

I. PENDAHULUAN

1. 1 Latar Belakang

Belakangan ini, isu terkait identifikasi spesies dalam ikan dan produk perikanan menjadi perhatian yang semakin serius (Ceruso et al., 2020). Menurut laporan Oceana tahun 2015, lembaga ini meneliti lebih dari 25.000 sampel makanan laut di berbagai negara. Hasilnya menunjukkan bahwa sekitar 20% dari total sampel tersebut salah diberi label, atau setara dengan kira-kira 5.000 kasus mislabeling. Kasus pelabelan yang keliru ini paling sering ditemukan pada ikan kakap (87%) dan tuna (59%), yang kerap diganti dengan spesies lain yang lebih murah dan berkualitas rendah. Bahkan, di Santa Monica, California, pernah terungkap kasus dua koki sushi yang menjual daging ikan paus kepada pelanggan dengan menyebutnya sebagai tuna berlemak. Temuan tersebut menunjukkan bahwa praktik kecurangan pada produk perikanan merupakan persoalan global yang tidak hanya merugikan konsumen, tetapi juga mengancam keberlanjutan sumber daya laut.

Salah satu komoditas yang paling rentan terhadap praktik pemalsuan adalah ikan tuna mengingat tingginya permintaan global dan nilai ekonominya (Krcmar et al., 2019) dan memiliki tingkat konsumsi yang tinggi. Akan tetapi, karena tuna sering dipasarkan dalam bentuk potongan yang dikemas vakum atau sebagai produk kalengan, karakteristik morfologisnya menjadi sulit dikenali, sehingga proses identifikasi spesies secara tepat menjadi cukup sulit (Xu et al., 2022). Di samping itu, setiap spesies tuna memiliki kualitas dan harga yang berbeda-beda. Situasi ini membuka peluang terjadinya praktik penipuan melalui substitusi dengan spesies yang harganya lebih murah (contohnya, *Katsuwonus pelamis*) (Ceruso et al., 2020).

Di Provinsi Sumatera Barat, data Badan Pusat Statistik Provinsi tahun 2022 produksi perikanan tangkap di laut ikan cakalang di Kota Padang mencapai 4.813 ton, berkontribusi lebih

dari sepertiga dari total produksi ikan cakalang provinsi yang mencapai 12.312 ton. Sementara itu, produksi perikanan tangkap laut komoditas ikan tuna di Kota Padang tercatat sebanyak 1.448 ton, dari total produksi provinsi yang mencapai 5.251 ton. Hal ini menunjukkan bahwa Kota Padang merupakan sentra utama produksi kedua komoditas perikanan tersebut di Sumatera Barat. Mengingat tingginya volume produksi dan potensi keberagaman spesies, diperlukan metode analisis yang efektif untuk memastikan identitas spesies tuna secara akurat, terutama guna mencegah praktik pemalsuan dan mendukung pengelolaan sumber daya perikanan yang berkelanjutan.

Dalam hal ini, metode autentikasi memainkan peran penting, terutama dengan memanfaatkan analisis berbasis protein dan DNA. Metode analisis berbasis protein untuk identifikasi spesies terbatas karena kecenderungan protein untuk terdenaturasi selama perlakuan panas dan tekanan tinggi. Sebaliknya, metode berbasis DNA, yang menyimpan informasi genetik dalam nukleotidanya, lebih stabil dan tetap utuh meski melalui pemrosesan, sehingga lebih andal untuk autentikasi. Penelitian oleh Wulansari et al., (2015) membandingkan metode SDS-PAGE (Protein) dan DNA *barcoding* untuk menguji keaslian ikan tuna. SDS-PAGE menunjukkan kerusakan protein pada olahan tuna, sehingga kurang tepat untuk identifikasi. Sebaliknya, metode DNA melalui elektroforesis PCR berhasil mengidentifikasi steak tuna dan tuna kaleng sebagai *T. albacares*, sesuai dengan label produk.

Keberhasilan deteksi DNA dalam autentikasi produk olahan sangat bergantung pada penggunaan primer, yaitu sepasang urutan pendek basa nukleotida yang secara spesifik dirancang untuk menempel pada daerah tertentu dari DNA target. Primer ini berfungsi untuk memulai proses replikasi DNA dalam reaksi rantai *polimerase* (PCR), sehingga memungkinkan amplifikasi fragmen DNA spesifik dari spesies yang ingin diidentifikasi. Pemilihan gen target, seperti *Sitokrom C Oksidase Subunit I (COI)* dan

Cytochrome b (*cyt b*), menjadi salah satu faktor penting dalam menentukan keberhasilan autentikasi. Penelitian oleh Rifqi Nanda Pratama, (2017) menggunakan gen *COI* dengan metode DNA barcoding untuk mengidentifikasi ikan riu (*Pangasius macronema*) dan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*), dengan kekerabatan genetik masing-masing 95% dengan *P. macronema* Vietnam dan 100% dengan *P. hypophthalmus* dari Afrika dan Thailand. Dedi Suseno, (2023) menggunakan primer berbasis gen *cyt b* untuk mendeteksi DNA ikan sapu-sapu (*Pterygoplichthys pardalis*) pada siomai, dengan 10 dari 28 sampel menunjukkan pita DNA berukuran 496 pb. Hasil sequencing mengidentifikasi 9 sampel mengandung DNA ikan sapu-sapu dan 1 sampel DNA ikan gurame (*Osphronemus goramy*), mengungkap potensi penggunaan bahan baku yang tidak sesuai.

Multiplex PCR merupakan salah satu varian dari teknik PCR yang memungkinkan amplifikasi dua atau lebih fragmen DNA target secara bersamaan dalam satu reaksi menggunakan beberapa pasang primer. Metode ini terbukti efisien karena mampu menghemat waktu dan sumber daya laboratorium tanpa mengurangi keakuratan hasil uji. Efektivitas teknik ini ditunjukkan dalam penelitian oleh Lee et al., (2022) menggunakan *multiplex* PCR dengan lima set primer untuk mengidentifikasi lima spesies tuna secara simultan, menunjukkan akurasi tinggi dalam mendeteksi spesies pada produk tuna komersial. Untuk mengidentifikasi spesies secara tepat menggunakan metode PCR, diperlukan primer yang spesifik terhadap masing-masing DNA target.

Proses perancangan primer dimulai dengan pemilihan gen target yang sesuai (seperti *COI* atau *cyt b*), dilanjutkan dengan pengambilan sekuens DNA spesies dari basis data seperti *GenBank*, dan kemudian didesain menggunakan perangkat lunak bioinformatika seperti Primer3Plus. Setelah desain selesai, primer yang diperoleh harus divalidasi melalui uji *in silico* untuk

memastikan spesifisitasnya terhadap DNA target serta tidak menghasilkan amplifikasi silang dengan spesies non-target. Tahapan ini krusial agar teknik PCR dapat memberikan hasil identifikasi yang akurat dan dapat diandalkan, terutama saat mendeteksi keberadaan lebih dari satu spesies ikan dalam satu produk olahan.

Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk merancang primer spesifik dan menguji efektivitasnya melalui metode *multiplex* PCR (mpcr) untuk mendeteksi campuran spesies ikan dalam produk olahan ikan. Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan teknologi autentikasi yang ada dengan mengoptimalkan desain primer yang digunakan, memungkinkan deteksi yang lebih efisien dan akurat dalam mengidentifikasi berbagai spesies ikan. Peningkatan ini diharapkan dapat memberikan solusi yang lebih baik dalam mendukung pengawasan pangan serta meningkatkan kepercayaan konsumen terhadap keaslian produk yang beredar di pasar.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Merancang primer spesifik pada ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*) untuk autentikasi campuran spesies ikan.
2. Memverifikasi efektivitas primer yang telah dirancang menggunakan metode *multiplex* PCR untuk identifikasi spesies ikan cakalang dalam produk olahan.

1.3 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan solusi yang efisien dan akurat dalam autentikasi produk olahan ikan melalui pengembangan primer spesifik dan penerapan *multiplex* PCR. Hasil penelitian ini juga berpotensi mendukung pengawasan keamanan pangan serta meningkatkan kepercayaan konsumen terhadap keaslian produk yang beredar di pasar.