

**KERAGAMAN GENETIK IKAN KERAPU BEBEK (*Cromileptes altivelis*)  
GENERASI F1 DAN F3**

***GENETIC VARIATION OF HUMPBACK GROUPEL (Cromileptes altivelis)  
ON F1 AND F3 GENERATIONS***

**Sari Budi Moria Sembiring<sup>1</sup>, Tridjoko<sup>1</sup>, dan Haryanti<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut Gondol, Bali  
PO Box 140 Singaraja, Bali; Email: moriasembiring@yahoo.co.id

**ABSTRACT**

*Hatchery and culture technology of Humpback grouper has been developed. However, sometimes it is still found constraint in seed production and caused instability of production due to failure by many factors. Breeding program become necessary to provide seed with high quality and good genetic variation. Quantitative characteristic selection is one of breeding program to improve productivity in grouper aquaculture. The aim of this research was to produce good phenotypic and genotypic quality of Humpback grouper candidate broodstock. Selection of Humpback grouper F1 and F3 was done based on quantitative characteristic (body length and weight) and genotypic characteristic by using random amplified polymorphism DNA (RAPD) method. The results of conventional selection were found candidate broodstock of Humpback grouper F1 and F3 with body weight range from 170-210 g and 160-170 g consecutively. Heterozygosity values of Humpback grouper analyzed by RAPD of F1 and F3 were 0.7940 and 0.7749 consecutively and it was not significantly different. This value emphasis that population of this F3 Humpback grouper was still good to grow for broodstock.*

**Keywords:** genetic variation, humpback grouper, F1, F3.

**ABSTRAK**

Teknologi pembenihan dan pembesaran ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) telah dapat dikembangkan. Namun demikian terkadang masih ditemukan kendala produksi benih yang tidak stabil dan masih sering mengalami kegagalan yang disebabkan oleh berbagai faktor. Program pemuliaan merupakan tulang punggung bagi penyediaan benih ikan kerapu yang berkualitas baik dengan tetap mempertahankan keragaman genetik dari populasi ikan tersebut. Seleksi pada karakter kuantitatif merupakan program pemuliaan yang bertujuan untuk meningkatkan produktivitas budidaya ikan kerapu. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh calon induk kerapu bebek yang berkualitas secara fenotipik dan genotipik. Seleksi ikan kerapu keturunan pertama (F1) dan ketiga (F3) dilakukan secara individu dengan parameter karakter kuantitatif (panjang dan bobot) serta pengamatan secara genotipe dengan metode *random amplified polymorphism DNA* (RAPD). Hasil dari seleksi individu telah diperoleh calon induk ikan kerapu bebek F1 dan F3 dengan bobot tubuh 170-210 g untuk F1 dan 160-170 g untuk F3 selama 17 bulan pemeliharaan. Nilai heterosigositas ikan kerapu bebek F1 (0,7940) dan F3 (0,7749) dengan penanda RAPD memberikan nilai yang tidak signifikan terhadap keragaman genetik, sehingga populasi ikan kerapu bebek F3 masih layak sebagai populasi induk.

**Kata kunci:** keragaman genetik, kerapu bebek, F1, F3.

## I. PENDAHULUAN

Di Indonesia jenis ikan kerapu banyak diburu orang karena mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi di pasar dalam negeri dan untuk ekspor. Besarnya permintaan ikan terutama ikan kerapu hidup menimbulkan dampak pada turunnya jumlah tangkap, jenis dan ukurannya. Kondisi ini merupakan suatu indikasi telah terjadinya lebih tangkap-*over fishing*.

Pada saat ini teknologi pembenihan dan pembesaran ikan kerapu telah dapat dikembangkan dengan baik. Agar kegiatan usaha budidaya ikan kerapu dapat berlangsung sepanjang tahun dengan produksi maksimal diperlukan kontinuitas benih baik dalam jumlah maupun mutu. Dengan demikian produksi budidaya ikan kerapu dapat terjamin dalam memenuhi kebutuhan pasar domestik dan internasional.

Benih merupakan salah satu faktor produksi yang sangat menentukan keberhasilan usaha budidaya. Kualitas benih yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, variasi pakan dan nutrisi maupun perbedaan keragaman genetik dari induk ikan kerapu bebek khususnya jika menggunakan induk yang bukan merupakan hasil tangkapan dari alam. Beberapa peneliti menyatakan bahwa diversitas sifat genetik pada ikan harus dipertahankan dalam proses Pembenihan, karena reduksi atau peluruhan karakter genetik akan menyebabkan beberapa gen pengontrol sifat atau karakter tertentu menjadi hilang pada turunannya (Sugama *et al.*, 1998<sup>b</sup>; Goudie *et al.*, 1995; Benzie & Williams, 1996). Indikasi dari penurunan kualitas genetik ikan ditandai dengan sifat-sifat seperti pertumbuhan lambat dan tingkat kematian yang tinggi. Berdasarkan beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor genetik sangat berpengaruh pada kualitas larva dan pertumbuhan

dikontrol oleh faktor genetik. Oleh karena itu peranan faktor genetik dalam *breeding* sangat penting untuk memperoleh induk dan benih yang unggul (Benzie, *et al.*, 1997; Sbordonni *et al.*, 1987).

Pada dasarnya keragaman genetik dari suatu populasi dapat dilihat dari lokus polimorfik, jumlah alel per lokus dan heterosigositas (Permana *et al.*, 2001). Selanjutnya menurut Allendorf dan Utter (1979) dalam Sugama dan Priyono (1998<sup>a</sup>) menjelaskan bahwa penilaian variasi genetik di alam yang terbaik dengan melihat nilai rata-rata heterosigositas teramati. Suatu lokus dianggap polimorfik apabila frekuensi dari alel yang paling sering muncul sama atau kurang dari 0,99 (Sugama dan Priyono, 1998<sup>a</sup>; Permana *et al.*, 2001; Murphy *et al.*, 1990). Dari hasil penelitian Sugama dan Priyono (1998<sup>a</sup>) mendapatkan nilai heterozigositas rata-rata untuk ikan bandeng (*Chanos chanos*) adalah 0.068, Imron *et al.* (1999) mendapatkan nilai 0.036 untuk udang (*Penaeus monodon*), dan Wibowo (2001) mendapatkan nilai 0.012 untuk ikan Napoleon Wrasse. Salah satu cara untuk mempertahankan keragaman genetik dari suatu populasi adalah dengan menggunakan jumlah induk ( $N_e$ ) yang lebih banyak dalam produksi benih. Hal ini dilakukan untuk menghindari adanya perkawinan acak yang sangat sedikit, sehingga terjadi pembatasan pertukaran gen dari beberapa pasangan yang melakukan perkawinan.

*Selektif breeding* sebagai program pemuliaan yang bertujuan untuk meningkatkan *breeding value* dan perbaikan mutu genetik dari populasi dengan cara seleksi. Apabila hal ini dilakukan maka generasi berikutnya akan lebih bernilai karena dapat tumbuh lebih cepat dan hasilnya akan lebih meningkat sehingga pemeliharaannya menjadi lebih efisien dan murah.

Aplikasi seleksi untuk meningkatkan produktivitas budidaya ikan kerapu

adalah seleksi pada karakter kuantitatif. Karakter kuantitatif merupakan karakter yang dapat diukur seperti panjang, bobot, jumlah telur per kilogram induk betina, konversi pakan dan lainnya. Karakter kuantitatif berhubungan langsung dengan produksi sehingga merupakan karakter penting untuk dikelola dalam meningkatkan produktivitas (Tave, 1992). Selanjutnya diuraikan oleh Tave (1995), ada beberapa pendekatan dalam selektif breeding yaitu seleksi individual, seleksi family dan seleksi didalam family. Setiap pendekatan mempunyai kelebihan masing-masing tergantung pada sifat yang akan diseleksi dan sumberdaya yang tersedia untuk program seleksi. Seleksi individu lebih sederhana, lebih sedikit rekaman dan tentu saja lebih praktis dan murah dibandingkan seleksi family.

Metode seleksi yang digunakan merupakan seleksi individu dimana setiap individu dari populasi dasar diukur sifat-sifat yang diinginkan dalam hal ini pertumbuhan (panjang dan bobot) dan selanjutnya pada akhir seleksi hanya individu-individu dengan performa terbaik (5% atau 10% terbaik) yang dipertahankan untuk dijadikan sebagai induk untuk menghasilkan keturunan berikutnya dan seterusnya.

Selain dilakukan pengukuran karakter kuantitatif, juga dilakukan analisis keragaman genetik ikan kerapu bebek F-1 dan F-3 untuk mengetahui keragaman genetik dari calon induk tersebut. Penentuan variasi genetik pada ikan dapat dilakukan berdasarkan karakter morfologi dan genotipnya. Secara genotip, variasi genetik dapat dilakukan melalui pendekatan molekuler dengan berbagai macam metode antara lain adalah alozim/isozim, DNA mitokondria, *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD), DNA mikrosatelit dan lain-lain. RAPD merupakan salah satu metode untuk

menentukan keragaman genetik dan membuat peta hubungan genetik dari banyak spesies dengan memanfaatkan teknik PCR dalam proses analisisnya. Metode ini tidak membutuhkan sampel dalam jumlah yang banyak dan tidak membutuhkan pengetahuan akan *sequence* gen target. Namun RAPD tidak dapat menghasilkan hasil yang reproduksibel (Rafalski *et al.*, 1991; Lamboy, 1994; Bardakci, 2001). Prinsip dasar dari metode RAPD ini adalah dengan memanfaatkan satu oligonukleotida pendek sintetik sebagai primer non spesifik untuk mengamplifikasi sejumlah kecil sampel *template* DNA pada kondisi temperatur *annealing* PCR yang relatif rendah. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variasi genetik ikan kerapu bebek F1 dan F3 dengan metode *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD) sehingga diperoleh informasi tentang keragaman genetik ikan bebek F1 dan F3 sebagai kandidat calon induk yang berkualitas secara fenotipe dan genotipe serta dapat menghasilkan keturunan dengan kecepatan pertumbuhan lebih cepat dari induknya sehingga biaya produksi dapat ditekan lebih rendah dan pada akhirnya dapat meningkatkan produktivitas budidaya ikan kerapu bebek.

## II. METODE PENELITIAN

### 2.1. Pemeliharaan Calon Induk Kerapu Bebek di Karamba Jaring Apung (KJA)

Satu populasi induk kerapu bebek hasil tangkapan dari alam yang telah didomestikasikan berasal dari beberapa wilayah di Indonesia Timur digunakan untuk memproduksi populasi dasar (F1) untuk diseleksi dengan menggunakan metode seleksi individu.

Telur yang digunakan untuk membentuk populasi dasar berasal dari puncak pemijahan pada bulan Juni 2010. Penetasan telur dan pemeliharaan larva

dilakukan sesuai dengan SOP (Standar Operasional Prosedur) pembenihan ikan kerapu bebek. Pada fase gelondongan sampai dengan fase pembesaran dipelihara di KJA. Selama fase pendederan, setiap satu bulan sekali dilakukan sampling dan grading. Sampling sebanyak 25-30 ekor dari setiap bak diambil secara acak untuk diukur panjang total dan bobotnya untuk mengetahui pertumbuhan populasi dan keragaman ukuran. Grading dilakukan pada populasi ikan yang diseleksi untuk mengeluarkan ikan-ikan yang sangat lambat pertumbuhannya dan ikan dengan bentuk tumbuh abnormal, sehingga hanya ikan-ikan normal yang pertumbuhannya cepat atau relatif cepat saja yang dipelihara lebih lanjut untuk diseleksi.

Calon induk kerapu bebek F-1 dan F-3 umur 17 bulan (Februari 2012) dipelihara di keramba jaring apung ukuran 2x2x2 m<sup>3</sup> sebanyak 2 buah. Jumlah calon induk kerapu bebek F1 sebanyak 70 ekor sedangkan kerapu bebek F3 sebanyak 120 ekor. Selama pemeliharaan diberi pakan komersial dengan kadar protein sekitar 40% dengan pemberian 2 kali sehari secara *adlibitum*. Untuk meningkatkan respon kekebalan, dilakukan pemberian vaksin dalam hal ini adalah vaksin VNN (Murwantoko *et al.*, 2008; 2009). Metode pemberian vaksin dilakukan secara oral dengan mencampurkan vaksin dalam pakan selama 3 hari. Pencampuran dilakukan dengan menyemprotkan vaksin (menggunakan sprayer) pada pakan secara merata, Untuk menghindari terlarutnya vaksin ke media pemeliharaan, setelah vaksin tercampur merata, dilakukan *coating* dengan albumin sebagai bahan pengikat (*binder*).

## 2.2. Analisa Keragaman Genetik Populasi Ikan Kerapu Bebek F1 dan F3

Analisis keragaman genetik populasi ikan kerapu bebek F1 dan F3 dari hasil seleksi konvensional dilakukan dengan

metode *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD). Sampel ikan kerapu bebek F1 dan F3 umur 15 bulan dipotong bagian siripnya. Sebanyak 20 ekor dari masing-masing populasi sehingga jumlah seluruh sampel yang digunakan adalah 40 ekor. Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan kit “*NucleoSpin<sup>®</sup>Tissue*” (Macherey Nagel). Prosedur isolasi dan purifikasi DNA sesuai dengan protocol kit tersebut. DNA yang dihasilkan dari setiap sampel diuji kuantitas, kualitas dan kemurniannya berdasarkan Sambrook *et al.* (1989).

DNA hasil isolasi diamplifikasi menggunakan primer RAPD yaitu AS-4 dengan urutan basa TGT GGG CGC TCG ACA; L-21 dengan urutan basa CTG CGA CCC AGA GCG G dan 2AAM<sub>2</sub> dengan urutan basa CTG CGA CCC AGA GCG. Proses amplifikasi dilakukan menggunakan metode *Polymerize Chain Reaction* (PCR) dengan komposisi reaksi yang terdiri atas : 5 x bufer reaksi ; 10 mM dNTP; 25 mM MgCl<sub>2</sub>; 1 unit *Taq* DNA polimerase (Promega); 10-20 ng DNA genom DNA dan 25 pmol primer dengan total volume keseluruhannya 10 ul. Siklus PCR yang digunakan dalam amplifikasi adalah satu siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit. 2 siklus penggandaan pertama yang terdiri dari 95°C selama 15 detik, 45°C selama 15 detik dan 70°C selama 1 menit. Kemudian 38 siklus penggandaan kedua yang terdiri dari 94°C selama 5 detik, 45°C selama 5 detik dan 70°C selama 30 detik. Selanjutnya satu siklus terakhir pada suhu 70°C selama 3 menit.

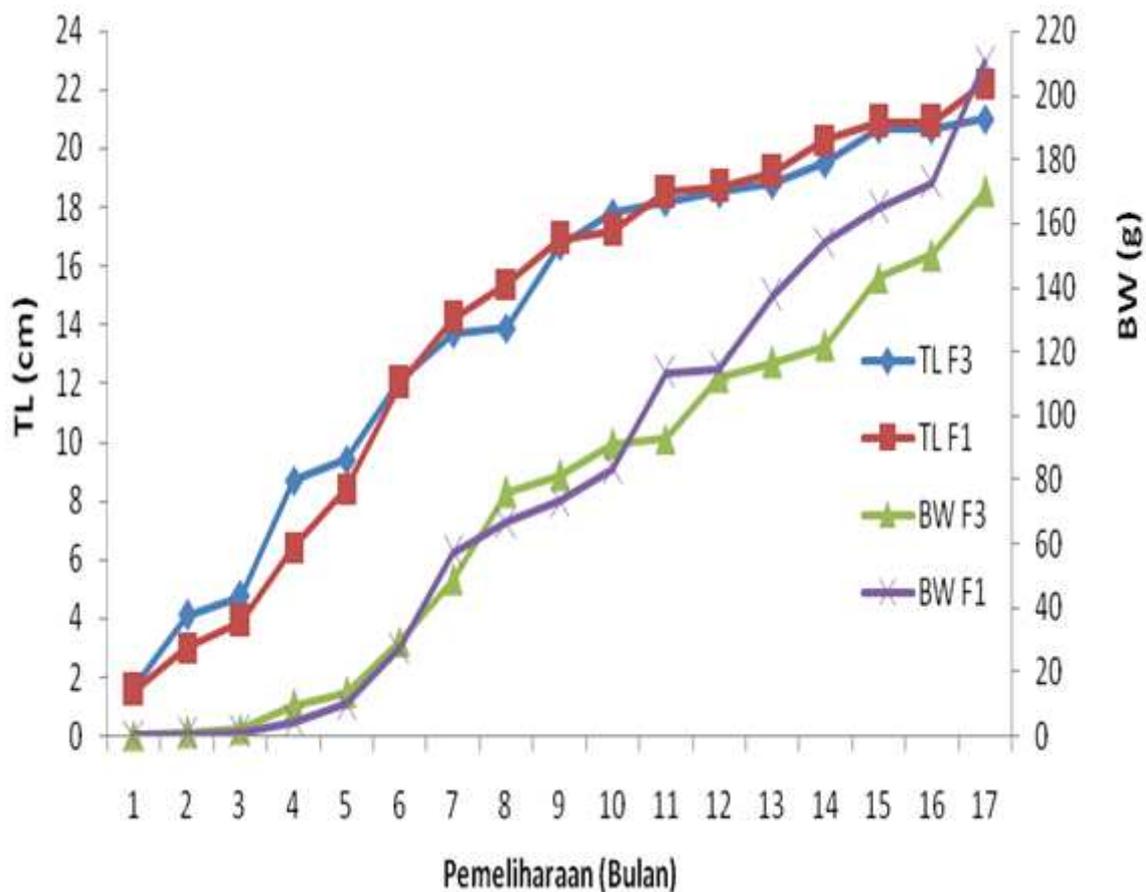
Hasil amplifikasi dielektroforesis bersama DNA standar 100 bp DNA ladder (*Solis Biodyne*) pada gel agarose dengan konsentrasi 2%, voltase 90 mV selama 1 jam di dalam larutan penyangga SB 0,5X (100 mM NaOH; Boric Acid sampai pH 8,0). Setelah pewarnaan dengan 0,5 µg/ml ethidium bromide, lalu diamati di bawah sinar UV dan didokumentasikan dengan

*Geldoc Camera*. Berdasarkan ada atau tidak adanya pita, profil pita DNA diterjemahkan ke dalam data biner. Keragaman genetic dianalisis menggunakan program TFPGA (*Tools for Population Genetic Analysis*) (Nei dan Tajima, 1981). Selanjutnya dilakukan uji signifikansi terhadap rata-rata perbedaan keragaman genetik antara F1 dan F3 dengan student's t-test dengan *interval confidence* 95% pada program QuickCalcs yang tersedia di <http://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1.cfm>.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Pemeliharaan Calon Induk Ikan Kerapu Bebek di Karamba Jaring Apung (KJA)

Pengamatan pertumbuhan panjang dan bobot rata-rata calon induk kerapu bebek F-1 dan F-3 umur 17 bulan sebesar  $22,04 \pm 1,88$  cm; 176,8 g dan  $20,9 \pm 1,28$  cm; 164,7 g (Gambar 1). Dari Gambar 1, terlihat bahwa perbedaan persentase pertumbuhan antara ikan kerapu bebek F-1 dibandingkan dengan F-3 pada umur yang sama hanya sebesar 5,5 %. Secara teoritis perbedaan pertumbuhan ini disebabkan adanya adaptasi lingkungan dari individu.



Gambar 1. Pertumbuhan panjang dan bobot calon induk kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) F-1 and F-3 selama 17 bulan pemeliharaan (TL F1: 22 cm; TL F3: 21 cm; BW F1: 210 g; BW F3: 170 g).

### 3.2. Analisa Keragaman Genetik Populasi Kerapu Bebek F1 dan F3

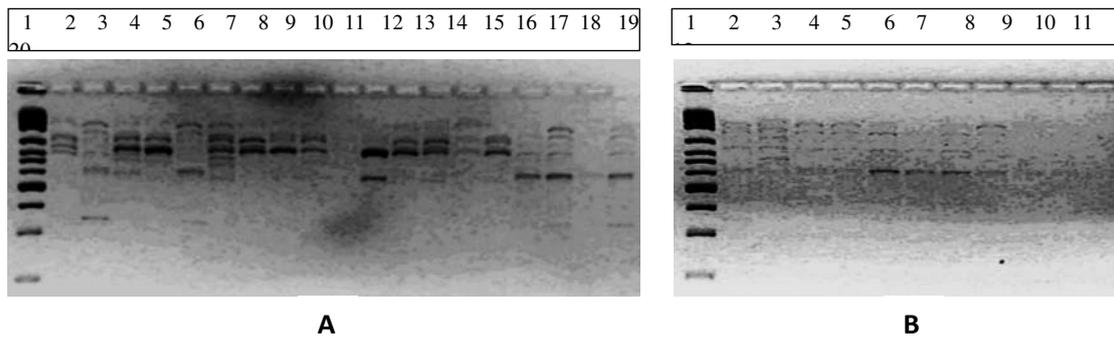
Berdasarkan elektroforesis hasil PCR, dilakukan pengelompokan alel (kelompok dalam bentuk data biner) sampel ikan kerapu F-1 dan F-3 dari setiap primer yang digunakan berdasarkan pola pita-pita amplifikon yang terlihat seperti tertera pada Gambar 2,3 dan 4. Pengamatan terhadap profil pita DNA yang dihasilkan dari 3 primer RAPD terhadap kedua populasi calon induk ikan kerapu bebek F1 dan F3 ditampilkan pada Tabel 1. Ketiga primer ini dapat memisahkan kedua populasi ke dalam kelompoknya masing-masing. Pita yang didapatkan berukuran 100 – 1200 pb (pasang basa). Jumlah pita berkisar antara 10 (AS-4 dan 2AAM<sub>2</sub>) dan 11 (L-21). Jumlah pita DNA yang dihasilkan oleh setiap primer tergantung pada sebaran situs yang homolog dengan sekuen primer pada genom. Adapun jumlah total pita yang dihasilkan dari 9 primer yang digunakan adalah 53 pita dan 50,1% diantaranya adalah polimorfis. Selanjutnya data biner tersebut dianalisis dengan program TFPGA untuk memperoleh nilai keragaman genetik (Tabel 1).

Nilai keragaman genetik ikan kerapu bebek F-3 masih relatif tinggi, yakni sebesar 0,7749 (keragaman genetik dianggap tinggi bila antara 0,8 sampai 0,9) (Permana *et al.*, 2007). Dengan demikian, keragaman genetik populasi F-3 tersebut masih layak untuk digunakan sebagai populasi calon induk karena nilai heterozigositasnya tidak berbeda nyata dibandingkan dengan F-1 (0,7940). Menurut Menurut Grant *et al.* (1987) dalam Sugama dan Priyono (1998) mengatakan bahwa sedikit atau tidak adanya perbedaan genetik diantara populasi ikan laut dikarenakan besarnya potensi *gen flow* (pertukaran gen) diantara populasi, berkurangnya penyimpangan genetik dalam populasi yang sangat besar atau kombinasi dari mekanisme ini.

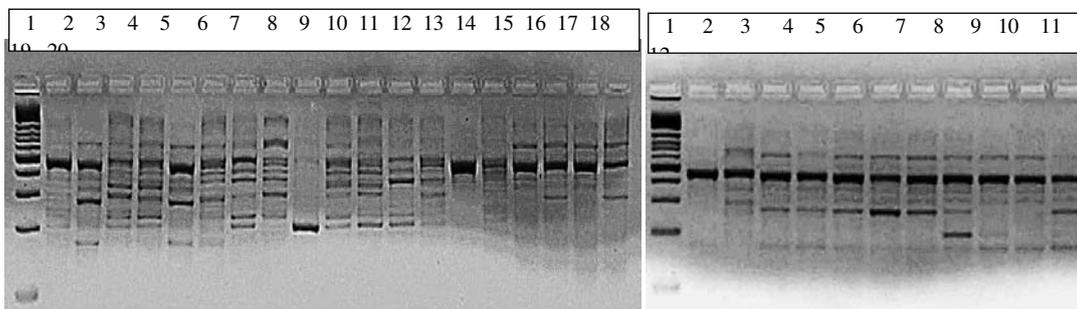
Pada dasarnya terdapat beberapa fenomena yang dapat menurunkan nilai *heterozigositas* komoditas laut yang dibudidayakan, yaitu *genetic drift*, *inbreeding* dan *genetic bottlenecks* (Sugama *et al.*, 1998<sup>b</sup>). Penurunan keragaman genetik pada populasi berikutnya dapat menyebabkan pertumbuhannya menjadi lambat, lebih rentan terhadap serangan penyakit, lebih sulit beradaptasi terhadap perubahan lingkungan, maupun abnormalitas pada keturunan berikutnya (Imron, 1998).

Tabel 1. Heterosigositas dan persentase loki ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* F-1 dan F-3 hasil RAPD menggunakan primer AS-4, L-21 dan 2AAM<sub>2</sub>.

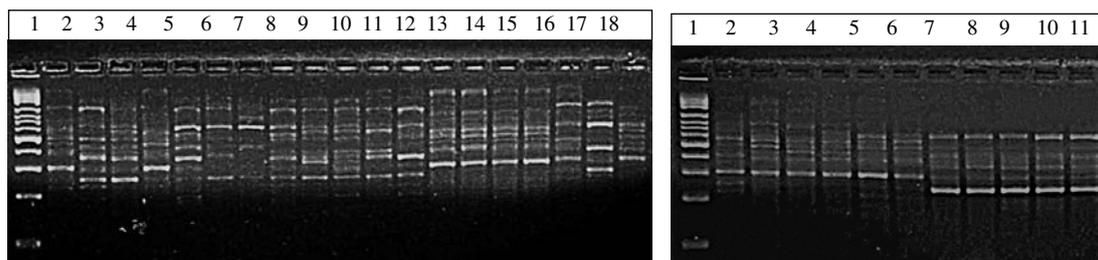
Populasi	F-1	F-3	Loki polimorfik (%)
Primer AS-4	0,7822	0,7603	52,9
Lokus	Primer L-21	0,7822	49,9
	Primer 2AAM <sub>2</sub>	0,8178	47,4
Rata-rata	0.794067	0.774933	-



Gambar 2. Elektroforesis hasil PCR ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* F-1 dan F-3 dengan menggunakan Primer AS-4 (A) (1= Marker; 2-16 sampel F-1; 17-20 sampel F-3); (B) (1= Marker; 1-12 sampel F-3).



Gambar 3. Elektroforesis hasil PCR ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* F-1 dan F-3 dengan menggunakan Primer L-21 (A) (1= Marker; 2-16 sampel F-1; 17-20 sampel F-3); (B) (1= Marker; 1-12 sampel F-3).



Gambar 4. Elektroforesis hasil PCR ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* F-1 dan F-3 dengan menggunakan Primer 2AAM<sub>2</sub> (A) (1= Marker; 2-13 sampel F-1; 14-20 sampel F-3); (B) (1= Marker; 2-6 sampel F-3; 7-12 sampel F-1).

Berdasarkan hasil analisis dari ketiga jenis primer yang digunakan, ternyata bahwa ketiga primer yang memberikan derajat polimorfisme yang tinggi dan tidak berbeda nyata baik pada populasi F-1 maupun F-3 (Tabel 1). Disamping jumlah fragmen yang

dihasilkan cukup banyak, kualitas masing-masing fragmen juga secara nyata sangat baik sehingga diharapkan dalam scoring akan lebih mudah. Oleh karena itu ketiga primer RAPD tersebut (AS-4; L-21 dan 2AAM<sub>2</sub>) merupakan lokus yang dapat

digunakan untuk mengetahui keragaman genetik ikan kerapu bebek F-1 dan F-3.

#### IV. KESIMPULAN

Primer AS-4, L-21 dan 2AAM<sub>2</sub> dapat digunakan untuk analisis keragaman genetik calon induk ikan kerapu bebek F1 dan F3.

Analisis heterosigositas menggunakan program TFPGA memperlihatkan nilai keragaman genetik calon induk ikan kerapu bebek F1 (0,7940) dan F3 (0,7749).

Secara statistik tidak terdapat perbedaan keragaman genetik yang nyata antara calon induk kerapu bebek F1 dan F3 sehingga populasi calon induk tersebut masih layak digunakan sebagai induk yang berkualitas dalam proses pembenihan selanjutnya.

Populasi calon induk kerapu bebek F1 dan F3 pada umur 17 bulan sudah mencapai ukuran panjang dan bobot rata-rata sebesar 22 cm dan 210 g untuk F1 dan 21 cm dan 170 g pada F3.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bardakci, F. 2001. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turk. J. Biol.*, 25:185-196.
- Benzie, J.A.H. and S.T.W. Williams. 1996. Limitation of the genetic variation of hatchery produced batches of Giant clam, *Tridacna gigas*. *Aquaculture*, 139:225-241.
- Benzie, J.A.H., M. Kenway, and L. Trott. 1997. Estimates for the heritability of size in juvenile *P. monodon* from Half-sib matings. *Aquaculture*, 152:49-53.
- Goudie, C.A., Q. Liu, B.A. Simeo, and K.B. Davis. 1995. Genetic relationship of growth, sex and glucose phosphate Isomerase-B phenotypes in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 138:119-124.
- Imron. 1998. Keragaman morfologis dan biokimia stock keturunan udang windu (*Penaeus monodon*) asal laut yang dibudidayakan di tambak. Tesis. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. 80hlm.
- Imron, K.S., K. Sumantadinata, and K. Soewardi. 1999. Genetic variation in cultured stocks of Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) in Indonesia. *IFR J.*, 5(1):10-18.
- Lamboy, W.F. 1994. Computing genetic similarity coefficients from RAPD Data: the Effects of PCR Artifacts. *Genome Res.*, 4:31-37.
- Murphy, R.W., J.W. Sites Jr, D.G. Buth, and C.H. Haufler. 1990. Protein I: isozyme electrophoresis. In: molecular systematic. Massachusetts: Sinauer Associates. Inc. 45-126pp.
- Murwantoko, W.J. and Y.L. Nuraini. 2008. Cloning and sequence analysis of coat protein gene of betanodavirus, the causative agent of viral nervous necrosis of grouper. *Indonesian J. of Biotechnology*, 13(1):1048-1054.
- Murwantoko, Harahap, F.F. Ustadi, Triyanto, dan N.H. Kamiso. 2009. Uji sensitivitas imunodiagnosis dan RT-PCR untuk mendeteksi *Viral Nervous Necrosis*. Prosiding seminar nasional tahunan VI hasil penelitian perikanan dan kelautan tahun 2009. 495hlm.
- Nei, M. and F. Tajima. 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, 97:146-163.
- Permana, G.N., S.B. Moria, Haryanti, dan K. Sugama. 2001. Pengaruh domestifikasi terhadap variasi genetik pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) yang

- dideteksi dengan allozyme electrophoresis. *J. Penelitian Perikanan Indonesia*, 7(1):25-29.
- Permana, G.N., S.B.M. Sembiring, A. Muzaki, dan Haryanti. 2007. Keragaman genetik benih ikan kerapu sunu, *Plectropomus leopardus* turunan pertama (F1) dengan analisis restriction fragment length polymorphism (RFLP) MT-DNA. *J. Riset Akuakultur*, 2(2):187-197.
- Rafalski, J.A., S.V. Tingey, and J.G.K. Williams. 1991. RAPD markers-a new technology for genetic mapping and plant breeding. *AgBitech News and Information*, 3:645-648.
- Sambrook, J.E., F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning a laboratory manual*. Cold Spring Harbour Laboratory. CSH-New York. 568-500pp.
- Sbodorni, V., E. De Matthaëis, M. Cobolli-Sbordoni, G. La Rosa, and M. Mattoccia. 1987. Bottleneck effects and the depression of genetic variability in hatchery stocks of *Penaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda). *Aquaculture*, 57:239-251.
- Sugama, K., and A. Priyono. 1998<sup>a</sup>. Biochemical genetic differentiation among wild populations of milkfish, *Chanos chanos* in Indonesia. *IFR J.*, 4(1):11-18.
- Sugama, K., N. Taniguchi, and S. Umeda. 1988<sup>b</sup>. An experimental study on genetic drift in hatchery population of red sea bream. *Bull. Japan Sci. Soc.*, 54:739-744.
- Sugama, K., Haryanti, J.A.H. Benzie, and E. Ballment. 2002. Genetic variation and population structure of the Giant Tiger Prawn, *Penaeus monodon*, in Indonesia. *Aquaculture*, 205:37-48.
- Tave, D. 1992. Genetic for fish hatchery managers. 2<sup>nd</sup>. An AVI Book Published by Van Nostand Reinhold. New York. 418p.
- Tave, D. 1995. Selective breeding programmes for medium-sized fish farms. FAO, Fisheries technical paper, No. 352. Rome, Italy, 122p.
- Wibowo, A.H. 2001. Analisis variasi dan struktur populasi genetik ikan Napoleon wrasse (*Cheilinus undulates* Ruppell). Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. Malang. 68hlm.

Diterima : 13 Agustus 2012

Direvisi : 5 Februari 2013

Disetujui : 30 April 2013