

**KERAGAMAN GENETIK POPULASI IKAN BERONANG  
(*Siganus guttatus*) DI SELAT MAKASSAR DAN TELUK BONE  
MENGUNAKAN METODE *RANDOM AMPLIFIED  
POLYMORPHIC DNA (RAPD)***

Samuel Lante<sup>\*)</sup>, Andi Tenriulo<sup>\*)</sup>, Andi Parenrengi<sup>\*)</sup>, Rachmansyah<sup>\*)</sup>, dan  
Asmi Citra Malina<sup>\*\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau  
Jl. Makmur Dg. Sitakka No. 129, Maros 90512, Sulawesi Selatan  
E-mail: *samuellante98@yahoo.co.id*

<sup>\*\*)</sup> Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin  
Kampus Tamalanrea, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245

(Naskah diterima: 21 Maret 2011; Disetujui publikasi: 3 Agustus 2011)

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keragaman genetik populasi ikan beronang di perairan Selat Makassar dan Teluk Bone dengan metode *random amplified polymorphic DNA (RAPD)*. Sampel ikan beronang diperoleh dari tiga lokasi di perairan Selat Makassar (Polman, Barru, dan Takalar) dan satu lokasi di perairan Teluk Bone (Malili). Sebanyak 8 ekor ikan beronang dari tiap-tiap lokasi dipreservasi dengan larutan TNES urea buffer. Ekstraksi DNA genom dengan metode *Phenol-Chloroform*. Di antara tujuh *screening* primer, lima primer diseleksi untuk analisis RAPD. Keragaman genetik dianalisis menggunakan *software* TFPGA (*Tools For Population Genetic Analysis*). Kedekatan hubungan kekerabatan ditampilkan dalam dendrogram. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa ikan beronang populasi Malili, Teluk Bone menghasilkan polimorfik tertinggi yaitu 63,24% dan terendah dari populasi Barru, Selat Makassar yakni 40,30%. Indeks similaritas tertinggi (0,83) diperoleh antara populasi Polman dan Barru, dan indeks similaritas terendah (0,65) antara populasi Barru dengan populasi Malili. Hubungan kekerabatan berdasarkan jarak genetik ikan beronang pada penelitian ini diperoleh dua kelompok utama yaitu populasi Selat Makassar dan Teluk Bone. Ketiga populasi ikan beronang asal perairan Selat Makassar merupakan satu kelompok dan terpisah dari ikan beronang populasi Malili, Teluk Bone.

**KATA KUNCI:** keragaman genetik, ikan beronang, *Siganus guttatus*, indeks similaritas, jarak genetik

**ABSTRACT:** *Determining population genetic variability of rabbitfish (Siganus guttatus) from Makassar Strait and Bone Bay waters using random amplified polymorphic DNA method. By: Samuel Lante, Andi Tenriulo, Andi Parenrengi, Rachmansyah, and Asmi Citra Malina*

*The research was intended to analyse genetic variability of wild population of rabbit fish (Siganus guttatus) in Makassar Strait and Bone Bay waters using random amplified polymorphic DNA (RAPD). The rabbitfish samples were collected from three locations along Makassar Strait waters namely Polman, Barru, and Takalar and one location in Bone Bay waters namely Malili. Eight individual fish samples from each location were preserved with TNES urea buffer and transported at ambient*

temperature to the laboratory prior to DNA extraction. Genomic DNA was extracted by phenol-chloroform method. Among seven screened primers, five primers were selected for RAPD analysis. Genetic variability was analyzed by using software TFPGA (Tools For Population Genetic Analysis) and genetic distance was shown in dendrogram. The results of this study indicated that rabbitfish from Malili population in Bone Bay waters has the highest genetic polymorphic (63.24%) and the lowest (40.30%) was from Barru in Makassar Strait waters. The highest index similarity (0.83) of rabbitfish was obtained between population of Polman and Barru, and the lowest (0.65) was between Malili and Barru population. Furthermore, based on the genetic distance of rabbitfish, two main clusters were revealed in this study, namely Makassar Strait and Bone Bay population. The three populations of rabbitfish from Makassar Strait is in the same cluster and separated from Malili population of Bone Bay waters.

**KEYWORDS:** genetic variability, rabbitfish, *Siganus guttatus*, index similarity, genetic distances

## PENDAHULUAN

Salah satu spesies ikan laut yang potensial dibudidayakan secara intensif adalah ikan beronang (*Siganus guttatus*). Ikan ini memiliki keunggulan antara lain harga yang cukup mahal (Wassef & Hady, 1997), dan merupakan komoditas ekspor baik untuk konsumsi maupun sebagai ikan hias dengan harga dapat mencapai US\$100/pasang (Subandiono *et al.*, 1997). Di pasar domestik (Makassar) harga satu ekor ikan beronang berkisar Rp 20.000,--25.000,-- (Rachmansyah *et al.*, 2007). Ikan beronang mampu hidup dalam kepadatan tinggi, responsif terhadap pakan buatan, memiliki laju pertumbuhan yang relatif tinggi (Subandiono *et al.*, 1996; Santosa *et al.*, 1996), dapat dibudidayakan baik di keramba jaring apung maupun di tambak (Wassef & Hady, 1997), dan dapat dipijahkan secara terkontrol dengan rangsangan hormonal (Lante *et al.*, 2007).

Penangkapan ikan beronang di perairan Selat Makassar dan Teluk Bone terus meningkat sehingga menyebabkan tekanan populasi pada ikan ini yang dicirikan dengan jumlah hasil tangkapan semakin berkurang. Indikator tekanan populasi tersebut didukung data statistik Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Selatan tahun 2006 bahwa total produksi ikan beronang adalah 955,2 ton dan menurun menjadi 121,4 ton pada tahun 2007. Upaya penangkapan yang terus dilakukan menyebabkan penurunan produksi per satuan usaha dari 100 kg/trip menjadi 15-30 kg/trip pada ikan beronang lingkis (*Siganus canaliculatus*) di perairan Bua, Kecamatan Bua Kabupaten Luwu (Jalil *et al.*, 2001). Upaya yang dapat dilakukan untuk menanggulangi penurunan produksi adalah perbenihan terhadap

ikan beronang demi upaya kelestarian, mengurangi ketergantungan di alam dan mendukung pengembangan budidayanya baik di keramba jaring apung maupun tambak. Di samping itu, dikhawatirkan ikan beronang akan melakukan perkawinan sekerabat dalam dan antar populasi yang berdekatan, sehingga mengakibatkan terjadinya penurunan terhadap keragaman genetik.

Keragaman genetik merupakan hirarki yang paling rendah dalam tingkatan keragaman hayati dan merupakan kunci penting bagi suatu spesies untuk dapat bertahan hidup, memelihara keberlanjutan populasi dan meningkatkan produktivitas dari suatu spesies (Soewardi, 2007). Keragaman genetik merupakan suatu informasi penting dalam jangka pendek maupun jangka panjang bagi suatu populasi (Ferguson *et al.*, 1995). Selanjutnya Permana *et al.* (2007) menyatakan bahwa keragaman genetik suatu populasi merupakan sumberdaya biologi yang penting untuk diketahui serta mempunyai manfaat untuk penentuan strategi perbenihan terutama dalam menentukan calon induk yang mempunyai kualitas genetik tinggi.

Salah satu metode yang digunakan untuk menganalisis keragaman genetik ikan adalah *Random Amplified Polimorphic DNA* (RAPD) dengan aplikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penggunaan PCR adalah untuk mengamplifikasi DNA dan mengetahui perbedaan polimorfik DNA yang ada antara spesies atau antar individu. Secara umum metode polimorfisme DNA dianggap memiliki tingkat akurasi yang tinggi dibandingkan dengan metode yang lain karena tidak terpengaruh oleh perubahan lingkungan dan struktur

untaian dibedakan oleh urutan basa nukleotida dalam DNA. Kelebihan RAPD dari penanda lainnya adalah relatif sederhana, mudah preparasinya, lebih cepat memberikan hasil, dan tidak memerlukan informasi tentang latar belakang genom organisme yang akan diteliti (Williams *et al.*, 1990).

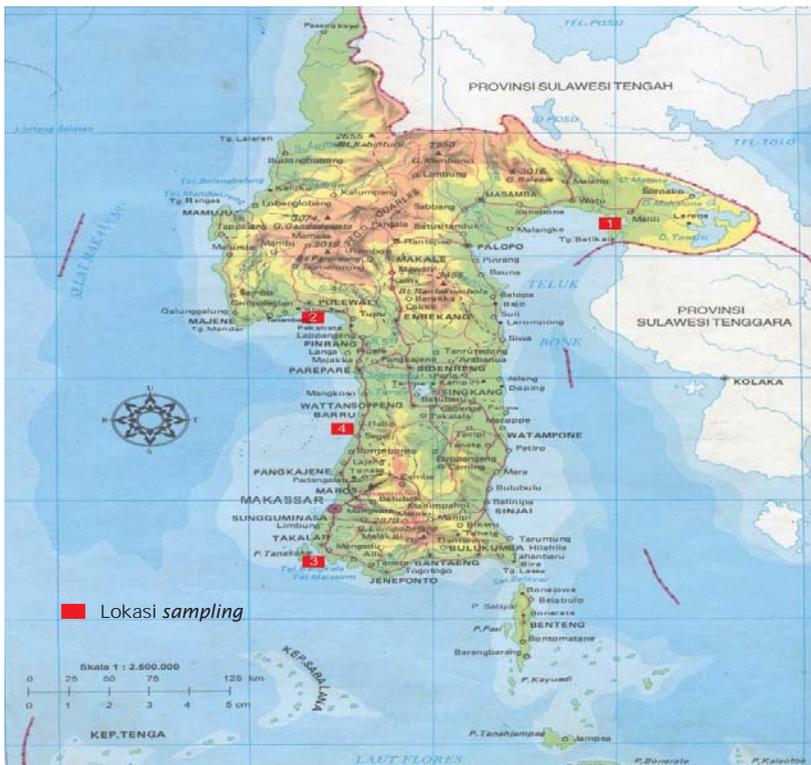
Analisis keragaman genetik berbagai jenis ikan telah dilakukan beberapa peneliti antara lain : ikan terbang ( Fahri, 2001); ikan kerapu tikus (Irmawati, 2003; Wahidah, 2004 ); ikan kancra (Nugroho *et al.*, 2006); ikan mas (Ariyanto *et al.*, 2006); ikan napoleon (Moria *et al.*, 2006); ikan gurame (Nugroho & Kusmini, 2007) dan ikan tuna sirip kuning (Permana *et al.*, 2007). Namun sampai saat ini masih sedikit data dan informasi tentang keragaman genetik ikan beronang (*Siganus guttatus*) khususnya populasi dari perairan Selat Makassar dan Teluk Bone. Dalam rangka menunjang upaya pengembangan budidaya ikan tersebut, terutama pembenihannya, maka diperlukan

informasi dasar karakter genetik populasi di kedua perairan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keragaman genetik populasi ikan beronang di perairan Selat Makassar dan Teluk Bone untuk mendukung pengembangan perbenihan. Ke depan hal ini sangat bermanfaat bagi manajemen induk ikan beronang.

## BAHAN DAN METODE

### Ikan Sampel

Sampel ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan beronang yang berasal dari perairan Polman, Barru, dan Takalar (perairan Selat Makassar) dan perairan Malili (perairan Teluk Bone). Peta lokasi pengambilan sampel ikan di perairan Selat Makassar dan Teluk Bone disajikan pada Gambar 1. Untuk analisis keragaman genetik pada penelitian ini masing-masing digunakan 8 ekor ikan beronang per populasi atau 32 individu ikan



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel ikan beronang (*S. guttatus*) di Selat Makassar dan Teluk Bone

Figure 1. Locations of Rabbitfish, *Siganus guttatus* sampling sites

dari empat populasi. Sebanyak 50 mg jaringan diambil dengan cara mengiris otot/daging bagian punggung ikan, kemudian diawetkan dengan menggunakan 250  $\mu$ L *TNES urea buffer* dalam tabung ependorf volume 1,5 mL (Asahida *et al.*, 1996). Kumpulan tabung ependorf berisi sampel selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah untuk dibawa ke laboratorium dan disimpan dalam suhu ruangan sampai dilakukan ekstraksi DNA.

### Ekstraksi DNA Genom

Metode yang digunakan dalam ekstraksi DNA adalah metode *fenol-kloroform* (Parenrengi, 2001). Organ yang diekstraksi adalah organ otot (daging) ikan sebanyak 50 mg, kemudian ditambahkan 500  $\mu$ L buffer lysis selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung ependorf 1,5 mL dan ditambahkan 40  $\mu$ L 10% SDS dan 40  $\mu$ L proteinase-K. Sampel diinkubasi pada suhu 55°C selama 1-3 jam. RNase ditambahkan sebanyak 12,5  $\mu$ L (20 mg/mL) dalam larutan dan disimpan pada suhu kamar selama 15-30 menit. Ke dalam sampel kemudian ditambahkan larutan fenol: kloroform: isoamyl alkohol (25:24:1) dan divortex perlahan sampai homogen. Inkubasi sampel pada suhu kamar selama 10 menit, disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 8 menit. Bagian lapisan atas cairan (supernatan) sebanyak 750  $\mu$ L dipindahkan ke dalam 1,5 mL tabung ependorf baru, selanjutnya ditambahkan lagi fenol: kloroform: isoamyl alkohol (25:24:1) sebanyak 500  $\mu$ L. Sampel diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 4 menit.

Sebanyak 600  $\mu$ L supernatan diambil dan dipindahkan ke tabung ependorf baru volume 1,5 mL. Selanjutnya ditambahkan larutan campuran kloroform : isoamyl alkohol (24:1), disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 4 menit. Supernatan sebanyak 400  $\mu$ L ditambahkan larutan ethanol dingin sebanyak 2 bagian dari volume sampel dan disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang, kemudian lapisan dasar (pelet) ditambahkan ethanol 70% sebanyak 800  $\mu$ L, kemudian digoyang dengan cara pembalikan beberapa saat selanjutnya disentrifugasi 2 kali berturut-turut dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit dan kecepatan 6.000 rpm selama 6 menit. Larutan ethanol 70% dibuang, DNA yang mengendap terletak di dasar tube sebagai pelet berwarna putih. DNA dikering-anginkan pada suhu kamar

selama lebih kurang 24 jam, kemudian DNA ditambahkan dd H<sub>2</sub>O atau TE buffer (10 mM Tris dan 1mM EDTA, pH 8,0) sebanyak 100  $\mu$ L. Genom DNA yang diperoleh disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan untuk langkah kerja berikutnya.

### Tingkat Kemurnian dan Kuantitas DNA

Pengukuran tingkat kemurnian dan kuantitas DNA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri sinar ultra-violet jenis thermospektronic model genesys 10 UV (Rochester NY-USA). Genom DNA diukur dengan volume cuvet 3 mL dengan faktor pengenceran 150. Untuk mendapatkan konsentrasi DNA untai ganda digunakan rumus (Birren *et al.*, 1997):

$$\text{Konsentrasi DNA } (\mu\text{g/mL}) = A_{260} \times 50 \times \text{faktor pengenceran}$$

Kemurnian larutan DNA tersebut dapat dilihat dengan membagi nilai OD<sub>260</sub> dengan OD<sub>280</sub>. Genom DNA dikatakan murni jika rasio kedua nilai tersebut berkisar antara 1,8-2,0. Jika nilai rasio lebih kecil dari 1,8 maka diindikasikan bahwa genom DNA masih ada kandungan protein atau fenol di dalam larutan.

### Amplifikasi PCR

Reaksi amplifikasi DNA dengan menggunakan PuReTaq RTG-PCR beads (*GE healthcare*) dan diamplifikasi dengan PCR Gene Amp System 2700 (*Applied Biosystems*) yang diprogram dengan 45 siklus. Amplifikasi dilakukan menggunakan metode PCR, dan komposisi bahan yang dimasukkan dalam tabung ependorf dengan bead yang ada adalah : 1  $\mu$ L primer (50 pmol/  $\mu$ L), 3  $\mu$ L DNA, dan 21  $\mu$ L *water free RNase* sehingga mencapai total volume 25  $\mu$ L. Tabung mikro PCR dimasukkan dalam mesin PCR. Siklus PCR yang digunakan dalam amplifikasi adalah satu siklus pre-denaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, untuk aktivasi enzim taq polymerase diperlukan 45 siklus dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan pada suhu 36°C selama 30 detik dan pemanjangan pada suhu 72 selama 1,0 menit dan pada akhir PCR ditambahkan akhir sintesis 2 menit untuk menyakinkan semua hasil amplifikasi dalam bentuk untai ganda. Hasil PCR dipisahkan dengan menggunakan gel agarosa 2,0% dalam larutan TBE 1x selama 1,5 jam pada tegangan 150 volt. Volume hasil PCR/amplicon (yang

akan dimigrasi) sebanyak 3  $\mu$ L dan dicampur dengan 1,0  $\mu$ L loading dye. Gel di-*staining* dengan *ethidium bromida* pada konsentrasi 0,5 ng/mL. Hasil elektroforesis DNA divisualisasi menggunakan UV transluminator.

### Screening Primer

Untuk mengamplifikasi genom DNA melalui PCR digunakan 7 universal primer yakni: 6 primer Operon Teknologi Kit A dan 1 primer M-13 (Tabel 1). Primer yang memperlihatkan hasil amplifikasi genom DNA yang bersih dan banyak memfragmentasi pita DNA selanjutnya dipilih untuk digunakan pada semua sampel dalam penelitian ini.

### Analisis Data

Fragmen DNA hasil amplifikasi dari 4 populasi dengan menggunakan beberapa primer diterjemahkan menjadi data biner dengan ketentuan pemberian nilai (1) untuk adanya fragmen DNA dan pemberian nilai (2) untuk tidak adanya fragmen. Data biner hasil skoring digunakan untuk menghitung jarak genetik dan menyusun dendrogram melalui analisis cluster. Keragaman genetik dianalisis menggunakan TFGA (*Tools For Population Genetic Analysis*) (Miller, 1997). Kedekatan hubungan kekerabatan ditentukan oleh indeks similaritas dan jarak genetik yang ditampilkan secara grafis dalam dendrogram.

## HASIL DAN BAHASAN

### Profil *Random Amplified Polymorphik DNA* (RAPD)

Hasil pengujian genomic dari ekstraksi DNA ikan beronang populasi dari perairan Polman, Barru, Takalar, dan Malili menggunakan larutan preservasi TNES urea dengan metode *Phenol-Chloroform* telah berhasil dilakukan dengan menghasilkan fragmen tunggal dengan berat molekul sekitar 23.130 bp, disajikan pada Gambar 2. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat kemurnian DNA cukup baik untuk analisis RAPD dengan keberadaan pita tunggal yang bersih dan tidak terdapat latar belakang (*smearing*) sepanjang jalur sumur genom DNA dan fragmentasi genom DNA. Penelitian yang sama dilakukan Asih *et al.* (2008) menggunakan larutan TNES urea untuk preservasi potongan sirip ikan batak (*Tor soro*); ikan butini (Mamangkey *et al.*, 2007); ikan *Channa punctatus* (Nagarajan *et al.*, 2006); dan ikan nila (Arifin *et al.*, 2007). Rata-rata nilai kemurnian genom DNA ikan beronang yang terendah adalah populasi dari perairan Malili ( $1,929 \pm 0,185$ ) dan tertinggi populasi dari perairan Takalar ( $2,114 \pm 0,298$ ). Nilai tingkat kemurnian DNA ikan beronang yang diperoleh pada penelitian ini masih pada kisaran nilai kemurnian DNA ikan salmon atlantik dan ikan *brown trout* yaitu 1,6-2,1, (Taggart *et al.*, 1992),

Tabel 1. Jenis primer, urutan basa, panjang nukleotida, dan komposisi basa G+C yang digunakan dalam penelitian ini

Table 1. Code, sequence, nucleotide, nucleotide length, and G+C content of primers used in Random Amplified Polymorphic DNA analysis

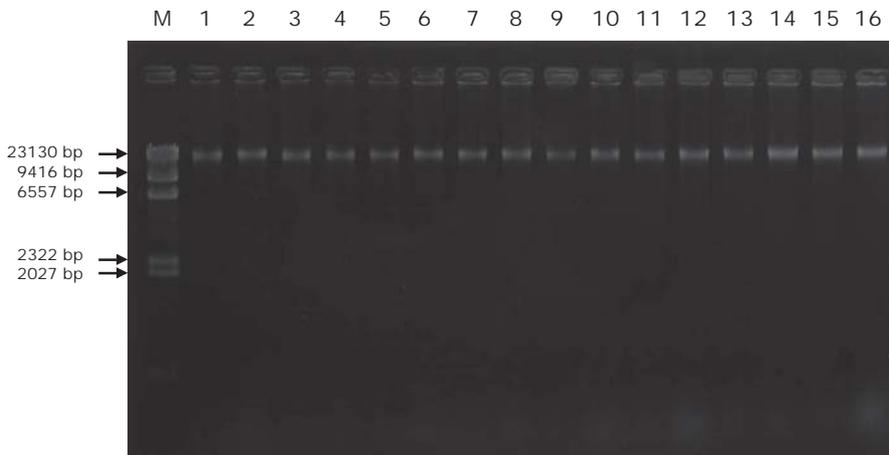
Jenis primer <i>Primer code</i>	Urutan basa (5' - 3') <i>Sequence</i>	Panjang nukleotida <i>Nucleotide length</i>	Kandungan G+C <i>G+C content (%)</i>
OPA-3	AGTCAGCCAC	10-mer	60.0
OPA-6	GGTCCCTGAC	10-mer	70.0
OPA-7	GAAACGGGTG	10-mer	60.0
OPA-13	CAGCACCCAC	10-mer	70.0
OPA-16	AGCCAGCGAA	10-mer	60.0
OPA-20	GTTGCGATCC	10-mer	60.0
M-13	GTAAAACGACGGCCAGT	17-mer	52.9

Keterangan: OPA-3,6,7,13,16 dan 20 = Operon Teknologi Kit A Primer, M-13, A = Adenine; C = Cytosine; G = Guanine; dan T = Thymine (Note: OPA-3,6,7,13,16 and 20 = Operon Technology Kit A primers, A = Adenine, C = Cytosine, G = Guanine, and T = Thymine)

ikan kerapu yaitu 2,00-2,29 (Parenrengi, 2001), dan teripang berkisar 1,6-2,5 (Norazila, 2000). Selanjutnya hasil pemilihan primer menunjukkan lima primer (71,43%) dengan kandungan G+C berkisar 60%-70% (Tabel 2) menghasilkan amplifikasi fragmen yang bersih, jelas terpisah dan mudah di-*skoring* yaitu OPA-3, OPA-6, OPA-7, OPA-16, dan OPA-20 (Gambar 3). Hasil penelitian ditunjukkan oleh Saitoh (1995) dengan menggunakan empat primer yang berbeda untuk beberapa populasi ikan pasifik cod (*Gadus macrocephalus*) di Jepang, sembilan primer untuk populasi ikan nila *Oreochromis niloticus* (Arifin *et al.*, 2007).

Sementara sepuluh primer digunakan oleh Parenrengi (2001) untuk menganalisis variasi genetik ikan kerapu *Ephinephalus* spp. Penelitian yang dilakukan untuk mengetahui tiga spesies *Anguilla* sp. oleh Takagi & Taniguchi (1995) menggunakan tiga primer OPA. Selanjutnya empat primer untuk populasi udang *Penaeus vannamei*, (Valerio-Garcia & Grijalva-Chon, 2008) dan 20 primer pada ikan *Channa punctatus* (Nagarajan *et al.*, 2006).

Hasil amplifikasi DNA ikan beronang dari empat populasi menggunakan 5 primer menunjukkan bahwa setiap primer memiliki karakter yang berbeda sehingga jumlah dan



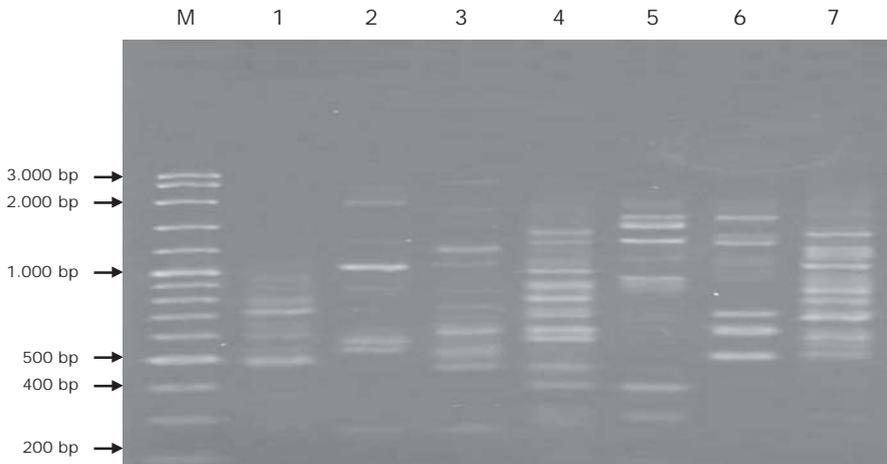
Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA genom ikan beronang (*S. guttatus*). M = Marker *Hind III*, angka 1- 4 = sampel Polman, 5-8 = Barru, 9-12 = Takalar, dan 13-16 = Malili

Figure 2. Genomic DNA extracted from the rabbitfish muscle tissue (*S. guttatus*) *Hind III* marker (M), samples from polman (lanes 1-4), Barru (lanes 5-8), Takalar (lanes 9-12), and Malili (Lanes 13-16)

Tabel 2. Jenis primer, jumlah, dan panjang fragmen hasil amplifikasi DNA ikan beronang (*Siganus guttatus*)

Table 2. Fragment number and length of rabbitfish (*Siganus guttatus*) DNA after amplified using various primers

Primer Primers	Jumlah fragmen Fragment number	Panjang fragmen Fragment length (bp)
OPA-3	10-14	275-1,250
OPA-6	10-12	275-1,300
OPA-7	14-20	275-1,500
OPA-16	14-17	175-1,500
OPA-20	9-11	450-1,250



Gambar 3. Hasil *screening* tujuh primer DNA ikan beronang (*S. guttatus*) (M = Marker; 1 = OPA-3; 2 = OPA-6; 3 = OPA-7; 4 = OPA-13; 5 = OPA-16; 6 = OPA-20; dan 7 = M13)

Figure 3. *Screening seven primers of DNA rabbitfish muscle tissue (S. guttatus) (M = Marker; 1 = OPA-3; 2 = OPA-6; 3 = OPA-7; 4 = OPA-13; 5 = OPA-16; 6 = OPA-20; and 7 = M13)*

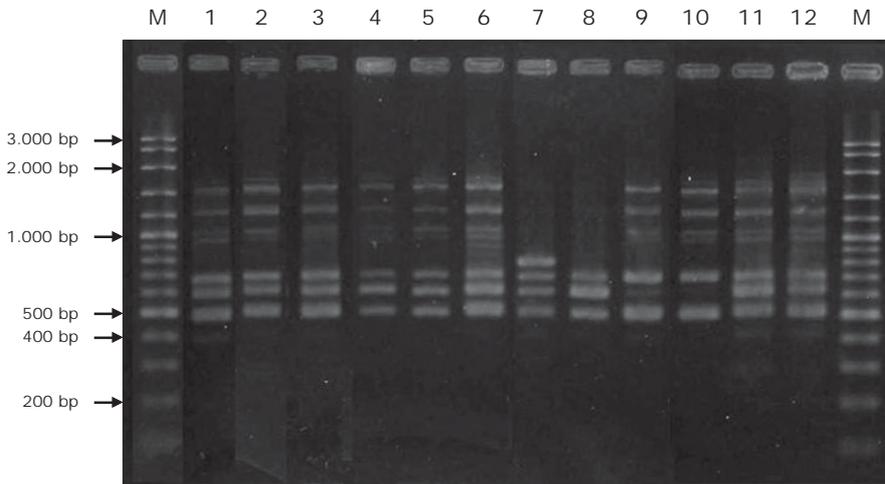
kisaran ukuran fragmen yang muncul juga berbeda. Primer OPA-3 menghasilkan amplifikasi DNA sebanyak 10-14 fragmen dengan ukuran 275-1.250 bp, sedangkan OPA-6 dapat menghasilkan amplifikasi dengan jumlah fragmen lebih sedikit (10-12), tetapi memiliki ukuran fragmen lebih tinggi daripada primer OPA-3 yaitu 275-1.300 bp. Pada primer OPA-7 dapat menghasilkan fragmentasi dengan jumlah yang lebih banyak yaitu 14-20, namun memiliki ukuran fragmen yang lebih rendah dari primer OPA-16, berkisar 275-1.500 bp. OPA-16 menghasilkan fragmentasi dengan jumlah fragmen 14-17, dan memiliki ukuran fragmen paling tinggi dari primer lainnya yaitu 175-1.500 bp.

Primer OPA-20 menghasilkan fragmentasi dengan jumlah fragmen lebih rendah (9-11) dan memiliki ukuran lebih kecil daripada primer lainnya yakni 450-1.250 bp (Gambar 4) dan Tabel 2.

Hasil pengamatan terhadap DNA ikan beronang dengan 5 primer menghasilkan total loci 266 fragmen yang terdiri atas 70 fragmen dari populasi Polman, 64 fragmen populasi Barru, 69 fragmen populasi Takalar dan 63 fragmen populasi Malili, dan 140 fragmen di antaranya adalah polimorfik (52,63%). Proporsi polimorfik tertinggi

diperoleh pada populasi Malili (63,24%), sedangkan proporsi polimorfik terendah ditunjukkan pada populasi Barru (40,30%). Polimorfik yang tinggi mengindikasikan hubungan perkawinan antara individu dalam populasi rendah, hal yang sama dikemukakan oleh Parenrengi (2001) bahwa fragmen polimorfik yang tinggi pada ikan kerapu mengindikasikan rendahnya *inbreeding* antar populasi. Polimorfik dapat diketahui dari munculnya beberapa fragmen DNA pada beberapa sampel, namun tidak ditemukan pada sampel DNA yang lain (Tieh Ling Koh *et al.*, 1999 dalam Abidin, 2005). Garcia & Benziie (1995) mendapatkan polimorfik udang windu berkisar 39%-77%, sedangkan udang vaname 80% (Valerio-Garcia & Grijalva-Chon, 2008) dengan menggunakan penanda RAPD. Selanjutnya jumlah genotipe dan ukuran fragmen berturut-turut 1-8 dengan berat molekul 175-1500 bp. Jumlah genotipe ikan beronang populasi di Selat Makassar sama berkisar 1-8, namun berbeda dengan jumlah genotipe ikan populasi Malili yaitu 5-8 (Tabel 3). Asma (1999) melaporkan bahwa setiap varietas, spesies, dan populasi menghasilkan jumlah genotipe yang berbeda.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ada kedekatan secara genetik populasi ikan beronang dari perairan Polman, Barru, dan



Gambar 4. Elektroforesis hasil amplifikasi PCR sampel DNA ikan beronang (*S. guttatus*) dengan menggunakan primer OPA-20, (M = Marker; 1-3 = Barru; 4-6 = Takalar; 7-9 = Malili; 10-12 = Polman)

Figure 4. PCR amplification of DNA rabbitfish, *S. guttatus* from different populations generated by a primer OPA-20. M = Marker, samples from Barru (lanes 1-3), Takalar (lanes 4-6), Malili (lanes 7-9), and Polman (lanes 10-12)

Takalar. Hal ini diduga bahwa pada perairan tersebut terjadi tekanan eksploitasi oleh permintaan ikan yang terus meningkat, sehingga populasi di ke-3 perairan tersebut semakin berkurang. Salah satu indikator tekanan eksploitasi dapat ditunjukkan dari hasil analisis proporsi polimorfik ikan beronang di tiga populasi Selat Makassar yang lebih rendah (40,30%-47,94%) dari proporsi polimorfik ikan beronang Malili (63,24%). Tekanan eksploitasi pada ikan ini diduga dapat mengakibatkan perkawinan secara acak tidak berlangsung dengan baik secara alami sehingga kecenderungan ketiga populasi di Selat Makassar mempunyai keragaman genetik yang rendah. Indikator tekanan eksploitasi tersebut didukung data statistik Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Selatan tahun 2006 bahwa total produksi ikan beronang adalah 955,2 ton dan menurun menjadi 121,4 ton pada tahun 2007 (Anonim, 2008).

#### Indeks Similaritas

Indeks similaritas populasi ikan beronang dari perairan Polman, Barru, Takalar, dan Malili disajikan pada Tabel 4. Indeks similaritas ikan beronang dari perairan populasi Polman, Barru,

dan Takalar relatif tinggi hal ini menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan ketiga populasi ikan beronang tersebut adalah dekat. Kedekatan ini ditunjukkan oleh indeks similaritas yang relatif sama yaitu 0,82-0,84. Indeks similaritas merupakan suatu proporsi kesamaan profil DNA organisme intra atau inter populasi (Parenrengi *et al.*, 2006). Selanjutnya Rogers (1972) menyatakan semakin tinggi indeks similaritasnya mencerminkan semakin jauh hubungan kekerabatannya. Pada penelitian ini diperoleh indeks similaritas populasi ikan beronang dari perairan populasi Malili dengan populasi Polman, Barru, dan Takalar relatif jauh yaitu 0,65-0,68, berarti populasi ikan beronang Malili menghasilkan variasi genetik yang baik. Hal ini didukung oleh proporsi polimorfik paling tinggi (63,24%). Kim (1998) melakukan pengamatan indeks similaritas antar populasi *catfish* berkisar 0,51-0,91. Indeks similaritas antara individu striped bas *M. Saxatilis* dari populasi yang berbeda berkisar antara 0,92-0,96 (Bielawski & Pumo, 1997). Demikian pula rata-rata indeks similaritas *common silver-biddy*, *Gerres oyena* antar populasi Miyasaki adalah  $0,56 \pm 0,06$  dan antar populasi Okinawa adalah  $0,63 \pm 0,86$  (Miyanojara *et al.*, 1999).

Tabel 3. Jumlah fragmen, polimorfik, proporsi polimorfik, jumlah genotipe, dan ukuran fragmen ikan beronang, *Siganus guttatus*  
 Table 3. Fragment number, polymorphic number, polymorphic proportion, genotype number, and fragment sizes of DNA rabbitfish, *Siganus guttatus*

Jumlah fragmen Total numbers of fragment	Jumlah polimorfik Numbers of polymorphic	Jumlah polimorfik Numbers of polymorphic (%)	Jumlah genotip Number of genotype	Ukura Size rang
70	30	45.44	1-8	2
64	27	40.30	1-8	1
69	41	47.94	1-8	1
63	42	63.24	5-8	2
<b>266</b>	<b>140</b>	-	-	-

Tabel 4. Indeks similaritas antara populasi ikan beronang, *Siganus guttatus*

Table 4. Matrix of similarity indices among populations of rabbitfish, *Siganus guttatus*

Populasi Populations	Polman	Barru	Takalar	Malili
Polman				
Barru	0.8369			
Takalar	0.8300	0.8214		
Malili	0.6861	0.6534	0.7324	-

**Jarak Genetik**

Hasil hitungan jarak genetik populasi ikan beronang antara perairan Polman, Barru, Takalar, dan Malili disajikan pada Tabel 5. Jarak genetik antara populasi ikan beronang Polman dan Barru adalah 0,1780; antara populasi ikan beronang Polman, Takalar dan Barru adalah 0,1915; sedangkan ketiga populasi tersebut memiliki jarak genetik 0,3713 dengan Malili. Besarnya jarak genetik populasi ikan beronang Malili dengan populasi Barru disebabkan jarak secara geografis antara Malili dengan Barru relatif lebih jauh dibandingkan Polman dengan Barru.

Nilai jarak genetik ikan beronang antar populasi perairan Polman, Barru, dan Takalar (Selat Makassar) berkisar 0,1780-0,1967 lebih rendah bila dibandingkan dengan jarak genetik ikan beronang populasi perairan Malili (Teluk Bone) dengan ketiga populasi ikan beronang di Selat Makassar (0,3114-0,4256). Hasil ini lebih tinggi dibanding dengan nilai jarak genetik ikan terbang (*Cypselurus opisthopus*) Teluk Mandar (Selat Makassar) yaitu 0,003 (Fahri, 2001), namun lebih rendah daripada

nilai jarak genetik ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) domestikasi yaitu 0,85 (Wahidah, 2004) dan ikan kerapu (*Epinephelus* spp.) berkisar 0,20-0,41 (Parenrengi, 2001). Kedekatan genetik antara populasi Polman, Barru, dan Takalar diduga terjadi perkawinan antar ketiga populasi, oleh karena di perairan Selat Makassar massa air tercampur secara fluktuatif dan musiman dari arah Laut Sulawesi sepanjang tahun menuju Laut Flores (Rusman, 2003; Sofian *et al.*, 2006). Menurut Koh *et al.* (1999), ikan discus yang ditangkap di alam memiliki jarak genetik lebih rendah (0,033) dibandingkan dengan ikan discus yang dibudidayakan (0,105). Hal ini terjadi diduga akibat adanya *inbreeding* pada ikan discus yang ditangkap di alam. Selanjutnya Parenrengi (2001) menyatakan bahwa jarak genetik yang rendah menunjukkan terjadi aliran gen antar populasi. Demikian pula semakin kecil jarak genetik antar individu dalam suatu populasi, maka semakin seragam populasi tersebut (Pandin, 2000). Sedangkan Nei (1987) menyatakan jarak genetik merupakan ukuran perbedaan genetik antar populasi yang dihitung berdasarkan frekuensi alel.

Tabel 5. Jarak genetik antara populasi ikan beronang, *Siganus guttatus*

Table 5. Genetic distance of RAPD markers in four populations of rabbitfish, *Siganus guttatus*

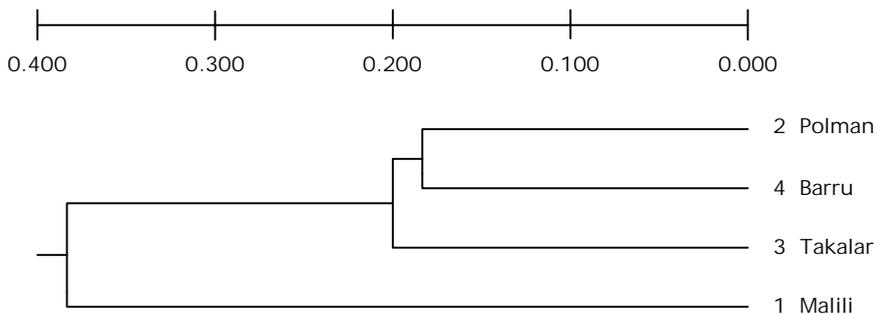
Populasi Populations	Polman	Barru	Takalar	Malili
Polman	0.0000	0.1780	0.1863	0.3768
Barru		0.0000	0.1967	0.4256
Takalar			0.0000	0.3114
Malili				0.0000

Hasil analisis jarak genetik ikan beronang populasi Malili lebih tinggi dari jarak genetik ketiga populasi yang lain, hal ini memperlihatkan bahwa ikan beronang populasi Malili memiliki keragaman genetik masih tinggi. Keragaman genetik tinggi mengindikasikan ketersediaan stok di alam masih relatif tinggi, sehingga perkawinan secara acak berjalan dengan baik dan penangkapan ikan beronang di perairan tersebut masih tergolong selektif dan kemungkinan belum terjadi aliran genetik dari populasi yang lain.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa keragaman genetik ikan berhubungan erat dengan kondisi geografis. Nagarajan *et al.* (2006) menyatakan bahwa keragaman genetik ikan *Channa punctatus* berhubungan erat dengan kondisi geografis ikan. Selanjutnya Iguchi *et al.* (1997) menyatakan bahwa isolasi karena perbedaan jarak merupakan salah satu faktor yang dipertimbangkan akan mempengaruhi laju penghanyutan gen antara lokasi yang terpisah dan pada akhirnya akan mengakibatkan meningkatnya perbedaan genetik. Demikian pula Fahri (2001) menyatakan bahwa populasi ikan terbang di Teluk Mandar, Selat Makassar secara genetik merupakan populasi yang terpisah dari populasi ikan terbang di Teluk Manado dan Teluk Tomini. Letak geografis yang relatif dekat memungkinkan struktur genetik ikan beronang ketiga populasi di Selat Makassar memiliki kemiripan dan berada dalam satu kelompok. Berdasarkan hasil dendrogram ikan beronang pada penelitian ini (Gambar 5) menunjukkan bahwa ada dua kelompok populasi yaitu (1) populasi ikan beronang asal

Polman, Barru, dan Takalar dan (2) populasi ikan beronang Malili. Jarak genetik ikan beronang populasi Malili relatif jauh dari populasi ikan beronang Polman (0,3768), Barru (0,4256) dan Takalar (0,3114) dimungkinkan dengan adanya batasan oleh daratan Pulau Selayar sehingga relatif tidak terjadi aliran gen ikan beronang dari populasi perairan Teluk Bone tersebut.

Hasil analisis keragaman genetik populasi ikan beronang di perairan Selat Makassar dan Teluk Bone pada penelitian ini menunjukkan bahwa keragaman genetik populasi ikan beronang Malili lebih tinggi dibandingkan dengan keragaman genetik populasi ikan beronang Selat Makassar. Hal ini diduga karena ada aktivitas migrasi (*gene flow*) pada larva ikan beronang yang terbawa arus dalam waktu yang cukup lama dari Selat Makassar ke perairan Teluk Bone (Malili). Di samping itu, karena rendahnya eksploitasi menyebabkan populasi masih tinggi sehingga ikan dapat melakukan perkawinan secara acak (*random mating*). Migrasi dapat terjadi karena adanya aliran arus yang kuat dari Laut Sulawesi ke arah Laut Flores yang memungkinkan larva bermigrasi membentuk populasi kecil di perairan Teluk Bone. Sebaliknya, peluang larva ikan beronang dari perairan Teluk Bone bermigrasi ke perairan Selat Makassar sangat kecil karena tekanan arus yang kuat dari perairan Laut Flores (Samudera Indonesia). Gardner *et al.* (1991) menyatakan bahwa ada dua faktor yang mempengaruhi keragaman genetik yaitu faktor yang meningkatkan keragaman genetik antara lain mutasi dan migrasi, sedangkan faktor yang menurunkan



Gambar 5. Dendrogram jarak genetik pada populasi ikan beronang (*S. guttatus*) dari perairan Polman, Barru, Takalar (Selat Makassar) dan Malili

Figure 5. Dendrogram of genetic distance population of rabbitfish, *S. guttatus* from Polman, Barru, Takalar (Makassar Strait) and Malili (Bone Bay) waters

keragaman genetik meliputi seleksi alam dan penghanyutan genetik.

Adanya keragaman genetik tinggi pada populasi ikan beronang Malili (Teluk Bone) merupakan informasi dasar untuk melakukan seleksi dan *breeding* dalam rangka melakukan perbenihan. Imron *et al.* (1999) menyatakan bahwa populasi dengan variasi genetik yang tinggi akan memiliki peluang hidup yang semakin tinggi untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan. Hasil analisis keragaman genetik populasi ikan beronang di Selat Makassar dan Teluk Bone pada penelitian ini menunjukkan bahwa keragaman genetik populasi ikan beronang Malili (Teluk Bone) lebih tinggi dari keragaman genetik populasi ikan beronang Polman, Barru, dan Takalar (Selat Makassar). Dengan diketahui nilai keragaman genetik ikan beronang di dua perairan tersebut maka potensi pengembangan perbenihan dapat dilakukan untuk menanggulangi ketergantungan benih dari alam dan budidaya serta ke depan dapat digunakan untuk konservasi sumberdaya genetik.

#### KESIMPULAN

1. Populasi ikan beronang dari perairan Malili menghasilkan polimorfik tertinggi (63,24%) sedangkan polimorfik terendah diperoleh pada ikan beronang dari perairan Barru (40,30%).
2. Indeks similaritas inter populasi ikan beronang tertinggi didapatkan pada populasi Polman (0,83) dan terendah pada populasi Malili (0,63).
3. Hasil analisis jarak genetik ikan beronang diperoleh dua kluster utama yakni populasi Polman, Barru, dan Takalar, Selat Makassar dan populasi Malili, Teluk Bone.
4. Keragaman genetik populasi ikan beronang dari perairan Malili (Teluk Bone) lebih tinggi, yang ditunjukkan dari nilai heterozigositas (63,24%), sedangkan populasi ikan beronang Polman, Barru, dan Takalar hanya mempunyai nilai heterozigositas masing-masing 45,44%; 40,30%, dan 47,94%.

Untuk domestikasi dan pengembangan perbenihan ikan beronang di masa yang akan datang sebaiknya menggunakan ikan yang memiliki keragaman genetik yang tinggi (perairan Malili) atau perkawinan silang antara populasi Malili, Teluk Bone dengan populasi ikan beronang di Selat Makassar.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada staf Peneliti dan Teknisi Nutrisi yang telah membantu kegiatan penelitian ini baik di lapangan maupun di laboratorium. Penelitian ini terselenggara dengan bantuan dana dari APBN tahun anggaran 2009.

#### DAFTAR ACUAN

- Abidin, G. 2005. *Analisis kekerabatan rumput laut Kappaphycus alvarezii varietas hijau dan coklat menggunakan metode random amplified polymorphic DNA (RAPD)*. Tesis Program Pascasarjana Universitas Brawijaya, 84 hlm.
- Anonim. 2008. Laporan Statistik Tahunan Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Sulawesi Selatan. 85 hlm.
- Arifin, O.Z, Gustiano, R., & Nugroho, E. 2007. Keragaman genetik populasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam program seleksi berdasarkan RAPD DNA Breeding, Genetika dan Bioteknologi Perikanan. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Pusat Riset Perikanan budidaya, hlm.140-147.
- Ariyanto, D., Nugroho, E., & Subagyo. 2006. Karakter genetik populasi ikan mas, *Cyprinus carpio* hasil persilangan. *J. Ris. Akuakultur*, 1(2): 211-217.
- Asahida, T., Kobayashi, Saitoh, K., & Nakayama, I. 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish sore at ambient temperature using buffer containing high concentration of urea. *Fisheries Sciences*, 62(5): 727-730.
- Asih, S., Nugroho, E., Kristanto, A.H., & Mulyasari. 2008. Penentuan variasi genetik ikan batak (*Tor soro*) dari Sumatera Utara dan Jawa Barat dengan metode analisis *Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)*, *J. Ris. Akuakultur*, 3(1): 91-97.
- Asma, N.A. 1999. Genetic variation between and within three varieties of domesticated tiger barb (*Puntius tetrazona*) using RAPD markers. Thesis Faculty of Medicine and Health Sciences. Universiti Putra Malaysia, 115 pp.
- Bielawski, J.P. & Pumo, D.E. 1997. Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis of Atlantic coast striped bass. *Heredity*, 78: 32-40.
- Birren, B., Green, E.D., Sue Klapholz, R., Myers, M., & Roskmans, J. 1997. Genom analysis.

- A Laboratory Manual Volume 1. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 35 pp.
- Fahri, S. 2001. *Keragaman genetik ikan terbang, (Cypselurus opisthopus) di perairan Teluk Mandar, Teluk Manado dan Teluk Tomini*. Tesis Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 47 hlm.
- Ferguson, A., Taggart, Prodohl, T.B., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P., & Hynes, R.A. 1995. The application of molecular markers to study and conservation of fish population, with special reference to Salmo. *J. of Fish Biology*, 47: 103-126.
- Garcia, D.K. & Benzie, A.H. 1995. RAPD markers of potential in penaeid prawn (*Penaeus monodon*) breeding programs. *Aquaculture*, 130: 137-144.
- Gardner, E.J., Simmons, M.J., & Snustad, P.D. 1991. Population and Evolutionary Genetics dalam Principles of genetic. Jhon Wiley and Sons Inc., New York, Chichester Brisbane, Toronto, Singapore, p. 566-580.
- Iguchi, K., Tanimura, Y., & Nishida, M. 1997. Sequence divergence in the mtDNA control region of amphidromous and landlocked forms of ayu. *Journal Fisheries Science*, 63(6): 901-905.
- Imron, Sugama, K., Sumantadinata, K., & Soewardi, K. 1999. Genetic variation in cultured stocks of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Indonesia. *Indonesian Fisheries Research J.*, 5(1): 10-18.
- Irmawati. 2003. *Perubahan keragaman genetik ikan kerapu tikus (Cromileptes altivelis) generasi pertama pada stok hatchery*. Tesis Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 50 hlm.
- Jalil, Mallawa, A., & Ali, S.A. 2001. Biologi Populasi Ikan Beronang Lingkis (*S. Canaliculatus*) di perairan Kecamatan Bua Kabupaten Luwu. *J. Sains & Teknologi*, 4(1): 1-13.
- Kim, C.L. 1998. *Development of PCR-based DNA markers to identify and characterize Malaysian river catfish, Mystus nemurus (C&V): RAPD and AFLP*. Thesis Master of Science, Faculty of Science and Environmental Studies, Universiti Putra Malaysia, 124 pp.
- Koh, T.L., Khoo, G., Qun Fan, L., & 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: 484-497.
- Lante, S., Usman, & Rachmansyah. 2007. Pemijahan dan Pemeliharaan larva ikan beronang (*Siganus guttatus*). *Media Akuakultur*, 2(2): 57-61.
- Mamangkey, J.J., Sulistiono, Sjafei, D.S., Soedharma, D., Sukimin, S., & Nugroho, E. 2007. Keragaman Genetik Ikan Endemik Butini (*Glossogobius matanensis*) Berdasarkan Penanda *Random Amplified Polimorphic DNA* di Danau Towiti Sulawesi Selatan. *J. Riset Akuakultur*, 2(3): 389-397.
- Miller, M.P. 1997. *Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA)*. Version 1.3, A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Department of Biological Sciences-Box 5640. Northern Arizona University, Flagstaff. Az 86011-5640, 30 pp.
- Miyanojara, M., Iwatsuki, Y., & Sakai, M. 1999. Analysis of the Okinawa and Miyazaki population of the common silver-biddy, *Gerris oyena* using random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. *Fisheries Science*, 65(2): 177-181.
- Moria, S.B., Haryanti, Permana, G.N., & Slamet, B. 2006. Karakteristik Genetik dan Struktur Populasi Ikan Napoleon, *Cheilinus undulatus* di Perairan Indonesia. *J. Ris. Akuakultur*, 1(3): 315-323.
- Nagarajan, M., Haniffa, M.A., Gopalakrishnan, A., Basheer, V.S., & Muneer, A. 2006. Genetic variability of *Channa punctatus* populations using randomly amplified polymorphic DNA. *Aquaculture Research*, 37: 1.151-1.155.
- Nei, M. 1987. The measurement of genetic variation <http://earth.agu.org/revgeogophys/buckli01/node14.html>. (Februari 10 2003).
- Nugroho, E., Subagja, J., Asih, S., & Kurniasih, T. 2006. Evaluasi Keragaman Genetik Ikan Kancra dengan Menggunakan Marker Mt DNA 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 (*Osphronemus gouramy*) dengan menggunakan isozyme. *J. Ris. Akuakultur*, 2(1): 51-57.
- Norazila, K.S. 2000. *Genetic polymorphisms in sea cucumbers (Holothuridea) using random amplified polymorphic DNA (RAPD)*. Thesis Master of Science, Faculty of Medicine and Health Science, Universiti Putra Malaysia, 90 pp.

- Pandin, D.S. 2000. *Kemiripan genetik populasi kelapa dalam Mapanget Tengah, Bali, Palu dan Sarwana berdasarkan penanda RAPD*. Tesis Program Pascasarjana IPB. Bogor, 45 hlm.
- Parenrengi, A. 2001. *Studies on genetic variability of groupers (Genus: Epinephelus) from Indo-Malaysian waters using PCR-RAPD Analysis*. Thesis master of Science, Kolej University Terengganu, Universiti Putra Malaysia, 174 pp.
- Parenrengi, A., Sulaeman, Suryati, E., & Tenriulo, A. 2006. Karakteristik genetika rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang dibudidayakan di Sulawesi Selatan. *J. Ris. Akuakultur*, 1(1): 1-11.
- Permana, G.N., Hutapea, J.H., Haryanti, & Sembiring, S.B.M. 2007. Variasi genetik ikan tuna sirip kuning, *Thunnus albacores* dengan analisis elektroforesis allozyme dan Mt-DNA. *J. Ris. Akuakultur*, 2(1): 41-50.
- Rachmansyah, Usman, Lante, S., & Ahmad, T. 2007. Rabbitfish *Siganus guttatus* Breeding and Larva Rearing Trial. *Aquaculture Asia*, XII (3): 39-40.
- Rogers, J.S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. p. 145-153, *In Studies in genetics*. VII. Ed., M.R. Wheeler, Univ. Texas publ. 7213, 354 pp.
- Rusman. 2003. *Kajian Biofisik Perairan Pesisir Teluk Awerange untuk Budidaya Laut Sistem Keramba Jaring Apung di Kabupaten Barru Sulawesi Selatan*. Tesis Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 161 hlm.
- Saitoh, K., Tanaka, M., Ueshima, R., Kamaishi, T., Kobayashi, R., & Numachi, K.I. 1995. Preliminary data on restriction mapping and detection of length variation in Japanese flounder mitochondrial DNA, *Aquaculture*, 136:109-116.
- Santosa, G.W., Subandiyono, & Widianingsih. 1996. Aplikasi Bioteknologi Untuk Ikan Beronang (*Siganus* sp.) Dalam kaitannya dengan Prospek Budidaya Laut Di Indonesia. Tahap Akhir : Pemanfaatan berbagai sumber bahan pakan lokal pada pengadaan induk menggunakan bak semi-terkontrol (Tahun II). Lemlit - Universitas Diponegoro, 48 hlm.
- Soewardi, K. 2002. Pengelolaan Keragaman Genetik Sumberdaya Perikanan dan Kelautan. Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, 153 hlm.
- Sofian, I., Kozai, K., & Ohsawa. 2006. Investigation on the interoceanic connection between the Makassar strait and Java Sea. Proceedings of techno-Ocean. Jasnaoe Ocean Engineering Symposium, Paper No. 90, 14 pp.
- Subandiono, Hermawan, I., & Widianingsih. 1996. Peranan Penggantian Rumput Laut Dengan pakan Buatan terhadap Bio-energetika Ikan beronang (*Siganus* sp.). Lemlit- Universitas Diponegoro, 45 hlm.
- \_\_\_\_\_. 1997. Aplikasi Bioteknologi Untuk Ikan Beronang (*Siganus* sp.) Dalam kaitannya dengan Prospek Budidaya Laut di Indonesia. Tahap Akhir : Pemanfaatan berbagai sumber bahan pakan lokal pada pengadaan induk menggunakan bak semi-terkontrol (Tahun I ). Lemlit- Universitas Diponegoro, 48 hlm.
- Taggart, J.B., Hynes, R.A., Prodoehl, P.A., & Ferguson, A. 1992. A Simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *J. of Fish Biology*, 40: 963-965.
- Takagi, M. & Taniguchi, N. 1995. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of three species of *Anguilla*, *A. japonica*, *A. australis*, and *A. bicolor*. *Fisheries Science*, 61(5): 884-885.
- Valerio-Garcia, R.C. & Grijalva-Chon, J.M. 2008. Random-amplified polymorphic DNA analysis in hatchery populations and wild pacific white shrimp *Penaeus vannamei* from the Gulf of California. *Aquaculture Research*, 39: 666-669.
- Wahidah. 2004. *Variasi genetik ikan kerapu bebek (Cromileptes altivelis) pada generasi pertama program domestikasi di BBL Lampung dan BBAP Situbondo*. Tesis Institut Pertanian Bogor, 40 hlm.
- Wassef, E.A. & Abdul Hady, H.A. 1997. Breeding biology of rabbitfish *Siganus canaliculatus* (Siganidae) in mid Arabian Gulf. *Fisheries Research*, 33: 159-166.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livek, K.J., Rafalski, J.A., & Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531.