

**OPTIMASI DETEKSI KONTAMINASI DAGING BABI BERBASIS
MULTIPLEX REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION (qPCR)
PADA PRODUK MAKANAN OLAHAN DAGING SAPI**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



Oleh:
CINDY PRAMILA
NIM.19032117/2019

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2023**

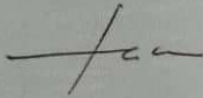
PERSETUJUAN SKRIPSI

OPTIMASI DETEKSI KONTAMINASI DAGING BABI BERBASIS *MULTIPLEX REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION* (qPCR) PADA PRODUK MAKANAN OLAHAN DAGING SAPI

Nama : Cindy Pramila
NIM : 19032117
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

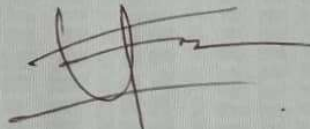
Padang, 30 Mei 2023

Mengetahui:
Ketua Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

Disetujui Oleh:
Pembimbing



Afifatul Achyar, S.Si, M.Si
NIP . 19840531 201903 2 006

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Cindy Pramila
NIM : 19032117
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**OPTIMASI DETEKSI KONTAMINASI DAGING BABI BERBASIS
MULTIPLEX REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION (qPCR)
PADA PRODUK MAKANAN OLAHAN DAGING SAPI**

*Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang*

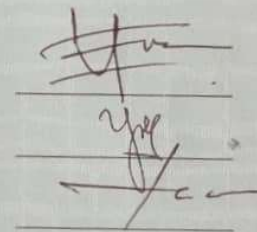
Padang, 9 Juni 2023

Tim Penguji

Nama

Ketua : Afifatul Achyar, S.Si, M.Si
Anggota : Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si
Anggota : Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed

Tanda tangan

The image shows three handwritten signatures in black ink, each written over a horizontal line. The signatures are stylized and appear to be the names of the examiners listed on the left.

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Cindy Pramila
NIM : 19032117
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul “Optimasi Deteksi Kontaminasi Daging Babi Berbasis *Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) Pada Produk Makanan Olahan Daging Sapi” adalah benar hasil karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 9 Juni 2023

Mengetahui:
Kepala Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

Saya yang menyatakan



Cindy Pramila
NIM.19032117

Optimasi Deteksi Kontaminasi Daging Babi Berbasis *Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) pada Produk Makanan Olahan Daging Sapi

Cindy Pramila

ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara dengan mayoritas penduduk beragama Islam. Mengonsumsi pangan yang halal adalah hak dasar setiap muslim. Sampai saat ini harga daging sapi masih relatif mahal sehingga ada oknum yang mencampur atau mengganti daging sapi dengan daging hewan lain seperti daging babi. Metode *Multiplex Real Time* PCR merupakan metode pengujian yang cepat, sensitif, dan spesifik untuk mendeteksi kontaminasi daging babi pada produk pangan olahan daging sapi sehingga dapat mengurangi biaya dan waktu dalam pengerjaannya. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan kondisi *Multiplex Real Time* PCR yang optimum dalam mengamplifikasi gen *ND5* sapi dan babi secara simultan serta dapat dilakukan uji terapan pada sampel makanan olahan daging sapi.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yang dilaksanakan dari Desember 2022 - Mei 2023 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Universitas Negeri Padang. Optimasi *Multiplex Real Time* PCR gen *ND5* sapi dan babi dilakukan dengan variasi konsentrasi primer Bos dan Sus 0,2-0,5 dan variasi *template* DNA 100 ng/ μ l; 50 ng/ μ l; 25 ng/ μ l; dan 12,5 ng/ μ l, serta melakukan uji terapan terhadap sampel makanan olahan daging sapi seperti bakso dengan kondisi *Multiplex Real Time* PCR yang telah optimum.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Kondisi *Multiplex Real Time* PCR yang optimum untuk konsentrasi pasangan primer Bos dan Sus adalah 0,4 μ M. Konsentrasi *template* DNA yang optimum dalam mengamplifikasi *template* DNA adalah 100 ng/ μ l. Hasil optimasi ini dapat dilakukan untuk uji terapan makanan olahan daging sapi seperti bakso.

Kata kunci: Optimasi *Multiplex Real Time* PCR, Gen *ND5*, Babi, Sapi, Halal

**Optimization of Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction (qPCR)-
based Detection of Pork Contamination in Food Products
Processed Beef**

Cindy Pramila

ABSTRACT

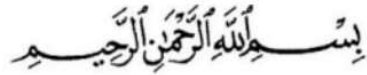
Indonesia is one of the countries with a majority Muslim population. Eating halal food is a basic right of every Muslim. Until now, the price of beef is still relatively expensive, so there are people who mix or replace beef with other animal meat such as pork. The Multiplex Real Time PCR method is a fast, sensitive, and specific testing method to detect pork contamination in processed beef food products so that it can reduce costs and time in the process. This study aims to formulate the optimum Multiplex Real Time PCR conditions in simultaneously amplifying bovine and porcine ND5 genes and to conduct applied tests on beef processed food samples.

This research is a descriptive study, which was conducted from December 2022 - May 2023 at the Genetics and Biotechnology Laboratory, Padang State University. Optimization of Multiplex Real Time PCR of bovine and porcine ND5 genes was carried out with variations of Bos and Sus primer concentrations of 0.2-0.5 and variations of DNA templates of 100 ng/μl; 50 ng/μl; 25 ng/μl; and 12.5 ng/μl, as well as conducting applied tests on processed beef food samples such as meatballs with Multiplex Real Time PCR conditions that have been optimum.

The results showed that the optimum Multiplex Real Time PCR condition for Bos and Sus primer pair concentration was 0.4 μM. The optimum concentration of DNA template in amplifying DNA template is 100 ng/μl. The results of this optimization can be done for applied tests of processed beef foods such as meatballs.

Keywords: Multiplex Real Time PCR Optimization, ND5 Gene, Pork, Beef, Halal

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Optimasi Deteksi Kontaminasi Daging Babi Berbasis *Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction (qPCR)* pada Produk Makanan Olahan Daging Sapi**”. Shalawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Afifatul Achyar, S.Si, M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dalam melaksanakan penelitian dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Rijal Satria, Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan nasehat dan saran selama di Jurusan Biologi.
3. Ibu Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si. dan Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed sebagai tim dosen penguji yang telah memberikan arahan serta saran dalam penulisan skripsi ini.

4. Pimpinan Bapak dan Ibu Dosen staf Jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
5. Kedua orang tua, Ayah Sulaimi dan Bunda Justinar tercinta yang telah memberikan begitu banyak doa, harapan, serta dukungan selama perkuliahan.
6. Keluarga besar yang selalu memberikan doa dan dukungan yang terbaik. Terutama untuk adik tercinta Nicky Thirta Al Hafiizh dan Arsinta Pramila yang selalu memberikan semangat dan dukungannya.
7. Teman-teman sepenelitian Ananda Aulia Putri, Nafisa Arini, Oliv Nurul Kanaya, Fira Safitri, Yolla Fristia, dan Rinti Mutiara Sari yang telah membantu dan selalu menemani penulis dalam menghadapi suka duka selama penelitian.
8. Sahabat istimewa Nada Wafiq Hijriah, Monicha Yhuyhen Safitri, Novia Annisa, Michael Akbar Melando, selalu mendengarkan keluh kesah penulis selama perkuliahan.
9. Mahasiswa Biologi 2019 serta pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga segala bantuan, bimbingan, dukungan, dan petunjuk yang telah diberikan kepada penulis menjadi amal ibadah dan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Semoga skripsi yang penulis selesaikan dapat bermanfaat bagi kita semua dengan mengharap kritik dan saran yang membangun guna kesempurnaan skripsi ini

Padang, 16 Mei 2023

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| Optimasi Deteksi Kontaminasi Daging Babi Berbasis <i>Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction</i> (qPCR) pada Produk Makanan Olahan Daging Sapi | |
| DAFTAR TABEL..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR..... | viii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | ix |
| BAB 1..... | 1 |
| PENDAHULUAN..... | 1 |
| A. Latar Belakang..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah..... | 5 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 5 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB II..... | 7 |
| KAJIAN PUSTAKA..... | 7 |
| A. Babi (<i>Sus scrofa</i>)..... | 7 |
| B. Sapi (<i>Bos taurus</i>)..... | 9 |
| C. Industri Pengolahan Daging Sapi..... | 10 |
| D. Isolasi DNA..... | 12 |
| E. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)..... | 14 |
| F. <i>Multiplex Real Time Polymerase Chain Reaction</i> (qPCR)..... | 16 |
| BAB III..... | 20 |
| METODE PENELITIAN..... | 20 |
| A. Jenis Penelitian..... | 20 |
| B. Waktu dan Tempat..... | 20 |
| C. Alat dan Bahan..... | 20 |
| D. Prosedur Penelitian..... | 21 |
| E. Analisis Data..... | 27 |
| BAB IV..... | 28 |
| HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 28 |
| A. Hasil Penelitian..... | 28 |
| B. Pembahasan..... | 36 |
| BAB V..... | 43 |
| PENUTUP..... | 43 |
| A. Kesimpulan..... | 43 |

| | |
|----------------------|----|
| B. Saran..... | 43 |
| DAFTAR PUSTAKA | 44 |
| LAMPIRAN..... | 50 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|----------------|
| 1. Primer yang digunakan pada <i>Multiplex Real Time</i> PCR..... | 21 |
| 2. Pengaturan Program <i>Real Time</i> PCR | 23 |
| 3. Variasi konsentrasi primer | 24 |
| 4. Variasi Konsentrasi <i>Template</i> DNA | 24 |
| 5. Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian isolasi DNA sampel | 34 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. Kurva Amplifikasi Variasi Konsentrasi Primer <i>Bos</i> 0,2-0,6 μM | 28 |
| 2. Kurva Amplifikasi Variasi Konsentrasi Primer <i>Sus</i> 0,2-0,6 μM | 29 |
| 3. Kurva Amplifikasi Variasi Konsentrasi DNA <i>template Bos taurus</i> | 30 |
| 4. <i>Melt Curve</i> Variasi Konsentrasi DNA <i>Template Bos taurus</i> | 30 |
| 5. Kurva Amplifikasi Variasi Konsentrasi DNA <i>template Sus scrofa</i> | 31 |
| 6. <i>Melt Curve</i> Variasi Konsentrasi DNA <i>Template Sus scrofa</i> | 32 |
| 7. Kurva Amplifikasi Multiplex <i>Real Time PCR</i> | 33 |
| 8. <i>Melt Curve Multiplex Real Time PCR</i> | 33 |
| 9. Kurva Amplifikasi Uji Terapan pada Sampel Bakso..... | 35 |
| 10. <i>Melt Curve</i> Uji Terapan pada Sampel Bakso..... | 35 |
| 11. Hasil Visualisasi Elektroforesis Uji Terapan | 36 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Komposisi Reaksi Real Time PCR | 50 |
| 2. Dokumentasi Hasil Nanodrop | 56 |
| 3. Dokumentasi Penelitian | 58 |

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pangan adalah kebutuhan dasar manusia yang paling utama dan merupakan bagian dari hak asasi setiap masyarakat di Indonesia. Pangan harus tersedia secara cukup, aman, bermutu, bergizi, dan beragam dengan harga yang terjangkau oleh daya beli masyarakat, serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat (Hidayat, 2015).

Indonesia merupakan salah satu negara dengan mayoritas penduduk beragama Islam. Berdasarkan data Direktorat Jendral Kependudukan dan Pencatatan Sipil Kementerian dalam Negeri, jumlah populasi penduduk Indonesia yang beragama Islam pada tahun 2021 berjumlah 236,53 juta jiwa atau setara dengan 86,88% dari total penduduk Indonesia yaitu 272,23 juta jiwa. Tingginya jumlah penduduk muslim di Indonesia berpengaruh pada gaya hidup halal yang menjadi landasan dalam pemilihan produk. Kehalalan dari suatu produk pangan merupakan kebutuhan penting bagi umat Islam, karena mengkonsumsi makanan halal merupakan implikasi dari kewajiban syariat (Widayat, 2020).

Mengonsumsi pangan yang halal adalah hak dasar setiap muslim. Hal ini bukan saja terkait dengan keyakinan beragama, namun ada dimensi kesehatan, ekonomi, dan keamanan. Maka dengan penduduk yang mayoritas muslim, tanpa diminta sudah semestinya negara hadir melindungi warganya dalam pemenuhan hak-hak mendasar warganya. Selaras dengan itu, pelaku usaha

juga sudah seharusnya memberikan perlindungan kepada konsumen (Hidayat, 2015).

Barang dan atau jasa yang terkait dengan makan, minuman, obat, kosmetik, produk kimiawi, produk biologi, produk rekayasa genetik, serta barang gunaan yang dipakai dan dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya muslim, yang masuk, beredar dan diperdagangkan di Indonesia haruslah bersertifikat halal. Hal ini diatur oleh UU RI No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal yang tertuang dalam pasal 4 (Rahmawati, 2014). Dalam memproses sertifikasi halal, bukan hanya sekedar bahan-bahan yang digunakan saja yang dikaji dan diteliti, tetapi mencakup bahan, pengolahan, penyimpanan, pengemasan, pendistribusian, penjualan, dan penyajian produk (Undang-Undang No.33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal).

Di Indonesia produk olahan daging seperti bakso, sosis, dan burger sudah banyak penggemarnya. Pada umumnya bahan baku untuk pembuatan bakso, sosis, dan burger itu adalah daging sapi atau daging ayam. Sampai saat ini harga daging sapi dan daging ayam masih relatif mahal. Konsekuensi dari mahalnya harga daging tersebut yaitu ada oknum penjual bakso, sosis, dan burger yang mencampur atau mengganti daging sapi atau daging ayam dengan daging hewan lain seperti daging babi dan daging tikus. Pencampuran atau penggantian daging sapi atau ayam dengan daging lain pada produk olahan daging biasanya bertujuan untuk menekan biaya produksi, sehingga produsen penjual produk olahan daging tetap dapat menjual produk dengan harga yang

terjangkau untuk mendapatkan keuntungan yang lebih banyak (Mustaqimah, 2021).

Kasus pencampuran daging sapi dengan daging babi terjadi setiap tahun di Indonesia. Pada Januari 2019, dua pedagang ditangkap polisi di Pasar Wonosari karena mencampur daging sapi dengan daging babi. Pada Maret 2018, dua pedagang bakso digerebek polisi karena memasukkan daging babi ke dalam bakso di daerah kampus Universitas Jambi. Kasus lain, Kepolisian Bogor membongkar praktik pembuatan bakso yang dicampur menggunakan daging babi di sebuah ruko di wilayah Citeureup, Kabupaten Bogor. Penggerebekan itu berlangsung pada Minggu, 14 Mei 2017 (Zilhadia, 2020).

Produk pangan yang dibuat dengan campuran daging sangat sulit dibedakan dengan mata telanjang, karena seringkali daging tersebut sudah dihancurkan dan dicampur dengan berbagai bahan lain (Priyanka, 2017). Permasalahan tersebut tentu meresahkan masyarakat mengingat sebagian besar masyarakat Indonesia adalah umat muslim yang hanya mengonsumsi makanan yang halal. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode yang cepat dan efisien untuk mendeteksi jenis daging yang digunakan dalam produk olahan daging, sehingga dapat menjamin kehalalan daging yang digunakan (Widayat, 2019).

Teknologi deteksi yang saat ini banyak digunakan dan menawarkan hasil cepat terus dikembangkan, salah satunya adalah metode berbasis DNA dengan menggunakan *Real Time* PCR. Alat ini lebih canggih dibandingkan dengan alat PCR lainnya karena mampu mendapatkan hasil yang cepat dan efisien

(Yanti, 2017). *Real Time* PCR memiliki keunggulan untuk memonitor progres reaksi PCR pada waktu yang sama dan dapat mengetahui jumlah produk PCR yang diekspresikan. PCR biasa memiliki tahap yang lebih panjang, salah satunya dengan memerlukan gel elektroforesis untuk deteksi produk amplifikasi PCR pada fase akhir (Rahmawati, 2014).

Multiplex Real Time PCR merupakan pengujian yang cepat, sensitif, dan spesifik untuk mendeteksi lebih dari satu target dalam satu reaksi PCR. Teknik *Multiplex Real Time* PCR ini lebih akurat serta proses amplifikasi dan juga analisisnya terjadi bersamaan sehingga waktu yang dibutuhkan untuk identifikasi DNA akan lebih singkat (Rezeki, 2014).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan Putri (2022) dan Mardhotillah (2021), telah berhasil melakukan optimasi metode deteksi gen babi berbasis PCR *Multiplex* pada sampel makanan olahan daging menggunakan pasangan primer (Sus-F dan Sus-R) yang mengamplifikasi gen *ND5* babi dengan panjang amplicon 406 bp. Gen *ND5* menyediakan instruksi untuk sintesis protein NADH dehydrogenase subunit 5. Protein ini merupakan bagian dari kompleks enzim besar yang dikenal sebagai kompleks I, yang aktif dalam mitokondria. Gen *ND5* memiliki salinan yang lebih banyak sehingga akan lebih mudah terdeteksi (Toha, 2015).

Oleh karena itu, penelitian ini akan menggunakan primer *ND5* babi (Sus-F dan Sus-R) dan *ND5* sapi (Bos-F dan Bos-R) berbasis *Multiplex Real Time* PCR. Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini akan berfokus pada pengembangan modifikasi metode Real Time PCR yaitu mengenai “Optimasi

Deteksi Kontaminasi Daging Babi Berbasis *Multiplex Real Time* PCR pada Produk Makanan Olahan Daging Sapi”.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah kondisi *Multiplex Real Time* PCR yang optimum dalam mengamplifikasi gen *ND5* babi dan sapi secara simultan?
2. Bagaimanakah hasil uji terapan deteksi kontaminasi daging babi pada produk makanan olahan daging sapi dengan metode *Multiplex Real Time* PCR?

C. Tujuan Penelitian

1. Memformulasikan kondisi *Multiplex Real Time* PCR yang optimum dalam mengamplifikasi gen *ND5* babi dan sapi secara simultan.
2. Melakukan uji terapan *Multiplex Real Time* PCR untuk deteksi kontaminasi daging babi pada produk makanan olahan daging sapi.

D. Manfaat Penelitian

Hasil akhir dari penelitian ini dapat dijadikan sebagai referensi untuk pengetahuan terkait penelitian yang sebidang dan memberikan kontribusi berupa informasi terkait pengembangan metode deteksi gen non-halal di laboratorium uji halal.