

**APLIKASI *MULTIPLEX* PCR UNTUK ANALISIS
KANDUNGAN DNA BABI (*Sus scrofa*) DAN TIKUS (*Rattus
norvegicus*) PADA BAKSO**

SKRIPSI

untuk memenuhi sebagian syarat memperoleh derajat

Sarjana S-1 Program Studi Biologi



disusun oleh

Ghaniyya Hana Azzah

20106040034

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

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

2025



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-195/Un.02/DST/PP.00.9/01/2025

Tugas Akhir dengan judul : Aplikasi Multiplex PCR untuk Analisis Kandungan DNA Babi (Sus Scrofa) Dan Tikus (Rattus Norvegicus) Pada Bakso

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : GHANIYYA HANA AZZAH
Nomor Induk Mahasiswa : 20106040034
Telah diujikan pada : Kamis, 23 Januari 2025
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang

Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid ID: 679af3fc4a3ca



Penguji I

Dian Aruni Kumalawati, M.Sc.
SIGNED

Valid ID: 679aacc4dda0f



Penguji II

Anti Damayanti, H S.Si., M.Mol.Bio.
SIGNED

Valid ID: 6799984b1f8ff



Yogyakarta, 23 Januari 2025
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 679b357a4aa31

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Ghaniyya Hana Azzah

NIM : 20106040034

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuki sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 16 Januari 2025

STATE ISLAM UNIVERSITY
SUNAN
YOGYAKARTA

Menyatakan,

Ghaniyya Hana Azzah
NIM. 20106040034





SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi / Tugas Akhir
Lamp :

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UITN 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 : Ghaniyya Hana A
NIM : 20106040034
Judul Skripsi : Aplikasi Multiplex PCR untuk Analisis Kandungan DNA Babi (*Sus Scrofa*) Dan Tikus (*Rattus Norvegicus*) Pada Bakso

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 berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunqasyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 16 Januari 2025

Pembimbing

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

ABSTRAK

APLIKASI *MULTIPLEX* PCR UNTUK ANALISIS KANDUNGAN DNA BABI (*Sus scrofa*) DAN TIKUS (*Rattus norvegicus*) PADA BAKSO

GHANIYYA HANA AZZAH

20106040034

Bakso merupakan makanan favorit yang memiliki nilai titik kritis tinggi sehingga memiliki kemungkinan tercampur dengan bahan non-halal seperti daging babi (*Sus scrofa*) dan tikus (*Rattus norvegicus*). Melihat fenomena tersebut maka diperlukan pengembangan dalam bidang pendeteksian secara molekuler berbasis PCR seperti *multiplex* PCR untuk mendeteksi lebih dari 1 sumber. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesifisitas dan sensitivitas metode *multiplex* PCR dengan menggunakan primer *ND5* yang menargetkan babi dan *mt-Co1* yang menargetkan tikus pada campuran daging serta bakso. Metode penelitian menggunakan serangkaian tahapan yaitu isolasi DNA, analisis kualitas & kuantitas DNA, amplifikasi PCR dan elektroforesis. Hasil analisis menunjukkan primer *ND5* dan *mt-Co1* yang dilakukan secara *single* dan *multiple* PCR memiliki spesifisitas dan sensitivitas yang baik mampu menargetkan DNA babi dan tikus hingga konsentrasi terendah dengan panjang ampikon 161 bp dan 170 bp.

Kata Kunci: Bakso, *Multiplex* PCR, primer *ND5*, primer *mt-Co1*, *Sus scrofa*, *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

MULTIPLEX PCR APPLICATION FOR ANALYSIS OF PIG (*Sus scrofa*) AND RAT (*Rattus norvegicus*) DNA CONTAINMENT IN MEATBALL

GHANIYYA HANA AZZAH

20106040034

Meatball is a favorite food that has a high critical point value, so it has the possibility of being mixed with non-halal ingredients such as pork (*Sus scrofa*) and rat (*Rattus norvegicus*). Seeing this phenomenon, development is needed in the field of PCR-based molecular detection, such as multiplex PCR to detect more than 1 source. This study aims to determine the specificity and sensitivity of the multiplex PCR method using *ND5* primers targeting pig and *mt-Co1* targeting rat in mixed meat and meatball. The research method has steps, namely DNA isolation, DNA quality & quantity analysis, PCR amplification and electrophoresis. The results of the analysis showed that *ND5* and *mt-Co1* primers carried out in single and multiple PCR have good specificity and sensitivity capable of targeting pig and rat DNA to the lowest concentration with amplicons of 161 bp and 170 bp in length.

Keywords: Meatball, Multiplex PCR, *ND5* primer, *mt-Co1* primer, *Sus scrofa*, *Rattus norvegicus*

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

MOTTO

وَمَنْ جَاهَدَ فَإِنَّمَا يُجَاهِدُ لِنَفْسِهِ إِنَّ اللَّهَ لَغَنِيٌّ عَنِ الْعَالَمِينَ

“Siapa yang berusaha dengan sungguh-sungguh (untuk berbuat kebajikan), sesungguhnya dia sedang berusaha untuk dirinya sendiri (karena manfaatnya kembali kepada dirinya). Sesungguhnya Allah benar-benar Mahakaya (tidak memerlukan suatu apa pun) dari alam semesta”

(QS. Al-'Ankabut: 5)

"Kesabaran itu ada dua macam, yaitu sabar atas sesuatu yang tidak kau ingin dan sabar menahan diri dari sesuatu yang kau ingini"

(Ali bin Abi Thalib)

“Apapun yang menjadi takdirmu, akan mencari jalannya menemukanmu”

(Ali bin Abi Thalib)

"Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirku. Dan apa yang ditakdirkan untukku, takkan melewatkanmu"

(Umar bin Khattab)

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah Rabbil Aalamin, sujud syukur kepada Allah SWT. Terimakasih atas segala karunia-Mu yang telah memberikan kemudahan dan kelancaran sehingga skripsi ini dapat dibuat dan selesai pada waktunya.

Skripsi ini saya persembahkan dengan tulus:

Kepada dua orang hebat dalam hidup saya Ibu Indrianingsih dan Bapak Dwi Puji Wankholis, yang selalu memberikan dukungan, nasihat dan doa tanpa henti dalam setiap langkah hidup saya, serta kasih sayang yang tidak ternilai harganya, yang membuat segalanya menjadi mungkin. Tanpa kalian, saya tidak akan berada di titik ini. Skripsi ini adalah bukti perjuangan dan doa kalian yang tak pernah surut. Semoga setiap langkahku menjadi kebanggaan dan bahagia bagi kalian berdua.

Kepada Kakak saya tercinta Farras Kanza Aulia dan keluarga, yang selalu memberi semangat, motivasi, dan dukungan moral selama saya menghadapi berbagai tantangan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Terima kasih, Kumil yang selalu setia menemani saya di tengah kesibukan dan memberi kenyamanan saat saya merasa lelah atau stres. Meskipun kini engkau telah pergi, terima kasih atas kebersamaan yang tak ternilai harganya.

Kepada teman-teman dari Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

Serta Semua pihak yang telah membantu, baik langsung maupun tidak langsung, dalam penyelesaian skripsi ini.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmannirrohim

Alhamdulillah Robil'alamiin, segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga laporan penelitian dengan judul “Aplikasi *Multiplex* PCR untuk Analisis Kandungan DNA Babi (*Sus Scrofa*) Dan Tikus (*Rattus Norvegicus*) Pada Bakso” dapat diselesaikan. Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menunjukkan kepada kita dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dalam proses penelitian hingga penulisan laporan ini, terutama kepada:

1. Prof., Dr., Dra., Hj. Khurul Wardati. M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Dr. Ika Nugraheni Ari Martiwi, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Ibu Agesty Ika Nurlita, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selama ini sudah meluangkan waktu, memberikan arahan, dan dukungan serta menyemangati selama masa perkuliahan.
4. Ibu Dian Aruni Kumalawati, M.Sc., Ketua Program Studi Biomedis UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sekaligus Dosen Penguji 1 dan Dosen Pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, kritik, saran serta dukungan dalam penulisan skripsi ini.
5. Ibu Jumailatus Solihah, S.Si., M.Biotech., selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingan, arahan, semangat dan motivasi selama pelaksanaan penelitian ini. Tanpa bimbingan dari beliau, skripsi ini tidak akan selesai dengan baik.
6. Ibu Anti Damayanti, H S.Si., M.Mol.Bio., selaku Dosen Penguji 2 yang telah memberikan banyak saran serta masukan bagi penulis.

7. Seluruh dosen dan karyawan UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
8. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta yang telah mendukung dengan fasilitas dan sumber daya yang sangat membantu dalam penelitian ini.
9. Teman-teman Mahasiswa Program Studi Biologi 2020 kampus UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta yang turut memberikan ide, kritik, dan saran yang membangun untuk penyempurnaan penelitian ini.
10. Kedua orang tua, yang selalu memberikan doa, kasih sayang, serta dukungan moral dan materiil sepanjang penulisan skripsi ini
11. Keluarga tercinta, yang senantiasa memberikan dukungan moral, semangat, dan doa yang tiada henti selama penulisan laporan ini.
12. Serta seluruh pihak yang tak sempat Penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak meluangkan tenaga, waktu dan pikiran selama penyusunan Tugas Akhir ini.

Semoga semua bantuan dan dukungan yang telah diberikan mendapat balasan yang baik dari Tuhan Yang Maha Esa.

Penulis juga menyadari bahwa laporan penelitian ini masih memiliki banyak kekurangan. Namun, penulis berharap laporan penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca. Kurang lebihnya dalam penyusunan laporan penelitian ini, penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya.

Yogyakarta, 30 Januari 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT.....	vi
MOTTO	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Babi	5
B. Tikus.....	7
C. Bakso.....	9
D. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	10
E. Multiplex PCR	11
F. Primer.....	11
BAB III. METODE PENELITIAN.....	14
A. Waktu dan Tempat Penelitian	14
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	14
C. Prosedur Kerja.....	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20

A. Kualitas dan Kuantitas Isolasi DNA	20
B. Spesifisitas Metode <i>Multiplex</i> PCR.....	24
C. Sensitivitas Metode <i>Multiplex</i> PCR	26
D. Efektivitas Metode <i>Multiplex</i> PCR	28
BAB V. PENUTUP.....	30
A. Simpulan	30
B. Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	36
CURRICULUM VITAE.....	42



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
 YOGYAKARTA

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Variasi Konsentrasi Kandungan Daging pada Bakso	15
Tabel 2. Primer yang digunakan dalam Metode <i>Multiplex</i> PCR.	17
Tabel 3. Kosentrasi & Kemurnian DNA pada Sampel	21



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Babi (<i>Sus scrofa</i>) (Science Photo Library, 2018).....	5
Gambar 2. Tikus Got (<i>Rattus norvegicus</i>) (Heuvel, 2017)	7
Gambar 3. Elektroforesis Hasil Isolasi DNA	21
Gambar 4. Elektroforesis Hasil <i>Multiplex</i> PCR Pada Sampel KB, KT dan KS Dengan Primer <i>ND5</i> (Babi) & <i>mt-Co1</i> (Tikus).....	24
Gambar 5. Hasil Uji Spesifisitas Primer <i>ND5</i> Menggunakan BLAST NCBI.....	25
Gambar 6. Hasil Uji Spesifisitas Primer <i>ND5</i> Menggunakan UCSC In-Silico PCR.	25
Gambar 7. Hasil Uji Spesifisitas Primer <i>mt-Co1</i> Menggunakan BLAST NCBI..	25
Gambar 8. Hasil Uji Spesifisitas Primer <i>mt-Co1</i> Menggunakan UCSC In-Silico PCR	25
Gambar 9. Elektroforesis Hasil <i>Multiplex</i> PCR Dengan Primer <i>ND5</i> (Babi) & <i>mt-Co1</i> (Tikus)	26
Gambar 10. Elektroforesis Hasil <i>Multiplex</i> PCR.	28
Gambar 11. Elektroforesis Hasil <i>Single</i> PCR <i>ND5</i>	28
Gambar 12. Elektroforesis Hasil <i>Single</i> PCR <i>mt-Co1</i>	28

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Band yang Terbentuk pada <i>Multiplex</i> PCR.....	36
Lampiran 2. Perhitungan Band yang Terbentuk pada <i>Single</i> PCR Menggunakan Primer <i>ND5</i>	37
Lampiran 3. Perhitungan Band yang Terbentuk pada <i>Single</i> PCR Menggunakan Primer <i>mt-Co1</i>	38
Lampiran 4. Primer <i>ND5</i> & Primer <i>mt-Co1</i>	38
Lampiran 5. Mesin <i>Thermalcycle</i> yang Digunakan dalam Penelitian	39
Lampiran 6. Alat Elektroforesis yang Digunakan dalam Penelitian.....	39
Lampiran 7. <i>UV-transilluminator</i> yang Digunakan dalam Penelitian	39
Lampiran 8. Timbangan Analitik yang Digunakan dalam Penelitian.....	40
Lampiran 9. Alat Spektrofotometer yang Digunakan dalam Penelitian	40
Lampiran 10. Alat <i>Centrifuge</i> yang Digunakan dalam Penelitian	40
Lampiran 11. Alat <i>Autoclave</i> yang Digunakan dalam Penelitian	41
Lampiran 12. <i>Vortex</i> yang Digunakan dalam Penelitian.....	41

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakso merupakan makanan favorit era ini yang banyak digemari, baik dari kalangan anak-anak hingga kalangan orang dewasa. Rasanya yang enak dan dapat dimakan oleh berbagai kalangan masyarakat menjadi salah satu faktor banyaknya peminat makanan bakso. Selain itu, proses pembuatan bakso relatif sederhana dan dari sisi kandungan gizi, bakso bisa menjadi pilihan makanan yang bergizi tinggi. (Widyaningsih & Murtini, 2006). Sofi (2018) menyebutkan bahwa produk olahan yang berbahan dasar daging ini diterima dengan positif oleh konsumen karena rasanya yang telah dimodifikasi, sehingga lebih menarik dan sesuai dengan selera mereka.

Bakso termasuk salah satu jenis makanan yang memiliki nilai titik kritis yang tinggi. Titik kritis merujuk pada bahan yang berpotensi mengandung, berasal dari, atau tercampur dengan bahan haram. Umumnya bakso dibuat dari perpaduan daging dan tepung tapioka atau kanji. Daging sendiri merupakan kategori bahan yang sangat kritis sehingga perlu ditelusuri kehalalannya. Selain itu proses penggilingan berbagai produk olahan daging sapi, seperti bakso, juga memberikan peluang kemungkinan tercampurnya dengan daging merah lainnya. Meskipun daging yang digiling adalah murni daging sapi, jika mesin penggilingnya juga digunakan untuk menggiling daging babi, maka daging sapi tersebut bisa terkontaminasi dengan daging babi. Menurut Yuny Erwanto (2022), mesin penggilingan menjadi salah satu penyebab kontaminasi daging babi di warung-warung makan di Jogja. Dari 20 sampel warung bakso yang ditelitinya, 8 di antaranya terbukti positif terkontaminasi daging babi.

Tingginya permintaan konsumsi daging sapi di masyarakat yang tidak mampu diikuti dengan peningkatan produksi daging menjadi salah satu penyebab terjadinya banyak pemalsuan bahkan pencampuran daging lainnya seperti daging babi dan daging tikus (Sitompul & Artanto, 2020). Dalam Harian Jogja (2016), salah satu contoh kasus yang pernah terjadi ada pada pedagang bakso di Kecamatan Srandakan yang diduga melanggar Undang-Undang tentang keamanan pangan asal

hewan. Hal ini berdasarkan hasil uji laboratorium yang menunjukkan bahwa bakso daging sapi yang diproduksinya mengandung campuran daging babi. Adapun percampuran daging tikus pada produk olahan pangan masih menjadi banyak perbincangan dan menjadi keraguan di tengah masyarakat.

Produk pangan yang dibuat dengan campuran daging seringkali sulit dibedakan secara visual, karena daging tersebut biasanya sudah dihancurkan dan dicampur dengan berbagai bahan lainnya (Priyanka, 2017). Permasalahan tersebut tentu menimbulkan kecemasan di masyarakat, mengingat mayoritas penduduk Indonesia adalah umat Islam yang hanya serta wajib mengonsumsi makanan yang halal saja (Larasati, 2018). Makanan halal menjadi kebutuhan bagi sebagian besar masyarakat Indonesia, sehingga perlu adanya jaminan kehalalan dari produsen untuk memberi rasa aman dan tenang dalam mengkonsumsinya. Selain itu, peraturan (Undang-Undang RI No. 33 Tahun 2014 Tentang Jaminan Produk Halal, 2014) telah menjelaskan mengenai Jaminan Produk Halal, isi pokok dari undang-undang tersebut yaitu untuk menjamin ketersediaan Produk Halal maka ditetapkan bahan produk yang dinyatakan halal, baik bahan yang berasal dari bahan baku hewan, tumbuhan, mikroba, serta bahan yang dihasilkan melalui proses kimiawi, proses biologi, atau proses rekayasa genetik. Tidak adanya daftar komposisi pada suatu produk menjadi celah kemungkinan terjadinya pencampuran bahan non-halal yang merupakan masalah serius dan sering kali merugikan konsumen (Cai *et al.*, 2017; Khatun *et al.*, 2021). Pihak yang paling terdampak pada masalah ini adalah umat Islam yang mana memiliki kewajiban untuk mengonsumsi makanan dan minuman halal (Hassan *et al.*, 2022).

Oleh karena itu, upaya dalam keamanan pangan seperti mencegah pangan dari kemungkinan tercemar, baik dari cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia merupakan suatu keharusan (BPOM, 2008; Undang-Undang RI No. 7 Tahun 1996 Tentang Pangan, 1996). Hal ini juga selaras dengan peraturan (Peraturan Pemerintah RI No. 28 Tahun 2004: Tentang Keamanan, Mutu, Dan Gizi Pangan, 2004) yang mendefinisikan keamanan pangan sebagai kondisi dan upaya yang diperlukan untuk

pengecekan pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, fisik dan bahan lain yang dapat merugikan dan membahayakan kesehatan manusia. Salah satu upaya yang dapat dilakukan ialah dengan mendeteksi apakah produk tersebut mengandung bahan yang diharamkan seperti babi dan tikus atau tidak.

DNA babi dan DNA tikus dapat dideteksi secara bersamaan dengan *multiplex* PCR yang merupakan adaptasi dari teknik PCR. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknologi yang umum digunakan dalam biologi molekuler untuk menghasilkan salinan DNA dalam jumlah yang sangat banyak, mencapai ribuan hingga jutaan salinan dari urutan DNA tertentu. Teknik PCR memungkinkan amplifikasi segmen DNA hingga jutaan kali dalam waktu singkat, hanya dalam beberapa jam (Setyawati & Zubaidah, 2021). Digunakan *multiplex* PCR karena teknik ini dapat melakukan pentargetan gen sekaligus maka *running-test* hanya dilakukan sekali sehingga tidak akan memakan lebih banyak reagen dan waktu. *Multiplex* merupakan metode yang kini sedang banyak digunakan karena dapat melakukan deteksi dengan lebih cepat, efisien, dan biaya yang lebih rendah dibandingkan dengan metode PCR biasa (Prusakova *et al.*, 2018).

Dalam pendeteksiannya perlu digunakan gen/ primer yang spesifik. Salah satu primer yang menargetkan DNA babi yaitu primer *ND5*. Primer ini sebelumnya sudah dilakukan penelitian oleh Denyinghot *et al.*, (2022) bahwa primer *ND5* dengan sekuens 5'-CCATCCCAATTATAATATCCAACCTC-3' sebagai primer *forward* dan 5'-TGATTATTTCTTGGCCTGTGTGT-3' sebagai primer *reverse*, dengan panjang DNA 161 bp, mampu secara spesifik mendeteksi DNA babi (*Sus scrofa*). Sekuens tersebut sebelumnya telah dilakukan penelitian oleh Ali *et al.*, (2015), bahwa sekuens *ND5* tersebut digunakan karena sekuens berulang kali muncul pada bagian-bagian babi.

Adapun primer *mt-Co1*, primer ini mampu menargetkan DNA pada tikus got (*Rattus norvegicus*). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Sihotang (2021), primer *forward* 5'-ATGAGCAAAAGCCCACTTTG-3' dan primer *reverse* 5'-CGGCCGTAAGTGAGATGAAT-3' berhasil untuk mengamplifikasi gen *mt-Co1* pada tikus got (*Rattus norvegicus*) dengan produk

PCR yang memiliki ukuran 170 bp. Dalam penelitian ini digunakan 2 pasang primer yang mentargetkan *ND5* pada babi dan gen *mt-Co1* pada tikus. Kedua pasang primer ini digunakan dalam metode *multiplex* PCR untuk mendeteksi adanya kontaminan yang bersumber dari kedua hewan tersebut pada produk olahan makanan berupa bakso.

Sensitivitas metode PCR mengacu pada kemampuan metode ini untuk mendeteksi jumlah hingga sedikit mungkin dari DNA yang ditargetkan dalam suatu sampel. Dengan kata lain, semakin sensitif metode PCR, semakin kecil jumlah materi genetik yang dapat terdeteksi, bahkan pada konsentrasi rendah. Penelitian ini menggunakan sampel berupa bakso dengan variasi konsentrasi kandungan daging babi dan tikus, sehingga dapat diketahui seberapa sensitif metode *multiplex* PCR dengan menggunakan primer *ND5* dan *mt-Co1* mampu mendeteksi DNA babi dan tikus pada produk olahan berupa bakso.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana spesifisitas dan sensitivitas metode *multiplex* PCR dengan menggunakan primer *ND5* dan *mt-Co1* pada campuran daging sapi, babi dan tikus?
2. Bagaimana efektivitas metode *multiplex* PCR dengan menggunakan primer *ND5* dan *mt-Co1* pada produk olahan berupa bakso?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui spesifisitas dan sensitivitas metode *multiplex* PCR dengan menggunakan primer *ND5* dan *mt-Co1* pada campuran daging sapi, babi dan tikus.
2. Mengetahui efektivitas metode *multiplex* PCR dengan menggunakan primer *ND5* dan *mt-Co1* pada produk olahan berupa bakso.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan *multiplex* PCR dalam mendeteksi kandungan DNA babi dan DNA tikus pada bakso, sehingga dapat diterapkan pada deteksi pangan halal dan bermanfaat bagi masyarakat serta lingkungan.

BAB V. PENUTUP

A. Simpulan

Terbentuknya ampikon yang berukuran spesifik pada hasil PCR menunjukkan bahwa primer *ND5* dan primer *mt-Co1* yang digunakan dalam amplifikasi PCR secara bersamaan mampu secara spesifik mendeteksi adanya campuran babi dan tikus. Berdasarkan pita DNA yang dapat muncul pada beberapa konsentrasi (2,5%; 5%; 10%; 15%; 20% dan 25%) daging babi dan tikus pada produk olahan berupa bakso. Primer *ND5* dan *mt-Co1* mampu mendeteksi adanya campuran daging babi dan tikus pada bakso hingga konsentrasi terkecil yaitu 2,5%.

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan efisiensi dan akurasi metode PCR. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mempermudah peneliti dalam menerapkan *multiplex* PCR pada sampel olahan pangan seperti bakso, mengingat PCR merupakan metode yang terus berkembang dan banyak digunakan dalam bidang molekuler.

B. Saran

Melihat metode PCR yang terus berkembang, saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu apabila masing-masing primer memiliki selisih band ampikon yang terlalu kecil alangkah lebih baik apabila dilanjutkan dengan menggunakan Real Time-PCR, serta meningkatkan jumlah dan variasi konsentrasi pada sampel akan diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiningsih, Arie Ardiansyah Nugraha, Daryanto, H. A. P. (2020). *Pedoman Pemeriksaan PCR SARS-CoV-2 Bagi Petugas Lboratorium*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ali, M. E., Razzak, M. A., Hamid, S. B. A., Rahman, M. M., Amin, M. Al, Rashid, N. R. A., & Asing. (2015). Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods. *Food Chemistry*, 177, 214–224. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:23018352>
- Arsana, I. N., & Juliasih, N. K. A. A. (2023). Karakteristik Dna Mitokondria Characteristics of Mitochondria Dna. *Jurnal Widya Biologi*, 14(02), 56–65. <https://doi.org/10.32795/widyabiologi.v14i02.5024>
- Astari, D., Dewi, S., Setyaningrum, S., & Lidya, B. (2021). Perancangan Primer untuk Deteksi Kandungan Gen Cytochrome b Babi dengan Metode Polymerase Chain Reaction dan Aplikasinya pada Berbagai Produk Industri. *Fullerene Journal of Chemistry*, 6(2), 110–117. <https://doi.org/10.37033/fjc.v6i2.329>
- Berkenhout, J. (1769). *Outlines of the Natural History of Great Britain and Ireland*. GBIF Backbone Taxonomy.
- BPOM. (2008). *Informatorium Obat Nasional Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia*. Jakarta. <https://onsearch.id/Author/Home?author=Badan+POM+RI>
- Cai, Y., He, Y., Lv, R., Chen, H., Wang, Q., & Pan, L. (2017). Detection and quantification of beef and pork materials in meat products by duplex droplet digital PCR. *PloS One*, 12(8), e0181949. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181949>
- Denyinghot, A., Srinulgray, T., Mahamad, P., Ruangprach, A., Sa-I, S., Saerae, T., Vesaratchavest, M., Dahlan, W., & Keeratipibul, S. (2022). Modern on-site tool for monitoring contamination of halal meat with products from five non-halal animals using multiplex polymerase chain reaction coupled with DNA strip. *Food Control*, 132, 108540. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108540>
- Dewi, I. D. (2010). Tikus Riul (*Rattus norvegicus*). *Balaba*, 6(2), 22–23.
- Fatchiyah, Laras, E., Widyarti, S., & Rahayu, S. (2011). *Biologi Molekular : Prinsip Dasar Analisis* (1st ed.). Erlangga.
- Fibriana, F., Widiarti, T., Retnoningsih, A., & -, S. (2012). Deteksi Daging Babi Pada Produk Bakso di Pusat Kota Salatiga Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 4(2). <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v4i2.3928>
- Gomez-Puerta, L. A., Garcia, H. H., & Gonzalez, A. E. (2018). Experimental porcine cysticercosis using infected beetles with *Taenia solium* eggs. *Acta*

- Tropica*, 183, 92–94.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.04.003>
- Hassan, M. K., Alshater, M. M., Rashid, M., & Hidayat, S. E. (2022). Ten years of the Journal of Islamic Marketing: a bibliometric analysis. *Journal of Islamic Marketing*, 13(10), 2047–2068. <https://doi.org/10.1108/JIMA-10-2020-0322>
- Heuvel, M. van den. (2017). *Bruine rat (Rattus norvegicus)*. Naturalis Biodiversity Center.
https://www.nederlandsesoorten.nl/linnaeus_ng/app/views/species/nsr_taxon.php?id=139040&cat=CTAB_MEDIA#gallery-2
- Hikmatyar, F., Royani, J. I., Matsunaga, K., Inoue, H., & Indarto, A. (2015). ISOLASI DAN AMPLIFIKASI DNA KELADI TIKUS (*Thyponium flagelliform*) UNTUK IDENTIFIKASI KERAGAMAN GENETIK.
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:133876660>
- Hussaini, M., & AH Sakr. (1983). *Islamic Dietary Laws and Practices*, Islamic Food and Nutrition Council of America.
- Irmawati. (2003). *Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis) Generasi Pertama pada Stok Hatchery*.
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:83024838>
- Khatun, A., Hossain, A., Hossain, M. S., Kamruzzaman Munshi, M., & Huque, R. (2021). Detection of species adulteration in meat products and Mozzarella-type cheeses using duplex PCR of mitochondrial cyt b gene: A food safety concern in Bangladesh. *Food Chemistry. Molecular Sciences*, 2, 100017.
<https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100017>
- Larasati, D. U. R. (2018). *Limit of detection (LOD) fragmen DNA pengkode gen Sitokrom B (cyt b) babi (sus scrofa)*. [Thesis]. Surabaya: UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Legakul, B., & McNeeley. (1988). *Mammals of Thailand* (2nd ed.). Darnsutha Press Co.
- Library, S. P. (2018). *Domestic Sow (sus Scrofa Domesticus)*.
<https://sciencephotogallery.com/featured/domestic-sow-sus-scrofa-domesticus-john-devriesscience-photo-library.html>
- Linnaeus, C. (1758). *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. [The system of nature through the three kingdoms of nature, according to classes, orders, genera, species, with charact. *Impensis Direct. Laurentii Salvii. Holmiae [Stockholm]*. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.542>
- McGinnis, S., & Madden, T. L. (2004). BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 32(Web Server issue), W20-5. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh435>
- Medidi, H., Naik, R., Kotikalapudi, R., Patel, R., Undamatla, V., & Tadi, T. (2015). Standardization of common and simple protocol for DNA isolation from raw

- meat of various animal and bird species. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 5, 2891–2895.
- Muladno. (2010). *Teknologi Rekayasa Genetik*. (2nd ed.). Bogor : IPB Press.
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In *Methods in enzymology* (Vol. 155, pp. 335-350). Academic Press.
- Nasir, M., & Rasnovi, L. H. S. (2017). Studi Populasi Mamalia Kecil Famili Muridae Di Kecamatan Kuta Cot Glie Kabupaten Aceh Besar studi Populasi Mamalia Kecil Famili Muridae Di Kecamatan Kuta Cot Glie Kabupaten Aceh Besar. *Journal Bioleuser*, Vol 1 .No.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia no. 28 tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu, dan Gizi Pangan. (2004). Jakarta : Kementerian Sekretariat Negara Republik Indonesia.
- Priyanka, V. A. (2017). Deteksi Cemarkan Daging Babi pada Produk Sosis Sapi di Kota Yogyakarta. *Jurnal Teknobiologi*, 1–16.
- Prusakova, O. V, Glukhova, X. A., Afanas'eva, G. V, Trizna, Y. A., Nazarova, L. F., & Beletsky, I. P. (2018). A simple and sensitive two-tube multiplex PCR assay for simultaneous detection of ten meat species. *Meat Science*, 137, 34–40. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.10.017](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.10.017)
- Ralallahu, T.N, Malle, D., Syivia. (2024). Buku Ajar Ilmu Nutrisi Ternak Non Ruminasia. Pattimura University Press
- Regenstein, J. M., Chaudry, M. M., & Regenstein, C. E. (2003). The Kosher and Halal Food Laws. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(3), 111–127. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00018.x>
- Rohman, A., Pebriyanti, N. W., Sismindari, Windarsih, A., Ramadhani, D., Larasati, R., & Yulisa, H. (2020). Real-time polymerase chain reaction for identification of dog meat in adulterated beef meatball using specific primer targeting on cytochrome-b for halal authentication. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 2231–2241. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1844748>
- Rybicki, E., Vernon, E. C., James, M. D., & Sharon, J. R. (1996). *Molecular Biology Techniques Manual*. 3. Aufl. Univ. of Capetown.
- Sambrook, J., and T. Maniatis. (1989). *Molecular Cloning (A laboratory manual)* Vol. 2. Spring Harbor Laboratory Press
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). Detection of DNA in agarose gels. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, (3rd Ed.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 5-14.
- Sasmito, Eling KS, D., Kurniawan, R., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction(PCR) untuk Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Informatika Medis 2014*, 93–102. <http://snimed.fit.uui.ac.id/>

- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1), 36. <https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550>
- Shen, C.H. (2019). *Diagnostic Molecular Biology*. Academic Press
- Sihotang, M. A. E. D., Erwinda, Y. E., Suwarni, E., & Lusianti, E. (2021). Short Communication: Desain Primer dan Analisis in Silico untuk Amplifikasi Gen mt-Co1 pada Tikus got (*Rattus norvegicus*). *Eruditio : Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 1(2 SE-Short Communication), 20–29. <https://doi.org/10.54384/eruditio.v1i2.82>
- Sitompul, Y., & Artanto, S. (2020). Desain Primer Berdasarkan Gen Mt-12s Rna untuk Mendeteksi Cemaran Daging Babi pada Produk Olahan Asal Daging Sapi dengan Metode Multipleks-Pcr. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 8, 24–30. <https://doi.org/10.29244/avi.8.2.24-30>
- Sofi, M. S., & Kowel, Y. H. (2018). Penyuluhan dan demonstrasi pengolahan bakso dan nugget ayam petelur afkir pada kelompok WKI GMIM Jemaat Betlehem Kelurahan Singkil I Kecamatan Singkil Kota Manado. *Seminar Nasional Persepsi Iii: Strategi Dan Kebijakan Pengembangan Bisnis Peternakan Dalam Mendukung Kedaulatan Pangan Nasional*, 559–562.
- Sulistyaningsih, E. (2007). Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Manajemen Penyakit Infeksi. *Jember : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember*.
- Suriawanto, N., Guli, M. M., & Miswan, M. (2015). Deteksi Cacing Pita (*Taenia Solium* L.) Melalui Uji Feses Pada Masyarakat Desa Purwosari Kecamatan Torue Kabupaten Parigi Moutong Sulawesi Tengah. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:130504716>
- Suryawan, G. Y., Suardana, I. W., & Wandia, I. N. (2020). Sensitivity of polymerase chain reaction in the detection of rat meat adulteration of beef meatballs in Indonesia. *Veterinary World*, 13, 905–908. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:218653237>
- Syamsurizal, S., Saputra, H., Putri, D. H., & Badriyya, E. (2020). Primers Designed For Amplifying TCF7L2 Gen. *Jurnal Biota*, 6(2), 63–70. <https://doi.org/10.19109/10.19109/biota.v6i2.5871>
- Undang-undang Republik Indonesia no. 33 tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal. (2014). Jakarta: Kementerian Sekretariat Negara Republik Indonesia. <https://peraturan.bpk.go.id/Details/38709>
- Undang-undang Republik Indonesia No. 7 Tahun 1996 Tentang Pangan. (1996). Jakarta: Kementerian Sekretariat Negara Republik Indonesia. <https://peraturan.bpk.go.id/Details/46097/uu-no-7-tahun-1996>
- Wahyuni, D., & Arrasit, F. (2022). S Higiene Sanitasi Terhadap Keberadaan Vektor Tikus Di Rt. 02 Rw.03 Kecamatan Bantan Kabupaten Bengkalis Tahun 2021.

- Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan*, 12(2), 133–140.
<https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3618>
- Wahyuni, D., Makomulamin, & Nila Puspita Sari. (2021). *Buku Ajar Entomologi dan Pengendalian Vektor* (14th ed.). Deepublish.
- Widyaningsih, T. D., & Murtini, E. S. (2006). *Alternatif Pengganti Formalin pada Produk Pangan* (1st ed.). Trubus Agrisarana.
- Wijaya, Y. P. (2009). *Fakta Ilmiah Tentang Keharaman Babi*. ITB.
- Wodsedalek, J. (1970). *General Zoology: laboratory guide* (5th ed.). Wm. C. Brown Publisher.
- Wulandari, Y. (2012). *Parameter Genetik Performans Babi Silangan*. [Thesis]. Solo: Universitas Sebelas Maret.
- Yuenleni, Y. (2019). Langkah-Langkah Optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(3), 51-56.
- Yulianto, H., Satrija, F., Lukman, D. W., & Sudarwanto, M. (2015). Seroprevalensi Positif Sistiserkosis pada Babi Hutan di Kabupaten Way Kanan, Provinsi Lampung (Positive Seroprevalence Of Wild Boar Cysticercosis In Way Kanan District, Lampung Province). *Jurnal Veteriner*, 16(2), 187–195.
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/14607>
- Yuniarti, H., Cholis, B., Utami, I. W., & Putri, L. R. (2021). Prosedur awal deteksi segmen genomik virus sars-cov-2 melalui pengujian primer multipleks rt-pcr. *Makalah Dosen-2021*.
- Yuniarti, H., & Su'udi, B. C. (2021). Pemilihan primer pada proses PCR untuk sekuensing DNA. *Universitas Trisakti*, 4–8.
- Yusuf, Z. (2010). Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Sainstek*, Vol 5 No 2.