

HERITABILITAS, RESPON SELEKSI DAN GENOTIP DENGAN RAPD PADA IKAN NILA F3 (*Oreochromis niloticus*)

Rudhy Gustiano^{*)}, Irin Iriana Kusmini^{**)}, Iskandariah^{*)}, Otong Zenal Arifin^{**)}, Gleny Hasan Huwoyon^{**)}, dan Muhammad Hunaina Fariduddin Ath-thar^{**)}

^{*)} Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut
Jl. Br. Gondol Kec. Gerokgak Kab. Buleleng, Kotak Pos 140, Singaraja, Bali 81101
E-mail: rgustiano@yahoo.com

^{**)} Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16154

(Naskah diterima: 9 September 2013; Disetujui publikasi: 29 November 2013)

ABSTRAK

Seleksi pada ikan nila merupakan salah satu upaya untuk menghasilkan induk unggul agar produksi lebih efisien dan keuntungan meningkat. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi heritabilitas, respon seleksi dan genotip yang diperoleh pada seleksi ikan nila F3. Pembentukan F3 berasal dari anakan yang diperoleh dari hasil pemijahan 17 pasang induk F2 ikan nila yang tidak sekerabat. Benih-benih dipelihara hingga ukuran 3-4 cm (2-3 g) dan dilakukan pemilihan untuk menyeragamkan ukuran. Pengujian keragaan dilakukan dalam 16 waring berukuran 2 m x 2 m x 1,5 m dengan kepadatan 400 ekor ikan per waring selama lima bulan. Untuk analisis genotip digunakan F1, F2, dan F3 dengan masing-masing populasi diambil sepuluh contoh. Hasil ekstraksi DNA dianalisis dengan RAPD menggunakan primer OPA-2, OPA-3, dan OPC-5. Seleksi yang dilakukan memperlihatkan adanya respon seleksi pada F3 sebesar 16,9 g (15,73%) untuk jantan dan 10,0 g (10,62%) untuk betina. Sedangkan untuk *realized heritability* pada F3 adalah 0,39 untuk jantan dan 0,29 untuk betina. Secara total perolehan perbaikan bobot atau respon seleksi ikan jantan F3 dibandingkan dengan F1 adalah sebesar 31,1 g (28,95%). Sedangkan untuk ikan betina diperoleh nila sebesar 6,4 g (10,20%). Analisis DNA menunjukkan bahwa populasi F3 berbeda nyata secara genetik dibandingkan F2 dan F1. Penurunan nilai polimorfisme dan heterozigositas juga teramati pada keturunan hasil seleksi. Berdasarkan indikator yang ada, seleksi dapat diteruskan menggunakan pasangan induk yang lebih banyak dengan *rotational mating*, dan perlu dibentuk famili untuk meningkatkan keragaman.

KATA KUNCI: ikan nila, *Oreochromis*, pertumbuhan, seleksi, heritabilitas

ABSTRACT: *Heritability, response selection and genotype using RAPD on F3 of Nile tilapia. By: Rudhy Gustiano, Irin Iriana Kusmini, Iskandariah, Otong Zenal Arifin, Gleny Hasan Huwoyon, and Muhammad Hunaina Fariduddin Ath-thar*

Selection on Nile tilapia is an alternative to produce superior breeder for improving productivity and benefit. Objectives of current study was to evaluate heritability, response selection and genetic performance obtained after three generations of selection programme. Generation of F3 was produced from mating of 17 unrelated-sib families of F2. Fry was reared up to reach 2-4 cm sized (2-3 g) continued by collimation procedure to reduce size variation. Growth performance test was conducted in 16 floating net cages sized 2 m x 2 m x 1.5 m with density of 400 fish in each cage for five months. Ten samples of F1, F2, and F3 was taken out for RAPD analysis using OPA-2, OPA-3, and OPC-5 primers. The results showed that selection produced positive

response on F3, 16.9 g (15.73%) for male and 10.0 g (10.62%) for female. Meanwhile for realized heritability was 0.39 for male and 0.29 for female. Genetic gain on F3 was 31.1 g (28.95%) on F3 for male and 10.0 g (10.62) for female. DNA analysis indicated that F3 was significant different than F1 and F2. Polimorphism and heterozygosity was also lower in F3. Based on the result, selection program should be continued using more breeder used with rotational mating and more family should also be performed.

KEYWORDS: *nile tilapia, Oreochromis, growth, selection, heritability*

PENDAHULUAN

Nila merupakan ikan ekonomis penting di Indonesia dan merupakan salah satu komoditas unggulan dalam budidaya air tawar. Terlebih dengan adanya kasus KHV (*Koi Herpes Virus*) pada ikan mas, nila menjadi alternatif ikan yang dibudidayakan. Saat ini, Indonesia telah menjadi penghasil ikan nila nomor dua di dunia (Naim *et al.*, 2011). Untuk dunia, tahun 2010 tercatat bahwa produksi budidaya ikan nila melebihi 3,2 juta ton per tahun (Fitzsimmons *et al.*, 2011). Sekarang tidak diragukan lagi sebutan nila sebagai *aquatic chicken* menjadi suatu kenyataan. Berbagai jenis varietas dan strain telah banyak dikembangkan, dan saat ini ikan nila telah menjadi komoditas ikan yang paling diminati untuk dibudidayakan. Secara umum, produksi ikan nila telah melewati ikan mas yang merupakan ikan budidaya yang sangat penting selama ini. Dalam rangka mendukung peningkatan produksi ikan nila dalam negeri dilakukan upaya perbaikan genetik yang disusun dalam program yang terencana dengan baik (Gjedrem *et al.*, 1997; Gjoen *et al.*, 1997). Beberapa strain unggul ikan nila telah dihasilkan setelah program pemuliaan diterapkan sejak 2002 (Gustiano, 2008; Naim *et al.*, 2011).

Sehubungan dengan upaya peningkatan produksi di atas, salah satu pendekatan pemuliaan yang dilakukan adalah melalui seleksi untuk menghasilkan induk unggul. Seleksi merupakan suatu aktivitas untuk meningkatkan nilai pemuliaan (*breeding value*) dari suatu famili melalui pemilihan dan perkawinan dari induk terpilih (Tave, 1993). Penelitian seleksi ikan nila yang dilakukan diawali dengan pemahaman jenis populasi yang dibudidayakan masyarakat, dan pencarian populasi yang baik untuk program pemuliaan (Gustiano *et al.*, 2005). Dengan tahapan yang tepat, kegiatan seleksi untuk menghasilkan ikan nila unggul akan lebih cepat diperoleh. Tujuan dari penelitian ini adalah

untuk mengevaluasi heritabilitas dan respon yang diperoleh pada seleksi ikan nila F3.

BAHAN DAN METODE

Pembentukan generasi pertama dilakukan dengan cara memilih induk-induk dari 1.200 ekor calon induk nila GIFT 6 koleksi Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Bogor (Gustiano *et al.*, 2005). Pemilihan dilakukan dengan cara mengambil rata-rata populasi. Untuk betina dipilih sebanyak 300 ekor induk betina dengan ukuran bobot rata-rata $192,1 \pm 41,49$ g dan ukuran panjang $17,5 \pm 9,42$ cm. Sedangkan 100 ekor induk ikan jantan yang digunakan memiliki ukuran bobot rata-rata $371,9 \pm 42,14$ g dan ukuran panjang rata-rata $20,7 \pm 6,22$ cm. Induk-induk tersebut digunakan sebagai materi dalam seleksi yang dilakukan.

Benih F1 dihasilkan dari pemijahan 24 pasang induk yang tidak sekerabat. Untuk F2 dibentuk dengan melakukan pemijahan secara berpasangan induk-induk F1 yang tidak sekerabat sebanyak 14 pasang untuk program seleksi selanjutnya. Pembentukan F3 dilakukan dengan cara mencampurkan anakan yang diperoleh dari hasil pemijahan 17 pasang induk F2 ikan nila yang tidak sekerabat. Benih-benih yang diperoleh dibesarkan hingga mencapai ukuran 3-4 cm (2-3 g). Selanjutnya, dilakukan pemilihan (*collimation*) untuk mendapatkan ukuran yang seragam (Doyle & Talbot, 1986). Pemeliharaan untuk pengujian keragaan menggunakan 16 waring berukuran 2 m x 2 m x 1,5 m dengan kepadatan 400 ekor ikan per waring selama lima bulan.

Selama pemeliharaan, pakan diberikan sebanyak 5% bobot badan dengan frekuensi tiga kali per hari dan disesuaikan setiap dua minggu. Pengamatan dilakukan terhadap parameter pertumbuhan dan sintasan setiap bulan. Selama pemeliharaan, kualitas air, dan monitoring penyakit dilakukan untuk menghindari faktor-faktor non-genetis yang dapat memengaruhi. Untuk perhitungan parameter

genetik digunakan rumus (Falconer & MacKay, 1996).

$$\Delta R = S h^2$$

di mana:

ΔR = Respon seleksi

S (*Selection differential*) = Perbedaan antara rata-rata populasi terseleksi dengan rata-rata populasi

h^2 = Heritabilitas terukur dari populasi terseleksi

Untuk analisis genetik, ikan uji yang digunakan adalah F1, F2, dan F3. Masing-masing populasi diambil sepuluh sampel. Sampel ikan nila yang digunakan berupa sirip yang dipotong dan disimpan dalam larutan alkohol 70% untuk digunakan dalam proses analisis. DNA ikan diekstraksi dari potongan sirip dengan menggunakan metode *Phenol-Chloroform* (Nugroho *et al.*, 1997). Potongan sirip sebanyak 5-10 mg dimasukkan dalam mikrotube 1,5 mL yang telah diisi dengan 500 μ L TNES urea, kemudian ditambah 10 μ L protein kinase. Setelah di-*vortex* selama satu menit sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya ditambah larutan *Phenol Chloroform* sebanyak 1.000 μ L dan di-*vortex* selama satu menit. Sampel kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama sepuluh menit. Supernatan diambil dan dimasukkan dalam mikrotube baru, lalu ditambah dengan 1.000 μ L *ethanol* 90% dan 10 μ L CH_3COONa . Sampel lalu di-*vortex* selama satu menit sampai terlihat gumpalan berwarna putih. DNA diendapkan dengan cara dipusingkan dengan kecepatan 10.000 rpm selama sepuluh menit, lalu cairannya dibuang dan dikeringkan pada suhu kamar. Pelet DNA dilarutkan dengan 100 μ L Tris-EDTA (TE) *buffer* dan disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan pada tahap selanjutnya.

Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD) menggunakan primer OPA-02, OPA-03, dan OPC-05. Proses amplifikasi dilakukan

dengan metode *Polymerize Chain Reaction* (PCR) dengan komposisi reaksi: 1 μ L DNA; 1,5 μ L primer; 12,5 μ L 2x PCR *Master Mix*; dan 10 μ L H_2O ; dengan total volume 25 μ L. Selanjutnya dimasukkan dalam *thermocycler* dengan satu siklus denaturasi pada suhu 94°C selama dua menit, 35 siklus penggandaan yang terdiri atas denaturasi pada suhu 94°C selama satu menit, *annealing* pada suhu 36°C selama satu menit dan elongasi pada suhu 72°C selama dua setengah menit; dan elongasi akhir pada suhu 72°C selama tujuh menit. Hasil PCR kemudian dielektroforesis menggunakan gel agarose 1% dalam Tris-Boric-EDTA (TBE) *buffer* 1%. Hasilnya diamati dengan UV illuminator dan dicetak gambarnya dengan polaroid. Nilai polimorfisme dan heterozigositas dianalisis dengan menggunakan *descriptive statistics*. Analisis statistik menggunakan *exact test for population differentiation* dan kekerabatan antar populasi dianalisis dengan menggunakan jarak genetik menurut (Miller, 1997).

HASIL DAN BAHASAN

Data awal dari induk jantan dan betina F1 dan F2 yang digunakan dalam kegiatan seleksi disajikan pada Tabel 1. Induk dari rata-rata populasi akan digunakan sebagai kontrol, sedangkan terseleksi akan digunakan untuk mengetahui heritabilitas dan respon dari seleksi yang dilakukan.

Tabel 2 memperlihatkan rata-rata bobot populasi F2 dan F3, heritabilitas dan respon seleksi yang diperoleh pada F3 setelah pemeliharaan selama lima bulan. Berdasarkan respon seleksi yang diperoleh pada F3, terdapat peningkatan bobot dibandingkan dengan F2 adalah sebesar 16,9 g (15,73%) untuk jantan dan 10,0 g (10,62%) untuk betina. Sedangkan untuk *realized heritability* pada F3 adalah 0,39 untuk jantan dan 0,29 untuk betina.

Tabel 1. Bobot rata-rata populasi dan terseleksi pada F1 dan F2

Table 1. Average of weight population and selected on F1 and F2

Generasi <i>Generation</i>	Jantan (<i>Male</i>)		Betina (<i>Female</i>)	
	Populasi <i>Population</i>	Terseleksi <i>Selected</i>	Populasi <i>Population</i>	Terseleksi <i>Selected</i>
F1	128.4±15.42	167.2±15.22	83.8±19.10	99.3±21.30
F2	134.7±12.16	165.0±20.44	93.8±15.31	127.7±21.70

Tabel 2. Respon dan heritabilitas pada F3 setelah pemeliharaan 5 bulan
 Table 2. Respons and heritability on F3 after 5 months maintenance

Jenis kelamin Type of sex	Rataan (Average)		Δ Seleksi Δ Selection (g)	Respon seleksi Selection response (g)	Heritabilitas Heritability (h ²)
	F3 (g)	F2 (g)			
Jantan (Male)	45.7	28.8	43.4	16.9	0.39
Betina (Female)	36.5	26.5	33.9	10.0	0.29

Dari hasil yang diperoleh terlihat bahwa seleksi yang dilakukan memiliki nilai heritabilitas yang tinggi pada individu jantan. Nilai heritabilitas yang lebih tinggi pada jantan terjadi juga pada ikan nila merah (*Oreochromis niloticus*) (Jarimopas, 1990) dan nila dari Afrika (*Oreochromis shiranus*) (Maluwa & Gjerde, 2006). Dengan hasil positif yang didapat pada penelitian ini, seleksi yang dilakukan dapat dilanjutkan untuk pemuliaan ikan nila di Indonesia. Hasil yang diperoleh menunjukkan respon genetik yang cukup besar pada seleksi yang dilakukan. Menurut Ponzoni (2005), respon yang didapat sebesar pada ikan nila adalah 10,0%. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan diperoleh hasil yang lebih besar. Respon seleksi yang lebih besar dapat diperoleh apabila populasi yang digunakan dalam program seleksi memiliki nilai koefisien keragaman yang tinggi, di atas 0,25 sebagaimana dikemukakan oleh Tave (1993). Dengan nilai koefisien keragaman yang besar, individu terseleksi akan jauh dari nilai rata-ran populasi atau memiliki *differential selection* yang cukup besar. Respon seleksi akan sangat bergantung dari besarnya *differential selection* sebagaimana diperoleh dalam penelitian di mana respon pada ikan nila jantan lebih besar dari ikan betina.

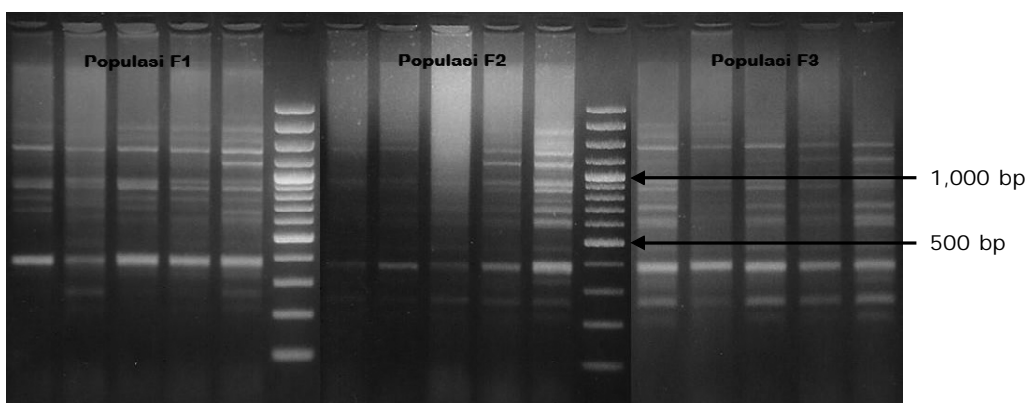
Peneliti-peneliti terdahulu menyampaikan bahwa tidak semua hasil seleksi pada ikan nila memberikan hasil yang positif seperti

pada seleksi individu yang dilakukan oleh Hulata *et al.* (1986) dan Huang & Liao (1990). Pengujian pertumbuhan ikan hasil seleksi di kolam tanah oleh Winarlin & Gustiano (2007), menunjukkan bahwa ikan hasil seleksi memiliki pertumbuhan 200% lebih besar dibandingkan dengan ikan yang digunakan oleh masyarakat. Sedangkan Taufik *et al.* (2007) melaporkan bahwa ikan hasil seleksi memiliki ketahanan penyakit terhadap *Streptococcus* lebih baik sebesar 140% dibandingkan dengan ikan yang digunakan oleh masyarakat. Informasi yang diperoleh pada pengujian di atas memberikan dukungan bahwa ikan hasil seleksi memiliki keunggulan dibandingkan dengan ikan yang digunakan oleh masyarakat pembudidaya. Pada penelitian ini, total perolehan perbaikan bobot atau respon seleksi ikan jantan F3 dibandingkan dengan F1 adalah sebesar 31,1 g (28,95%). Sedangkan untuk ikan betina diperoleh nilai sebesar 6,4 g (10,20%).

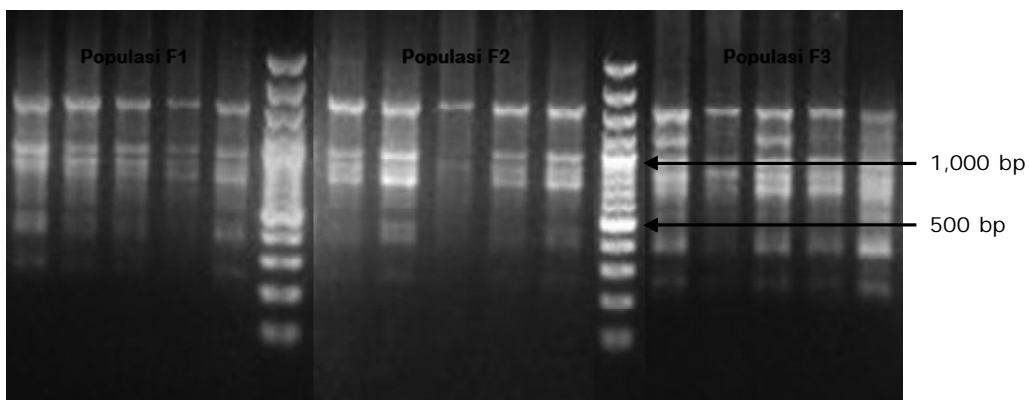
Hasil pengamatan menggunakan primer OPA-02, OPA-03, dan OPC-05 menghasilkan 20-29 fragmen dengan kisaran ukuran 200-2.000 bp. Pada populasi F1 didapatkan 20-25 fragmen ukuran 200-2.000 bp. Untuk populasi F2 diperoleh 20-25 fragmen ukuran 225-2.000 bp dan F3 memiliki 26-29 fragmen ukuran 225-2.000 bp (Tabel 3). Hasil amplifikasi dengan primer OPA-02, OPA-03, dan OPC-05 pada ikan uji disajikan pada Gambar 1, 2, dan 3.

Tabel 3. Jumlah fragmen dan kisaran ukuran DNA ikan nila F1, F2, dan F3
 Table 3. Number of fragments and DNA size range on F1, F2, and F3 of Nile tilapia

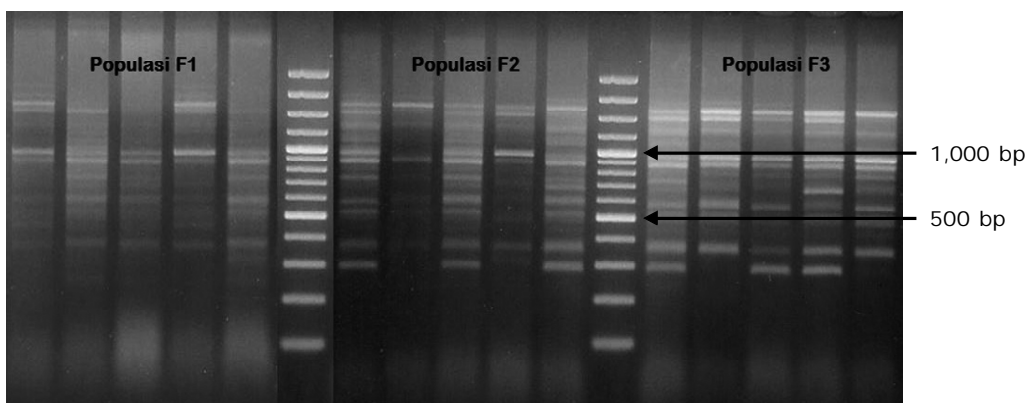
Populasi Population	Jumlah fragmen Number of fragments	Kisaran ukuran Size range (bp)
F1	20-25	200-2,000
F2	20-25	225-2,000
F3	26-29	225-2,000



Gambar 1. Amplifikasi dengan menggunakan primer OPA-02
Figure 1. Amplification using OPA-02 primer



Gambar 2. Amplifikasi dengan menggunakan primer OPA-03
Figure 2. Amplification using OPA-03 primer



Gambar 3. Amplifikasi dengan menggunakan primer OPC-05
Figure 3. Amplification using OPA-05 primer

Setiap primer memiliki karakter penempelan fragmen yang berbeda pada setiap sampel ikan uji. Oleh karena itu, pemilihan primer pada analisis RAPD akan sangat berpengaruh terhadap polimorfisme fragmen yang dihasilkan. Konsekuensi karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri, fragmen dari DNA yang diamplifikasi oleh primer berbeda menghasilkan polimorfik dengan jumlah fragmen dan bobot molekul berbeda.

Persentase polimorfisme yang diperoleh dari DNA ikan uji berkisar antara 12,5000%-40,6250% dan heterozigositas antara 0,0454-0,1561 (Tabel 4). Dari hasil yang diperoleh terlihat adanya penurunan nilai polimorfisme dan heterozigositas pada hasil turunan selanjutnya. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nuryadi *et al.* (2007) terhadap ikan nila hasil seleksi, penurunan nilai polimorfisme dan heterozigositas telah terjadi pada hasil turunan F2. Tingkat intensitas seleksi yang dapat dihitung dari besaran *differential selection* sangat berperan besar dalam menentukan laju penurunan polimorfisme dan heterozigositas. Respon seleksi yang akan memiliki laju penurunan yang relatif lebih besar.

Hasil analisis statistik dengan menggunakan uji Fst berpasangan menunjukkan perbedaan genetik secara nyata antar populasi kecuali antara populasi F1 dengan F2 (Tabel 5). Dengan demikian F3 telah memperlihatkan keberhasilan terbentuknya suatu populasi baru yang berbeda dengan F2 dan F1. Perolehan tersebut diperkuat oleh analisis kekerabatan yang dilakukan di mana jarak genetik terendah terdapat antara populasi F1 dengan F2 dan tertinggi antara populasi F2 dengan F3 (Tabel 6 dan Gambar 4). Sebagaimana dikemukakan oleh Nei (1987) bahwa jarak genetik adalah merupakan ukuran perbedaan genetik yang dihitung berdasarkan nilai frekuensi alel. Hasil yang serupa dengan penelitian ini dilaporkan oleh Koh *et al.* (1999)

Tabel 5. Hasil uji Fst berpasangan pada populasi ikan nila F1, F2, dan F3

Table 5. The results of paired Fst test on F1, F2, and F3 of Nile tilapia population

Populasi Population	F1	F2	F3
F1	*****		
F2	1.0000 ^a	*****	
F3	0.0000	0.0000	*****

Keterangan (Note):

a = Tidak beda nyata (Not significantly different)

Tabel 6. Jarak genetik antar populasi ikan nila F1, F2, dan F3

Table 6. Genetic distance between F1, F2, and F3 of Nile tilapia population

Populasi Population	F1	F2	F3
F1	*****		
F2	0.2576	*****	
F3	0.4631	0.5350	*****

pada ikan discus (*Symphysodon* spp.), di mana diperoleh keseragaman pada populasi dengan jarak genetik yang dekat.

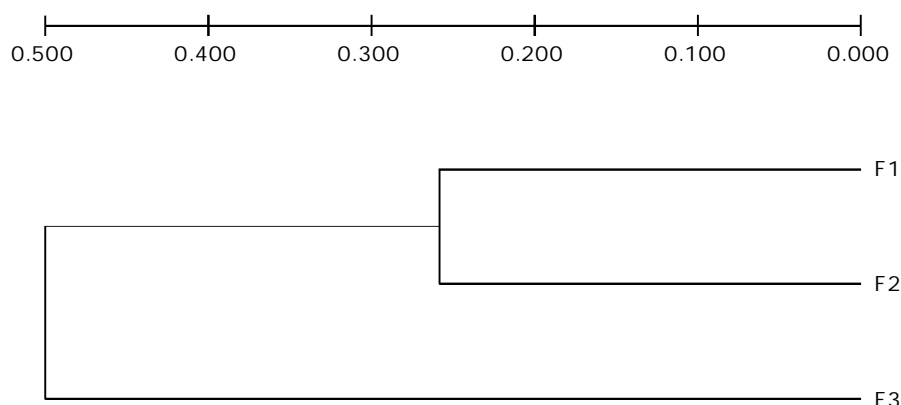
KESIMPULAN

Respon seleksi menunjukkan peningkatan bobot untuk jantan dan betina dengan *realized heritability* yang cukup besar. Populasi F3 memperlihatkan perbedaan genetik yang nyata dibandingkan F2 dan F1 dan menunjukkan adanya indikasi penurunan nilai polimorfisme dan heterozigositas pada keturunan hasil seleksi.

Tabel 4. Persentase polimorfisme dan heterozigositas ikan nila F1, F2, dan F3

Table 4. Percentage of polymorphism and heterozygosity on F1, F2, and F3 of Nile tilapia

Populasi Population	Polimorfisme Polymorphism (%)	Heterozigositas Heterozygosity
F1	40.625	0.1561
F2	21.875	0.0801
F3	12.500	0.0454



Gambar 4. Dendrogram dari populasi ikan nila generasi F1, F2, dan F3

Figure 4. Dendrogram of F1, F2, and F3 generation of Nile tilapia population

SARAN

Program seleksi masih dapat dilanjutkan melihat indikator respon seleksi dan heritabilitas yang besar untuk mendukung keberhasilan. Homozigositas yang terlalu cepat harus dikurangi dengan menggunakan pasangan induk yang lebih banyak dengan *rotational mating*, dan pembentukan famili yang lebih besar untuk meningkatkan keragaman.

DAFTAR ACUAN

- Doyle, R.W. & Talbot, A.J. 1986. Effective population size and selection in variable aquaculture stock. *Aquaculture*, 57: 27-35.
- Falconer, F.S. & MacKay, T.F.C. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. Longman Group Ltd., London, UK, 464 pp.
- Fitzsimmons, K., Martinez-Garcia, R., & Gonzales-Alanis, P. 2011. Why tilapia is becoming the most important food fish on the planet. In Proc. 9th ISTA (Editors: L. Liping and K. Fitzsimmons), Shanghai, China, p. 8-16.
- Gjedrem, T., Gjoen, H.M., Hardjamulia, A., Sudarto, Widiyati, A., Gustiano, R., Kristanto, A.H., Emmawati, L., & Hadie, W. 1997. Breeding plan for Nile tilapia in Indonesia: Individual (mass) selection. *INGA, ICLARM, Report*, 4: 1-11.
- Gjoen, H.M., Gjedrem, T., Hardjamulia, A., Sudarto, Widiyati, A., Gustiano, R., Kristanto, A.H., Emmawati, L., & Suparta, M. 1997. Breeding plan for common carp in Indonesia: Combined multi trait selection. *INGA, ICLARM, Report*, 5: 1-12.
- Gustiano, R., Suryanti, Y., & Widiyati, A. 2005. Evaluasi pertumbuhan populasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di dua lokasi berbeda. *Aquaculture Indonesiana*, 6: 79-84.
- Gustiano, R. 2008. Varietas baru ikan budi daya air tawar: Ikan nila Best (Bogor enhanced strain tilapia). *Warta Plasma Nutfah Indonesia*, 20: 3-6.
- Hulata, G., Wohlfart, G.H., & Halevy, H. 1986. Mass selection for growth rate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 57: 177-184.
- Huang, C.M. & Liao, I.C. 1990. Response to mass selection for growth rate in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 85: 199-205.
- Jarimopas, P. 1990. Realized response of Thai red tilapia to weight of 5 generation of sized-specific selection for growth. In 2nd Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 519-522.
- Koh, T.L., Khoo, G., Li Qun Fan, & Phang, V.P.E. 1999. Genetic diversity among wild forms and cultivated varieties of discus (*Symphysodon* spp.) as revealed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) fingerprinting. *Aquaculture*, 173: 485-497.
- Maluwa, A.O. & Gjerde, B. 2006. Genetic parameters and genotypes by environment interaction for body weight of *Oreochromis shiranus*. *Aquaculture*, 259: 47-55.
- Miller, M.P. 1997. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA) version 1.3. Department of biological science. Northern Arizona University, Arizona, USA, 30 pp.
- Naim, S., Aliah, R.S., Gustiano, R., Sumantadinata, K., Prihadi, T.H., Maskur, and Fitzsimmons,

- K. 2011. 75 years of tilapia culture in Indonesia. In Proc. World Aquaculture 2011, Natal, Brazil. Meeting abstract 1303.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press. NY, USA. 512 pp.
- Nugroho, E., Takagi, M., & Taniguchi, N. 1997. Practical manual on detection of DNA polymorphism in fish population study. *Bulletin of marine sciences and fisheries, Kochi University*, 17: 109-129.
- Nuryadi, Arifin, O.Z., Mulyasari, & Gustiano, R. 2008. Evaluasi Keragaan dan Keragaman Genetik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Hasil Program Seleksi Berdasarkan Karakter Morfometrik dan DNA. *Berita Biologi*, 9(1): 81-90.
- Ponzoni, W.R., Hamzah, A., Tan, S., & Kamaruzzaman, N. 2005. Genetic parameter and response to selection for live weight in GIFT tilapia strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 247: 203-210.
- Taufik, P., Purwaningsih, U., Sugiani, D., & Gustiano, R. 2008. Uji ketahanan penyakit *Streptococcus* dan lingkungan pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) seleksi dan nonseleksi. Dalam Teknologi Perikanan Budidaya (Editors: H. Supriyadi *et al.*). Pusat Riset Perikanan Budidaya, Jakarta, 341-345 hlm.
- Tave, D. 1993. Genetics for fish managers. The AVI Publ. Comp. Inc. NY, USA, 418 pp.
- Winarlin & Gustiano, R. 2007. Pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) jantan di lingkungan danau dan kolam. *Sainteks*, 14: 210-214.