

Keragaman genetik ikan nila *Oreochromis niloticus* generasi kelima menggunakan marka DNA mikrosatelit

Genetic variability of the fifth generation of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* using microsatellite DNA markers

Gloria Ika Satriani¹, Dinar Tri Soelistyowati^{2*}, Dian Hardianto³, Ratu Siti Aliah⁴

¹ Program Studi Ilmu Akuakultur Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

² Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

³ Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi
Jl. Selabintana No. 37 Sukabumi 43114

⁴ Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT)
Jl. M.H. Thamrin no. 8 Jakarta 10340

ABSTRACT

Fifth generations of Nile tilapia from several strains have been produced by using selective breeding program in Main Centre for Freshwater Aquaculture Development (MCFAD) Sukabumi, West Java. This research was aimed to evaluate the impact of family selection program of some highly economic traits on its genetic variability using microsatellite DNA markers. The total of 180 specimens have been collected from fifth generation of nine reciprocal mating between three families selected from fourth generation of Nile tilapia and were screened for genetic variability at three microsatellite loci (*UNH 123**, *UNH 172**, *UNH 216**). The results showed that the amount of genetic variability on fifth generations of Nile tilapia from three strains was ranged between 33 to 100% and the highest genetic distance relationship between families was 0.3875. This research approved that females and males issued from the family which have more amount of genetic variability and higher distance to others could be considered as genetic materials to produce the next generation.

Keywords: microsatellite DNA, genotype, genetic variability, genetic distance, *Oreochromis niloticus*

ABSTRAK

Beberapa strain ikan nila generasi kelima telah dihasilkan dalam program pemuliaan di *Main Centre* untuk *Freshwater Aquaculture Development* (MCFAD) Sukabumi, Barat Jawa. Riset ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh seleksi famili terhadap performa karakter ekonomis penting berdasarkan keragaman genetiknya menggunakan penanda *microsatellite* DNA. Spesimen dari 180 individu generasi kelima hasil persilangan resiprokal antara tiga famili generasi keempat dianalisis dengan penanda tiga *microsatellite loci* (*UNH 123**, *UNH 172**, *UNH 216**). Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman genetik ikan nila generasi kelima berkisar antara 33 sampai 100% dan hubungan kekerabatan genetik antar famili yang paling jauh adalah 0,3875. Individu betina dan jantan yang berasal dari famili dengan tingkat keragaman genetik dan kekerabatan yang lebih tinggi dapat dipertimbangkan sebagai sumber genetik berkualitas untuk menghasilkan generasi berikutnya.

Kata kunci: microsatellite DNA, genotipe, keragaman genetik, jarak genetik, *Oreochromis niloticus*

PENDAHULUAN

Ikan nila *Oreochromis niloticus* merupakan spesies ikan air tawar yang secara ekonomis potensial dibudidayakan karena memiliki daya adaptasi yang tinggi, pertumbuhan yang cepat, efisien memanfaatkan pakan, dan relatif lebih tahan

terhadap penyakit. ikan nila berasal dari Benua Afrika dan hingga kini telah diintroduksi secara luas di berbagai belahan dunia. Di Indonesia, ikan nila umumnya dibudidayakan di kolam, sawah, dan keramba hampir di seluruh provinsi. Jawa Barat sebagai pusat ikan nila nasional produksinya meliputi 50% lebih dari total produksi

nasional, yaitu 34.122 ton pada tahun 2002 (Cholik *et al.*, 2005). Salah satu strain ikan nila yang umum dibudidayakan di Indonesia adalah ikan nila GIFT (*genetic improved of farmed tilapia*). Sejak lima tahun terakhir keragaman fenotipe ikan nila GIFT di Jawa Barat mengalami penurunan, di antaranya bobot panen turun hingga 23,70%, sintasan mencapai 40,97%, dan konversi pakan meningkat sampai 57,14%. Keterbatasan jumlah induk dan sifat *overbreeding* pada ikan nila diduga menjadi penyebab terjadinya peningkatan *inbreeding* yang berdampak pada penurunan heterozigositas, keragaman genetik, dan performa fenotipik (Tave, 1992; Nandlal & Pickering, 2004; Hardiantho, 2007).

Ragam genetik pada ikan budidaya dapat ditingkatkan melalui program penangkaran selektif (Ricardo & Taniguchi, 1999). Seleksi gen-gen potensial yang diinginkan secara terarah melalui persilangan dapat menekan frekuensi gen-gen yang merugikan sehingga menjamin kelangsungan generasi yang berkualitas. Penelusuran informasi keragaman genetik tetua dan kontribusinya pada genotipe keturunannya dapat dilakukan dengan analisis molekuler menggunakan marka mikrosatelit DNA (Norris *et al.*, 2000; Neff, 2001). DNA mikrosatelit (ms-DNA) adalah satelit DNA dengan unit ulangan pendek (2–6 pasangan basa) yang umum terdapat pada semua organisme, baik prokariotik maupun eukariotik (Jeffreys & Pena, 1993). Keistimewaan mikrosatelit DNA sebagai marka genetik adalah spesifik untuk tiap spesies, polimorfik dan pola pewarisannya bersifat kodominan Mendelian (*codominant Mendelian inheritance*) sehingga lokus mikrosatelit ideal digunakan dalam analisis sidik jari DNA (DNA *fingerprinting*), misalnya mampu mengidentifikasi pasangan induk pada keturunan ikan salmon Atlantik dengan ketepatan 95% meski tanpa data silsilah (Norris *et al.*, 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi program penangkaran selektif ikan nila generasi kelima terhadap perubahan ragam genetiknya dalam rangka menentukan strategi seleksi calon induk generasi selanjutnya yang potensial bagi peningkatan

produktivitas benih.

BAHAN DAN METODE

Sampel ikan uji

Ikan nila generasi kelima (F5) diperoleh dari program penangkaran selektif yang dilakukan oleh Pusat Pengembangan Induk Ikan Nila Nasional (PPIINN) di BBPBAT Sukabumi (Hardiantho, 2007). Seleksi dilakukan pada induk umur tujuh bulan berdasarkan bobot dan panjang standar ikan tiap famili kemudian dilakukan persilangan. Generasi pertama (F1) terdiri dari enam famili hasil persilangan antara ikan nila GIFT, GET, Citralada, dan nila putih (Tabel 1).

Pada generasi kedua (F2) dilakukan persilangan menggunakan enam famili hasil persilangan F1 yang menghasilkan tiga famili (Tabel 2). Selanjutnya, generasi ketiga (F3) dan keempat (F4) adalah hasil silang dalam (*inbreeding*) tiga famili dari F2, sedangkan generasi kelima (F5) yang digunakan sebagai sampel ikan uji dalam penelitian ini adalah hasil persilangan timbal balik (*reciprocal crossing*) tiga famili F4 (Tabel 3).

Ekstraksi DNA

Analisis DNA dilakukan terhadap 180 sampel ikan dari generasi kelima yang berasal dari sembilan populasi hasil persilangan timbal balik tiga famili masing-masing 20 ekor. Materi DNA diambil dari jaringan sirip dada sebanyak 1–2 g dan diawetkan dalam tabung mikro yang berisi alkohol 70%. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan kit *Puregene Cell and Tissue* (Qiagen, Ltd). Potongan sirip dimasukkan ke dalam *cell lysis solution* 200 μ L dan 1,5 μ L proteinase K, lalu divorteks dan diinkubasi semalam pada suhu 55 °C. RNase 1,5 μ L ditambahkan ke dalam larutan lalu tabung dibolak-balik 25 kali dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama satu jam yang dilanjutkan dengan inkubasi *on ice* selama lima menit. *Protein precipitation* 100 μ L ditambahkan ke dalam larutan lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabel yang telah berisi 300 μ L isopropanol, dibolak-balik 50 kali, lalu

disentrifugasi 12000 rpm selama sepuluh menit. Supernatan dipisahkan dari endapan sampel lalu ditambahkan 300 μ L etanol 70% dingin serta disentrifugasi 12000 rpm selama sepuluh menit. Pelet DNA yang dihasilkan dikeringkan sekitar tiga jam, lalu ditambah 20 μ L *steril destilated water* dan siap untuk dianalisis.

Amplifikasi marka ms-DNA

Pemetaan genotipe ikan nila generasi kelima dilakukan menggunakan tiga primer mikrosatelit DNA (*UNH 172**, *UNH 216**, *UNH 123**) sebagai marka molekuler (Tabel 4). Amplifikasi DNA disesuaikan dengan kondisi PCR, yaitu 33 siklus pada 94 °C selama satu menit, 30 detik pada suhu *annealing* optimal dan 30 detik pada 72 °C, denaturasi sepuluh menit pada 95 °C. Produk PCR dielektroforesis pada 6% gel poliakrilamid (Kocher *et al.*, 1998 dalam Romana-Eguia *et al.*, 2005).

Analisis data

Keragaman genetik dianalisis dengan metode *exact test for population differentiation* serta perhitungan jarak genetik dan dendrogram UPGMA (*unweighted pair group method using arithmetic average*) dengan program TFPGA (*tools for population genetic analyses*) mengacu Wright (1978) serta Raymond & Rousset (1995) dalam Miller (1997).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total alel yang terdeteksi pada tiga lokus (*UNH 172**, *UNH 216**, *UNH 123**) bervariasi tiga sampai enam alel dengan polimorfisme berkisar antara 0–100%. Lokus *UNH 216** dan *UNH 123** masing-masing terdeteksi dua alel pada panjang fragmen <50 bp dan 50–100 bp, sedangkan lokus *UNH 172** meliputi tiga alel pada fragmen 102–112 bp. Derajat polimorfisme yang tertinggi (100%) terdapat pada famili

Tabel 1. Sumber genetik enam famili ikan nila *Oreochromis niloticus* pada persilangan generasi pertama

Famili generasi pertama (F1)	Sumber genetik tetua	
	Betina	Jantan
I.05	TG 6 (nila hybrid Taiwan \times G6)	F3 (nila GIFT G3, BBPBAT Sukabumi)
I.13	F3 (Nila GIFT G3, BBPBAT Sukabumi)	G6 (nila GIFT G6, BPBI Wanayasa)
I.15	NP (nila putih asal Sleman, Yogyakarta)	G6 (nila GIFT G6, BPBI Wanayasa)
I.21	CL (nila Citralada, BBPBAT Sukabumi)	NP (nila putih asal Sleman, Yogyakarta)
I.29	WN (nila GIFT G3, BPBI Wanayasa)	GET (nila GET, BPBI Wanayasa),
I.GNP	GET (nila GET, BPBI Wanayasa),	NP (nila putih asal Sleman, Yogyakarta)

Sumber: Hardiantho, 2007

Tabel 2. Famili ikan nila *Oreochromis niloticus* generasi kedua hasil persilangan interfamili generasi pertama

Famili generasi kedua (F2)	Famili generasi pertama (F1)	
	Betina	Jantan
II.05	I.15	I.29
II.19	I.21	I.05
II.40	I.GNP	I.13

Sumber: Hardiantho, 2007

Tabel 3. Famili ikan nila *Oreochromis niloticus* generasi kelima hasil persilangan timbal balik tiga famili generasi keempat

Betina	Jantan		
	IV.05	IV.19	IV.40
IV.05	V.0505	V.0519	V.0540
IV.19	V.1905	V.1919	V.1940
IV.40	V.4005	V.4019	V.4040

Sumber: Hardiantho, 2007

Tabel 4. Marka mikrosatelit DNA pada analisis genotipe ikan nila *Oreochromis niloticus*

Nama lokus	Primer	Sekuen primer (5' ke 3')
<i>UNH 172*</i>	<i>forward</i>	AATGCCTTTAAATGCCTTCA
	<i>reverse</i>	CTTTTATAGTCGCCCTTTGTTA
<i>UNH 216*</i>	<i>forward</i>	CGGAAACTAAAGCTGAAATA
	<i>reverse</i>	TGCAAGGAATATCAGCA
<i>UNH 123*</i>	<i>forward</i>	CATCATCACAGACAGATTAGA
	<i>reverse</i>	GATTGAGATTTTCATTCAAG

V.4005, sebaliknya ketiga lokus monomorfik pada famili V.0540 (Tabel 5). Lokus *UNH 216** terdeteksi monomorfik pada famili hasil persilangan antara individu betina dan jantan yang berasal dari famili IV.05, kecuali V.4005, sedangkan individu jantan IV.40 diduga berkontribusi pada polimorfisme V.4040. Demikian pula lokus *UNH 123** menunjukkan pola genetik yang sama dengan lokus *UNH 216** kecuali pada V.0505 dan V.4005 yaitu polimorfik dengan dominansi alel berbeda. Sementara itu, lokus *UNH172** monomorfik pada V.0540, namun polimorfik pada famili hasil persilangan dengan betina IV.05 dan jantan IV.40.

Keragaman genetik intrafamili

Keragaman genetik ikan nila F5 hasil persilangan interfamili (Tabel 6) menunjukkan derajat polimorfisme yang lebih tinggi pada famili *truebreed* (V.0505, V.1919, V.4040) dibandingkan dengan hasil persilangannya, kecuali famili V.4005 dan V.4019 yang sumber betinanya IV.40 dan sumber jantannya IV.05 dan IV.19. Rerata jumlah alel efektif tertinggi adalah famili *truebreed* V.4040 (1,83), dengan hasil persilangan induk betina (V.4005, V.4019) menunjukkan variasi alel yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang jantan (V.0540, V.1940). Rerata heterosigositas (*Ho*) umumnya lebih tinggi dari yang diharapkan (*He*). Famili V.4005 menunjukkan *Ho* yang tertinggi (0,47), sebaliknya V.0540 merupakan populasi dengan homozigositas 100%. Fenomena penyusutan ragam genetik umum terjadi pada populasi budidaya karena seleksi yang ketat dalam waktu lama (Aliah *et al.*, 2000). Kecenderungan reduksi ragam genetik juga ditunjukkan dari hasil penelitian

Kusuma (2009) pada ikan nila hasil penangkaran selektif generasi ketiga yang menghasilkan *Ho* sebesar 0,77 *versus Ho* ikan nila generasi kelima dari penelitian ini yakni sebesar 0,47. Polimorfisme genetik dipengaruhi oleh tingkah laku reproduksi dan sistem *recruitment* tetua sebagai sumber genetik. Pada kasus pemijahan parsial dengan jumlah pasangan reproduksi efektif yang terbatas bisa menyebabkan persilangan memilih (*non random mated*) dan penghanyutan gen (*genetic drift*) yang berdampak pada reduksi polimorfisme genetik dan peningkatan homozigositas (Soewardi, 2007). Tingkat polimorfisme pada hasil persilangan interfamili V.4005 diduga berasal dari kontribusi sumber genetik betina (IV.40) yang memiliki rerata variasi alelik dan heterozigositas lebih tinggi dari pada famili lainnya. Peningkatan polimorfisme genetik dapat digunakan sebagai indikator pada seleksi sumber genetik (*broodstock*) generasi selanjutnya. Keragaman genetik populasi berkorelasi positif dengan potensi kebugaran populasi (*potential fitness*) terhadap seleksi alam. Semakin tinggi keragaman genetik populasi, maka semakin besar peluang gen-gen aditif maupun dominan diwariskan melalui individu heterozigot dan terekspresi melalui fenotipe yang lebih baik sehingga memudahkan dalam pelaksanaan program seleksi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa V.4019 baik digunakan sebagai benih sebar karena menunjukkan derajat polimorfisme yang tertinggi.

Keragaman genetik interfamili

Berdasarkan perbedaan distribusi frekuensi alelik interfamili ikan nila F5 hasil

Tabel 5. Polimorfisme tiga lokus pada ikan nila *Oreochromis niloticus* generasi kelima

Lokus	Alel	Populasi hasil persilangan famili (♀♂)								
		0505	0519	0540	1905	1919	1940	4005	4019	4040
<i>UNH 216*</i> (< 50 bp)	*B	0	0	0	0	0,50	0	0,20	0,70	0,33
	*A	1	1	1	1	0,50	1	0,80	0,30	0,67
<i>UNH 123*</i> (50–100 bp)	*B	0,35	1	1	1	1	1	0,89	1	1
	*A	0,65	0	0	0	0	0	0,11	0	0
<i>UNH 172*</i> (102–112 bp)	*C	0,50	0,68	0	0,21	0	0,25	0	0	0,12
	*B	0,50	0,32	1	0,50	0,50	0,50	0,58	0,50	0,46
	*A	0	0	0	0,29	0,50	0,25	0,42	0,50	0,42
Jumlah alel		5	4	3	5	5	5	6	5	6
Polimorfisme (%)		66	33	0	33	66	33	100	66	66

persilangan timbal balik tiga famili diperoleh jarak genetik berkisar antara 0,0006 sampai 0,3875 (Tabel 7). Hasil persilangan V.1905 dan V.1940 memiliki kemiripan genetik yang tertinggi, sebaliknya V.4019 dan V.0505 menunjukkan jarak genetik yang paling jauh. Famili *truebreed* V.0505 juga menunjukkan jarak genetik yang paling jauh terhadap kedua *truebreed* lainnya (V.1919 dan

V.4040).

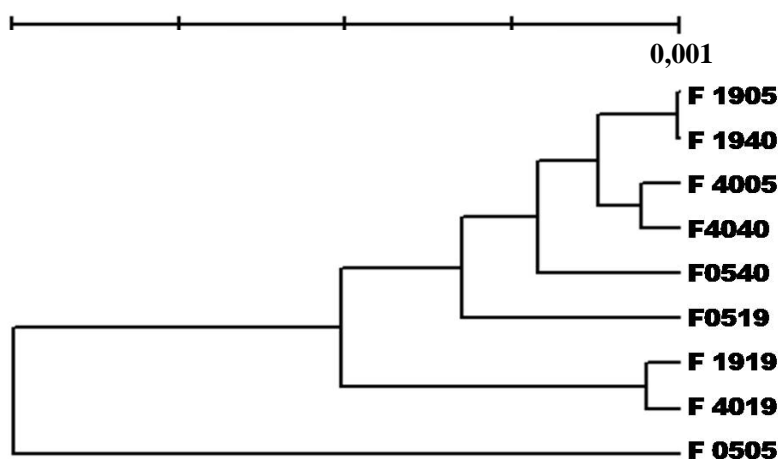
Perbedaan keragaman genetik interfamili yang digambarkan dengan dendrogram *UPGMA* (Gambar 1) menunjukkan pemisahan tiga kelompok, yaitu V.0505 pada posisi yang paling jauh terhadap dua kelompok lainnya, yakni famili V.1919 dan V.4019 dalam satu kelompok dan kelompok dengan tingkat kemiripan tertinggi yaitu

Tabel 6. Keragaman genetik ikan nila *Oreochromis niloticus* generasi kelima (F5)

Populasi (famili♀/♂)	Lokus			Rerata
	UNH 123*	UNH 172*	UNH 216*	
V.0505 (n)	20	20	20	
Jumlah alel	2	2	1	1,70
Jumlah alel efektif	2	2	1	1,70
<i>Ho</i>	0	1	0	0,30
<i>He</i>	0	0,50	0	0,16
V.1919 (n)	14	20	20	
Jumlah alel	1	2	2	1,67
Jumlah alel efektif	1	2	2	1,67
<i>Ho</i>	0	1	0	0,33
<i>He</i>	0	0,50	0	0,16
V.4040 (n)	20	12	15	
Jumlah alel	1	3	2	2
Jumlah alel efektif	1	2,48	2	1,83
<i>Ho</i>	0	0,92	0,27	0,40
<i>He</i>	0	0,60	0,45	0,35
V.0519 (n)	20	20	20	
Jumlah alel	1	2	1	1,33
Jumlah alel efektif	1	1,78	1	1,26
<i>Ho</i>	0	0,55	0	0,18
<i>He</i>	0	0,44	0	0,15
V.0540 (n)	20	14	20	
Jumlah alel	1	1	1	1
Jumlah alel efektif	1	1	1	1
<i>Ho</i>	0	0	0	0
<i>He</i>	0	0	0	0
V.1905 (n)	20	17	20	
Jumlah alel	1	3	1	1,70
Jumlah alel efektif	1	2,60	1	1,55
<i>Ho</i>	0	1	0	0,33
<i>He</i>	0	0,62	0	0,21
V.1940 (n)	20	20	16	
Jumlah alel	1	3	1	1,67
Jumlah alel efektif	1	0,38	1	0,79
<i>Ho</i>	0	1	0	0,33
<i>He</i>	0	0,63	0	0,21
V.4005 (n)	18	20	15	
Jumlah alel	2	2	2	2
Jumlah alel efektif	1,24	2	0,47	1,24
<i>Ho</i>	0	1	0,40	0,47
<i>He</i>	0	0,50	0,32	0,27
V.4019 (n)	20	12	15	
Jumlah alel	1	2	2	1,67
Jumlah alel efektif	1	2	1,72	1,57
<i>Ho</i>	0	1	0,20	0,40
<i>He</i>	0	0,50	0,42	0,31

Tabel 7. Jarak genetik interpopulasi ikan nila *Oreochromis niloticus* generasi kelima hasil persilangan timbal balik tiga famili

Famili	0505	0519	0540	1905	1919	1940	4005	4019	4040
0505	*								
0519	0,1510	*							
0540	0,2242	0,1519	*						
1905	0,1697	0,0562	0,0631	*					
1919	0,3075	0,2060	0,1667	0,0975	*				
1940	0,1617	0,0456	0,0625	0,0006	0,1042	*			
4005	0,1828	0,1339	0,0777	0,0283	0,0360	0,0339	*		
4019	0,3875	0,2860	0,2467	0,1775	0,0133	0,1842	0,0893	*	
4040	0,2305	0,1194	0,1175	0,0409	0,0133	0,0446	0,0149	0,0489	*

Gambar 1. Dendrogram jarak genetik populasi ikan nila *Oreochromis niloticus* hasil persilangan timbal balik tiga famili.

V.4040 dan hasil persilangannya (V.4005, V.0540, V.1940, V.1905, V.0519).

Variasi fenotipik ditentukan oleh distribusi ragam genetik dalam populasi yang merupakan petunjuk dasar dalam menentukan program seleksi potensi genetik yang prospektif untuk persilangan yang menghasilkan generasi baru (Said *et al.* 2000). Pada penelitian ini, famili V.0505 dan V.1919 diduga potensial sebagai sumber genetik untuk meningkatkan ragam genetik famili V.4040 karena memiliki perbedaan jarak genetik yang besar. Sementara itu famili-famili yang memiliki kemiripan genetik tinggi dapat dikelola keragamannya dengan melakukan introduksi gen melalui persilangan dengan populasi yang kekerabatannya lebih jauh.

Sumber genetik famili V.4040 berasal dari hasil persilangan antara F3, G6, GET, dan NP. Famili G6 adalah nila GIFT hasil seleksi generasi keenam, sedangkan GET berasal dari BPBI Wanayasa hasil persilangan beberapa strain (Kenya, Egypt, BFAR A, BFAR B), sehingga V.4040 ini memiliki

keragaman genetik yang lebih tinggi dari populasi lainnya. Berdasarkan genotipe tiga lokus (*UNH 123**, *UNH 172**, *UNH 216**), hasil persilangan antara betina IV.40 dengan jantan tiga famili (IV.05, IV.19, IV.40) menunjukkan keragaman genetik yang lebih tinggi dibandingkan hasil persilangan dari kedua betina lainnya (IV.05, IV.19). Informasi keragaman genetik ini sangat bermanfaat di dalam merumuskan program pemuliaan ikan nila maupun upaya pemantauannya untuk mengelola kualitas genetiknya.

KESIMPULAN

Keragaman genetik ikan nila generasi kelima berkisar antara 33–100% dengan hubungan kekerabatan genetik antara famili tertinggi adalah sebesar 0,3875. Famili V.4040 merupakan sumber genetik yang potensial sebagai calon induk berdasarkan tingkat keragaman genetik tiga lokus mikrosatelit (*UNH 123**, *UNH 172**, *UNH 216**), sedangkan famili V.4019 dapat

dipertimbangkan sebagai penghasil benih sebar terbaik dan dapat dipantau statusnya melalui indikator monomorfisme *UNH 123** sebagai lokus penciri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aliah RS, Sato S, Taniguchi N. 2000. An evaluation of genetic variability of Nishikigoi, (*Cyprinus carpio*) stock from Niigata Prefecture based on microsatellite DNA markas. *Suisanzoshoku* 48: 25–31.
- Cholik F, Jagatraya AG, Poernomo RP, Jauzi A. 2005. *Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa*. Jakarta: Masyar Perikanan Nusantara, TMII.
- Hardiantho D. 2007. Heritabilitas dan respon seleksi famili ikan nila (*oreochromis niloticus* blkr.) di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Jeffreys AJ, Pena SDJ. 1993. Brief introduction to human DNA fingerprinting. In: Pena SDJ, Chakraborty R, Epplen JT, Jeffreys AJ (eds). *DNA Fingerprinting. State of the Science*. Switzerland: Birkhauser Verlag Basel. pp: 1–21.
- Kusuma WE. 2009. Analisa keragaman genetik ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dari tujuh strain dengan menggunakan microsatellite DNA marka [Tesis]. Malang: Universitas Brawijaya.
- Miller MP. 1997. Tools for Population Genetic Analyses (TFPGA) [Documentation file]. Available with the program's installation files at <http://www.marksgeneticsoftware.net/tfpga.htm>
- Nandlal S, Pickering T. 2004. *Tilapia Fish Farming in Pacific Island Countries: Tilapia Hatchery Operation Volume 1*. Noumea: The University of the South Pacific.
- Neff BD. 2001. Genetic paternity analysis and breeding success in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *J. Heredity* 92: 111–119.
- Norris AT, Bradley DG, Cunningham EP. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markas. *Aquaculture* 182: 73–83.
- Ricardo PE, Taniguchi N. 1999. Use of microsatellite DNA as genetic tags for the assessment of a stock enhancement programme of red sea bream. *J. Fish Sci.* 65: 374–379.
- Romana-Eguia MRR, Ikeda M, Basiao ZU, Taniguchi N. 2005. Genetics change during mass selection for growth in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L), assessed by microsatellites. *Aquaculture Research* 36: 69–78.
- Said DS, Carman O, Abirawanto. 2000. Hybridization on Irian's rainbow fishes famili Melanotaeniidae. Symposium abstract book The JSPS International Symposium on Fisheries Science in Tropical Area. Bogor.
- Soewardi K. 2007. *Pengelolaan Keragaman Genetik Sumberdaya Perikanan dan Kelautan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tave D. 1992. *Genetics for Fish Hatchery Managers*. Westport, Connecticut: AVI Publishing.