

**ANALISIS GEN PARSIAL *RAB4A* dan GEN *SPHAR*
PADA DAGING SAPI (*Bos taurus*) (Blakely & Bade,
1992) & BABI (*Sus scrofa domestica*) (Erxleben, 1777)
UNTUK DETEKSI KEHALALAN**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



disusun oleh:
Clara Maulanda Iskandar
11640031

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2016**

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Clara Maulanda Iskandar

NIM : 11640031

Judul Skripsi : Analisis Gen Parsial *Rab4a* dan Gen *SPHAR* pada Daging Sapi (*Bos taurus*) (Blakely & Bade, 1992) & Babi (*Sus scrofa domestica*) (Erleben, 1777) Untuk Deteksi Kehalalan.

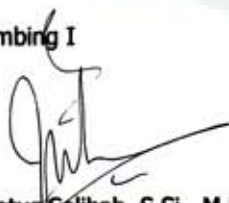
sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 9 Agustus 2016

Pembimbing I



Jumailatus Solihah, S.Si., M.Biotech

NIP. 19760624 200501 2 007

Pembimbing II



Anti Damayanti H, M.MolBio

NIP. 19810522 200604 2 005



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

FM-UINSK-BM-05-07/R0

PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/3112/2016

Skrripsi/Tugas Akhir dengan judul : Analisis Gen Parsial *Rab4a* dan Gen *SPHAR* pada Daging Sapi (*Bos taurus*) (Blakely & Bade, 1992) & Babi (*Sus scrofa domestica*) (Erxleben, 1777) untuk Deteksi Kehalalan

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Nama : Clara Maulanda Iskandar
NIM : 11640031
Telah dimunaqasyahkan pada : 25 Agustus 2016
Nilai Munaqasyah : A -
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

Ketua Sidang

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Biotech
NIP.19760624 200501 2 007

Penguji I

Anti Damayanti H., S.Si, M.MolBio
NIP.19810522 200604 2 005

Penguji II

Najda Rifqiyati, S.Si, M.Si
NIP.19790523 200901 2 008

Yogyakarta, 5 September 2016
UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
Dekan



Dr. Murtono, M.Si
NIP.19691212 200003 1 001

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Clara Maulanda Iskandar

NIM : 11640031

Prodi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah. Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan yang berlaku, apabila dikemudian hari ditemukan adanya plagiat dalam skripsi ini.

Yogyakarta, 1 Agustus 2016



Clara Maulanda Iskandar
NIM.11640031

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil ‘alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT, Tuhan semesta alam yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya selama pelaksanaan penyusunan skripsi dengan judul “Analisis Gen Parsial *Rab4a* dan Gen *SPHAR* pada Daging Sapi (*Bos taurus*) (Blakely & Bade, 1992) & Babi (*Sus scrofa domestica*) (Erxleben,1777) Untuk Deteksi Kehalalan” hingga terselesaikannya pembuatan laporan skripsi ini. Skripsi ini merupakan tugas akhir sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang Biologi di UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Kemudahan dan kelancaran pelaksanaan skripsi serta penyusunan laporan ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Pada kesempatan ini dengan penuh rasa hormat dan rendah hati, penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada :

1. Dr. Murtono, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Siti Aisah M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Ibu Ika Nugraheni selaku dosen pembimbing akademik, ibu Jumailatus Solihah sebagai dosen pembimbing I dan ibu Anti Damayanti selaku dosen pembimbing II.
4. Seluruh Dosen dan Staf di Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
5. Keluargaku Tercinta Ayahanda Firmansyah, Ibunda Erminningsih dan adik tersayang Salman Angkasa Erfinsyah. Mami tersayang Sri Wahyuni, Tante Siti Nurbaya dan Om Irsan Nuhantoro beserta Adikku Radithya dan Radya. Tante Herniningsih dan Om Asep Ruswanda beserta Adikku Eka dan Dewi. Kakak tercinta Muzayyanah. Seluruh keluarga besar Bapak Abdul Latif dan Na’isa.
6. Keponakan tersayang Abshari Syafi Danurwenda. Sahabat-sahabat pesantren Khoirun Nisa’ Niswatun Aziza, Adriana Nufus Ameliani, Ayu Tia Elyassa, Asti Sekar Wening, Nunung Idam Maftucha, Faradilla Aziza, Osi Krisna

Wati, Ratna Tri Purwanti, Siti Wilda S. N., kesayangan Mohammad Romadhon Sulkan yang selalu menyayangi dan menyemangati penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.

7. Teman-teman seperjuangan Kingdom of Biologi angkatan 2011, terimakasih atas semangat, tawa dan bahagia yang diberikan selama 4 tahun ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi rekan-rekan mahasiswa di Program Studi Biologi pada khususnya dan bagi pihak-pihak yang memerlukan pada umumnya. Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna serta banyak kekurangannya, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat obyektif dan membangun guna kesempurnaan skripsi ini.

Penulis

MOTTO

"Jika Setiap Langkah yang Kau Jejak Karena Do'a Bundamu,

Maka Allah Meridhoi Jalanmu"

"Karena Sukses Melihat Usahamu Bukan Siapa Dirimu"

(Clara Maulanda Iskandar)

Halaman Persembahan

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Almamater tercinta UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta, dosen pembimbing ibu Jumailatus Solihah dan ibu Anti Damayanti H yang telah sabar membimbing penulis selama mengerjakan skripsi serta ibu Najda Rifqiyati yang telah bersedia menjadi penguji II ketika munaqosyah dan membimbing perbaikan penulisan dalam skripsi.
2. Belahan jiwa Ibundaku tersayang Dra. Erminingsih dengan cinta dan kasihnya yang selalu mendo'akan setiap jalan yang ditempuh penulis hingga terselesaikannya skripsi ini. Ayahanda tercinta Firmansyah yang selalu menyertai penulis dengan do'a agar segera mendapatkan gelar sarjana. Adikku tersayang Angkasa yang selalu menjadi alasan penulis untuk kembali kerumah.
3. Kesayanganku Ngundap atas segala gelak tawa ditengah-tengah jenuhnya dalam menyusun skripsi dan kesabarannya menanti penulis sehingga dapat meraih gelar sarjana bersama-sama.
4. Saudara, kesayangan dan sahabat santri-santri pesantren Khoirun Nisa', Akak Meli, Kebo, Lola, Anis, Osi, Tante, Koncreng, Bude dan Nunay yang menjadi persinggahan dan curahan hati penulis selama menyusun skripsi. Ponakan tante tersayang Abang Syafi yang selalu menjadi semangat dan alasan untuk kembali tersenyum dalam segala kejenuhan.

5. Seluruh keluarga Kingdom of Biology yang telah menjadi keluarga baru dengan segala canda dan tawa. Terimakasih untuk kisah terindah selama 5 tahun di Yogyakarta.
6. Teman dan sahabat di Bali yang senantiasa mendukung penulis untuk segera menyelesaikan skripsi ini.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN MOTTO	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan	5
D. Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Metode Deteksi Kehalalan Daging	7
1. Metode Morfologi	7
2. Metode Kimiawi	8
3. Metode Berbasis PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	10
B. Optimasi PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	11
C. Gen <i>Rab4a</i>	12
D. Gen <i>SPHAR</i>	13
BAB III METODE PENELITIAN	16
A. Waktu dan lokasi penelitian	16
B. Alat dan bahan	16
C. Prosedur Kerja	16
1. Desain Primer	16
2. Preparasi Sampel	17
3. Isolasi DNA	17
4. Reaksi PCR	18
5. Elektroforesis	19
D. Analisis Data	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
A. Desain dan Seleksi Primer	21
B. Optimasi PCR (<i>Polymerase Chain reaction</i>)	22
C. Amplifikasi Gen dengan Primer A dan B	24
D. Amplifikasi Gen dengan Primer C	26
BAB V PENUTUP	54
A. Kesimpulan	29
B. Saran	29

DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN.....	35



DAFTAR TABEL

Komponen Reaksi PCR	19
Hasil Desain Primer	21
Program PCR Pada Mesin PCR	23
Hasil PCR Primer Gen Parsial Rab4a <i>Bos taurus</i> (Primer A)	26
Hasil PCR dengan Primer Gen <i>SPHAR Bos taurus</i> (Primer C)	28



DAFTAR GAMBAR

Perbedaan Penampakan Daging Sapi & Babi	8
Peta Kromosom Gen <i>Rab4a</i> <i>Bos taurus</i> & <i>Sus scrofa</i>	13
Peta Kromosom Gen <i>SPHAR</i> <i>Bos taurus</i>	14
Hasil Elektroforesis Amplifikasi DNA Primer A & B	25
Hasil Elektroforesis Amplifikasi DNA Primer C	27



DAFTAR LAMPIRAN

ISOLASI DNA	35
A. Nilai Kualitas & Konsentrasi Isolasi DNA ke-1	35
B. Nilai Kualitas & Konsentrasi Isolasi DNA ke-2.....	35
C. Nilai Kualitas & Konsentrasi Isolasi DNA ke-3	35
D. Nilai Kualitas & Konsentrasi Isolasi DNA ke-4	36
E. Nilai Kualitas & Konsentrasi Isolasi DNA ke-5.....	36
PROFIL KUALITAS DNA	37
A. Hasil Elektroforesis Isolasi DNA ke-3.....	37
B. Hasil Elektroforesis Isolasi DNA ke-5.....	37
C. Hasil Elektroforesis Isolasi DNA ke-5 (lanjutan).....	37
AMPLIFIKASI GEN PARSIAL <i>RAB4A</i> & GEN <i>SPHAR</i>	38
A. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-1	38
B. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-2	38
C. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-3	39
D. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-4	39
E. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-5	40

Analisis Gen Parsial *Rab4a* dan Gen *SPHAR* pada Sapi (*Bos taurus*) (Blakely & Bade, 1992) & Babi (*Sus scrofa domestica*) (Erxleben,1777) Untuk Deteksi Kehalalan

Clara Maulanda Iskandar
11640031

Abstrak

Pencampuran daging sapi giling dengan daging babi terjadi di beberapa kasus, sehingga perlu adanya metode untuk mendeteksi keberadaan daging babi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* (*S-phase response*) sebagai marker pada daging sapi (*Bos taurus*) dengan babi (*Sus scrofa domestica*) untuk deteksi kehalalan daging giling ditinjau dari variasi ukuran dan keberadaan amplikon. Penelitian ini menggunakan metode berbasis PCR dengan sumber sekuen gen parsial *Rab4a* pada spesies sapi (*Bos taurus*) dan babi (*Sus scrofa*) dan mentargetkan pada sekuen daerah intron pada gen yang memiliki variasi sekuen yang tinggi. Identifikasi daging dengan menggunakan primer A, primer B dan primer C. Visualisasi DNA menunjukkan bahwa amplifikasi dengan menggunakan primer A menghasilkan amplikon dengan panjang 150 bp dan 280 bp untuk sampel daging sapi. Primer C juga dapat dijadikan marker identifikasi daging sapi ditandai dengan munculnya amplikon dengan panjang 260 bp, 270 bp dan 550 bp. Primer B tidak dapat dijadikan sebagai marker karena amplikon tidak muncul secara spesifik untuk daging babi. Kesimpulannya adalah primer A memiliki potensi sebagai marker untuk mendeteksi kehalalan daging sapi.

Kata Kunci : Daging Babi, Deteksi Kehalalan, Gen Parsial *Rab4a*, Gen *SPHAR*, Metode PCR.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Indonesia merupakan negara dengan mayoritas penduduknya beragama muslim. Islam mengajarkan untuk mengkonsumsi makanan yang baik dan halal. Allah SWT berfirman dalam surat Al-Ma'idah ayat 88, *"Dan makanlah dari apa yang telah diberikan Allah kepadamu sebagai rezeki yang halal dan baik, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya"*. Surat Al-Baqarah ayat 173 juga menjelaskan tentang makanan yang haram, *"Hanya yang diharamkan atas kamu ialah bangkai, darah, daging babi dan hewan yang disembelih bukan dengan nama Allah melainkan dengan nama berhala. Tetapi barang siapa yang terpaksa memakannya, sedang ia tiada aniaya dan tiada pula melampaui batas, maka tak ada dosa terhadapnya. Sungguh Allah Maha Pengampun Lagi Maha Penyayang"*. Berdasarkan ayat tersebut wajib bagi setiap muslim untuk menjaga kehalalan produk makanan.

Akan tetapi banyak penemuan terkait produk makanan yang mengandung campuran bahan yang tidak sesuai dengan yang tercantum dalam kemasan. Bahkan BPPOM telah menemukan pencampuran daging sapi dengan daging babi seperti dalam bentuk makanan olahan abon dan dendeng. Produk tersebut telah tersebar di berbagai pusat perbelanjaan kota-kota besar (Republika, 17 April 2009). Selain produk olahan,

makanan pencampuran bahan daging babi dalam keadaan segar dengan daging sapi juga pernah terjadi (Erwanto *et al.*, 2011).

Sebenarnya daging sapi dan babi dapat dibedakan berdasarkan dengan morfologi daging tersebut. Perbedaannya dapat dilihat dari serat daging, warna daging, aroma maupun lemak daging. Akan tetapi apabila sudah dicampur dalam bentuk gilingan, kedua daging tersebut akan sangat sulit dibedakan. Oleh karena itu, muncul berbagai metode deteksi kehalalan daging giling.

Salah satu metode deteksi kehalalan daging giling yang berkembang adalah metode kimiawi. Metode tersebut adalah *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) yang digunakan untuk mendeteksi kandungan lemak babi, akan tetapi aplikasinya membutuhkan preparasi sampel yang tidak mudah (Rohman *et al.*, 2011).

Metode deteksi kehalalan lain yang berkembang yakni berbasis molekular. Teknik molekular yang telah berkembang dalam dua dekade terakhir memungkinkan pengembangan metode yang memudahkan autentifikasi dan *reliable* untuk identifikasi jenis daging (Girish *et al.*, 2005). Metode-metode tersebut adalah hibridisasi DNA, PCR-RAPD (*Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA*), PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) dan PCR dengan primer spesifik.

Hasil penelitian Erwanto *et al.*, (2011) telah mampu membuktikan kemampuan deteksi DNA melalui metode PCR-RFLP untuk mendeteksi

kontaminasi babi pada produk pangan. Deteksi kontaminasi unsur babi sampai level 1% dapat dideteksi keberadaanya pada produk pangan yang dilakukan di laboratorium (Aida *et al.*, 2005; Erwanto *et al.*, 2011; Erwanto *et al.*, 2012). Akan tetapi, metode PCR-RFLP cukup kompleks karena PCR itu sendiri harus dilanjutkan dengan pemotongan DNA hasil PCR dengan enzim restriksi (Rohman *et al.*, 2011). Oleh karena itu diperlukan metode yang lebih sederhana untuk mendeteksi kehalalan daging giling.

Salah satu metode berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang sederhana adalah dengan menggunakan primer spesifik. Sebagai contoh yaitu sekuen gen *cytochrome b* dan gen leptin yang dapat dimanfaatkan untuk mendeteksi adanya campuran daging babi pada daging giling (Safitri & Agustin, 2015). Gen *cytochrome b* digunakan sebagai marker biologi dalam mengidentifikasi jenis daging dan mengungkapkan bahwa kandungan daging babi sampai level 1% dapat tercerna dengan baik (Erwanto *et al.*, 2007; Ong *et al.*, 2007). Produk akhir yang dihasilkan adalah visualisasi perbandingan variasi ukuran ampikon dan deteksi keberadaan gen target menggunakan elektroforesis.

Potensi sekuen genom atau gen untuk dikembangkan sebagai marker dalam deteksi keberadaan daging babi dengan nilai akurasi yang masih sangat tinggi. Gen target yang berpotensi digunakan sebagai marker adalah kelompok gen *ortholog*. Analisa/deteksi secara molekul pada gen-gen yang bersifat *ortholog* banyak digunakan sebagai marker untuk mendeteksi suatu spesies, salah satunya adalah gen *Rab4a*. Gen tersebut memiliki

fungsi penting dalam sel. Menurut Goueli *et al.*, (2012), *Rab4a* menyandi protein regulator yang penting dalam proses daur ulang jalur endositik ke membran plasma. GTPase *Rab4a*, yakni TBC1D16 mampu mengatur reseptor dalam transfer daur ulang pada proses endositosis dan *signalling* pada reseptor EGF (EGFR). Gen *Rab4a* termasuk kelompok RAS onkogen dan terlibat sistem perbaikan DNA.

Selain gen *Rab4a*, terdapat pula gen lain yang dapat digunakan sebagai marker untuk identifikasi. Salah satunya adalah kelompok gen *orphan*, seperti gen *SPHAR* (*S-phase response*). Gen *SPHAR* adalah gen yang terlibat dalam fungsi regulasi sintesis DNA dan diekspresikan di semua jaringan tubuh (Digweed *et al.*, 1995). Gen tersebut dapat digunakan sebagai marker karena memiliki sekuens yang spesifik. Akan tetapi, gen *orphan* memiliki variasi sekuens cukup tinggi dan tingkat homologi yang sangat rendah. Secara khas kelompok gen *orphan* berkontribusi antara 10% sampai 30% dari semua gen pada genom. Karakterisasi fungsi gen *orphan* masih sangat sedikit dan pada sebagian besar primata hanya sedikit data dan fungsi yang sudah diketahui (Daubin & Ochman 2004; Domazet-Loso *et al.*, 2007).

Sampel penelitian yang digunakan adalah daging giling sapi (*Bos taurus*) dan babi ternak (*Sus scrofa domestica*). Sumber sekuens untuk desain primer salah satunya berasal dari babi hutan (*Sus scrofa*). Babi hutan dan babi ternak memiliki tingkat kemiripan sekuens yang cukup tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai sekuens untuk desain primer. Gen

target yang digunakan sebagai marker identifikasi adalah daerah intron gen *Rab4a* dan gen *SPHAR* (*S-phase response*). Sapi (*Bos taurus*) dan babi (*Sus scrofa domestica*), masing-masing memiliki gen *Rab4a*. Akan tetapi berdasarkan pada genom babi, hanya gen *Rab4a* yang terdeteksi sedangkan keberadaan gen *SPHAR* tidak terdeteksi. Gen *SPHAR* hanya terdeteksi pada genom sapi yang berada pada daerah intron gen *Rab4a* dengan panjang 300 bp (www.ncbi.nlm.nih.gov). Oleh karena itu, keunikan sekuen kedua gen tersebut dapat berpotensi sebagai marker untuk mengidentifikasi adanya kandungan atau campuran daging babi dalam daging sapi giling.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana potensi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* (*S-phase response*) sebagai marker pada daging sapi (*Bos taurus*) dan babi (*Sus scrofa domestica*) untuk deteksi kehalalan daging giling ditinjau dari variasi ukuran dan keberadaan amplikon?

C. Tujuan Penelitian

Mengetahui potensi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* (*S-phase response*) sebagai marker pada daging sapi (*Bos taurus*) dan babi (*Sus scrofa domestica*) untuk deteksi kehalalan daging giling ditinjau dari variasi ukuran dan keberadaan amplikon.

D. Manfaat Penelitian

Sebagai salah satu metode sederhana dan cepat untuk mendeteksi kehalalan daging giling berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) berupa profil dengan nilai akurasi yang lebih tinggi.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Sekuen gen *Rab4a* sapi (*Bos taurus*) (Primer A) berpotensi digunakan sebagai marker untuk mendeteksi kehalalan daging sapi giling dengan variasi ukuran ampikon 200 bp dan 280 bp (*Bos taurus*) dan 150 bp (*Sus scrofa*) dengan urutan sekuens primer TGTCTGACTCTTTGCGACC (*Forward*) dan GACCTGAGAGAAGGGGGGGG (*Reverse*). Ampikon pada sekuen gen *SPHAR* sapi (*Bos Taurus*) (Primer C) muncul pada sampel babi (170 bp, 200 bp, 250 bp, 260 bp, 300 bp dan 550 bp) dengan akurasi yang rendah karena disebabkan oleh ampikon yang dihasilkan banyak dan tidak spesifik.

B. Saran

Potensi sekuen primer gen *SPHAR Bos taurus* dan primer gen parsial *Rab4a Sus scrofa* dapat ditinjau kembali dengan metode yang lain untuk memperkuat potensi primer tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aida, A.A., Y.B. Che-Man, Y.B., Wong, C.M. V.L., Raha, A.R. & Son, R. (2005), Analysis of raw meats and fats of pig using polymerase chain reaction for halal authentication, *Meat Science* 69:47-52.
- Ali Muhammed, M., B.Sri Charan Bindu, R. Jini, K. V. Harish Prashanth & N. Bhaskar, (2015), Evaluation of Different DNA Extraction Method for The Detection of Adulteration in Raw and Processed Meat Through Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP), *Journal of Food Science and Technology*, 52:514-520.
- Barnes, M., Wayne. (1994), *PCR amplification of up to 35-kb DNA with high fidelity and high yield from bacteriophage templates*, Proc. of the Natl. Acad. of Sci. of the USA 91 : 22162220.
- Beck, S., 1998, *High Fidelity PCR : Enhancing the Accuracy of DNA Amplification*, The Scientist 12[1] : 17.
- Borah, P. (2011). Primer Designing for PCR. *Science Vision* 11 (3): P. 134 -136.
- Cheng, S., Fockler, C., Barnes, M.W., & Higuchi, R., (1994). "Effective amplification of long target from cloned inserts and human genomic DNA". *Proc. of the Natl. Acad. of Sci. of the USA* 91 : 5695-5699.
- Cheng, S., & Kolmodin, L.A., (1997), XL PCR amplification of long targets from genomic DNA, *Methods in Molecular Biology : PCR Cloning Protocols*, edited by Bruce A. White, 67, Humana Press, Totowa, New Jersey, page 17 – 29.
- Daubin V & Ochman H. (2004), Bacterial genomes as new gene homes: the genealogy of ORFans in E. coli. *Genome Res.* 14:1036–1042.
- Digweed M, Gunthert U, Schneider R, Seyschab H, Friedl R & Sperling K. (1995). Irreversible repression of DNA synthesis in Fanconi anemia cells is alleviated by the product of a novel cyclin-related gene. *Mol Cell Biol.* 15:305–314.
- Domazet-Loso T, Brajkovic J & Tautz D. (2007). A phylostratigraphy approach to uncover the genomic history of major adaptations in metazoan lineages. *Trends Genet.* 23:533–539.

- Domazet-Loso T & Tautz D. (2003). An evolutionary analysis of orphan genes in *Drosophila*. *Genome Res.* 13:2213–2219.
- Erwanto, Y., Rusman dan A. B. Witarto. (2007). *Identifikasi daging babi dengan PCR-RFLP sebagai acuan untuk menentukan status kehalalan*. Prosiding Seminar Cluster Agro LPPM-UGM. 30 November 2007.
- Erwanto, Y., Abidin, M.Z., Siswindari, and Rohman, A., (2012), Pig Species Identification in Meatballs Using Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism for Halal Authentication, *International Food Research Journal*, 19 (3), p.901-906.
- Espinoza., EO., Kirms., MA., Filipek., MS., (1996). Identification and Quantitaion of Source from Hemoglobin of Bood and Blood Mixtures by High Performance Liquid Chromatography. *Journal Forensic Sciences*. 41 (5): 804-811.
- Fischer D. & Eisenberg D. (1999). Finding families for genomic ORFans. *Bioinformatics*. 15:759–762.
- Fontanesi, L., Scotti, E. & Russo, V. (2008). Differences of the Porcine Amelogenin X and Y chromosome genes (AMELX and AMELY) and their application for sex determination in pigs. *Molecular Reproduction and Development* 75:1662–1668.
- Girish, P.S., Anjaneyuhu, A.S.R., Viswas, K.N., Shivakumar, B.M., Anand, M., Patel, M. & Sharma, B. (2005). Meat spesies identification by polymerase chain reaction-restriction fragmen length polymorphism (PCR-RFLP) of mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Science*. 70:107-112.
- Goueli Basem, S., Marianne Broome Powell., Elizabeth C. Finger & Suzanne R. Pfeffer., (2012). TBC1D16 is a Rab4A GTPase activating protein that regulates receptor recycling and EGF receptor signaling. *PNAS Direct Submission*. (109)39:15787-15792.
- Hatch F. T., Knize M. G., Healy S. K., Slezak T. & Felton J. S. (1988). Cooked-food mutagen reference list and index. *Enviromental Molecular Mutagenesis*. 12. [-85].
- Handoyo, D. & Rudiretna, A. (2000). *Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR) [General Principles and Implementation of Polymerase Chain Reaction]*. Unitas, 9(1): P. 17-29.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, diakses pada tanggal 2 Oktober 2015 pada jam 20:30 WIB.

<http://www.macroevolution.net>, diakses pada tanggal 8 Agustus 2016 pada jam 11.48 WIB.

Innis, A.M., & Gelfand, H.D., (1990). "Optimization of PCRs", *PCR Protocols : A Guide to Methods and Applications*.

Irwandi J., Saeed M.E., Torla, H., & Zaki, M., (2003) Determination of Lard in Mixture of body fats of Mutton and Cow by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *J. Oleo Sci.*, Vol 52, No. 12, 633-638.

Knize M. G., R. Sinha, N.Rothman., E. D Brown, C. P. Salmon., O. A. Levander., P. L Cunningham & J. S. Felton., (1995), Heterocyclic Amine Content in Fast-food Meat Products, *Journal Chemical Toxic*, Vol 33 : No 7.

Langen, M., Peters, U., Körner, U., Gissel, C., Stanislawski, D. & Klein, G. (2010). Detection of male pork tissue in meat and meat products by PCR. *Meat Science* 86: 821-824.

Matsunaga, T., K. Chikuni, R. Tanabe, S. Muroya, K. Shibata, J. Yamada, & Y.Shinmura. (1999). A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science* 51: 143-148. (15).

Mitchell, G. A., & Dunnavan, G. (1998). Illegal Use of b-adrenergic agonists in the United States. *Journal of Animal Science*, 76, 208–211.

Newton, C.R., & Graham,A., (1997), *PCR*, 2nd edition, BIOS Scientific Publisher Limited, UK.

Ong, S.B., Zuraini, M.I., Jurin, W.G., Cheah, Y.K., Tunung, R., Chai, L.C., Haryani, Y., Ghazali, F.M. & Son, R. (2007). Meat molecular detection: sensitivity of polymerase chain reaction-restriction fragmen length polymorphism in species differentiation of meat from animal origin. *ASEAN Food Journal* 14(1): 51-59.

Republika (2009), *Dendeng babi ditemukan lagi*, Harian Umum Republika on line. Diakses pada tanggal 17 April 2015.

Riasari, J. R., (2014). *Perbedaan Karakteristik Daging Sapi dan Daging Babi*. diakses 5 Juni 2016 dari <https://www.academia.edu/diktat-pengetahuan-bahan-pangan>.

- Rohman, A., Erwanto, Y., Sisindari & Jacob, C.M. (2011). Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. *Meat Science*. 88:91-95.
- Sack N. Michael., (2010), Rab4a Signaling Unmasks a Pivotal Link Between Myocardial Homeostasis and metabolic remodeling in the diabetic heart. *J Mol Cell Cardiol*. 49(6):908-910.
- Safitri, K. N., & Agustin, K. W., (2015). Deteksi Cemaran Babi Pada Produk Sosis Sapi dengan Metode PCR. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3 No 3 p.1006-1014.
- Sambrook, J. & Russel. (2001). *Molecular Cloning – A Laboratory Manual*. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sambrook J, Fritsch EF & Maniatis T (2006) *Molecular cloning, a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Saputra, R. (2015). Implementasi Metode Wavelet Haar dan Probabilistic Neural Network (PNN) Untuk Pengenalan Citra Daging Babi dan Daging Sapi. [Skripsi]. Pekanbaru: UIN Sultan Syarif Kasim Riau.
- Shirakawa, R., Yoshioka, A., Horiuchi, H., Nishioka, H., Tabuchi, A. & Kita, T. (2000). Small GTPase Rab4 regulates Ca²⁺-induced alpha-granule secretion in platelets. *J. Biol. Chem*. 275, 33844–33849.
- Sulistyaningsih, E. (2007). Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Manajemen Penyakit Infeksi. *Biomedis*. 1(1): P. 17-25.
- Stenmark H. (2009) Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 10:513–525.
- Striegel, M. P., & Jo Hill. (1958). *Thin-Layer Chromatography for Binding Media Analysis*. United States of America : Library of Congress Cataloging-in-Publication Data.
- Varnam, A. H. & Sutherland, J. P. (1995). In *Meat and Meat Products*. Chapman & Hall : London.

Zhang G, Wang H, Shi J, Wang X, Zheng H, Wong GK, Clark T, Wang W, Wang J & Kang L. (2007). Identification and characterization of insect-specific proteins by genome data analysis. *BMC Genomics*. 8:93.



LAMPIRAN

1. Isolasi DNA

a. Nilai Kualitas dan Konsentrasi Isolasi DNA ke-1

No	Nama Sampel	Nilai OD 260 (nm)	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	A260/A280 (nm)
1	Sapi	0,015	75,0533	0,6858
2	Babi	0,029	144,4295	1,4203
3	Sapi+Babi	0,009	43,8541	1,0967
4	Sapi	0,004	20,9299	6,2313
5	Babi	0,005	27,0727	0,8169
6	Sapi+Babi	0,010	51,8192	2,4005

b. Nilai Kualitas dan Konsentrasi Isolasi DNA ke-2

No	Nama Sampel	Nilai OD 260 (nm)	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	A260/A280 (nm)
1	Sapi	-0,001	-1,7289	0,1898
2	Sapi	-0,004	-11,1888	1,2284
3	Babi	0,010	25,8260	0,0000

c. Nilai Kualitas dan Konsentrasi Isolasi DNA ke-3

No	Nama Sampel	Nilai OD 260 (nm)	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	A260/A280 (nm)
1	Sapi+Babi	0,138	344,3951	1,0328
2	Sapi+Babi	0,149	373,5677	0,9850
3	Sapi+Babi	0,164	409,6420	1,0013
4	Sapi+Babi	0,165	412,9074	1,0388
5	Sapi+Babi	0,161	402,7355	1,0425
6	Babi	0,156	390,6537	1,0364
7	Babi	0,154	385,4598	1,0504
8	Babi	0,154	383,8666	1,0661
9	Babi	0,135	338,2719	1,0400
10	Babi	0,128	320,8573	1,0189
11	Sapi	0,062	155,6923	1,3832
12	Sapi	0,067	167,8562	1,5259
13	Sapi	0,062	155,6923	1,2374

d. Nilai Kualitas dan Kuantitas Isolasi DNA ke-4

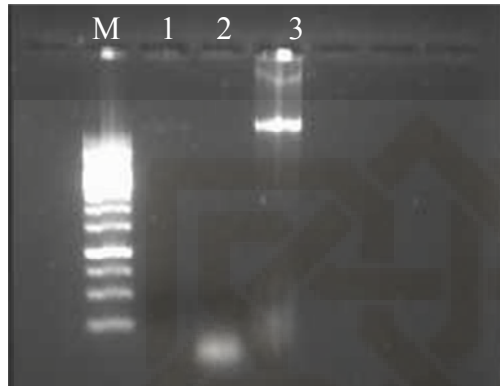
No	Nama Sampel	Nilai OD 260 (nm)	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	A260/A280 (nm)
1	Sapi	0,040	2,0218	1,9922
2	Sapi	0,040	1,9750	1,6048
3	Sapi	0,038	1,9096	1,7172
4	Babi	0,035	1,7424	1,3252
5	Babi	0,036	1,7794	1,5237
6	Babi	0,029	1,4573	1,1643

e. Nilai Kualitas dan Kuantitas Isolasi DNA ke-5

No	Nama Sampel	Nilai OD 260 (nm)	Konsentrasi DNA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	A260/A280 (nm)
1	Sapi	3,596	8989,8516	1,3606
2	Sapi	3,562	8903,9775	1,3564
3	Babi	0,563	1408,2979	1,6323
4	Babi	0,569	1423,5094	1,6520
5	Sapi+Babi	0,419	1047,5402	1,5680
6	Sapi+Babi	0,422	1053,9010	1,5725
7	Sapi	0,167	418,2480	1,2009
8	Sapi	0,164	411,1662	1,1441
9	Babi	3,117	7792,5889	1,418
10	Babi	3,112	7779,3218	1,412
11	Sapi+Babi	0,176	440,457	1,1896
12	Sapi+Babi	0,182	455,517	1,2280

2. Profil Kualitas Isolasi DNA

a. Hasil Elektroforesis Isolasi DNA ke-3



Keterangan. *Lane M*: Marker; *Lane 1*: Sapi; *Lane 2*: Babi; *Lane 3*: Sapi+Babi.

b. Hasil Elektroforesis Isolasi DNA ke-5

Hasil elektroforesis isolasi DNA ke-5 tidak diperlihatkan. Merupakan profil isolasi DNA dengan banyaknya *smear* yang terlihat pada 3 sampel ulangan pertama, yaitu sapi, babi dan campuran. Sedangkan sampel ulangan kedua (sapi, babi dan campuran) tidak terlihat *band* yang muncul, sehingga perlu dilakukan elektroforesis ulang.

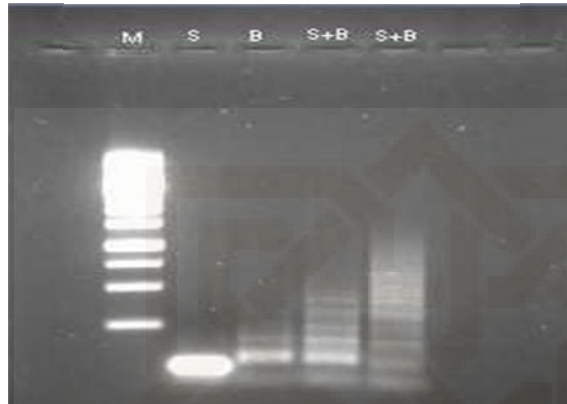
c. Hasil Elektroforesis Isolasi DNA ke-5 (lanjutan)



Keterangan. *Lane 1*: Marker; *Lane 2 & Lane 3*: Isolasi DNA sapi; *Lane 4 & Lane 5*: Isolasi DNA babi; *Lane 6 & Lane 7*: Isolasi DNA Sapi+Babi.

3. Amplifikasi Gen Parsial *Rab4a* dan Gen *SPHAR*

a. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-1



Keterangan. Hasil amplifikasi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* daging sapi (*Bos taurus*) dan daging babi (*Sus scrofa domestica*) dengan primer spesifik & suhu *annealing* 56°C pada agarosa 0,8%. Lane M: 1Kbp Marker (Microzone Ltd); Lane S: Sapi dengan multiplex primer A & C; Lane B: Babi dengan primer B; Lane S+B: Sapi+Babi dengan multiplex primer A & B.

b. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-2



Keterangan. Hasil amplifikasi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* daging sapi (*Bos taurus*) dan daging babi (*Sus scrofa domestica*) dengan primer spesifik & suhu *annealing* 56°C pada agarosa 1% dan penambahan 1 mM MgCl₂. Lane M: 1Kbp Marker (Microzone Ltd); Lane S1 & S2: Sapi dengan multiplex primer A & C; Lane B1 & B2: Babi dengan primer B; Lane SB1 & SB2: Sapi+Babi dengan primer A & B.

c. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-3



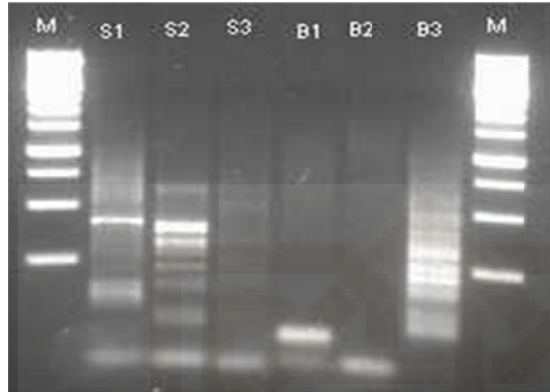
Keterangan. Hasil amplifikasi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* daging sapi (*Bos taurus*) dan daging babi (*Sus scrofa domestica*) dengan primer spesifik & suhu *annealing* 56⁰C pada agarosa 1% dan penambahan 1 mM MgCl₂. Lane M: 1Kbp Marker (Microzone Ltd); Lane S: Sapi dengan multiplex primer gen A & C; Lane B: Babi dengan primer B; Lane SB1 & SB2: Sapi+Babi dengan multiplex primer A & B.

d. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-4



Keterangan. Hasil amplifikasi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* daging sapi (*Bos taurus*) dan daging babi (*Sus scrofa domestica*) dengan primer spesifik & suhu *annealing* 57⁰C pada agarosa 1,5% dan penambahan 1 mM MgCl₂. M: 1Kbp Marker (Microzone Ltd); Lane S: Sapi dengan multiplex primer A & C; Lane B: Babi dengan primer B; Lane SB1 dan SB2: Sapi+Babi dengan multiplex primer A & B.

e. Hasil Elektroforesis Optimasi PCR ke-5



(a)

Keterangan. Hasil amplifikasi gen parsial *Rab4a* dan gen *SPHAR* daging sapi (*Bos taurus*) dan daging babi (*Sus scrofa domestica*) menggunakan primer spesifik gen tersebut dengan suhu *annealing* 57°C pada agarosa 1,2% dan penambahan 1 mM MgCl₂. Lane M: 1Kbp Marker (Microzone Ltd); Lane S1 & B1: Sapi & Babi dengan primer A. Lane S2 & B2 : Sapi & Babi dengan primer C. Lane S3 & B3: Sapi & Babi dengan primer B, Lane M: 1Kbp Marker (Microzone Ltd).



(b)

(b) Lane M: 1Kbp Marker (Microzone Ltd); Lane SB1: Sapi+Babi dengan primer A. Lane SB2 : Sapi+Babi dengan primer C. Lane SB3: Sapi+Babi dengan primer B.

CURRICULUM VITAE

Nama : Clara Maulanda Iskandar
Tempat Tanggal Lahir : Seririt, 30 Agustus 1993
Jenis Kelamin : Perempuan
Alamat Asal : BD. Bukit Sari, Desa Pengulon, Kecamatan
Grogak, Kabupaten Buleleng, Singaraja Bali
Alamat Sekarang : Jln Ori II, No 20, Papringan, Yogyakarta
Alamat Email : claramaulanda@gmail.com
Nomer HP : 085747347183

Yogyakarta 6 September 2016

Clara Maulanda Iskandar