

KARAKTERISTIK GENETIK POPULASI TIRAM MUTIARA (*Pinctada margaritifera*) TERKAIT DENGAN DISTRIBUSI GEOGRAFISNYA DI PERAIRAN INDONESIA

Rini Susilowati^{*)}, Komar Sumantadinata^{**)}, Dinar Tri Soelistyowati^{***)}, dan Achmad Sudradjat^{****)}

^{*)} Balai Besar Riset Bioteknologi dan Pengolahan Produk Kelautan dan Perikanan
Jl. Petamburan VI, Slipi, Jakarta
E-mail : rinicas@yahoo.com

^{**)} Departemen Budidaya Perairan-FPIK, Institut Pertanian Bogor
Jl. Lingkar Kampus, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

^{****)} Pusat Riset Perikanan Budidaya
Jl. Ragunan 20, Pasar Minggu, Jakarta Selatan 12540

Naskah diterima: 20 Oktober 2008; Diterima publikasi: 12 Januari 2009

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk memetakan keragaman genetik lima populasi tiram mutiara di Indonesia (Sumbawa, Bali Utara, Selat Sunda, Belitung, Sulawesi Selatan) dengan teknik mtDNA RFLP daerah amplifikasi Cytochrome Oxydase I (COI) dan hubungan kekerabatannya. Lima puluh tiram mutiara (*Pinctada margaritifera*) yang dianalisis menghasilkan DNA teramplifikasi sebesar 750 pb pada daerah COI mtDNA dengan teknik RFLP. Delapan belas komposit haplotipe terdeteksi dengan menggunakan tiga enzim restriksi: *FokI*, *HaeIII*, dan *NlaIV*. Diversitas haplotip rata-rata sebesar $0,255 \pm 0,093$. Lima populasi tiram mutiara menghasilkan tiga kelompok dengan jarak genetik terendah adalah populasi Sumbawa dan Bali Utara (0,017) dan terjauh adalah populasi Sulawesi Selatan (0,142). Populasi Sulawesi Selatan merupakan populasi unik berdasarkan distribusi haplotipe BCAA (60%) dengan nilai keragaman genetik terendah (0,105) dibandingkan dengan populasi lainnya (0,177-0,328).

KATA KUNCI: keragaman genetik, jarak genetik, mt-DNA, *Pinctada margaritifera*

ABSTRACT: *Characterization of genetic population of pearl oyster (Pinctada margaritifera) and the relationship of its geographical distribution in Indonesian waters. By: Rini Susilowati, Komar Sumantadinata, Dinar Tri Soelistyowati, and Achmad Sudradjat*

The objectives of this study were to map the genetic diversity of five populations of pearl oyster in Indonesian waters using restriction fragment length polymorphism analysis of DNA COI gene and their genetic relationships. A total of 50 individual of pearl oysters (Pinctada margaritifera) were analyzed for genetic variations within a 750-base pair region of the mitochondrial DNA COI gene using restriction fragment length polymorphism analysis. 18 composite haplotypes were detected following three digestions of endonuclease: FokI, HaeIII, and NlaIV. Five populations of pearl oysters formed three groups where the lowest values of Nei's genetic distance were among Sumbawa and North Bali populations (0.017) and highest were among the South Sulawesi populations (0.142). The South Sulawesi populations possess uniqueness

based on the haplotype distribution of BCAA (60%) with the lowest values of genetic diversities (0.105) compared to other populations (0.177--0.328).

KEYWORDS: *mitochondrial DNA, genetic distance, genetic diversity, Pinctada margaritifera*

PENDAHULUAN

Tiram mutiara *Pinctada margaritifera* tersebar luas di perairan Indonesia dan merupakan salah satu spesies penting dalam industri mutiara. Perkembangan industri budidaya tiram mutiara yang semakin pesat menyebabkan kebutuhan stok benih tiram mutiara jenis ini juga meningkat. Untuk menjaga kelestarian populasi ini maka diperlukannya suatu manajemen populasi yang baik, di antaranya dengan kegiatan budidaya. Kegiatan budidaya sangat bergantung dengan kebutuhan benih unggul yang didapatkan dari stok induk unggul. Stok induk unggul dapat diperoleh dengan seleksi dan hibridisasi berdasarkan potensi genetiknya guna menghasilkan keturunan yang unggul. Analisis keragaman genetik berdasarkan DNA mitokondria tiram mutiara merupakan salah satu metode untuk menentukan potensi genetik populasi tiram mutiara.

Beberapa penelitian terkait dengan genetik tiram mutiara di Indonesia di antaranya adalah tentang populasi *P. maxima* dari Madura dan Lombok (Benzie *et al.*, 2003), populasi Sumbawa dan Lombok (Widowati *et al.*, 2007), serta dari genus *Pinctada* lainnya seperti *P. albina*, *P. maculata*, *P. radiata* (Haond *et al.*, 2002), *P. martensii* (Hosoi *et al.*, 2004), dan *P. imbricata* (Masaoka & Kobayashi, 2005; Yu *et al.*, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk memetakan keragaman genetik lima populasi tiram mutiara *P. margaritifera* di Indonesia (Sumbawa, Bali Utara, Selat Sunda, Belitung, Sulawesi Selatan) dengan teknik mtDNA RFLP daerah amplifikasi Cytochrome Oxydase I (COI) dan hubungan kekerabatannya sebagai informasi dalam pengelolaan stok induk untuk budidaya yang berkelanjutan.

METODE PENELITIAN

Contoh tiram mutiara dikoleksi dari bulan Mei sampai dengan Desember 2007 dari lima lokasi, yaitu Pulau Panjang, Sumbawa (SB); Teluk Pegamatan, Bali Utara (BA); Pulau

Handeuleum, Selat Sunda (SS); Selat Ru, Belitung (BL); dan Teluk Awerange, Sulawesi Selatan (SL). Analisis genetik dengan teknik mtDNA RFLP dilakukan dari bulan Februari sampai dengan Juni 2008 di laboratorium rekayasa genetik, Loka Riset Pemuliaan dan Teknologi Budidaya Perikanan Air Tawar, Sukamandi.

Analisis DNA mitokondria (mtDNA) meliputi ekstrak DNA yaitu menghaluskan potongan daging sebanyak 20 mg/contoh dengan *scapel* kemudian dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL yang telah diisi 250 µL larutan lisis sel yang terdiri atas 10 mL Tris pH 8; 100 mM EDTA pH 8; 2% SDS, lalu ditambahkan 5 mL protein kinase dan inkubasi pada suhu 55°C selama 4–24 jam. Tahap berikutnya adalah tahap eliminasi protein dan RNA yaitu dengan menambahkan 250 µL amonium asetat ke dalam larutan kemudian dihomogenkan (aduk kencang) selama lima menit hingga tercampur rata. Diaduk perlahan selama 15 menit pada suhu ruang, selanjutnya dimasukkan dalam suhu 4°C selama 10 menit. Tahap selanjutnya adalah tahap pengendapan protein dengan sentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Larutan *supernatant* (lapisan cair) dipindahkan ke dalam tabung baru dan ditambahkan alkohol 100% sebanyak dua kali volume *supernatant*, lalu disentrifugasi kembali pada kecepatan 13.000 rpm selama 5 menit kemudian alkohol dibuang, lalu ditambahkan alkohol 70% sebanyak 600 µL dan disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 3 menit. Lapisan alkohol dibuang dan dikering-anginkan selama 30 menit, ditambahkan 50 µL buffer T10E0.1 dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 1 jam. mtDNA diamplifikasikan menggunakan primer universal Cytochrome Oxidase I (COI) *forward*: 5'-ATA ATG ATA GGA GGR TTT GG-3' dan *reverse*: 5'-GCT CGT GTR CTA CRT CCA T-3' (Williams & Benzie, 1997). Amplifikasi dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan komposit premix yaitu dH₂O 13,6 mL; 10 x *Buffer* 5 mL; 25 mM MgCl₂ 1,5 mL; 2,5 mM dNTP 0,5 mL; 10 pM primer masing-masing 1,6 mL; 5 unit/mL *Taq-DNA polymerase* 0,2 mL; genom DNA 1 mL, diprogram

menurut Benzie *et al.* (2003) yaitu proses *denaturasi* pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 45°C selama 1 menit, dan *extension* pada suhu 72°C selama 1 menit, sebanyak 30 siklus. Digesti mtDNA dengan enzim restriksi sesuai dengan prosedur standar perusahaan. Hasil restriksi kemudian dipisahkan secara elektroforesis dengan menggunakan gel agarose 3% dalam Tris-Boric-EDTA (TBE) *buffer* dan diamati dengan illuminator (UV) yang disambungkan dengan komputer untuk mencetak gambarnya.

Keragaman genetik intrapopulasi dan perbedaan genetik interpopulasi diukur berdasarkan keragaman haplotip (Nei, 1987) dan jarak genetik (Reynolds *et al.*, 1983). Hubungan filogenetik antar populasi digambarkan dalam bentuk dendrogram berdasarkan analisis pengelompokan terhadap nilai jarak genetik menurut metode jarak rata-rata UPGMA (*Unweighted Pair Group Method by Average*) (Bermingham, 1990) dalam program TFGPA.

HASIL DAN BAHASAN

Amplifikasi daerah COI mtDNA pada tiram mutiara, *P. margaritifera* menghasilkan fragmen DNA berukuran sekitar 750 pb dan

ditemukan pada semua populasi. Digesti sekuen mtDNA teramplifikasi menggunakan lima enzim restriksi menghasilkan tipe restriksi monomorfik (*DpnII* dan *Eco0190I*) dan tipe restriksi polimorfik yaitu *FokI* (empat tipe restriksi), *HaeIII* (tiga tipe) dan *NlaIV* (empat tipe) (Tabel 1).

Distribusi tipe restriksi A dan B monomorfik (*FokI*) pada populasi Belitung dan Sumbawa juga ditemukan pada populasi Selat Sunda (40%) dan Bali Utara (20%) (Gambar 1). Tipe B monomorfik (*FokI*) pada populasi Sumbawa juga ditemukan dominan pada populasi Bali Utara (80%) dan Sulawesi Selatan (80%). Hal ini menggambarkan penyebaran didukung oleh arus air ke selatan dari Selat Makassar dan tipe B berkembang baik pada populasi Sumbawa sedangkan tipe restriksi C (*NlaIV*) monomorfik pada populasi Sulawesi Selatan, ditemukan dominan pada populasi Sumbawa (40%) dan Selat Sunda (70%) menggambarkan aliran gen berlangsung melalui arus utara dari Selat Makassar dan arus barat dari perairan Laut Jawa. Rusman (2003) menyatakan bahwa pergerakan massa air di Selat Makassar pada bulan Desember/Januari-Mei mengarah ke selatan dan massa air dari Laut Flores dan Laut Jawa

Tabel 1. Distribusi genotip (tipe restriksi) pada masing-masing populasi tiram mutiara
 Table 1. Distribution of genotype (restriction type) within each population of pearl oyster

Enzim <i>Enzyme</i>	Tipe restriksi <i>Restriction type</i>	Ukuran fragmen (pb) <i>Fragment sizes (bp)</i>	Sumbawa	Bali Utara	Selat Sunda	Belitung	Sulawesi Selatan
<i>FokI</i>	A	600,150	-	2	4	10	-
	B	350, 350,50	10	8	1	-	8
	C	500, 250	-	-	4	-	2
	D	450, 300	-	-	1	-	-
<i>HaeIII</i>	A	300, 300, 100, 50	8	6	4	7	3
	B	600,150	-	-	-	3	7
	C	500, 250	2	4	6	-	-
<i>NlaIV</i>	A	500,250	3	3	3	3	-
	B	350, 350, 50	3	3	-	7	-
	C	500, 200, 50	4	-	7	-	10
	D	600, 150	-	4	-	-	-
<i>DpnII</i>	A	300, 300, 150	2	2	2	2	2
<i>Eco090I</i>	A	300, 300, 150	2	2	2	2	2

bergerak ke arah barat pada bulan Mei—November. Distribusi tipe restriksi A (*Haelll*) dominan pada populasi Sumbawa (80%), Belitung (70%), Bali Utara (60%), namun pada populasi lainnya frekuensinya kurang dari 50%. Tipe C (*Haelll*) ditemukan pada populasi Sumbawa, Bali Utara, dan dominan pada populasi Selat Sunda (60%), sedangkan tipe B yang ditemukan dominan pada populasi Sulawesi Selatan (70%) ditemukan juga pada populasi Belitung (30%). Distribusi genotipe pada lima populasi tiram mutiara tersebut diduga dipengaruhi juga oleh aliran arus yang terjadi di Selat Makassar, Laut Cina Selatan, dan Laut Jawa. Berdasarkan distribusi tipe

restriksi monomorfik dan distribusi tipe restriksi polimorfik pada keseluruhan populasi tiram mutiara, menunjukkan bahwa kelima populasi tersebut masih dalam satu distribusi geografis dari spesies *P. margaritifera*.

Analisis komposit haplotip menghasilkan 24 komposit haplotip pada seluruh populasi (Tabel 2). Distribusi komposit haplotip BBCAA tertinggi ditemukan pada populasi Sulawesi Selatan (60%), namun tidak ditemukan pada populasi lainnya. Hal yang sama ditemukan juga pada komposit haplotip CCCAA (40%) pada populasi Selat Sunda dan AABAA (40%) pada populasi Belitung. Populasi Bali Utara, Selat Sunda, dan Belitung dicirikan dengan

Tabel 2. Distribusi frekuensi dan komposit haplotip pada masing-masing populasi tiram mutiara

Table 2. Distribution of frequency and composite haplotype within each population of pearl oyster

Komposit haplotip <i>Composite haplotype</i>	Jumlah <i>Total</i>	Sumbawa	Bali Utara	Selat Sunda	Belitung	Sulawesi Selatan
BAAAA	4	0.3	0.1	-	-	-
BACAA	6	0.4	-	-	-	0.2
BCBAA	4	0.2	0.2	-	-	-
BABAA	2	0.1	0.1	-	-	-
BADAA	2	-	0.2	-	-	-
AAAAA	7	-	0.1	0.3	0.3	-
AADAA	1	-	0.1	-	-	-
BCAAA	1	-	0.1	-	-	-
BCDAA	1	-	0.1	-	-	-
AACAA	1	-	-	0.1	-	-
DCCAA	1	-	-	0.1	-	-
CCCAA	4	-	-	0.4	-	-
BCCAA	1	-	-	0.1	-	-
ABBAA	3	-	-	-	0.3	-
AABAA	4	-	-	-	0.4	-
BBCAA	6	-	-	-	-	0.6
CBCAA	1	-	-	-	-	0.1
BBCAA	1	-	-	-	-	0.1
Jumlah sampel <i>Number of sample</i>	50	10	10	10	10	10
Jumlah haplotip <i>Number of haplotype</i>		4	8	5	3	4
Keragaman haplotip <i>Haplotype diversity</i>		0.206	0.307	0.328	0.177	0.105

Tabel 3. Jarak genetik interpopulasi tiram mutiara (*Pinctada margaritifera*)

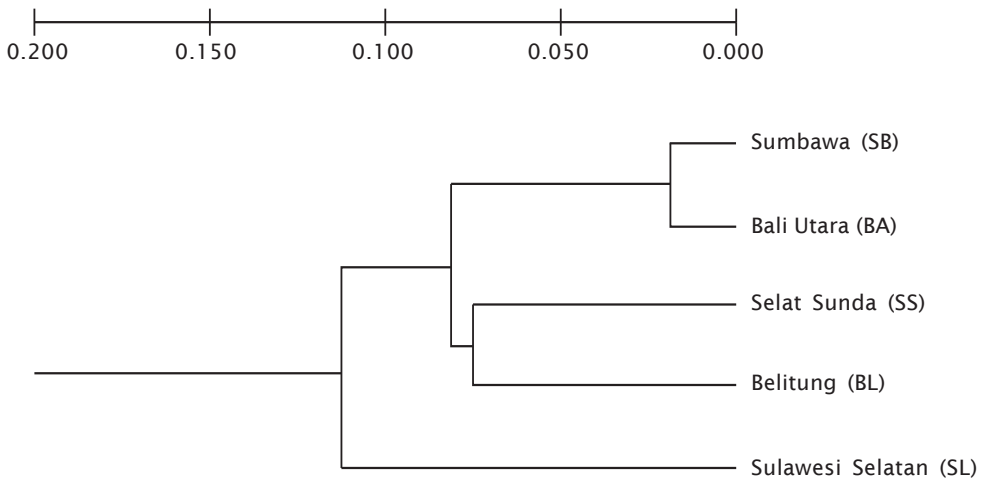
Table 3. Genetic distance of interpopulation of pearl oyster (*Pinctada margaritifera*)

Populasi	Sumbawa	Bali Utara	Selat Sunda	Belitung	Sulsel
Sumbawa	-				
Bali Utara	0.017	-			
Selat Sunda	0.067	0.084	-		
Belitung	0.056	0.091	0.069	-	
Sulsel	0.105	0.115	0.08	0.142	-

distribusi komposit AAAAA, dan dua populasi lainnya (Sumbawa dan Sulawesi Selatan) dicirikan oleh distribusi komposit haplotip BACAA. Populasi Selat Sunda dan Bali Utara memiliki ragam haplotip tertinggi (0,328 dan 0,307), diduga terkait dengan karakteristik kondisi lingkungan dan mekanisme evolusi untuk bertahan hidup dan bereproduksi. Perbedaan genetik dipengaruhi oleh letak geografis, perbedaan salinitas dan suhu (Koehn *et al.*, 1976; 1984) dan didukung oleh migrasi, seleksi, dan *genetic drift* (Frankham *et al.*, 2002). Blanc *et al.* (1996) melaporkan bahwa keragaman intraspesifik, perbedaan interpopulasi tiram di perairan dipengaruhi oleh faktor distribusi spasialnya karena tiram melalui tingkatan kehidupan dua fase (fase

planktonik dan bentik) serta migrasi dan seleksi alam yang menyertai pola adaptasinya.

Beberapa tipe haplotip (BAAAA, BCBA, BABAA) populasi Sumbawa dan Bali Utara diduga kedekatan secara geografis dan pertukaran populasi tiram mutiara budidaya yang dilakukan oleh pembudidaya. Menurut Hamzah *et al.* (2003), induk tiram mutiara di kawasan tengah Indonesia (Sumbawa dan Bali Utara) didatangkan dari Maluku. Sedangkan, haplotip BACAA yang dominan pada populasi Sumbawa (40%) dan ditemukan juga pada populasi Sulawesi Selatan (20%) diduga terkait dengan distribusi geografisnya Selat Alas ada di bagian selatan dan Selat Makassar di bagian



Gambar 1. Dendrogram hubungan kekerabatan (filogeni) lima populasi tiram mutiara (*Pinctada margaritifera*)

Figure 1. Dendrogram of neighbour joining (phylogeny) of five populations of pearl oyster (*Pinctada margaritifera*)

utara. Massa air oseanik masuk secara tetap ke Laut Jawa melalui Selat Makassar yang berasal dari Samudera Pasifik dan Laut Flores yang berasal dari Samudera Hindia (Rusman, 2003). Menurut Stenzel (1971), organisme tiram yang hidup di perairan laut, ketika masa planktonik dapat secara mudah terdispersi oleh arus, misalnya pada larva genus *Crassostrea* di daerah Gulf-Stream dapat terdispersi sampai 1.000—1.300 km pada kecepatan arus 2 m/detik. Demikian pula komposit haplotip AAAAA (*common haplotype*) pada tiga populasi Bali Utara, Selat Sunda, dan Belitung diduga dipengaruhi oleh aliran arus pada perairan tersebut. Aliran arus pada bulan (Januari-Mei) di perairan Belitung mengalami pergerakan massa air dari Laut Cina Selatan melalui Selat Karimata mengarah ke Laut Jawa dan Laut Flores menuju Samudera Hindia (Wyrcki, 1961). Menurut Hendiarty (2003), perairan Selat Sunda pada musim angin timur (Juni-September) terjadi fenomena pergerakan massa air Laut Jawa menuju Samudera Hindia melalui Selat Sunda. Aliran gen dapat terjadi selama siklus stadia planktonis yang berlangsung selama 20—22 hari (Haws & Ellis, 2000).

Menurut Bayne (1983), faktor arus dan fase planktonik yang cukup lama dapat menyebabkan distribusi spasial organisme tiram menjadi sangat luas, seperti *Crassostrea virginica* di daerah litoral Amerika Utara yang mempunyai fase planktonik selama tiga minggu ditemukan kesamaan genetiknya dengan populasi Nouvelle-Ecosse sampai daerah Yucatan. Jenis jenis *Pecten maximus* dari Norwegia juga mempunyai kesamaan genetik dengan jenis yang ditemukan di Maroko Selatan.

Keragaman haplotip tiram mutiara dalam penelitian ini lebih rendah dari keragaman haplotip pada *Pinctada maxima* populasi Australia dan Indonesia (0,129—0,582) (Benzie *et al.*, 2003) dan *Crassostrea gigas* populasi Cina (0,266—0,486) (Appleyard & Ward, 2006). Keragaman haplotip pada populasi Selat Sunda adalah yang tertinggi (0,328) dibanding populasi lainnya, hal ini diduga karena populasi Selat Sunda berada di daerah konservasi Ujung Kulon. Soca *et al.* (2006) menjelaskan bahwa keragaman genetik bahan dasar pada proses adaptasi spesies sehingga bertahan hidup. Berdasarkan analisis keseimbangan distribusi genotipik populasi menurut Hardy-Weinberg menggunakan program TFGPA menghasilkan

nilai *p-value* berkisar antara 0,000—0,0016 yang menunjukkan bahwa distribusi haplotip intrapopulasi dalam keseimbangan panmixia Hardy-Weinberg.

Berdasarkan analisis dendrogram (UPGMA) menunjukkan perbedaan genetik interpopulasi yang membentuk dua kelompok terpisah (Tabel 3 dan Gambar 1) yaitu Sumbawa dan Bali Utara ($D=0,017$) dan Selat Sunda dan Belitung ($D=0,069$) terhadap populasi Sulawesi Selatan. Pemisahan genetik pada populasi tiram mutiara Sulawesi Selatan ini diduga karena distribusi haplotip (BBCAA) (60%) yang spesifik (Tabel 2). Sulawesi Selatan dipengaruhi oleh perubahan lingkungan perairan di Selat Makassar bagian timur dengan salinitas berkisar 34‰—35‰ (Rusman, 2003) dan secara geografis Teluk Awerange memiliki mulut teluk yang sempit dengan terumbu karang sebagai penghalang arus, sehingga pengenceran salinitas pada teluk ini tergolong rendah.

KESIMPULAN

1. Lima populasi tiram mutiara (Sumbawa, Bali Utara, Belitung, Selat Sunda, dan Sulawesi Selatan) membentuk dua kelompok dengan jarak genetik terendah antara Sumbawa dan Bali Utara (0,017) dan Sulawesi Selatan yang merupakan populasi terjauh (0,142).
2. Populasi Sulawesi Selatan merupakan stok yang memiliki keunikan berdasarkan distribusi haplotip BBCAA (60%) dengan keragaman genetik terendah (0,105) dibandingkan populasi lainnya (0,177—0,328).

SARAN

1. Persilangan dan perkawinan antara populasi tiram mutiara dapat dilakukan berdasarkan letak geografis dan keragaman genetiknya untuk meningkatkan keragaman genetik dalam manajemen stok. Hasil analisis keragaman genetik diperoleh keragaman genetik tinggi yaitu populasi Selat Sunda dan Bali Utara, sehingga kedua populasi tersebut dapat disilangkan.
2. Analisis lanjutan ke tingkat sekuensing perlu dilakukan, sehingga didapatkan hasil keragaman genetik yang lebih akurat.
3. Perlu dilakukan penambahan lokasi *sampling* untuk wilayah Indonesia Timur, agar dapat mewakili distribusi wilayah Indonesia.

DAFTAR ACUAN

- Anderson, S., Bankier, A.T., Barrell, B.G., Bruijn, M.H., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Screier, P.H., Smith, A.J., Staden, R., & Young, I.G. 1981. Sequence and Organization of The Human Mitochondrial Genome. *Nature*, 290 (5,806): 457—465.
- Appleyard, S.A. & Ward, R.D. 2006. Genetic Diversity and Effective Population Size in Mass Selection Lines of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, 254: 148—159.
- Bayne, B.L. 1983. Physiological Ecology of Marine Molluscan Larva. in Verdonk NH, JAM Van Den Biggelaar, AS Tompa (editors): *The Mollusca 3*. New York. Academy Press, p. 299—343.
- Benzie, J.A.H., Smith, C., & Sugama, K. 2003. Mitochondria DNA Reveals Genetics Differentiation Between Australian and Indonesia Pearl Oyster *Pinctada maxima* (James 1901) Populations. *Journal of Shellfish Research*, 22(3): 781—787.
- Bermingham, E. 1990. *Mitochondrial DNA and The Analysis of Fish Population Structure*. In: D.H. Whitmore (Ed.), *Electrophoretic and Isoelectric Focusing Techniques in Fisheries Management*. CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida, p. 107—129.
- Blanc, F., Bonhomme, Monterforte, M., and Campanini, C. 1996. Genetic Divergence Between Black-Lipped Pearl Oyster *Pinctada margaritifera*, *P. mazatlanica* populations. *Proceedings of the 8th International coral reef symposium*, Panama, 118 pp.
- Frankham, R., Ballou, J.D., & Briscoe, D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, 473 pp.
- Hamzah, M.S., Kaplale, A.B., Sangkala, & Roostam. 2003. Studi Alternatif Mempertahankan Kelangsungan Hidup Anakan Mutiara (*Pinctada maxima*) terhadap Fenomena Arus Dingin di Perairan Teluk Komba Lombok Barat. ISOL, 10—11 Desember 2003.
- Haond, S.A., Boundry, S.P., Saulnier, D., Seaman, T., Vonaur, V., Bonhommes, F., and Goyard, E. 2002. New Anonymous Nuclear DNA Markers for the Pearl Oyster *Pinctada margaritifera* and other *Pinctada* Species. *Molecular Ecology Notes*, 2: 220—222.
- Haws, M. and Ellis, S. 2000. Aquafarmer Information Sheet: Collecting Black-lip Pearl Oyster Spat. *CTSA Publication No. 144*.
- Hendiarty, N. 2003. Satelit Pemantau Fitoplankton. www.kompas.co.id. 27 November 2003.
- Hosoi, M., Hosoi-Tanabe, S., Sawada, H., Ueno, M., Toyohara, H., & Hayashi, I. 2004. Sequence and Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of The Large Subunit rRNA Gene of Bivalve: Simple and Widely Application Technique for Multiple Species Identification of Bivalve Larva. *Fisheries Science*, 70: 629—6.7.
- Koehn, R.K., Milkman, R., & Mitton, J.B. 1976. Population Genetics of Marine Pelecypods. IV. Selection, Migration and Genetic Differentiation in Blue Mussels *Mytilus edulis*. *Evolution*, 30: 2—32.
- Koehn, R.K., Hall, J.G., Innes, D.J., & Zera, A.J. 1984. Genetic Differentiation of *Mytilus edulis* in Eastern North America. *Marine Biology*, 79: 117—126.
- Masaoka, T. & Kobayashi, T. 2005. Species Identification of *Pinctada imbricata* Using Intergenic Spacer of Nuclear Ribosomal RNA Genes and Mitochondrial 16S Ribosomal RNA Gene Regions. *Journal Fisheries Science*, 71: 837—846.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, 512 pp.
- Reynolds, J., Weir, B.S., & Cockerham, C.C. 1983. Estimation for The Coancestry Coefficient: Basis for a Short-term Genetics Distance. *Genetics*, 105: 767—779.
- Rusman. 2003. *Kajian Biofisik Perairan Pesisir Sulawesi Selatan untuk Budidaya Laut Sistem Karamba Jaring Apung di Kabupaten Barru Sulawesi Selatan*. Tesis. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, 161 pp.
- Soca, S.H., Silva, C.R.M., Galindo, B.A., Almeida, F.S., Sodre, L.M.K., & Claludia, B.R.M. 2006. Population Genetic Structure of *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae) from an Urban Stream. *Hydrobiologia*, 553: 245—254.
- Stenzel, H.B. 1971. Oysters. in Moore KC (editor). *Treatise on Invertebrate Paleontology Part 3: Mollusca*. Geol. Soc. Amer and Univ. Kansas, p. 935—1,224.

- Widowati, I., Suprijanto, J., Permana, G.N., & Dwiono, S.A.P. 2007. Karakteristik Genetik Kerang Mutiara *Pinctada maxima* dari Pulau Lombok dan Pulau Sumbawa: Suatu Studi Pendahuluan. *in* Pringgenis D., Sudrajat, I. Insan, R. Hartati, dan Widianingsih. (eds.). *Prosiding Seminar Nasional Moluska dalam Penelitian, Konservasi dan Ekonomi*. Semarang, 17 Juli 2007, hlm. 246—256.
- Williams, S.T. & Benzie, J.A.H. 1997. Indo-West Pacific Patterns of Genetic Differentiation in High-Dispersal Starfish *Linckia laevigata*. *Mol. Ecol.*, 6: 559—573.
- Wyrcki, K. 1961. *Physical Oceanography of the Southeast Asian Waters*. Naga Report. Vol. 2. The University of California. Scripps Institution of Oceanography. Lajolla. California. p. 91—101.
- Yu, D.H., Jia, X. , & Chu, K.H. 2006. Common Pearl Oysters in China, Japan, and Australia are Conspecific: Evidence from ITS sequences and AFLP. *Fisheries Science* , 72: 1,183—1,190.