

STUDI BIOGEOGRAFIS IKAN PUYAU (*osteochilus SP*) BERBASIS PROFIL PROTEIN DARI DANAU ROWO IJO, SITUS BUKIT BANGKAI

Tanto Budi Susilo^{1*}, Mochamad Arief Soendjoto², Oni Soesanto³,
Raifa Azizia Mustaqima⁴, Rani Sasmita⁴, Paola A. E. Bianchi⁵

¹Program Studi Kimia, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Jl. A. Yani Km 35,5 Banjarbaru

²Fakultas Kehutanan Universitas Lambung Mangkurat, Jl. A. Yani Km 35,5 Banjarbaru

³Program Studi Matematika, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Jl. A. Yani Km 35,5 Banjarbaru

⁴Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Jl. A. Yani Km 35,5 Banjarbaru

⁵Impresa Edlle Busandri Glan Pletro, Via Camploni n. 3, Florenzuola D'Arta (PC) Consulata di valutazione archeologica relativa a lavori pressol, a Chiesa di S. Antonio da Padova in Costra Orzata, Castel, I, Arquato (PC), Italiana.

*Corresponding author: tbi.susilo@ulm.ac.id

ABSTRACT

This Bukit Bangkai would like be became a candidate for place evolution rock art heritage unit (PERAHU). In this site, the Rowo Ijo lake as a habitat, where it was found biogeographically, a Puyau fish (*Osteochilus sp*). Furthermore, the method of precipitation fraction of ammonium sulfate ((NH₄)₂SO₄) with Lowry and SDS-PAGE elaboration was used, as the main method to obtain the protein profile of fish protein. Analysis of kinship relations was carried out using the UPGMA method based on the profile.. Based on the results of the fraction (NH₄)₂SO₄ and Lowry methods, the optimum protein content was obtained, namely 68.93; 116.08; 6.72; 7.96 (mg/ml) in the 70-80% fraction and 4 samples from Banjar Regency 19.17; 16.93; 20.04; and 20.04 mg/mL in the 40-70% fraction, respectively. Based on the results of SDS-PAGE at the optimum level of protein; Puyau Rowo Ijo fish have 64 bands, with a profile of 11 bands on P.1R code, 9 bands on P.2R code, 10 bands on P.3R code and 9 bands on P.4R. For Puyau Banjar fish there are 25 bands with the following profile; each code P.1B and P.2B has 6 bands, while P.3B has 10 bands and P.4B has 3 bands. The types of proteins found were thought to include Actin Protein, Carbonic Anhydrase, Trypsin Inhibitor, -lactalbumin, and Lysozyme. The results of the UPGMA analysis based on the distribution of protein species and weights were that there was related closely to two groups form (*clusters*) between puyau from the Lake Rowo Ijo and Banjar Regency.

Keywords: protein profile, distance kinship, Rowo Ijo, Banjar Regency

PENDAHULUAN

Situs Bukit Bangkai bukan hanya sangat potensial sebagai sumber informasi aktivitas manusia prasejarah di Kalimantan, Indonesia (Susilo, *et. al.*,

2015, 2020, 2021, 2022a dan 2022b, Sugiyanto, 2014 dan 2015)). Situs ini juga merupakan bagian kandidat *place evolution rock art heritage unit* (PERAHU), suatu bank situs prasejarah yang dikelola oleh

Universitas Griffith-Australia. PERAHU dan suatu literatur pustaka manusia prasejarah berisi ribuan koleksi dan dokumentasi *rock art* dan biofaktual (sisa tinggalan arkeologis berupa hewan dan tanaman) yang telah berumur ribuan tahun. Di sisi lain, situs Maros-Pangkep, Sulawesi Selatan, telah dimasukan database PERAHU. Situs ini menjadi istimewa karena umur artefaknya 40.000 ribuan tahun yaitu melebihi kerangka kronologi situs Chauvet cave yang berumur 36.000 tahun di Perancis (Tabel 1). Khusus situs Bukit Bangkai memiliki tinggalan

arkeologis yang lebih lengkap seperti *rock art*, gerabah, sisa pangan kerang, alat batu dan biofaktual (Susilo, *et. al.*, 2020, 2021, 2022a dan 2022b). Penelitian kerang air tawar juga sudah pernah dilakukan dan terkonfirmasi di danau Rowo Ijo situs Bukit Bangkai. Ningsih, (2016) yang menjelaskan bahwa sisa kerang yang terdapat dalam situs Bukit Bangkai berasal dari kerang yang ditemukan disekitar Danau Rowo Ijo. Danau ini juga merupakan lumbung air yang menjadi tumpuan akhir dari aliran air telaga yang terdapat di dalam gua Bukit Bangkai.

Tabel 1. Database situs PERAHU

No.	Name situs	Lokasi	Umur	Keterangan	Status	Peneliti
1.	Nine Mile Canyon	Utah-USA	1.300	Rock art berwarna	World heritage	Jerry D.S., 2014
2.	Coso rock art district	California, USA	16.000	Rock art berwarna	World heritage	Alan P. G., 2006
3.	Horseshoe Canyon	Canyonland, USA	6 000	Rock art berwarna	World heritage	Pederson, <i>et. al.</i> , 2014
4.	Cueva de las Manos	Argentina		Rock art berwarna	World heritage	Wainwright, <i>et. al.</i> , 2017
5.	Cave of Swimmer	Mesir	7.000	Rock art berwarna	World heritage	Tomasetti, <i>et. al.</i> , 2016
6.	Laas Geel	Somalia		Rock art berwarna	World heritage	Sada M., 2015
7.	Tassil n'Ajjer	Al Jazair	15.000	Rock art berwarna	World heritage	Taylor & Francis, 2007
8.	Drakensberg	Afrika Selatan	2.400	Rock art berwarna	World heritage	Prins., 2009
9.	Kakadu	Australia	20.000	Rock art berwarna	World heritage	May & Tacon, 2014
10.	Lascaux Cave	Perancis	20.000	Rock art berwarna	World heritage	Bastion & Alabouvette. 2008
11.	Chauvet Cave	Perancis	36.000	Rock art berwarna	World heritage	Combiér & Jouve. 2012
12.	Altamira	Spanyol	36.000	Rock art berwarna	World heritage	Gurtner, <i>et.al.</i> , 2001
13.	Magura Cave	Bulgaria	10.000	Rock art berwarna	World heritage	Ivanovic, <i>et. al.</i> , 2013
14.	Saimaluu Tash	Kyrgistan	10.000	Rock art berwarna	World heritage	UNESCO, 2003
15.	Maros Pangkep	Indonesia	40.000	Rock art berwarna	World heritage	Aubert, <i>et.al.</i> , 2014
16.	Sangkulirang Kalimantan Timur	Indonesia	3.000	Rock art berwarna	Kandidat world heritage	Setiawan, 2014
17.	Bukit Bangkai, Mantewe	Indonesia	5.000	Rock art tidak berwarna (hitam) dan biofaktual	Belum diusulkan.	Susilo dan Sugianto (2015)

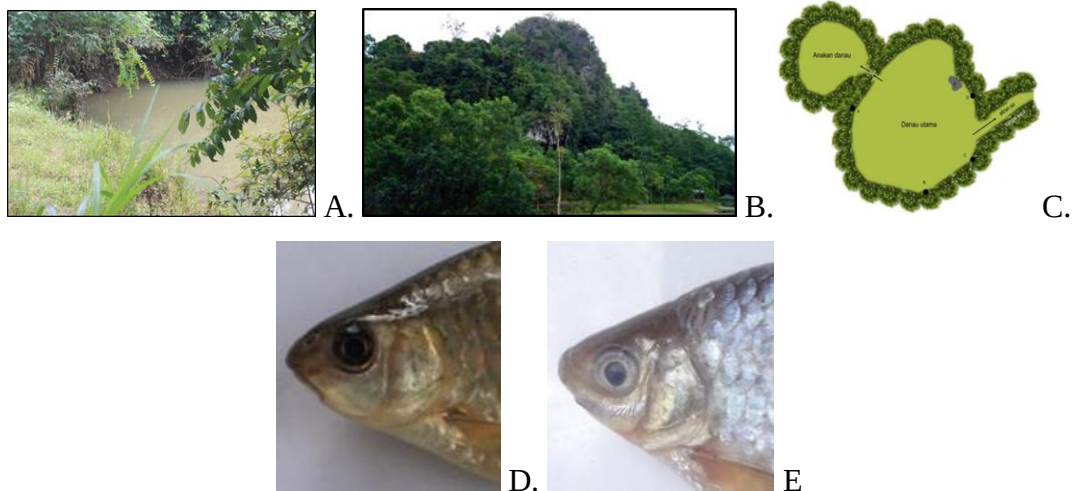
Pada penelitian ikan kihung sebelumnya di Rowo Ijo (Susilo, *et al.*, 2021), telah dieksplorasi profil bobot dan jenis protein ikan sebagai upaya mengindikasikan terjadinya isolasi biogeografis di danau ini. Di sini sedang dilakukan penelitian ikan Puyau, ikan yang berbeda jenis dengan ikan kihung. Kajian profil protein ikan puyau merupakan upaya koleksi bukti isolasi biogeografis di danau itu. Diharapkan kegiatan ini bermanfaat untuk

keperluan kajian evolusi dan konservasi ikan pada masa mendatang.

Situs Bukit Bangkai dan Danau Rowo Ijo

Situs Bukit Bangkai ini terletak di sebelah barat laut kota Batulicin dengan posisi koordinat lintang selatan $3^{\circ} 12' 13.5''$ dan bujur timur $115^{\circ} 47' 44.2''$, ketinggian kisaran 48 meter, panjang kisaran 40 meter di atas permukaan laut (Gambar 1).

Gambar 1. Danau Rowo Ijo (A) dan Situs Bukit Bangkai (B), Sketsa Peta lokasi Danau Rowo Ijo (C), Ikan Puyau Rowo Ijo dan Ikan puyau Kabupaten Banjar. yang terdapat di sekitar Situs Bukit Bangkai, di Desa Dukuhrejo, Kecamatan Mantewe, Kabupaten Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan.



METODE

Sampel yang digunakan empat ekor ikan Puyau (Danau Rowo Ijo) dan empat ekor (Kabupaten Banjar). Bahan kimia ekstraksi: Akuades steril pH 7, *Tris base* (Vivantis), EDTA atau *protease inhibitor* (Promega). Bahan untuk presipitasi Protein: ammonium

sulfat (Emsure), buffer Tris HCl 0,5 M pH 8,8. Bahan reagen Lowry, H_2SO_4 Pekat, akuades dan protein standar *Bovine Serum Albumin* atau BSA (Himedia). Bahan untuk SDS-PAGE: Akrilamida (Himedia), Bis-akrilamida (Promega), SDS atau *Sodium Dodecyl Sulfate* 10% (KgaA), Ammonium

Persulfat atau APS 10% (Vivantis), N,N,N',N'-tetrametil- etilendiamin atau TEMED (ApliChem Panreac ITW Comparies), isopropanol, glisin (Vivantis), gliserol, 2 – *mercaptoethanol* (Himedia), *bromophenol blue* (Himedia), *Coomassie Brilliant Blue* (CBB) R – 250 (Himedia), *Protein Ladder Chromatein*.

Alat yang digunakan autoklaf (All american model 25x-2), hot plate (Lab companion). Alat untuk ekstraksi *centrifuge refrigerator* (Hitachi). Alat untuk presipitasi protein: mikropipet 0,5 – 10 µL; 20 - 200 µL; 100 – 1000 µL; dan 1000 – 5000 µL, tip pipet, tip pipet case, *micropipet stand*, *vortex mixer* (Jiotech), *microtube* 1,5 mL, *microtube case*, *microcentrifuge* (Profuge 6K). Alat untuk penentuan kadar protein: *microtube* 1,5 mL, *vortex mixer*, *microplate* 96 wells (Costar 96), dan spektrofotometer (BMG Labtech). Alat untuk SDS-PAGE *Elechtrophoresis apparatus MV – 20* (Major science), *power supply* (Major science), *shaker rotator* (H-SR-200 (Health)).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran Kadar Protein

Pengukuran kadar protein ikan puyau Rowo Ijo menggunakan metode Lowry (1951) (Tabel 2.) dielaborasi dengan metode pengendapan (presipitasi) menggunakan fraksinasi ammonium sulfat (NH₄SO₄) jenuh. Fraksi 20% sampai 80% NH₄SO₄ dilakukan sentrifuge 1000 rpm dan dilakukan resuspensi dengan buffer Tris HCl 0,5 M pH 8,8. Pada fraksi 70-80% NH₄SO₄ didapatkan 68,9392 mg/mL (kode P.1R), 116,08 mg/mL (kode P.2R), pada fraksi 60-70%, didapatkan 6,7215 mg/mL (kode P.3R) dan terakhir, pada fraksi 50-60% didapatkan 7,9679 mg/mL (kode P.4R). Pada Tabel 3, pengukuran konsentrasi protein ikan Puyau Banjar, fraksi 40-50% NH₄SO₄ didapatkan 19,1715 mg/mL (kode P.1B), fraksi 60-70% sebesar 16,9381 mg/mL (kode P.2B) dan sebesar 20,0403 mg/mL (kode P.3B). Terakhir, fraksi 50-60% adalah 20,0403 mg/mL (P.4B). Konsentrasi protein optimum digunakan pada tahap penentuan profil protein dengan metode SDS-PAGE.

Tabel 2. Kadar protein ikan puyau asal Danau Rowo Ijo

Jenis Ikan	Kadar Protein (mg/ml)					
	20-30%	30-40%	40-50%	50-60%	60-70%	70-80%
Puyau P.1R	40,2329 ± 37,8428	40,9642 ± 10,2418	17,8308 ± 8,64586	23,8808 ± 4,87502	36,3475 ± 16,7835	68,9392 ± 14,7383
Puyau P.2R	24,803 ± 2,2733	22,259 ± 2,3205	117 ± 0	103,41 ± 2,0511	96,603 ± 9,794	116,08 ± 1,5973
Puyau P.3R	5,8491 ± 0,6955	4,7108 ± 1,8913	5,3154 ± 1,6921	3,7746 ± 0,4809	4,1718 ± 0,2089	6,7215 ± 0,2216
Puyau P.4R	3,4821 ± 0,9296	6,8686 ± 1,0608	6,319 ± 0,9817	7,9679 ± 2,8379	4,9484 ± 0,849	3,2888 ± 0,6484

Tabel 3. Kadar protein ikan puyau asal Kabupaten Banjar.

Jenis Ikan	Kadar Protein (mg/ml)					
	20-30%	30-40%	40-50%	50-60%	60-70%	70-80%
Puyau P.1B	17,2532 ± 1,39046	15,8233 ± 1,148	19,1715 ± 0,75245	16,0638 ± 1,17227	16,0507 ± 0,50862	16,9027 ± 0,55505
Puyau P.2B	16,9027 ± 0,55505	17,736 ± 0,59157	15,9463 ± 1,06533	13,2002 ± 0,89364	16,9381 ± 1,22605	16,4683 ± 0,99635
Puyau P.3B	16,7517 ± 0,23256	20,0403 ± 0	19,1743 ± 1,5015	19,0634 ± 1,69201	20,0403 ± 0	17,9784 ± 0,88405
Puyau P.4B	6,35831 ± 0,16366	20,0403 ± 0	18,8173 ± 2,11824	20,0403 ± 0	18,6178 ± 1,22242	19,6562 ± 0,66518

Profil Protein Dan SDS-PAGE

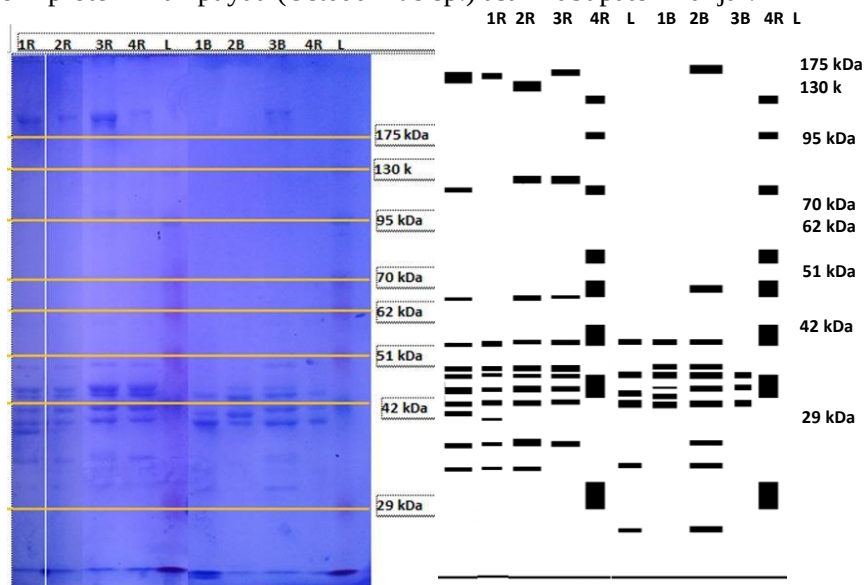
Pita protein dari standar protein marker digunakan sebagai acuan untuk menentukan berat molekul dari pita protein pada sampel. Hasil pengukuran nilai retensi faktor (Rf) (x) dan antilog berat molekul marker (Y) didapatkan persamaan regresi linear $Y = -1,946x + 2,5755$, pada marker Protein Ladder Chromatein (grafik tidak ditampilkan). Nilai hasil pengukuran (Tabel 4)). dengan R sebesar 0,9872. Hasil profil protein ikan puyau (*Osteochilus* sp.) (Gambar 2.), asal Danau Rowo Ijo P.1R memiliki total 11 *band* protein dengan berat molekul *band* berturut-turut yaitu 13,3209; 16,2138; 19,7349; 21,3489; 24,0208; 25,9853; 28,1105; 32,8964; 45,0516; 111,2562 dan 234,7783 kDa, kode P.2R memiliki total *band* protein sebanyak 9 *band* dengan berat molekul berturut-turut 13,3209; 16,2138;

18,9743; 21,3489; 24,0208; 25,9853; 28,1105; 32,8964 dan 234,7783 kDa, kode P.3R memiliki total *band* protein sebanyak 10 *band* dan memiliki berat berat molekul yaitu 13,3209; 16,2138; 21,3489; 24,0208; 25,9853; 28,1105; 32,8964; 45,0516; 115,7163 dan 225,7291 kDa dan pada kode P.4R terdapat 9 *band* protein dengan berat molekul sekitar 16,2138; 21,3489; 24,0208; 25,9853; 28,1105; 32,8964; 45,0516; 115,7163 dan 244,1901 kDa. Profil protein ikan puyau (Kabupaten Banjar) pada kode P.1B mempunyai 6 *band* protein yang mempunyai berat molekul ialah 8,6449; 14,4104; 21,3489; 24,0208; 27,027 dan 32,8964 kDa, kode P.2B terdapat 6 *band* protein dengan berat molekul berturut-turut yaitu 21,3489; 24,0208; 25,9853; 27,027; 29,2374 dan 32,8964 kDa.

Tabel 4. Pengukuran berat molekul *band* protein marker berdasarkan SDS-PAGE

No	Jarak Migrasi (cm)	Rf	Log Berat Molekul (MW)	Berat Molekul/ Molecular Weight MW (kDa)	panjang tracking dye (cm)
1	1,5	0,132	2,243	175	11,4
2	2,2	0,193	2,114	130	11,4
3	3,1	0,272	1,978	95	11,4
4	4,5	0,395	1,845	70	11,4
5	5	0,439	1,792	62	11,4
6	6	0,526	1,708	51	11,4
7	6,9	0,605	1,623	42	11,4
8	9	0,789	1,462	29	11,4

Gambar 2. Band Protein ikan puyau (*Osteochilus* sp.) hasil SDS-PAGE (Ket: 1R,2R, 3R, & 4R = Profil protein , L: Ledder/marker, Ikan puyau (*Osteochilus* sp.) asal Danau Rowo Ijo; 1B, 2B, 3B, & 4B = Profil protein Ikan puyau (*Osteochilus* sp.) asal Kabupaten Banjar.



Tabel 5. Berat Molekul Pita Protein Hasil SDS-PAGE (KDa)

P. 1R	P. 2R	P. 3R	P. 4R	P. 1B	P. 2B	P. 3B	P. 4B
			244,1901				
		225,7291				225,7292	
234,7783	234,7783						
		115,7163	115,7163				
111,2562							
						46,8577	
45,0516		45,0516;	45,0516				
32,8964	32,8964	32,8964	32,8964	32,8964	32,8964	32,8964	
					29,2374	29,2374	
28,1105	28,1105	28,1105	28,1105				
				27,027	27,027	27,027	27,027
25,9853	25,9853	25,9853	25,9853		25,9853	25,9853	25,9853
24,0208	24,0208	24,0208	24,0208	24,0208	24,0208		
21,3489	21,3489	21,3489	21,3489	21,3489	21,3489	21,3489	21,3489
19,7349							
	18,9743						
16,2138	16,2138	16,2138	16,2138			16,2138	

				14,4104		14,4104	
13,3209;	13,3209;	13,3209					
				8,6449		8,6449	
11	9	10	9	6	6	10	3

Keterangan :

	Pita tebal
	Pita sedang
	Pita tipis
	Jumlah pita

Pada kode P.3B mempunyai 10 *band* protein dan berat molekulnya ialah 8,6449; 14,4104; 16,2138; 21,3489; 25,9853; 27,027; 29,2374; 32,8964; 46,8577 dan 225,7292 kDa dan pada kode P.4B terdapat 3 *band* protein dengan berat molekul sekitar 21,3489; 25,9853 dan 27,027 kDa. Pada ikan puyau kode P.2B terdapat 6 *band* protein dengan berat molekul berturut-turut yaitu 21,3489; 24,0208; 25,9853; 27,027; 29,2374 dan 32,8964 kDa, kode P.3B mempunyai 10 *band* protein dan berat molekulnya ialah 8,6449; 14,4104; 16,2138; 21,3489; 25,9853; 27,027; 29,2374; 32,8964; 46,8577 dan 225,7292 kDa dan pada kode P.4B terdapat 3 *band* protein dengan berat molekul sekitar 21,3489; 25,9853 dan 27,027 kDa. Berdasarkan Tabel 5. dapat terlihat ekspresi protein bahwa terdapat 64 *band* pita protein yang ditemukan pada 8 sampel ikan puyau yang digunakan. Dari 64 *band* dapat terlihat ada 23 *band* pita protein yang tipis, kemudian ada 9 *band* pita protein yang cukup tebal, dan 32 *band* pita protein yang tebal. Berdasarkan uraian ini, dapat dilihat bahwa metode SDS-PAGE mampu digunakan untuk

mendeskripsikan profil protein atau pemisahan jenis dan bobot protein ikan puyau dari danau Rowo Ijo, seperti yang juga dilakukan Susilo, *et. al.*, (2021), pada protein ikan kihung dari danau Rowo Ijo, Situs Bukit Bangkai.

Hubungan Kekerbatan Antara Ikan Puyau Rowo Ijo dan Banjar

Perhitungan similiaritas (*sb*) adalah mendeskripsikan hubungan kekerabatan antara ikan puyau Rowo Ijo dan Banjar (Tabel 6). Penggunaan *software* MEGA7 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) dengan metode UPGMA sebagai visualisasi jarak genetik (Tabel 7.) dari pita protein yang didapatkan dari koefisien similaritas. Perhitungan koefisien similaritas dilakukan berdasarkan ada ataupun tidaknya *band* protein pada kedelapan belas sampel ikan puyau (*Osteochilus* sp.) yang diteliti. Berdasarkan analisis keragaman genetik melalui nilai koefisien similaritas memperlihatkan bahwa keragaman pada kedelapan belas sampel ikan puyau (*Osteochilus* .sp) ini berkisar antara 0,285 hingga 1 sedangkan untuk jarak genetik berkisar antara 0

sampai 0,715. Hasil analisis kluster melalui metode UPGMA terhadap jarak genetik menghasilkan gambaran kedudukan dan sekaligus kekerabatan antar ikan puyau asal Danau Rowo Ijo dengan ikan puyau asal Kabupaten Banjar dalam dendogram (Gambar 3.).

Metode UPGMA (*Unweight Pair Group Method with Aritmatic*) merupakan metode yang populer digunakan untuk membangun pohon filogenetik, metode ini menggunakan matriks jarak yang kemudian digunakan untuk menghasilkan pohon filogenetik. Metode ini dimulai dengan mengkalkulasi panjang cabang diantara sekuen paling dekat yang saling berhubungan, setelah itu rata-rata jarak antara sekuens atau kelompok sekuens dan sekuens berikutnya hingga semua sekuens termasuk ke dalam pohon (Andriani, 2016). Penggunaan *software* MEGA7 dalam menganalisa hubungan kekerabatan atau filogenetik berdasarkan pola pita protein melalui jarak genetik (d) (Nei-Li, 1979). Melalui *software* ini jarak genetik yang dihitung antara ikan puyau (*Osteochilus* sp.) asal Danau Rowo Ijo dengan asal Kabupaten Banjar. Jarak genetik ($d = 1 - sb$) Tabel 7. merupakan perhitungan kebalikan dengan koefisien similaritas (sb) seperti yang terlihat pada Tabel 6. Perhitungan koefisien similaritas dilakukan berdasarkan ada ataupun tidaknya *band* protein pada kedelapan

belas sampel ikan puyau (*Osteochilus* sp.) yang diteliti. Berdasarkan analisis keragaman genetik melalui nilai koefisien similaritas memperlihatkan bahwa keragaman pada kedelapan belas sampel ikan puyau (*Osteochilus* .sp) ini berkisar antara 0,285 hingga 1 sedangkan untuk jarak genetik berkisar antara 0 sampai 0,715. Susilo (2010) menjelaskan bahwa salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam persilangan ialah nilai dari koefisien similaritas dan jarak genetik suatu individu, dimana semakin kecil nilai similaritas yaitu mendekati 0 maka keberhasilan persilangan akan semakin kecil. Hasil analisis kluster dengan metode UPGMA melalui jarak genetik dihasilkan gambaran kedudukan sekaligus kekerabatan antara ikan puyau (*Osteochilus* sp.) asal Danau Rowo Ijo dengan Kabupaten Banjar dalam dendogram. Berdasarkan analisis keragaman genetik melalui nilai koefisien similaritas berkisar antara 0,285 – 1. Uraian hasil analisis dendogram dapat diketahui bahwa sampel ikan puyau asal Danau Rowo Ijo saling berkerabat dekat atau terbentuk 2 *cluster*, yaitu *cluster* asal Danau Rowo Ijo dan asal Kabupaten Banjar. Menurut Susilo, *et al.*, (2021), bahwa kekerabatan antara ikan kihung pada Rowo Ijo dan ikan kihung Banjar telah dilakukan menunjukkan hubungan kekerabatan jauh, yang berarti habitat

danau Rowo Ijo mengindikasikan mengalami isolasi biogeografis. Di kawasan pulau Kalimantan, Sulawesi dan Papua pada akhir abad 18, isolasi geografis dapat berdampak terjadinya perbedaan biogeografis dan ini telah dikaji oleh Wallace. Dokumen kajian ini akhirnya menjadi bagian penjelasan dari teori Darwin dalam evolusi biologisnya. Pada

bagian evolusi ini juga, Svante Paabo (2022) telah meneliti secara rinci terkait evolusi biomolekuler (protein dan *deoxiribose nucleotide acid*) purba pada Neandertal dan mendapat penghargaan nobel,

<https://www.scientificamerican.com/article/nobel-winner-svante-paeabo-discovered-the-neandertal-in-our-genes/>

Tabel 6. Koefisien similaritas antara ikan puyau (*Osteochilus* sp.) asal Danau Rowo Ijo dan Kabupaten Banjar.

	P.1R	P.2R	P.3R	P.4R	P.1B	P.2B	P.3B	P.4B
P.1R	1	0,8	0,761	0,7	0,352	0,47	0,381	0,285
P.2R		1	0,736	0,667	0,4	0,533	0,421	0,333
P.3R			1	0,842	0,375	0,5	0,5	0,307
P.4R				1	0,4	0,533	0,421	0,333
P.1B					1	0,667	0,625	0,571
P.2B						1	0,625	0,667
P.3B							1	0,461
P.4B								1

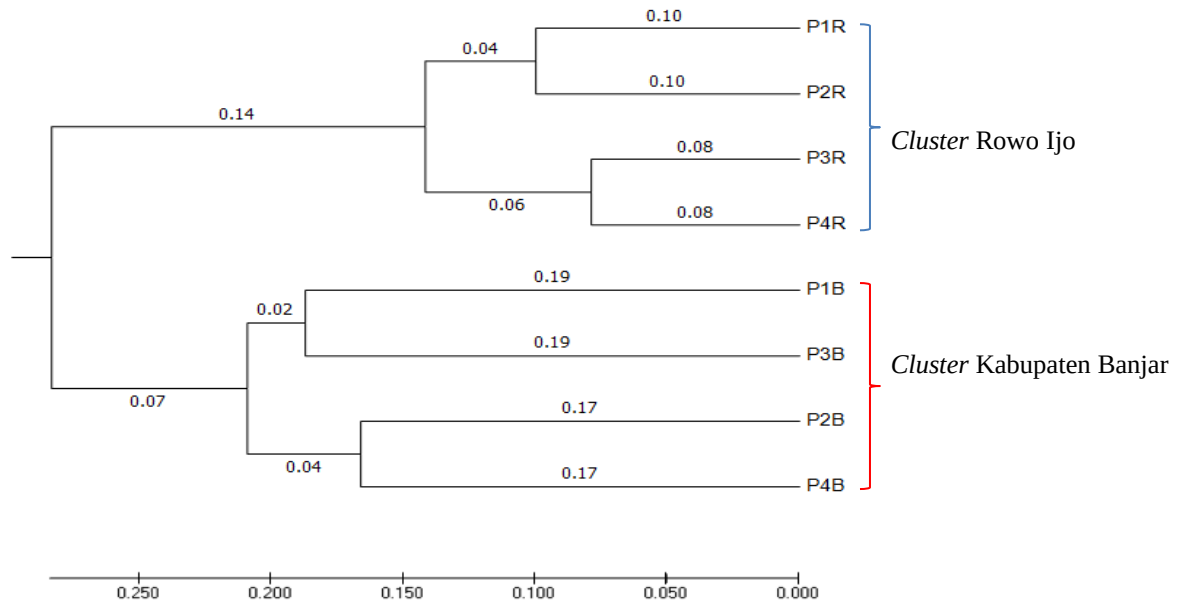
Keterangan :

R: Rowo Ijo, B: kabupaten Banjar; P.1R (11 band) , P.2R (9 band), P.3R (10 band), P.4R (9 band), P.1B (6 band), P.2B (6 band), P.3B (10 band) dan P.4B (3 band)

Tabel 7. Jarak genetik antara ikan puyau (*Osteochilus* sp.) asal Danau Rowo Ijo dan Kabupaten Banjar.

	P.1R	P.2R	P.3R	P.4R	P.1B	P.2B	P.3B	P.4B
P.1R	0	0,2	0,239	0,3	0,648	0,53	0,619	0,715
P.2R		0	0,264	0,333	0,6	0,467	0,204	0,667
P.3R			0	0,158	0,625	0,5	0,5	0,693
P.4R				0	0,6	0,467	0,579	0,667
P.1B					0	0,333	0,375	0,429
P.2B						0	0,375	0,333
P.3B							0	0,539
P.4B								0

Gambar 3. Dendrogram filogenetik profil protein ikan puyau (*Osteochilus* sp.) asal Danau Rowo Ijo dan Kabupaten Banjar. Di sini terlihat dua kelompok (*cluster*) yang terpisah yaitu Danau Rowo Ijo dan Kabupaten Banjar.



KESIMPULAN

Pada visualisasi dendrogram filogenetik profil protein ikan puyau Rowo Ijo dan Kabupaten Banjar telah memverifikasi bahwa danau Rowo Ijo mengindikasikan mengalami isolasi biogeografis. Ini tampak dari terbentuknya dua *cluster* yang terpisah.

UCAPAN TERIMA KASIH:

Universitas Lambung Mangkurat (ULM), dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian Program Dosen Wajib Meneliti (PDWM) dengan Skema Pembiayaan PNPB Universitas di Lingkungan Universitas Lambung Mangkurat Tahun Anggaran 2022, Nomor: 023./UN8.2/P702022.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, T. 2016. Aplikasi Metode UPGMA untuk Identifikasi Kekerabatan Jenis Virus dan Penyebaran Epidemi Ebola melalui Pembentukan Pohon Filogenetik. *Thesis* Program Magister. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Lowry, OH; Rosebrough, NJ; Farr, AL; Randall, RJ (1951), Protein measurement with the Folin phenol reagent". *Journal of Biological Chemistry*. **193**(1), 265–75. doi:10.1016/S0021-9258(19)52451-6. PMID 14907713.
- Nei, M. & W. M. Li. 1979. Mathematical Model for Studying Genetic Variation in Terms of Restriction Endonuclease. *Proceeding of The National Academy of Sciences*. **76**(1), 5269 – 5273.
- Ningsih, R. R. P. 2016. Analisis Spektroskopi Cangkang Kerang dari Situs Bukit Bangkai Kecamatan Mantewe Kabupaten Tanah Bumbu Kalimantan Selatan. *Skripsi*. Program Sarjana. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Nobel Physiology and Medecine.
<https://www.scientificamerican.com/article/nobel-winner-svante-paeaebo-discovered-the-neandertal-in-our-genes/>

Diakses pada 3 Oktober 2022.

Sugiyanto, B. 2014. Kajian Awal Tentang Lukisan Dinding Gua di Bukit Bangkai Kalimantan Selatan. *Naditira Widya*. **8**(2), 59-68.

Sugiyanto, B. 2015. Potensi Arkeologi Prasejarah Kabupaten Tanah Bumbu dan Ancaman yang Dihadapinya. *Naditira Widya*. **9**(1), 1-1

Susilo, T. B. (2010). Laju Mutasi dan Sebaran Manusia Ancien Sangiran. *Disertasi*. Institut Teknologi Bandung.

Susilo, T. B., Oni Soesanto, Bambang Sugiyanto, dan Okky. (2015). Analisis Spektrometri Lukisan Cadas Motif Kotak-kotak situs Batung Batulis, Serongga. *Proseeding, Seminar Nasional Kimia*. Universitas Negeri Jember.

Susilo, T. B., Paula A. E., Bianchi, Bambang Sugiyanto, Merry., Oni Soesanto. (2020). Analisis *Rock Art* Mirip Burung Enggang dari Situs Bukit Bangkai. *Proseeding Seminar Internasional Lahan Basah*. Universitas Lambung Mangkurat.

Susilo, T. B., Kamilia M., Nor Sobah., Rani S., (2021), Studi biogeografis ikan kihung berbasis berat dan jenis molekul protein, dari Situs Bukit Bangkai, *Bioscientia*. **19**(1), 11-30
<https://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/bioscientiae>

Susilo, T. B., dan Soesanto, O., (2022a), *Fuzzy Logic* (Bagian 1): Senandung Lukisan Cadas Dari Situs Bukit Bangkai Untuk Pendidikan Wisata Masyarakat, *Jurnal Pengabdian Ilung*, **2**(1), 122-130.

DOI:

<https://doi.org/10.20527/ilung.v2i1>

Susilo, T. B., Irwan, A., Yunus, R., Bianchi, P. A. E., Sugiyanto, B. S., dan Soesanto, O., (2022b), *Fuzzy Logic* (Bagian 2): Bersenandung Dari

Lukisan Cadas Ke Taman Perguruan Tinggi Kalimantan, *Jurnal Pengabdian Ilung*. **2**(2), 244-253.

DOI:

<https://doi.org/10.20527/ilung.v2i2>