

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

EVALUASI KERAGAMAN GENETIK IKAN KALUI (*Osphronemus goramy*) DARI KABUPATEN LIMA PULUH KOTA, SUMATERA BARAT BERDASARKAN MARKA RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHISM DNA (RAPD)

Estu Nugroho^{1)*}, Azrita²⁾, Hafrizal Syandri³⁾, dan Refilza⁴⁾

¹⁾ Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan

²⁾ Fakultas Perikanan, Universitas Bung Hatta, Padang, Sumatera Barat

³⁾ Dinas Perikanan, Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat

ABSTRAK

Ikan kalui merupakan nama lokal dari ikan gurami di Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat termasuk jenis ikan ekonomis tinggi. Terdapat lima *strain* ikan kalui yang tersebar di pembudidaya, yaitu Tambago, Palapah, Krista, Jepun, dan Merah. Penelitian ini dilakukan untuk mengamati keragaman genetik *strain* ikan kalui atau gurami dengan menggunakan penanda RAPD. Sebanyak 50 sampel DNA ikan kalui diekstraksi dari sirip dan diamplifikasi secara random dengan menggunakan empat primer terbaik dari 20 primer OPA yaitu OPA-02, OPA-04, OPA-06, dan OPA-07. Hasil menunjukkan bahwa perbedaan yang nyata secara genetik hanya terdapat antara *strain* ikan kalui Merah dengan Tambago dan Krista. Variasi genetik tertinggi diamati pada ikan kalui *strain* Krista dengan nilai heterogenitas 0,1756 kemudian diikuti berturut-turut oleh *strain* Merah (0,1735), Palapah (0,1480), Jepun (0,0594), dan Tambago (0,0203). Jarak rata-rata Nei genetik adalah 0,407; dengan nilai terendah yang teramati antara *strain* Tambago dan Palapah.

KATA KUNCI: kalui; RAPD; keragaman genetik

ABSTRACT: *Evaluation of genetic divergence of kalui fish (Osphronemus goramy) strains from West Sumatra revealed by random amplified polymorphism DNA (RAPD) marker. By. Estu Nugroho, Azrita, Hafrizal Syandri, and Refilza*

Kalui is a local name of giant gouramy fish in West Sumatera Province that categorized as an high economically fish. Five strains of Kalui are distributed to farmers i.e. Tambago, Palapah, Krista, Jepun, and Merah. This research was conducted to observe the genetic variation of Kalui strains using RAPD marker. A total of 50 samples of whole DNA was extracted from Kalui-giant gouramy finclip and randomly amplified using four of the best 20 primers (OPA i.e. OPA-02, OPA-04, OPA-06, and OPA-07). The results showed that Significant genetic differences were only observed between strain Merah-Tambago and Merah-Krista. The highest variability was observed in Krista with heterogeneity value of 0.1735 followed by Merah (0.1735), Palapah (0.1480), Jepun (0.0594), and Tambago (0.0203). The average Nei genetic distance was 0.407, with the lowest was observed between Tambago and Palapah.

KEYWORDS: kalui; genetic variation; RAPD

PENDAHULUAN

Ikan gurami (*Osphronemus goramy*) merupakan salah satu jenis komoditas ikan air tawar yang bernilai ekonomis tinggi di Indonesia. Penyebaran ikan ini meliputi daerah yang cukup luas yaitu mulai dari Sumatera Barat, Jambi, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jogjakarta, Jawa Timur, serta Kalimantan Barat dan

Kalimantan Selatan. Ikan ini dikenal dengan nama lokal ikan kalui di daerah Sumatera Barat (Anonim, 2002).

Beberapa *strain* ikan kalui yang ada di daerah Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat, khususnya di Kecamatan Luak, Larek Sago Halaban, dan Suliki adalah Tambago, Palapah, Krista, Jepun, dan Merah. Berdasarkan morfologi dengan menggunakan teknik *truss*-morfometrik (Azrita & Syandri, 2015) telah mengelompokkan *strain-strain* tersebut menjadi tiga kelompok besar yaitu kalui Merah, kalui Krista, dan kalui Palapah-Tambago-Jepun. Perbedaan

* Korespondensi: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Gedung Balitbang KP II, Jl. Pasir Putih II, Ancol Timur 14430, Jakarta, Indonesia. Tel. + (021) 64700928
E-mail: engroho@yahoo.com

morfologi pada ikan kalui *strain* yang lain seperti Soang, Bastar, dan Blusafir juga telah didapatkan oleh Nugroho *et al.* (1993). Namun perbedaan morfologi belum dapat dideteksi kaitannya secara genetik dengan menggunakan metode enzimatik (Nugroho & Kusmini, 2007). Serangkaian kegiatan penelitian identifikasi *strain* ikan kalui di Indonesia telah dilakukan, di antaranya analisis morfometrik (Soewardi *et al.*, 1995; Suseno *et al.*, 2000; Kusmini *et al.*, 2000), *truss*-morfometrik (Setijaningsih *et al.*, 2007), biokimia (Soewardi, 1995) dan DNA (Nugroho *et al.*, 2013; Nugroho, 2013).

Penggunaan marka DNA dalam analisis variasi genetik dan identifikasi jenis *strain* mempunyai kelebihan di antaranya sensitivitas dan keakuratan yang lebih baik dibandingkan metode isozyme dalam membantu mengetahui potensi-potensi genetik dan mengevaluasi *fitness* individu jangka pendek dan sintasan suatu populasi untuk jangka panjang (Ferguson *et al.*, 1995), yang mungkin dapat dimanfaatkan dalam pembuatan jenis *strain* unggul ikan gurami melalui program pemuliaan yang tepat dalam tahapan berikutnya. Dari sejumlah marka DNA yang digunakan, RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) telah banyak diterapkan pada kajian diversitas genetik pada ikan, antara lain ikan lele Afrika (Ikpeme *et al.*, 2015; Rashid *et al.*, 2012), ikan mas India (Rahman *et al.*, 2009) dan ikan gurami Indonesia (Nugroho, 2013). Marka ini merupakan marka dominan dan dapat menjangkau jumlah lokus yang banyak tanpa memerlukan informasi awal sekuens DNA yang dianalisis (Theodorakis & Bickham, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi keragaman secara genetis lima *strain* ikan kalui Tambago, Palapah, Krista, Jepun, dan Merah dengan menggunakan marka RAPD.

BAHAN DAN METODE

Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan kalui yang berasal dari Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat. Adapun *strain* ikan kalui yang digunakan adalah Tambago, Palapah, Krista, Jepun, dan Merah (Gambar 1). Jumlah sampel yang digunakan untuk setiap *strain* adalah 10 ekor.

Amplifikasi DNA

DNA ikan diekstraksi dari potongan sirip dengan menggunakan metode *phenol-chloroform* (Nugroho, 1997) dan dimurnikan hasilnya dengan penambahan RNase dilakukan ke dalam *tube* berisi DNA dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C untuk

mendigesti RNA yang masih ada dalam larutan DNA (Lia, 2006).

Untuk mendapatkan primer yang mempunyai produk amplifikasi yang sesuai dengan DNA ikan kalui dilakukan dengan penyeleksian primer. Pengamplifikasian dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan komposisi reaksi yang terdiri atas: 10 µg DNA, 10 pmol setiap primer dan "pure *Taq* DNA" (Promega) dengan total volume keseluruhannya 25 µL. Siklus PCR yang digunakan dalam amplifikasi adalah satu siklus pre-denaturasi pada suhu 94°C selama dua menit. Sebanyak 35 siklus penggandaan yang terdiri atas 94°C selama satu menit, 36 C selama satu menit dan 72°C selama 2,5 menit. Selanjutnya satu siklus terakhir pada suhu 72°C selama 10 menit. Hasil amplifikasi kemudian dipisahkan secara elektroforesis dengan menggunakan gel agarose 2%-3% dalam bufer Tris-Boric-EDTA (TBE) dan diamati dengan *illuminator* (UV), serta dicetak gambarnya dengan polaroid.

Analisis Data

Untuk mengevaluasi variasi DNA antar ras ikan kalui dilakukan dengan menggunakan analisis molekuler varians (AMOVA) dan *Fst* dalam program TFGA (Miller, 1997). Kekkerabatan antar *strain* dianalisis dengan menggunakan Jarak Genetik Nei (Nei, 1972).

HASIL DAN BAHASAN

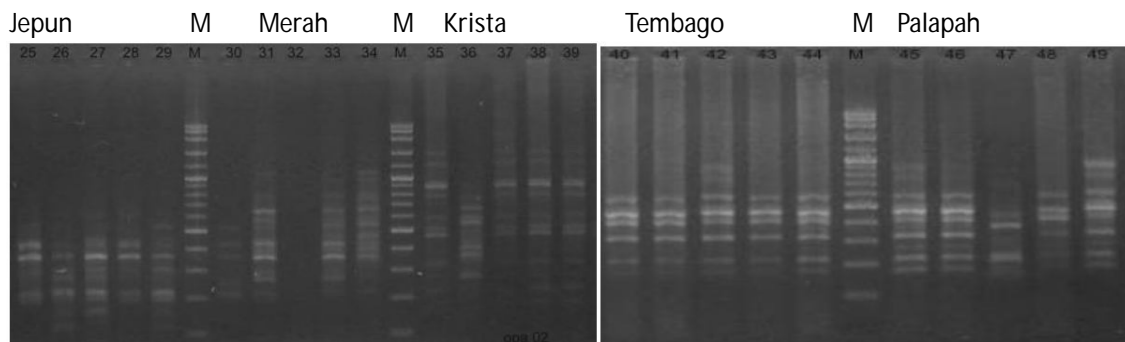
Dari 20 primer OPA yang telah dicoba, tidak semuanya dapat menunjukkan hasil amplifikasi. Empat primer di antaranya mempunyai produk amplifikasi yaitu OPA-2, OPA-4, OPA-6, dan OPA-7. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Lia (2006). Panjang pita yang dihasilkan mempunyai ukuran mulai 300 bp hingga 2.000 bp. Salah satu hasil amplifikasi dengan primer OPA-2 terlihat pada Gambar 2.

Keragaman genetik ditentukan oleh nilai heterozigositas dan persentase polimorfisme. Secara umum *strain* ikan kalui asal Kabupaten Lima Puluh Kota yang diteliti mempunyai nilai heterozigositas berkisar antara 0,0203 hingga 0,1756; dengan nilai tertinggi terdapat pada *strain* Krista (0,1756); kemudian diikuti oleh *strain* Merah (0,1735); *strain* Palapah (0,1480); *strain* Jepun (0,0594); dan *strain* Tambago (0,0203). Persentase polimorfisme berkisar antara 9,67%-41,93%; dengan nilai tertinggi pada *strain* Krista sedangkan terendah pada *strain* Tambago (Tabel 1).

Nilai keragaman hasil penelitian ini lebih rendah jika dibandingkan dengan beberapa *strain* ikan kalui di daerah Parung, Bogor, Jawa Barat yaitu *strain* Bastar (0,2360); Paris (0,2832); dan Blusafir (0,3050) yang



Gambar 1. *Strain ikan kalui di Sumatera Barat*
Figure 1. *Strain of kalui fish at West Sumatra*



Keterangan (Note): M= marker 100 bp ladder

Gambar 2. *Fragmen hasil amplifikasi PCR-RAPD ikan kalui dengan menggunakan primer OPA-2*
Figure 2. *Fragment patterns of PCR-RAPD product of kalui fish using primer OPA-2*

Tabel 1. Variasi genetik pada beberapa *strain* ikan kalui (*Osphronemus goramy*)
 Table 1. Genetic variation of kalui fish (*Osphronemus goramy*)

Parameter Parameters	Ikan kalui (<i>Strain</i>)				
	Jepun	Merah	Krista	Tambago	Palapah
Jumlah sampel Number of sample	10	10	10	10	10
Heterozigositas Heterozygosity	0.0594	0.1735	0.1756	0.0203	0.1480
Persentase polimorfisme Percentage polymorphisme	12.90	35.48	41.93	9.67	35.48

diperoleh Nugroho (2013) dengan metode yang sama, serta hasil dari Lia (2006) yang mendapatkan keragaman rata-rata ikan kalui *strain* Bluesafir sebesar 0,31. Rendahnya variasi genetik beberapa *strain* ikan kalui asal Kecamatan Luak Kabupaten Lima Puluh Kota disebabkan karena sudah terjadi proses perkawinan silang dalam (*inbreeding*) pada *strain-strain* ikan kalui yang sudah berlangsung cukup lama di tingkat pembudidaya ikan dan belum dilakukan pemuliaan induk.

Lebih lanjut dapat dikemukakan bahwa nilai variasi genetik yang paling rendah di antara lima *strain* ikan kalui adalah *strain* Tambago (0,0203). Hal ini akibat induk *strain* Tambago seringkali digunakan oleh pembenih dalam proses pemijahan untuk memproduksi benih. Menurut keterangan beberapa orang pembenih ikan di Nagari Mungo, bahwa *strain* Tambago merupakan induk yang sering digunakan dalam memproduksi anak ikan kalui karena diminati oleh konsumen. Lain halnya dengan *strain* Jepun sangat jarang sekali digunakan oleh pembenih untuk pembenihan dengan alasan pertumbuhan sangat lambat, ukurannya kecil dan tidak diminati oleh konsumen. Berdasarkan pengamatan di lapangan, hampir seluruh kegiatan budidaya ikan kalui menggunakan *strain* Tambago. Sama halnya dengan rendahnya tingkat keragaman *strain* Bastar dibandingkan dua *strain* ikan kalui lainnya di daerah Parung, Bogor sebagai akibat dari preferensi masyarakat yang lebih tinggi dalam penggunaan *strain* Bastar sebagai komoditas budidaya (Nugroho, 2013).

Keragaman genetik ikan kalui yang tergolong cukup rendah ini merupakan gambaran umum variasi genetik yang ditemui pada jenis ikan air tawar sebagai akibat keterbatasan migrasi secara alami, seperti misalnya pada ikan garing (*Tor sorro*) berkisar antara 0,0909-0,1407 (Asih *et al.*, 2008), ikan kelabau (*Osteochilus kelabau*) berkisar antara 0,0100-0,1651 (Kusmini *et al.*, 2011), ikan bujuk (*Channa lucius*) berkisar antara

0,2186-0,3668 (Azrita *et al.*, 2011), ikan asang (*Osteochilus vittatus*) berkisar antara 0,0431-0,1512 (Syandri *et al.*, 2015). Hal serupa juga ditemukan pada ikan baung (*Mystus nemurus*) (Nugroho *et al.*, 2005), ikan butini (*Glossobius matanensis*) (Mamangkey *et al.*, 2007), dan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) (Arifin & Kurniasih, 2007).

Secara statistik dengan menggunakan AMOVA (*analysis molecular variance*) menunjukkan bahwa sebagian besar menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata secara genetik antara *strain* ikan kalui yang diuji ($P > 0,05$) pada *strain* Tambago, Palapah, Jepun, dan Krista, sedangkan untuk *strain* Merah berbeda nyata ($P < 0,05$) (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan keempat *strain* tersebut yaitu Tambago, Palapah, Jepun, dan Krista berasal dari nenek moyang yang sama. Perbedaan yang ada secara fenotipe yaitu berupa warna diduga adalah pengaruh lingkungan. Sementara ikan kalui *strain* Merah merupakan ikan asli yang berasal dari Kabupaten Lima Puluh Kota karena jenis *strain* ini tidak dijumpai di luar Kabupaten Lima Puluh Kota. Namun demikian fenomena ini masih memerlukan kajian lebih lanjut.

Hasil penghitungan jarak genetik menurut Nei (1972), tertera pada Tabel 3. Jarak genetik rata-rata antara *strain* ikan kalui adalah sekitar 0,407; dengan nilai terendah terdapat antara *strain* Tambago dan Palapah. Nilai jarak genetik pada ikan kalui ini relatif setara dibandingkan jarak genetik antara ikan dari populasi yang sama, seperti pada ikan kancra (Nugroho *et al.*, 2006).

Dendrogram yang dibentuk berdasarkan jarak genetik tersebut menunjukkan bahwa *strain* Jepun mempunyai jarak lebih dekat dengan Palapah dan Tambago. *Strain* Krista lebih dekat dengan *strain* Merah (Gambar 3). Berdasarkan hasil pengamatan di lapangan, ikan kalui *strain* Tambago dan Palapah mempunyai corak yang serupa, dan yang membedakannya hanya dari warna sisiknya. Ikan kalui *strain* Tambago

Tabel 2. Hasil uji Fst berpasangan antar *strain* ikan kalui
 Table 2. *Fst pairwise test of kalui fish*

Strain	Jepun	Merah	Krista	Tambago	Palapah
Jepun	****				
Merah	0.1058 ^{ns}	****			
Krista	0.0051 ^{ns}	0.0027 [*]	****		
Tambago	0.0996 ^{ns}	0.0266 [*]	0.6214 ^{ns}	****	
Palapah	0.2931 ^{ns}	0.2283 ^{ns}	0.8674 ^{ns}	1.000 ^{ns}	****

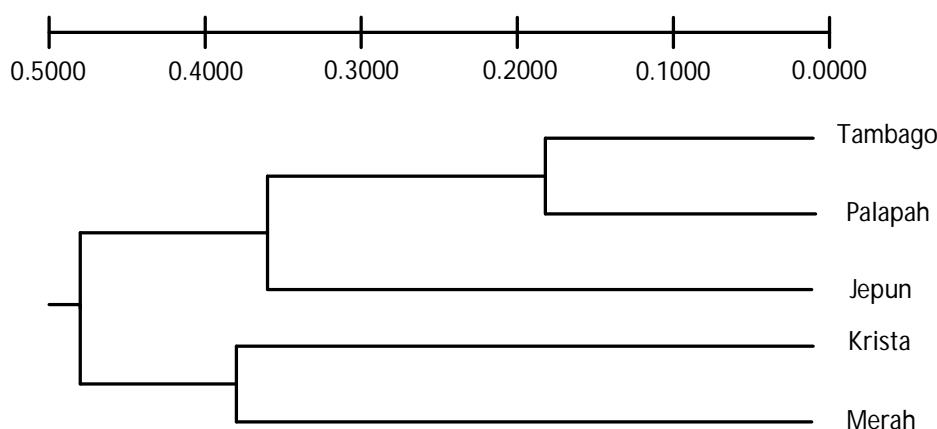
Tabel 3. Jarak genetik antar *strain* ikan kalui
 Table 3. *Genetic distance among kalui fish*

Strain	Jepun	Merah	Krista	Tambago	Palapah
Jepun	****				
Merah	0.3836	****			
Krista	0.5131	0.4703	****		
Tambago	0.4905	0.4777	0.3976	****	
Palapah	0.4209	0.4112	0.3277	0.1841	****

mempunyai warna lebih gelap, sedangkan *strain* Palapah mempunyai warna lebih terang dengan warna sisik lebih keabu-abuan. Hasil ini menunjukkan bahwa kemungkinan kawin silang antar *strain* yang mempunyai peluang terbaik untuk menghasilkan benih unggul untuk kegiatan budidaya adalah antara *strain* Palapah dengan Merah atau Merah dengan Krista.

Dari hasil analisis molekuler DNA dan karakter morfometrik (Azrita & Syandri, 2015) ikan kalui yang

terdapat di pembudidaya di Kabupaten Lima Puluh Kota dapat dinyatakan bahwa lima *strain* ikan kalui yang ditemukan secara sistematis (kategori pedigree) tidak merupakan spesies yang berbeda. Namun perbedaan hanya merupakan kategori *strain-strain* sebagai berikut yaitu *strain* Tambago, Palapah, Merah, Jepun, dan Krista yang merupakan hasil silang perkawinan antar *strain* yang dilakukan oleh pembenih ikan. Hal yang sama juga terdapat di wilayah pembenihan ikan kalui di



Gambar 3. Dendrogram jarak genetik Nei (1972) antar *strain* ikan kalui
 Figure 3. *Dendrogram based on Nei genetic distance of kalui fish*

Provinsi Jawa Barat yang terdiri atas *strain* Soang, Jepang, Paris, Bastar, dan Porselen (Suseno *et al.*, 2000; Sudarto, 1989). Menurut Nugroho (2013), bahwa pada pengujian variasi genetik *strain* Bastar, Bule, dan Bluesafir yang dikoleksi dari daerah Parung, Jawa Barat menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata di antara ketiga *strain* tersebut.

KESIMPULAN

Perbedaan yang nyata secara genetik hanya terdapat antara *strain* ikan kalui Merah dengan Tambago dan Krista. Terdapat variasi genetik dari lima *strain* ikan kalui. Variasi genetik tertinggi diamati pada ikan kalui *strain* Krista dengan nilai heterogenitas 0,1756 kemudian diikuti oleh *strain* Merah (0,1735); Palapah (0,1480); Jepun (0,0594); dan Tambago (0,0203). Jarak rata-rata Nei genetik adalah 0,407; dengan nilai terendah yang teramati antara *strain* Tambago dan Palapah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dinas Perikanan Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat dan Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Bogor atas terlaksananya kegiatan ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Sri Sundari (BPPBAT) atas bantuan dalam pelaksanaan analisis.

DAFTAR ACUAN

- Anonim. (2002). Budidaya ikan gurami (*Osphronemus gouramy*). Wanritek. Teknologi Tepat Guna. Menteri Negara Riset dan Teknologi.
- Arifin, O.Z., & Kurniasih, T. (2007). Variasi genetik tiga populasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berdasarkan polimorfisme mt-DNA. *J. Ris. Akuakultur*, 2(1), 67-75.
- Asih, S., Nugroho, E., Kristanto, A.H., & Mulyasari. (2008). Penentuan variasi genetik ikan batak (*Tor sorro*) dari Sumatera Utara dan Jawa Barat dengan metode RAPD. *J. Ris. Akuakultur*, 3(1), 91-97.
- Azrita, Syandri, H., Nugroho, E., Dahelmi, & Syaifullah. (2011). Variasi genetik ikan bujuk (*Channa lucius*) berdasarkan RAPD dari Sumatera Barat, Jambi dan Riau. *Berita Biologi*, 10(5), 675-680.
- Azrita, & Syandri, H. (2015). Morphological character among five strains of giant gourami, *Osphronemus gorami* Lac 1801. Using a truss morphometric system. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6(2), 344-350.
- Ferguson, A.J., Taggart, B., Prodohl, P.A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P., & Hynes, R.A. (1995). The application of molecular markers to the study and conservation of fish

- population, with special reference to Salmo. *Journal of Fish Biology*, 47, 103-126.
- Ikpeme, E.V., Udensi, O.U., Ekaluo, U.B., Kooffreh, M.E., Okolo, C.M., Ekpo, P.B., & Ogbonna, N.C. (2015). Unveiling the genetic diversity in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) using random amplified polymorphism DNA (RAPD) fingerprinting technique. *Asian Journal of Animal Science*, 9(5), 187-197.
- Kusmini, I.I., Gustiano, R., & Mulyasari. (2011). Karakterisasi genetik ikan kelabau (*Osteochilus kelabau*) dari berbagai lokasi di Kalimantan Barat menggunakan metode RAPD. (Random Amplified Polymorphism DNA). *Berita Biologi*, 10(4), 449-454.
- Kusmini, I.I., Hadie, L.E., Hadie, W., & Kristanto, A.H. (2000). Karakterisasi dalam karakter fenotipe beberapa ras ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) yang berpotensi dalam budidaya dengan analisis truss morfometrik. *Symposium Nasional Pengelolaan Plasma Nutfah*. Komisi Nasional Plasma Nutfah. Bogor, hlm. 614-620.
- Lia, E. (2006). Analisa keanekaragaman genetik ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) varietas Bluesafir dengan menggunakan metode RAPD. Skripsi. Universitas Pendidikan Indonesia (UPI). Bandung.
- Mamangkey J.J., Sulistiono, Sjafei, D.S., Soedarma, D., Sukimin, S., & Nugroho, E. (2007). Keragaman genetik ikan endemik Butini (*Glossogobius matanensis*) berdasarkan penanda Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) di Danau Towuti, Sulawesi Selatan. *J. Ris. Akuakultur*, 2(3), 389-397.
- Miller, M.P. (1997). Tools for population genetic analysis (TFPGA) (version 1.3). A Windows Program for the Analysis of Allozyme and Molecular Population Genetic Data. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *American Nature*, 106, 283-292.
- Nugroho, E., Satyani, D., & Rusmaedi. (1993). Evaluasi potensi genetik dari beberapa ras gurame. *Buletin Penelitian Perikanan Darat*, 12(1), 30-36.
- Nugroho, E. (1997). Practical manual on detection of DNA Polymorphism in fish population study. *Bulletin of Marine Science and Fisheries*, 17, 109-129.
- Nugroho, E., Hadie, W., Subagja, J., & Kurniasih, T. (2005). Variasi genetik dan morfometrik pada ikan baung (*Mystus nemurus*) dari Jambi, Wonogiri dan Jatiluhur. *J. Pen. Perik. Indonesia*, 11(7), 1-6.
- Nugroho, E., Subagja, J., Asih, S., & Kurniasih, T. (2006). Evaluasi keragaman genetik ikan kancra dengan menggunakan marker mtDNA D-loop dan Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD). *J. Ris. Akuakultur*, 1(2), 211-217.

- Nugroho, E., & Kusmini, I.I. (2007). Evaluasi variasi genetik tiga ras ikan gurame (*Osphorenemus gouramy*) dengan metode isozyme. *J. Ris. Akuakultur*, 2(2), 51-57.
- Nugroho, E. (2013). Genetic variability of giant gouramy strain revealed by random amplified polymorphism DNA. *Indonesian Aquaculture Journal*, 8(1), 107-111.
- Nugroho, E., Rahayuni, E., & Hamid, M.A. (2013). Gurame Batang Hari, benarkah strain berbeda?: suatu kajian genetik dengan menggunakan marker DNA. *Media Akuakultur*, 8(1), 9-12.
- Rahman, S.M.Z., Khan, M.R., Islam, S., & Alam, M.S. (2009). Genetic variation of wild and hatchery populations of the catla Indian major carp (*Catla catla* Hamilton 1822: Cypriniformes, Cyprinidae) revealed by RAPD markers. *Genetic and Molecular Biology*, 32, 197-201.
- Rashid, J., Tamanna, F.M., Hossain, M.A.R., & Alam, Md.S. (2012). Genetic variation in endangered butter catfish, (*Ompok bimaculatus* Bloch) population revealed by random amplified polymorphism DNA (RAPD) fingerprinting. *International Journal of Biosciences*, 2(9), 85-93.
- Setijaningsih, L., Arifin, O.Z., & Gustiano, R. (2007). Karakterisasi tiga strain ikan gurame (*Osphoronemus gouramy*) berdasarkan metode truss morfometrik. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 7(1), 23-30.
- Soewardi, K. (1995). Karakterisasi popuasi ikan gurame *Osphorenemus gouramy* Lac dengan metode biokimia. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, 3(2), 23-31.
- Soewardi, K, Rachmawati, R., Affandi, R., & Bengen, D.G. (1995). Penelusuran varietas ikan gurame *Osphoronemus gouramy* Lac berdasarkan penampilan karakter luar. *Jurnal Ilmu Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, 3(2), 31-35.
- Sudarto. (1989). Porselin, Bluesafir dan Paris yang bertelur. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 11(2), 1-2.
- Suseno, D., Rusmaedi, Kusmini, I.I., Dharma, L., & Arifin, O.Z. (2000). Karakterisasi morfologi ikan gurame strain Soang dan Paris. *Simposium Nasional Pengelolaan Pemuliaan dan Plasma Nutfah*. Bogor , hlm. 589-595.
- Syandri, H., Elfiandri, Azrita, & Junaidi. (2015). Social Status of the Fish-farmers of Floating-net-cages in Lake Maninjau, Indonesia. *Journal Aquaculture Research Development*, 7, 1-6.
- Theodorakis, C.W., & Bickham, J.W. (2004). Molecular characterization of contaminant-indicative RAPD markers. *Ecotoxicology*, 13, 303-309.