

## Variasi Sekuens Gen COI untuk DNA Barcoding Ikan Tuna

Beivy Jonathan Kolondam

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi  
Jl. Kampus UNSRAT FMIPA, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia.

Korespondensi: [beivy.kolondam@unsrat.ac.id](mailto:beivy.kolondam@unsrat.ac.id)

(Diterima 11-05-2020; Direvisi 26-06-2020; Dipublikasi 10-07-2020)

### ABSTRACT

DNA barcoding has been used for species identification of fishes, especially for fish product authentication. In tuna fish food products authentication, DNA barcoding is needed due to its requirement of small amount of samples for species identification. The COI gene, located in mitochondria of animal cells, is established as standard marker for animal DNA barcoding. This research aimed to study the variation in COI gene of tuna fish species in three groups, such as Bluefin tuna (five species), Yellowfin tuna (three species), and other tuna species (five species). The variation comparison showed that this gene can differentiate 11 out of 13 tuna species. The *Thunnus orientalis* and *T. thynnus* has 100% similarity over COI gene (identical). Therefore, another marker gene is required to differentiate this two species. Variation in COI gene has the ability to differentiate all species in the genus *Thunnus* with other genus (*Auxis*, *Euthynnus*, and *Katsuwonus*) by 29 nucleotide sites. Bluefin tuna group has one site unique to two other groups. Yellowfin tuna group did not have site for differentiation. Other tuna species has 33 nucleotide sites for differentiation with two other groups.

**Keywords:** *Tuna fish, DNA barcoding, COI gene*

DNA barcoding telah digunakan untuk identifikasi spesies ikan, terutama untuk kepentingan autentifikasi produk-produk hasil perikanan. Dalam proses autentifikasi produk hasil olahan ikan tuna maka dibutuhkan DNA barcoding karena metode ini hanya menggunakan sampel yang sangat sedikit untuk identifikasi spesies. Gen COI yang ada dalam genom mitokondria hewan telah ditetapkan sebagai gen standar yang direkomendasikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan DNA barcoding dalam mengidentifikasi spesies ikan tuna dengan melihat keragaman dalam gen COI dari genom mitokondria. Hasil perbandingan sekuens gen COI pada kelompok ikan tuna Bluefin (lima spesies), kelompok ikan tuna Yellowfin (tiga spesies), dan kelompok ikan tuna jenis lain (lima spesies), dapat disimpulkan bahwa gen ini mampu membedakan 11 dari 13 spesies yang dibandingkan. Spesies *Thunnus orientalis* dan *T. thynnus* yang memiliki variasi sekuens yang identik sehingga dibutuhkan gen lain untuk proses identifikasi. Gen COI memiliki variasi yang bisa membedakan genus *Thunnus* dengan genus yang lain (*Auxis*, *Euthynnus*, and *Katsuwonus*) dengan 29 situs nukleotida. Kelompok tuna Bluefin memiliki satu situs nukleotida yang unik untuk pembedaan. Kelompok tuna Yellowfin tidak memiliki situs untuk pembedaan. Kelompok tuna yang lain memiliki 33 situs nukleotida yang bisa dibedakan dengan dua grup yang lainnya.

**Kata kunci:** *Ikan tuna, DNA Barcoding, gen COI.*

### PENDAHULUAN

Penggunaan DNA barcoding telah menunjukkan peran yang penting untuk autentifikasi spesies ikan maupun produk-produk hasil perikanan (Rasmussen dan Morrissey, 2008). Banyak produk olahan dari ikan yang diberikan label dengan yang tidak sesuai dengan bahan ikan yang digunakan (Xiong, *et al.*, 2019). Secara umum, fitur-fitur morfologi digunakan untuk mengidentifikasi berbagai spesies ikan tuna tetapi ini butuh sumber daya manusia yang benar-benar ahli. Di masa sekarang, metode ini sulit digunakan untuk identifikasi produk yang sudah berbentuk filet dan ikan kaleng (Bottero, *et al.*, 2007). Di lain sisi, konsumen memiliki hak untuk diinformasikan identitas dari barang yang dibeli, baik ikan tuna mentah maupun hasil proses, sehingga metode identifikasi yang tepat penting untuk tetap dilakukan (Aranishi, *et al.*, 2004). Prospek penggunaan teknologi DNA barcoding telah membuka peluang untuk identifikasi spesies secara teliti, meskipun hanya dari specimen jaringan yang sedikit (Dudu, *et al.*, 2016). Khusus untuk ikan tuna, sekuensing beberapa gen dari DNA mitokondria masih digunakan karena bisa diandalkan untuk membedakan banyak dari spesies ikan ini (Wulansari, *et al.*, 2015).

Penelitian DNA barcoding untuk identifikasi spesies ikan tuna di Indonesia telah dilakukan, tetapi hanya berdasarkan gen Sitokrom B (CytB) saja (Nurilmala, *et al.*, 2016;

Wulansari, *et al.*, 2015). Sejak tahun 2003, telah diusulkan bahwa gen Cytochrome c Oxidase I (atau sering disingkat sebagai gen COI atau gen COX1) dari mitokondria sebagai gen standar DNA barcoding bagi sebagian besar hewan (Hebert *et al.*, 2003). Dengan pertimbangan ini maka perbandingan gen COI yang mengakomodasi semua spesies ikan tuna, baik dari kelompok tuna Yellowfin, tuna Bluefin, maupun dan kelompok ikan tuna jenis lain, menjadi penting untuk dilakukan.

Sebagai gen standar, gen COI sudah dikembangkan untuk mempelajari biodiversitas ikan. Pendekatan ekologi molekuler menjadi tren baru penelitian keanekaragaman hayati di dunia (Valdez-Moreno, *et al.*, 2012). Untuk itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengkaji kemampuan DNA barcoding dalam mengidentifikasi spesies ikan tuna dengan melihat keragaman dalam gen COI dari genom mitokondria.

## METODOLOGI PENELITIAN

### DNA Mitokondria Spesimen Ikan Tuna

Penelitian ini dilakukan sepenuhnya secara *in silico* menggunakan komputer dengan sistem operasi Windows 10 (64 bit) dan aplikasi Google Chrome v83.0.4103.116. Penelitian diawali dengan mengumpulkan informasi sekuens ikan tuna pada tanggal 27 Februari 2020 dari website NCBI (National Center for Biotechnology Information) Amerika Serikat yang diakses secara daring (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sekuens gen COI dari spesimen ikan tuna yang dikaji ini diambil langsung dari genom mitokondria. Informasi detail semua sekuens untuk analisis telah tercantum dalam Tabel 1.

Dalam Tabel 1 terdapat 13 spesimen dari spesies ikan tuna yang berbeda, lengkap dengan nomor aksesinya GenBank. Nomor aksesinya ini bersifat unik untuk setiap sekuens DNA yang tercatat di pangkalan data ini. Pencarian kembali informasi ini bisa dilakukan dengan memasukkan nomor aksesinya yang tercantum. Spesies-spesies ikan tuna ini dibagi dalam tiga kelompok yaitu kelompok tuna Bluefin, kelompok tuna Yellowfin, kelompok tuna jenis lain. Spesies yang tidak tercantum adalah *Allothunnus fallai* dan *Euthynnus lineatus* karena belum ada informasi gen COI lengkap dalam genom DNA mitokondria yang terdata dalam Genbank NCBI.

Tabel 1. DNA Mitokondria beberapa Spesies Kelompok Ikan Tuna untuk Analisis.

No.	Nama Spesies	Nomor aksesinya	Referensi
1.	<i>Thunnus alalunga</i> <sup>1</sup>	AB101291.1	Manchado <i>et al.</i> (2016)
2.	<i>T. maccoyii</i> <sup>1</sup>	KF925362.1	Li <i>et al.</i> (2016)
3.	<i>T. obesus</i> <sup>1</sup>	GU256525.1	Martinez-Ibarra <i>et al.</i> (2016a)
4.	<i>T. orientalis</i> <sup>1</sup>	KF906721.1	Chen <i>et al.</i> (2014)
5.	<i>T. thynnus</i> <sup>1</sup>	AP006034.1	Satoh <i>et al.</i> (2016)
6.	<i>T. atlanticus</i> <sup>2</sup>	NC_025519.1	Marques <i>et al.</i> (2016)
7.	<i>T. tonggol</i> <sup>2</sup>	NC_020673.1	Martinez-Ibarra <i>et al.</i> (2013)
8.	<i>T. albacares</i> <sup>2</sup>	NC_014061.1	Martinez-Ibarra <i>et al.</i> (2010)
9.	<i>Auxis rochei</i> <sup>3</sup>	KM651784.1	Li <i>et al.</i> (2014a)
10.	<i>A. thazard</i> <sup>3</sup>	AB105447.1	Catanese <i>et al.</i> (2008)
11.	<i>Euthynnus affinis</i> <sup>3</sup>	NC_025934.1	Li <i>et al.</i> (2014b)
12.	<i>E. alletteratus</i> <sup>3</sup>	NC_004530.1	Infante <i>et al.</i> (2006)
13.	<i>Katsuwonus pelamis</i> <sup>3</sup>	JN086155.1	Martinez-Ibarra <i>et al.</i> (2016b)

Ket.: 1) Kelompok Tuna Bluefin; 2) Kelompok Tuna Yellowfin; 3)Kelompok Tuna Jenis Lain.

### Pemisahan Gen dari Genom DNA Mitokondria

DNA genom mitokondria yang diperoleh dari GenBank masing-masing berukuran 16,5 kbp. Dari satu spesimen ini dipisahkan gen COI dari gen-gen lain serta bagian yang tidak mengkode protein (non-coding region). Letak gen dapat ditemukan dari keterangan nama gen, region gen tersebut (berupa nomor), beserta CDS (*Coding Sequence*) urutan asam amino yang dikode oleh gen tersebut. Gen COI utuh masing-masing spesimen berukuran 1.551 bp dan seringkali dicantumkan sebagai sinonimnya, yaitu gen *cox1*.

### Penjajaran Sekuens dan Pemotongan Enzim Restriksi Endonuklease

Penjajaran sekuens (*sequence alignment*) dilakukan menggunakan algoritma MUSCLE (Edgar, 2004) yang terintegrasi dalam piranti lunak Geneious v5.6. (Kearse, *et al.*, 2012). Perbedaan dalam tiap titik nukleotida ditampilkan dengan memperbandingkan nukleotida semua

spesimen dalam posisi yang sama. Persentase kesamaan disiapkan sebagai bagian dari piranti lunak Geneious yang dihitung berdasarkan penjajaran sekuens. Konsensus juga ditampilkan dengan menggunakan notasi nukleotida dari variasi nukleotida pada titik dimana terdapat perbedaan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan gen COI sebagai DNA barcode untuk determinasi spesies ikan tuna dianggap baik. Berdasarkan Gambar 1 bisa dilihat secara umum bahwa terdapat 248 titik perbedaan nukleotida antara 13 spesimen ikan tuna yang dibandingkan. Variasi yang terdapat pada titik-titik ini kebanyakan terjadi karena perbedaan antara genus *Thunnus* (kelompok tuna Bluefin dan Yellowfin) secara umum dengan kelompok tuna jenis lain (genus *Auxis*, *Euthynnus*, dan *Katsuwonus*). Pada gambar ini juga diberikan label posisi Primer LCO1490 dan Primer HCO2198 (Folmer, *at al.*, 1994) untuk menggambarkan posisi yang diapit yaitu *Region Folmer* yang diamplifikasi untuk DNA barcoding hewan secara umum. Region ini tersebar dari nukleotida nomor 23 sampai nomor 731 dengan panjang 709 bp. Beberapa primer penting untuk DNA barcoding ikan, seperti yang dirancang oleh Ivanova, *et al.* (2007) dan Ward, *et al.* (2005), juga mengamplifikasi region yang sama.

Perbedaan yang unik pada Gambar 1 terjadi pada 29 titik, dimana pada posisi-posisi ini semua spesies dari genus *Thunnus* memiliki nukleotida yang sama dan bisa dibedakan dari genus yang lain. Titik-titik variasi tersebut yaitu pada posisi nomor 81, 402, 417, 426, 447, 454, 462, 495, 522, 999, 1.026, 1.032, 1.065, 1.101, 1.119, 1.140, 1.173, 1.215, 1.269, 1.281, 1.320, 1.386, 1.425, 1.455, 1.465, 1.476, 1.500, 1.503, dan 1524. Mengingat bahwa region yang sering digunakan untuk identifikasi melalui DNA barcoding adalah region dengan posisi nomor 23–731, sehingga variasi di posisi 402, 417, 426, 447, 454, 462, 495, dan 522 menjadi penting untuk nantinya dilakukan kajian lebih lanjut. Menurut Dooley, *et al.* (2005), variasi ini memungkinkan untuk dikembangkan metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) untuk kepentingan identifikasi spesies secara cepat.

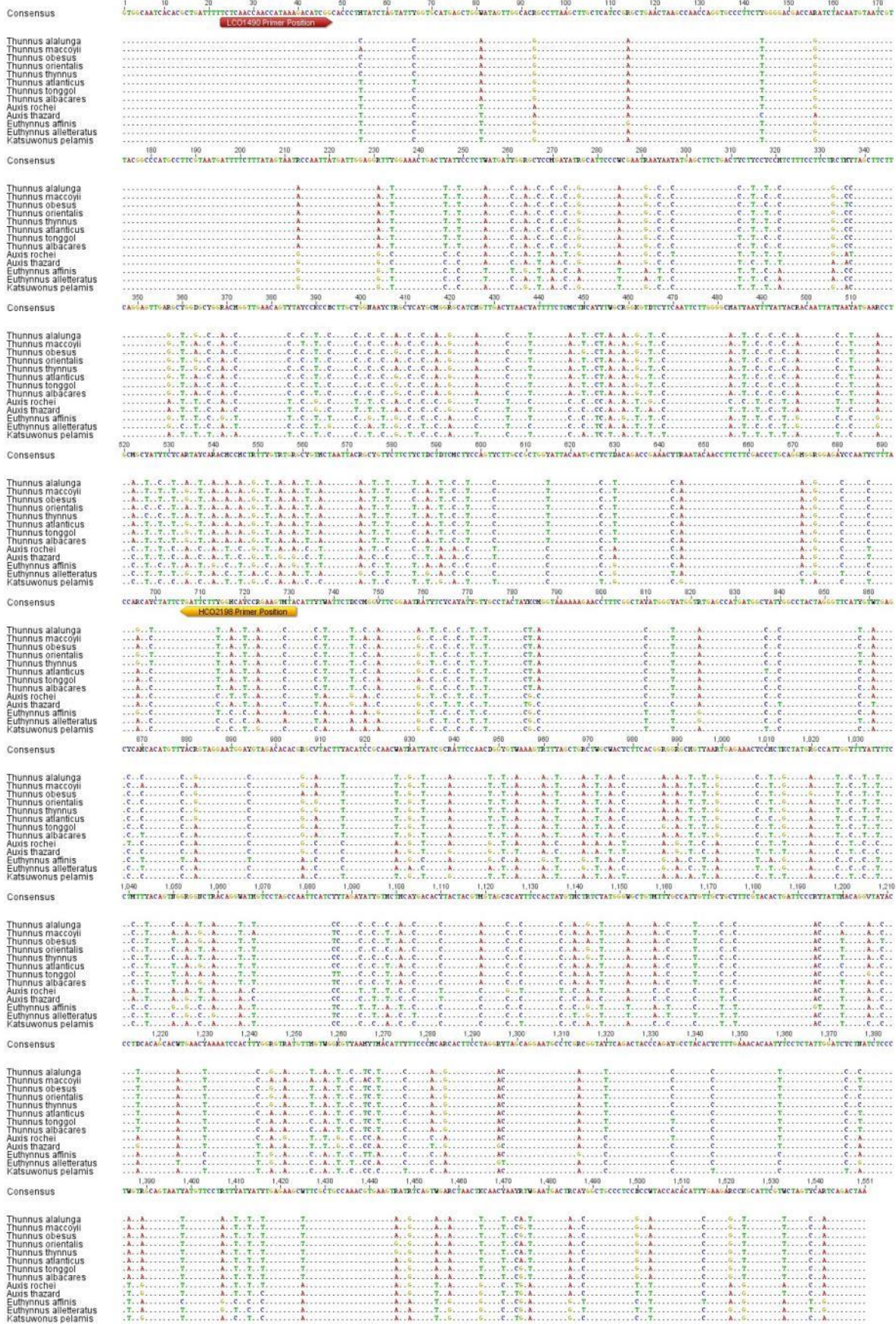
Jenis penanda lain, seperti yang bisa membedakan anggota kelompok tuna Bluefin, kelompok tuna Yellowfin dan kelompok ikan tuna jenis lain juga bisa ditemukan. Pada Gambar 1 posisi nukleotida nomor 54 mencirikan keunikan semua spesies tuna Bluefin dengan adanya nukleotida sitosin (C), kecuali *T. maccoyii* yang memiliki nukleotida Adenin (A), sedangkan dua kelompok lain seragam memiliki nukleotida Timin (T). Untuk kelompok tuna Yellowfin, tidak ada variasi nukleotida yang bisa membedakan secara spesifik antara kelompok ini dengan kelompok yang lain.

Kelompok ikan tuna di luar kelompok tuna Bluefin dan kelompok tuna Yellowfin memiliki banyak keseragaman. Keseragaman ini maksudnya memiliki satu jenis nukleotida pada beberapa posisi tertentu yang dapat dibedakan dengan dua kelompok lainnya. Nukleotida yang spesifik berbeda pada ikan tuna jenis lain dalam penelitian ini terdapat pada 33 posisi pada Gambar 1, yaitu pada nukleotida nomor 81, 213, 231, 246, 249, 267, 270, 363, 417, 447, 454, 562, 495, 522, 615, 738, 747, 784, 909, 999, 1.026, 1.032, 1.065, 1.119, 1.173, 1.320, 1.396, 1.425, 1.455, 1.465, 1.476, 1.503 dan 1524. Ditekankan sekali lagi bahwa ada 15 titik yang berada dalam *Region Folmer* yang menjadi target PCR untuk DNA barcoding. Terdapat pula 13 titik lain yang terdiri atas dua jenis nukleotida unik dibanding kelompok tuna Bluefin dan kelompok tuna Yellowfin, yaitu pada posisi nomor 321, 426, 450, 546, 630, 744, 1.101, 1.140, 1.215, 1.269, 1.281, 1.377, dan 1500.

Sebagai perangkat untuk identifikasi, gen COI harus bisa membedakan semua spesies ikan tuna. Dalam Tabel 2 telah dibandingkan sekuens gen COI dari semua spesimen dalam penelitian ini. Hasilnya menyatakan bahwa semua spesimen memiliki perbedaan, kecuali pada dua spesimen, yaitu *T. orientalis* dengan *T. thynnus*. Hal ini diketahui karena kedua sekuens ini identik (tingkat kesamaan 100%). Tingkat kesamaan antara sesama spesimen tuna Bluefin berkisar antara 98,3–100%. Tingkat kesamaan antara spesies tuna Yellowfin berkisar 98,5–99,8%. Tingkat kesamaan antara spesies tuna jenis lain berkisar 90,7–97,4%.

Adanya perbedaan untuk 11 dari 13 spesies yang dibandingkan memberikan indikasi bahwa penggunaan sekuens gen COI sudah cukup baik untuk digunakan sebagai DNA barcode ikan tuna. Dalam kasus demikian, perlu adanya penelitian yang mengkaji variasi intraspecies gen COI dari

kedua spesies tersebut. Apabila tidak bisa dibedakan maka dibutuhkan gen-gen lain untuk pembedaan kedua spesies.



Gambar 1. Variasi sekuens gen COI dari 13 spesies ikan tuna.

Tabel 2. Persentase Kesamaan Sekuens DNA COI Ikan Tuna yang terdata di GenBank.

No.	Nama Spesies*	Tingkat Kesamaan (%)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	<i>Thunnus alalunga</i>	100												
2	<i>T. maccoyii</i>	98,6	100											
3	<i>T. obesus</i>	98,5	99,2	100										
4	<i>T. orientalis</i>	99,8	98,5	98,3	100									
5	<i>T. thynnus</i>	99,8	98,5	98,3	100	100								
6	<i>T. atlanticus</i>	98,6	99,2	99,2	98,5	98,5	100							
7	<i>T. tonggol</i>	98,5	99,4	99,4	98,3	98,3	99,5	100						
8	<i>T. albacares</i>	98,6	99,5	99,5	98,5	98,5	99,7	99,8	100					
9	<i>Auxis rochei</i>	91,5	91,6	91,6	91,3	91,3	91,8	91,9	91,8	100				
10	<i>A. thazard</i>	90,9	91,0	91,0	90,7	90,7	91,2	91,3	91,2	97,4	100			
11	<i>Euthynnus affinis</i>	91,5	91,0	91,2	91,3	91,3	91,2	91,6	91,5	91,5	92,6	100		
12	<i>E. alletteratus</i>	91,2	91,6	91,8	91,0	91,0	91,8	92,2	92,1	91,3	91,8	96,4	100	
13	<i>Katsuwonus pelamis</i>	91,2	90,7	91,0	91,0	91,0	91,2	91,3	91,2	94,2	93,8	92,9	92,1	100

Ket.: \*) Sesuai dengan nomor aksesori spesimen pada Gambar 1.

## KESIMPULAN

Berdasarkan perbandingan sekuens gen COI pada kelompok ikan tuna Bluefin (lima spesies), kelompok ikan tuna Yellowfin (tiga spesies), dan kelompok ikan tuna jenis lain (lima spesies), dapat disimpulkan gen ini bisa digunakan untuk membedakan 11 dari 13 spesies. Spesies *Thunnus orientalis* dan *T. thynnus* yang memiliki variasi sekuens yang identik sehingga dibutuhkan gen lain untuk proses identifikasi. Gen COI memiliki variasi unik yang bisa membedakan genus *Thunnus* dengan genus yang lain. Gen ini juga memiliki keseragaman nukleotida di beberapa situs untuk kelompok ikan tuna jenis lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aranishi, F., Okimoto, T., and Izumi, S. 2005. Identification of Gadoid Species (Pisces, Gadidae) by PCR-RFLP Analysis. *Journal of Applied Genetics* 46(1): 69–73.
- Bottero, M. T., Dalmaso, A., Cappelletti, M., Secchi, C., and Civera, T. 2007. Differentiation of Five Tuna Species by a Multiplex Primer-extension Assay. *Journal of Biotechnology* 129(3): 575–580.
- Catanese, G., Infante, C., and Manchado, M. 2008. Complete Mitochondrial DNA Sequences of the Frigate Tuna *Auxis thazard* and the Bullet Tuna *Auxis rochei*. *DNA Sequence* 19(3): 159–166.
- Chen, C., Li, Y., Yu, H., Peng, S., Sun, S., Wang, L., Meng, X., Huang, Y. and Kong, X. 2014. *Thunnus orientalis* Mitochondrion, Complete Genome <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KF906721.1> [diakses 27 Februari 2020].
- Dooley, J.J., Sage, H.D., Clarke, M.L., Brown, H.M. and Garrett, S.D. 2005. Fish Species Identification using PCR-RFLP Analysis and Lab-on-a-Chip Capillary Electrophoresis: Application to Detect White Fish Species in Food Products and an Interlaboratory Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(9): 3348–3357.
- Dudu, A., Barbălată, T., Popa, G., Georgescu, S., and Costache, M. 2016. Advantages and Limitations of DNA Barcoding in Identifying Commercially-Exploited Fish Species. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* 49(1): 45–49.
- Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: Multiple Sequence Alignment with High Accuracy and High Throughput. *Nucleic Acids Research* 32(5): 1792–1797.
- Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., and de Waard, J.R. 2003. Biological Identifications through DNA Barcodes. *Proceedings of Royal Society Biological sciences*, 270(1512): 313–321.
- Infante, C., Catanese, G. and Manchado, M. 2006. *Euthynnus alletteratus* Mitochondrion, Complete Genome. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_004530.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_004530.1) [diakses 27 Februari 2020].
- Ivanova, N.V., Zemlak, T.S., Hanner, R.H. and Hebert, P. 2007. Universal Primer Cocktails for Fish DNA Barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7(4): 544–548.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T. Ashton, B. Meintjes, P. and Drummond, A. 2012. Geneious Basic: An Integrated and Extendable Desktop Software Platform for the Organization and Analysis of Sequence Data. *Bioinformatics* 28(12): 1647–1649.
- Li, M., Guo, L., Zhang, H., Yang, S., Chen, X., Meng, Z. and Lin, H. 2014a. *Auxis rochei* Mitochondrion, Complete Genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KM651784.1> [diakses 27 Februari 2020].
- Li, M., Guo, L., Zhang, H., Yang, S., Chen, X., Meng, Z. and Lin, H. 2014b. *Euthynnus affinis* Mitochondrion, Complete Genome. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_025934.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_025934.1) [diakses 27 Februari 2020].

- Li, Y., Chen, C., Yu, H, Peng, S., Sun, S., Wang, L., Meng, X., Huang, Y. and Kong, X. 2016. The Complete Mitochondrial Genome of the Southern Bluefin Tuna *Thunnus maccoyii*. *Mitochondrial DNA* 27(6): 3921–3922.
- Manchado, M., Catanese, G., Crespo, A. and Infante, C. 2016. *Thunnus alalunga* Mitochondrial DNA, Complete Genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB101291.1> [diakses 27 Februari 2020].
- Márquez, E.J. Isaza, J.P. and Alzate, J.F. 2016. Mitochondrial Genome of the Blackfin Tuna *Thunnus atlanticus* Lesson, 1831 (Perciformes, Scrombidae), *Mitochondrial DNA* 27(3): 1771–1772.
- Martinez-Ibarra, C., Ishizaki, S. and Nagashima, Y. 2016a. *Thunnus obesus* Mitochondrion, Complete Genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GU256525.1> [diakses 27 Februari 2020].
- Martinez-Ibarra, C., Ishizaki, S. and Nagashima, Y. 2016b. Katsuwonus pelamis Voucher KP02-2318 Mitochondrion, Complete Genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN086155.1> [diakses 27 Februari 2020].
- Martinez-Ibarra, C., Ishizaki, S. and Nagashima, Y. 2013. *Thunnus tonggol* Mitochondrion, Complete Genome. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_020673.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_020673.1) [diakses 27 Februari 2020].
- Martinez-Ibarra, C., Ishizaki, S. and Nagashima, Y. 2010. *Thunnus albacares* Mitochondrion, Complete Genome. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_014061.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_014061.1)[diakses 27 Februari 2020].
- Rasmussen, R.S., and Morrissey, M.T. 2008. DNA-based Methods for the Identification of Commercial Fish and Seafood Species. *Comprehensive Review of Food Science and Food Safety* 7(3): 280–295.
- Satoh, T.P., Miya, M., Mabuchi, K., and Nishida, M. 2016. Structure and Variation of the Mitochondrial Genome of Fishes. *BMC genomics* 17(1): 719.
- Valdez-Moreno, M., Quintal-Lizama, C., Gómez-Lozano, R., and García-Rivas, M. 2012. Monitoring an Alien Invasion: DNA Barcoding and the Identification of Lionfish and Their Prey on Coral Reefs of the Mexican Caribbean. *PloS One* 7(6): e36636.
- Ward, R.D., Zemlak, T.S., Innes, B.H., Last, P.R., and Hebert, P.D. 2005. DNA Barcoding Australia's Fish Species. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B Biological sciences* 360(1462): 1847–1857.
- Wulansari, N., Nurilmala, M. dan Nurjanah. 2015. Deteksi Ikan Tuna dan Produk Olahannya Berbasis Protein dan DNA Barcoding. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 18(2): 119–127.
- Xiong, X., Yuan, F. Huang, M., Lu, L., Xiong, X., and Wen, J. 2019. DNA Barcoding Revealed Mislabeling and Potential Health Concerns with Roasted Fish Products Sold across China. *Journal of Food Protection* 82(7): 1200–1209.