Identifikasi Molekuler Gurita (Family: Octopodidae) dari Perairan Lombok Berdasarkan Marka Gen Sitokrom Oksidase Sub Unit I

Molecular Identification of Octopus (Family: Octopodidae) from Lombok Waters Based on Cytochrome Oxidase Sub Unit I Gene Markers

Laily Fitriani Mulyani[1*], Alis Mukhlis[1], Muhammad Marzuki[1], Nunik Cokrowati[1], Nanda Diniarti[1], Nuansa Azma Yonita[2]

[1] Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram
[2] Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram

***Korespondensi :** lailyfitriani@unram.ac.id

Abstrak

Perairan Lombok merupakan daerah komoditas potensial penangkapan. Salah satu komoditas potensial yang ditangkap adalah spesies gurita dari family octopodidae. Sebuah penelitian baru-baru ini merevisi taksonomi tingkat generik dari famili Octopodidae, dan beberapa kelompok spesies yang sebelumnya termasuk dalam Octopus kini diakui sebagai genus independen. Namun, pengetahuan mengenai hubungan filogenetik di antara taksa dalam famili Octopodidae masih kurang. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gurita anggota genus Octopus di Perairan Lombok yaitu : Pantai Sari Gong, Pantai Ketapang, Pantai Beraringan, Pantai Cemara Lembar secara molekuler. Penelitian dilakukan dari bulan Januari sampai Juni 2024 di Perairan Lombok. Sampel gurita yang ditangkap oleh nelayan dianalisis secara morfologi dan molekuler. Pengambilan sampel gurita dilakukan sekali dalam sebulan, pengamatan yang mewakili kondisi musim kemarau dan musim penghujan dengan interval waktu 30 hari. Metode penelitian yang dilakukan meliputi : sampling gurita, identifikasi, identifikasi molekuler, penyejajaran urutan nukleotida gen 16S rRNA, jarak genetik. Hasil penelitian yang diperoleh adalah panjang rata rata urutan nukleotida sampel yang didapatkan adalah 683 bp. Sehingga, isolasi dan ekstraksi DNA dari 5 sampel gurita *(Octopus cyanea)* menghasilkan 2 sampel dengan kualitas DNA yang baik. Berdasarkan identifikasi morfologi, spesies yang diamati tergolong dalam famili Octopodidae, genus Octopus, dengan spesies Octopus cyanea. Kesimpulan yang dapat ditarik berdasarkan hasil penelitian adalah spesies gurita yang ditangkap di Perairan Lombok diidentifikasi secara morfologi dan molekuler sebagai *Octopus cyanea.* Selain itu, sekuen basa nukleotida tersebut dapat digunakan untuk merancang primer gen COI spesifik untuk O. cyanea

Kata Kunci: Octopodidae, Molekuler, Perairan Lombok

Abstract

Lombok waters are a potential commodity area for fishing. One of the potential commodities caught is the octopus species from the octopodidae family. A recent study revised the generic taxonomy of the Octopodidae family, and several groups of species previously included in Octopus are now recognized as independent genera. However, knowledge of the phylogenetic relationships among taxa in the Octopodidae family is still lacking. This study aims to identify octopuses belonging to the genus Octopus in Lombok Waters, namely: Sari Gong Beach, Ketapang Beach, Beraringan Beach, Cemara Lembar Beach molecularly. The study was conducted from January to June 2024 in Lombok Waters. Octopus samples caught by fishermen were analyzed morphologically and molecularly. Octopus sampling was carried out once a month, observations representing the conditions of the dry season and rainy season with an interval of 30 days. The research methods used include: octopus sampling, identification, molecular identification, alignment of 16S rRNA gene nucleotide sequences, genetic distance. The results of the study obtained were the average length of the nucleotide sequence of the samples obtained was 683 bp. Thus, isolation and extraction of DNA from 5 octopus samples (Octopus cyanea) produced 2 samples with good DNA quality. Based on morphological identification, the observed species belong to the Octopodidae family, genus Octopus, with the species Octopus cyanea. The conclusion that can be drawn based on the results of the study is that the octopus species caught

in Lombok Waters are identified morphologically and molecularly as Octopus cyanea. In addition, the nucleotide base sequence can be used to design specific COI gene primers for O. cyanea
Keywords: *Octopodidae, Molecular, Lombok Waters*

PENDAHULUAN

Cephalopoda mencakup sejumlah besar famili dan banyak di antaranya memiliki kepentingan komersial yang tinggi (Boyle & Rodhouse, 2005). Gurita adalah moluska cephalopoda dalam ordo Octopoda dengan empat pasang lengan. Dalam pengertian yang lebih luas, ada lebih dari 200 spesies gurita yang dikenal, yang kira-kira sepertiga dari jumlah total spesies cephalopoda yang dikenal. Gurita memainkan peran yang semakin penting dalam perikanan laut dalam beberapa tahun terakhir (Boyle & Rodhouse, 2005). Sistem klasifikasi ilmiah gurita telah dikembangkan dan diperkaya dalam 20 tahun terakhir (Nesis, 1998; Norman & Sweeney, 1997). Namun, masih banyak kelemahan tentang klasifikasi taksonomi spesies ini berdasarkan perbedaan morfologi (Voight, 1994; Roper & Hochberg, 1998). Pengembangan kebijakan pemerintah dalam perikanan diharapkan akan dapat (a) meningkatkan produksi ikan, (b) meningkatkan pendapatan nelayan (c) meningkatkan konsumsi ikan, (d) meningkatkan pendapatan daerah/negara (Nirnama, 1977 dan DKP Propinsi Bengkulu, 2002). Sampai saat ini, perikanan cephalopoda, khususnya gurita, belum menunjukkan keberhasilan yang signifikan karena kurangnya perhatian terhadap aspek produksi dan berbagai faktor yang memengaruhi pengelolaannya (Omar *et al*., 2020).

Gurita sampai saat ini masih berstatus liar dan biasanya hidup di perairan laut dalam sekitar 4-5 km. Gurita ini juga bernilai ekonomis tinggi, namun belum dikembangbiakkan dalam skala budidaya. Gurita saat ini masih belum dapat dibudidayakan dan 10 tahun terakhir ini mengalami penurunan yang cukup signifikan, dibuktikan dengan semakin meningkatnya penangkapan di alam sejak tahun 2010 hingga saat ini berdasarkan data dari Pusat Data, Statistik dan Informasi (2022). Nilai nya fluktuatif dari tahun 2010 hingga 2022 berturut- turut $1.5x10^6$ ton, $4,5x10^6$ ton, $3,5x10^6$ ton, $9,5\ x10^6$ ton, $10x10^6$ ton, $9\ x10^6$ ton, $11x10^6$ ton,$13,5x10^6$ ton, $15x10^6$ ton, $25x10^6$ ton, $9\ x10^6$ ton, $20x10^6$ ton. Sehingga, dikhawatirkan pada komoditas gurita ini terjadi over exploitation. Untuk mengatasi kondisi tersebut perlu diupayakan strategi pengelolaan sumber daya perikanan dengan memperhatikan beberapa aspek kajian.

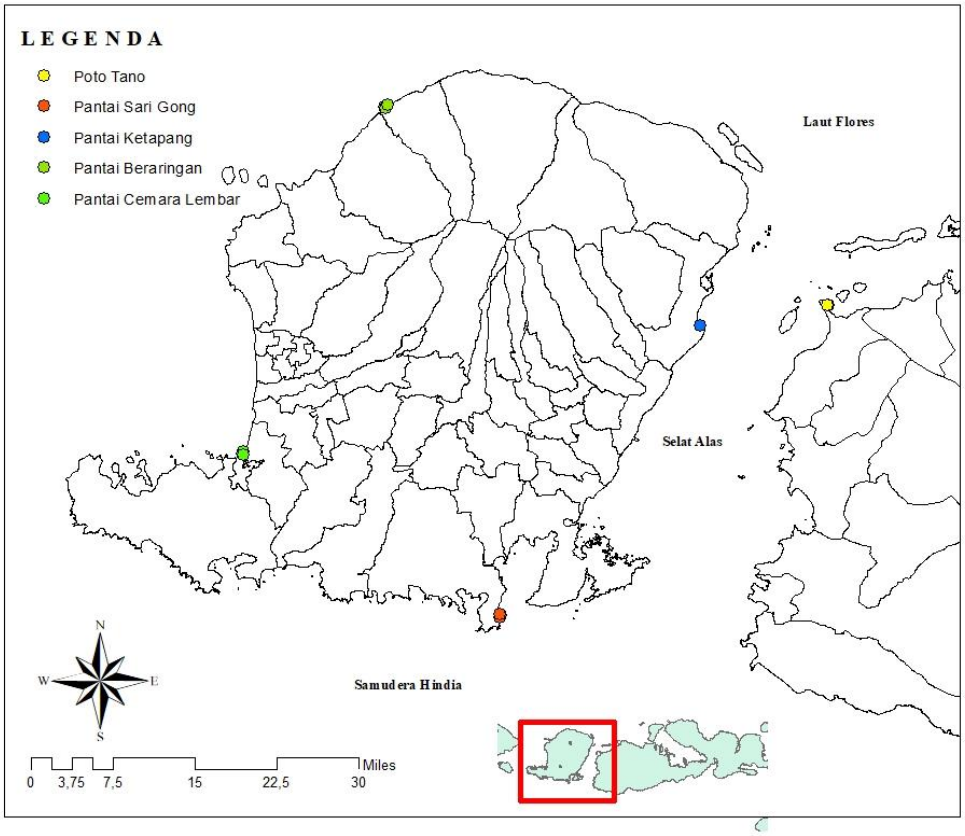
Langkah awal yang perlu dilakukan dalam pengelolaan gurita adalah menganalisis keragaman spesies melalui uji molekuler. Hal ini menjadi salah satu bagian yang penting mengingat bahwa spesies gurita sangat beragam di habitat nya. Kesalahan dalam mengidentifikasi spesies gurita bisa berakibat ketidaktahuan secara berlarut-larut. Sehingga, salah satu kegunaan dari penanda molekuler adalah untuk menganalisis keragaman genetik pada hewan.DNA barcoding merupakan teknik yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi organisme secara akurat mulai dari tingkat spesies hingga subspesies, terutama pada spesies yang sulit dibedakan berdasarkan karakter morfologi (Tudge, 2000). Teknik ini menghasilkan sebuah barcode molekuler yang berasal dari sekuen pendek DNA untuk mengenali suatu spesies (Hajibabaei *et al*., 2007). Gen Cytochrome Oxidase subunit I (COI) pada DNA mitokondria sering digunakan sebagai penanda molekuler dalam identifikasi spesies karena gen ini berevolusi dengan sangat lambat (Solihin, 1994). Selain itu, gen ini jarang mengalami delesi atau insersi dalam sekuensnya dan hanya menunjukkan sedikit variasi, sehingga cocok untuk aplikasi DNA barcoding (Hebert *et al*., 2003). DNA mitokondria juga memungkinkan analisis hubungan kekerabatan antarspesies secara filogenetik (Avise *et al*., 1987).

Tidak dapat disangkal bahwa data mengenai identifikasi keragaman spesies gurita sangat diperlukan sebagai landasan dalam pengelolaan sumber daya gurita, disertai dengan pengembangan strategi serta rencana pengelolaan yang terfokus pada perikanan gurita. Hasil dari penelitian ini juga diharapkan mampu merumuskan konsep pengelolaan gurita secara berkelanjutan. Penelitian ini memberikan keterbaruan dalam pembuatan konsep pengelolaan sebagai dasar ilmu untuk pengelolaan gurita secara keberlanjutan sehingga dapat memberi sumbangan ilmu pengetahuan bagi para peneliti maupun pembudidaya.

METODE

Sampling Sampel Gurita

Penelitian akan dilakukan selama 6 bulan dari dari bulan Januari sampai dengan Juni 2024 di Perairan Lombok, Propinsi Nusa Tenggara Barat. Pengambilan gurita contoh dilakukan sekali dalam sebulan, pengamatan yang mewakili kondisi musim kemarau dan musim penghujan dengan interval waktu 30 hari. Identifikasi gurita dilakukan di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan Universitas Mataram, pengukuran substrat dan analisis kualitas air dilakukan di Laboratorium Lingkungan Akuakultur Universitas Mataram. Lokasi penelitian ditunjukkan pada Gambar 1. Identifikasi secara molekuler dilakukan di Laboratorium Bionesia, Bali Utara, Denpasar.



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

Analisis Laboratorium

Proses ekstraksi sampel dilakukan menggunakan DNeasy Blood & Tissue Kit. Sebanyak ±25 mg jaringan sampel diambil menggunakan pinset, kemudian dimasukkan ke dalam tabung berkapasitas 1,5 ml. Sebelum dan sesudah pengambilan jaringan, pinset dicelupkan ke dalam etanol 95% dan disterilisasi dengan pembakaran menggunakan api bunsen. Pada tabung 1,5 ml yang berisi jaringan, ditambahkan 180 µl Buffer ATL dan 20 µl proteinase K, lalu campuran tersebut divortex dan disentrifugasi selama ±20 detik. Selanjutnya, tabung dipanaskan dalam **heating block** pada suhu 56°C semalaman. Setelah itu, ditambahkan 200 µl Buffer AL, campuran divortex, dan diinkubasi pada suhu 56°C selama 10 menit. Kemudian, 200 µl etanol 96% ditambahkan dan campuran kembali divortex. Larutan sampel berikut reagen dipindahkan ke **DNeasy Mini spin column**, yang ditempatkan dalam tabung koleksi 2 ml. Proses dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit, diikuti dengan pembuangan cairan dari tabung koleksi. Spin column dipindahkan ke tabung koleksi baru, lalu 500 µl Buffer AW1 ditambahkan, dan campuran disentrifugasi lagi pada 8.000 rpm selama 1 menit. Setelah itu, cairan dan tabung koleksi dibuang. Spin column kemudian dipindahkan ke tabung koleksi 2 ml yang baru, ditambahkan 500 µl Buffer AW2, dan disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 3 menit. Cairan berikut tabung koleksi dibuang, dan spin column ditempatkan ke tabung baru berkapasitas 1,5 ml. Proses elusi DNA dilakukan

dengan menambahkan 100 µl ddH2O ke tengah membran spin column, diinkubasi pada suhu ruang (15–25°C), dan disentrifugasi pada 8.000 rpm selama 1 menit. Langkah ini diulangi dengan menambahkan 100 µl ddH2O sehingga total volume larutan akhir menjadi 200 µl. Larutan hasil ekstraksi siap digunakan untuk amplifikasi.

DNA hasil ekstraksi dianalisis pada tahap berikutnya, yaitu Polymerase Chain Reaction (PCR). Protokol PCR mengikuti standar laboratorium BIONESIA. Primer yang digunakan untuk amplifikasi DNA pada sampel gurita adalah FISH F1 dan FISH R1 (Lowe et al., 2005), serta O.CYA F dan O.CYA R (Lee *et al*., 2018).

PEMBAHASAN

Taksonomi Berdasarkan Morfologi

Identifikasi secara morfologi dilakukan dengan mengukur beberapa parameter karakteristik morfologi gurita. Perbedaan spesies *Octopus cyanea* jantan dan betina terlihat dari bentuk lengan ketiga pada gurita. Perbedaan yang terlihat jelas antara gurita jantan dan betina dapat dilihat pada literatur Mulyani *et al*., 2024. Nilai kisaran hasil pengukuran disajikan pada Tabel 1. Nilai kisaran hasil pengukuran bobot, Panjang Total (PT), Panjang Mantel dorsal (PMd), Panjang Mantel ventral (PMv), Lebar Mantel (LM), Lebar Kepala (LK), Diameter Mata (DM), Diameter Lensa (DL), Panjang Sifon (PS). Identifikasi secara morfologi dapat membuktikan kepastian taksonomi dari suatu organisme. Hasil identifikasi secara morfologi menunjukkan bahwa spesies yang diamati adalah benar bernama *Octopus cyanea* (Gambar 2).

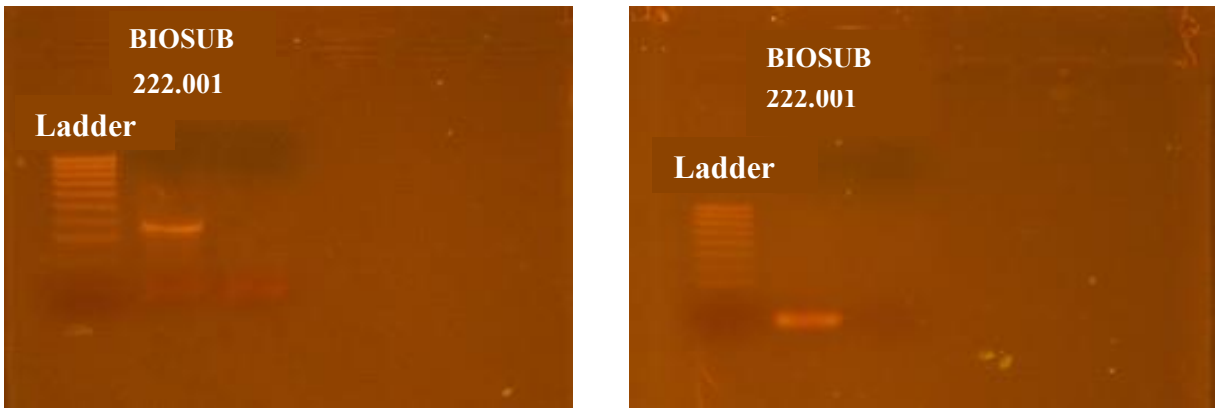
Gambar 2. Gurita *(Octopus cyanea)*

Tabel 1. Nilai kisaran pada pengukuran morfologi Gurita jantan dan betina

Jenis Kelamin	Bobot (g)	PT (mm)	PMd (mm)	PMv (mm)	LM (mm)	LK (mm)	DM (mm)	DL (mm)	PS (mm)
Jantan	270-960	487,1 – 1015,7	74,6 - 148,6	47,1 - 111	50,6 - 97,2	28,4 - 52,4	13,2 - 24,	3,6 - 9,1	25,4 - 56,6
Betina	270-2280	501-1440	44-166	39-132	40-145	26-121	14,2-25,1	3,7-10,0	25-58

DNA Total

Percobaan awal elektroforesis yang dilakukan adalah menggunakan menggunakan primer Fish F1/R1. Kemudian percobaan selanjutnya adalah menggunakan primer O.Cya F/R. Hasil yang diperoleh adalah pada Gambar 3(a) dan 2 (b) menghasilkan pita yang kurang baik, sehingga dalam proses elektroforesis ini diperlukannya primer gurita yang lebih tepat. Pada Gambar 2(b) kurang tepat dikarenakan panjang bp nya kurang dari 100 bp. Akhirnya dicoba kembali dengan menggunakan primer LCO1490 / HCO2198.



(a) **(b)**

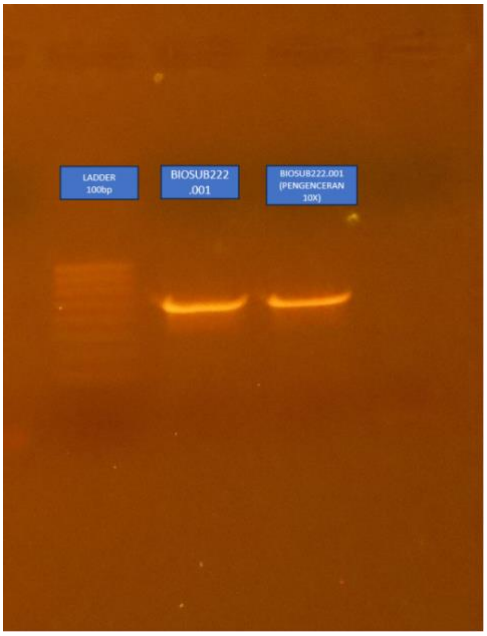
Gambar 3. (a) Hasil Elektroforesis Sample Gurita (BIOSUB222.001) dengan Menggunakan primer Fish F1/R1; (b) Hasil Elektroforesis Sample Gurita (BIOSUB222.001) dengan Menggunakan primer O.Cya F/R

Panjang rata rata urutan nukleotida sampel yang didapatkan adalah 683 bp. Sehingga, isolasi dan ekstraksi DNA dari 5 sampel gurita *(Octopus cyanea)* menghasilkan 2 sampel dengan kualitas DNA yang baik. Data informasi sampel dapat dilihat pada Tabel 2. Kualitas DNA telah dievaluasi melalui pengujian pada agarosa 1,2% (Gambar 4), di mana sampel 1 dan sampel 2 menunjukkan kualitas DNA yang baik, terlihat dari pita DNA yang jelas dan terang. DNA yang berkualitas ini layak digunakan sebagai template untuk amplifikasi gen COI menggunakan teknik PCR. Berdasarkan identifikasi morfologi, spesies yang diamati tergolong dalam famili Octopodidae, genus *Octopus*, dengan spesies *Octopus cyanea*. Penentuan nama spesies dapat dilakukan dengan pasti karena merujuk pada referensi literatur yang ada. Namun, fenomena *cryptic species* pada gurita, yang memiliki variasi morfologi kompleks terutama pada bentuk tentakel, menyebabkan kesulitan dalam penentuan genus *Octopus*.

Tabel 2. Data Informasi Sampel

Field ID	Lab ID	Primer	Elektroporesis (PCR)
Gurita	BIOSUB222.001	Fish F1/R1	Positif
Gurita	BIOSUB222.001	O.Cya F/O.Cya R	Positif
Gurita	BIOSUB223.001	Fish F1/R1	Positif
Gurita	BIOSUB223.001	O.Cya F/O.Cya R	Positif
Gurita	BIOSUB224.001	Fish F1/R1	Positif
Gurita	BIOSUB224.001	O.Cya F/O.Cya R	Positif
Gurita	BIOSUB225.001	Fish F1/R1	Positif
Gurita	BIOSUB225.001	O.Cya F/O.Cya R	Positif
Gurita	BIOSUB226.001	Fish F1/R1	Positif
Gurita	BIOSUB226.001	O.Cya F/O.Cya R	Positif

Klasifikasi spesies gurita berdasarkan karakteristik morfologi dapat memungkinkan terjadinya kesalahan dengan adanya fenomena tersebut. Permasalahan taksonomi tersebut dapat diselesaikan dan diklasifikasikan dengan tepat sesuai dengan morfologi yang terlihat dengan pendekatan molekuler. Telah dilakukan identifikasi molekuler pada *O. cyanea* menggunakan sekuen gen COI, yang kemudian dikonfirmasi kebenaran dan kedekatannya dengan spesies lain melalui pencarian di BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool nucleotide*) di situs NCBI *(National Center for Biotechnology Information)*.



Gambar 4. Hasil Elektroforesis Sample Gurita (BIOSUB222.001) dengan menggunakan primer LCO1490 / HCO2198

Informasi spesies merupakan informasi penting dalam pengelolaan sumberdaya gurita di Perairan Lombok. Menurut Sartimbul *et al.* (2017), informasi spesies diperlukan untuk mengetahui apakah sumberdaya gurita yang akan dieksploitasi berasal dari spesies yang sama atau dari unit manajemen (stok) yang sama. Stok merupakan unit terkecil yang dapat dikelola dan dapat berupa populasi suatu spesies ataupun sub-spesies yang memiliki tingkat percampuran individu yang rendah. Stok harus dapat dipantau dan dikelola secara terpisah (Su *et al.* 2014). Mengingat aplikasi kode batang DNA yang terbatas di bidang cephalopoda, penelitian ini mengevaluasi kemungkinan menggunakannya untuk mengendalikan genus Octopus dan spesies yang paling umum ditemukan di pesisir pantai hasil tangkapan nelayan. Faktanya, filogeni gurita telah menjadi subjek kebingungan dan kontroversi selama beberapa tahun terakhir (Carlini *et al.*, 2001). Genus Octopus adalah yang terbesar dalam famili Octopodidae, karena mengandung lebih dari 200 spesies. Dari jumlah tersebut, 90% dimasukkan hanya ke dalam genus yang disebutkan di atas, karena alasan ini disebut catch-all (Lü *et al.*, 2013). Oleh karena itu, identifikasi secara morfologi dan molekuler dilakukan untuk mengetahui stok gurita yang terdapat di Perairan Lombok.

Lima sampel gurita diisolasi dan dihasilkan 2 sampel DNA yang memiliki kualitas baik sehingga layak dilanjutkan hingga tahap sekuensing. Pengujian kemiripan dan kedekatan dilakukan dengan mengunggah basa nukleotida hasil penelitian pada situs NCBI. Hasil tersebut menunjukkan bahwa spesies yang dimati berbeda dengan gurita spesies lainnya. Dua sampel yang diteliti telah dapat mewakili dalam identifikasi *O.cyanea* secara molekuler. Penggunaan gen COI dalam identifikasi secara molekuler berhasil mengidentifikasi *O.cyanea.* Saat ini penggunaan sekuens DNA untuk identifikasi spesies menjadi perhatian yang menarik dibawah istilah barcoding DNA. Metode ini menjanjikan penetapan sample dari sample yang tidak diketahui menjadi sample yang dikatahui hingga tingkat genus bahkan tingkat spesies. Tentunya gal ini dilakukan untuk menyelidiki studi penemuan yang potensial (Blaxter, 2004). Divergensi sekuens pada COI mitokondria secara teratur memungkinkan diskriminasi spesies yang berkerabat dekat di semua filum hewan kecuali Cnidaria (Hebert *et al.*, 2003). Ketersediaan kode batang DNA menggunakan sekuens COI untuk cephalopoda ditunjukkan oleh Allcock *et al.* (2011) dalam penelitian mereka pada gurita laut dalam. Penelitian tersebut menemukan bahwa nilai rata-rata variasi intraspesifik pada COI pada spesies gurita bentik jauh lebih rendah daripada nilai rata-rata divergensi interspesifik (intraspesifik: 0,02; interspesifik; 0,28), yang juga menunjukkan bahwa COI mitokondria akan menjadi wilayah yang tepat untuk membedakan spesies gurita bentik. Namun, keakuratan kode batang untuk identifikasi

spesies bergantung pada tingkat dan pemisahan antara variasi intraspesies dan divergensi interspesies dalam penanda yang dipilih. Tumpang tindih variasi genetik dalam spesies dan divergensi di antara kekerabatan spesies membuat kode batang kurang efektif (Meyer & Paulay 2005).

KESIMPULAN DAN SARAN

Spesies gurita yang ditangkap di Perairan Lombok diidentifikasi secara morfologi dan molekuler sebagai *Octopus cyanea.* Selain itu, sekuen basa nukleotida tersebut dapat digunakan untuk merancang primer gen COI spesifik untuk *O. cyanea*

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan atas pendanaan dari penelitian PNBP tahun 2024. Kepada tim penelitian dan kepada nelayan serta pihak yang berpartsipasi berkontribusi atas kegiatan penelitian ini kami ucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

Allcock, A. L., I. Baratt, M. Eléaume, K. Linse, M. D. Norman, P. J. Smith, D. Steinke, D. W. Stevens & J. M. Strugnell. (2011). Cryptic speciation and the circumpolarity debate: a case study on endemic Southern Ocean octopuses using the COI barcode of life. Deep-Sea Research II. *Tropical Studies in Oceangrophy*, 58(5): 242-249.

Avise JC, Arnold J, Ball AM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, & Saunders NC. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridges I between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:489-522.

Balansada, A. R., Ompi, M., & Lumoindong, F. (2019). Identifikasi Dan Habitat Gurita (Cephalopoda) Dari Perairan Salibabu, Kabupaten Kepulauan Talaud. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 7(3), 247. https://doi.org/10.35800/jplt.7.3.2019.24742.

Blaxter, M.L. (2004). The promise of a DNA taxonomy. Philosophical Transactions of The Royal Society, *B - Biological Sciences*, 359:669-697.

Boyle PR, dan Rodhouse P (2005) *Cephalopods: ecology and fisheries*. Blackwell, London

Cuccu, D., Mereu, M., Porcu, C., Follesa, M. C., Cau, A. L., & Cau, A. (2013). Development of sexual organs and fecundity in Octopus vulgaris Cuvier, 1797 from the Sardinian waters (Mediterranean Sea). *Mediterranean Marine Science*, 14(2), 270–277. https://doi.org/10.12681/MMS.412.

Hajibabaei M, Singer GAC, Hebert PDN, & Hickey DA. (2007). DNA barcoding:how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *TRENDS in Genetics*. 23(4):167-172.

Hebert P.D.N., Ratnasingham S, & De Waard JR. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc R Soc.* 270:96–99.

Lee, J.M., Song, H.J., Park, S.I., Lee, Y,M., Jeong, S.Y., Nelson, W.A., Frederick, S., Bhattacharya, D., & Yoon, H.S. (2018). Mitochondrial and Plastid Genomes from Coralline Red Algae Provide Insights into the Incongruent Evolutionary Histories of Organelles. *Genome Biology and Evolution,* 10(11). 2961–2972, https://doi.org/10.1093/gbe/evy222

Longenecker, K., Pauahi, B., Museum, B., Langston, R., & Franklin, E. C. (2020). *Standard operating procedure for histology-based rapid reproductive analysis of tropical fishes*. University of Hawai'i at Mānoa. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.32587.21288/2

Lowe, A. J., Boshier, D. Ward, M., Bacles,C.FE., & Navarro C. (2005). Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity*. 95. 255–273.

Lü ZM, Cui WT, Liu LQ, Li HM, & Wu CW. (2013). Phylogenetic relationships among Octopodidae species in coastal waters of China inferred from two mitochondrial DNA gene sequences. *Genet Mol Res.* 12 : 3755-65.

Manko, P. (2016). Stomach content analysis in freshwater fish feeding ecology (Issue January).

McGaraghan, A. (2016). *Plankton Identification. Kudela* Lab Biological Oceanography.

Meyer, C & Paulay, G. (2005). DNA Barcoding error Rates Based On Comprehensive Sampling. *PLoS Biology*, 3 : 2229-2238.

Mulyani, L.F., Cokrowati, N., Asri, Y., Sumsanto, M. (2024). Identifikasi Morfologi dan Morfometrik Pada Octopus cyanea Yang DitangkapDi Perairan Lombok Timur. Jurnal Airaha, 13(1) : 070-077.

Nesis, K.N. (1998) Biodiversity and systematics in cephalopods: unresolved problems require an integrated approach. *S Afr J Marine Sci.* 20(1) : 165–173.

Norman M.D & Sweeney M.J. (1997). The shallow-water octopuses (Cephalopoda: Octopodidae) of the Philippines. *Invertebr Taxon.* 11(1) : 89–140.

Omar, S. B. A., Wahyuddin, N., Apriani, A. Y., Junedi, E. A., Tresnati, J., Parawansa, B. S., & Inaku, D. F. (2020). Biologi Reproduksi Gurita, Octopus cyanea Gray, 1948 di Perairan Selat Makassar dan Teluk Bone. *Prosiding Simposium Nasional VII Kelautan Dan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan, Universitas Hasanuddin*, Makassar 5 Juni 2020, 131–144.

Roper CFE, Hochberg FG (1998) Behavior and systematics of cephalopods from Lizard Island, Australia, based on color and body patterns. *Malacol.* 29(1) : 153–194.

Sartimbul A, Iranawati F, Sambah AB, Yona D, Hidayati N, Harlyan LI, Fuad MAZ, Sari SHJ. (2017). *Pengelolaan Sumberdaya Perikanan Pelagis Di Indonesia*. Batamia DA, editor. Malang (ID): UB Pr.

Solihin D.D. (1994). Peran DNA mitokondria (mtDNA) dalam studi keragaman genetik dan biologi populasi pada hewan. *Hayati.* 1(1) : 1-4. Tudge C. 2000. The Variety Of Life. New York (US): Oxford University Press.

Su Y, Hung JH, Kubo H, & Liu LL. (2014). Tridacna noae (Röding, 1798) – a valid giant clam species separated from T. maxima (Röding, 1798) by morphological and genetic data. *Raffles Bulletin Of Zoology.* 62 : 124–135.

Voight JR (1994) Morphological variation in shallow-water octopuses (Mollusca, Cephalopoda). *J Zool.* 232 : 491–504

WoRMS. (2020). World Register of Marine Species. Vliz, June 2008, Accessed 2020-21-5. https://doi.org/10.14284/170

Zacharia, P. U. (2014). Trophic levels and methods for stomach content analysis of fishes Diversity and exploitation status of Crustacean Fishery Resources in India. *ICAR- Central Marine Fisheries Research Institute.* 278–288.