

# Keragaman Spesies Ikan Tuna di Pasar Ikan Kedonganan Bali dengan Analisis Sekuen Kontrol Daerah Mitokondria DNA

(SPECIES DIVERSITY OF TUNA FISH USING MITOCHONDRIAL DNA CONTROL REGION SEQUENCE ANALYSIS AT KEDONGANAN FISH MARKET)

Daud Steven Triyomi Hariyanto<sup>1</sup>,  
I Gusti Ngurah Kade Mahardika<sup>2,4</sup>, I Nengah Wandia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Hewan, <sup>2</sup>Laboratorium Virologi Veteriner,  
<sup>3</sup>Laboratorium Anatomi Veteriner, <sup>4</sup>UPT Laboratorium Biomedik,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana  
Jln Sudirman, Denpasar, Bali  
Telepon 0361223791, E-mail: daudsteven19@gmail.com

## ABSTRAK

Ikan tuna merupakan komoditi ekspor yang mempunyai nilai ekonomi sangat tinggi. Namun, beberapa spesies ikan tuna mulai terancam punah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi spesies ikan tuna yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan, Kuta, Badung, Bali. Metode penelitian yang digunakan adalah teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan *marker* sekuen control daerah (*control region*) DNA mitokondria. Sampel yang digunakan adalah ikan tuna yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan. Jumlah sampel sebanyak 28 spesimen. Sekuen dari setiap sampel didapatkan melalui teknik sekuensing. Sekuen yang diperoleh dilakukan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dan selanjutnya dianalisis dengan MEGA 5 untuk konfirmasi spesies. Tiga spesies ikan tuna yang teridentifikasi di Pasar Ikan Kedonganan yaitu: *Thunnus albacares*, *T. obesus*, dan *Katsuwonus pelamis*. Ketiga spesies mempunyai variasi genetik yang tinggi dengan nilai  $H_D=1$ . Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan jumlah sampel yang lebih banyak untuk mengetahui semua spesies tuna yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan.

Kata-kata kunci: ikan tuna, *control region* DNA mitokondria, Kedonganan

## ABSTRACT

Tuna is an export commodity which has very high economic value. However, some tuna species are threatened with extinction. The purpose of this study was to identify the tuna species that are sold in Kedonganan Fish Market. The research method was polymerase chain reaction technique (PCR) using the marker sequence mitochondrial DNA control region. Samples were obtained from the Fish Market tuna Kedonganan, Kuta, Badung, Bali. The total number of samples are 28 specimens. Sequence from each sample was obtained through sequencing techniques. Sequences obtained were run in BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) and subsequently analyzed with MEGA 5 for species confirmation. Three species of tuna that are identified in the Kedonganan Fish Market is: *Thunnus albacares*, *T. obesus*, and *Katsuwonus pelamis*. All three species have high genetic variation  $H_D = 1$ . This study needed to be continued with more number of samples to determine the species of tuna sold in Kedonganan Fish Market.

Key words: tuna fish, mitochondrial DNA control region, Kedonganan

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi baik di darat maupun di laut. Indonesia merupakan salah satu daerah *coral triangle* yang dipercaya sebagai asal dari seluruh hewan laut yang ada di dunia (Veron *et al.*, 2009). Letak Indonesia sangat strategis yaitu berada di antara Benua Asia dan Australia serta Samudra Pasifik dan Hindia. Perairan Indonesia yang sangat luas menyimpan banyak jenis ikan dan hasil laut lainnya yang memiliki nilai ekonomi penting. Potensi perikanan di Indonesia masih sangat berlimpah, salah satunya adalah potensi perikanan ikan tuna yang terdapat di Samudra Hindia yang belum dimanfaatkan secara optimal (Kasma *et al.*, 2007).

Ikan tuna merupakan komoditi perikanan yang memiliki prospek cerah dalam hal ekspor ke luar negeri. Indonesia merupakan negara pengekspor ikan tuna terbesar di Asia Tenggara. Volume ekspor ikan tuna pada tahun 2011 sebesar 142 ton dan nilai ekspornya mencapai 500 juta dolar Amerika Serikat atau sekitar Rp 5 triliun (WPEA OFM, 2012). Industri ikan tuna merupakan komoditi ekspor yang sangat menjanjikan bagi perekonomian Indonesia. Ekspor ikan tuna pada umumnya dalam bentuk segar dan beku. Berdasarkan data Dinas Perikanan Provinsi Bali (2002) dilaporkan bahwa pada tahun 2002 tuna yang diekspor dalam bentuk segar dan beku sekitar 18.011 ton berasal dari Bali dengan negara tujuan Jepang, Amerika Serikat, dan Inggris. Namun, dengan meningkatnya permintaan pasar dari tahun ke tahun, maka semakin tinggi pula penangkapan terhadap ikan tuna, sehingga penangkapan berlebih dapat terjadi di perairan Samudra Hindia.

Industri perikanan telah menangkap sedikitnya 50 juta ton ikan tuna dari Samudra Pasifik sejak tahun 1950 sehingga diperkirakan terjadi pengurangan populasi yang berdampak buruk pada rantai makanan (Sibert *et al.*, 2006). Ada empat jenis ikan tuna yang menjadi target penangkapan utama pada industri perikanan yaitu: cakalang/skipjack (*Katsuwonus pelamis*), tuna sirip kuning/yellowfin (*Thunnus albacares*), tuna mata besar/bigeye (*T. obesus*), dan tuna albakora/albacore (*T. alalunga*).

Tuna termasuk anggota *Thunninae*, famili *Scombridae* yang meliputi 13 spesies, terdiri atas tujuh spesies tuna besar dan enam spesies tuna kecil. Tuna besar pada umumnya mempunyai ukuran panjang tubuh antara 40-

180 cm, sedangkan tuna kecil berukuran 20-80 cm. Jenis-jenis tuna besar di antaranya ikan tuna sirip kuning (*T. albacares*), ikan tuna mata besar (*T. obesus*), ikan tuna albakora (*T. alalunga*), southern bluefin tuna (*T. maccoyii*), ikan tuna abu-abu (*T. tonggol*), eastern bluefin tuna (*T. thynnus*), dan ikan tuna sirip hitam (*T. atlanticus*). Jenis-jenis tuna kecil di antaranya ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*), *Euthynnus affinis*, *E. alleteratus*, *E. lineatus*, *Auxis thazard* dan *A. rochei* (Uktolseja dan Purwasasmita, 1991).

Mitokondria khususnya mitokondria DNA (mtDNA) merupakan sebuah untaian DNA yang diturunkan oleh induk betina dan mtDNA baik digunakan untuk menganalisis distribusi maupun keturunan dari suatu spesies (Wallace, 1997). Observasi mtDNA dilaporkan telah menunjang berbagai penelitian untuk mendapatkan informasi yang baik dalam mempelajari struktur genetic, di antara populasi ikan (Ovenden, 1990).

Pasar Ikan Kedonganan merupakan pasar ikan terbesar di Bali. Beraneka ragam jenis ikan dapat ditemui di pasar tersebut. Hal tersebut disebabkan Pasar Ikan Kedonganan mendapat suplai ikan tidak saja dari nelayan lokal Kedonganan, tetapi mendapat suplai dari kabupaten lain, bahkan hingga provinsi lain. Hal tersebut memungkinkan terjadi keanekaragaman hayati terutama pada ikan tuna di Pasar Ikan Kedonganan. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi spesies ikan tuna yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan, Kuta, Badung, Bali dengan menggunakan teknik analisis sekuen mtDNA pada *control region*.

## METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini digunakan rancangan penelitian deksriptif eksploratif observasional. Sebanyak 30 sampel sirip *baby tuna* diambil dari Pasar Ikan Kedonganan. Sampel ikan tuna dipilih berdasarkan morfologi umum ikan tuna, selanjutnya potongan sirip ikan tuna diambil untuk analisis molekuler. Senyawa DNA dari jaringan sirip ikan tuna diamplifikasi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), selanjutnya dilakukan sekuensing pada produk PCR di *Barkeley Sequencing Facility*, California, Amerika Serikat untuk memperoleh urutan nukleotida DNA. Hasil sekuen dirunutkan (*aligned*) menggunakan program MEGA 5.0 kemudian

didilakukan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) untuk mengidentifikasi spesies *baby tuna*. Beberapa data *GeneBank* diunduh untuk konstruksi pohon filogenetik dengan program BEAST1.75 (Alexei *et al.*, 2007)

Ekstraksi DNA ikan menggunakan 250  $\mu$ L *chelex* 10%. Lapisan sirip ikan diambil sekitar 0,5 cm dan jaringan yang terambil tersebut dimasukkan kedalam tabung berisi 250  $\mu$ L *chelex* 10% (Walsh *et al.*, 1991). Amplifikasi mtDNA ikan tuna menggunakan primer *control region* K (5'-AGCTC AGCGC CAGAG CGCCG GTCTT GTAAA-3') dan *control region* E (5'-CCTGA AGTAG GAACC AGATG-3') (Lee *et al.*, 1995). Elektroforesis dilakukan untuk mengetahui apakah DNA berhasil diamplifikasi dan untuk mengetahui panjang produk basa dari hasil PCR (Bartlett dan Davidson, 1991).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 28 sampel DNA mitokondria ikan tuna dari Pasar Ikan Kedonganan berhasil diamplifikasi dengan teknik PCR. Amplifikasi pada daerah *non-coding control region* menghasilkan produk PCR dengan panjang basa sekitar 700 bp. Hasil PCR disajikan pada Gambar 1.

Tiga spesies tuna dapat diidentifikasi dengan membandingkan homologi sekuen di *database GeneBank*. Spesies ikan tuna teridentifikasi ada sebanyak tiga jenis antara lain *T. albacares*, *T. obesus*, dan *K. pelamis*. Hasil identifikasi spesies ikan tuna disajikan pada Tabel 1.

Dari 28 sampel, 19 sampel teridentifikasi sebagai *T. albacares*, *T. obesus* diidentifikasi dari enam sampel, dan *K. pelamis* diidentifikasi dari tiga sampel. Persentase kemiripan 28 sekuen *control region* ikan tuna dari Pasar Ikan Kedonganan dengan sekuen spesies di *GenBank* bervariasi mulai dari 98 % hingga 100 %.

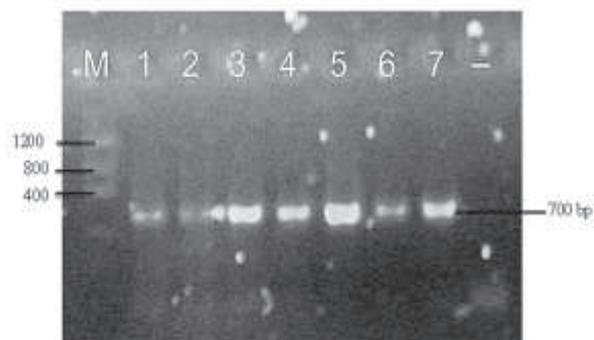
### Pohon Filogeni

Rekonstruksi pohon filogeni dibuat dari sekuen *control region* mtDNA yang diunduh dari *GenBank*. Data yang diunduh dari *GenBank* berasal dari berbagai lokasi. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui sebaran ikan tuna yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan dan rekonstruksi pohon filogeni juga dilakukan untuk mengetahui hubungan genetik antar spesies. Pohon filogeni dari 28 sampel yang diteliti serta dipadukan dengan data yang

diunduh dari *GenBank* untuk mengetahui penyebaran dari ikan tuna yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan (Gambar 2). Ikan *T. albacares* yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan membentuk dua *clade*. *Clade* I bersama data sekuen yang berasal dari perairan India dan *Clade* II dengan data sekuen berasal dari perairan Filipina. Ikan *T. obesus* yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan membentuk dua *clade* dengan ikan tuna yang berasal dari tiga perairan yang berbeda, yaitu Samudra Hindia, Samudra Pasifik, serta perairan Guinea yang berada di Samudra Atlantik. Ikan *K. pelamis* yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan juga membentuk dua *clade*. *Clade* I bersama data sekuen ikan cakalang yang berasal dari perairan India dan *Clade* II dari perairan Filipina.

Hasil diversitas haplotipe ikan tuna di Pasar Ikan Kedonganan menunjukkan angka yang sangat tinggi ( $H_d=1$ ) dan hal tersebut memang sering terjadi pada penelitian tentang ikan tuna (Scoles dan Graves, 1993; Ely *et al.*, 2005). Hal tersebut menandakan bahwa *effective population size* dari ikan tuna betina yang tinggi, sehingga menimbulkan diversitas haplotipe yang tinggi. Hasil ini sejalan dengan Ely *et al.*; (2005) yang menyatakan bahwa pada suatu wilayah lokal sekalipun dapat memunculkan diversitas haplotipe yang tinggi. Ikan tuna umumnya bersifat *highly migratory* sehingga penyebarannya sangat cepat dan daerah jelajahnya sangat luas (Avisé, 1998).

Berbagai spesies tuna dikenal mempunyai wilayah distribusi global di lautan tropis maupun subtropis dan diferensiasi genetik yang



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk PCR (amplikon) yang menggunakan gel *agarose* 1%, dengan menggunakan pewarnaan etidium bromide, (M) merupakan *low mass ladder* berfungsi sebagai *marker* sepanjang 100 bp, 1-7 merupakan sampel ikan tuna dan (-) merupakan kontrol negatif.

Tabel 1. Hasil identifikasi spesies tuna berdasarkan *database GenBank* menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)*

No	Kode Sampel	<i>GenBank</i> accession number	Spesies	<i>GenBank</i> ID	Homologi
1	KKDT 01	KM261640	<i>T. albacares</i>	KC165897.1	99%
2	KKDT 03	KM261641	<i>T. albacares</i>	GU256528.1	98%
3	KKDT 04	KM261642	<i>T. albacares</i>	KC165924.1	99%
4	KKDT 05	KM261643	<i>T. albacares</i>	KC165909.1	99%
5	KKDT 06	KM261644	<i>T. albacares</i>	GU256528.1	99%
6	KKDT 07	KM261645	<i>T. albacares</i>	GU256528.1	99%
7	KKDT 08	KM261646	<i>T. albacares</i>	KC165896.1	99%
8	KKDT 10	KM261647	<i>T. albacares</i>	KC166067.1	99%
9	KKDT 11	KM261648	<i>T. albacares</i>	KC166035.1	100%
10	KKDT 13	KM261649	<i>T. albacares</i>	KC166106.1	99%
11	KKDT 16	KM261650	<i>T. albacares</i>	KC165849.1	99%
12	KKDT 19	KM261651	<i>T. albacares</i>	KC166067.1	99%
13	KKDT 21	KM261652	<i>T. albacares</i>	KC165964.1	99%
14	KKDT 24	KM261653	<i>T. albacares</i>	KC165930.1	99%
15	KKDT 25	KM261654	<i>T. albacares</i>	KC166107.1	99%
16	KKDT26	KM261655	<i>T. albacares</i>	KC165897.1	99%
17	KKDT 28	KM261656	<i>T. albacares</i>	KC165938.1	99%
18	KKDT 29	KM261657	<i>T. albacares</i>	KC165852.1	99%
19	KKDT 30	KM261658	<i>T. albacares</i>	KC165852.1	99%
20	KKDT 02	KM261659	<i>T. obesus</i>	DQ126550.1	98%
21	KKDT 09	KM261660	<i>T. obesus</i>	DQ126533.1	99%
22	KKDT 12	KM261661	<i>T. obesus</i>	DQ126580.1	99%
23	KKDT 14	KM261662	<i>T. obesus</i>	DQ126532.1	99%
24	KKDT 15	KM261663	<i>T. obesus</i>	DQ126597.1	99%
25	KKDT 27	KM261664	<i>T. obesus</i>	AY640291.1	99%
26	KKDT 18	KM261665	<i>K. pelamis</i>	JF752140.1	99%
27	KKDT 20	KM261666	<i>K. pelamis</i>	JF752332.1	99%
28	KKDT 23	KM261667	<i>K. pelamis</i>	JF752041.1	99%

rendah antar lokasi. Dengan kata lain, populasi ikan tuna dunia bercampur sedemikian rupa sehingga asalnya tidak dapat ditentukan. Hal tersebut terutama terjadi pada *yellow fin* tuna dan *skip jack* tuna (Ely *et al.*, 2005). Hal yang sama juga terjadi pada populasi ikan tuna bermata besar (*big eye*) dunia kecuali di wilayah Samudra Atlantik. Ikan tuna *big eye* dikenal terdiri dari dua *clade* besar. *Clade* I ditemukan di semua samudra dunia, sedangkan *Clade* II hanya ditemukan di Samudra Atlantik (Chiang *et al.*, 2008; Martinez *et al.*, 2006; Gonzalez *et al.*, 2008). Populasi *clade* I tampaknya dapat melintas dari Samudra Pasifik ke Samudra Atlantik, dan demikian sebaliknya, akan tetapi *clade* II mempunyai sebaran geografis pada Samudra Atlantik saja.

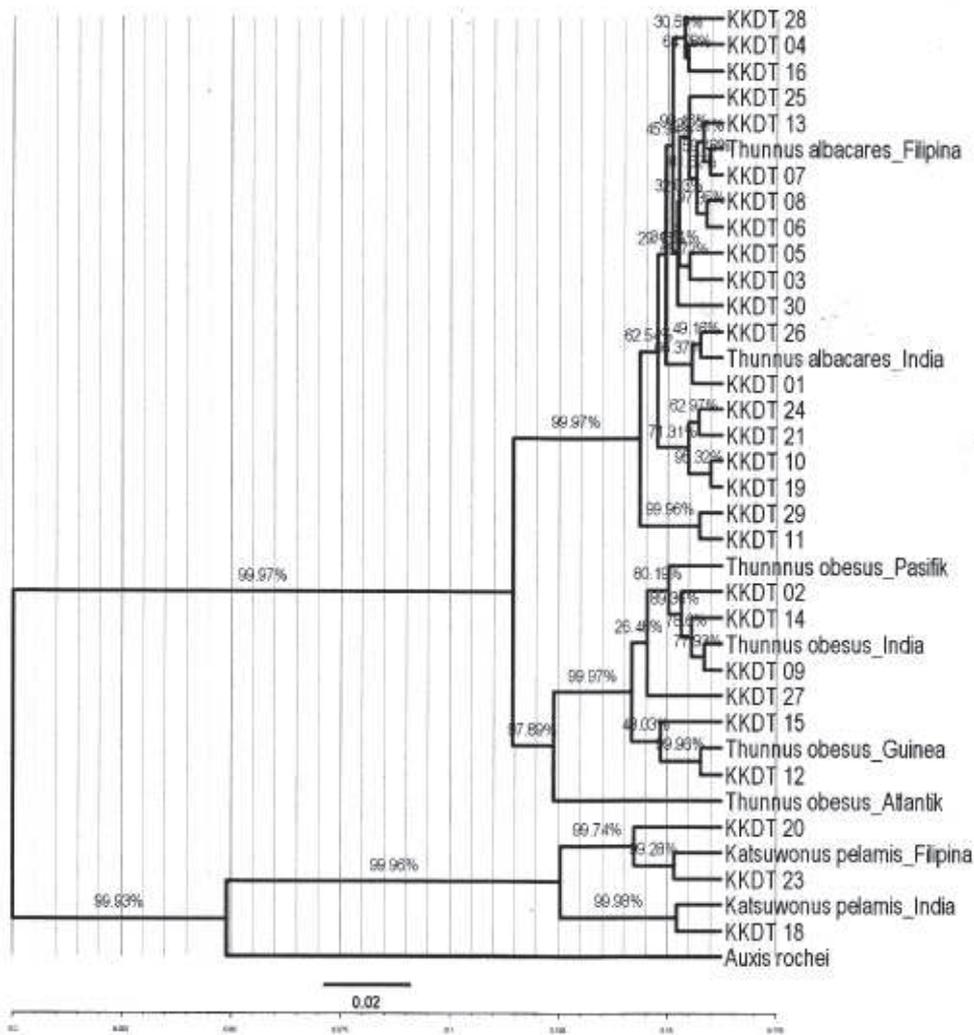
Penelitian tentang struktur populasi dan diversitas genetik pada *T. obesus* pernah dilakukan oleh Martinez *et al* (2006) yang

melaporkan dua *clade* populasi *T. obesus* di tiga samudra dunia, dua *clade* tersebut terbagi atas *clade* I yang berasal dari Samudra Indo-Pasifik dan *clade* II yang berasal dari Samudra Atlantik. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik pada *T. obesus* (Gambar 2) menunjukkan bahwa ikan tuna *big eye* yang dijual di Pasar Ikan

Tabel 2. Jumlah *haplotipe* spesies ikan tuna yang diperoleh dari Pasar Ikan Kedonganan.

No	Spesies yang teridentifikasi	Jumlah Sampel	Jumlah Haplotipe	$H_D$
1	<i>Thunnus albacares</i>	19	19	1
2	<i>Thunnus obesus</i>	6	6	1
3	<i>Katsuwonus pelamis</i>	3	3	1

Keterangan:  $H_D$  = diversitas *haplotipe*



Gambar 2. Pohon filogenetik ikan tuna yang diperjual-belikan di Pasar Ikan Kedonganan ditambah dengan data dari *GenBank*. Rekonstruksi dilakukan dengan program BEAST 1.75 yang menggunakan metode Markov Chain Monte Carlo (Alexei *et al.*, 2007).

Kedonganan berasal dari *clade* I pada populasi *bigeye* dunia yang berada di Samudra Indo-Pasifik. Data *T. obesus* Atlantik yang diunduh dari *GenBank* merupakan bagian dari *clade* II dari *T. obesus* yang ada di dunia. Penelitian ini membuktikan bahwa *T. obesus* yang berasal dari Samudra Atlantik tidak terlalu aktif bermigrasi ke Samudra Indo-Pasifik (Martinez *et al.*, 2006).

Pola pohon filogenetik dari *T. albacares* (Gambar 2) yang ditemukan dalam penelitian ini membuktikan sebuah fenomena bahwa populasi *T. albacares* yang berasal dari Samudra Atlantik, Samudra Pasifik, maupun Samudra Hindia sangat susah dibedakan (Ely *et al.*, 2005). Walaupun jumlah *haplotipe* pada *T. albacares* sangat tinggi, namun *T. albacares* hanya

mempunyai I *clade* di seluruh dunia. Penelitian tentang struktur populasi *T. albacares* yang dilaporkan oleh Ely *et al.*, (2005) yang menggunakan sampel dalam jumlah banyak masih belum dapat membuktikan adanya *gene flow* seperti pada *T. obesus* yang telah menunjukkan adanya perbedaan genetik antar samudra.

Pohon filogenetik ikan cakalang (Gambar 2) menunjukkan bahwa *K. pelamis* membentuk dua *clade*. *Clade* I memperlihatkan *K. pelamis* berasal dari Samudra Pasifik dan *Clade* II memperlihatkan *K. pelamis* berasal dari Samudra Hindia. Hal tersebut didukung dengan nilai dukungan yang sangat tinggi, yaitu di atas 99%. Penelitian lebih lanjut pada *K. pelamis* dengan jumlah sampel yang lebih banyak perlu

dilakukan di beberapa situs Pulau Bali karena penelitian tentang *K. pelamis* masih belum banyak dilakukan (Ely *et al.*, 2005). Penelitian lebih lanjut mungkin dapat menentukan jumlah *clade* yang dimiliki oleh *K. pelamis* di Pulau Bali.

Identifikasi ikan tuna berdasarkan perbedaan morfologi sangat sulit dilakukan, terutama pada *young of the year* (YOY) tuna. Begitu juga yang terjadi pada ikan tuna mata besar (*T. obesus*) dan ikan tuna sirip kuning (*T. albacares*). Hal tersebut sejalan dengan laporan Ivane *et al.*, (2012) yang melakukan identifikasi secara morfometri dan identifikasi molekuler terhadap *T. albacares* dan *T. obesus*. Pada penelitian tersebut, metode secara morfometri menunjukkan kesalahan identifikasi pada 25% sampel. Penelitian tersebut juga menjelaskan bahwa kesalahan identifikasi morfometri dapat tetap muncul walaupun pada sampel yang menunjukkan ciri-ciri morfologi yang sangat jelas sekalipun.

Penelitian ini juga membuktikan bahwa penggunaan daerah *non-coding control region* dapat mengidentifikasi spesies ikan tuna secara lebih akurat daripada identifikasi secara morfometri karena mampu menurunkan derajat homoplasi. Daerah *D-loop* atau dikenal juga dengan nama daerah kontrol (*control region*) merupakan bagian dari mtDNA yang sangat spesifik. Analisis mtDNA pada *D-loop* juga telah digunakan untuk menduga keragaman genetik dan struktur populasi pada ikan *Paralichthys alovaceous* atau *Japanese Flounder* (Fuji dan Nishida, 1997).

Menurut laporan *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN) pada tahun 2011, populasi spesies *T. obesus* dan *T. albacares* dinyatakan mengalami penurunan. Ikan *T. obesus* mempunyai status *vulnerable* karena keberadaannya sangat rentan dan terancam punah, sedangkan *T. albacares* mempunyai status *near threatened* yaitu keberadaannya hampir rentan terancam punah. Adalah sangat penting untuk dilakukannya penelitian morfometri ikan tuna yang ditunjang dengan analisis molekuler agar para nelayan dapat cepat mengenali dan tidak menangkap spesies ikan tuna yang populasinya sedang terancam.

## SIMPULAN

Spesies ikan tuna yang berhasil diidentifikasi di Pasar Ikan Kedonganan

berjumlah tiga spesies yaitu, ikan tuna sirip kuning, ikan tuna mata besar dan ikan cakalang. *Diversitas haplotipe* dari ketiga spesies yang dijual di Pasar Ikan Kedonganan sangat tinggi.

## SARAN

Untuk memastikan spesies ikan tuna perlu dilakukan analisis genetika karena ikan tuna sulit dibedakan berdasarkan morfologi terutama pada spesies *T. albacares* dengan *T. obesus*. Perlunya penelitian lanjutan yang melakukan pengambilan sampel dengan jumlah yang lebih banyak dan waktu pengambilan sampel yang berbeda, karena sangat mungkin di Pasar Ikan Kedonganan sebenarnya terdapat spesies ikan tuna yang lain.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan atas dana yang diberikan pada penelitian ini. Analisis genetik pada penelitian ini didanai oleh USAID melalui *sub-grant* dari *National Academy of Science* (NAS) dengan NAS sub-grant number PGA-2000001987 dan sponsor *grant award number* AID-OAA-A-11-00012 dengan judul *Building Indonesia Capacity through Genetic Assessment of Commercial Fish Species*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Awise JC. 1998. Conservation Genetics in the Marine Realm. *The American Genetic Association* 89: 377-382.
- Alexei JD, Simon YWH, Nic R, Rambaut A. 2007. *A Rough Guide to BEAST 1.4*. Department of Computer Science The University of Auckland, New Zealand Institute of Evolutionary Biology University of Edinburgh Edinburgh, United Kingdom.
- Bartlett SE, Davidson WS. 1991. Identification of *Thunnus* tuna species by the polymerase chain reaction and direct sequence analysis of their mitochondrial cytochrome b genes. *Can J Fish Aquat Sci* 48: 309-317.
- Chiang HC, Hsua CC, Georgiana CCW, Chang SK, Yang HY. 2008. Population structure of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the Indian Ocean inferred from mitochondrial DNA. *Fisheries Research* 90: 305-312.

- Dinas Perikanan Provinsi Bali. 2002. *Buku Tahunan Statistik Perikanan Tangkap Tahun 1997-2001*. Denpasar Bali. Dinas Perikanan Provinsi Bali.
- Ely B, Vinas J, Bremer JRA, Black D, Lucas L, Covello K, Labrie AV, Thelen E. 2005. Consequences of the historical demography on the global population structure of two highly migratory cosmopolitan marine fishes: the yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and the skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *BMC Evolutionary Biology* 5: 19.
- Fuji T, Nishida M. 1997. High Sequence Variability in the Mitochondrial DNA Control Region of the Japan Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal Fisheries Science* 63(6): 906-910.
- Gonzalez EG, Peter B, Zardoya R. 2008. Genetic structuring and migration patterns of Atlantic bigeye tuna, *Thunnus obesus* (Lowe, 1839). *BMC Evolutionary Biology* 8: 252.
- Ivane RPG, Babaran RP, Santos MD. 2012. Discrimination of Juvenile Yellowfin (*Thunnus albacares*) and Bigeye (*Thunnus obesus*) Tunas using Mitochondrial DNA Control Region and Liver Morphology. *PLoS ONE* 7(4): e35604.
- Kasma E, Osawa T, Adnyana IWS. 2007. Estimation of Primary Productivity for Tuna in Indian Ocean. *Ecotrophic* 4(2): 86-91.
- Lee WJ, Conroy J, Howell WH, Kocher TD. 1995. Structure and Evolution of Teleost Mitochondrial Control Regions. *Journal of Molecular Evolution*. 41: 54-66.
- Martínez P, Elena GG, Rita C, Zardoya R. 2006. Genetic diversity and historical demography of Atlantic bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 404-416
- Ovenden JR. 1990. Mitochondrial DNA and marine stock assessment: A review. *Aust J Mar Freshwater Res* 41: 835-853.
- Scoles DR, Graves JE. 1993. Genetic analysis of the population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from the Pacific Ocean. *Fishery Bulletin* 91: 690-698.
- Sibert J, Hampton J, Kleiber P, Maunder M. 2006. Biomass, Size, and Trophic Status of Top Predators in the Pacific Ocean. *Science* 314.
- Uktolseja JCB, Purwasasmita R. 1991. Preliminary study of the fecundity of skipjack tuna from the waters adjacent to pelabuhan Ratu. Observation on the Spawning of Philippine Tuna. *Fish Bull* 51(55): 409-423.
- Veron JEN, Devantier LM, Turak E, Green AL, Kininmonth S, Smith MS, Peterson N. 2009. Delineating the coral triangle. *Galaxea, Journal of Coral Reef Studies* 11: 91-100
- Wallace DC. 1997. *Mitochondrial DNA in Aging and Disease*. New York. Scientific American. Pp 40-47.
- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. 1991. Chelex-100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR Based Typing from Forensic Material. *Biotechniques* 10: 506-513.
- WPEA OFM. *West Pasific East Asia Oceanic Fisheries Management*. 2012. Jakarta. National Tuna Management Plan.