

Perbandingan Sekuens Gen CYB untuk Identifikasi Spesies Ikan Tuna

(Comparison of CYB Gene Sequence for Species Identification of Tuna Fish)

Beivy Jonathan Kolondam

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

email: beivy.kolondam@unsrat.ac.id

Abstract

DNA barcoding is a reliable tool for species identification, especially for authentication of processed fish products. In the process of authentication of tuna fish products, this tool is needed due to its small sample requirement for species identification. This research aimed to conduct an assessment for the use of the Cytochrome B (CYB) gene sequence for tuna fish identification through DNA barcoding. The same set of mitochondrial DNA genomes were used for the previous COI gene for in silico comparison of tuna fish species. Group comparison of the CYB gene between Bluefin tuna (five species), Yellowfin tuna (three species), and other groups of tuna (five species) showed that this gene is reliable to differentiate all of the specimens of each species. The result displayed by the multiple sequence alignment indicated enough resolution for accurate identification. The problem in the differentiation of *Thunnus orientalis* dan *T. thynnus* by the COI gene in the previous study was finally resolved by the CYB gene. From 1141 bp of nucleotides compared in all specimens, there were 248 differentiation sites. All of the members of *Thunnus* were differentiated for other genera (*Auxis*, *Euthynnus*, and *Katsuwonus*) in 40 differentiation sites.

Keywords: DNA barcoding; CYB gene; tuna fish

Abstrak

DNA barcoding merupakan perangkat yang dapat diandalkan untuk identifikasi spesies ikan, terutama untuk kepentingan autentifikasi produk-produk olahan hasil perikanan. Dalam proses autentifikasi produk hasil olahan ikan tuna memerlukan metode ini karena hanya membutuhkan sampel yang sangat sedikit untuk identifikasi spesies. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan asesmen terhadap penggunaan sekuens gen sitokrom B (CYB) untuk identifikasi ikan tuna lewat DNA barcoding. Genom DNA mitokondria yang sama dengan penelitian gen COI sebelumnya digunakan untuk perbandingan secara *in silico* spesies-spesies ikan tuna. Perbandingan sekuens gen CYB pada kelompok ikan tuna Bluefin (lima spesies), kelompok ikan tuna Yellowfin (tiga spesies), dan kelompok ikan tuna jenis lain (lima spesies) menunjukkan bahwa gen ini mampu membedakan semua spesies yang dibandingkan. Hasil yang digambarkan dari penjabaran sekuens menunjukkan resolusi yang cukup untuk identifikasi secara akurat. Spesies *Thunnus orientalis* dan *T. thynnus* yang memiliki variasi sekuens yang identik di gen COI berdasarkan penelitian sebelumnya ternyata bisa dibedakan melalui gen CYB ini. Dari 1.141 bp nukleotida yang dibandingkan, terdapat 248 titik perbedaan. Semua anggota dari genus *Thunnus* berbeda dengan spesimen dari genus-genus lainnya (*Auxis*, *Euthynnus*, dan *Katsuwonus*) di 40 titik nukleotida.

Kata kunci: DNA barcoding; gen CYB; ikan tuna

PENDAHULUAN

Dalam peningkatan perdagangan dan pengolahan makanan dari laut telah meningkatkan potensi penipuan produk-produk makanan olahan dari ikan tuna.

Salah satu bentuk penipuan ini adalah substitusi spesies, di mana makanan laut diberikan label yang tidak benar (mislabeling) dengan tujuan meningkatkan keuntungan. Untuk mendeteksi dan mencegah substitusi spesies di pasar

komersil, beberapa metode telah dikembangkan berdasarkan profil protein dan profil asam deoksiribonukleat (DNA) dari spesies-spesies yang berbeda (Hellberg dan Morrissey, 2011). Sekarang ini, metode DNA barcoding merupakan perangkat molekuler yang penting untuk kepentingan autentifikasi spesies ikan tuna dan produk-produk hasil perikanan lainnya (Heber *et al.*, 2003; Rasmussen dan Morrissey, 2008).

Dengan adanya produk-produk hasil olahan dari ikan yang diberikan label tidak sesuai dengan bahan ikan yang digunakan, kebutuhan DNA barcoding menjadi signifikan (Xiong *et al.*, 2019). Untuk proses identifikasi spesies ikan digunakan fitur-fitur morfologi, tetapi hal ini membutuhkan sumber daya manusia yang sudah dalam taraf ahli. Pada masa sekarang, pendekatan morfologi sulit dipergunakan dalam proses identifikasi untuk kepentingan autentifikasi untuk produk yang sudah berbentuk filet dan ikan yang dikalengkan (Bottero *et al.*, 2007). Meskipun demikian, konsumen memiliki hak untuk diinformasikan identitas dari barang yang dibeli, baik ikan tuna mentah maupun ikan tuna 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 spesimen 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 yang memanfaatkan DNA barcoding untuk identifikasi spesies ikan tuna di Indonesia telah mulai dilakukan. Publikasi Nurilmala *et al.* (2016) dan Wulansari *et al.* (2015) menggambarkan penggunaan gen sitokrom B (CYB) untuk autentifikasi produk ikan tuna. Kolondam (2020) juga telah mencoba melakukan asesmen terhadap gen COI atau Cox1 yang menjadi gen standar DNA barcoding untuk hewan, tetapi hasilnya kurang memuaskan mengingat ada spesies berbeda yang memiliki urutan DNA yang sama (identik).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan asesmen penggunaan gen CYB untuk identifikasi ikan tuna lewat DNA barcoding. Genom DNA mitokondria yang sama dengan penelitian Kolondam (2020) dipergunakan untuk perbandingan secara *in silico* spesies-spesies ikan tuna.

METODE PENELITIAN

Koleksi DNA Mitokondria Spesimen Ikan Tuna

Penelitian ini diselesaikan sepenuhnya secara *in silico* menggunakan komputer dengan sistem operasi Windows 10 (64 bit). Pengumpulan data untuk penelitian diawali dengan mengumpulkan informasi sekuens ikan tuna pada tanggal 17 Agustus 2020 dari website GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information) Amerika Serikat yang diakses secara daring (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan aplikasi Google Chrome v83. Urutan sekuens gen CYB spesimen ikan tuna yang dikaji dalam penelitian ini diambil langsung dari genom mitokondria. Untuk informasi detail semua sekuens yang digunakan dalam analisis telah dicantumkan dalam Tabel 1.

Informasi Tabel 1 mencakup 13 spesimen spesies ikan tuna yang berbeda beserta nomor aksesinya dalam GenBank. Penelusuran informasi ini bisa dilakukan dengan memasukkan keterangan nomor aksesinya yang tercantum, karena setiap nomor bersifat unik untuk setiap data sekuens DNA. Semua spesies ikan tuna ini dibagi dalam tiga kelompok, yaitu kelompok tuna Bluefin, kelompok tuna Yellowfin, kelompok tuna jenis lain. Spesies *Euthynnus lineatus* dan *Allothunnus fallai* tidak disertakan dalam analisis penelitian ini karena belum ada informasi gen CYB utuh dalam genom DNA mitokondria yang terdata dalam GenBank NCBI. Untuk mempermudah perbandingan dengan hasil penelitian Kolondam (2020) yang meneliti sekuens gen COI ikan tuna, penelitian ini menggunakan genom mitokondria yang sama (tetapi dengan gen yang berbeda, yaitu gen CYB) untuk memperoleh

perbandingan hasil analisis yang berimbang dari satu sumber data individu.

Pemisahan Gen CYB dari Genom DNA Mitokondria

Ukuran DNA mitokondria yang diperoleh dari GenBank masing-masing memiliki panjang 16,5 kbp. Dari tiap spesimen dipisahkan gen CYB dari gen-gen

lain, juga dari bagian yang tidak mengkode protein (non-coding region). Lokus masing-masing gen ditentukan temukan dari keterangan nama gen, region gen (berupa nomor) dalam genomnya, beserta CDS (Coding Sequence) urutan asam amino yang dikode oleh gen tersebut. Gen CYB utuh berukuran 1.141 bp pada semua spesimen.

Tabel 1. Urutan DNA Mitokondria Spesies Ikan Tuna dari GenBank untuk Analisis

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

¹) Kelompok Tuna Bluefin; ²) Kelompok Tuna Yellowfin; ³)Kelompok Tuna Jenis Lain

Penjajaran Sekuens Gen CYB

Algoritma untuk penjajaran sekuens (sequence alignment) dalam penelitian ini digunakan algoritma MUSCLE (Edgar, 2004) yang sudah terintegrasi dalam piranti lunak Geneious v5.6. (Kearse *et al.*, 2012). Penjajaran sekuens digunakan untuk menunjukkan perbedaan di tiap titik nukleotida pada urutan yang sama untuk semua spesimen dalam penelitian ini. Persentase kesamaan disajikan piranti lunak Geneious yang dihitung dari hasil penjajaran sekuens sebelumnya. Konsensus juga ditampilkan masing-masing dengan menggunakan notasi nukleotida baku dari variasi pada titik-titik yang terdapat perbedaan nukleotida.

HASIL DAN PEMBAHASAN

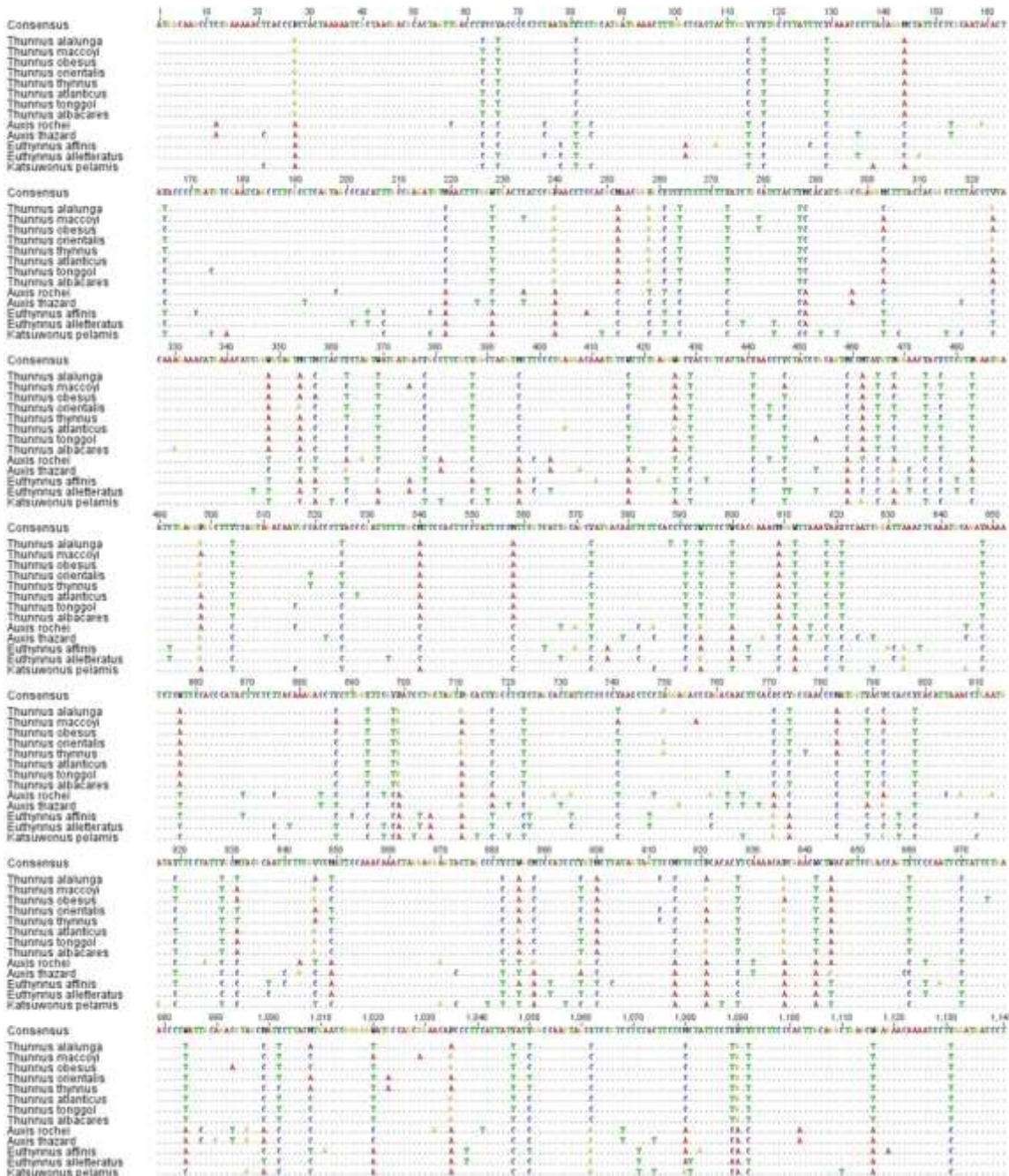
Gen Sitokrom B (CYB) memiliki variasi yang secara umum mampu membedakan spesies-spesies hewan, khususnya spesies ikan. Gambar 1 menampilkan bahwa sepanjang 1.141 bp urutan nukleotida gen CYB dari 13 spesies yang dibandingkan, terdapat 248

nukleotida titik perbedaan. Jumlah yang sama persis terdeteksi dari variasi dalam gen COI penelitian sebelumnya (Kolondam, 2020). Perbedaannya yaitu gen COI yang dibandingkan tersebut panjangnya 1.551 bp. Adanya variasi ini sebagian besar terjadi akibat perbedaan antara anggota dari genus *Thunnus* (kelompok tuna Bluefin dan Yellowfin) secara umum dengan kelompok genus lain (genus *Auxis*, *Euthynnus*, dan *Katsuwonus*).

Semua anggota genus *Thunnus* berbeda dengan spesimen yang lain di 40 titik nukleotida. Variasi tersebut berada pada posisi nukleotida nomor 27, 81, 114, 117, 219, 240, 252, 258, 264, 273, 287, 348, 387, 396, 459, 462, 465, 558, 591, 594, 612, 648, 693, 698, 699, 771, 882, 888, 900, 915, 492, 460, 984, 1.047, 1.062, 1.080, 1.089, 1.090, 1.116, dan 1.131 (Gambar 1). Berdasarkan Dooley *et al.* (2005), semua variasi ini berpotensi untuk dikembangkan identifikasi spesies secara cepat melalui metode PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction – Restriction

Fragment Length Polymorphism). Metode ini melibatkan amplifikasi DNA untuk gen target yaitu gen CYB dan kemudian dipotong menggunakan enzim-enzim

restriksi endonuklease pilihan yang telah diketahui dapat memotong bagian gen secara spesifik pada posisi tertentu untuk suatu spesies.



Gambar 1. Penjajaran (alignment) sekuens gen CYB spesies ikan tuna

Pada gambar yang sama, variasi nukleotida unik yang bisa mencirikan kelompok, yang bisa membedakan secara antara anggota kelompok Bluefin dengan anggota kelompok Yellowfin maupun

kelompok ikan tuna jenis lain ini tidak ditemukan. Pada posisi nukleotida nomor 831 menjadi unik karena di posisi ini terdapat keseragaman dari kelompok tuna jenis lain yang memiliki nukleotida Sitosin

(C) sedangkan yang lainnya bervariasi antara Adenin (A) atau Timin (T).

Di lain sisi, *Katsuwonus pelamis* memiliki banyak kesamaan (12 titik) dengan genus *Thunnus* saat anggota tuna jenis lain berbeda. Posisi-posisi nukleotida tersebut berada pada nomor 144, 288, 429, 474, 504, 540, 600, 621, 717, 723, 828, dan 927. Ini merupakan yang terbanyak dibandingkan dengan spesies yang lain. *Euthynnus affinis* sama dengan semua genus *Thunnus* di dua titik (483 dan 999). *Auxis thazard* sama dengan genus *Thunnus* di empat titik (228, 261, 798, dan 970). *Auxis rochei* sama di tiga titik (369, 609, dan 945). *Euthynnus alletteratus* sama di tiga titik (378, 441, dan 1.092). Genus *Euthynnus* (dua spesies) sama dengan genus *Thunnus* di titik nomor 354. Genus *Auxis* (dua spesies) sama dengan genus *Thunnus* di tiga titik (633, 705, dan 1.071). Semua anggota kelompok tuna jenis lain (genus *Auxis*, *Euthynnus*, dan *Katsuwonus*) seragam di posisi nukleotida nomor 831, sedangkan di genus *Thunnus* terdapat variasi. Semua titik-titik perbedaan ini merupakan kunci untuk kajian variasi secara umum, sekaligus menjadi pusat perhatian untuk perancangan metode PCR-RFLP untuk identifikasi cepat semua

spesies ikan yang dipelajari dalam penelitian ini.

Untuk proses identifikasi, atau dalam penerapannya sebagai perangkat autentifikasi, gen CYB harus bisa mendiferensiasi semua spesies ikan tuna. Tingkat kesamaan sekuens gen CYB telah dibandingkan dalam Tabel 2. Tabel ini menyatakan dalam persentase bahwa semua spesimen yang digunakan dalam penelitian ini berbeda satu sama lain. Tingkat kesamaan antara sesama spesies tuna bluefin berkisar antara 96,5 sampai 99,6%. Tingkat kesamaan antara sesama spesies tuna Yellowfin berkisar 98,8% sampai 99,3%. Tingkat kesamaan antara sesama spesies tuna jenis lain berkisar 89,6% sampai 94,6%.

Semua hasil di atas menggambarkan kemampuan sekuens gen CYB yang bisa membedakan semua spesimen dari 13 spesies ikan tuna. Hasil ini bahkan lebih baik dari perbandingan gen COI dari studi pendahulunya yang tidak mampu membedakan *Thunnus orientalis* dan *T. thynnus*. Ini menandakan bahwa gen CYB lebih bisa diandalkan untuk kegiatan DNA barcoding atau autentifikasi produk ikan tuna, sementara gen COI yang menjadi standar untuk DNA barcoding tidak menyamai kemampuan ini.

Tabel 2. Kesamaan Sekuens Gen CYB dari 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. maccoyi</i>	96,8	100											
3	<i>T. obesus</i>	97,3	98,4	100										
4	<i>T. orientalis</i>	99,5	96,5	96,9	100									
5	<i>T. thynnus</i>	99,5	96,5	96,9	99,6	100								
6	<i>T. atlanticus</i>	96,9	98,4	98,8	96,6	96,6	100							
7	<i>T. tonggol</i>	97,3	98,1	98,6	96,9	96,9	98,8	100						
8	<i>T. albacares</i>	97,5	98,9	99,1	97,1	97,1	99,3	98,9	100					
9	<i>Auxis rochei</i>	87,6	87,7	87,9	87,6	87,6	88,2	88,5	88,1	100				
10	<i>A. thazard</i>	88,0	87,7	88,3	87,8	87,8	88,2	88,4	88,1	93,2	100			
11	<i>Euthynnus affinis</i>	88,0	87,5	88,1	87,8	87,8	87,9	87,7	88,0	90,0	89,6	100		
12	<i>E. alletteratus</i>	88,2	88,3	88,4	88,0	88,0	88,4	88,6	88,6	91,0	90,2	94,6	100	
13	<i>Katsuwonus pelamis</i>	88,9	8,8	89,0	88,6	88,7	89,1	89,5	89,2	90,3	90,4	90,3	91,4	100

*) Sesuai spesimen dan nomor aksesori pada Gambar 1.

KESIMPULAN

Sekuens gen CYB pada kelompok ikan tuna Bluefin (lima spesies), kelompok ikan tuna Yellowfin (tiga spesies), dan kelompok ikan tuna jenis lain (lima spesies) dapat membedakan semua spesimen dari 13 spesies yang dibandingkan. Ini membuat gen CYB lebih baik dari gen COI, jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Gen CYB memiliki variasi unik pada 40 posisi nukleotida yang bisa digunakan untuk membedakan genus *Thunnus* dengan genus yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Aranishi, F., T. Okimoto, dan S. Izumi. (2005) Identification of Gadoid Species (Pisces, Gadidae) by PCR-RFLP Analysis. *Journal of Applied Genetics* 46(1): 69–73.
- Bottero, M. T., A. Dalmaso, M. Cappelletti, C. Secchi, dan T. Civera (2007) Differentiation of Five Tuna Species by a Multiplex Primer-extension Assay. *JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 129(3), 575–580.
- Catanese, G., C. Infante, dan M. Manchado (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., Y. Li, H. Yu, S. Peng, S. Sun, L. Wang, X. Meng, Y. Huang dan X. Kong (2014) *Thunnus orientalis* Mitochondrion, Complete Genome <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KF906721.1> [diakses 27 Februari 2020]
- Dooley, J.J., H.D. Sage, M.L. Clarke, H.M. Brown, dan S.D. Garrett (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., T. Barbălată, G. Popa, S. Georgescu, dan M. Costache (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., A. Cywinska, S.L. Ball dan J.R. de Waard (2003) Biological Identifications through DNA Barcodes. *PROCEEDINGS OF ROYAL SOCIETY B BIOLOGICAL SCIENCES*, 270(1512), 313–321.
- Hellberg, R.S.R., dan M.T. Morrissey (2011) Advances in DNA-Based Techniques for the Detection of Seafood Species Substitution on the Commercial Market. *JALA: JOURNAL OF THE ASSOCIATION FOR LABORATORY AUTOMATION*, 16(4), 308-321.
- Infante, C., G. Catanese dan M. Manchado (2006) *Euthynnus alletteratus* Mitochondrion, Complete Genome. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_004530.1 [diakses 27 Februari 2020]
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Meintjes, and A. Drummond (2012) Geneious Basic: An Integrated and Extendable Desktop Software Platform for the Organization and Analysis of Sequence Data. *BIOINFORMATICS*, 28(12), 1647-1649.
- Kolondam, B.J. (2020) Variasi Sekuens Gen COI untuk DNA Barcoding Ikan Tuna. *MEDIA TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN*, 8(2), 70-75.
- Li, M., L. Guo, H. Zhang, S. Yang, X. Chen, Z. Meng, dan H. Lin (2014a). *Auxis rochei* Mitochondrion, Complete

- Genome.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KM651784.1> [diakses 27 Februari 2020]
- Li, M., L. Guo, H. Zhang, S. Yang, X. Chen, Z. Meng dan H. Lin (2014b) *Euthynnus affinis* Mitochondrion, Complete Genome. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_025934.1 [diakses 27 Februari 2020].
- Li, Y., C. Chen, H. Yu, S. Peng, S. Sun, L. Wang, X. Meng, Y. Huang dan X. Kong (2016) The Complete Mitochondrial Genome of the Southern Bluefin tuna *Thunnus maccoyii*. *MITOCHONDRIAL DNA*, 27(6), 3921-3922.
- Manchado, M., G. Catanese, A. Crespo dan C. Infante (2016) *Thunnus alalunga* Mitochondrial DNA, Complete Genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AB101291.1> [diakses 27 Februari 2020].
- Márquez, E.J., J.P. Isaza and J.F. Alzate (2016) Mitochondrial Genome of the Blackfin Tuna *Thunnus atlanticus* Lesson, 1831 (Perciformes, Scrombidae). *MITOCHONDRIAL DNA*, 27(3), 1771-1772.
- Martinez-Ibarra, C., S. Ishizaki dan Y. Nagashima (2016a) *Thunnus obesus* Mitochondrion, Complete Genome. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/GU256525.1> [diakses 27 Februari 2020].
- Martinez-Ibarra, C., S. Ishizaki dan Y. Nagashima (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., S. Ishizaki dan Y. Nagashima (2013) *Thunnus tonggol* Mitochondrion, Complete Genome. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_020673.1 [diakses 27 Februari 2020].
- Martinez-Ibarra, C., S. Ishizaki, S. dan Y. Nagashima (2010) *Thunnus albacares* Mitochondrion, Complete Genome. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_014061.1 [diakses 27 Februari 2020].
- Nurilmala, M., U. Widyastuti, W.A. Kusuma, Nurjanah, N. Wulansari, Y. Widyatuti. 2016. DNA Barcoding for Identification of Processed Tuna Fish in Indonesian Market. *JURNAL TEKNOLOGI*, 78(4), 115–118
- Rasmussen, R.S., dan 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., M. Miya, K. Mabuchi dan M. Nishida (2016) Structure and Variation of the Mitochondrial Genome of Fishes. *BMC GENOMICS*, 17(1), 719.
- Wulansari, N., M. Nurilmala 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., F. Yuan, M. Huang, L. Lu, X. Xiong, J. Wen (2019) DNA Barcoding Revealed Mislabeling and Potential Health Concerns with Roasted Fish Products Sold across China. *JOURNAL OF FOOD PROTECTION*, 82 (7), 1200-1209.