

PEWARISAN POLA WARNA IKAN KLON BIAK, *Amphiprion percula*

HEREDITY OF BAND PATTERN IN CLOWN FISH, Amphiprion percula

Sari B.M. Sembiring^{1*}, K.M. Setiawati¹, J.H. Hutapea¹, dan W. Subamia²

¹Institute for Mariculture Research and Development, Bali

*e-mail: moriasembiring@yahoo.co.id

²Research and Development Institute for Ornamental Fish Culture, Depok

ABSTRACT

One of marine ornamental fishes which was succeeded on its breeding, from eggs production to larval and juvenile rearing at Institute for Mariculture Research and Development, Gondol was Clown fish, Amphiprion percula. In local name, the fish also known as Biak Clown fish. In culture development, the fish frequently faced the problem on color pattern which was not meet with export demand. The fish should be bright orange and thin black stripe pattern. In this experiment, analysis was conducted to understand the juvenile color variation produced from 3 pairs broodstock. Larvae and juvenile were reared in the indoor hatchery for 2-3 months, then reared at outdoor tanks for other 3-4 months. Amplification of broodstock and juvenile genoms using specific primer for pigment sequens. Parameters observed on juvenile were classified into three color pattern classes i.e., class I (thick black stripe and disperse), class II (thick black stripe), and class III (thin black stripe). Numbers of juvenile analyzed from its pair broodstock and each class were 2-3 fishes. Color perform similarity coefficient was analyzed molecularly using sequencing. Sequencing process followed: DNA isolation, amplification using gen Tyr primer, purification PCR product and finally DNA sequencing. Sequencing analyses of PCR product, after alignment showed that similarity coefficient of color pattern of class I, II, and III between broodstock and juvenile was only 50 %, and phenotypically, color pattern appeared on juvenile were different than its broodstock. The changes of color perform on Clown fish also affected by interaction between genotype and environment and feed pigment concentration.

Keywords: heredity, color pattern, Tyr gene, clown fish, *A. percula*

ABSTRAK

Dalam pengembangan budidaya ikan klon hitam, *Amphiprion percula*, sering ditemui kesulitan dalam memperoleh benih dengan kualitas yang memenuhi kriteria ekspor, yaitu warna benih yang oranye cerah dan setrip hitam yang tebal. Dalam penelitian ini analisis dilakukan untuk mengevaluasi variasi warna benih secara fenotipe serta koefisien kemiripan genotype dengan gen Tyr dari tiga pasang induk. Selanjutnya larva dan benih yang dihasilkan dipelihara di hatchery *indoor* selama 2-3 bulan, kemudian dilanjutkan dengan pemeliharaan di *outdoor* selama 3-4 bulan. Amplifikasi genom induk dan benih menggunakan primer yang mengkode sekuen gen Tyr yang mengontrol pengontrol pigmen gen Tyr. Variabel yang diamati meliputi performa warna klas I (hitam tebal melebar), klas II (bergaris hitam tebal), dan kelas III (bergaris hitam tipis). Jumlah benih yang dianalisis dari setiap klas sebanyak 2-3 ekor untuk setiap pasang induk. Koefisien kemiripan performa warna dengan gen Tyr dianalisis secara molekuler menggunakan sekuensing. Hasil sekuensing menunjukkan nilai koefisien kemiripan performa pola warna klas I; II dan III antara induk dan benih hanya 50 persen, akibatnya secara fenotipe pola warna yang muncul pada benih berbeda dari induknya.

Kata kunci: pewarisan, pola warna, gen Tyr, ikan klon hitam, *A. percula*

I. PENDAHULUAN

Ikan klon Biak atau klon hitam (*Amphiprion percula*) adalah ikan hias air laut yang memiliki daya tarik pada warnanya. Warna merupakan salah satu parameter dalam penentuan nilai ikan hias. Semakin cerah warna suatu jenis ikan, maka semakin tinggi nilainya. Ikan dengan nama dagang *true clown fish* ini memiliki warna kuning oranye dengan 3 ban putih pada bagian kepala, badan dan pangkal ekor dengan ciri khusus terdapat warna hitam di sepanjang bagian sisi badan (Allen, 2000; Poernomo *et al.*, 2003). Namun perkembangan pola warna hingga muncul 3 ban putih secara lengkap dengan warna hitam di sepanjang sisi badan masih tidak stabil.

Pembenihan ikan klon Biak atau klon hitam telah dilakukan pada tahun 2010. Permasalahan yang dihadapi dalam pengembangan budidaya ikan klon biak ini adalah sulitnya memperoleh benih dengan kualitas yang memenuhi kriteria ekspor dengan warna benih yang oranye cerah dan setrip hitam yang tebal. Di samping itu benih yang dihasilkan dari 1 pasang induk masih sangat bervariasi.

Sebagaimana telah diketahui bahwa pola pigmen merupakan karakter fenotipe yang selalu diturunkan dari induk pada turunannya. Selain faktor gen sebagai pengontrol pola pigmen, lingkungan juga mempengaruhi fisiologi sel pigmen yang mendorong perubahan formasi pola pigmen yang muncul. Salah satu gen yang diketahui bertanggung jawab dalam mengkode pola pigmen dari ikan adalah gen *tyrosinase* (Tyr) (Haffter *et al.*, 1996; Inagaki *et al.*, 1998; Kusumawati, 2011). Secara spesifik gen *tyrosinase* bertanggung jawab terhadap sintesis enzim tirosinase yang merupakan kunci utama untuk mensintesis *melanocyte* dan mutasi pada gen *tyrosinase* memberikan dampak defisiensi

pigmentasi pada retina dan kulit embrio ikan *rainbow trout* (Boonanuntanasarn *et al.*, 2004).

Fenomena perubahan warna ini sangat menarik untuk dikaji lebih lanjut mengenai penyebab terjadinya degeneratif benih urunan pertama (F1). Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui variasi warna benih yang dihasilkan oleh beberapa pasang induk secara fenotipe dan juga mengetahui persentase kemiripan/perbedaan antara benih dan induk dengan menggunakan primer yang mengkode sekuen gen pengontrol pigmen dalam hal ini gen *tyrosinase*.

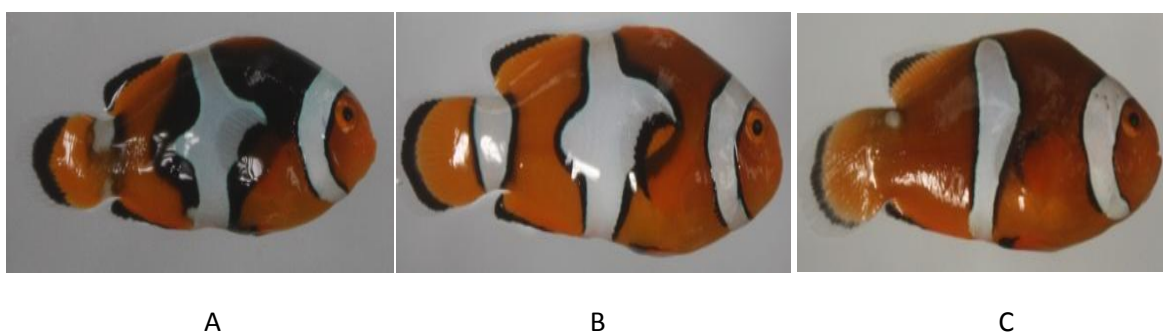
II. METODOLOGI

2.1. Pemeliharaan Induk, Larva dan Benih

Hewan uji yang digunakan adalah induk dan benih ikan hias klon Biak yang berasal dari hasil pembenihan secara terkontrol di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali. Penelitian ini menggunakan 3 pasang induk yang berasal dari hasil penangkapan di alam dengan diberi kode IA1; IA3 dan IA7. Benih yang dihasilkan (F1) dari setiap pasang induk dikelompokkan berdasarkan pola warna garis hitam. Larva dan benih dipelihara di hatchery *indoor* selama 3 bulan, kemudian dilanjutkan dengan pemeliharaan di *outdoor* selama 3-4 bulan. Setelah 6-7 bulan pemeliharaan, selanjutnya dilakukan pengamatan warna secara fenotipe. Variabel pola warna benih yang diamati sebagai berikut (Gambar 2): pola warna klas I (hitam tebal melebar), klas II (bergaris hitam tebal), klas III (bergaris hitam tipis). Jumlah sampel yang dianalisis untuk mengetahui persentase kemiripan/perbedaan antara benih dan induk sebanyak 2 - 3 ekor benih dari masing-masing pola warna kelas I; II dan III.



Gambar 1. Pola warna induk ikan klon biak dari alam.



Gambar 2. Performawarna benih klas I (hitam tebal melebar terutama diantara strip putih di kepala dan badan dan atau antara strip putih di badan dan ekor) (A), klas II (hanya bergaris hitam tebal) (B) dan klas III (bergaris hitam tipis) (C).

2.2. Isolasi DNA

DNA ikan diisolasi dari bagian sirip dan atau daging dengan menggunakan *Nucleospin tissue kit* (Macherey-Nagel). Tahapan isolasi DNA sesuai dengan standar protokol dari produk tersebut.

2.3. Amplifikasi PCR Menggunakan Primer Gen Tyrosinase (Tyr)

DNA ikan diamplifikasi menggunakan primer gen *Tyr* yang mengkode pola pigmen (Sugie *et al.*, 2004). Hasil produk PCR (amplikon) dielektroforesis menggunakan gel agarosa

2% dalam 0,5 x SB *buffer*, yang selanjutnya diamati dengan UV transilluminator serta dicetak dengan *gel doc camera*.

2.4. Purifikasi Hasil PCR

Sebelum disequencing, hasil PCR terlebih dahulu dipurifikasi dengan *QIAquick PCR Purification Kit* (Qiagen). Proses purifikasi mengikuti standar protokol dari kit tersebut. Larutan hasil purifikasi dikonfirmasi terlebih dahulu dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 2% dalam 0,5x SB *buffer*.

2.5. Sekuensing

Sekuensing fragmen DNA hasil amplifikasi PCR dilakukan di Lembaga UIN, Jogjkarta menggunakan prinsip *chain terminator* ddNTPs secara otomatis dengan mesin ABI Prism Sequencer.

2.6. Analisis Data

Data hasil sequencing terlebih dahulu dilakukan alligment menggunakan program ClustalW dari situs EBI: <http://www.ebi.ac.uk/egi-in/CLUSTALW> (Higgins *et al.*, 1994). Selanjutnya hasil alligment dianalisis menggunakan beberapa software yaitu: Phydit untuk analisis similarity dan perbedaan nukelotida, Phylip untuk mengkonstruksi filogenetik tree dan treeview32 program untuk visualisasi filogenetik tree.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Benih yang dihasilkan dari 3 pasang induk yang dipijahkan, ternyata semua mempunyai pola warna yang berbeda (Tabel 1). Berdasarkan Tabel 1

di atas, terlihat bahwa benih yang dihasilkan hampir 50% mempunyai performa warna pada klas II, yaitu hanya bergaris hitam tebal tanpa adanya bayangan warna hitam yang terletak di belakang mata. Sementara pola warna klas I hanya berkisar antara 4,5 - 37,3%. Jika dilihat dari pola warna induk yang hampir sama antara induk jantan dan betina, diharapkan seharusnya turunannya lebih dari 50 persen berada pada warna klas I. Namun demikian kenyataannya pola warna benih yang paling tinggi muncul pada klas II. Hal ini sesuai dengan hasil dari analisis similarity dan perbedaan nukleotida (Tabel 2), ternyata bahwa jumlah nukelotida yang mengkode gen Tyr antara induk terhadap benihnya sebagian besar berbeda. Kisaran perbedaan nukleotida antara induk dengan benihnya sebesar 14 – 29% dari total 133 nukleotida yang dianalisis. Hal ini yang menyebabkan adanya perbedaan pola warna antara induk dengan anaknya pada ikan klon biak.

Tabel 1. Persentase benih berdasarkan performan warna klas (I, II, III) dari hasil pemijahan 3 pasang induk ikan klon Biak (*A. percula*).

Induk	Persentase benih (%)		
	I	II	III
1A1	4.5	62.2	33.3
1A3	37.3	39,0	23.7
1A7	14.3	71.4	14.3

Keterangan: klas I : hitam tebal melebar terutama diantara strip putih di kepala dan badan dan atau antara strip putih di badan dan ekor; klas II hanya bergaris hitam tebal dan klas III bergaris hitam tipis (lihat Gambar 2).

3.1. Amplifikasi Primer Tyr

Regulasi suatu pigmen dikontrol secara genetik yang dikode oleh suatu gen yang memiliki susunan nukleotida interspesifik yang sesuai terhadap pola pigmen yang terbentuk (Sugie *et al.*, 2004). Gen tyrosinase merupakan salah

satu gen yang bertanggung jawab dalam mengkode pola pigmen. Hasil amplifikasi DNA genom hasil isolasi dengan primer *Tyr* (F) dan *Tyr* (R) ditunjukkan pada Gambar 3. Amplifikasi gen *Tyr* dengan primer *Tyr* (F) dan *Tyr* (R) menghasilkan sebuah produk yang berukuran 70 bp.

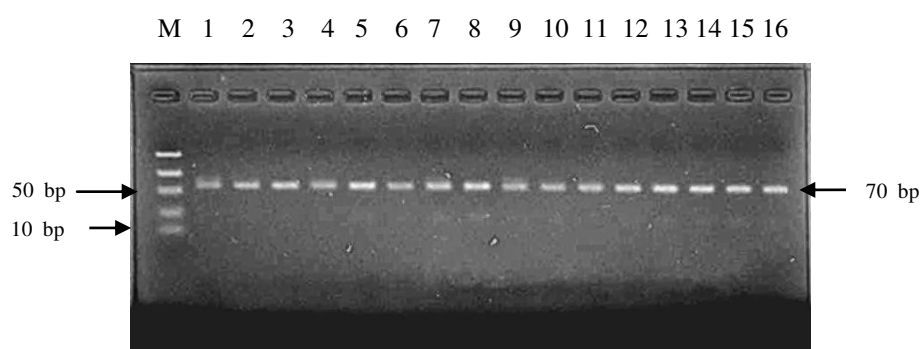
Tabel 2. Hasil analisis similarity gen *Tyr* antara induk dengan benih ikan klon biak, *A. percula* menggunakan software Phytit.

	B3-F	♂-F	♀-F	E4-F	D1-F	E4-R	C2-F	E1-F	C2-R	♂-R	♀-R	D1-R	D4-F	B3-R	D4-R	E1-R
B3-F	---	14/39	23/38	13/37	32/49	25/35	23/39	26/41	31/43	29/46	34/50	31/49	25/46	36/53	20/29	26/38
♂-F	64.1	---	29/46	19/46	29/50	25/35	36/47	34/51	20/30	20/33	24/35	23/34	30/51	30/48	23/29	29/37
♀-F	39.47	36.96	---	21/45	24/46	21/35	25/44	24/46	19/30	18/33	24/35	22/34	23/46	30/46	20/28	28/36
E4-F	64.86	58.7	53.33	---	31/46	21/34	33/44	29/46	19/29	20/32	24/34	20/33	24/46	27/46	16/27	27/35
D1-F	34.69	42	47.83	32.6	---	15/35	21/47	24/57	24/39	25/42	31/46	30/45	35/57	39/59	19/28	26/37
E4-R	28.57	28.57	40	38.2	57.1	---	22/34	21/35	20/29	21/32	21/34	22/33	26/35	23/35	18/27	22/35
C2-F	41.03	23.4	43.18	25	55.3	35.3	---	16/49	18/31	18/34	21/36	23/35	31/49	31/47	21/29	24/37
E1-F	36.59	33.33	47.83	37	57.9	40	67.4	---	16/33	15/36	22/38	21/37	30/54	25/50	19/30	24/38
C2-R	27.91	33.33	36.67	34.5	38.5	31	41.9	51.5	---	15/49	22/49	21/49	23/36	29/48	17/25	18/31
♂-R	36.96	39.39	45.45	37.5	40.5	34.4	47.1	58.3	69.39	---	18/55	25/55	23/39	35/54	18/28	20/34
♀-R	32	31.43	31.43	29.4	32.6	38.2	41.7	42.1	55.1	67.27	---	33/62	29/43	35/62	21/29	23/36
D1-R	36.73	32.35	35.29	39.4	33.3	33.3	34.3	43.2	57.14	54.55	46.8	---	25/42	66/90	18/28	20/35
D4-F	45.65	41.18	50	47.8	38.6	25.7	36.7	44.4	36.11	41.03	32.6	40.48	---	35/57	24/32	29/40
B3-R	32.08	37.5	34.78	41.3	33.9	34.3	34	50	39.58	35.19	43.6	26.67	38.6	---	22/30	28/39
D4-R	31.03	20.69	28.57	40.7	32.1	33.3	27.6	36.7	32	35.71	27.6	35.71	25	26.7	---	18/31
E1-R	31.58	21.62	22.22	22.9	29.7	37.1	35.1	36.8	41.94	41.18	36.1	42.86	27.5	28.2	41.94	---

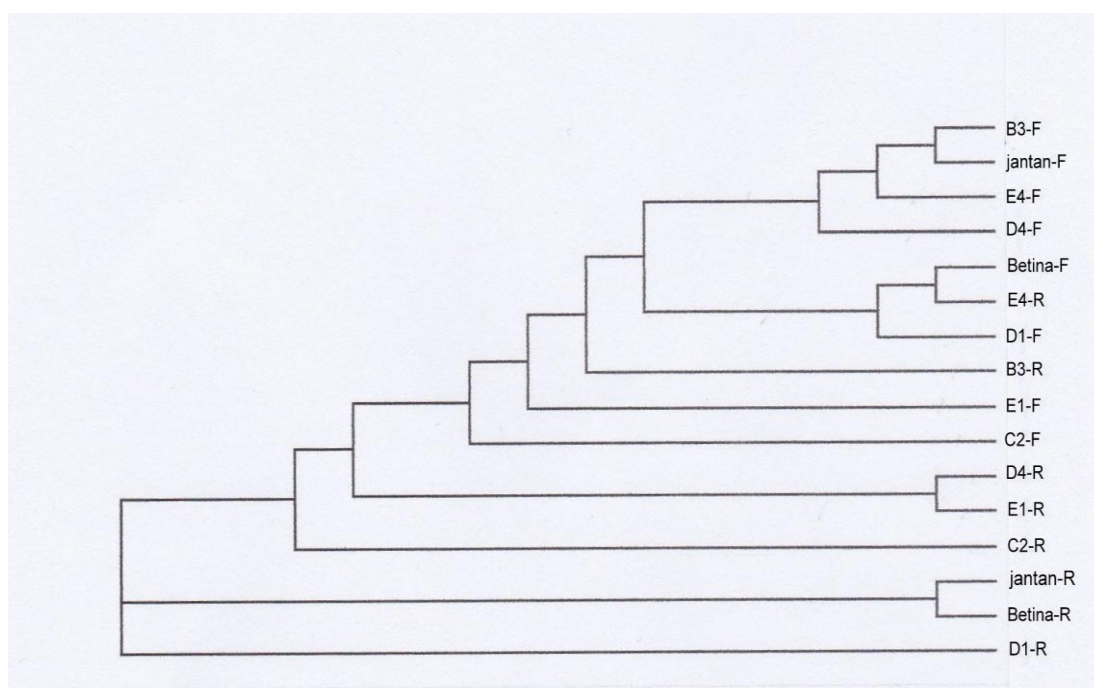
Keterangan: 133 nukleotida yang dianalisis, segitiga bawah ke kiri merupakan nilai % similarity/kemiripan, dan segitiga atas ke kanan merupakan nilai perbedaan jumlah nukleotida

Berdasarkan pohon filogenetik yang terbentuk yang berasal dari penjabaran antara *alligment* DNA yang dimiliki menunjukkan bahwa koefisien kemiripan performa warna induk IA1; IA3 dan IA7 pada klas I berkisar antara 0.25-0.64 (25%-64%), sedangkan pada klas II sebesar 0.23-0.76 (23%-76%) dan pada klas III antara 0.26-0.65 (26%-65%) (Tabel 3) dan (Gambar 4). Ternyata

berdasarkan analisis genetik, performa kemiripan induk dan benih memang benar diturunkan dengan pengaruh gen induk jantan dan betina yang hampir sama. Hal ini dapat dilihat dari hasil analisis similarity (lihat Tabel 2). Sebagai contoh adalah sampel dengan kode E4-F yang mempunyai nilai kemiripan terhadap induk jantan sebesar 58,7% dan induk betina 53,3%.



Gambar 3. Performasi pita DNA melalui amplifikasi PCR dengan menggunakan primer *Tyr* pada benih dan induk ikan klon biak (*Amphiprion percula*) (M; *maker ultra low range*; 1-16 sampel ikan klon biak).



Gambar 4. Dendrogram kemiripan genetic populasi induk IA1 dan benih ikan hias klon biak (*Amphiprion percula*).

Tabel 3. Persentase kemiripan performan warna antara benih dan induk ikan klon biak (*A. percula*) dari hasil analisa sequencing.

Kode induk	Pola warna	Kode sampel	Koefisien kesamaan performan warna					
			Jantan	Betina	Jantan	Betina	Jantan	Betina
IA1	I	D-1	0.420	0.478	-	-	-	-
		E-1	0.333	0.478	-	-	-	-
	II	C-2	0.234	0.432	-	-	-	-
		B-3	0.641	0.395	-	-	-	-
	III	D-4	0.412	0.500	-	-	-	-
		E-4	0.587	0.533	-	-	-	-
IA3	I	A-5	-	-	0.579	0.571	-	-
		B-5	-	-	0.502	0.443	-	-
		D-5	-	-	0.250	0.355	-	-
	II	A-6	-	-	0.465	0.000	-	-
		B-6	-	-	0.489	0.514	-	-
		C-6	-	-	0.306	0.400	-	-
	III	A-7	-	-	0.444	0.355	-	-
		D-7	-	-	0.411	0.484	-	-
		E-7	-	-	0.263	0.667	-	-
IA7	I	2-8	-	-	-	-	0.550	0.504
		4-8	-	-	-	-	0.610	0.639
		5-8	-	-	-	-	0.518	0.359
	II	2-9	-	-	-	-	0.611	0.600
		3-9	-	-	-	-	0.756	0.500
		4-9	-	-	-	-	0.556	0.500
	III	1-10	-	-	-	-	0.488	0.432
		2-10	-	-	-	-	0.645	0.500
		3-10	-	-	-	-	0.651	0.500

Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 4, terlihat bahwa koefisien kemiripan performan warna menunjukkan nilai rata-rata 50 persen, ini berarti bahwa pola warna dari benih tersebut sebenarnya hanya mempunyai kemiripan 50 persen dengan induknya, akibatnya secara fenotipe pola warna yang muncul pada benih berbeda dari induknya. Seperti terlihat dari Tabel 2, salah contoh sampel E4-F dari hasil analisis similarity ternyata ada perbedaan nukleotida sebanyak 19 nukleotida dari 46 nukleotida yang mengkode gen Tyr pada induk jantan, demikian juga pada induk betina ada perbedaan sebanyak 21 nukleotida dari 45 nukleotida. Adanya perbedaan jumlah nukleotida antara induk dan anaknya, diduga akibat terjadinya proses

rekombinasi selama meiosis sebagai pindah silang kromosom antara kromosom yang berpasangan dan ini dikenal juga sebagai hukum segregasi. Proses ini menyebabkan benih memiliki kombinasi gen yang berbeda dari induknya, dan dapat menghasilkan alel kimerik yang baru. Pada populasi seksual, gen direkombinasi pada setiap generasi, menghasilkan genotipe baru. Kebanyakan keturunan spesies seksual mewarisi separuh gennya dari induk betina dan separuhnya lagi dari induk jantan, susunan genetiknya dengan demikian berbeda dengan kedua induknya atau dengan individu yang lain di dalam populasi (Indrawan *et al.*, 2007).

Melalui pendekatan secara genetik, suatu karakter fenotipe akan selalu

diturunkan oleh induk pada turunannya, namun kenyataannya terdapat berbagai macam hal yang menyebabkan adanya penyimpangan karakter fenotipe, hal ini yang membuat adanya keanekaragaman genetik dari suatu populasi. Penyimpangan karakter fenotipe ini dapat terjadi karena adanya interaksi dari beberapa faktor seperti mutasi, migrasi, rekombinasi, seleksi, dan hanyutan genetik (*genetic drift*). Mutasi, migrasi, dan rekombinasi gen akan memperkaya keragaman dalam populasi alami, sedangkan seleksi dan hanyutan genetik cenderung mengurangi variasi (Ford-Lloyd dan Jackson, 1986). Suryanto (2003), Elrod dan Stansfield (2007) juga mengemukakan bahwa keragaman genetik dalam sebuah populasi organisme terutama dihasilkan oleh tiga mekanisme yaitu mutasi, perpasangan alel secara bebas atau rekombinasi, dan migrasi gen dari satu tempat ketempat lain.

Selain faktor gen sebagai pengontrol pola pigmen, pakan dan lingkungan juga mempengaruhi fisiologi sel pigmen yang mendorong perubahan formasi pola pigmen yang muncul. Seperti yang dikemukakan oleh Hansen (2011), bahwa pemberian naupli kopepoda memberikan pigmen warna yang lebih kuning pada larva ikan kod daripada perlakuan (kopepoda dan pengkayaan rotifer), pengkayaan rotifer, dan rotifer *Chlorella*. Demikian juga Menurut Setiawati *et al.*, 2011, kopepoda merupakan pakan alami yang umumnya ditemukan pada ikan klon asal yang dipelihara di karamba jaring apung. Selanjutnya Gouveia *et al.*, (2003) menyatakan bahwa ekspresi pigmentasi dari beta-karoten yang terkandung dalam daging atau kulit ikan merupakan komponen biologi pembentuk warna merah pada ikan. Beberapa hasil penelitian yang menunjukkan bahwa faktor lingkungan juga berpengaruh terhadap pigmentasi pada ikan diantaranya

dari hasil penelitian Kusumawati (2011), yang menyatakan adanya korelasi positif terhadap migrasi pola pigmen ikan badut pada eksperimen pemeliharaan dengan dua kondisi yang berbeda yaitu *outdoor* dan *indoor*. Selanjutnya Said *et al.*, (2005), juga menyatakan bahwa selain faktor makanan, lingkungan pemeliharaan dapat mempengaruhi penampakan warna pada ikan. Ikan yang dipelihara pada kondisi terang akan memberikan reaksi warna yang berbeda dengan ikan yang dipelihara di tempat gelap karena adanya reaksi *melanosom* yang mengandung pigmen *melanofor* terhadap rangsangan cahaya yang ada. Oleh karena itu pola warna yang ada pada benih ikan klon biak selain dipengaruhi oleh faktor genetik, juga dipengaruhi oleh faktor pakan, lingkungan atau adanya interaksi genotipe dengan lingkungan.

IV. KESIMPULAN

Sepasang primer *Tyr* yang mengkode sekuen gen pengontrol pigmen dapat digunakan untuk analisis penurunan warna secara genetik pada ikan klon biak.

Koefisien kemiripan warna antara induk dan benih pada ikan hias klon biak secara genotipe menunjukkan separuh gennya dipengaruhi induk betina dan separuhnya lagi dari induk jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, G. 2000. Marine fishes of south east Asia. Periplus Edition Ltd. Australia. 292p.
- Boonanuntanasam, S., G. Yoshizaki, K. Iwai, and T. Takeuchi. 2004. Molecular cloning, gene expression in albino mutants and gene knockdown studies of tyrosinase mRNA in tainbow trout. *Pigment Cell Research*, 17:413-421.

- Elrod, S. dan W. Stansfield. 2007. Genetika. (Damaring, T.W. Penterjemah). Penerbit Erlangga Jakarta. 417p.
- Hansen, M.H. 2011. Effects of feeding with copepod nauplii (*Acartia tonsa*) compared to rotifers (*Brachionus ibericus*, Cayman) on quality parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. Norwegian University of Science and Technology. Department of Biology. 91p.
- Kusumawati, D. 2011. Kajian gen pengkode pola pigmen dan profil protein pada ikan badut hitam (*Amphiprion percula*). Tesis Program Studi Pasca Sarjana Jurusan Biologi. Universitas Brawijaya, Malang. 76hlm.
- Ford-Lloyd, B. and Jackson. 1986. Plant genetic resources and introduction to their conservation and use. Edward Arnold Pty. Ltd. Australia. 152p.
- Gouveia, L., P. Rema, O. Pereira, dan J. Empis. 2003. Coloring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. *Aquaculture Nutrition*, 9: 123–129.
- Haffter, P., J. Odenthal, M.C. Mullins, S. Lin, M.J. Farrell, E. Vogelsang, F. Haas, M. Brand, F.J.M.V. Eden, M.F. Seiki, M. Granato, M. Hammerschmidt, C.P. Heisenberg, Y.J. Jiang, D.A. Kane, R.N. Kelsh, N. Hopskin, and C.N. Volhard. 1996. Mutations affecting pigmentation and shape of the adult Zebrafish. *Development Genes and Evaluation*, 206:260-276.
- Inagaki, H., A. Koga, Y. Bessho and H. Hori. 1998 The tyrosinase gene from Medakafish: transgenic expression rescues albino mutation. *Pigment Cell Research*, 11:283-290.
- Indrawan, M., R.B. Primack dan J. Supriatna. 2007. Biologi konservasi. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta. 345hlm.
- Poernomo, A., S. Mardijah, M.L. Linting, E.M. Amin, and Widjopriono. 2003. Ikan hias laut Indonesia. Penebar Swadaya. 182hlm.
- Said, S.D., W.D. Supyawati, dan Noortiningsih. 2005. Pengaruh jenis pakan dan kondisi cahaya terhadap penampilan warna ikan pelangi merah, *Glossolepis incisus* jantan. *J. Iktiologi Indonesia*, 5(2):61-67.
- Setiawati, K.M., Gunawan, H.T., Yudha, J.H., Hutapea, dan K., Suarsana. 2011. Pengaruh shelter pada pemeliharaan benih ikan klon biak (*Amphiprion percula*) di karamba jaring apung. *Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*, 2:79-85.
- Storebaken, T. and H.K. No. 1992. Pigmentation of rainbow trout. *Aquaculture*, 100:209-229.
- Sugie, A., Y. Terai, R. Ota, and N. Okada. 2004. The evaluation of genes for pigmentations in African cichlid fishes. *Gene*, 343:337-346.
- Suryanto, D. 2003. Melihat keanekaragaman organisme melalui beberapa teknik genetika molecular. Program Studi Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/biologi-dwiss.pdf>. [Diakses, 20 Agustus 2013]

Diterima : 15 November 2013

Direvisi : 3 Desember 2013

Sisetujui : 18 Desember 2013

