

**STRUKTUR GENETIK POPULASI IKAN BELIDA  
(*Chitala lopis*, Bleeker 1851) DI WADUK KUTOPANJANG**

**GENETIC STRUCTURE OF GIANT FEATHERBACK POPULATION  
(*Chitala Lopis*, Bleeker 1851) AT KUTOPANJANG RESERVOIR**

**Arif Wibowo**

Balai Penelitian Perikanan Perairan Umum Palembang

Teregistrasi I tanggal: 14 September 2011; Diterima setelah perbaikan tanggal: 6 Maret 2012;

Disetujui terbit tanggal: 9 Maret 2012

**ABSTRAK**

Bendungan atau waduk memainkan peranan yang penting dalam kehidupan manusia, menyediakan air, mengendalikan banjir, irigasi pertanian, fasilitasi navigasi, pariwisata, dan pembangkit tenaga listrik. Namun demikian, waduk menghasilkan fragmentasi habitat dan perubahan ekosistem yang memiliki dampak bagi fauna perairan. Penelitian tentang genetika populasi ikan belida (*Chitala lopis*) dilakukan pada tahun 2010 di Waduk Kutopanjang dan Sungai Kampar Provinsi Riau. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui fenomena integritas genetik populasi ikan belida (*Chitala lopis*, Bleeker 1851) di Waduk Kutopanjang dan Sungai Kampar. Contoh ikan diambil secara acak dengan jumlah 10 spesimen di Waduk Kutopanjang dan 38 spesimen di Sungai Kampar. Darah ikan belida dari masing-masing spesimen dikoleksi dan diekstraksi menggunakan "Geneaid DNA ekstraksi kit". Bagian gen mtDNA yang digunakan adalah daerah D\_Loop. Integrasi genetik kelompok ikan belida di Sungai Kampar dan Waduk Kutopanjang dibandingkan melalui analisis filogeni *Neighbour Joining (NJ)* Kimura 2 parameter. Analisa jarak genetik Nei menggunakan Program MEGA 4.0 dan AMOVA dalam Program ARLEQUIN 4.0. Hasil penelitian menunjukkan populasi ikan belida di waduk Kutopanjang secara genetik tidak berbeda dengan populasi ikan belida di Sungai Kampar.

**KATA KUNCI: Struktur genetik, Ikan belida, Kutopanjang**

**ABSTRACT:**

*Reservoir or man made lake plays important roles in human lives, providing water, flood control, agriculture irrigation, navigation facilities, tourism and hydroelectric power plant. However, reservoir leads to habitat fragmentation and environmental changes which have negative impacts on aquatic animal. Research on genetic population of giant featherback was conducted in 2010 at Kutopanjang reservoir and Kampar River Riau Province. The research objective is to determine genetic structure of giant featherback population (*Chitala lopis*, Bleeker 1851) in Kutopanjang reservoir and Kampar River. Samples were randomly selected in large of 10 specimens in Kutopanjang reservoir and 38 specimens from Kampar River. Giant fetaherback's blood from each specimen was collected and extracted using "Geneaid DNA extraction kit". The part of DNA mitochondrial used was gen D\_loop. Genetic structures of giant featherback between Kampar River and Kutopanjang reservoir were compared using analysis of phylogeny neighbor Joining (NJ) Kimura 2 parameters. Nei's genetic distance calculated using MEGA 4.0 and AMOVA in Arlequin 4.0 program. The result informs that giant featherback population in Kutopanjang reservoirs is genetically similar to the giant featherback population in Kampar Riau.*

**KEYWORDS: Genetic structure, giant featherback, Kutopanjang**

**PENDAHULUAN**

Bendungan atau waduk memainkan peranan yang penting dalam kehidupan manusia, menyediakan air, mengendalikan banjir, irigasi pertanian, fasilitasi navigasi, pariwisata, dan pembangkit tenaga listrik. Pada akhir abad 20, sekitar 45.000 waduk besar (memiliki ketinggian dari muka air laut >15 m) dan diperkirakan 800.000 waduk kecil telah dibangun di dunia (WCD, 2000), menghalangi lebih dari 60% aliran air tawar ke laut (Nilsson & Berggren, 2000). Waduk menghasilkan fragmentasi habitat dan perubahan ekosistem yang memiliki dampak bagi keragaman biologi teresterial dan perairan (Dynesius & Nilson, 1994).

Salah satu isu penting dalam genetika ekologi saat ini adalah pengaruh fragmentasi habitat terhadap keragaman hayati dari sejumlah ekosistem (Saunders, 1991). Sampai saat ini, indikator keragaman hayati hanya terbatas pada parameter ekologi seperti dinamika populasi dan kekayaan spesies. Kemajuan dalam teknologi molekular, telah membuka babak baru dalam upaya konservasi dan hasil dari kajian molekular menjadi semakin penting dalam konservasi dan upaya manajemen spesies langka dan terancam punah (Haig, 1998). Fragmentasi dapat memberikan pengaruh yang sangat merugikan bagi keragaman genetik didalam spesies karena berkurangnya aliran gen. Fragmentasi juga memiliki dampak pada struktur

Korespondensi penulis:

Balai Penelitian Perikanan Perairan Umum Palembang

Jl. Beringin No. 308, Mariana Palembang, Sumatera Selatan, Email: wibarf@yahoo.com

genetika populasi, dimana fragmen yang terisolasi cenderung secara genetik berbeda dibandingkan dengan populasi yang tidak terfragmen pada skala tempat yang sama (Keller & Waller, 2002). Memahami integrasi atau struktur genetika populasi telah menjadi faktor yang utama dalam menjelaskan dan mendefinisikan ancaman terhadap keragaman hayati dan telah terbukti penting untuk konservasi (Sheaves, 2009). Deteksi berkurangnya integrasi dari suatu spesies, merupakan sesuatu yang sangat penting untuk konservasi karena dampaknya terhadap kepunahan spesies (Frankham, 2006).

Salah satu penanda molekuler yang biasa digunakan untuk identifikasi integritas atau struktur genetika adalah analisis sekuense mtDNA. Hal ini karena mtDNA bersifat maternal dan diturunkan oleh parentalnya tanpa rekombinasi (Harrison, 1989; Amos & Hoelzel, 1992), molekulnya kompak dan ukuran panjangnya relatif pendek (16.000–20.000 nukleotida), tingkat evolusi yang tinggi (5-10 kali lebih besar dari DNA inti) (Brown *et al.*, 1979; Brown, 1983), kecuali itu mtDNA memiliki jumlah copy yang besar yaitu antara 1.000-10.000 serta lebih cepat dan mudah mendapatkan hasil dari jaringan yang telah diawetkan sebelumnya (Brown, 1983).

Ikan belida merupakan ikan asli Indonesia yang termasuk anggota Famili Notopteridae (Kottelat *et al.*, 1993; 1997). Aktivitas penangkapan lebih (*over fishing*), penggunaan alat tangkap yang tidak ramah lingkungan dan perubahan kondisi lingkungan perairan menyebabkan kelestarian jenis ikan ini menjadi terancam (Pollnac & Malvestuto, 1991). Keberadaan waduk Kutopanjang di Sungai kampar bagian hulu menyebabkan terjadinya

fragmentasi habitat, terpisahnya populasi ikan belida Kutopanjang dengan Sungai Kampar, yang sebelumnya merupakan satu populasi. Dampak terjadinya fragmentasi habitat terhadap integritas genetik populasi ikan ini menjadi sesuatu yang menarik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui fenomena integritas genetik populasi ikan belida di Waduk Kutopanjang dan Sungai Kampar. Informasi ini diharapkan dijadikan dasar strategi pengelolaan ikan belida di Sungai Kampar hubungannya dengan upaya translokasi untuk perbaikan populasi.

## BAHAPAN METODE

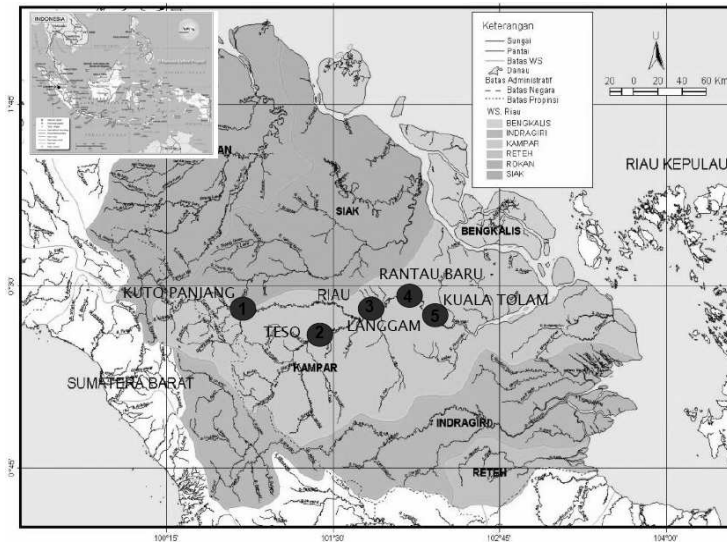
### 1. Lokasi Pengambilan Contoh

Penelitian populasi ikan belida di Sungai Kampar Provinsi Riau dilakukan pada tahun 2010. Pengambilan contoh ikan dilakukan pada empat stasiun pengamatan yang lokasinya berbeda (Tabel 1 dan Gambar 1).

Contoh ikan diambil secara acak dengan jumlah 10 spesimen di Waduk Kutopanjang dan 38 spesimen di Sungai Kampar. Contoh darah ikan disimpan dalam *vial tube* yang telah berisi alkohol absolut 99%. *Vial tube* diberi label yang berisi informasi tentang lokasi dan tanggal pengambilan sampel kemudian disimpan dalam suhu kamar. Setiap *Vial tube* hanya berisi darah atau otot dari satu spesimen/contoh ikan. Selanjutnya *vial tube* dibawa ke laboratorium Genetika Molekular IPB untuk dilakukan ekstraksi mtDNA.

Tabel 1. Karakteristik stasiun pengambilan contoh ikan  
Table 1. Characteristic of sampling stations

No	Stasiun / Posisi Geografi	Keterangan
1	Waduk Kutopanjang (00°19'5,39" LU, 100°44'3,79" BT)	Stasiun ini merupakan bagian waduk yang banyak dijumpai ikan belida, terletak di Sungai Kampar Kanan (bagian hulu) atau di Batu Bersurat.
2	Teso (00°03'2,34" LU, 101°23'2,71" BT)	Merupakan anak Sungai Kampar Kiri atau bagian hulu Sungai Kampar.
3	Langgam (00°15'4,69" LU, 101°42'4,55" BT)	Langgam terletak di segmen bagian tengah Sungai Kampar, merupakan pertemuan antara Sungai Kampar Kiri dan Sungai Kampar Kanan. Bagian ini memiliki berbagai tipe perairan, seperti: sungai utama, anak sungai dan danau rawa.
4	Rantau Baru (00°17'1,06" LU, 101°48'1,22" BT).	Stasiun ini terletak di Sungai Kampar utama, mendekati hilir. Daerah sudah dipengaruhi pasang surut air laut.
5	Kuala Tolam (00°19'3,10" LU, 102°11'2,60" BT).	Merupakan stasiun penelitian yang terletak di daerah hilir Sungai Kampar, memiliki banyak vegetasi tepian dengan perairan yang bersifat asam.



Gambar 1. Lokasi pengambilan contoh ikan belida di Sungai Kampar, Riau  
 Figure 1. Map showing sampling sites of giant featherback at Kampar River, Riau

## 2. Ekstraksi mtDNA

Ekstraksi DNA menggunakan *Genomic DNA mini kit for blood (Geneaid)* yang dimodifikasi. Sel-sel darah ikan belida yang disimpan dalam alkohol 70% dicuci dengan air destilata (*molecular grade*) sebanyak dua kali kemudian disuspensikan dalam bufer STE (NaCl 1M, Tris-HCL 10mM, EDTA 0.1mM, pH 8) hingga volume 350 µl. Sel-sel darah dilisis (dipecah/dikeluarkan) dengan SDS 1% dan proteinase K 0.125 mg/ml pada suhu 55°C selama 1 jam sambil dikocok perlahan. Metode ekstraksi DNA selanjutnya mengikuti petunjuk *Genomic DNA mini kit for fresh blood (Geneaid)*.

## 3. Amplifikasi dan Visualisasi Fragmen mtDNA

Amplifikasi sebagian fragmen D-Loop mtDNA menggunakan primer L-15 940-Thr (Forward): 5'-AAG GTG TAA TCC GAA GAT TG-3' dan CR-H (reverse): 5'-TAA CGA ACT TAT GTA CGA CG-3' (Takagi *et al.* 2006). Komposisi reaksi PCR dilakukan dengan volume akhir 50 µl terdiri atas sampel DNA 5 µl, DW steril 16 µl, primer masing-masing 2 µl dan *Taq ready mix* 25 µl. Reaksi PCR dilakukan menggunakan mesin *thermocycler BIOER* dengan kondisi sebagai berikut: tahap pradenaturasi 95°C selama 10 menit, tahap kedua yang terdiri dari 35 siklus yang masing-masing mencakup tahap denaturasi 94°C selama satu menit, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 48°C selama satu menit, pemanjangan (*extension*) pada suhu 72 °C selama 1,5 menit dan tahap terakhir yaitu pemanjangan akhir (*final extension*) pada suhu 72 °C selama 7 menit. Produk PCR diuji menggunakan PAGE 6%

dalam bufer 1x TBE (10 Mm Tris-HCL, 1 M asam borat, dan EDTA 0.1 Mm) yang dijalankan pada kondisi 200 Mv selama 30 menit. Selanjutnya DNA diwarnai dengan pewarnaan sensitif perak.

## 4. Peruntukan Produk PCR

Produk PCR di atas gel poliakrilamid yang berukuran sesuai dengan desain primer dimurnikan dengan metode *agarose-gel-cutting* yang diikuti dengan *spin-coloumn DNA extraction from gel*. Produk PCR yang sudah dimurnikan dijadikan cetakan dalam *PCR for sequencing* dengan menggunakan pasangan primer yang sama dengan amplifikasi awal. Pekerjaan ini dilakukan di *First Base DNA Sequencing Service* Singapura. Hasil peruntukan nukleotida diedit secara manual berdasarkan kromatogram. Runtutan nukleotida yang sudah diedit kemudian saling disejajarkan antara bagian *forward* dan *reverse* menggunakan Clustal W yang tertanam dalam MEGA 4.0 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) (Tamura *et al.*, 2007).

## 5. Analisa Filogeni

Analisis filogeni *Neighbour Joining (NJ)* dilakukan menggunakan MEGA 4.0 (Tamura *et al.*, 2007), berdasarkan model substitusi nukleotida *Kimura-2-parameter* dengan bootstrap 10.000 kali.

## 6. Jarak Genetik

Jarak genetik dianalisa berdasarkan rumus yang dikemukakan oleh Nei (1987), dilakukan menggunakan MEGA 4.0 (Tamura *et al.*, 2007).

### 7. Analisa Struktur Genetik

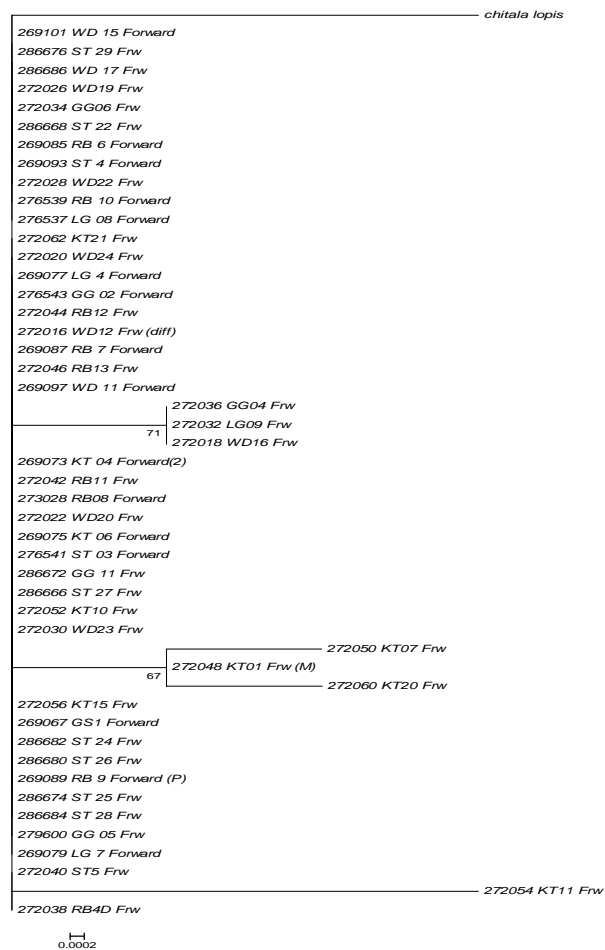
Analisa integritas genetik populasi ikan belida di Waduk Kutopanjang dilakukan menggunakan hierarki analisa varian molekular (AMOVA) melalui program Arlequin v1.1 (Excoffier *et al.*, 2005).

### HASIL DAN BAHASAN

Sekuen nukleotide dari 48 spesimen ikan belida, memiliki panjang bervariasi dari 566 bp sampai 936 bp. Panjang sekuen yang berbeda disebabkan oleh jumlah segmen situs berulang (*number tandem repeat*) yang berbeda. Data jumlah situs berulang pada daerah kontrol mtDNA belida tidak mampu mendeteksi secara jelas adanya perpisahan populasi dan memunculkan banyak situs yang mengalami insersi-delesi, sehingga dalam analisis DNA keberadaan situs berulang dihilangkan. Analisis daerah kontrol mtDNA ikan belida Sungai Kampar menyisakan 560 basa dan 104 basa diantaranya belum pernah dilaporkan sebelumnya di *Gene Bank*, yaitu pada posisi 16143 – 16247.

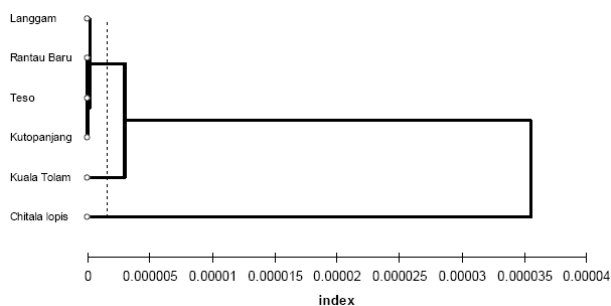
Pohon filogeni yang dibuat berdasarkan sebagian fragmen daerah D-Loop mtDNA menginformasikan adanya integritas genetik populasi ikan belida Waduk Kutopanjang dengan populasi ikan belida Sungai Kampar (Gambar 2). Fenomena adanya integritas genetik ikan di sepanjang aliran bendungan secara implisit juga dilaporkan oleh Charles *et al.*, (2005), pada ikan *brown trout (Salmo trutta)* di bendungan Sungai Oir, Perancis. Perbedaan genetik antara populasi ikan belida Waduk Kutopanjang dengan populasi ikan belida Sungai Kampar selanjutnya dianalisis melalui pendekatan jarak genetik (Gambar 3). Nei (1972) melaporkan jarak genetik adalah suatu ukuran keragaman gen yang diekspresikan sebagai suatu fungsi dari frekuensi genotipe atau haplotipe untuk mtDNA. Jarak genetik memperlihatkan populasi ikan belida di Waduk Kutopanjang mengelompok dengan empat populasi ikan belida di Sungai Kampar dimana memperlihatkan kemiripan genetik.

Amova digunakan untuk pengelompokkan ikan dari semua lokasi sampling (Rantau Baru, Kuala Tolam, Langgam dan Teso), kemudian dikelompokkan dan dibandingkan dengan kelompok Waduk Kutopanjang. Besaran perbedaan genetik diantara dua kelompok ini memperlihatkan hasil yang tidak nyata atau terdapat integritas genetik sebagaimana terlihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Filogeni NJ Kimura 2 parameter haplotipe ikan belida berdasarkan sebagian fragmen gen daerah kontrol mtDNA

Figure 2. NJ phylogeny Kimura 2 parameters giant featherback haplotypes based on partial gene fragment of mtDNA control region



Gambar 3. Jarak genetik antar populasi stasiun pengambilan sampel

Figure 3. Genetic distances between populations of sampling sites

Tabel 2. Analisis varian molekular sampel ikan belida di Sungai Kampar dengan pengelompokkan populasi. Populasi tersebut adalah Rantau Baru (RB), Langgam (LG), Teso (ST), Kutopanjang (WD) dan Kuala Tolam (KT)  
 Table 2. Analysis of molecular variance for giant featherback in Kampar River with grouping of population. Populations were Rantau Baru (RB), Langgam (LG), Teso (ST), Kutopanjang (WD) and Kuala Tolam (KT)

Sumber Variasi	d.f	Jumlah kuadrat	Variasi komponen	Persentase variasi
Diantara group Sungai (KT, RB, LG and ST) dan Waduk (WD)	1	0.258	-0.018	-6.58
Diantara populasi didalam group	3	1.611	0.028	10.11
Dalam populasi	43	11.589	0.269	96.47
Total	47	13.468	0.279	

Analisa gen daerah kontrol mtDNA berdasarkan *neighbour joining kimura 2 parameter*, jarak genetik dan amova mengungkapkan fenomena adanya integritas populasi ikan belida Kutopanjang dengan populasi ikan belida di Sungai kampar. Analisa perbedaan sekuense mtDNA dapat menyediakan informasi yang detil tentang hubungan filogenetik pada beberapa level dalam hirarki evolusi. mtDNA juga alat diagnostik yang berguna untuk membedakan populasi yang berdekatan, sebagai contoh mengidentifikasi sumber populasi dalam introduksi yang baru dilakukan dan kisaran sebaran (Harrison, 1989).

Daerah kontrol pada mtDNA memiliki laju mutasi yang lebih cepat dibandingkan dengan daerah mitokondria yang lain, daerah ini sangat baik digunakan untuk analisa keragaman hewan, baik di dalam spesies maupun antar spesies (Muladno, 2006) dan sering digunakan sebagai penanda genetik (Bentzen *et al.*, 1993). Selanjutnya (Amos & Hoelzel, 1992) membandingkan subpopulasi yang berdekatan dimana resolusi teknik analisis yang digunakan harus tinggi sehingga periode isolasi reproduksi yang relatif singkat mampu dideteksi. Untuk alasan ini, tingkat mutasi yang cepat yang bisa diamati pada mtDNA yakni bagian daerah kontrol menjadi objek yang harus diamati.

Fenomena adanya integritas populasi ikan belida Kutopanjang dengan populasi ikan belida di Sungai kampar diduga terkait dengan pola pergerakan ikan belida dewasa dan pergerakan pasif telur dan larva. Pada musim hujan untuk menghindari terjadinya banjir dan mencegah kekeringan diberlakukan sistem buka tutup pintu Waduk Kutopanjang yang memungkinkan terjadinya pergerakan aktif ikan belida dewasa dan pergerakan pasif larva, sehingga terjadi pencampuran genetik ikan belida diantara kedua ekosistem tersebut yang menghasilkan integritas genetik. Secara umum, gerakan ikan belida yang aktif (dewasa) dan pergerakan pasif dari telur dan larva akan memacu terjadinya aliran gen diantara populasi ikan (Slatkin, 1987). Perilaku pergerakan ikan (migrasi) adalah sifat kuantitatif yang sebagian di bawah pengaruh genetik (Johnsson 1982; Palm & Ryman 1999) dan pengaruh

lingkungan seperti banjir (Nordeng, 1983). Asumsi yang kedua adalah umur waduk yang masih pendek yang memungkinkan belum terjadinya pergantian generasi yang menyeluruh sehingga masih terdapat kemiripan genetik.

## KESIMPULAN

Populasi ikan belida di waduk Kutopanjang secara genetik tidak berbeda atau terintegrasi dengan populasi ikan belida di Sungai Kampar.

## PERSANTUNAN

Penelitian ini adalah bagian dari Kajian bioekologi ikan langka yang dibiayai oleh Balai Penelitian Perikanan Perairan Umum (BP3U) Palembang melalui DIPAT.A. 2010.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amos, B & A.R, Hoelzel. 1992. Applications of molecular genetic techniques to the conservation of small populations. *Biological Conservation*. 6: 133–144.
- Bentzen, P., E.B. Taylor & J.M. Wright. 1993. A novel synthetic probe for DNA fingerprinting salmonid fishes. *Journal of Fish Biology*. 43: 313–316.
- Brown, W. M., M. George & A.C. Wilson. 1979. Rapid evolution of mitochondrial DNA, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 76: 1967-1971.
- Brown, W.M. 1983. *Evolution of animal mitochondrial DNA*. In: M. Nei and R.K. Koehn (eds). *Evolution of Genes and Proteins*. Sinauer, Sunderland, MA. 62-88.
- Charles, K., Guyomard, R., Hoyheim, B., Ombredane, D. & J.L. Baglinière. Lack of genetic differentiation between anadromous and resident sympatric brown trout (*Salmo trutta*) in a Normandy population. *Aquat. Living Resour.* 18: 65–69.

- Dynesius, M & C. Nilsson. 1994. Fragmentation and flow regulation of river systems in the northern third of the world. *Science*. 266: 753–62.
- Excoffier, L., G Laval & S. Excoffier. 2005. Arlequin ver. 3.0: Anintegrated software package for population genetics data analysis (J). *Evolutionary Bioinformatics Online*. 1: 47-50.
- Frankham, R. 2006. Genetics and landscape connectivity. In: Crooks, K., Sanjayan, M. (Eds.), *Connectivity Conservation*. Cambridge University Press, New York, USA, 72–96.
- Haig, S.M. 1998. Molecular contributions to conservation. *Ecology*. 79: 413–425.
- Harrison, R.G. 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Evolution and Ecology*. 4: 6–11.
- Jonsson B. 1982. Diadromous and resident trout *Salmo trutta* L.: Is their difference due to genetics?. *Oikos*. 38: 297-300.
- Kottelat, M., S.N. Kartikasari., A.J. Whitten & S. Wirjoatmodjo. 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Ed. Dua bahasa. Periplus Editions Limited. Jakarta. 221 p.
- \_\_\_\_\_. 1997. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Ed. Dua bahasa. Periplus Editions and Emdi Project Indonesia. Jakarta, 293 p.
- Keller, L. F. & Waller, D. M. 2002 Inbreeding effects in wild populations. *Trends Ecol. Evol.* 17: 230–241.
- Muladno. 2006. *Aplikasi Teknologi Molekuler dalam Upaya Peningkatan Produktivitas Hewan*. Pelatihan Teknik Diagnostik Molekuler untuk Peningkatan Produksi Peternakan dan Perikanan di Kawasan Timur Indonesia. Kerjasama Pusat Studi Ilmu Hayati, Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat Institut Pertanian Bogor dan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Depdiknas, Bogor. 60 p.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* 106: 283-92.
- \_\_\_\_\_. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Colombia University Press. 135 p.
- Nilsson, C & K. Berggren. 2000. Alterations of riparian ecosystems caused by river regulation. *BioScience*. 50: 783–92.
- Nordeng H. 1983. Solution to the “Char problem” based on Arctic Char (*Salvelinus alpinus*) in Norway. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 40: 1372-1387.
- Palm S. & N. Ryman. 1999. Genetic basis of phenotypic differences between transplanted stocks of brown trout. *Ecol. Freshwater Fish*. 8: 169-180.
- Pollnac, R.B. & S.P. Malvestuto. 1991. *Biological and Socio Economic Condition for the Development of Riverine Fisheries Resources in Kapuas and Musi River*. Temu Karya Ilmiah Pengkajian Kebijakan Pengelolaan Sungai Perairan Umum bagi Perikanan. Jakarta. 231 p.
- Saunders, D.A., R.J. Hobbs & C.R. Margules. 1991 Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conserv. Biol.* 5: 18–32.
- Sheaves, M. 2009. Consequences of ecological connectivity: the coastal ecosystem mosaic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 391: 107–115.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and geographic structure of natural populations. *Science*. 236: 787–792.
- Takagi, A.P., S. Ishikawa, T. Nao., S. Hort., M. Nakatani, M. Nishida & H. Kurokura. 2006. Genetic differentiation of the bronze featherback *Notopterus notopterus* between Mekong River and Tonle Sap Lake population by mitochondrial DNA analysis. *Fisheries Science*. 72: 750-754.
- Tamura K., J. Dudley, M. Nei & S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 10.1093/molbev/msm092. 241 p.
- WCD (World Commission on Dams). 2000. *Dams and development: a new framework for decision-making*. London, UK: Earthscan Publications. p. 34-35.