

**OPTIMASI DETEKSI CEMARAN DAGING TIKUS BERBASIS
PCR MULTIPLEKS PADA MAKANAN OLAHAN DAGING
SAPI**



LISNA KHAIRIYAH. S

18032062/2018

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG**

2022

**OPTIMASI DETEKSI CEMARAN DAGING TIKUS BERBASIS
PCR MULTIPLEKS PADA MAKANAN OLAHAN DAGING
SAPI**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains*



Oleh:

LISNA KHAIRIYAH. S

18032062/2018

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

2022

PERSETUJUAN SKRIPSI

OPTIMASI DETEKSI CEMARAN DAGING TIKUS BERBASIS PCR MULTIPLEKS PADA MAKANAN OLAHAN DAGING SAPI

Nama : Lisna Khairiyah. S
Nim : 18032062
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 03 Juni 2022

Mengetahui:
Ketua Jurusan 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 : Lisna Khairiyah. S
Nim : 18032062
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

OPTIMASI DETEKSI CEMARAN DAGING TIKUS BERBASIS PCR MULTIPLEKS PADA MAKANAN OLAHAN DAGING SAPI

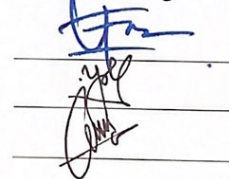
Dinyatakan Lulus Setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi Jurusan
Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri
Padang

Padang, 03 Juni 2022

Tim Penguji

	Nama
Ketua	: Afifatul Achyar, S.Si., M.Si.
Anggota	: Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si.
Anggota	: Siska Alicia Farma, S.Pd, M.Biomed

Tanda tangan



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

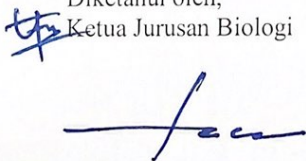
Nama : Lisna Khairiyah. S
NIM/TM : 18032062/2018
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul "Optimasi Deteksi Cemaran Daging Tikus Berbasis PCR Multipleks Pada Makanan Olahan Daging Sapi" adalah benar hasil karya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

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

Padang, 03 Juni 2022

Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi



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

Saya yang menyatakan,



Lisna Khairiyah. S
NIM.18032062

OPTIMASI DETEKSI CEMARAN DAGING TIKUS BERBASIS PCR MULTIPLEKS PADA MAKANAN OLAHAN DAGING SAPI

Lisna Khairiyah. S

ABSTRAK

Makanan merupakan kebutuhan pokok manusia yang sangat penting untuk meningkatkan kesehatan. Daging sapi merupakan salah satu daging ternak yang banyak dikonsumsi di Indonesia. Harga daging sapi yang semakin mahal menyebabkan terjadinya kasus pemalsuan dan pencampuran daging sapi dengan daging lainnya seperti daging tikus. Salah satu metode yang akan digunakan untuk deteksi adanya pemalsuan dan pencampuran unsur tidak halal pada makanan, yaitu PCR Multipleks. PCR Multipleks merupakan modifikasi dari PCR konvensional yang menggunakan lebih dari sepasang primer secara bersamaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi kondisi PCR Multipleks gen *ND5* tikus dan sapi serta melakukan uji terapan pada sampel makanan olahan daging sapi.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif yang dilakukan dari November 2021-Maret 2022 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA UNP. Primer yang digunakan yaitu primer *Bosusrat-Forward*, *Bos-Reverse*, dan *Mur_MA_Reverse* yang dapat mendeteksi gen *ND5* (NADH dehidrogenase subunit 5) pada DNA mitokondria yang menghasilkan panjang ampikon sapi 134 bp dan tikus 520 bp. Optimasi kondisi PCR Multipleks dilakukan dengan lima variasi konsentrasi primer (kombinasi 0,2-0,6 μM), *adjuvant* DMSO (1-5%) dan uji sensitivitas metode PCR Multipleks. Uji terapan metode PCR yang optimum dilakukan pada 10 sampel makanan olahan daging sapi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi primer optimum adalah primer *Bosusrat-F* 0,8 μM , primer *Mur_MA_R* 0,3 μM dan *Bos-R* 0,5 μM , sedangkan konsentrasi DMSO optimum adalah 5%. Uji sensitivitas PCR Multipleks menunjukkan DNA sapi dan tikus masih terdeteksi pada konsentrasi DNA *template* 3,12 ng/ μl . Uji terapan terhadap 10 sampel makanan olahan daging sapi menunjukkan hasil tidak terdeteksi adanya pencemaran daging tikus.

Kata Kunci: Makanan halal, PCR Multipleks, *ND5*

OPTIMIZATION OF PCR MULTIPLEX-BASED RAT MEAT SPRUCE DETECTION IN PROCESSED BEEF FOODS

Lisna Khairiyah. S

ABSTRACT

Food is a basic human need that is very important to improve health. Beef is one of the most consumed livestock meats in Indonesia. The increasingly expensive price of beef has led to cases of counterfeiting and mixing of beef with other meats such as rat meat. One of the methods that will be used to detect the presence of counterfeiting and mixing non-halal elements in food, namely Multiplex PCR. Multiplex PCR is a modification of conventional PCR that uses more than one pair of primers simultaneously. This study aims to optimize the pcr condition of multiplex genes *ND5* rats and cows and conduct applied tests on samples of processed beef food.

This research is a type of descriptive research conducted from November 2021-March 2022 at the Genetics and Biotechnology Laboratory, Department of Biology FMIPA UNP. The primers used were Bosusrat-Forward, Bos-Reverse, and Mur_MA_Reverse primers that could detect the *ND5* gene (NADH dehydrogenase subunit 5) in mitochondrial DNA resulting in a bovine amplicon length of 134 bp and mice 520 bp. Optimization of multiplex PCR conditions was carried out with five variations of primary concentrations (combination of 0.2-0.6 μM), DMSO *adjuvants* (1-5%) and multiplex PCR method sensitivity tests. The optimum applied test of the PCR method was carried out on 10 samples of processed beef food.

The results showed that the optimum primary concentration was a Bosusrate-F primer of 0.8 μM , a primer of Mur_MA_R of 0.3 μM and a Bos-R of 0.5 μM , while the optimum DMSO concentration was 5%. Multiplex PCR sensitivity tests showed cow and mouse DNA was still detected at a *template* DNA concentration of 3.12 ng/ μl . Applied tests of 10 samples of processed beef food showed that no rat meat pollution was detected.

Keywords: Halal food, PCR Multiplex, *ND5*

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Optimasi Deteksi Cemarkan Daging Tikus Berbasis PCR Multipleks Pada Makanan Olahan Daging Sapi”. Shalawat beriring salam untuk Nabi Muhammad SAW sebagai junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Ibu Afifatul Achyar, S.Si., M. Si. sebagai pembimbing, yang telah memberikan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si., dan Ibu Siska Alicia Farma, S.Pd, M.Biomed sebagai tim dosen penguji yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dezi Handayani, S.Si., M.Si sebagai penasehat akademik yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan dan arahan selama proses perkuliahan sampai selesainya perkuliahan.
4. Bapak/Ibu dosen staf jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kepada kedua orang tua tercinta, Bapak dan Ibu untuk doa dan dukungan yang selalu mengiringi setiap langkah penulis.
6. Sahabat seperjuangan yaitu Cahaya Kamila Putri., Ruri Fitriyani, Frizkia Nolanda, Nurfadillatun Nisa Wijaya dan Aisyah Nabila, untuk semua dukungan dan bantuannya. Penulis bersyukur bisa berproses bersama kalian dalam penulisan skripsi ini.
7. Keluarga besar Biologi Sains 2018 yang selalu memberikan dukungan serta doanya.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi semua orang yang membacanya.

Padang, Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tikus	4
B. Sapi	6
C. Isolasi DNA (<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>).....	7
D. Teknik PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) Multipleks	8
E. Elektroforesis	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	14
A. Jenis penelitian.....	14
B. Waktu dan Tempat Penelitian	14
C. Alat dan Bahan.....	14
D. Prosedur Penelitian	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
A. HASIL.....	23
B. PEMBAHASAN	28
BAB V PENUTUP	32
A. Kesimpulan	32
B. Saran	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN	36

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Spesifikasi primer PCR Multipleks <i>ND5</i> tikus dan sapi	15
Tabel 2. Variasi Konsentrasi Primer PCR Multipleks	19
Tabel 3. Variasi Konsentrasi DMSO PCR Multipleks.....	19
Tabel 4. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA Sampel Makanan Olahan Daging Sapi.....	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Elektroferogram hasil optimasi konsentrasi primer variasi A-E	23
Gambar 2. Elektroferogram hasil optimasi konsentrasi DMSO variasi A-E	25
Gambar 3. Elektroferogram hasil uji sensitivitas program PCR Multipleks.....	26
Gambar 4. Elektroferogram hasil amplifikasi uji terapan terhadap sampel makanan.....	27

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Makanan merupakan kebutuhan pokok manusia yang sangat penting untuk meningkatkan kesehatan. Oleh karena itu, keamanan makanan sangat diperlukan agar tidak terjadi gangguan-gangguan kesehatan yang tidak diinginkan (Agustina, 2014). Keamanan makanan sendiri berkaitan erat dengan halal dan thayyiban. Thayyib artinya baik untuk tubuh, tidak merasa sakit atau muncul masalah lain setelah mengkonsumsinya (Farag, 2015). Sedangkan makanan halal adalah makanan yang diperbolehkan bagi seorang muslim mengkonsumsinya, selagi tidak menentang ajaran Al-quran dan Hadist (Charity, 2017).

Saat ini Pemerintah Indonesia menerapkan aturan pangan dan produk olahan asal hewan yang beredar di masyarakat harus memenuhi persyaratan ASUH yaitu aman, sehat, utuh dan halal. Hal ini karena banyaknya kasus pemalsuan dan pencampuran daging sapi dengan daging lainnya, yang disebabkan oleh mahalnya harga daging sapi (Ali *et al*, 2012). Salah satu bahan makanan yang tidak halal yang sering digunakan dalam kasus pemalsuan yaitu daging tikus. Berdasarkan investigasi yang dilakukan oleh liputan6.com pada tahun 2011, diketahui bahwa tikus yang digunakan oleh sebagian pemalsu yaitu tikus yang diburu di tempat pembuangan sampah.

Adapun karakteristik daging tikus yaitu berwarna merah dan memiliki serat yang begitu banyak, sehingga sulit dibedakan dengan kasat mata antara daging tikus dan daging sapi pada umumnya (Lidya, 2016). Deteksi adanya pemalsuan dan pencampuran unsur tidak halal ini menjadi hal yang penting untuk menjamin

keamanan dan kehalalan makanan. Sehingga diperlukan metode yang tepat untuk mendeteksi ada atau tidaknya pencampuran daging tidak halal pada produk makanan berbahan dasar daging sapi.

Ada beberapa metode analisis molekuler untuk mendeteksi keberadaan materi lain pada campuran olahan makanan, salah satunya yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR) konvensional (Ni'mah, 2016). PCR merupakan metode molekuler yang berfungsi menggandakan potongan DNA hingga berjuta kali lipat dalam waktu relatif singkat (Joko, 2011).

Salah satu modifikasi dari PCR konvensional yaitu PCR Multipleks. PCR Multipleks menggunakan beberapa set primer secara bersamaan dalam mengamplifikasi beberapa daerah target dalam satu kali reaksi (Butler, 2005). PCR Multipleks memiliki kemampuan meningkatkan efisiensi dalam analisis simultan spesies hewan, dan dapat bekerja pada gen target secara bersamaan sehingga dapat mengurangi biaya dan waktu dalam pengerjaannya (Ali, 2014). PCR Multipleks perlu dioptimasi terlebih dahulu dari berbagai komponen PCR secara bertahap, tujuannya untuk memastikan bahwa pengujian sensitif sebagaimana diperlukan dan spesifik untuk target yang diinginkan agar pengujian efektif dan efisien. Optimasi yang dilakukan antara lain optimasi konsentrasi primer, optimasi konsentrasi DNA *template* dan penambahan *adjuvant* seperti dimetil sulfoksida (DMSO) (Siswanto, 2019). Dimetil sulfoksida (DMSO) berguna untuk mempengaruhi dari ikatan hidrogen, sehingga dapat memfasilitasi terjadinya pemisahan untai, menurunkan suhu T_m , dan meningkatkan spesifisitas ikatan pasang primer (Frackman, 1998).

Sejalan dengan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian dengan judul “Optimasi Deteksi Cemarkan Daging Tikus Berbasis PCR Multipleks Pada Makanan Olahan Daging Sapi” untuk mengembangkan pengujian produk halal berbasis molekuler di laboratorium dengan waktu yang lebih singkat.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana kondisi PCR Multipleks yang optimum untuk mengamplifikasi gen *ND5* tikus dan sapi secara simultan?
2. Bagaimanakah hasil uji terapan deteksi kontaminasi daging tikus pada olahan makanan berbahan dasar daging sapi dengan PCR Multipleks?

C. Tujuan Penelitian

1. Memperoleh kondisi optimum PCR Multipleks untuk deteksi gen *ND5* tikus dan sapi secara simultan.
2. Melakukan uji terapan PCR Multipleks untuk deteksi kontaminasi daging tikus terhadap olahan makanan berbahan dasar daging sapi.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian dapat dijadikan sebagai informasi serta referensi untuk penelitian sebidang selanjutnya.