

**PENGUNAAN MARKA DNA DALAM SELEKSI INDUK
IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*) YANG TAHAN TERHADAP
BAKTERI *Vibrio alginolyticus***

**The Application of DNA Markers in Selection to The Bacterial *Vibrio alginolyticus* Resistance in
Tiger Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

St. Hidayah Triana^{*1}, *Mahir S. Gani*², *Asmi Citra Malina A.R. Tassakka*^{*3} dan *Hamka*⁴

- 1) Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UMI Makassar
- 2) Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian UMI Makassar
- 3) Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan UNHAS, Makassar
- 4) Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau Takalar

Diterima: 25 Januari 2014; Disetujui: 1 Maret 2014

ABSTRACT

*The objective of the present study was to use selected RAPD markers (Primer UBC-122 and YNZ-22) in parental selection to the bacterial *Vibrio alginolyticus* resistance in Tiger groupers (*Epinephelus fuscoguttatus*). Eighteen fish parent samples were challenged with *Vibrio alginolyticus* and parental selection was examined by a PCR-RAPD method. The results showed that from 18 fish samples, primer YNZ-22 generated 18 fragments while primer UBC-122 generated 8 fragments only (KHP, KB, HB, PB, MKH, MH, K and MK). In addition, the average number of fragments from each samples generated from primer-YNZ was higher (3,2) than from UBC-122 (2,3). This indicates that primer YNZ-22 is better than primer UBC-122 to use in parental selection to the *Vibrio alginolyticus* resistance in Tiger groupers. From the parental selection, five fish parents (KHP, PB, MH, K and MK) were selected for their high resistance to the bacterial *Vibrio alginolyticus*.*

Keywords: Tiger Groupers, *Vibrio alginolyticus*, PCR, RAPD, Selection

PENDAHULUAN

Ikan kerapu macan merupakan salah satu spesies kerapu berekonomis tinggi dan mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan sebagai ikan budidaya karena mempunyai harga jual yang cukup tinggi. Disamping merupakan komoditas perikanan laut yang bernilai tinggi dan menjadi salah satu komoditas unggulan di Indonesia, juga mempunyai pertumbuhan yang cepat

Usaha budidaya ikan kerapu ini dianggap memiliki prospek yang cerah, karena didukung adanya teknologi pembenihan yang kini telah mulai dikuasai oleh para petani ikan ataupun nelayan. Akan tetapi budidaya ikan kerapu terkendala adanya keterbatasan benih baik dalam kualitas, kuantitas maupun kontinuitas. Akibat rendahnya sintasan (Survival Rate) pada pembenihan karena adanya infeksi bakteri patogen yang pada kondisi puncak wabah dapat menyebabkan mortalitas sampai 100% (Murjani, 1997).

Menurut Wijayati dan Hamid (1997), bakteri yang mampu menyebabkan penyakit pada ikan (patogen) adalah terdiri dari *Vibrio anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. marinus*. Sedang menurut Khasonchandra (1999) bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. alginolyticus* adalah yang berperan sebagai penyebab kematian pada ikan laut hingga mencapai 80 - 90%.

*** Korespondensi:**

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin
Jalan Perintis Kemerdekaan Km 10, Tamalanrea, Makassar 90245
Telp./Fax: (0411) 586025. E-mail: asmi_citra@yahoo.com; hidayah_triana@yahoo.co.id

Usaha pengendalian penyakit bakterial pada kegiatan budidaya ikan kerapu dapat dilakukan dengan menggunakan obat-obatan atau antibiotik, pemberian vaksin (Kamiso, 2005) dan imunostimulan (Alifuddin, 1999), juga dengan menghasilkan strain ikan kerapu yang tahan terhadap serangan penyakit seperti bakteri dalam hal ini *Vibrio alginolyticus* (Triana dkk., 2006)

Untuk mendapatkan ikan kerapu macan yang tahan *Vibrio* maka telah dilakukan penelitian tentang profil DNA ikan kerapu macan yang tahan dan rentan terhadap *Vibrio alginolyticus* (Triana dkk., 2007), yang dilanjutkan dengan pengamatan tentang keragaman genetik jenis ikan kerapu macan tersebut pada tahun 2008. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tahun sebelumnya, maka pada penelitian ini telah dilakukan seleksi induk ikan kerapu tahan *Vibrio alginolyticus* berdasarkan marka DNA ukuran 1,5-2 kb.

Hasil yang diharapkan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan induk ikan kerapu macan tahan *Vibrio alginolyticus* berdasarkan marka DNA dalam rangka untuk menghasilkan benih kerapu macan tahan terhadap serangan penyakit yang disebabkan bakteri (*Vibrio alginolyticus*).

Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi induk ikan kerapu macan yang tahan terhadap *Vibrio alginolyticus*, berdasarkan marka DNA yang telah didapatkan pada penelitian terdahulu. Induk yang lolos seleksi selanjutnya disilangkan dalam rangka mendapatkan benih ikan kerapu macan unggul (tahan *Vibrio alginolyticus*).

Manfaat penelitian ini adalah dapat memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK) serta terhadap pembangunan perikanan. Dengan diperolehnya induk ikan kerapu macan yang tahan, maka hal ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam program *breeding* untuk menghasilkan strain ikan kerapu macan unggul (tahan *Vibrio* khususnya *Vibrio alginolyticus*).

METODE PENELITIAN

Pemeliharaan induk ikan kerapu macan dilaksanakan di Balai Riset Budidaya Air Payau Takalar (Sul-Sel), sedangkan untuk ekstraksi dan isolasi DNA, PCR-RAPD dan elektroforesis dilakukan di Laboratorium Genetika Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB Bogor. Ikan yang digunakan adalah induk ikan kerapu macan yang diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Takalar (Sul-Sel). Pakan yang digunakan adalah pellet ikan yang diberikan secara *ad libitum*, frekuensi pemberian pakan dilakukan tiga kali sehari. Wadah yang digunakan dalam percobaan ini adalah bak semen sebanyak 3 buah. Sebelum digunakan wadah tersebut terlebih dahulu diisui hamakan dengan menggunakan kaporit ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) dengan konsentrasi 150 ppm selama 24 jam, kemudian dinetralkan dengan Natrium Thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) dengan konsentrasi 75 ppm.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu tahap pemeliharaan induk ikan kerapu macan dalam bak selama dua bulan, dan tahap kedua adalah analisis profil DNA. Parameter yang diamati meliputi ekstraksi dan pengukuran konsentrasi DNA, analisa PCR-RAPD dan elektroforesis. Sirip ekor dari 18 ekor induk kerapu macan dipotong untuk diekstraksi DNA genomnya dengan menggunakan Kit (Puregene, Minneapolis, USA) sesuai dengan prosedur yang ada. Sirip ekor ikan dengan berat sekitar 20 mg dimasukkan ke dalam tabung mikro bervolume 1,5 ml. Larutan lisis sebanyak 300 μl dan Proteinase K 1,5 μl ditambahkan ke dalam tabung mikro berisi potongan sirip ekor. Inkubasi dilakukan pada suhu 55°C hingga semua sel terlis. Setelah suhu tabung mikro mendekati suhu ruang, enzim RNase ditambahkan sebanyak 1,5 μl dan kemudian tabung mikro tersebut dimasukkan ke inkubator dengan suhu 37°C selama 60 menit. Larutan presipitasi protein ditambahkan sebanyak 100 μl , divorteks, dan kemudian disentrifus pada kecepatan 13.000 rpm dengan suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung mikro yang telah diisi dengan 300 μl isopropanol absolut. Setelah dibolak-balik sekitar 50 kali, tabung mikro tersebut dibiarkan sekitar 10 menit pada suhu ruang. Sentrifus dilakukan pada kecepatan, suhu, dan lama waktu yang sama seperti sebelumnya. Supernatan dibuang dan diganti dengan etanol 70% dingin sebanyak 300 μl . Tabung disentrifus kembali dengan kecepatan dan suhu yang sama dengan sebelumnya, selama 5 menit. Etanol dibuang, tabung dikering-udarkan, dan kemudian DNA dilarutkan dengan 50 μl akuabides. Konsentrasi DNA diukur menggunakan mesin kuantifikasi DNA/RNA. Sebanyak 1 μl reaksi dielektroforesis menggunakan gel agarose 0,7%, DNA divisualisasi dengan etidium bromida yang disinari dengan UV. Foto diambil menggunakan kamera digital dan kemudian diproses menggunakan metode

standar. Selanjutnya, tabung berisi DNA disimpan dalam freezer hingga akan digunakan untuk proses PCR.

Pada tahap awal, 2 jenis primer diuji dalam proses PCR untuk mengamplifikasi DNA ikan kerapu macan, yaitu primer UBC-122 dan YNZ-22. Amplifikasi PCR dilakukan dengan volume reaksi 15 µl yang mengandung 1x *Ex Taq* Buffer, 200µM dNTP mix, *Ex Taq* polymerase (Takara Bio, Shiga, Japan) 0,125U, 1 µl DNA dan 1,5 µl primer. Program PCR memiliki 40 siklus dengan denaturasi selama 30 detik pada suhu 94°C, *annealing* selama 30 detik pada suhu 30°C, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 2 menit. Sebanyak 5 µl reaksi dielektroforesis menggunakan gel agarose 0,7%, DNA divisualisasi dengan etidium bromida yang disinari dengan UV. Foto diambil menggunakan kamera digital dan kemudian diproses menggunakan metode standar.

Untuk analisis profil DNA dilakukan dengan menjumlahkan pita DNA hasil amplifikasi PCR lalu dirata-ratakan dengan semua sample. Perbedaan jumlah rataan dan pola pita DNA hasil amplifikasi PCR dianalisis secara deskriptif. Begitu pula dengan analisis kualitas airnya juga dilakukan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Profil DNA

Pada tahap awal, sampel DNA induk ikan kerapu diuji dengan menggunakan dua jenis primer yang terdiri dari primer UBC-122 dan YNZ-22 karena kedua primer inilah yang menghasilkan pola pita spesifik pada penelitian sebelumnya pada ikan kerapu macan (masing-masing Gambar 2 dan Gambar 3). Hal ini dapat terjadi karena antara primer-primer tersebut dengan DNA cetakan (template DNA) terdapat kesamaan urutan basa diantara keduanya, karena apabila terdapat kesamaan urutan basa diantara ke duanya maka primer akan menempel pada ke dua utas DNA cetakan di dua situs (sites) yang berbeda. Kalau ke dua situs penempelan primer berada dalam jarak yang dapat diamplifikasi maka akan diperoleh produk PCR berupa fragmen DNA (Tingey *et al.*, 1992; Sambrook *et al.*, 1989). Didukung oleh pernyataan Tingey *et al.* (1992) bahwa keberhasilan suatu primer mengamplifikasi DNA cetakan ditentukan oleh ada tidaknya homologi sekuens nukleotida primer dengan DNA cetakan. Selain itu, pada kolom yang memiliki fragmen DNA yang jelas terlihat menunjukkan pola yang bervariasi antar primer, mengindikasikan spesifitas sekuen DNA tempat masing-masing primer tersebut melekat. Adapun sekuen daripada primer-primer tersebut dan jumlah fragmennya masing-masing dapat dilihat pada Tabel 1.

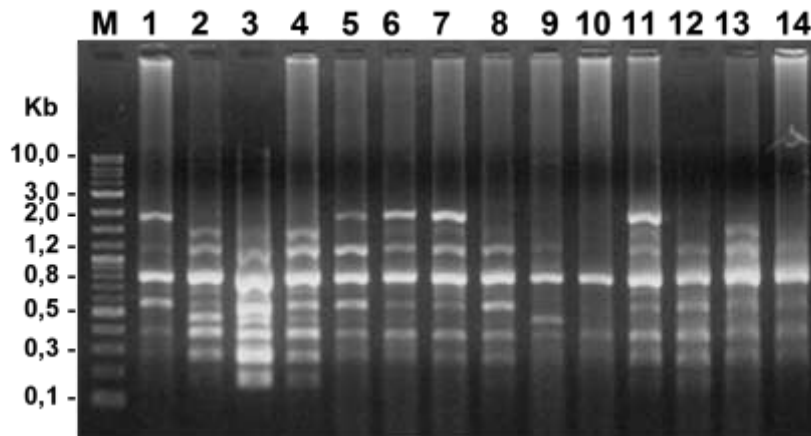
Tabel 1. Sekuen DNA Primer yang Menghasilkan Pola Fragmen DNA yang Spesifik

Jenis Primer	Sekuen DNA	Sumber Pustaka	Ukuran Fragmen yang Spesifik (kb)
UBC-122	GTA GAC GAG C	Khetpu <i>et al.</i> , (2005)	1,5 – 2,0
YNZ-22	CTCTGG GTG TCG TGC	Diaz <i>et al.</i> , (2007)	1,2 – 2,0

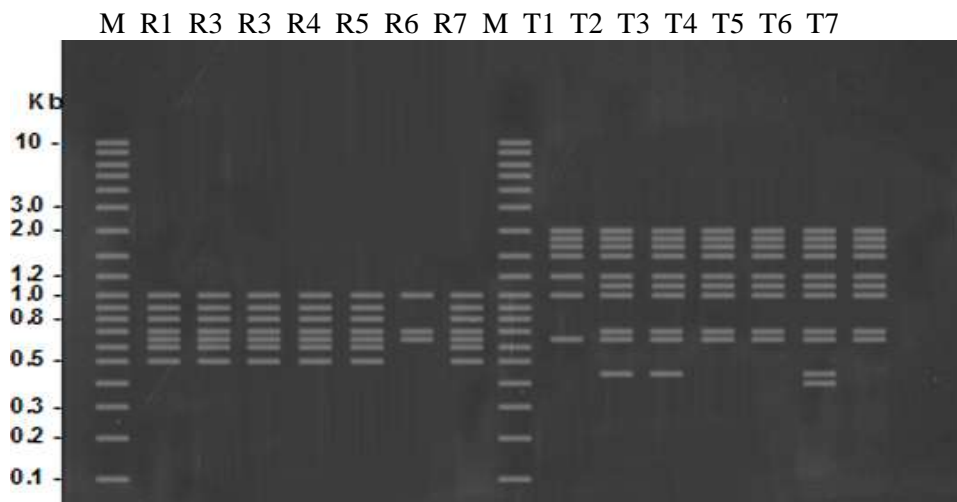
Berdasarkan hasil yang didapatkan pada penelitian terdahulu yang menggunakan primer UBC-122 pada ikan kerapu macan didapat ukuran marker spesifik dengan panjang fragmen 1,5-2,0 kb untuk ikan yang tahan (Triana dkk., 2007). Didukung oleh peneliti lainnya yang mendukung bahwa primer UBC-122 merupakan primer yang baik dalam mendapatkan marker spesifik pada beberapa jenis ikan (Thaewnon *et al.*, 2003 dan 2005).

Begitu pula dengan primer YNZ-22, merupakan *genetic marker* yang terbaik untuk menganalisa keragaman genetik ikan kerapu macan, karena primer inilah yang dapat membedakan antara ikan yang tahan dan rentan dan diperoleh marker spesifik untuk ikan tahan yaitu pada ukuran 1,2 - 2,0 kb (Triana dkk., 2008).

Hasil elektroforesis PCR untuk semua sampel (jumlah induk 18 ekor) dengan menggunakan primer UBC-122 dapat dilihat pada Gambar 4. Sedangkan jumlah pita DNA yang dihasilkan masing-masing dapat dilihat pada Tabel 2.



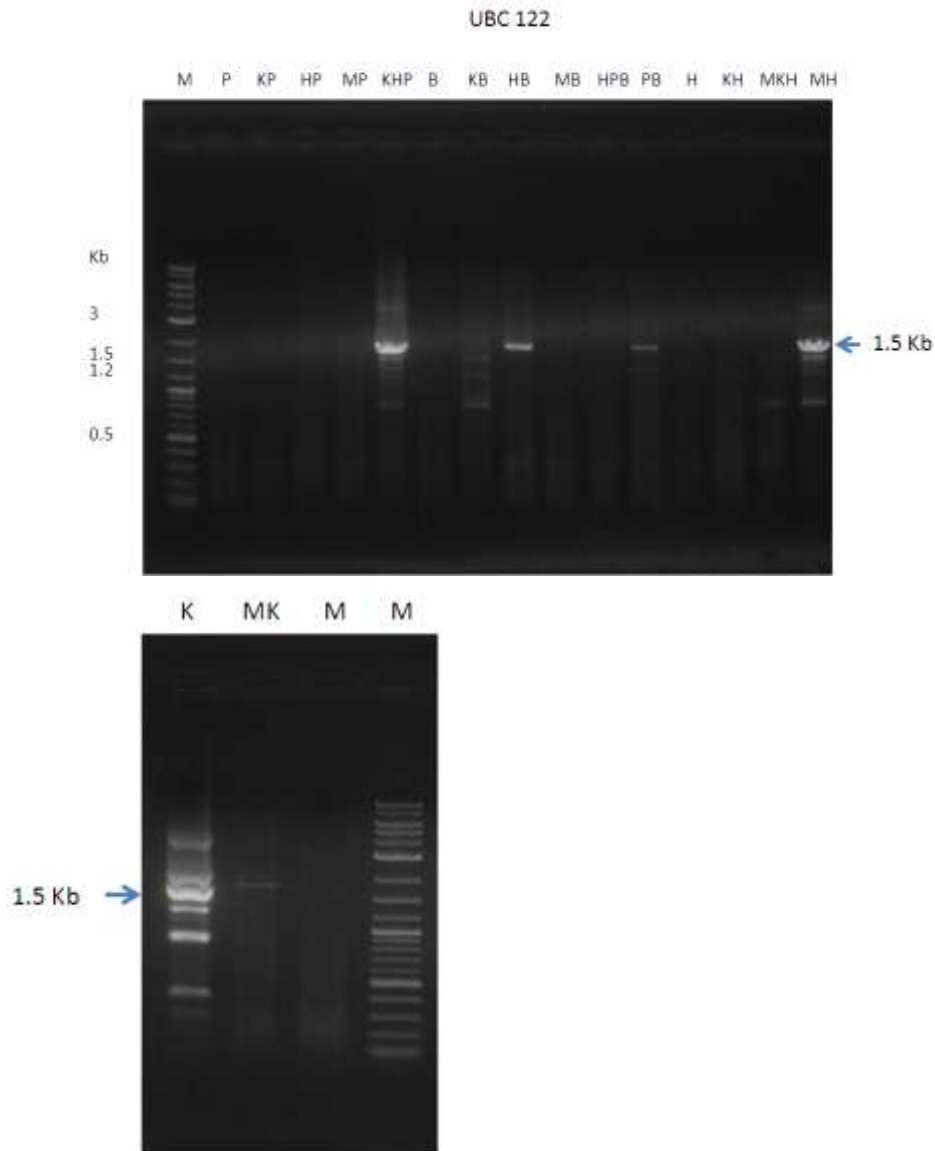
Gambar 1. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD ikan kerapu macan yang tahan/hidup (no. 1-7) dan yang rentan/mati (no. 8-14) setelah diuji tantang dengan bakteri *V.alginolyticus*. Proses PCR menggunakan primer UBC-122. M: penanda dengan panjang fragmen DNA ditunjukkan di sebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb) (Sumber : Triana dkk., 2007)



Gambar 2. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD ikan kerapu macan yang rentan (R1-R7) dan yang tahan (T1-T7) dengan menggunakan primer YNZ-22. M : penanda dengan panjang fragmen DNA ditunjukkan di sebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb) (Sumber : Triana dkk., 2008)

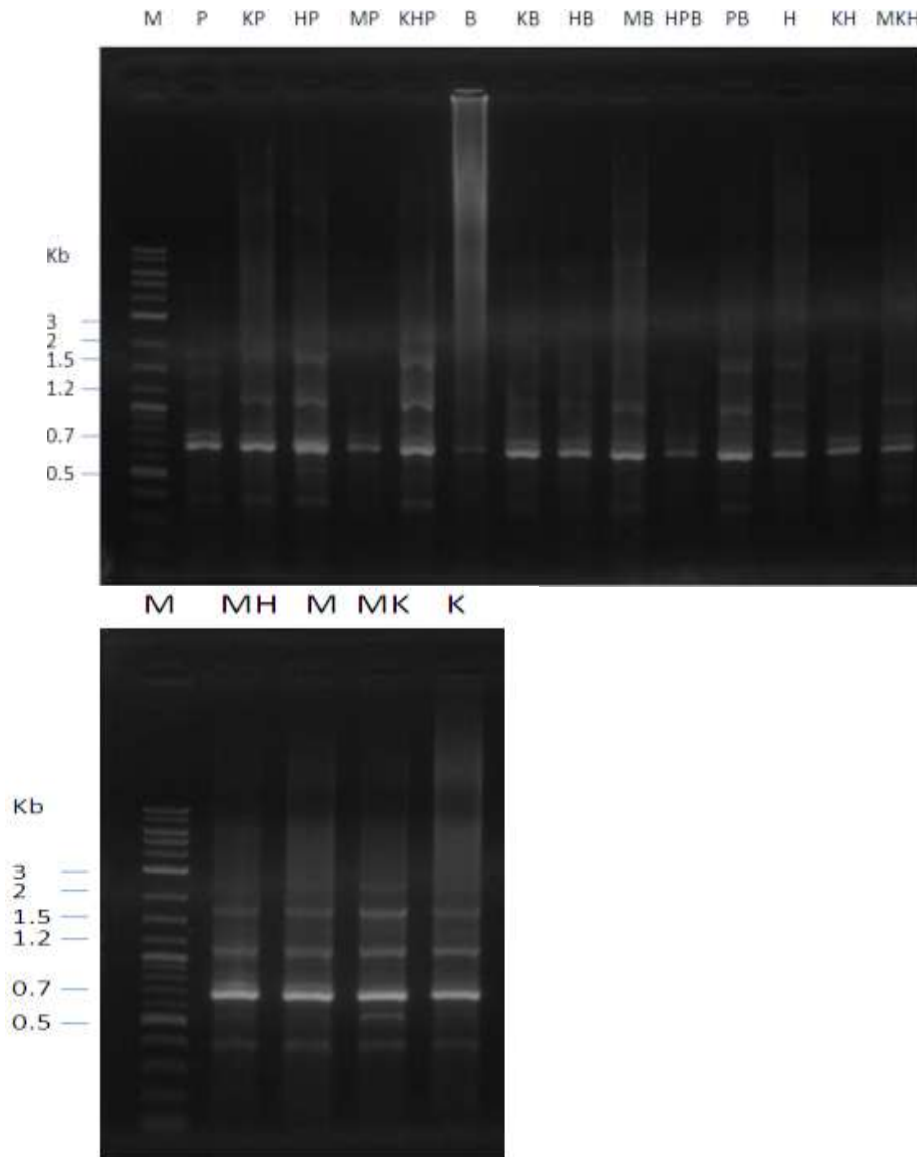
Hasil elektroforesis PCR-RAPD lainnya yang menggunakan primer YNZ-22 dapat dilihat pada Gambar 5. Adapun jumlah fragmen yang dihasilkan dapat pula dilihat pada Tabel 2.

Dari Gambar 4 dan Gambar 5 serta Tabel 2 terlihat bahwa primer YNZ-22 menghasilkan fragmen pada setiap sampel yang diamati (18 sample) sementara primer UBC-122 hanya menghasilkan fragmen pada 8 sampel dari 18 sampel yang diamati yaitu KHP, KB, HB, PB, MKH, MH, K, MK). Disamping itu, yang menggunakan primer YNZ-22 pada umumnya jumlah dan rata-rata fragmen yang dihasilkan setiap sampel lebih banyak (3,2 buah) dibandingkan dengan UBC-122 (2,3 buah). Hal ini mengindikasikan bahwa penggunaan primer YNZ-22 lebih baik dalam program seleksi ikan kerapu macan yang tahan terhadap *Vibrio alginolyticus*.



Gambar 3. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD induk ikan kerapu macan menggunakan primer UBC-122; M: penanda dengan panjang fragmen DNA ditunjukkan di sebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb) (P--- M: kode sampel)

Hasil elektroforesis PCR-RAPD lainnya yang menggunakan primer YNZ-22 dapat dilihat pada Gambar 5. Adapun jumlah fragmen yang dihasilkan dapat pula dilihat pada Tabel 2.



Gambar 4. Elektroforesis DNA produk PCR-RAPD induk ikan kerapu macan menggunakan primer YNZ-22; M: penanda dengan panjang fragmen DNA ditunjukkan di sebelah kiri gambar dalam unit kilobase (kb) (P--- K : kode sampel)

Dari Gambar 4 dan Gambar 5 serta Tabel 2 terlihat bahwa primer YNZ-22 menghasilkan fragmen pada setiap sampel yang diamati (18 sample) sementara primer UBC-122 hanya menghasilkan fragmen pada 8 sampel dari 18 sampel yang diamati yaitu KHP, KB, HB, PB, MKH, MH, K, MK). Disamping itu, yang menggunakan primer YNZ-22 pada umumnya jumlah dan rata-rata fragmen yang dihasilkan setiap sampel lebih banyak (3,2 buah) dibandingkan dengan UBC-122 (2,3 buah). Hal ini mengindikasikan bahwa penggunaan primer YNZ-22 lebih baik dalam program seleksi ikan kerapu macan yang tahan terhadap *Vibrio alginolyticus*.

Tabel 2. Jumlah dan Ukuran Fragmen DNA Induk Ikan Kerapu Macan yang Diseleksi

Kode Sampel	Primer			
	UBC-122		YNZ-22	
	Jumlah Fragmen	Kisaran Ukuran Fragmen	Jumlah Fragmen	Kisaran Ukuran Fragmen
P	-	-	5	0,7 – 1,5
KP	-	-	5	0,2 – 1,5
HP	-	-	5	0,2 – 1,5
MP	-	-	1	0,7
KHP	3	1,0 – 3,0	5	0,2 – 2,0
B	-	-	1	0,7 – 1,0
KB	3	1,0 – 1,5	2	0,7 – 1,0
HB	1	2	2	0,7 – 1,0
MB	-	-	2	0,7 – 1,0
HPB	-	-	1	0,7
PB	1	1,5 – 2,0	4	0,2 – 1,5
H	-	-	3	0,7 – 1,5
KH	-	1,0	2	0,7 – 1,5
MKH	1	1,0 – 2,0	2	0,7 – 1,0
MH	2	0,5 – 3,0	4	0,2 – 1,5
K	6	1,0 – 2,0	4	0,2 – 1,5
MK	1	2,0	6	0,2 – 2,0
M	-	-	4	0,2 – 1,5
Jumlah	18		58	
Rata-rata	2,3		3,2	

Proses Seleksi

Tabel 3. Kode Sampel yang Lolos Seleksi dengan Menggunakan Primer UBC-122 dan YNZ-22

Primer UBC-122		Primer YNZ-22	
Kode Sample	Ukuran Fragmen	Kode Sample	Ukuran Fragmen
KHP	1,0-3,0	P	0,7-1,5
KB	1,0-1,5	KP	0,2-1,5
HB	2,0	HP	0,2-1,5
PB	1,5-2,0	KHP	0,2-2,0
MKH	1,0-2,0	PB	0,2-1,5
MH	0,5-3,0	H	0,7-1,5
MK	2,0	KH	0,7-1,5
K	1,0-2,0	MH	0,2-1,5
		M	0,2-1,5
		MK	0,2-2,0
		K	0,2-1,5

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 18 ekor induk ikan kerapu terdapat 8 ekor ikan yang lolos seleksi yang menggunakan primer UBC-122, diantaranya yang memiliki kode KHP, KB, HB, PB, MKH, MH, MK dan H. Sedangkan yang menggunakan primer YNZ-22 terdapat 11 ekor yang lolos seleksi diantaranya P, KP, HP, KHP, PB, H, KH, MH, M, MK dan K (Tabel 2). Apabila digabungkan penggunaan primer UBC-122 dan YNZ-22 maka yang lolos seleksi hanya 5 ekor induk yaitu induk kerapu macan dengan kode KHP, PB, MH, K dan MK. (Tabel 3). Hasil seleksi induk ini bertujuan untuk menghasilkan benih ikan kerapu tahan *Vibrio alginolyticus*. Dengan demikian, induk ikan yang lolos seleksi ini ikan selanjutnya akan disilangkan.

Tabel 4. Jumlah dan Ukuran Fragmen DNA Induk Ikan Kerapu Macan yang Lolos Seleksi Menggunakan Primer UBC-122 dan YNZ-22

Kode Sampel	Primer			
	UBC-122		YNZ-22	
	Jumlah Fragmen	Kisaran Ukuran Fragmen	Jumlah Fragmen	Kisaran Ukuran Fragmen
KHP	3	1,0 – 3,0	5	0,2 – 2,0
PB	1	1,5 – 2,0	4	0,2 – 1,5
MH	2	0,5 – 3,0	4	0,2 – 1,5
K	6	1,0 – 2,0	4	0,2 – 1,5
MK	1	2,0	6	0,2 – 2,0

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan beberapa hal diantaranya yaitu Induk ikan kerapu macan yang lolos seleksi dengan menggunakan primer UBC-122 sebanyak 8 ekor dengan kode KHP, KB, HB, PB, MKH, MH, K dan MK; Induk ikan kerapu macan yang lolos seleksi dengan menggunakan primer YNZ-22 sebanyak 11 ekor dengan kode P, KP, HP, KHP, PB, H, KH, MH, K, MK dan M; Induk ikan kerapu macan yang lolos seleksi berdasarkan primer UBC-122 dan YNZ-22 adalah KHP, PB, MH, MK dan K; Penggunaan primer YNZ-22 lebih baik dalam program seleksi induk ikan kerapu macan tahan *Vibrio alginolyticus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 1999. Peran Imunostimulan (Lipopolisakarida, *Saccharomyces cereviceae* dan Levamisol) pada Gambaran respon Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus* Fowler). Program Studi Ilmu Perairan. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor. 52 hal
- Kamiso. H. N., A. Isnansetyo, Triyanto, M. Murdjani dan Murwantoko. 2005. Produksi Vaksin *Vibrio* untuk Mengatasi Penyakit Ikan Kerapu. Makalah disampaikan pada seminar Riset Unggulan Strategis Nasional (RUSNAS) Kerapu. 12 Agustus 2005. Jakarta. 16 hal.
- Kasonchandra, J. 1999. Major Viral Bacterial Disease of Marine Fishes with Emphasions Seabass and Grouper. Paper Contributed to the Fourth Symposium on Disease in Asian Aquaculture. Cebu International Convension Centre, Water front Cebu City Hotel, Cebu City. Philipines.
- Murjani, M. 1997. Pembenuhan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dalam Bak Terkendali di Loka BBAP Situbondo. Ditjen Perikanan. Deptan. 9 Hal.
- Sambrook, J.E., F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*. CSH-New York : Cold Spring Harbour Laboratory.
- Thaewnon-ngiw, B., Klinbunga, S., Phanwichien, K., Sangduen, N., Lauhacinda, N., and Menasveta, P. 2003. Genetic diversity of introduced (*Pomacea caniculata*) and native (*Pila*) apple snails in Thailand revealed by Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis. *AJSTD* Vol. 20 Issue 3 & 4 : 289-306.
- Thaewnon-ngiw, B., Prakongruk, N., Sangdee, A., and Petchjul, K. 2005. Genetic diversity of *Barbodes* genera employing RAPD technique. In : 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology 18-20 Oktober 2005. 3 pp.
- Tingey SV, JA. Rafalski, dan JGK. Williams, 1992. Genetic analysis with RAPD markers. Dalam : Proceedings of the Symposium Applications of RAPD Technology to Plant Breeding. Minneapolis, 1 Nov 1992. Hal 3 - 8.

- Triana, S.H., Ilmiah, O. Carman, dan Asmi C.M. 2006. Analisis Profil DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) kan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Diberi Immunostimulan *Saccharomyces cerevisiae* dan Vaksin *Vibrio alginolyticus*. Laporan Penelitian Hibah Pekerti IV/1. DP2M-DIKTI.
- Triana, S.H., O. Carman, A.C. Malina, Alimuddin, Ilmiah dan M.S. Gani. 2007. Analisis Profil DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) kan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Tahan dan Rentan Terhadap Serangan Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Laporan Penelitian Hibah Pekerti IV/2. DP2M-DIKTI.
- Triana, S.H. dan M.S. Gani. 2008. Kajian Keragaman Genetik dalam Seleksi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Tahan terhadap Penyakit yang Disebabkan Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Laporan Penelitian Fundamental. DP2M-DIKTI. 50 hal.
- Wijayati, A., dan N. Hamid. 1997. Identifikasi Bakteri pada Pembenuhan Ikan Kerapu Tikus (*Cromiteptes altivelis*). Dirjen Perikanan. Deptan.