarkan penelitian dari Serrao *et al.* (2014). Selain itu, dua sekuen COI ditambahkan untuk *C. limbata* (kode akses *GenBank* LC190123) dan *C. gachua* (KU692413) yang didapatkan dari penelitian yang masing-masing dilakukan oleh Kano *et al.* (2016) dan Dahruddin *et al.* (2017). *Outgroup* pada analisis filogenetik melibatkan dua spesies, yaitu *Parachanna africana* dan *P. insignis*. Penggunaan dua spesies dari genus *Parachanna* sebagai *outgroup* mengacu pada penelitian Serrao *et al.* (2014).

Analisis filogenetik untuk menentukan posisi filogenetik dari spesimen yang berhasil dikoleksi direkonstruksi dengan metode *maximum likelihood*. Analisis *maximum likelihood* dilakukan menggunakan perangkat GARLI v2.0 (Zwickl, 2014). *Generalized Time Reversible* dengan situs invariant dan gamma (GTR+I+G) terpilih sebagai model substitusi terbaik untuk digunakan pada analisis filogenetik yang diestimasi menggunakan perangkat *jModelTest* v.2.1.5 (Darriba *et al.*, 2012). *Bootstrap* non-parametrik untuk mengevaluasi ketelitian pada setiap titik percabangan pohon filogenetik (*node*) dilakukan dengan 1000 ulangan.

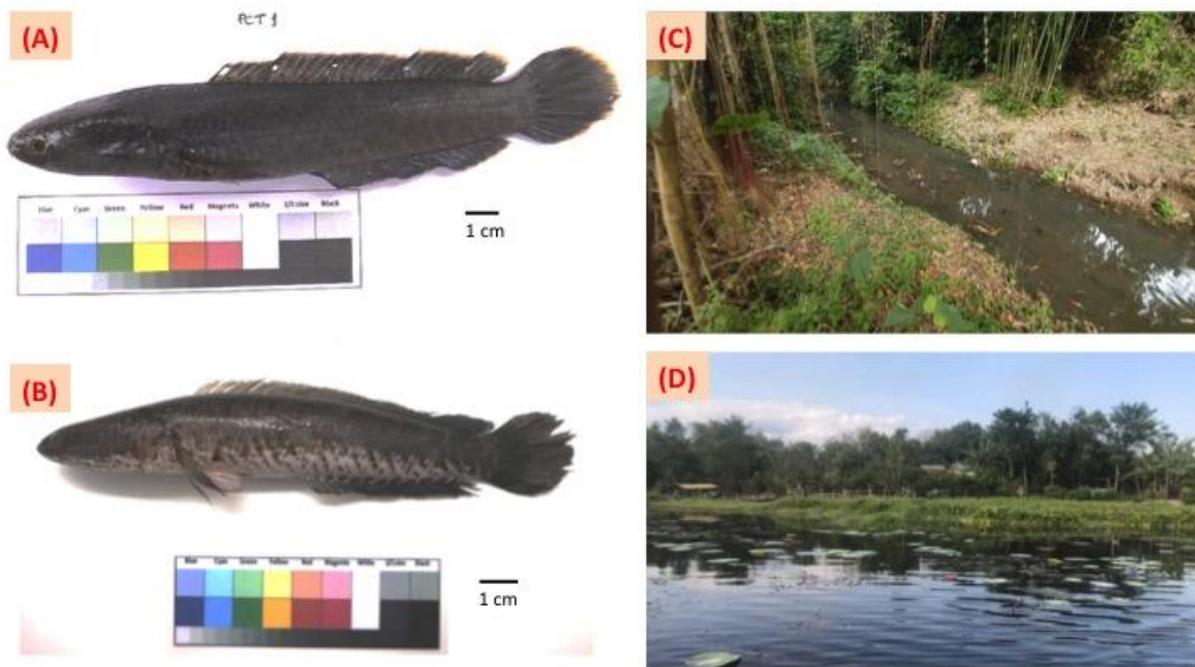
Setelah posisi filogenetik *C. gachua* dan *C. striata* di antara spesies lain pada genus *Channa* diketahui, selanjutnya dilakukan perhitungan jarak genetik pada tingkat interspesifik atau intraspesifik di antara sekuen pada penelitian ini dengan kerabat terdekatnya. Jarak genetik pada sekuen COI dihitung secara berpasangan menggunakan perangkat MEGA v6.06 (Tamura *et al.*, 2013). Model substitusi yang digunakan adalah Kimura 2-Parameter (K2P) sesuai dengan yang disarankan oleh Hebert *et al.* (2003). Jarak genetik dengan nilai > 2% digunakan sebagai ambang batas untuk menentukan dua sekuen yang dibandingkan yang merepresentasikan dua spesies yang berbeda (Ward, 2009; Ratnasingham dan Hebert, 2013).

HASIL

Spesimen *Channa*, lokasi sampling dan habitat

Sampling lapang telah dilakukan di beberapa lokasi di Jawa Timur untuk mendapatkan spesimen ikan kotes (*C. gachua*) dan ikan kutuk (*C. striata*). Kedua spesies tersebut dikoleksi dari sembilan lokasi. Jumlah individu *Channa* yang berhasil dikoleksi adalah sebanyak 53 ekor, terdiri dari 31 individu *C. gachua* dan 22 individu *C. striata*. *Channa gachua* dikoleksi dari enam lokasi, yaitu Lamongan2, Mojokerto, Kediri, Malang1, Malang2, dan Banyuwangi. *Channa striata* dikoleksi dari tiga lokasi, yaitu Gresik, Lamongan1, dan Pasuruan.

Dari sembilan lokasi dikoleksinya individu *C. gachua* dan *C. striata*, tujuh lokasi merupakan sungai kecil yang dangkal dengan lebar kurang dari 3 meter sedangkan dua lokasi lain yaitu Pasuruan dan Banyuwangi masing-masing adalah danau serta sungai besar yang lebar. Karakter dari sungai kecil ini adalah berair tenang dan dangkal, dengan banyak vegetasi air di kiri dan kanan badan sungai. Danau Ranu Grati di Pasuruan merupakan danau yang terbentuk akibat aktivitas vulkanik dengan diameter sekitar 1 km dan kedalaman maksimum 130 m. Sungai Bomo di Banyuwangi memiliki lebar rata-rata 10-15 meter dengan kedalaman rata-rata mencapai 1-2 meter saat musim kemarau. Lokasi di Lamongan1, Lamongan2 dan Gresik terhubung melalui daerah aliran sungai (DAS) Bengawan Solo. Lokasi Malang1, Malang2, Kediri dan Mojokerto berada pada DAS Sungai Brantas. Lokasi Pasuruan dan Banyuwangi berada pada letak geografis yang terpisah dan tidak terkoneksi dengan lokasi lainnya. Habitat dari lokasi pengambilan spesimen *C. gachua* dan *C. striata* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. A. *Channa gachua* (sisi lateral), B. *Channa striata* (sisi lateral), C. Sungai kecil di Kecamatan Pacet, Mojokerto, D. Danau Ranu Grati, Pasuruan. (A. *Channa gachua* (lateral side), B. *Channa striata* (lateral side), C. Small river at sub-district Pacet, Mojokerto, D. Lake Ranu Grati, Pasuruan).

Dari sembilan lokasi sampling *C. gachua* dan *C. striata* di Jawa Timur, tidak ditemukan distribusi simpatrik yaitu dimana kedua spesies tersebut ditemukan di satu lokasi yang sama pada waktu yang sama. Selain *C. gachua* dan *C. striata*, ikan lain yang hidup di sungai dan danau dimana *C. gachua* dan *C. striata* berhasil dikoleksi adalah famili Cyprinidae (*Rasbora lateristriata*, *R. argyrotaenia* dan *Barbodes binotatus*), *Anabas testudineus*, *Trichogaster* sp. dan *Clarias* sp. Ikan introduksi juga dapat ditemukan dengan mudah, misalnya *Oreochromis niloticus* dan *mosquito fish* dari golongan *Poecillia* sp. serta *Gambusia* sp.

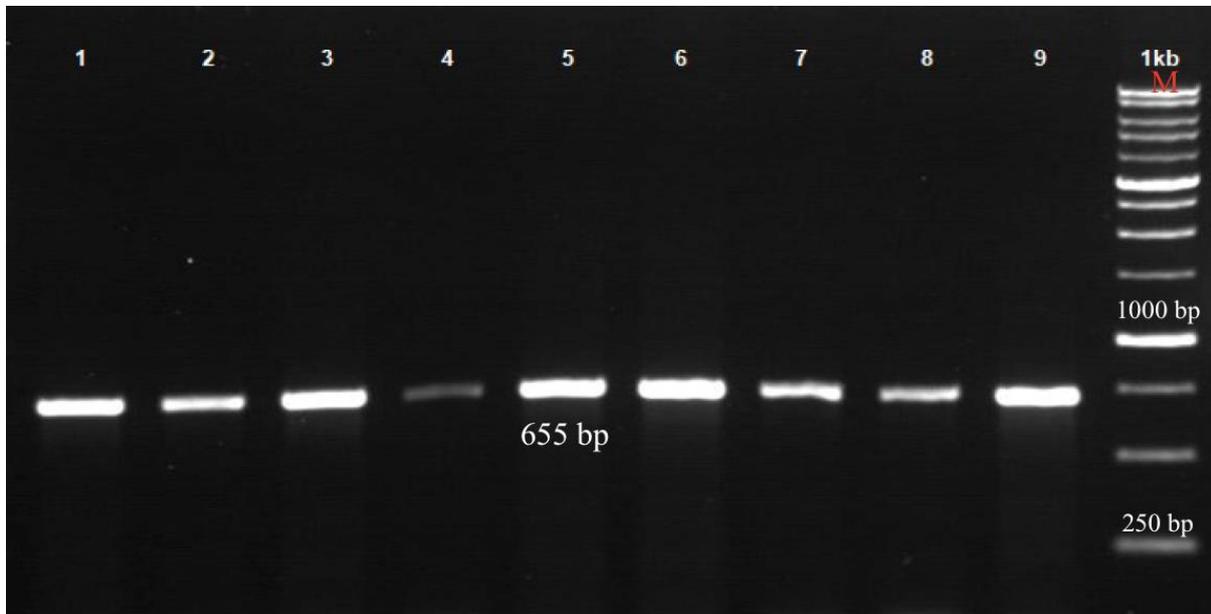
Identifikasi morfologi

Hasil identifikasi morfologi yang kami lakukan menunjukkan bahwa spesimen *Channa* yang berhasil dikoleksi dapat dibedakan dengan jelas antara *C. gachua* dengan *C. striata* berdasarkan ciri dan karakter kunci morfologinya. Spesimen *C. gachua* yang diamati secara morfologi memiliki kombinasi karakter sebagai berikut: memiliki sisik linea lateralis sebanyak 40–44. Pola warna tubuh bagian punggung (*dorsal*) berwarna kecoklatan sedangkan pada bagian bawah tubuh (*ventral*) berwarna cerah. Selain itu, terdapat semburat warna jingga/oranye pada bagian ujung sirip punggung, dada, dan ekor. Spesimen *C. gachua* memiliki ukuran tubuh yang relatif kecil, yaitu memiliki panjang standar 25–30 cm.

Channa striata dapat diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi sebagai berikut: memiliki sisik linea lateralis sebanyak 54–56. Berdasarkan pola warna tubuh, spesies *C. striata* dicirikan dengan bagian punggung gelap kehitaman dan berbintik dengan sisi bagian ventral tubuh berwarna putih. Bagian sisi samping tubuh bergaris gelap dan terang. Selain itu, pada bagian ujung sirip punggung, dada dan ekor berwarna gelap. Ukuran panjang standar berkisar antara 38–50 cm. Gambar spesimen masing-masing individu *C. gachua* dan *C. striata* dapat dilihat pada Gambar 2.

PCR, Sekuensing dan pensejajaran sekuen DNA COI

Polymerase Chain Reaction dilakukan menggunakan sepasang primer FishF1 dan FishR1 dan berhasil mengamplifikasi gen COI dengan panjang 655 bp pada sembilan spesimen (Gambar 3). Selanjutnya, proses sekuensing dengan primer yang sama dilakukan. Setelah melalui proses pengeditan pada elektroferogram, sekuen COI pada masing-masing spesimen *C. gachua* dan *C. striata* kemudian digunakan pada analisis pohon filogenetik.



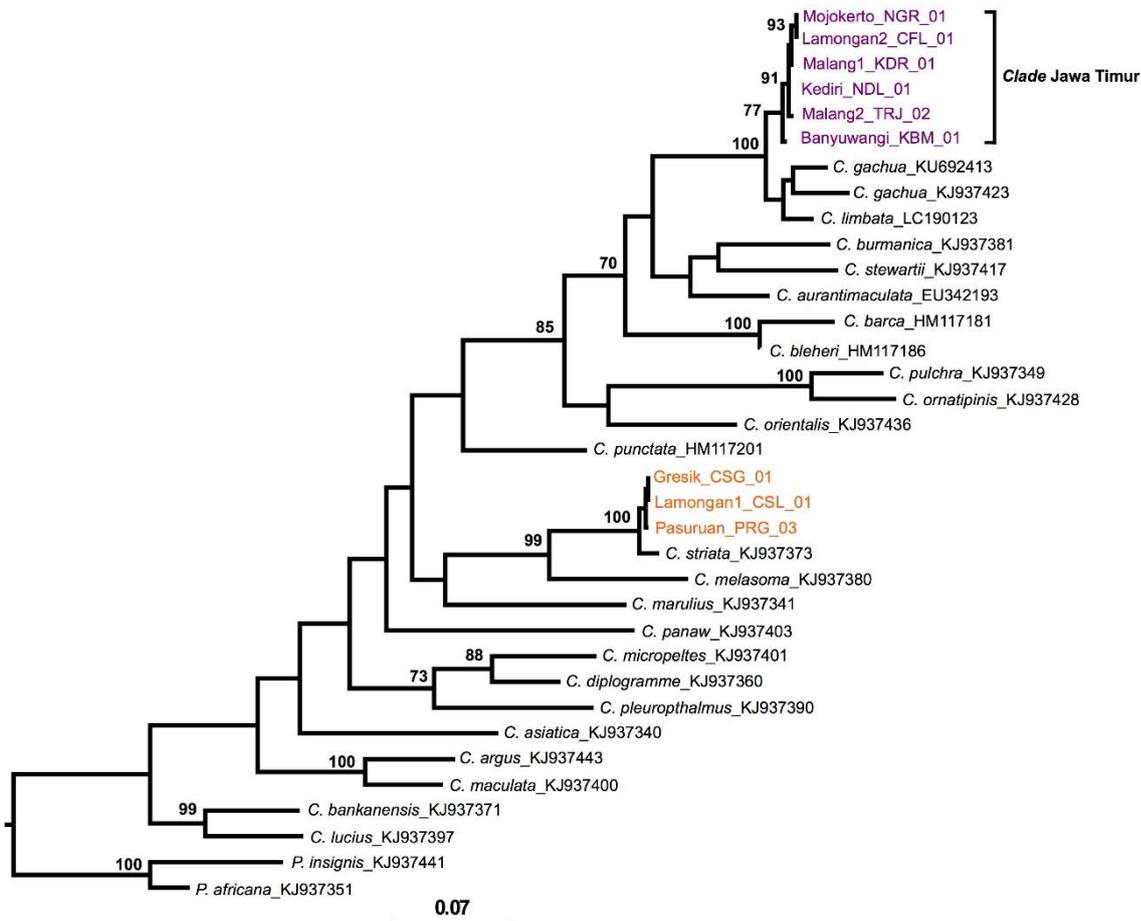
Gambar 3. Hasil elektroforesis yang divisualisasi pada gel agarosa (*Electrophoresis results were visualized on the agarose gel*).

Spesimen *C. gachua* yang disekuensing dari enam lokasi menghasilkan lima *haplotype* yang berbeda. Individu dari Lamongan2 memiliki *haplotype* yang identik dengan individu Mojokerto. Pada *C. striata*, terdapat dua *haplotype* yang berbeda yang berasal dari tiga lokasi sampling. *Haplotype* individu dari Gresik identik dengan individu dari Lamongan1. Spesimen yang memiliki *haplotype* identik ditandai dengan garis vertikal pada pohon filogenetik. Masing-masing *haplotype* untuk setiap spesimen dapat dilihat pada Gambar 4. Selanjutnya, sembilan sekuen *C. gachua* dan *C. striata* dari penelitian ini disejajarkan dengan 24 sekuen spesies lain dari genus *Channa* serta dua spesies untuk *outgroup* menjadikan total 35 sekuen COI digunakan untuk analisis filogenetik. Panjang basa nukleotida total untuk analisis filogenetik adalah 655 bp.

Analisis filogenetik dan jarak genetik

Rekonstruksi filogenetik dilakukan dengan metode *maximum likelihood*. Analisis *bootstrap* untuk mengevaluasi tingkat kepercayaan pada setiap titik percabangan dilakukan dengan 1000 replikasi. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa posisi filogenetik *C. gachua* yang dikoleksi dari Mojokerto, Lamongan2, Malang1, Kediri, Malang2 dan Banyuwangi tergabung menjadi satu kelompok (*Clade*) (Gambar 4) yang bersifat *monophyletic*. Sebagaimana ditunjukkan pada pohon filogenetik, *Clade* ini memiliki divergensi molekuler yang cukup besar dibandingkan dengan spesies terdekatnya. Oleh sebab itu, selanjutnya *Clade* yang beranggotakan individu dari Mojokerto, Lamongan2, Malang1, Kediri, Malang2 dan Banyuwangi ini diberi nama *Clade Jawa Timur*. Masing-masing *haplotype* pada *Clade Jawa Timur* tergabung dengan divergensi molekuler yang sangat kecil yang dapat dibuktikan dengan panjang cabang (*branch length*) yang sangat pendek pada pohon filogenetik. Individu pada *Clade Jawa Timur* memiliki kekerabatan terdekat dengan *C. gachua* yang dikoleksi dari Tasikmalaya, Jawa Barat (kode akses *GenBank* KU692413), Kanchanaburi, Thailand (KJ937423) serta *C. limbata* dari Sungai Chao Phraya, Thailand (LC190123). Kedekatan genetik *Clade Jawa timur* dengan *C. gachua* dari Jawa Barat dan Thailand serta *C. limbata* dari Thailand

didukung oleh nilai bootstrap yang sangat tinggi (100%) (Gambar 4). Pohon filogenetik juga menunjukkan bahwa individu pada *Clade* Jawa Timur terpisah dengan divergensi molekuler yang cukup jauh dengan *C. gachua* dan *C. limbata* dari Jawa Barat dan Thailand.



Gambar 4. Pohon filogenetik yang direkonstruksi dengan metode maximum likelihood mengilustrasikan posisi filogenetik ikan kotes (*C. gachua*) dan ikan kutuk (*C. striata*) dari Jawa Timur. Individu *C. gachua* dan *C. striata* pada penelitian ini ditandai dengan masing-masing warna taxa ungu dan oranye pada pohon filogenetik. Nilai bootstrap ditunjukkan hanya jika nilainya $\geq 70\%$. (The phylogenetic tree reconstructed using the maximum likelihood method illustrating the phylogenetic position of the dwarf snakehead (*C. gachua*) and the striped snakehead (*C. striata*) from East Java. Individuals of *C. gachua* and *C. striata* are indicated by purple and orange taxa colors, respectively in the phylogenetic tree. The bootstrap values are shown only if $\geq 70\%$).

Sekuen COI individu *C. striata* yang dikoleksi dari tiga lokasi masing-masing Gresik, Lamongan1 dan Pasuruan juga tergabung dalam satu kelompok. Individu dari ketiga lokasi ini memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dengan *C. striata* yang dikoleksi dari Amerika Serikat (KJ937373) dengan nilai bootstrap yang sangat tinggi (100%). Sekuen COI dari tiga lokasi di Jawa Timur terpisah dengan divergensi molekuler yang relatif kecil dengan *C. striata* dari Amerika Serikat (Gambar 4). *Channa striata* dari Jawa Timur dan Amerika Serikat tersebut memiliki kerabat terdekat dengan spesies *C. melasoma* yang dikoleksi dari Singapura (KJ937380).

Jarak genetik berpasangan Kimura 2-parameter (K2P *genetic distance*) selanjutnya diestimasi pada *C. gachua* dan *C. striata* dari Jawa Timur dengan masing-masing kerabat terdekatnya untuk mengetahui apakah divergensi molekuler berada pada tingkatan interspesifik atau intraspesifik. Perbandingan jarak genetik berpasangan dihitung dengan membandingkan individu *C. gachua* pada *Clade* Jawa Timur dengan spesies *C. gachua* dari Jawa Barat dan Thailand serta *C. limbata* dari Thailand. Hasil perhitungan jarak genetik menunjukkan bahwa *Clade* Jawa Timur memiliki divergensi molekuler yang besar setelah dibandingkan dengan spesimen *C. gachua* dari Jawa Barat (KU692413) dan Thailand (KJ937423) serta *C. limbata* dari Thailand (LC190123) dengan nilai berturut-turut sebesar 4,3%, 6,3%, dan 4,3% (Tabel 2).

Tabel 2. Perbandingan jarak genetik berpasangan Kimura 2-parameter *C. gachua* dari Jawa Timur dengan data *GenBank*. (*Comparison of Kimura 2-parameter pairwise genetic distances of C. gachua from East Java with GenBank data*).

Taksa (Taxa)	<i>Channa gachua</i> <i>Clade</i> Jawa Timur	<i>Channa</i> <i>limbata</i> _LC190123	<i>Channa</i> <i>gachua</i> _KU692413
<i>Channa gachua</i> <i>Clade</i> Jawa Timur			
<i>Channa limbata</i> _LC190123	0.043		
<i>Channa gachua</i> _KU692413	0.043	0.046	
<i>Channa gachua</i> _KJ937423	0.063	0.051	0.053

Perhitungan jarak genetik pada individu *C. striata* dari Jawa Timur dan data dari *GenBank* dilakukan dengan membandingkan masing-masing sekuen. Hal ini dilakukan karena pohon filogenetik menunjukkan divergensi molekuler yang kecil (Gambar 4). Perbandingan jarak genetik masing-masing individu dari Gresik, Lamongan1, Pasuruan dan Amerika Serikat menunjukkan nilai yang sangat kecil dengan nilai berkisar antara 0,0% sampai dengan 1,7%. Secara lengkap, data perbandingan jarak genetik pada masing-masing individu disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan jarak genetik berpasangan Kimura 2-parameter *C. striata* dari Jawa Timur dengan data *GenBank*. (*Comparison of Kimura 2-parameter pairwise genetic distances of C. striata from East Java with GenBank data*).

Taksa (Taxa)	<i>Channa</i> <i>striata</i> _Gresik	<i>Channa</i> <i>striata</i> _Lamongan1	<i>Channa</i> <i>striata</i> _Pasuruan
<i>Channa striata</i> _Gresik			
<i>Channa striata</i> _Lamongan1	0.000		
<i>Channa striata</i> _Pasuruan	0.003	0.003	
<i>Channa striata</i> _KJ937373	0.017	0.017	0.017

PEMBAHASAN

Distribusi *C. gachua* dan *C. Striata* di Jawa Timur serta habitatnya

Individu ikan kotes (*C. gachua*) dan ikan kutuk (*C. striata*) masing-masing dikoleksi di enam dan tiga titik di Jawa Timur. Kedua spesies ini dapat ditemukan baik di dataran rendah maupun tinggi dengan habitat yang beragam. Individu *C. gachua* misalnya dapat ditemukan di sungai kecil maupun besar di Jawa Timur pada dataran rendah (pada lokasi Lamongan2) maupun dataran tinggi (Malang1, Malang2, dan Mojokerto). Demikian pula dengan individu *C. striata*, mereka dapat ditemukan baik di sungai maupun danau (Tabel 1). Sungai-sungai dan danau tersebut memiliki karakteristik air yang mengalir tenang dengan banyak vegetasi di tepinya. Keadaan ini sesuai dengan laporan beberapa peneliti yang menyatakan bahwa spesies ikan dari genus *Channa* tersebar pada wilayah geografi luas serta mendiami jenis habitat yang bermacam-macam. Mereka dapat ditemukan di sungai, kolam, rawa-rawa, parit, waduk, saluran irigasi maupun di danau. Ikan ini hidup di daerah dataran tinggi maupun rendah dan umumnya mendiami perairan yang memiliki arus tenang, dengan banyak

vegetasi di sisi kanan atau kirinya (Rainboth 1996; Courtenay dan Williams, 2004; Praveenraj *et al.*, 2019).

Pada sembilan lokasi sampling di Jawa Timur, individu *C. gachua* dan *C. striata* tidak ditemukan terdistribusi secara simpatrik. Hal ini kemungkinan disebabkan spesies dari genus *Channa* umumnya merupakan ikan predator yang cenderung memiliki sifat yang agresif (Courtenay dan Williams, 2004; Nico *et al.*, 2022; Froese dan Pauly, 2024). Sifat agresif ini ditunjukkan saat proses perkawinan, saat menjaga wilayah dan sarangnya (teritorial) maupun saat menjaga telur dan larvanya (Paray *et al.*, 2013; Koundal *et al.*, 2015).

Posisi filogenetik serta jarak genetik pada *C. gachua* dan *C. striata*

Rekonstruksi filogenetik dengan metode *maximum likelihood* menunjukkan bahwa individu yang dikoleksi dari Jawa Timur dan berhasil diidentifikasi secara morfologi sebagai *C. gachua* memiliki kerabat terdekat masing-masing dari spesies *C. gachua* yang berasal dari Jawa Barat dan Thailand serta *C. limbata* yang berasal dari Thailand. Demikian pula pada individu *C. striata*, mereka memiliki kerabat terdekat dengan spesies *C. striata* dari Amerika Serikat (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa identifikasi spesies secara morfologi dan molekuler memberikan hasil yang konsisten dan saling mendukung. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penggunaan gen COI pada daerah *barcode* efektif untuk mengidentifikasi spesies dari genus *Channa* (Lakra *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2013; Ahmed *et al.*, 2018).

Analisis filogenetik yang kami lakukan mengindikasikan bahwa *C. gachua* pada *Clade* Jawa Timur terpisah secara signifikan dengan divergensi molekuler yang cukup besar terhadap kerabat terdekatnya, yaitu spesies *C. gachua* yang berasal dari Jawa Barat dan Thailand (Gambar 4). Demikian pula yang terjadi pada individu *C. gachua* dari Jawa Barat dan Thailand. Hasil rekonstruksi filogenetik ini didukung oleh data divergensi molekuler yang menunjukkan bahwa jarak genetik berpasangan berada pada tingkat interspesifik dengan nilai berkisar antara 4,3% sampai dengan 6,3% (Tabel 2). Mengacu pada Ward (2009) serta Ratnasingham dan Hebert (2013), dua taxa dapat dikategorikan sebagai dua spesies yang berbeda jika memiliki jarak genetik (*barcode gap*) > 2%. Dengan demikian, hasil analisis pada penelitian ini memperlihatkan bahwa pada spesies *C. gachua* setidaknya terdapat tiga garis keturunan (*genealogical lineage*) yang berbeda yang diduga merepresentasikan spesies yang berbeda. Dengan kata lain, spesies *C. gachua* kemungkinan besar merupakan spesies kriptik yang terdiri dari setidaknya tiga spesies independen yang berbeda. Hasil penelitian ini selaras dengan laporan peneliti terdahulu yang menyatakan bahwa *C. gachua* diduga merupakan spesies kriptik (Serrao *et al.*, 2014; Conte-Grand *et al.*, 2017; Dahrudin *et al.*, 2017; Hutama *et al.*, 2017; Rüber *et al.*, 2020).

Pada individu *C. striata* dari Jawa Timur, hasil rekonstruksi filogenetik yang kami lakukan mengindikasikan bahwa pengelompokan dengan kerabat terdekatnya, yaitu *C. striata* dari Amerika Serikat, hanya dipisahkan oleh divergensi molekuler yang kecil. Hasil ini memberikan gambaran bahwa perbedaan genetik antara individu *C. striata* dari Jawa Timur dibandingkan dengan individu dari Amerika Serikat berada pada tingkat intraspesifik. Pandangan ini juga didukung oleh hasil perhitungan jarak genetik yang relatif rendah, dengan nilai 1,7% (Tabel 3). Spesies dari genus *Channa* merupakan ikan asli dari daratan Asia (Eschmeyer, 2024; Froese dan Pauly, 2024) sehingga keberadaan spesies *C. striata* di Amerika Serikat sangat besar kemungkinannya adalah hasil dari introduksi (Courtenay dan Williams, 2004). Hanya saja, lokasi tepat dari mana spesies ini diintroduksi tidak diketahui. Meskipun pada penelitian ini tidak terdeteksi spesies kriptik pada *C. striata*, dengan memperhitungkan wilayah persebaran geografi yang sangat luas, analisis dengan melibatkan sampel dari wilayah yang lebih luas mungkin saja dapat mengidentifikasi diversitas kriptik pada spesies ini. Selain itu, laporan dari beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa *C. striata* merupakan spesies kriptik (Rainboth, 1996; Serrao *et al.*, 2014; Conte-Grand *et al.*, 2017; Rüber *et al.*, 2020).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat diversitas kriptik pada spesies *C. gachua* khususnya di Pulau Jawa. Sejarah geologi serta klimatologi yang unik Pulau Jawa, dengan naik dan turunnya tinggi permukaan air laut diduga menjadi faktor yang menyebabkan terbentuknya diversitas

kriptik pada banyak spesies ikan di pulau ini (Voris, 2000; Hall, 2008; Hall, 2009; Lohman *et al.*, 2011). Dengan terdeteksinya spesies kriptik pada *C. gachua*, diperlukan pengelolaan dan manajemen genetik yang terpisah terhadap masing-masing garis keturunan yang berbeda tersebut. Sebaliknya, pada *C. striata*, individu yang dikoleksi dari lokasi yang berbeda tidak menunjukkan adanya diversitas kriptik sehingga manajemen genetik (misalnya translokasi dan introduksi) dapat dilakukan antar lokasi. Di masa depan, penelitian mengenai filogenetik, sejarah demografi dan analisis variasi genetik (*phylogeography*) dengan melibatkan jumlah individu dan lokasi sampling yang lebih banyak penting untuk dilakukan. Hal ini agar informasi yang komprehensif terhadap sejarah evolusi dari kedua spesies ini berhasil dijelaskan sehingga upaya konservasi maupun program pemuliaan genetik dapat direncanakan dan dirancang secara lebih tepat.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ikan kotes (*C. gachua*) yang dikoleksi dari Jawa Timur memiliki kerabat terdekat dengan spesies *C. gachua* dari Jawa Barat dan Thailand serta *C. limbata* dari Thailand. Sedangkan untuk ikan kutuk (*C. striata*) memiliki kerabat paling dekat dengan individu dari Amerika Serikat. Analisis filogenetik dan perbandingan jarak genetik berpasangan menunjukkan bahwa diversitas kriptik berhasil diidentifikasi pada spesies *C. gachua*. Sebaliknya, pada *C. striata* individu yang dikoleksi dari lokasi berbeda tidak menunjukkan divergensi molekuler yang besar. Penelitian ini memberikan informasi dasar yang dapat dimanfaatkan untuk merancang manajemen konservasi maupun pemuliaan genetik yang lebih tepat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Fachreza Gusti Hamurdana, Monica Anindita Lutfitasari, Julianika Br. Sembiring Depari, Izzah Linatul Kharirah, dan Yanuar Ivan Prasetyo atas bantuannya dalam mengoleksi spesimen di lapang. Atas bantuan eksperimen di laboratorium, penulis mengucapkan terima kasih pada Firda Rabbani Razak, Bela Fatma Hani Ayu Lestari, Nadaa Nurul Shaafiyah, Talitha Amanda, dan Ahmad Yusri Cahyaning. Kami juga berterima kasih kepada Dr. Nia Kurniawan yang mengizinkan penggunaan laboratorium untuk melakukan eksperimen.

KONTRIBUSI PENULIS

WEK: membuat konsep penelitian, membuat draf artikel, merevisi naskah akhir; YW dan MD: melakukan identifikasi spesimen; KNAK dan IS: melakukan pekerjaan laboratorium dan analisis data; AFP dan MD: melakukan sampling spesimen dan mengumpulkan data habitat; DGRW: melakukan telaah naskah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, M.S., Dina, S.R., Nahar, L., Islam, N.N., Reza, H.A. 2018. Molecular characterization of *Channa* species from Bangladesh based on Cytochrome c Oxidase Subunit I (COI) gene. *Fish Taxa*, 3(4), pp.87-93.
- Amin, M.H.F., Rahmawati, Y., Sugiharto, Irawan. 2019. RAPD fingerprinting of snakehead fish (*Channa striata*) in Brantas watershed, East Java, Indonesia. *Ecology, Environment and conservation*, 25, pp.518-523.
- Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K., Nakayama, I. 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffer containing high concentration of urea. *Fisheries Science*, 62, pp.727-730.
- Benziger, A., Philip, S., Raghavan, R., Ali, P.H.A., Sukumaran, M., Tharian, J.C., Dahanukar, N., Baby, F., Peter, R., Devi, K.R., Radhakrishnan, K.V., Haniffa, M.A., Britz, R., Antunes, A. 2011. Unraveling a 146 years old taxonomic puzzle: validation of Malabar snakehead, species-status and its relevance for *Channid* systematics and evolution. *PloS ONE*, 6(6): e21272. DOI: 10.1371/journal.pone.0021272.
- Courtenay, W.R., Williams, J.D. 2004. Snakeheads (Pisces, Channidae) - A biological synopsis and risk assessment. Circular 1251, U.S. Geological Survey, Gainesville, FL. 143

- Dahrudin, H., Hutama, A., Busson, F., Sauri, S., Hanner, R., Keith, P., Hadiaty, R., Hubert, N. 2017. Revisiting the ichthyodiversity of Java and Bali through DNA barcodes: taxonomic coverage, identification accuracy, cryptic diversity and identification of exotic species. *Molecular Ecology Resources*, 17(2), pp.288-299. DOI: 10.1111/1755-0998.12528.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D. 2012. jModeltest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9:772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.
- Eschmeyer, W.N. (Ed). 2024. Catalog of Fishes. California Academy of Sciences Available: <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Diakses pada 25 Maret 2024.
- Froese, R., Pauly, D. (Eds). 2024. FishBase. World Wide Web electronic publication. Available from <http://fishbase.org/>. Diakses pada 25 Maret, 2024.
- Hall, R. 2008. Continental growth at the Indonesian margins of Southeast Asia, in: Spencer, J.E., Titley, S.R. (Eds.) Ores and Orogenesis: Circum Pacific Tectonics, Geologic Evolution and Ore Deposits. *Arizona Geological Society Digest*, pp.245-258.
- Hall, R. 2009. Southeast Asia's changing palaeogeography. *Blumea*, 54(1-3), pp.148-161. DOI: 10.3767/000651909X475941.
- Harrington, L.A., Mookerje, A., Kalita, M., Saikia, A., Macdonald, D.W., D'Cruze, N. 2022. Risks associated with the global demand for novel exotic pets: A new and emerging trade in snakehead fish (*Channa spp.*) from India. *Biological Conservation*, 265, 109377. DOI: 10.1016/j.biocon.2021.109377.
- Hariati, A., Yuniarti, A., Endariani, Kusuma, W.E., Wiadnya, D.G.R. 2019. Albumin and enzyme profiles of dwarf snakehead, *Channa gachua* caught from River Brantas, East Java. *Journal of Physics: Conference Series*, 1146, 012041. DOI: 10.1088/1742-6596/1146/1/012041.
- Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., DeWaard, J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, pp.313-321. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.
- Hebert, P.D., Ratnasingham, S., DeWaard, J.R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergence among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* (Suppl), 270, pp.S96-S99. DOI 10.1098/rsbl.2003.0025.
- Hutama, A., Dahrudin, H., Busson, F., Sauri, S., Keith, P., Hadiaty, R.K., Hubert, N. 2017. Identifying spatially concordant evolutionary significant units across multiple species through DNA barcodes: Application to the conservation genetics of the freshwater fishes of Java and Bali. *Global ecology and conservation*, 12, pp.170-187.
- Jamsari, A.F.J., Jamaluddin, J.A.F., Tan, M.P., Azizah, M.N.S. 2011. Genetic structure of the snakehead murrel, *Channa striata* (channidae) based on the cytochrome c oxidase subunit I gene: Influence of historical and geomorphological factors. *Genetics and Molecular Biology*, 34(1), pp.152-160.
- Kano, Y., Musikasinthorn, P., Iwata, A., Tun, S., Yun, L., Win, S., Matsui, S., Tabata, R., Yamasaki, T., Watanabe, K. 2016. A dataset of fishes in and around Inle Lake, an ancient lake of Myanmar, with DNA barcoding, photo images and CT/3D models. *Biodiversity Data Journal*, 4, e10539. DOI: 10.3897/BDJ.4.e10539
- Kottelat, M., Whitten, A.J, Kartikasari, S.N., Wirjoatmodjo, S. 1993. Freshwater fishes of western Indonesia and Sulawesi. Periplus Editions, Hong Kong. pp.221.
- Koundal, A., Sharma, I., Koundal, S. 2015. Breeding and parental care in green head spotted Murrel, *Channa punctata* (Bloch). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(3), pp.146-148.
- Lakra, W.S., Goswami, M., Gopalakrishnan, A., Singh, D.P., Singh, A., Nagapure, N.S. 2010. Genetic relatdness among fish species of genus *Channa* using mitochondrial DNA genes. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, pp.1212-1219. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.12.012>.
- Listyanto, N., Andriyanto, S., 2009. Ikan gabus (*Channa striata*) manfaat pengembangan dan alternative teknik budidayanya. *Media Akuakultur*, 4, pp.18-25.

- Liu, Z.J., Cordes, F.J. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 242(1-4), pp.735-736. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.027>.
- Lohman, D.J., de Bruyn, M., Page, T., von Rintelen, K., Hall, R., Ng, P.K.L., Shih, H.T., Carvalho, G.R., von Rintelen, T. 2011. Biogeography of the Indo-Australian archipelago. *Annual Review Ecology, Evolution and Systematics*, 42, pp.205–206. DOI: [10.1146/annurev-ecolsys-102710-145001](https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145001).
- Maddison, W.P., Maddison, D.R. 2017. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.11. <http://mesquiteproject.org>
- Moritz, C. 1995. Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philosophical Transaction: Biological Sciences*, 349(1327), pp.113-118. DOI: <https://www.jstor.org/stable/i203401>.
- Muflikhah, N. 2007. Domestikasi ikan gabus (*Channa striata*). *Bawal*, 1(5), pp.169-175. DOI: [10.15578/bawal.1.5.2007.169-175](https://doi.org/10.15578/bawal.1.5.2007.169-175).
- Musikasinthorn, P. 1998. *Channa panaw*, a new channid fish from the Irrawaddy and Sittang River basins, Myanmar. *Ichthyological Research*, 45, pp.355-362. DOI: [10.1007/BF02725188](https://doi.org/10.1007/BF02725188).
- Musikasinthorn, P. 2000. *Channa aurantimaculata*, a new channid fish from Assam (Brahmaputra River basin), India, with designation of a neotype for *C. amphibeus*. *Ichthyological Research*, 47, pp.27-37. DOI: [10.1007/BF02674310](https://doi.org/10.1007/BF02674310).
- Muslim, M., Syaifudin, M. 2012. Domestikasi calon induk ikan gabus (*Channa striata*) dalam lingkungan budidaya (kolam beton). *Majalah Ilmiah Sriwijaya*, pp.20-27.
- Nguyen, N.T.T., Duong, T.Y. 2016. Morphological and genetic differences between cultured and wild populations of *Channa striata* in Viet Nam and its phylogenetic relationship with other *Channa* species. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 38(4), pp.427-434.
- Nico, L.G., Neilson, M.E., Robins, R.H., Pfeiffer, J.M., Kail, M., Randall, Z.S., Johnson, E. 2022. Occurrence of a reproducing wild population of *Channa aurolineata* (Pisces: Channidae) in the Manatee River drainage, Florida. *Aquatic Invasions*, 17(4), pp.577-601. DOI: [10.3391/ai.2022.17.4.07](https://doi.org/10.3391/ai.2022.17.4.07).
- Paray, B.A., Haniffa, M.A., Manikandaraja, D., Milton, M.J. 2013. Breeding behavior and parental care of the induced bred striped murrel *Channa striatus* under captive conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, pp.707-711. DOI: [10.4194/1303-2712-v13_4_16](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13_4_16).
- Praveenraj, J., Uma, A., Moulitharan, N., Singh, S.G. 2019. A new species of Dwarf *Channa* (Teleostei: Channidae) from Meghalaya, Northeast India. *Copeia*, 107, pp.61-70. DOI: [10.1643/CI-18-079](https://doi.org/10.1643/CI-18-079).
- Rainboth, W.J. 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome. pp.265.
- Rüber, L., Tan, H.H., Britz, R. 2020. Snakehead (Teleostei: Channidae) diversity and the Eastern Himalaya biodiversity hotspot. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 58(1), 356-386. DOI: [10.1111/jzs.12324](https://doi.org/10.1111/jzs.12324).
- Setyaningrum, N., Lestari, W., Krismono, Nuryanto, A. 2022. Exploitation of striped snakehead (*Channa striata*) in Sempor Reservoir, Central Java, Indonesia: A proposed conservation strategy. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(7), pp.3584-3592. DOI: [10.13057/biodiv/d230735](https://doi.org/10.13057/biodiv/d230735).
- Song, L.M., Munian, K., Rashid, Z.A., Bhassu, S. 2013. Characterisation of asian snakehead murrel *Channa striata* (Channidae) in Malaysia: an insight into molecular data and morphological approach. *The Scientific World Journal*, 2013, pp.1-16. DOI: [10.1155/2013/917506](https://doi.org/10.1155/2013/917506).
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, pp.2725-2729.
- Tan, M.P., Jamsari, A.F.J., Muchlisin, Z.A., Azizah, M.N. 2015. Mitochondrial genetic variation and population structure of the striped snakehead, *Channa striata* in Malaysia and Sumatra Indonesia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 60, pp.99-105. DOI: [10.1016/j.bse.2015.04.006](https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.04.006).

- Vázquez, D.P., Gittlemen, J.L. 1998. Biodiversity conservation: Does phylogeny matter?. *Current Biology*, 8, R379-R381. DOI: 10.1016/s0960-9822(98)70242-8.
- Voris, H.K. 2000. Maps of Pleistocene sea levels in Southeast Asia: shorelines, river system and time durations. *Journal of Biogeography*. 27(5) pp.1153-1167. DOI: 10.1046/j.1365-2699.2000.00489.x
- Ward, R.D. 2009. DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. *Molecular Ecology and Resources*, 9(4), pp.1077-1085. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02541.x
- Zhu, S.R., Fu, J.J., Wang, Q., Li, J.L. 2013. Identification of *Channa* species using the partial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene as a DNA barcoding marker. *Biochemical Systematics and Ecology*, 51, pp.117-122. DOI: 10.1016/j.bse.2013.08.011.
- Zwickl, D.J. 2014. Genetic Algorithm for Rapid Likelihood Inference. Version 2.0. <http://www.bio.utexas.edu/faculty/antisense/garli/garli.html>.