

**Pengkajian Polimorfisme Protein Plasma Darah  
pada Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy Lac*) di Kabupaten Jember  
(*Studies Polymorphism of Blood Plasm Protein in Gurami (Osphronemus  
gouramy Lac) in Jember County*)**

Rike Oktarianti<sup>1)</sup> dan Mamik Pristiwindari<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Staf pengajar Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember

<sup>2)</sup> Mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember

**ABSTRACT**

*The objective of this research was to study the blood protein polymorphism of gurami (Osphronemus gouramy Lac). Blood sample were collected from 55 gurami. Polyacrilamide Gel Electrophoresis (PAGE) was used in the blood plasm protein analysis. Identification of protein bands on gel are determinated by comparing the molecul weight of those test group protein with the marker protein. The result showed that the locus albumin, pre-albumin and transferin are polymorphic. Locus albumin, pre-albumin and transferin are controlled by three alleles ie A, B and C. The total heterozygosity of gurami is 52 %.*

*Keywords : polymorphism, blood plasm protein, gurami (Osphronemus gouramy Lac)*

**PENDAHULUAN**

Keanekaragaman merupakan fenomena normal pada makhluk baik pada tumbuhan, hewan maupun manusia. Terdapatnya keanekaragaman morfologi erat kaitannya dengan keanekaragaman genetis. Sofro (1994), menyatakan bahwa secara genetik tidak ada dua individu yang sama persis. Setiap organisme mempunyai susunan genetik yang bersifat unik. Keunikan susunan genetik pada setiap individu mencerminkan sekumpulan ciri-ciri yang cocok untuk individu tersebut dalam lingkungan tertentu tempat individu tersebut hidup.

Berkembangnya kajian genetika memungkinkan keanekaragaman genetik atau variasi genetik yang terjadi pada ikan gurami dapat dideteksi melalui pengkajian polimorfisme protein plasma darah. Karena dalam darah banyak ditemukan protein seperti pada jaringan tubuh yang lain. Polimorfisme protein adalah suatu protein yang dapat dikategorikan dalam beberapa fenotip protein dan dikontrol oleh 2 alel atau lebih pada suatu lokus gen tertentu (Harris, 1994). Polimorfisme protein darah diatur secara genetik oleh pasangan alel atau rangkaian alel tanpa dominansi (Warwick, 1990).

Beberapa protein dalam plasma darah yang menunjukkan adanya polimorfisme adalah pre-albumin, albumin dan transferin, ketiga protein tersebut mudah ditemukan dalam jumlah besar. Albumin adalah protein utama yang dihasilkan oleh hati berperang penting dalam pengikatan dan transport berbagai zat di dalam darah dan bertanggung jawab pada sekitar 80% dari

tekanan osmotik potensial dari plasma (Frandsen, 1993). Pre-albumin adalah termasuk dalam fraksi albumin yang mentransport hormon tiroksin dan metabolitnya bersama dengan suatu transferin yang berikatan pada tiroksin dan albumin (Physiol, 2000). Sedangkan transferin merupakan protein yang berasal dari gugus  $\beta$  globulin yang berfungsi mengangkut zat besi.

Salah satu cara untuk mengidentifikasi polimorfisme protein plasma darah adalah dengan teknik elektroforesis (Sofro, 1994). Prinsip kerja elektroforesis adalah adanya perbedaan kecepatan gerak partikel-partikel bermuatan apabila terdapat dalam suatu medan listrik. Kecepatan gerak setiap molekul sebanding dengan mobilitas relatif dari suatu molekul berdasarkan sifat fisik kimia yang dapat dibandingkan dengan standar. Selain itu elektroforesis juga tergantung pada ukuran, bentuk molekul serta medium yang digunakan (Jenkins, 1990). Teknik elektroforesis dengan menggunakan gel poliakrilamid memiliki kemampuan daya pemisah yang tinggi, yaitu dapat memisahkan senyawa dengan laju perpindahan yang sama tetapi berbeda ukuran molekulnya. Hasil analisis teknik elektroforesis juga akan memberikan informasi tentang frekuensi alel suatu populasi, tingkat heterosigositas, homosigositas serta hubungan filogenetis suatu jenis, genus atau populasi (Masyud, 1992).

Berdasarkan uraian di atas maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah apakah populasi ikan gurami yang ada di kolam pemeliharaan di kabupaten Jember

menunjukkan adanya polimorfisme protein plasma darah. Dan bagaimanakah tingkat variasi genetik (heterosigositasnya) pada poulasi ikan gurami tersebut.

Manfaat penelitian ini yaitu dengan diketahuinya karakteristik ikan gurami maka dapat digunakan sebagai bahan dokumentasi untuk keperluan konservasi genotip-genotip tertentu dalam upaya pelestarian plasma nutfah ikan di Indonesia.

### METODE

#### Tempat dan Waktu Penelitian

Sampel ikan gurami diperoleh dari kolam pemeliharaan di wilayah Kabupaten Jember. Preparasi sampel darah dan analisis protein plasma darah dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Jember. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Juli sampai Agustus 2003.

#### Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain *Sentrifugase* (SIGMA 3 K12), *disposable syringe* 1 ml (TERUMO, Japan), *tabung eppendorf* 1,5 ml, *mikropipet* (SOCOREX, Swiss), *yellow tip, blue tip, freezer* -20°C (SANYO SCF 4N), *shaker* (RIKO RS-12TE), seperangkat alat elektroforesis sistem vertikal (BIO CRAFT MODEL BE 210, Japan), *power supply* (KAYAGAKI PS-10), kaca, penjepit, kertas kaca, *cutter gel, erlenmeyer* 25 ml, termos es, *tissue*, kamera (NIKON 10 FM). Sedangkan bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut.

1. Sampel yang digunakan sebanyak 55 ekor dengan berat masing-masing 500 gram.
2. Preparasi sampel : alkohol 70%, EDTA (*ethylene diamine tetra acetic-acid*).
3. Gel: *Acrylamide-bis* (SIGMA, USA), *Tris HCl* (MERCK, Germany), *ammonium persulfate* (APS) 10% (BIO-RAD Laboratories), *sodium dodecyl sulphate* (SDS) 10% (BDH LIMITED POOPLE, England), *N,N,N',N' tetra methyl ethylene diamine* (TEMED) 0,05% (BIO-RAD Laboratories), *glycin* (MERCK, Germany), *glycerin* (MERCK, Germany), *mercaptoethanol 2-b* (MERCK, Germany) dan *aquadest*.
4. Pewarnaan, pencucian dan penyimpanan gel: *bromophenol blue* (MERCK, Germany), *coosmassie brilliant blue R-250* (BDH CHEMICAL Ltd, England), *tricloloro*

*acetic acid* (TCA), *methanol*, *acetic acid glacial* (AAG) (MERCK, Germany).

#### Pelaksanaan Penelitian

Identifikasi protein plasma darah menggunakan teknik elektroforesis gel poliakrilamid sistem vertikal (Sofro, 1992):

1. Pengambilan sampel darah
2. Penyiapan plasma darah
3. Penyiapan gel pemisah atau *running gel*
4. Penyiapan gel penggertak atau *stacking gel*
5. Pelaksanaan elektroforesis gel
6. Pewarnaan gel atau *staining*
7. Pencucian (*destaining*) dan penyimpanan gel

#### Analisis Data

Identifikasi pita protein plasma darah yang tampak pada gel maka dilakukan penghitungan berat molekul yang didasarkan pada mobilitas relatif (Rf) dan membandingkan dengan marker dimana sudah diketahui berat molekulnya (Chung, 1987). Menurut Ferguson (1980), atas dasar jumlah pita protein dan tebal tipisnya pita yang terbentuk kemudian ditentukan genotip dan dihitung frekuensi alel, derajat polimorfisme, heterozigositas, dan rata-rata heterozigositas.

$$\text{Frekuensi alel} = \frac{2H_o + H_e}{2N}$$

keterangan

H<sub>o</sub> : Jumlah alel homozigot

H<sub>e</sub> : Jumlah alel heterozigot

N : Jumlah individu (Ferguson, 1980)

Derajat Polimorfisme (P) =

$$\frac{\text{jumlah lokus polimorfik}}{\text{jumlah total lokus yang diamati}}$$

Suatu lokus dianggap polimorfisme bila frekuensi dari alel yang paling sering muncul < 0,99 atau 99% (Leary and Booke dalam Suryani *et al.*, 2001)

#### Heterozigositas (He)

Merupakan ukuran keragaman genetik pada populasi yang kawin acak. Ukuran ini dihitung berdasarkan frekuensi alel pada setiap lokus.

$$H_e = 1 - \sum X_i^2$$

keterangan

He : heterozigositas

Xi : Frekuensi alel ke-1

**Rata- rata Heterozigositas (H):**

Rata- rata heterozigositas adalah proporsi lokus heterozigot yang teramati dirata- ratakan terhadap semua lokus yang diuji.

$$H = \frac{\sum He}{R}$$

keterangan

H : Rata-rata heterozigositas

He : Heterozigositas yang diharapkan

R : Lokus yang diuji. (Nei, 1978 dalam Suryani, dkk, 2001)

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

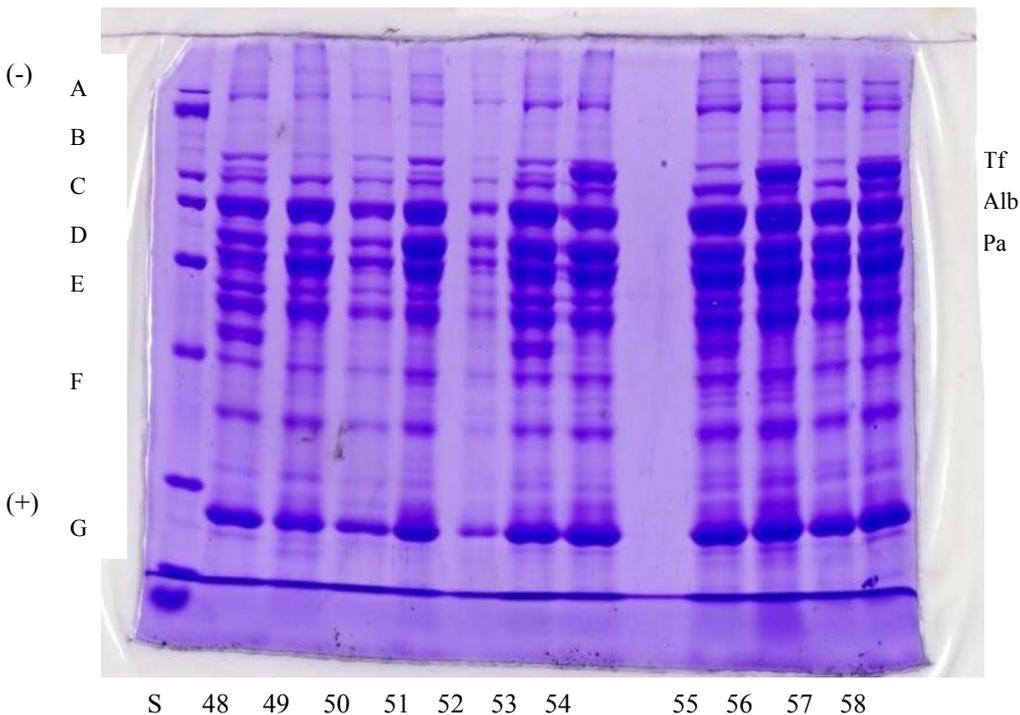
**Hasil Elektroforesis Protein Plasma Darah Ikan Gurami**

Salah satu hasil elektroforesis protein plasma darah pada lokus transferin, albumin dan pre-albumin pada ikan gurami dapat ditunjukkan pada Gambar 1 berikut.

**Lokus transferin**

Migrasi pita-pita transferin terletak di belakang pita albumin dan menunjukkan bahwa pita tersebut memiliki berat molekul sekitar 78.000 sampai 80.000 Dalton. Demikian pula menurut Sofro (1994), bahwa berat molekul transferin antara 76.000-80.000 Dalton.

Frekuensi gen/alel merupakan pernyataan matematis suatu gen yang tersebar dalam suatu populasi yang bereproduksi secara seksual (Ferguson, 1980). Hasil perhitungan frekuensi genotip dan frekuensi alel (gen) pada lokus transferin pada populasi ikan gurami disajikan dalam Tabel 1 dan 2 di bawah ini.



Gambar 1. Elektroforegram profil protein plasma darah ikan gurami.

Keterangan gambar : Pa = pre-albumin, Alb = Albumin, Tf = Transferin, S= protein standart (A : Myosin = BM 200 kDA; B : galaktosidase = BM 116,2 kDA; C : Phosphorilase b = BM 97.4 kDA; D : Bovine Serum Albumine = BM 66,2 kDA; E : Ovalbumine = BM 45 kDA; F : Carbonic anhydrase = BM 31 kDA; G : Trypsin inhibitor = BM 21,5 kDA.

Tabel 1. Frekuensi genotip lokus Transferin (Tf) pada ikan gurami

Genotip	Frekuensi genotip (%)
Tf-AA	38,29
Tf-BB	12,76
Tf-CC	0
Tf-AB	38,29
Tf-BC	0
Tf-AC	10,64

Tabel 2. Frekuensi alel lokus Transferin (Tf) pada ikan gurami

Alel	Frekuensi alel
Tf-A	0,63
Tf-B	0,32
Tf-C	0,05

Berdasarkan pola migrasi pita-pita transferin tersebut menunjukkan bahwa lokus transferin ini dikontrol oleh 3 alel yaitu Tf-A, Tf-B dan Tf-C. Genotip transferin yang terdeteksi pada populasi ikan gurami ini adalah Tf-AB dan Tf-AC yang merupakan genotip heterozigot dan adanya genotip homozigot ditandai dengan genotip Tf-AA dan Tf-BB. Variasi genotip tersebut disebabkan adanya aliran gen (perpindahan alel dalam suatu populasi) melalui migrasi atau perkawinan (Sofro, 1994).

Tabel 1 menunjukkan bahwa alel Tf-A memiliki frekuensi tertinggi dibandingkan dengan alel Tf-B dan Tf-C. Alel Tf-A memiliki frekuensi gen sebesar 0,63 atau 63% dan merupakan alel yang umum ditemukan pada populasi ikan gurami. Sedangkan alel Tf-C merupakan alel jarang dengan frekuensi gen sebanyak 0,05 atau 5%. Pada lokus transferin terjadi polimorfisme karena diketahui frekuensi alel umum yaitu Tf-A adalah 0,63 atau 63 % dengan derajat polimorfisme 1 atau 100 %. Menurut Li dan Graur (1991) suatu lokus tergolong lokus polimorfisme apabila memiliki frekuensi alel terbanyak yang ditemukan tidak melebihi 99%.

Alel Tf-C merupakan alel jarang dengan frekuensi alel sebesar 0,05 atau 5 %. Keberadaan alel jarang ini kemungkinan disebabkan karena hasil dari peristiwa mutasi gen. Akibat adanya perubahan pada basa nukleotida penyusun gen ini maka apabila terjadi transkripsi dan translasi, polipeptida yang terbentuk berbeda dengan polipeptida sebelumnya sehingga menghasilkan protein

mutan. Menurut Sofro (1994), mutasi gen merupakan salah satu bahan dasar untuk terbentuknya protein yang bervariasi.

### Lokus Albumin

Albumin merupakan komponen utama protein serum dengan konsentrasi 3500-5000 mg/ml, di dalam elektroforesis albumin bermigrasi lebih cepat dan memiliki posisi di belakang lokus pre-albumin dan di depan lokus transferin dengan penampilan pita tebal dan lebar. Berat molekul albumin adalah 68.000-69.000 Dalton (Harper *et al.*, 1995 dan Sofro, 1992). Hasil perhitungan frekuensi genotip dan frekuensi alel dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Frekuensi genotip lokus Albumin (Alb) pada ikan gurami

Genotip	Frekuensi genotip (%)
Alb-AA	35,18
Alb-BB	0
Alb-CC	0
Alb-AB	44,4
Alb-BC	0
Alb-AC	20,4

Tabel 4. Frekuensi alel lokus Albumin (Alb) pada ikan gurami

Alel	Frekuensi alel
Alb-A	0,68
Alb-B	0,22
Alb-C	0,1

Dengan adanya perbedaan pada pola migrasi lokus albumin, maka dapat diketahui bahwa terdapat 3 alel yang mengontrol keberadaan albumin (Alb) yaitu alel Alb-A, Alb-B dan Alb-C. Genotip homozigot yang terdeteksi pada populasi ikan gurami adalah Alb-AA sedangkan genotip lainnya antara lain Alb-AB dan Alb-AC merupakan genotip heterozigot. Pada Tabel 3 dapat diketahui bahwa alel Alb-A merupakan alel umum dengan nilai frekuensi alel sebesar 0,68 atau 68% dan Alb-C merupakan alel jarang dengan memiliki frekuensi alel paling kecil yaitu 0,1 atau 10%. Menurut Smith (1998), suatu lokus dikatakan polimorfik apabila nilai frekuensi alel umumnya kurang dari 0,99. Sesuai dengan pernyataan ini, apabila dilihat dari nilai frekuensi alel umum pada lokus albumin, yaitu pada alel Alb-A dengan nilai frekuensi alelnya sebesar 0,68 atau 68% dapat dikatakan lokus

ini memiliki sifat polimorfik karena frekuensi alel umum yang dimiliki tidak melebihi 0,99 atau 99% dengan derajat polimorfisme 1 atau 100 %.

Hasil tersebut di atas sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti pada populasi lele lokal sungai dan lele lokal albino dimana pada lokus Albumin juga dikontrol oleh tiga alel yaitu Alb-A, Alb-B dan Alb-C dimana alel Alb-A merupakan alel umum dan alel Alb-C merupakan alel jarang (Oktarianti dkk, 2001).

#### Lokus Pre-albumin (Pa)

Lokus Pre-albumin memiliki berat molekul kurang lebih 55.000 Dalton, dan merupakan lokus dengan berat molekul yang paling kecil dibandingkan dengan lokus-lokus lainnya, sehingga Pre-albumin bermigrasi paling cepat dan terletak di depan lokus albumin. Hasil perhitungan frekuensi genotip dan alel lokus pre-albumin pada populasi ikan gurami disajikan dalam Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Frekuensi genotip lokus Pre-albumin (Pa) pada ikan gurami

Genotip	Frekuensi genotip (%)
Pa-AA	25,45
Pa-BB	0
Pa-CC	0
Pa-AB	54,54
Pa-BC	5,45
Pa-AC	14,54

Tabel 6. Frekuensi alel lokus Pre-albumin (Pa) pada ikan gurami

Alel	Frekuensi alel
Pa-A	0,6
Pa-B	0,3
Pa-C	0,1

Pola pita pada Pre-albumin bervariasi antara satu sampai dua pita tipis. Dengan adanya perbedaan pola migrasi pada lokus Pre-albumin ini maka dapat digunakan sebagai dasar untuk menunjukkan fenomena polimorfisme. Lokus Pre-albumin pada populasi ikan gurami ini dikontrol oleh 3 alel yaitu Pa-A, Pa-B dan Pa-C. Pada lokus ini ditemukan ada 4 macam genotip. Satu macam genotip merupakan genotip homozigot yaitu Pa-AA dan 3 macam genotip lainnya yaitu Pa-AB, Pa-AC dan Pa-BC merupakan genotip heterosigot. Genotip

Pa-BC hanya dijumpai pada gurami dengan warna tubuh hitam sedangkan pada gurami dengan warna tubuh putih tidak dijumpai. Keadaan ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain, faktor genetik, faktor lingkungan serta adanya mutasi. Menurut Sofro (1994) perubahan susunan genetik terjadi dari ekspresi gen yang bersangkutan. Sehingga akan timbul suatu susunan genetik yang unik pada setiap individu. Susunan genetik semacam ini tentunya akan sangat beraneka ragam dan merupakan penyebab timbulnya keanekaragaman di antara spesies.

Dari Tabel 5 dan 6 diketahui bahwa alel Pa-A memiliki frekuensi alel tertinggi sebesar 0,6 atau 60% dan merupakan alel umum. Sedangkan alel Pa-C memiliki frekuensi alel paling kecil yaitu sebesar 0,1 atau 10%. Lokus Pre-albumin merupakan lokus polimorfik, hal ini dikarenakan alel umum (Pa-A) memiliki frekuensi alel sebesar 0,6 atau 60% nilai ini lebih kecil dibandingkan dengan 0,99. Sesuai dengan pernyataan Ismadi (1994) bahwa suatu alel tergolong sebagai lokus polimorfik apabila frekuensi alel paling umum yang ditemukan tidak melebihi 0,99 atau 99 %.

Hasil penelitian ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Widiasworo (2002) pada populasi ikan nila hitam, ikan nila merah dan ikan mujair, diketahui bahwa lokus Pa dikontrol oleh 3 alel yaitu Pa-A, Pa-B dan Pa-C. Sedangkan penelitian yang dilakukan peneliti sebelumnya pada populasi lele lokal albino lokus Pre-albumin hanya dikontrol oleh dua alel yaitu Pa-A, Pa-B dimana alel Pa-A merupakan alel umum (Oktarianti *et al.*, 2001).

#### Heterozigositas

Heterozigositas untuk setiap lokus dihitung berdasarkan frekuensi alel pada masing-masing lokus, yang menggambarkan adanya variasi genetik pada suatu populasi. Semakin tinggi nilai heterozigositas pada suatu populasi maka tinggi pula variasi genetik pada populasi tersebut (Ferguson, 1980). Dari nilai ini akan terlihat bahwa lokus Albumin (Alb), Transferin (Tf) dan Pre-albumin (Pa) dikontrol oleh lebih dari 1 alel. Nilai heterozigositas pada ketiga lokus tersebut tercantum dalam Tabel 7.

Tabel 7. Heterozigositas ikan gurami

Lokus	Nilai heterozigositas
Tf	0,5
Alb	0,49
Pa	0,54
Heterozigositas populasi	0,52

Berdasarkan perhitungan heterozigositas tingkat lokus ( $H_L$ ) pada populasi ikan gurami diantara ketiga lokus, lokus pre-albumin memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 0,54. Sedangkan untuk lokus transferin (Tf) dan albumin (Alb) berturut-turut 0,5 dan 0,49. Nilai heterozigositas tingkat populasi ( $H_p$ ) besarnya tergantung pada nilai heterozigositas tingkat lokus (Ferguson, 1980). Pada populasi ikan gurami ini memiliki heterozigositas tingkat populasi ( $H_p$ ) sebesar 0,52 atau 52%. Nilai heterozigositas yang dimiliki oleh ikan gurami ini tinggi, keadaan ini terjadi karena sampel lokus yang diteliti kurang representatif jika dibandingkan dengan *gen pool* secara keseluruhan. Keadaan ini cukup sulit untuk diatasi karena jumlah lokus yang diteliti hanya 3 lokus protein sedangkan lokus pada suatu spesies berjumlah sangat banyak (Hadie, *et al.*, 1999)

Tingkat heterozigositas pada suatu populasi dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain mutasi, reproduksi sifat dan rekombinan, perkawinan acak dan perkawinan keluarga, migrasi, dan seleksi alam (Pai, 1985). Faktor lain yang mempengaruhi heterozigositas adalah arus gen yang menunjukkan adanya penyusupan gen dari satu populasi ke populasi lain tetapi umumnya berjalan satu arah (Sofro, 1994).

Menurut Nei (1987) faktor yang mempengaruhi tingkat heterozigositas yaitu ukuran populasi. Pada populasi lokal yang tertutup dan tidak bermigrasi akan mempunyai tingkat heterozigositas genetik yang lebih kecil dibandingkan populasi lokal yang penyebarannya terbuka. Selain itu tingkat heterozigositas juga dipengaruhi oleh habitat dan sejarah penyebaran suatu takson. Pada habitat yang kurang baik akan menyebabkan perkembangan populasinya tertekan dan akibatnya kemampuan reproduksi juga menurun. Menurunnya kemampuan reproduksi akan menyebabkan keragaman genetik juga menurun.

## KESIMPULAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Pada plasma darah ikan gurami terjadi polimorfisme protein pada lokus pre-albumin, albumin dan transferin. Lokus pre-albumin dikontrol oleh 3 alel yaitu Pa-A, Pa-B dan Pa-C, lokus albumin dikontrol oleh 3 alel yaitu Alb-A, Alb-B dan Alb-C, lokus transferin dikontrol oleh 3 alel yaitu Tf-A, Tf-B dan Tf-C dengan derajat polimorfisme 1 atau 100%.
2. Nilai heterozigositas masing-masing sebesar 0,5 untuk lokus Tf, 0,49 lokus Alb dan 0,54 lokus Pa. Sedangkan nilai heterozigositas tingkat populasi yaitu sebesar 0,52 atau 52%.

### Saran

Untuk memperoleh gambaran yang lebih lengkap mengenai karakteristik genetik ikan gurami maka perlu dilakukan pemeriksaan terhadap lokus-lokus protein yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chung M.C.M. 1987. *Poliacrylamide Gel Electrophoresis*. ICSU Press. Paris.
- Ferguson A. 1980. *Biochemical Systematics and Evolution*. Lecturer in Zoology The Queens University of Belfast. London.
- Frandsen D.R. 1993. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Hadie L. E., L.E. Hadie, Sutyarso, Sudarti. 1999. Keanekaragaman Genetik Antar Ikan Lele (*Clarias batrachus*) di Sungai Musi dan Bengawan Solo. *dalam* Jurnal Sains dan Teknologi. Vol II.
- Harris H. 1994. *Dasar-dasar Genetika Biokemis Manusia. Edisi Ketiga*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Harper H. A., V. W. Rondwell and P. A. Mayes. 1978. *Review of Physiological Biochemistry*. Lange Medical Publisher. California.
- Jenkins JB. 1990. *Human Genetis. Second Edition*. Harper Collins Publisher. New York.

- Li W. H. and D. Graur. 1991. *Fundamentals of Molekuler Evolusion*. Inc. Publisher Sunderlind. USA.
- Masyud B. 1992. Penampilan Reproduksi dan Karakteristik Genetik Jalak Bali (*Leucopsar rothchildi*) Hasil Penangkaran. *Tesis*. Program Pasca Sarjana. IPB Bogor.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia Press. New York.
- Oktarianti R. Suratno, D. Setyati. 2001. Analisis Polimorfisme Protein Plasma Darah Ikan Lele Lokal di Kabupaten Jember. *Laporan Penelitian*. Universitas Jember.
- Pai A. C. 1992. *Dasar-Dasar Genetika*. Erlangga. Jakarta.
- Physiol, Kanadi S.I. 2000. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Hipokrates. Jakarta.
- Smith J. M., 1998. *Evolutionary Genetic*. Second Edition. Oxford University.
- , 1992. *Petunjuk Genetika Biologi Darah*. PAU Bioteknologi UGM Yogyakarta
- Sofro A. S. M., 1994. *Keanekaragaman Genetik*. Andi Offset. Yogyakarta
- Suryani S. A. M., P, Sukosa dan Sugama. 2001. Hubungan Kekerbatan Tiga Spesies Ikan Kerapu Sunu (*Plectropomus* spp) atas Dasar Variasi Genetik. *Biosain* Vol.1 (3) Desember 2001. (Online). [http://www. google. Com/searc?](http://www.google.com/searc?). [Diakses tanggal 4 Pebruari 2005].
- Susanto H. 1991. *Budidaya Ikan Gurami*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Tamarin R. 2002. *Principles of Genetics*. McGraw-Hill Companie, Inc. USA
- Tayamen M., R. Reyes, J. Danting. 1991. *Genetic Improvement of Farmed Tilapias*. In Maclean, J.L. and L.B. Dizon (Editors) 1991 ICLARM Report 1990. ICLARM. Manila.
- Warwick E.J., J.M. Astuti dan W. Hardjosubroto. 1990. *Pemuliaan Ternak*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Widiasworo A. 2002. *Polimorfisme Protein Plasma Darah Pada Ikan Nila Hitam (*Oroechormis nilotus*), Ikan Nila Merah (*Oroechormis sp*) dan Ikan Mujair (*Oroechormis mossambica*)*. Skripsi yang tidak dipublikasikan, FKIP Biologi Universitas Jember.