IDENTIFIKASI SPESIES IKAN PADA PRODUK BAKSO IKAN CURAH YANG BEREDAR DI KOTA PONTIANAK MENGGUNAKAN *MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

SKRIPSI

OLEH :

RAHMI SEPTIANI

NIM. I1021221057

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

IDENTIFIKASI SPESIES IKAN PADA PRODUK BAKSO IKAN CURAH YANG BEREDAR DI KOTA PONTIANAK MENGGUNAKAN *MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak

OLEH :

RAHMI SEPTIANI

NIM. I1021221057

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

SKRIPSI

IDENTIFIKASI SPESIES IKAN PADA PRODUK BAKSO IKAN CURAH YANG BEREDAR DI KOTA PONTIANAK MENGGUNAKAN *MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

OLEH:

RAHMI SEPTIANI

NIM. I1021221057

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal: 12 Maret 2026

Disetujui,

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Iswahyudi, Sp. FRS., PhD, Apt.	**Indri Kusharyanti, M.Sc., Apt.**
NIP. 196912151997031011	**NIP. 198303112006042001**
Penguji Utama,	**Penguji Pendamping,**
Dr. Sri Wahdaningsih, M.Sc., Apt.	**Dr. Hariyanto IH, M.Si., Apt.**
NIP. 198111012008012011	**NIP. 198501062009121009**

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

dr. Ita Armyanti, M.Pd., Ked
NIP. 198110042008012011

Lulus Tanggal : 12 Maret 2026
No. SK Dekan FK : 2974/DST/UN22.9/DT.00.10/2026
Tanggal SK : 8 Juni 2026

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rahmi Septiani

NIM : I1021221057

Jurusan/Prodi : Farmasi

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, saya bersedia menerima sangsi atas perbuatan tersebut.

Pontianak, 27 Februari 2026

Yang Membuat Pernyataan,



Rahmi Septiani

NIM.I1021221057

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, berkat, serta karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul "Identifikasi Spesies Ikan pada Produk Bakso Ikan Curah yang Beredar di Kota Pontianak Menggunakan *Multiplex Polymerase Chain Reaction* (PCR)" ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program Sarjana Farmasi (S.Farm) di Universitas Tanjungpura Pontianak Tahun Ajaran 2025/2026.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan, arahan, dan dukungan dari berbagai pihak terkait. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu dr. Ita Armyanti, M.Pd., Ked. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
2. Bapak Dr. Bambang Wijianto, M.Sc., Apt. selaku Kepala Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
3. Ibu Nera Umilia Purwanti, M.Sc, Apt. selaku Koordinator Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
4. Bapak Iswahyudi, Sp. FRS., PhD, Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran, motivasi, petunjuk, dan arahan kepada penulis dalam kegiatan penyusunan laporan tugas akhir ini.
5. Ibu Indri Kusharyanti, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran, motivasi, petunjuk, dan arahan kepada penulis dalam kegiatan penyusunan laporan tugas akhir ini.

6. Ibu Dr. Hj. Sri Wahdaningsih, M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis dalam kegiatan penyusunan laporan tugas akhir ini.
7. Bapak Dr. Hariyanto IH, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Penguji Pendamping yang telah memberikan dukungan, bimbingan, arahan, saran dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis sejak awal mulai perkuliahan hingga sekarang.
8. Seluruh dosen dan staf di Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura yang telah memberikan ilmu, wawasan, arahan, wadah, dan semangat selama menjalani masa perkuliahan.
9. Kedua orang tua tersayang, Umak dan Alm. Bapak, serta saudara penulis yaitu Along, Angah, Kakning, Acik, dan Amok yang senantiasa memberikan do'a, dukungan, perhatian, semangat yang tiada henti kepada penulis selama menempuh pendidikan hingga penyelesaian skripsi ini.
10. Sahabat terdekat penulis yaitu Della yang selalu hadir memberikan dukungan, motivasi, bantuan, serta menjadi tempat berbagi suka dan duka selama proses perkuliahan dan menyelesaikan skripsi.
11. Sahabat grup "Pejuang S.Farm" yaitu Feli, Resti, Fitri, Angel, dan Selvi yang telah menjadi teman berdiskusi, berbagi pengalaman, saling membantu, serta memberikan dukungan sejak mahasiswa baru hingga saat ini.
12. Teman-teman "Kontrakan Rempong" yaitu Zetti, Jati, Nita, dan Pani yang sudah menjadi keluarga kedua penulis selama masa perkuliahan yang senantiasa membersamai, menciptakan suasana ramai dalam rumah.

13. Teman-teman seperjuangan Farmasi Angkatan 2022 “SERDEFA”, dan khususnya kelas A3 “TUPELICIOUS” yang telah memberikan banyak pengalaman, kebersamaan selama menempuh pendidikan.

Penulis menyadari skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk memperbaiki kekurangan yang ada. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang berkepentingan.

Pontianak, 27 Februari 2026

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iii
KATA PENGANTAR iv
DAFTAR ISI vii
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR GAMBAR xii
DAFTAR SINGKATAN xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv
ABSTRAK xv
ABSTRACT xvi
BAB I PENDAHULUAN 1
I.1 Latar Belakang 1
I.2 Rumusan Masalah 3
I.3 Tujuan Penelitian 3
I.4 Manfaat Penelitian 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4
II.1 Pasar Tradisional Kota Pontianak 4
II.2 Bakso Ikan 4
II.3 Keamanan Pangan 5
II.4 Spesies Ikan Target dalam Identifikasi Molekuler 5

II.4.1 Ikan Tenggiri 5
II.4.2 Ikan Ekor Kuning 6
II.4.3 Ikan Sapu-Sapu 7
II.4.4 Ikan Lele 7
II.4.5 Ikan Bandeng 8
II.5 Gen COX-1 9
II.6 Isolasi DNA 9
II.7 *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 12
II.8 *Multiplex Polymerase Chain Reaction* (PCR) 17
II.9 Elektroforesis Gel Agarosa 17
II.10 DNA *Ladder* 19
II.11 Gel *Documentation System* 19
II.12 Landasan Teori 19
II.13 Kerangka Konsep Penelitian 22
II.14 Hipotesis Penelitian 22
BAB III METODOLOGI 23
III.1 Rancangan Penelitian 23
III.2 Alat dan Bahan 23
III.2.1 Alat 23
III.2.2 Bahan 24
III.3 Tempat dan Waktu Penelitian 24
III.4 Pengajuan Kaji Etik 24
III.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi 25

III.5.1 Kriteria Inklusi 25
III.5.2 Kriteria Eksklusi 25
III.6 Populasi dan Sampel 25
III.6.1 Populasi 25
III.6.2 Sampel 25
III.6.3 Besaran Sampel 25
III.7 Variabel Penelitian 26
III.7.1 Variabel Bebas 26
III.7.2 Variabel Terikat 26
III.8 Tahapan Penelitian 26
III.8.1 Desain Primer 26
III.8.1.1. Pemilihan Genom Hewan 26
III.8.1.2 Penyesuaian Genom Hewan 27
III.8.1.3 Perancangan Primer 27
III.8.1.4 Pengecekan Kelayakan Primer 28
III.8.2 Pengambilan Sampel 28
III.8.3 Preparasi Sampel 28
III.8.4 Isolasi DNA 28
III.8.4.1 Lisis sel 28
III.8.4.2 Pengendapan DNA 29
III.8.4.3 Pencucian DNA 29
III.8.4.4 Resuspensi DNA 30
III.8.5 Amplifikasi DNA dengan *Multiplex* PCR 30

III.8.6 Elektroforesis 31
III.8.6.1 Pembuatan Larutan *Buffer* TAE 50X 31
III.8.6.2 Pembuatan Larutan *Buffer* TAE 1X 32
III.8.6.3 Pembuatan Gel Agarosa 32
III.8.6.4 Penyiapan Sampel DNA 32
III.8.6.5 *Running* Elektroforesis 33
III.8.7 Visualisasi dengan *Gel Documentation* 33
III.9 Analisis Data 34
III.10 Alur Penelitian 35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 36
IV.1 Gambaran Umum Penelitian 36
IV.2 Penentuan Primer 37
IV.3 Proses Isolasi *Genomic* DNA 39
IV.4 Optimasi Metode *Multiplex* PCR dan Proses Elektroforesis 40
IV.5 Analisis Fragmen DNA Sampel Bakso Ikan Curah 53
IV.6 Keterbatasan Penelitian 58
BAB V PENUTUP 60
V.1 Kesimpulan 60
V.2 Saran 60
DAFTAR PUSTAKA 61
LAMPIRAN 78

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 3.1 Komponen PCR.....30

Tabel 3.2 Pengaturan Kondisi PCR.....31

Tabel 4.1 Primer Spesies Ikan.....38

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Nanodrop Sampel.....39

Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Nanodrop dengan Homogenisasi *Tissue lyser*.....43

Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Nanodrop dengan Homogenisasi Manual.....47

Tabel 4.5 Pengaturan *Multiplex* PCR Setelah Optimasi.....52

Tabel 4.6 Interpretasi Hasil.....57

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Ikan Tenggiri 6

Gambar 2.2 Ikan Ekor Kuning 6

Gambar 2.3 Ikan Sapu-Sapu **7**

Gambar 2.4 Ikan Lele 8

Gambar 2.5 Ikan Bandeng 9

Gambar 2.6 Struktur DNA.....10

Gambar 2.7 Tahap Denaturasi 16

Gambar 2.8 Tahap *Annealing* 16

Gambar 2.9 Tahap Elongasi 17

Gambar 2.10 Komponen Instrumen Elektroforesis 19

Gambar 2.11 Kerangka Konsep Penelitian.....22

Gambar 3.1 Alur Penelitian 35

Gambar 4.1 Visualisasi Sebelum Optimasi Suhu *Annealing* 55°C 42

Gambar 4.2 Visualisasi Optimasi Setelah Pengenceran 44

Gambar 4.3 Visualisasi Optimasi dengan Gradien Suhu *Annealing* 46

Gambar 4.4 Visualisasi Optimasi setelah Perubahan Metode Homogenisasi 48

Gambar 4.5 Visualisasi Optimasi dengan Suhu *Annealing* 58°C.....51

Gambar 4.6 Visualisasi Kontrol Positif setelah Optimasi 52

Gambar 4.7 Visualisasi Sampel Bakso Ikan Curah 55

DAFTAR SINGKATAN

Bp	: *Base Pair*
COX-1	: *Cytochrome Oxidase Subunit 1*
DNA	: *Deoxyribonucleic Acid*
EDTA	: *Ethylenediaminetetraacetic Acid*
dATP	: *Deoxyadenosine Triphosphate*
dCTP	: *Deoxycytidine Triphosphate*
dGTP	: *Deoxyguanosine Triphosphate*
dNTP	: *Deoxynucleotide Triphosphates*
dTTP	: *Deoxythymidine Triphosphate*
Kbp	: *Kilobase Pair*
mPCR	: *Multiplex Polymerase Chain Reaction*
NCBI	: *National Center for Biotechnology Information*
NFW	: *Nuclease-Free Water*
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
PCR RFLP	: *Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism*
PP	: Peraturan Pemerintah
RNA	: *Ribonucleic Acid*
SMS	: *Sequence Manipulation Suite*
TAE	: *Tris-Acetate-EDTA*
UU	: Undang-Undang
UV	: Ultraviolet

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

LAMPIRAN 1. Tahapan Penelitian 78

LAMPIRAN 2. Hasil Uji Kelayakan Menggunakan SMS 83

LAMPIRAN 3. Sekuens Nukleotida Gen COX-1 85

LAMPIRAN 4. Perhitungan Ta dan Tm 94

LAMPIRAN 5. Perhitungan Pengenceran TAE 50X 96

LAMPIRAN 6. Surat Lolos Kaji Etik 97

LAMPIRAN 7. Surat Payung Penelitian 98

LAMPIRAN 8. CoA *Wizard Genomic DNA Purification Kit* 99

ABSTRAK

Bakso ikan adalah salah satu produk olahan yang banyak disukai masyarakat karena memiliki kandungan gizi tinggi, harga terjangkau dan praktis disajikan. Namun, produk ini memiliki risiko mengalami kecurangan substitusi bahan baku sehingga menimbulkan kerugian ekonomi dan kesehatan konsumen. Identifikasi bahan baku pada produk bakso ikan curah sulit dilakukan secara visual sehingga diperlukan metode analisis untuk memastikan spesies ikan yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies ikan dalam bakso ikan curah yang beredar di Kota Pontianak menggunakan metode *Multiplex* PCR. Penelitian ini bersifat non-eksperimental dengan desain observatif deskriptif. Sampel berupa bakso ikan curah tanpa label diambil secara *purposive sampling* dari pasar tradisional. Prosedur penelitian meliputi tahap perancangan primer gen COX-1 untuk lima spesies ikan target (tenggiri, sapu-sapu, ekor kuning, lele, dan bandeng), isolasi DNA menggunakan kit, amplifikasi dengan *Multiplex* PCR, elektroforesis, dan visualisasi pita DNA menggunakan *gel documentation system*. Analisis dilakukan secara kualitatif berdasarkan pola pita DNA yang terbentuk terhadap kontrol positif masing-masing spesies. Hasil menunjukkan bahwa dari 6 sampel yang dianalisis, 2 sampel sesuai dengan klaim penjual yaitu ikan ekor kuning, sedangkan 3 sampel tidak sesuai klaim tersebut karena teridentifikasi spesies lain, dan 1 sampel lainnya tidak terdeteksi pada spesies target. Metode *Multiplex* PCR mampu mengidentifikasi spesies ikan pada produk bakso ikan curah dan ditemukan adanya ketidaksesuaian antara spesies yang diklaim dengan hasil identifikasi. Temuan ini menegaskan pentingnya autentifikasi molekuler dalam pengawasan mutu produk pangan olahan ikan

Kata Kunci : Bakso ikan curah, autentifikasi, multiplex PCR, fragmen DNA

ABSTRACT

Fish balls are one of the processed food products widely favored by the public due to their high nutritional value, affordability, and practicality. However, this product is at risk of raw material substitution, which may cause economic losses and health concerns for consumers. Identification of raw materials in bulk fish balls is difficult to perform visually, thus requiring an analytical method to confirm the fish species used. This study aimed to identify fish species in bulk fish balls circulating in Pontianak City using the Multiplex PCR method. The study was non-experimental with a descriptive observational design. Samples of unlabeled bulk fish balls were collected through purposive sampling from traditional markets. The research procedure included primer design for the COX-1 gene of seven target species (chub mackerel, suckermouth catfish, yellowtail, catfish, and milkfish), DNA isolation using a commercial kit, amplification with Multiplex PCR, electrophoresis, and DNA band visualization. Data analysis was conducted qualitatively by comparing band patterns to positive controls of each species. The result show that out the 6 samples analyzed, 2 samples matched the seller's claim of yellowtail, while 3 samples didn't match the claim as they were identified as other species, and 1 samples wasn't detected in the target species. The Multiplex PCR method is capable of identifying fish species in bulk fish ball products, and discrepancies were found between the claimed species and the identification result. This finding underscores the importance of molecular authentication in the quality control of processed fish food product.

Keywords: *Bulk fishballs, authentication, multiplex PCR, DNA fragments*

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kebutuhan pangan merupakan hak setiap manusia yang harus dipenuhi secara aman, bermutu, bergizi dan menyehatkan.[1] Namun, pangan juga dapat menjadi sumber masalah kesehatan apabila mengandung senyawa toksik, cemaran mikroba, atau komponen pemicu reaksi alergi.[2–4] Produk ikan termasuk kelompok pangan yang berisiko alergi, karena kandungan protein seperti parvalbumin dapat memicu reaksi *hipersensitivitas* mulai dari gatal, urtikaria, sesak napas hingga anafilaksis yang mengancam jiwa.[5–8]

Penelitian Tumerkan (2022) mendeteksi gen pengkode parvalbumin pada 29 sampel tuna ikan kaleng menggunakan PCR *real-time* dan menemukan lima sampel positif alergen, terutama pada produk dengan saus tomat.[9] Hasil serupa dilaporkan oleh Taki *et al.,* (2023) bahwa terdapat tiga ikan kaleng mengandung protein alergen yang berpotensi memicu reaksi alergi.[10] Temuan ini menegaskan risiko alergi tidak hanya pada ikan segar, melainkan juga produk olahan. Peraturan BPOM No. 31 Tahun 2018 tentang Label Pangan Olahan mewajibkan produsen mencantumkan informasi bahan baku dan alergen pada label pangan olahan.[11] Namun, praktik mislabeling dan substitusi bahan baku tanpa informasi jelas sering ditemukan sehingga merugikan konsumen baik dari segi kesehatan maupun ekonomi.[12]

Salah satu produk olahan ikan yang banyak diminati masyarakat adalah bakso ikan karena rasanya gurih, bertekstur kenyal, harga terjangkau serta praktis sebagai makanan cepat saji.[13] Tingginya permintaan produk ini mendorong

perkembangan di berbagai daerah, namun menimbulkan kekhawatiran konsumen terkait keaslian dan kualitas bahan baku karena variasi harga signifikan dipasaran.[14,15] Pemilihan bahan baku dalam bakso ikan curah biasanya tidak transparan, bahkan substitusi ikan dengan harga lebih murah sering dilakukan produsen untuk menekan biaya produksi tanpa memperhatikan potensi risiko kesehatan.[16] Bagi konsumen dengan alergi terhadap spesies tertentu, ketiadaan label bahan baku dan alergen pada produk dapat memicu reaksi alergi serius.[17]

Peredaran bakso ikan curah di Kota Pontianak cukup luas, namun penelitian terkait identifikasi spesies ikan pada produk bakso ikan curah masih terbatas. Informasi bahan baku penting untuk perlindungan konsumen dan pengawasan mutu pangan olahan ikan. Identifikasi produk olahan dapat dilakukan dengan metode *Multiplex* PCR yang mampu mendeteksi beberapa spesies secara simultan dalam satu kali reaksi dengan sensitivitas dan spesifisitas tinggi.[18] Teknik ini dapat mendeteksi keaslian bahan baku pada produk olahan yang sudah tidak dikenali bentuk aslinya. Penelitian Widayanti *et al.,* (2023) menerapkan mPCR pada 21 sampel produk olahan makanan yang diklaim berbahan dasar ikan tenggiri dijual di Jakarta, Depok, dan Bogor. Hasilnya sebesar 52,38% (11/21) positif daging ayam dan 23,80% (5/21) positif ikan sapu-sapu pada pangsit, empek-empek dan otak-otak sehingga membuktikan mPCR efektif mendeteksi substitusi bahan baku.[19]

Beberapa hasil studi sebelumnya menunjukkan adanya potensi alergen pada produk olahan ikan. Penelitian ini bertujuan mendeteksi spesies ikan pada bakso ikan curah di Pontianak menggunakan *multiplex* PCR. Penelitian dilakukan secara kualitatif dan bersifat non-eksperimental berdasarkan visualisasi pita DNA. Sampel

diambil dengan teknik *purposive sampling* di empat kecamatan (Pontianak Utara, Pontianak Barat, Pontianak Selatan dan Pontianak Kota). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran keaslian bahan baku, menjadi referensi bagi konsumen dan pelaku usaha, serta mendukung pengawasan mutu dan regulasi BPOM guna melindungi masyarakat dari risiko alergi maupun kecurangan pangan.

I.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana metode *Multiplex* PCR yang telah dioptimasi dalam mengidentifikasi asal spesies ikan pada produk bakso ikan curah?
2. Apakah spesies ikan yang teridentifikasi pada produk bakso ikan curah sebagai bahan baku sesuai dengan spesies yang dinyatakan oleh penjual?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengevaluasi metode *Multiplex* PCR yang telah dioptimasi dalam mengidentifikasi asal spesies ikan pada produk bakso curah.
2. Mengidentifikasi asal spesies ikan yang digunakan sebagai bahan baku.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keaslian bahan baku bakso ikan curah sehingga konsumen lebih terlindungi dari risiko kesehatan khususnya reaksi alergi maupun kecurangan pangan, serta menjadi referensi bagi pelaku usaha dan pihak berwenang dalam pengawasan mutu dan keamanan pangan.