

**PEMANFAATAN PENANDA GENETIK DAN MULTIPLEX-PCR UNTUK  
DETEKSI CEPAT KEHALALAN PRODUK OLAHAN DAGING**

**SKRIPSI**

Disusun untuk memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
Program Studi Biologi



Oleh:

Nurul Faridah  
1800255

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
DEPARTEMEN PENDIDIKAN BIOLOGI  
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA  
2022**

**PEMANFAATAN PENANDA GENETIK DAN MULTIPLEX-PCR UNTUK  
DETEKSI CEPAT KEHALALAN PRODUK OLAHAN DAGING**

Oleh  
Nurul Faridah

Sebuah Skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana  
Sains pada Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

©Nurul Faridah 2022  
Universitas Pendidikan Indonesia  
Agustus 2022

Hak cipta dilindungi undang-undang

Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian dengan dicetak ulang, difoto  
kopi, atau cara lainnya tanpa ijin dari penulis.

**LEMBAR PENGESAHAN**  
**PEMANFAATAN PENANDA GENETIK DAN MULTIPLEX-PCR UNTUK**  
**DETEKSI CEPAT KEHALALAN PRODUK OLAHAN DAGING**

Oleh  
Nurul Faridah

**DISETUJUI DAN DISAHKAN OLEH:**

Pembimbing I,



Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si.

NIP. 1970081122001122001

Pembimbing II,



Dr. Didik Priyandoko, M.Si.

NIP. 196912012001121001

Mengetahui

Ketua Program Studi Biologi,



Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si.

NIP. 1970081122001122001

## PERNYATAAN

*Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “**PEMANFAATAN PENANDA GENETIK DAN MULTIPLEX-PCR UNTUK DETEKSI CEPAT KEHALALAN PRODUK OLAHAN DAGING**” beserta seluruh isinya adalah karya saya sendiri dan tidak dilakukan adanya penjiplakan atau pengutipan yang tidak sesuai dengan aturan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung resiko atau sanksi apabila di kemudian hari ditemukan adanya pelanggaran etika keilmuan atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya.*

Bandung, 16 Agustus 2022

Nurul Faridah  
NIM. 1604578

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah subhanahu wa ta'alla, karena atas berkah nikmat, rahmat, dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PEMANFAATAN PENANDA GENETIK DAN MULTIPLEX-PCR UNTUK DETEKSI CEPAT KEHALALAN PRODUK OLAHAN DAGING”** yang diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Program Studi Biologi, Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Skripsi ini merupakan hasil penelitian yang disajikan dalam bentuk karya tulis ilmiah. Penulis menyadari bahwa pada dalam penulisan dan penyajian karya ilmiah ini masih banyak kekurangan, sehingga penulis memohon maaf atas segala kekurangan tersebut. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran bagi karya ilmiah ini dengan tujuan lebih baik lagi. Penulis berharap hasil penelitian dari skripsi ini dapat bermanfaat bagi dunia pendidikan pada umumnya, terutama pada bidang keilmuan Biologi dan dapat dijadikan sebagai pustaka bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

Penuli menyadari dalam penyusunan skripsi ini banyak melibatkan beberapa pihak yang mendukung dan memberikan bantuan, bimbingan, dan motivasi bagi penulis. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak, khususnya kepada:

1. Ibu Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si., selaku dosen pembimbing I sekaligus dosen pembimbing akademik dan ketua Program Studi Biologi yang telah membimbing, memberi bantuan, saran serta motivasi yang sangat luar biasa kepada penulis selama pelaksanaan perkuliahan, penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.
2. Bapak Dr. Didik Priyandoko, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing, memberi saran, serta motivasi kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.
3. Ibu Dr. R. Kusdianti, M.Si. selaku Dewan Bimbingan Skripsi yang telah memberikan bimbingan, bantuan, saran dan motivasi yang luar biasa kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.

4. Bapak Dr. Bambang Supriatno, M.Si., selaku Ketua Departemen Pendidikan Biologi yang telah memberikan kemudahan kepada penulis selama proses perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
5. Segenap dosen Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI atas segala ilmu, bimbingan, nasihat, serta fasilitas bagi penulis dalam menempuh pendidikan terutama dalam ilmu Biologi selama masa perkuliahan hingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
6. Seluruh *staff* akademik beserta laboran Laboratorium Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI yang selalu membantu dalam memberikan fasilitas, dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Kedua orang tua penulis, Bapak Aripin, S.Pd.I. dan Ibu Suryati, atas kasih sayang, doa, dan bantuan secara moril maupun materil serta motivasi yang selalu diberikan kepada penulis. Tak lupa bantuan dan motivasi dari seluruh keluarga baik secara moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan ini.
8. Teman-teman Biologi C 2018 atas dukungan, keceriaan, dan semangat selama 4 tahun perkuliahan, terutama sahabat seperjuangan peneliti Hanina Dzikrina, Ulaya Hanifah, Siti Awalia Nurfadillah, Maya Damaiyanti, Diah Puspita Sari, Ricky Awaludin, Dennisa America S., Desky Rohaeni, Hening Nafisati Azizah, Fardo M. Siregar, Tim Lab. Riset Ceria, Tim Barudak Hayu, Tim Wanita-wanita Tangguh, Tim Mikroter Cigatas dan kakak senior Zaitun Hidayat dan Try Kurniawan.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuan dan motivasinya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

Semoga Allah subhanahu wa ta'alla senantiasa membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Demikian skripsi ini penulis buat, terima kasih dan mohon maaf atas segala kekurangan. Semoga karya tulis ini memberikan manfaat bagi banyak orang.

Bandung, Agustus 2020

Penulis

Nurul Faridah

# PEMANFAATAN PENANDA GENETIK DAN MULTIPLEX-PCR UNTUK DETEKSI CEPAT KEHALALAN PRODUK OLAHAN DAGING

## ABSTRAK

Peningkatan konsumsi produk olahan daging menyebabkan peningkatan kasus pemalsuan produk olahan daging menggunakan daging tidak halal seperti babi dan tikus. Penggunaan penanda DNA dan *Multiplex-PCR* terus dikembangkan sebagai metode deteksi spesies pada produk olahan daging. Tujuan utama penelitian ini yaitu mendesain urutan primer multipleks babi, tikus, sapi, dan ayam yang menghasilkan amplicon yang dapat terbedakan melalui elektroforesis gel agarose untuk deteksi kehalalan spesies produk olahan daging. Desain primer dilakukan menggunakan data genom mitokondria pada situs NCBI-Primer BLAST untuk mendapatkan urutan primer babi dan sapi yang spesifik. Simulasi *Single* dan *Multiplex-PCR* secara *in silico* dilakukan menggunakan Primer Pooler. Validasi *in vitro* dilakukan melalui *Single-PCR* dan optimasi suhu *annealing Multiplex-PCR* menggunakan sampel daging ayam, sapi, babi, tikus dan produk olahan daging seperti bakso, sosis dan nugget. Hasil desain primer menemukan urutan primer babi dan sapi yang spesifik dengan gen target ND5 dan ukuran amplicon babi 860 bp dan sapi 1187 bp sedangkan hasil simulasi *in silico* menunjukkan bahwa primer multipleks berhasil ditemukan di dalam genom mitokondria dan mengamplifikasi sekuen target sehingga dihasilkan amplicon dengan ukuran terpanjang 1202 bp. Hasil validasi *in vitro* menemukan bahwa primer multipleks gen penanda halal berhasil mengamplifikasi seluruh sekuen target pada suhu *annealing* yang optimal yaitu 58°C dan hasil visualisasi elektroforesis gel agarose menunjukkan amplicon sapi (1187 bp), babi (860 bp), tikus (622 bp), dan ayam (272 bp) yang dapat terbedakan. Amplifikasi primer multipleks gen penanda halal menggunakan sampel produk olahan daging dapat mendeteksi spesies yang digunakan pada produk olahan daging sehingga kehalalannya dapat diketahui.

**Kata kunci:** Deteksi kehalalan, Desain primer, *Multiplex-PCR*, Penanda DNA, Produk Olahan Daging

# THE UTILIZATION OF GENETIK MARKERS AND MULTIPLEX-PCR FOR DETECTION THE HALALNESS OF PROCESSED MEAT PRODUCTS

## ABSTRACT

The increase in consumption of processed meat products has led to an increase in cases of adulterating processed meat products using non-halal meat such as pork and rats. The use of DNA markers and Multiplex-PCR continues to be developed as a method of species detection in processed meat products. The main objective of this study was to design a sequence of multiplex primers for pigs, rats, cattle, and chickens that produced distinguishable amplicon through agarose gel electrophoresis to detect the halal species of processed meat products. The primer design was performed using mitochondrial genom data at the NCBI-Primary BLAST site to obtain specific pig and bovine primer sequences. *In silico* Single and Multiplex-PCR simulations were performed using the Primer Pooler. *In vitro* validation was carried out through Single-PCR and multiplex-PCR annealing temperature optimization using samples of chicken, beef, pork, rat and processed meat products such as meatballs, sausages and nuggets. The results of the primary design of specific pig and bovine primary sequences with the target gene ND5 and the size of the amplicon in pigs 860 bp and cattle 1187 bp, while the *in silico* simulation results show that the primary multiplex was found in the mitochondrial genom and amplified the target sequence to produce the amplicons with the longest size. 1202 bp. The results of *in vitro* validation found that the multiplex primers for the halal marker gene were successful in amplifying all target sequences at the optimal annealing temperature of 58oC and the agarose gel electrophoresis visualization showed amplicons of cattle (1187 bp), pigs (860 bp), rat (622 bp), and chicken (272 bp) that could be distinguished. The multiplex primer amplification of halal marker genes using samples of processed meat products can detect the species used in processed meat products so that halalness can be determined.

**Keywords:** *DNA markers, Halal detection, Multiplex-PCR, Primer design, Processed Meat Products*



## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN.....	ii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Pertanyaan Penelitian .....	3
1.4. Batasan Masalah.....	4
1.5. Tujuan Penelitian.....	4
1.6. Manfaat Penelitian.....	4
1.7. Struktur Organisasi.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Daging dan Produk Olahan Daging.....	6
2.2. Produk Makanan Halal.....	9
2.3. Penanda Genetik.....	11
2.3.1. Penanda Molekuler (DNA) .....	12
2.3.2. DNA Mitokondria (mtDNA).....	13
2.4. <i>Multiplex-Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	15
2.6.1. Isolasi DNA.....	21
2.6.2. Elektroforesis gel Agarose .....	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	23
3.1. Jenis Penelitian .....	23
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian .....	23

3.3.	Alat dan Bahan .....	23
3.4.	Prosedur Penelitian.....	24
3.5.	Indikator Keberhasilan .....	28
3.6.	Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data.....	28
3.7.	Penafsian Data dan Penyimpulan Data.....	29
3.8.	Alur Penelitian.....	30
BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN.....		31
4.1.	Hasil Desain Primer Multipleks .....	31
4.2.	Hasil Simulasi <i>Multiplex-PCR</i> secara <i>In Silico</i> .....	38
4.3.	Hasil Isolasi dan Ekstraksi DNA.....	44
4.4.	Hasil Optimasi dan Amplifikasi <i>Multiplex-PCR</i> .....	46
4.5.	Hasil Amplifikasi Gen Penanda Halal pada Produk Olahan Daging .....	52
BAB V KESIMPULAN .....		55
5.1	Kesimpulan.....	55
5.2	Implikasi .....	55
5.3	Rekomendasi .....	56
5.4	Hambatan.....	56
DAFTAR PUSTAKA .....		57
LAMPIRAN .....		67

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
3.1. Indikator Keberhasilan Setiap Tahap .....	28
3.2. Format Desain Primer Gen Penanda Halal .....	29
3.3. Format Simulasi Primer Multipleks Gen Penanda Halal secara <i>In silico</i> .....	29
3.4. Format Optimasi Suhu <i>Annealing</i> Single dan Multiplex-PCR .....	29
4.1. Primer Multipleks Gen Penanda Halal Ayam dan Tikus .....	35
4.2. Kandidat Primer Babi.....	36
4.3. Standar Primer Multipleks .....	36
4.4. Kandidat Primer Sapi.....	38
4.5. Primer Multipleks Gen Penanda Halal.....	44
4.6. Hasil Optimasi Suhu <i>Annealing</i> Single dan <i>Multiplex</i> -PCR.....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur DNA Mitokondria (mtDNA) .....	14
2.2. Perbedaan <i>Multiplex</i> -PCR dengan PCR Konvensional.....	17
2.3. <i>Multiplex</i> -PCR dan Visualisasi dengan Elektroforesis .....	18
3.1. Diagram Alir Penelitian .....	30
4.1 Data Genom Mitokondria Spesies (a) Babi dan (b) Sapi .....	31
4.2. Hasil Uji Homologi (BLAST) Genom Mitokondria Spesies (a) Babi (b) Sapi ...	32
4.3. Contoh Tampilan Hasil Desain Primer Babi (a) Lokasi Gen Target .....	33
4.4. Hasil Uji Homologi Primer Babi (a) Spesifik (b) Tidak Spesifik.....	36
4.5. Contoh Tampilan Hasil Desain Primer Sapi (a) Lokasi Gen Target (b) Urutan Primer .....	37
4.6. Hasil Uji Homologi Primer Sapi (a) Spesifik (b) Tidak Spesifik .....	37
4.7. Nilai dG (Delta G) dan <i>Threshold</i> Primer Babi .....	39
4.8. Nilai dG (Delta G) dan <i>Threshold</i> Primer Sapi (a) Sapi 1 (b) Sapi 2 .....	40
4.9. Hasil Simulasi <i>Single</i> -PCR Primer (a) Babi 1 (b) Babi 2 (c) Babi 3 .....	40
4.10. Hasil Simulasi <i>Single</i> -PCR Primer Sapi (a) Sapi 1 (b) Sapi 2 .....	40
4.11. Kandidat Set Primer Multipleks Gen Penanda Halal .....	41
4.12. Nilai dG <i>Threshold</i> (a) Set Primer 1 (b) Set Primer 2.....	42
4.13. Hasil Simulasi <i>Multiplex</i> -PCR Set Primer 1 (b) Set Primer 2 .....	42
4.14. Contoh Visualisasi Elektroforesis <i>Multiplex</i> -PCR Gen Penanda Halal.....	43
4.15. Hasil Elektroforesis Sampel Daging Hasil Isolasi DNA.....	45
4.16. Hasil Elektroforesis DNA Hasil Isolasi Produk Olahan Daging .....	45
4.17. Hasil Optimasi Suhu <i>Multiplex</i> -PCR Gen Penanda Halal .....	47
4.18. Perbandingan Ketebalan Pita Hasil Optimasi Suhu <i>Multiplex</i> -PCR.....	50
4.19. Hasil <i>Multiplex</i> -PCR Produk Olahan Daging .....	52

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Daftar Alat dan Bahan dalam Penelitian.....	67
2. Langkah Kerja Pembuatan Larutan Stock.....	69
3. Dokuemntasi Prosedur In Silico.....	71
4. Dokumentasi Prosedur <i>In vitro</i> di Laboratorium .....	77