

**UJI SENSITIVITAS LIMA PRIMER SPESIFIK DNA BABI (*Sus scrofa*)  
PADA PRODUK DAGING OLAHAN**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
AISYAH IZMI HAMIDA SALSABILA  
NIM. 200602110051**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLMA NEGRI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2024**

**UJI SENSITIVITAS LIMA PRIMER SPESIFIK DNA BABI (*Sus scrofa*)  
PADA PRODUK DAGING OLAHAN**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
AISYAH IZMI HAMIDA SALSABILA  
NIM. 200602110051**

**Diajukan Kepada: Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk Memenuhi  
Salah Satu Persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2024**

**UJI SENSITIVITAS LIMA PRIMER SPESIFIK DNA BABI (*Sus scrofa*)  
PADA PRODUK DAGING OLAHAN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**AISYAH IZMI HAMIDA SALSABILA**  
NIM. 200602110051

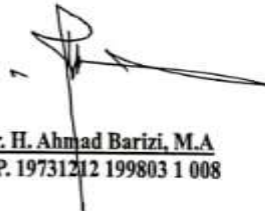
telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
tanggal: 19 Juni 2024

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**



**Didik Wahyudi, M.Si**  
NIP. 19731212 149803 1008



**Dr. H. Ahmad Barizi, M.A**  
NIP. 19731212 199803 1 008

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi**



**Dr. Evita Sandi Savitri, M.P.**  
NIP. 197410182003122002

**UJI SENSITIVITAS LIMA PRIMER SPESIFIK DNA BABI (*Sus scrofa*)  
PADA PRODUK DAGING OLAHAN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**AISYAH IZMI HAMIDA SALSABILA**  
NIM. 200602110051

Telah dipertahankan  
Di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu  
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 25 Juni 2024

Penguji Utama	<u>Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 19741018 200312 2 002
Ketua Penguji	<u>Azizatur Rohmah, M.Sc</u> NIP. 198609302019032001
Sekretaris Penguji	<u>Didik Wahyudi, M.Si</u> NIP. 19731212 149803 1008
Anggota Penguji	<u>Dr. H. Ahmad Barizi, M.A</u> NIP. 19731212 199803 1 008

(.....)  
(.....)  
(.....)  
(.....)

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.  
NIP. 197410182003122002

## HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Skripsi ini penulis persembahkan*

*Yang pertama, kepada orang tua penulis  
Abi Agus Hendriawan dan Umi Ero Triwidya*

*Yang kedua, adik-adik penulis  
Adik Shofiyah Nadhifah, Aduk Syamsa Hawa, Adik Aleena Furaihani*

*Yang ketiga, calon masa depan penulis  
Arsyad Ridho Sibyan*

*Yang keempat, diri penulis sendiri*

## SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aisyah Izmi Hamida Salsabila  
NIM : 200602110051  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
Judul Penelitian : Uji Sensitivitas Lima Primer Spesifik Babi (*Sus scrofa*)  
Pada Produk Daging Olah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar Pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk bertanggungjawab serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 23 Juni 2024

Yang Membuat Pernyataan

  
Aisyah Izmi Hamida Salsabila  
NIM.200602110051

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasi namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

# UJI SENSITIVITAS LIMA PRIMER SPESIFIK DNA BABI (*Sus scrofa*) PADA PRODUK DAGING OLAHAN

Aisyah Izmi Hamida Salsabila, Didik Wahyudi, Ahmad Barizi

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

## ABSTRAK

Makanan halal adalah makanan yang mematuhi pedoman yang ditetapkan oleh hukum Islam dan tidak mengandung bahan atau komponen apa pun yang dilarang oleh hukum Islam untuk dikonsumsi. Permasalahan makanan halal saat ini adalah ditemukannya campuran bahan terlarang berupa daging babi pada produk daging olahan. Beberapa penelitian deteksi babi pada produk makanan telah dilakukan dan hasilnya masih ada beberapa penjual yang sengaja mencampurkan babi pada produk yang dijual. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mendeteksi adanya babi adalah dengan metode PCR (Polymerase Chain Reaction) yang mampu mendeteksi keberadaan DNA. Pada penelitian menggunakan lima macam primer spesifik babi untuk mengetahui primer mana yang paling sensitif dalam mendeteksi DNA babi. Primer spesifik babi yang digunakan, yaitu ND5, *Cytochrome B(1)*, *Cytochrome B(2)*, PPA8, dan Pork. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui sensitivitas primer dalam mendeteksi DNA babi (*Sus scrofa*) menggunakan lima primer spesifik babi yang berbeda. Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi yaitu melakukan percobaan di laboratorium untuk menguji kemampuan suatu metode uji sensitivitas primer dalam mendeteksi DNA babi pada makanan yang telah diolah. Hasil uji primer menunjukkan bahwa dari kelima primer yang digunakan, hanya ada tiga primer yang memiliki kemampuan sensitivitas yang baik, yaitu primer PPA8, Pork, dan *Cytochrome B(2)*. Sensitivitas primer dapat dilihat dari munculnya pita DNA pada tiap primer dari hasil elektroforesis yang dapat dilihat menggunakan *Uv transilluminator*. Dengan begitu, ketiga primer tersebut cocok jika digunakan untuk deteksi babi pada produk daging olahan lainnya.

Kata Kunci : Sensitivitas, makanan halal, kornet babi, bakso sapi, primer spesifik babi, metode PCR, DNA Babi.



## **SENSITIVITY TEST OF FIVE SPECIFIC PRIMERS OF PIG (*Sus scrofa*) DNA ON PROCESSED MEAT PRODUCTS**

Aisyah Izmi Hamida Salsabila, Didik Wahyudi, Ahmad Barizi

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang

### **ABSTRACT**

Halal food is food that complies with the guidelines set by Islamic law and does not contain any ingredients or components that are prohibited by Islamic law for consumption. The current problem with halal food is the discovery of a mixture of prohibited ingredients in the form of pork in processed meat products. Several studies on the detection of pork in food products have been carried out and the results are that there are still some sellers who deliberately mix pork in the products they sell. One way that can be used to detect the presence of pigs is the PCR (Polymerase Chain Reaction) method which is able to detect the presence of DNA. The research used five types of pig-specific primers to find out which primer was the most sensitive in detecting pig DNA. The pork specific primers used were ND5, Cytochrome B(1), Cytochrome B(2), PPA8, and Pork. The aim of this study was to determine the sensitivity of primers in detecting pig (*Sus scrofa*) DNA using five different pig-specific primers. This research is an exploratory research, namely conducting experiments in the laboratory to test the ability of a primary sensitivity test method to detect pork DNA in processed food. The primer test results showed that of the five primers used, only three had good sensitivity, namely the PPA8, Pork, and Cytochrome B(2) primers. Primer sensitivity can be seen from the appearance of DNA bands on each primer from the electrophoresis results which can be seen using a UV transilluminator. In this way, the third primer is suitable if used to detect pork in other processed meat products.

Keywords: Sensitivity, halal food, corned beef, beef meatballs, pork specific primers, PCR method, pork DNA.

## اختبار الحساسية لخمسة بادئات محددة من الحمض النووي للخنازير على منتجات اللحوم المصنعة (Sus scrofa)

عائشة عزمي حميدة سلسبيلا، ديديك وحيودي، أحمد بارزي

برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

### خلاصة

الطعام الحلال هو الطعام الذي يتوافق مع المبادئ التوجيهية التي حددتها الشريعة الإسلامية ولا يحتوي على أي مكونات أو مكونات تحظر الشريعة الإسلامية استهلاكها. المشكلة الحالية مع الطعام الحلال هي اكتشاف خليط من المكونات المحظورة على شكل لحم خنزير في منتجات اللحوم المصنعة. تم إجراء العديد من الدراسات حول الكشف عن لحم الخنزير في المنتجات الغذائية وكانت النتائج أنه لا يزال هناك بعض البائعين الذين يعتمدون خلط لحم الخنزير (تفاعل PCR في المنتجات التي يبيعونها. إحدى الطرق التي يمكن استخدامها للكشف عن وجود الخنازير هي طريقة البوليميراز المتسلسل) القادرة على اكتشاف وجود الحمض النووي. استخدم البحث خمسة أنواع من البادئات الخاصة بالخنازير لمعرفة أي البادئات كانت الأكثر حساسية في اكتشاف الحمض النووي للخنازير. كانت البادئات المحددة لحم كان الهدف Pork، وPPA8، وCytochrome B(2)، وCytochrome B(1)، وND5 الخنزير المستخدمة هي باستخدام (Sus scrofa) من هذه الدراسة هو تحديد حساسية البادئات في الكشف عن الحمض النووي للخنزير خمسة بادئات مختلفة خاصة بالخنازير. هذا البحث هو بحث استكشافي، وهو إجراء تجارب مخبرية لاختبار قدرة طريقة اختبار الحساسية الأولية على اكتشاف الحمض النووي لحم الخنزير في الأغذية المصنعة. أظهرت نتائج PPA8 الاختبار التمهيدي أنه من بين البادئات الخمسة المستخدمة، كانت ثلاثة فقط لديها حساسية جيدة، وهي البادئات يمكن رؤية حساسية التمهيدي من خلال ظهور شرائط الحمض النووي على كل (2) وPork وCytochrome B(2). يمكن رؤية حساسية التمهيدي من نتائج الرحلان الكهربائي والتي يمكن رؤيتها باستخدام جهاز نقل الأشعة فوق البنفسجية. وبهذه الطريقة، يكون التمهيدي الثالث مناسباً إذا تم استخدامه للكشف عن لحم الخنزير في منتجات اللحوم المصنعة الأخرى.

الكلمات المفتاحية: الحساسية، الطعام الحلال، لحم البقر المحفوظ، كرات لحم البقر، البادئات الخاصة بلحم الخنزير، لحم الخنزير DNA، PCR طريقة

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

*Bismillahirrohmanirrohim*, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi dengan judul “Uji Sensitivitas Lima Primer Spesifik DNA Babi (*Sus scrofa*) Pada Produk Daging Olahan”. Sholawat serta salamsemoga tetap tercurahkan kepada junjungan Nabiullah Muhammad SAW yang telah menunjukkan jalan yang terang kepada kita semua.

Maksud dari penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan Program Studi Biologi Strata Satu (S1) Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penulis dapat memahami bahwa tanpa adanya bantuan dan bimbingan dari semua pihak yang terlibat maka skripsi ini akan sulit untuk diselesaikan, sehingga penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang sudah terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini. Ucapan terimakasih penulis sampaikan terkhusus kepada:

1. Prof. Dr. Zainuddin, M.A. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
  2. Dr. Sri Harini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
  3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
  4. Didik Wahyudi, M. Si. dan Dr. H. Ahmad Barizi, M. A. selaku dosen pembimbing I dan dosen pembimbing II dari Program Studi Biologi yang telah memberikan bimbingan dan arahan untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
  5. Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc. selaku Dosen Wali, yang telah membimbing dan selalu memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
  6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengampu mata kuliah di Program Studi Biologi yang telah memberikan penulis ilmu dan wawasan selama belajar di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
  7. Kedua orang tua penulis di rumah, Abi Agus Hendriawan dan Ummi Ero Triwidya, serta kedua orang penulis di asrama, Ustadz Awaluddin Fitroh dan Ustadzah Rifqiyatuz Zuhriyah, yang tidak pernah lupa menyelipkan doa terbaik untuk penulis.
  8. Keluarga penulis, adik Shofiyah Nadhifah, adik Syamsa Hawa, adik Aleena Furaihani, terutama bude Ero Dwi Puspita, om Era Catur Prasetya, dan tante Nur Izzati, yang selalu memberikan penulis semangat dan motivasi yang tiada hentinya baik nasihat, masukan, dan arahan yang sangat membantu.
  9. Teman sekaligus seseorang yang berarti, Arsyad Ridho Sibyan, yang selalu menjadi tempat penulis membuang segala rasa lelah, sedih, dan selalu ada disaat penulis butuh.
  10. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2020, terkhusus teman-teman Ligase yang selalu memberikan support satu sama lain sehingga penulis selalu merasa bangkit dan semangat untuk segera menyelesaikan skripsi.
- Penulis menyadari skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan maka penulis

mengharapkan saran dan kritik demi perbaikan sehingga proposal skripsi ini dapat memberikan manfaat kedepannya.

*Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.*

Malang, 23 Juni 2024

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
خلاصة .....	ix
KATA PENGANTAR .....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
<b>BAB I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.5 Batasan Masalah .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Pangan .....	7
2.1.1 Kehalalan Pangan .....	7
2.2.2 Keamanan Pangan .....	11
2.2 Babi .....	13
2.2.1 Produk Olahan Daging Babi .....	13
2.2.1.1 Bakso .....	16
2.2.1.2 Kernet .....	17
2.2.2 Produk Turunan Babi .....	18
2.3 DNA .....	21
2.4 Metode PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ) .....	24
2.5 Primer .....	25
2.5.1 Prmer ND5.....	25
2.5.2 Primer PPA8 .....	26
2.5.3 Primer Pork .....	27
2.5.4 Primer <i>Cytochrome B</i> .....	28
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>28</b>
3.1 Rancangan Penelitian .....	28
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	28
3.3 Alat dan Bahan .....	28
3.3.1 Alat .....	28
3.3.2 Bahan .....	28

3.4 Tahapan Penelitian .....	29
3.5 Cara Kerja .....	29
3.5.1 Persiapan Sampel .....	29
3.5.2 Ekstraksi DNA .....	29
3.5.3 Optimasi Primer .....	30
3.5.4 Amlifikasi DNA Babi .....	31
3.5.5 Pembuatan Gel Agarose dan Elektroforesis .....	33
3.5.5.1 Pembuatan Gel Agarose .....	33
3.5.5.2 Elektroforesis .....	33
3.5.5.3 Gel Documentatoin .....	33
3.3.5.4 Analisa Hasil Amplifikasi .....	34
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
Hasil Sensitivitas Lima Primer dalam Mendeteksi DNA Babi Pada Produk Daging Olahan .....	35
<b>BAB V. PENUTUP .....</b>	<b>43</b>
5.1 Kesimpulan .....	43
5.2 Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>51</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 3.1 Variasi <i>Suhu Annealing</i> .....	31
Tabel 3.2 Amplifikasi Sekuens Primer Babi .....	32
Tabel 1. Kualitas DNA Babi dan Sapi .....	35
Tabel 2. Hasil PCR DNA Babi Pada Sampel Kernet Babi dan Bakso Sapi Menggunakan Lima Primer Berbeda .....	39

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Bakso Daging Sapi .....	15
Gambar 2.2 Kornek Daging Sapi .....	17
Gambar 2.3 Bagian Tubuh Babi dan Pemanfaatannya .....	18
Gambar 2.4. Struktur DNA .....	20
Gambar 2.5 Hasil amplifikasi PCR oleh Fidia dkk (2012) yang Menemukan Cemaran Babi pada Sampel Ke 13 .....	24
Gambar 2.6 Database NCBI .....	26
Gambar 1. Visualisasi Primer Spesifik Babi Terhadap DNA Sampel Babi dan Bakso .....	37



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Ekstraksi Sampel Babi dan Sapi .....	51
Lampiran 2. Perhitungan .....	52
Lampiran 3. Komposisi Pengenceran Primer ( $\mu$ l) .....	53
Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan Penelitian .....	54
Lampiran 5. Jurnal Acuan Pemilihan Primer .....	55

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Makanan halal mengikuti prinsip-prinsip yang digariskan dalam hukum Islam yaitu *halalan thayyiban* yang berarti halal dan baik. Meskipun semua makanan halal dijamin baik, penting untuk dicatat bahwa tidak semua makanan yang baik pasti halal. Oleh karena itu, untuk menjauhkan diri dari mengonsumsi makanan yang haram, umat Islam harus secara konsisten mengonsumsi makanan yang halal (Nashirun, 2020). Yusuf Qardlawi (1972) menyatakan dalam kata pengantar karyanya *al-Halal wa al-Haram fi al-Islam* bahwa konsep halal dan haram memiliki arti yang sangat penting bagi umat Islam. Konsep ini berfungsi sebagai pembeda yang jelas antara apa yang secara moral diperbolehkan dan apa yang dilarang dan juga mewakili perbedaan antara mencapai surga atau menghadapi neraka.

Masalah makanan halal telah dibagi ulama menjadi dua hal yaitu dari segi dzatnya dan cara memperolehnya. Sebagaimana yang telah dijelaskan dalam surat Al- Baqarah ayat 168 sebagai berikut :

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِينٌ  
[البقرة: 168]

Artinya: “Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal dan baik yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah setan. Sungguh, setan itu musuh yang nyata bagimu” (Al- Baqarah : 168).

Imam Jalaluddin Suyuti (2013) dalam tafsirnya, *Jalalain*, memaknai kata **طَيِّبًا** dengan kata *Mustaladzan* yang berarti makanan yang bisa dinikmati atau enak, kemudian makna ini dijelaskan lebih lanjut oleh Dr. Mustafa dieb Al bugha, **طَيِّبًا**

mempunyai dua makna, pertama yang dimaksud *Thayyib* adalah halal, sedangkan makna yang kedua adalah makanan tersebut tidak ditolak oleh akal sehat atau secara alamiah seorang manusia tertarik untuk memakan makanan tersebut. Imam Ali As-Shabuni (1997) dalam tafsirnya, *Shofwatut Tafasir*, menjelaskan bahwa ayat ini bersifat umum atau tidak hanya ditujukan kepada umat muslim dan maksud dari ayat tersebut menurut Imam Ali As-Shabuni adalah hendaknya kalian memakan makanan yang halal dan baik karena hal itu tidak akan membahayakan kesehatan jasmani ataupun rohani.

Syekh Sayyid Thantawi (1997) dalam Tafsir *AlWasith* menjelaskan bahwa halal adalah sesuatu yang diperbolehkan oleh Allah untuk memakannya dan meminumnya. Beliau juga menukil pendapat Al Imam Ar Razi bahwa asal kata halal adalah *Al hullu* berarti pemutus atau pembatal suatu ikatan. Dan Ar-Razi melanjutkan perkataanya “Ketahuilah bahwa makanan dan minuman haram itu bisa disebabkan karena dzatnya itu sendiri seperti bangkai, darah, dan daging babi, dan bisa juga makanan itu menjadi haram karena sifat yang melekat pada makanan atau minuman tersebut, seperti makanan dan minumannya orang lain ketika belum mendapat ijin untuk mencicipi dan meneguknya, maka menurut beliau halal adalah yang terbebas dari dua unsur ini (haram karena dzat atau haram karena sifat yang melekat)”. Namun yang menjadi permasalahan saat ini adalah susahnya mengetahui kehalalan dzat suatu makanan yang sudah dalam bentuk makanan olahan (Andriyani *et al.*, 2019).

Sejumlah makanan olahan dengan bahan dasar daging sapi ditemukan tercampur dengan daging babi (Riris *et al.*, 2019). Produk tersebut terdiri atas bakso (Fidia *et al.*, 2012), sosis (Vallery, 2017), dan abon (Putri, 2022). Pencampuran daging babi

pada berbagai produk pangan olahan adalah salah satu permasalahan utama dan penting dalam industri pangan (Kesmen *et al.*, 2007). Munculnya masalah tersebut akan mempengaruhi keamanan (halal), kualitas, dan kesehatan pangan yang berpotensi menurunkan nilai produk (Jimyeong *et al.*, 2017). *The United States Pharmacopeial Convention* (USP) mencatat ada 2000 kasus pemalsuan produk makanan yang terjadi sejak tahun 1980- 2012 di negara atau wilayah dengan harga sapi yang tinggi, seperti Jepang, China, Korea. Produk dengan label daging sapi yang dipalsukan dengan daging babi seringkali dilakukan hanya untuk memperoleh keuntungan lebih besar (Moore *et al.*, 2012).

Berbagai teknik alternatif telah dirancang untuk mengidentifikasi keberadaan kontaminasi babi dalam produk daging olahan. Berbagai teknik telah dirancang untuk deteksi kontaminasi babi, sebagian besar di antaranya menggunakan protein atau DNA. Analisis protein mencakup teknik seperti *immunoassay*, elektroforesis, dan kromatografi (Assensio *et al.*, 2008). Namun demikian, pendekatan ini memiliki kekurangan karena protein mengalami kehilangan fungsi biologisnya pada saat kematian hewan. Selain itu, protein dapat mengalami denaturasi ketika terpapar pada suhu dan tekanan yang tinggi. Hal ini mengakibatkan berkurangnya karakteristik protein selama proses pengolahan daging yang intensif dan menambah kompleksitas proses analisis (Soares *et al.*, 2010). Oleh karena itu, diperlukan pendekatan alternatif untuk memeriksa bahan makanan, selain hanya mengandalkan analisis protein dalam rangka mengembangkan metode yang andal dan efisien untuk mengesahkan status halal suatu produk (Puspitasari dkk, 2019). Salah satu teknik yang dapat digunakan adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknologi yang digunakan untuk

produksi dan amplifikasi DNA (Pherson dan Moller, 2006).

Metode PCR adalah metode yang paling sering digunakan dalam deteksi kontaminan babi (Iskandar, 2023) dan terbagi menjadi beberapa variasi, seperti PCR-RFLP (Yuny dkk, 2012), Real Time-PCR (Kay dan Athiefah, 2023), PCR konvensional (Faralinda, 2017), dan Multipleks-PCR (Marlinda, 2021). Metode PCR memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan dalam penggunaannya. Kelebihan metode PCR, antara lain akurat, memiliki sensitivitas tinggi, waktu analisis cepat, dan sampel yang dibutuhkan sedikit. Sedangkan untuk kekurangan metode ini adalah persiapan sampel yang membutuhkan harga yang cukup mahal dan penggunaan mesin pengatur suhu (Mayang dkk, 2022).

Keberhasilan proses PCR hanya ditentukan oleh primer yang digunakan. Oleh karena itu, ada kriteria tertentu yang harus dipenuhi untuk mendapatkan desain primer terbaik (Sasmitha dkk, 2018). Primer merupakan molekul lignukleotida berantai tunggal kurang lebih 30 basa yang berperan penting dalam proses PCR (Sasmito dkk, 2014). Penelitian ini menggunakan lima primer spesifik babi dengan suhu annealing yang bervariasi, yaitu ND5 (55° C), *Cytochrome B(1)* (50° C), *Cytochrome B(2)* (58° C), PPA8 (50° C), dan Pork (55° C). Penggunaan beberapa primer daging babi dimaksudkan untuk mengetahui primer yang paling sensitif dalam menemukan kontaminan DNA babi pada produk olahan daging yang diuji yaitu kornet babi dan bakso sapi.

Metode PCR dapat digunakan untuk mengidentifikasi DNA pada gen target tertentu karena kemampuannya untuk menghasilkan DNA dalam jumlah besar yang berpotensi mencapai jutaan. Penggunaan DNA sebagai alat identifikasi merupakan metode yang cocok untuk mendeteksi keberadaan kandungan babi

dalam jumlah kecil pada produk daging olahan (Norrakiah *et al.*, 2015).

Dalam penelitian Jafar dkk (2017) deteksi status halal dilakukan dengan menggunakan mtDNA. Para peneliti mengembangkan uji reaksi rantai polimerase dupleks (PCR) yang menargetkan 149 bp daging babi dan 271 bp daging sapi. Pengujian ini menggunakan empat set primer spesifik untuk mtDNA babi dan sapi untuk secara simultan mendeteksi keberadaan DNA babi dan sapi dalam kapsul obat yang berasal dari gelatin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 24 sampel gelatin yang dianalisis, hampir 50% ditemukan mengandung DNA babi yang mengindikasikan adanya gelatin babi murni atau campuran daging sapi dan babi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi lebih lanjut dengan menggunakan lima primer spesifik babi untuk mengetahui sensitivitas primer dalam menghasilkan pita DNA pada sampel kornet dan bakso sapi.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana sensitivitas lima primer spesifik babi dalam mendeteksi DNA babi pada produk daging olahan?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sensitivitas lima primer spesifik babi dalam mendeteksi DNA babi pada produk daging olahan.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah agar dapat memberikan informasi tentang sensitivitas primer spesifik babi dalam mendeteksi DNA babi pada produk daging olahan.

## **1.5 Batasan Masalah**

Batasan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sampel produk daging olahan yang digunakan adalah kornet babi dan bakso sapi.
2. Metode molekuler yang digunakan untuk mengetahui sensitivitas primer babi adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan primer spesifik babi, yaitu ND5, *Cytochrome B*(1), *Cytochrome B*(2), Pork, dan PPA8.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pangan

##### 2.1.1 Kehalalan Pangan

Pangan berupa makanan dan minuman yang dikonsumsi dalam Islam yang dipersyaratkan dengan dua hal, yaitu *halal* dan *thayyib*. Pentingnya makanan halal telah dijelaskan pada beberapa ayat Al-Qur'an, seperti dalam penggalan Qs. Al-A'raf ayat 157 yang berbunyi :

وَيُحِلُّ لَهُمُ الطَّيِّبَاتِ وَيُحَرِّمُ عَلَيْهِمُ الْخَبَائِثَ وَيَضَعُ عَنْهُمْ إِصْرَهُمْ وَالْأَغْلَالَ الَّتِي كَانَتْ عَلَيْهِمْ  
فَالَّذِينَ ءَامَنُوا بِهِ وَعَزَّرُوهُ وَنَصَرُوهُ وَاتَّبَعُوا النُّورَ الَّذِي أُنزِلَ مَعَهُ ۙ أُولَٰئِكَ هُمُ الْمُفْلِحُونَ  
[الأعراف: 157]

Artinya : “Dan Dia menghalalkan bagi mereka hal-hal yang baik dan mengharamkan bagi mereka keburukan membebaskan beban-beban serta belenggu-belenggu yang ada pada mereka. Adapun orang-orang yang beriman kepadanya, memuliakannya, menolongnya, dan mengikuti cahaya terang yang diturunkan bersamanya (Al-Qur'an), mereka itulah orang-orang beruntung” (Qs. Al-A'raf : 157).

Imam Baghawi (1997) dalam tafsirnya, *Al Baghawi*, menyebutkan bahwa sesuatu yang diharamkan adalah bangkai, darah, dan daging babi, serta zina dan yang lainnya. Ibnu Katsir (1999) dalam tafsirnya menukil riwayat dari Abdullah bin Abbas bahwa kata *Khabaits* adalah seperti daging babi dan riba serta makanan yang pernah mereka anggap halal (pada zaman jahiliyah), padahal hal tersebut telah di haramkan oleh Allah. Sebagian ulama juga menegaskan bahwa segala sesuatu yang diharamkan oleh Allah, maka itu adalah baik karena membawa kemanfaatan bagi tubuh dan agama. Namun sebaliknya, jika Allah mengharamkan sesuatu maka itu



memang kotor (menjijikkan) dan membawa kemudharatan bagi tubuh dan agama. Syekh Sayyid Thantawi (1997) dalam tafsirnya, *Al-Wasith*, juga menjelaskan bahwa ketaatan seseorang dalam mematuhi rambu-rambu halal dan haram cenderung akan membawa pada kesuksesan dan kebahagiaan.

Selain ayat diatas, Allah juga menyerukan kembali kepada manusia, khususnya orang-orang mukmin untuk memakan makanan halal. Sebagaimana dalam Qs. Al Baqarah ayat 172 yang berbunyi :

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ ءَامَنُوا كُلُوا مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَاشْكُرُوا لِلَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ [البقرة: 172]

Artinya : “Wahai orang-orang yang beriman! Makanlah dari rezeki yang baik yang Kami berikan kepada kamu dan bersyukurlah kepada Allah, jika kamu hanya menyembah kepada-Nya” (Qs. Al Baqarah : 172).

Dalam tafsir *Baghawi* (Imam Baghawi, 1997) kata طَيِّبَاتٍ memiliki arti makanan halal, selanjutnya Imam Baghawi (1997) juga menukil hadits “sesungguhnya Allah itu baik dan tidak menerima sesuatu selain yang baik. Sedangkan pada penafsiran yang lain, yakni pada tafsir *Al-Wasith* (Thantawi, 1997) kalimat مِّن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ memiliki arti makanan yang bisa dinikmati yang berasal dari rezeki yang Allah berikan.

Ibnu Katsir (1999) dalam tafsirnya menjelaskan bahwa Allah memerintahkan secara khusus kepada hamba- hambaNya yang mukmin untuk memakan makanan yang baik yang telah Allah karuniakan kepada mereka agar bersyukur atas karunia tersebut dan mencukupkan diri untuk memakan makanan halal merupakan suatu bukti bahwa mereka adalah mukmin yang taat, serta agar orang mukmin meyakini bahwa makanan halal adalah sebab diterimanya ibadah dan terkabulnya doa.

Makanan adalah barang yang dimaksudkan untuk dimakan atau diminum oleh manusia serta bahan yang digunakan dalam produksi makanan. Beberapa kriteria makanan yang halal adalah sebagai berikut (Apriyantono, 2005) :

1. Bukan terdiri dari atau mengandung bagian atau benda dari binatang yang dilarang oleh ajaran Islam untuk memakannya atau yang tidak disembelih menurut ajaran Islam.
2. Tidak mengandung sesuatu yang digolongkan sebagai najis menurut ajaran Islam.
3. Tidak mengandung bahan penolong dan atau bahan tambahan yang diharamkan menurut ajaran Islam.
4. Pada proses menyimpan dan menghidangkan tidak bersentuhan atau berdekatan dengan makanan yang tidak memenuhi persyaratan atau benda yang dihukumkan sebagai najis menurut ajaran Islam.

Makanan halal adalah makanan yang diperbolehkan untuk dikonsumsi dan tidak ada larangan. Makanan halal juga dapat dicirikan sebagai makanan yang bebas dari risiko duniawi dan ukhrawi (Girindra, 2005). Makanan halal dapat didefinisikan sebagai makanan yang memiliki rasa yang enak, standar kebersihan yang sempurna, dan nilai gizi yang optimal. Setiap Muslim diwajibkan untuk mengonsumsi makanan halal. Peraturan tentang makanan yang diperbolehkan (halal) dan dilarang (haram) berasal dari Allah SWT dan Al-Quran serta Hadits memuat ketentuan tersebut (Hermiza, 2013).

Produk halal adalah produk makanan yang mematuhi pedoman yang ditetapkan oleh hukum Islam dan tidak mengandung bahan atau komponen apa pun yang dilarang oleh hukum Islam untuk dikonsumsi (Zulham, 2018). Produk halal tidak

hanya mencakup bahan baku yang digunakan, tetapi juga berbagai faktor lain termasuk keamanan pangan, kualitas, peralatan pengolahan, alat bantu pengolahan, pengemasan, transportasi, penyimpanan, dan distribusi (Widyaningrum, 2019).

Produk halal menghasilkan makanan halal yang terbagi menjadi beberapa kategori, seperti halal secara zat, halal secara memperolehnya, halal secara pengolahannya, dan halal secara penyajiannya. Mengonsumsi makanan halal akan memberikan dampak positif sebagai berikut: (Eliza dan Umami, 2023)

1. Segi kesehatan dan kebersihan

Makanan halal diamanatkan oleh Islam harus memenuhi standar sanitasi yang ketat, memastikan makanan tersebut bebas dari kontaminasi, dan diproses dengan tingkat kebersihan tertinggi. Dengan memilih makanan halal, umat Muslim dapat melindungi kesehatan mereka dan meminimalkan kemungkinan terkena penyakit atau infeksi yang mungkin timbul akibat mengonsumsi makanan yang tidak sehat atau tidak bersih.

2. Kesadaran diri dan kesalehan

Terlibat dalam konsumsi makanan halal menanamkan rasa kesadaran dalam diri umat Muslim mengenai pilihan makanan mereka dan mendorong mereka untuk merenungkan dengan cermat asal-usul makanan mereka. Hal ini dapat meningkatkan kesadaran diri seseorang akan pentingnya menjunjung tinggi integritas pribadi dan mematuhi hukum-hukum Allah. Dengan memilih makanan halal, seseorang dapat secara bersamaan memperdalam hubungan mereka dengan Allah dan memupuk lebih banyak kesalehan dalam kehidupan sehari-hari.

3. Hubungan sosial

Mematuhi peraturan makanan halal dapat mempengaruhi hubungan sosial individu Muslim dengan komunitas Muslim lainnya. Makanan halal memungkinkan individu untuk berbagi makanan dan hidangan dengan teman,

keluarga, dan anggota komunitas Muslim tanpa perlu mengkhawatirkan status kehalalannya. Hal ini memperkuat ikatan sosial dan menumbuhkan solidaritas dalam komunitas Muslim.

#### 4. Penguatan identitas

Memilih makanan halal berfungsi untuk memperkuat identitas Muslim dan membedakannya dari kelompok budaya atau agama lain. Terlibat dalam kegiatan ini dapat meningkatkan hubungan spiritual setiap Muslim dengan agama mereka, menumbuhkan pemahaman, dan kekaguman yang lebih dalam terhadap prinsip-prinsip Islam, serta memperkuat rasa identitas Muslim.

#### 5. Keteladanan

Dengan mengikuti aturan-aturan makanan halal, setiap individu Muslim dapat menjadi panutan bagi orang lain, terutama generasi muda. Hal ini mendorong pelestarian kualitas, kejujuran, dan kesadaran dalam memilih makanan. Dengan mewujudkan perilaku yang patut dicontoh, individu Muslim memiliki kemampuan untuk memberikan pengaruh kepada orang lain, mendorong kepatuhan terhadap peraturan makanan halal, dan ketaatan terhadap prinsip-prinsip Islam yang benar.

Dari argumen yang disebutkan di atas, dapat disimpulkan bahwa memilih makanan halal dari sudut pandang Islam tidak hanya memberikan efek yang baik bagi kesehatan dan kebersihan seseorang, tetapi juga pada dimensi spiritual, sosial, dan identitas pribadi individu Muslim. Hal ini memfasilitasi pembentukan gaya hidup yang sesuai dengan prinsip-prinsip Islam dan meningkatkan hubungan dengan Allah dan masyarakat Muslim. (Eliza dan Ummi, 2023).

### **2.1.2 Keamanan Pangan**

Makanan adalah kebutuhan dasar yang paling penting bagi manusia dan memastikan pemenuhannya juga merupakan salah satu komponen hak asasi

manusia. Undang-Undang Dasar 1945, dalam Pasal 27 ayat (2), menjamin hak asasi manusia untuk mencari nafkah, termasuk hak untuk mengkonsumsi makanan yang aman. Memastikan keamanan pangan merupakan jaminan penting yang harus dimiliki konsumen untuk melindungi diri mereka sendiri dari mengkonsumsi pangan yang berbahaya. Hal ini sejalan dengan arahan Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen (UU Perlindungan Konsumen) Pasal 4. Kondisi ini menekankan pentingnya penanganan hal-hal yang berkaitan dengan pangan untuk menjamin keamanan pangan yang dikonsumsi oleh masyarakat. Memastikan keamanan pangan merupakan prasyarat penting untuk setiap produk pangan (Tri, 2020).

Makanan mengacu pada zat dan minuman yang dapat dikonsumsi yang menyediakan energi yang diperlukan untuk pergerakan tubuh. Jika tubuh mengalami kekurangan energi, maka akan bermanifestasi sebagai kelemahan dan kerentanan yang tinggi terhadap kelelahan. Selain itu, makanan dan minuman memiliki peran penting dalam mendorong pertumbuhan dan perkembangan tubuh, serta dalam memelihara dan memperbaiki sel-sel yang rusak atau menua. Makanan dan minuman juga berperan penting dalam mengatur metabolisme tubuh, menyeimbangkan cairan tubuh, dan memperkuat pertahanan tubuh terhadap penyakit. Makanan dan minuman yang sehat adalah makanan dan minuman yang bersih, bergizi, dan seimbang, yang terdiri dari karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral, dan air. Makanan dan minuman tersebut tidak mengandung komponen yang dapat membahayakan kesehatan tubuh (Nugraheni *et al.*, 2018).

Undang-Undang Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan (UU Kesehatan) telah menetapkan peraturan di Bagian Keenam Belas Pasal 109 untuk memastikan

bahwa makanan dan minuman yang diproduksi dan diedarkan kepada masyarakat aman untuk dikonsumsi. Mengonsumsi makanan yang tidak layak konsumsi secara terus menerus membuat tubuh rentan terhadap masalah kesehatan. Pada anak-anak terjadinya gangguan ini dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan anak, termasuk proliferasi sel-sel otak yang dapat berdampak pada tingkat kecerdasan. Pada akhirnya anak akan mengalami kesulitan dalam bersaing dengan anak seusianya (Nugraheni, 2018).

Memastikan keamanan pangan merupakan aspek penting dalam mengelola sistem pangan. Tujuan utama dari Peraturan Pemerintah No. 86 Tahun 2019 tentang keamanan pangan adalah untuk memastikan bahwa negara melindungi kesejahteraan dan keamanan fisik warganya dengan menerapkan langkah-langkah untuk menjamin konsumsi pangan yang bebas dari bahaya kesehatan. Untuk menjamin keamanan pangan di masyarakat, sangat penting untuk membangun sistem keamanan pangan yang mencakup seluruh rantai makanan yang dimulai dari tahap produksi hingga ke titik konsumsi oleh konsumen. Untuk menjamin keamanan pangan, semua kegiatan dan proses produksi di dalam negeri serta barang impor harus mematuhi peraturan keamanan pangan yang ditetapkan (Tri, 2020).

## **2.2 Babi**

### **2.2.1 Produk Olahan Daging Babi**

Babi biasanya dikembangbiakkan dan dibesarkan di peternakan khusus untuk tujuan produksi daging. Masyarakat mengonsumsi daging babi sebagai salah satu produk hewani. Daging babi adalah makanan kaya nutrisi yang mengandung karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral. Daging babi sangat kaya akan tiamin (vitamin B1) yang memainkan peran penting dalam pencernaan karbohidrat dan

mendukung berfungsinya sistem saraf (Hartawan, 2000).

Daging babi merupakan bahan baku non-halal yang biasa digunakan oleh produsen di beberapa industri. Babi lebih disukai oleh produsen karena pertumbuhannya yang cepat, hasil produksi yang tinggi, dan efektivitas biaya dibandingkan dengan hewan non-peternakan. Menurut Majelis Ulama Indonesia (MUI), daging babi dianggap haram untuk dikonsumsi dan termasuk hewan yang dikategorikan sebagai haram *mugorad* (sangat kotor). Barang atau peralatan apa pun yang digunakan dalam pemrosesan atau penanganan daging babi menjadi terkontaminasi dan dianggap kotor. Makanan halal dilarang bersentuhan dengan peralatan yang telah tercemar daging babi. Oleh karena itu, sangat penting untuk memprioritaskan pembersihan peralatan atau benda apa pun yang telah terkontaminasi daging babi (Ilzamha dan Dita, 2021).

Sejumlah besar produk makanan berbahan dasar daging, terutama produk olahan daging sapi, mengandung campuran daging babi. Tujuan pencampuran daging babi adalah untuk menurunkan biaya produksi, sehingga lebih hemat dibandingkan dengan menggunakan bahan daging sapi asli. Untuk mengganti daging sapi dengan daging babi sebagai bahan utama atau pelengkap, produsen perlu memberi tahu konsumen tentang perubahan ini, meskipun tidak semua produsen melakukannya. Oleh karena itu, sangat penting untuk melakukan deteksi kontaminasi daging babi pada makanan untuk melindungi konsumen (Riris *et al.*, 2019).

#### **2.2.1.1 Bakso**

Bakso merupakan salah satu produk olahan daging yang cukup terkenal. Bakso merupakan bahan pangan yang mengandung protein hewani, mineral, dan zat gizi yang tinggi (Montolalu *et al.*, 2017). Khasiat bakso dipengaruhi oleh komposisi

bahan yang tepat, serta daging yang digunakan harus berkualitas dan segar (Ulupi & Fatriana, 2012). Selain itu, bakso juga merupakan olahan daging, dimana dagingnya dihaluskan, dicampur dengan bumbu, dibuat menjadi bola-bola kecil dari tepung dan dimasak dalam air mendidih (Montolalu *et al.*, 2017).

Daging merupakan sumber protein dan berperan sebagai pengemulsi pada bakso. Protein utama yang berperan sebagai pengemulsi adalah miosin yang dapat larut dalam garam. Adapun cara membuat bakso yang paling umum biasanya dengan cara menyuwir dan menghaluskan daging terlebih dahulu, kemudian mencampurkannya dengan bumbu dan tepung, membentuknya menjadi bola-bola kecil, dan memasaknya dalam air mendidih (Montolalu *et al.*, 2017)..



**Gambar 2.1.** Bakso Daging  
(Sumber : Sofi dan Rita, 2022)

Penggunaan daging babi dalam pembuatan bakso mulai marak seiring dengan melambungnya harga daging sapi di pasaran (Balial dkk, 2014). Kasus pencemaran babi pada bakso pernah ditemukan oleh Fidia dkk (2012) yang melakukan penelitian di pusat kota Salatiga untuk mendeteksi kontaminasi daging babi pada bakso. Metode PCR menggunakan primer deteksi babi P14 yang mempunyai fokus deteksi pada salah satu wilayah dari ke-13 lokus PRE-1 yang terdapat pada genom babi. Tiga belas bakso dipilih sebagai sampel untuk pengujian molekuler. Hasil



yang terkumpul diamati pada hasil elektroforesis gel agarosa 1,2% yang menunjukkan adanya pita DNA yang berbeda berukuran 227 bp pada sampel bakso nomor 13.

#### **2.2.1.2 Kornet**

Nama "kornet" berasal dari penggunaan garam kasar. *Corn* artinya biji-bijian, atau butiran garam (Leith, 1989). Pada dasarnya kornet dibuat untuk mengeringkan dan mengawetkan daging. Proses pengeringan daging kornet awalnya bertujuan untuk pengawetan, namun seiring kemajuan teknologi, rasa dan warna menjadi lebih penting daripada pengawetan. Bahan utama kornet adalah protein hewani, termasuk mioglobin. Kehadiran mioglobin dalam daging bereaksi dengan garam pengerasan yang terdiri dari *natrium nitrat* (NaNO<sub>3</sub>) atau *natrium nitrit* (NaNO<sub>2</sub>) membentuk pigmen heme mioglobin dalam darah, menghasilkan molekul stabil yang disebut *nitrosamiochromogen* dan *nitrosochemochromogen* (Sherly dan Anna, 2016).

Daging kornet yang tersedia secara komersial biasanya dibuat dari sumber protein yang mencakup mioglobin, seperti daging sapi, kambing, babi, dan tuna. Hal tersebut didasari karena produk kornet harus dibuat dari daging yang masih merah (Sherly dan Anna, 2016). Kornet yang tersedia untuk dibeli biasanya dikemas dalam kaleng atau plastik sebagai produk yang diawetkan tanpa melalui proses pembekuan (Gambar 2.4). Kornet biasanya diolah menjadi kornet goreng dengan cara mencampurkannya dengan telur ayam (Sofi dan Rita, 2022). Terkait kasus pencemaran pada kornet belum ditemukan adanya campuran babi pada bahan yang digunakan.



**Gambar 2.2** Kornet Daging Sapi  
(Sumber : Sofi dan Rita, 2022)

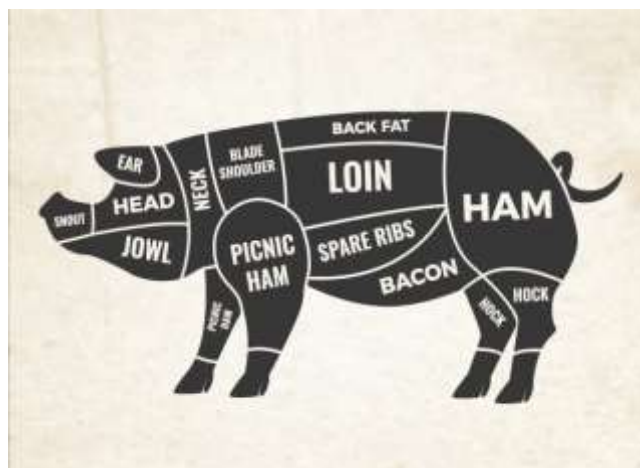
### **2.2.2 Produk Turunan Babi**

Babi merupakan hewan yang memiliki banyak keunggulan, terutama pada bagian tubuhnya (Gambar 2.3). Keunggulan babi dapat dilihat dari pemanfaatannya di tiap bagian tubuhnya. Adapun beberapa manfaat bagian tubuh pada produk makanan, antara lain (Ilzamha dan Dita, 2021) :

1. Daging babi banyak digunakan untuk membuat nugget babi, sosis babi (Sumardani, Putri, Budaarsa, dan Puger, 2019).
2. Kulit babi dapat digunakan sebagai bahan membuat rambak (Sucipto, Zahrok, dan Hendrawan, 2018).
3. Tulang babi dapat diambil ekstraknya yang mengandung kolagen (gelatin). Gelatin digunakan sebagai bahan pembentuk gel (selai dan jelly), bahan penstabil (es krim, yogurt, dan keju), dan bahan pengemulsi (margarine) Selain gelatin, pada tulang juga terdapat kalsium yang digunakan pada produksi pasta gigi dan minuman suplemen (Fauziah, Rantina, Andela, Prasiska, dan Anggara, 2020).
4. Lemak babi digunakan sebagai minyak yang banyak digunakan dalam olahan makanan (Rohman dan Che Man, 2012).

Kegunaan lain dari bagian tubuh babi adalah adanya enzim protease yang digunakan dalam produksi keju (Halil Yanardağ, Zornoza, Faz Cano, Büyükkılıç

Yanardağ, & Mermut, 2020), dan penggunaan tripsin untuk pengobatan (Silatno *et al.*, 2021)



**Gambar 2.3** Bagian Tubuh Babi dan Pemanfaatannya  
(Sumber : [www.ihatec.com](http://www.ihatec.com))

### 2.3 DNA (*Deoxyribonucleid Acid*)

DNA (asam deoksiribonukleat) adalah materi keturunan yang ada pada semua organisme hidup. Molekul ini memiliki struktur yang panjang dalam bentuk heliks ganda yang terdiri dari rantai polimer yang tidak bercabang. Molekul ini tersusun dari empat jenis monomer, khususnya nukleotida. Nukleotida terdiri dari tiga konstituen: gugus fosfat, molekul gula pentosa, dan basa nitrogen. Dua konstituen awal terdapat pada semua nukleotida dengan konfigurasi yang identik, sedangkan konstituen terakhir menunjukkan konfigurasi yang berbeda di antara nukleotida. Basa nitrogen DNA terdiri dari Guanin dan Adenin, yang termasuk dalam kelompok purin, serta Sitosin dan Timin, yang termasuk dalam kelompok pirimidin. DNA individu dapat dibedakan satu sama lain karena urutan basa nitrogen yang unik yang menyusun DNA mereka (Novianasari, 2018)..

DNA merupakan bagian terkecil dari makhluk hidup yang mempengaruhi sifat fenotip setiap individu yang sudah dijelaskan dalam Al- Qur'an surat Yunus ayat 61 yang artinya berbunyi :

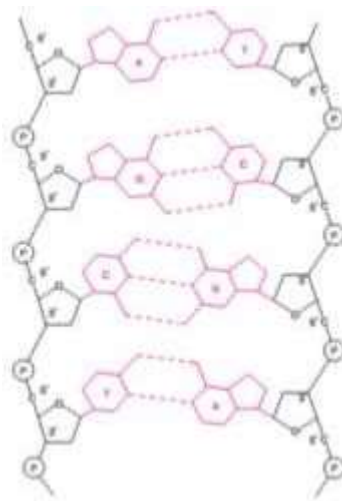
وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْءَانٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ ..... [يونس: 61]

Artinya : “Dan tidakkah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu ayat Al-Qur'an serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikit pun dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah, baik di bumi ataupun di langit” (Yunus : 61).

Dari ayat diatas disebutkan kata مِثْقَالِ ذَرَّةٍ yang berarti seukuran *zarah*. Menurut Syekh Sayyid Thantawi (1998) dalam tafsirnya, *Al Wasith*, maksud dari ayat tersebut adalah bahwa segala sesuatu baik yang seukuran *zarah* ataupun yang lebih kecil dari itu baik di Bumi atau di langit tidak akan luput dari ilmu Nya. Sedangkan pada penafsiran yang lain, Imam Jalaluddin Suyuti (2013) dalam tafsirnya, *Jalalain*, menerangkan maksud kata *Dzarah* adalah seukuran semut yang paling kecil. Tidak jauh berbeda dengan Imam Suyuti, Imam Baghawi (1997) dalam kitabnya, *Tafsir Baghawi*, juga memaknai kata *mitsqala dzarah* dengan arti semut kecil yang kemerah merahan. Maka kalimat *wa maa ash gharu min dzalik* setidaknya mempunyai arti dan tidak luput pula dari ilmu Allah benda yang lebih kecil dari semut kemerah merahan yang paling kecil seperti DNA, atom, dan sebagainya.

DNA berupa polideoksiribonukleotida yang mengandung banyak monodeoksiribonukleotida yang dihubungkan secara kovalen melalui ikatan fosfodiester 3'→5'. Ikatan fosfodiester menghubungkan gugus 5'-hidroksil-deoksipentosa pada nukleotida dengan gugus 3'-hidroksil-deoksipentosa yang berdekatan melalui gugus fosfat. Proses ini menghasilkan yang polar, panjang, tidak

bercabang dengan ujung 5' (ujung dengan fosfat bebas) dan ujung 3' (ujung dengan hidroksil bebas) dari yang tidak terikat pada nukleotida lain dibuat. Basis yang terletak di sepanjang tulang punggung deoksiribosa fosfat yang dihasilkan selalu ditulis dalam urutan dari di ujung 5' rantai hingga ujung 3' (Sri, 2016). Berikut ini adalah gambar struktur DNA :



**Gambar 2.4** Struktur DNA  
(Sumber : Sri, 2016)

Salah satu kegunaan DNA adalah untuk identifikasi metode PCR karena memiliki beberapa keunggulan yang memungkinkan metode ini digunakan dalam berbagai aplikasi, antara lain (Sri, 2016) :

1. Stabilitas: DNA sangat stabil dan dapat disimpan dalam jangka waktu lama.  
Waktu tanpa perubahan struktural.
2. Keterbacaan : DNA dapat dibaca dengan mudah menggunakan teknik seperti PCR, sehingga memungkinkan identifikasi spesies dengan cepat dan akurat.
3. Variabilitas : DNA menunjukkan variasi yang besar antar spesies, sehingga DNA dapat digunakan sebagai indikator spesies.

4. Hubungan : DNA berkaitan erat dengan karakteristik spesies, sehingga DNA dapat digunakan untuk identifikasi spesies.

#### **2.4 Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) telah banyak digunakan untuk pengujian berbasis DNA. Teknik PCR sangat sensitif dan dapat mendeteksi keberadaan babi dalam daging segar atau produk daging yang telah dicampur dengan bahan hewani lainnya. PCR atau reaksi berantai polimerase adalah metode yang digunakan untuk mengamplifikasi jumlah DNA yang ditargetkan dalam sampel tertentu. Prosedur ini merupakan aplikasi berulang dari panas dan dingin pada kombinasi yang terdiri dari DNA target, primer yang dirancang khusus untuk mengidentifikasi sekuens DNA tertentu, dan enzim DNA polimerase (Muladno *et al.*, 1999).

Metode PCR dapat digunakan untuk mendeteksi sejumlah kecil DNA dari jenis daging tertentu dalam sampel yang dicurigai. Sebelum munculnya teknik seperti PCR, identifikasi spesies daging sering dilakukan melalui prosedur fisik atau kimiawi, yang tidak selalu dapat diandalkan dan membutuhkan lebih banyak waktu. Selain itu, dengan meningkatnya kompleksitas rantai pasokan makanan global, ada kemungkinan produk daging terkontaminasi atau dipalsukan. Produsen mungkin dengan sengaja mencampur daging babi dan daging sapi untuk mengurangi biaya, sementara dalam kasus lain, kontaminasi yang tidak disengaja dapat terjadi selama proses produksi (Purwanto, 2006).

Penggunaan metode PCR memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan. Kelebihan penggunaan metode PCR antara lain (Ismaun *et al.*, 2021):

1. Spesifisitas : Mempunyai kemampuan yang spesifik dalam mendeteksi

rangkaian DNA tertentu.

2. Sensitivitas : Mampu mendeteksi DNA dalam jumlah yang sangat kecil.
3. Kecepatan : Rangkaian teknik yang cepat sehingga memungkinkan hasil yang cepat.
4. Akurat : Mempunyai kemampuan memperkuat urutan DNA dengan ketelitian yang tinggi.
5. Fleksibilitas : Dapat digunakan diberbagai aplikasi, seperti analisis forensik, pengujian genetik, dan penelitian lainnya.

Meskipun teknik PCR terlihat mudah untuk dilakukan, namun ada beberapa keterbatasan yang menyebabkan munculnya metode lainnya. Keterbatasan tersebut meliputi (Yolanda *et al.*, 2020) :

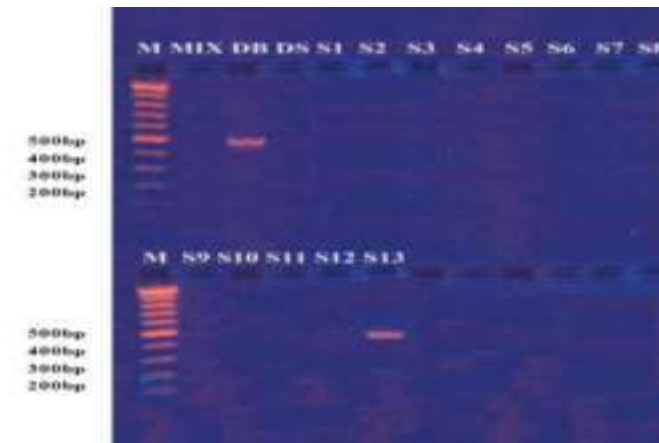
1. Pengeluaran biaya yang cukup mahal, terutama bila menggunakan peralatan komersial.
2. Memiliki presisi yang rendah sehingga tidak dapat membedakan mikroorganisme yang mirip.
3. Hanya bisa dilakukan pada aplikasi yang spesifik, seperti deteksi DNA virus, bakteri, dan lain- lain. Jika dibutuhkan aplikasi lainnya, maka metode yang lain harus digunakan.
4. Memiliki ketergantungan pada kualitas sampel dan reagen.
5. Hanya mampu mendeteksi DNA yang telah diketahui sebelumnya.

Pendekatan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) jika dikombinasikan dengan primer yang tepat, digunakan secara luas dalam penelitian karena kemampuannya untuk secara akurat mendeteksi keberadaan kontaminasi daging babi dalam campuran daging. Analisis PCR menggunakan primer spesifik DNA untuk

menargetkan sekuens DNA mitokondria, sehingga menjadikannya teknik yang banyak digunakan untuk identifikasi spesies. Penggunaan DNA mitokondria dalam analisis PCR dapat meningkatkan sensitivitas karena adanya sekitar seribu mitokondria per sel yang masing-masing mengandung 10 salinan DNA, sehingga total ada sepuluh ribu salinan DNA mitokondria dalam sel (Kesmen *et al.*, 2009). Erwanto (2012) melakukan penelitian dengan mengaplikasikan enzim BseDI pada amplicon mitokondria gen sitokrom b. Metode ini secara efektif dapat mengidentifikasi kontaminasi daging babi pada daging lain, bahkan pada tingkat kontaminasi serendah 1%.

Dalam sebuah penelitian yang dilakukan oleh Fidia pada tahun 2012, ditemukan bahwa satu dari tiga belas sampel bakso (khususnya sampel 13) yang diperoleh secara acak dari berbagai pedagang di pusat kota Salatiga dinyatakan positif mengandung daging babi. Temuan ini diilustrasikan pada Gambar 2.8. PCR dengan beberapa modifikasinya, telah secara luas dianggap sebagai pendekatan yang paling dapat diandalkan untuk identifikasi (Erwanto *et al.*, 2012). Meskipun diakui sebagai metode yang sah, pendekatan ini memerlukan evaluasi yang cermat terhadap variabel-variabel yang mempengaruhi hasil, termasuk kualitas sampel DNA, pilihan primer, dan kondisi reaksi PCR (Yudha, 2013).





**Gambar 2.5** Hasil amplifikasi PCR oleh Fidia dkk (2012) yang Menemukan Cemaran Babi pada Sampel Ke-13

## 2.5 Primer

Primer adalah urutan nukleotida pendek yang digunakan untuk memulai sintesis DNA dalam proses reaksi berantai polimerase (PCR). Primer ini bertindak sebagai "titik awal" untuk sintesis DNA, memungkinkan enzim DNA polimerase memperluas DNA berdasarkan urutan komplementer pada cetakan DNA. Primer memiliki beberapa karakteristik, antara lain (Sasmito dkk, 2014) :

1. Panjang: Primer PCR biasanya memiliki panjang sekitar 20 nukleotida.
2. Struktur: Primer PCR adalah DNA beruntai tunggal.
3. Desain: Primer PCR harus dirancang khusus untuk membatasi wilayah DNA yang akan diamplifikasi.

Primer bekerja pada beberapa tahapan yang terbagi menjadi tiga, yaitu denaturasi, annealing, dan ekstensi. Tahapan pertama yaitu denaturasi (primer berikatan dengan cetakan DNA dan memisahkan DNA ganda menjadi untaian tunggal, kemudian tahapan kedua yaitu annealing (primer berikatan dengan daerah komplementer pada DNA beruntai tunggal), dan tahapan terakhir yaitu ekstensi (enzim DNA polimerase memperluas DNA berdasarkan urutan komplementer pada

cetakan DNA) (Sasmito dkk, 2014).

### **2.5.1 Primer ND5**

Primer ND5 mengacu pada sepasang primer spesifik yang digunakan dalam reaksi berantai polimerase (PCR) untuk mendeteksi dan memperkuat urutan DNA yang berikatan dengan gen subunit 5 NADH dehidrogenase mitokondria (ND5). Primer ini banyak digunakan dalam berbagai aplikasi, termasuk deteksi kontaminasi DNA babi pada produk daging seperti bakso (Anggita, 2019).

Penerapan primer ND5 dalam mendeteksi kontaminasi DNA Babi memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan, yaitu (Anggita, 2019) :

1. Mampu mendeteksi dan memperkuat DNA babi pada produk daging seperti bakso dan untuk mengidentifikasi potensi kontaminasi daging babi.
2. Mampu mendeteksi kontaminasi DNA babi hingga serendah 1%.
3. Sangat akurat dan memberikan hasil yang konsisten bahkan setelah 10 ulangan dengan waktu pemisahan yang berbeda untuk kontrol positif dan negatif.
4. Tidak dapat mendeteksi kontaminasi babi kurang dari 1% karena memiliki sensitivitas yang terbatas.
5. Perlu digunakan validasi lebih lanjut untuk memastikan keefektifannya dalam mendeteksi DNA babi pada produk makanan.

### **2.5.2 Primer PPA8**

Primer PPA8 adalah primer spesifik yang mengamplifikasi DNA pada daerah mtATP8 sebagai sekuen target. Ukuran produk PCR yang dihasilkan adalah 126 bp. MTATP8 adalah gen yang ada pada mitokondria dengan nama lengkap 'Subunit Membran ATP Sintase Mitokondria'. Gen ini biasa digunakan untuk mengkode

subunit ATP sintase yang terletak di dalam membran tilakoid dan membran mitokondria bagian dalam (Yoshida dkk, 2009).

### 2.5.3 Primer Pork

Primer Pork adalah primer spesifik yang mengamplifikasi DNA babi pada daerah *cyt b* sebagai target sekuen. Ukuran produk PCR yang dihasilkan adalah 130 bp (Vallery, 2017). Primer ini memiliki nama asli F2/R1 yang merupakan hasil perbandingan tiga primer yang telah digunakan oleh Tanabe dkk (2007) untuk mendeteksi babi pada sampel produk makanan olahan. Pemilihan primer ini diperoleh berdasarkan data NCBI (Gambar 2.7) dengan tiga primer maju (F1, F2, F3) dan mundur (R1, R2, R3). Hasil dari uji ketiga primer adalah diperoleh pasangan F1/R1 dan F2/R1 yang memiliki sensitivitas yang sama. Namun, pasangan F2/R1 digunakan untuk analisis lebih lanjut karena memiliki hasil produk PCR terpendek dan tidak ditemukan deteksi palsu yang terlihat dari 53 sampel makanan yang diuji.

```

1 atgaccacaa tcggaaaatc acaccacaata ataaaaatta taacaaacgc attcattgac
61 ctcccagccc cctaaaaaat ctctaatga tgaaaattcg gttcctctt aggcattg
121 ctaatttgc aatcctaac aggcctgttc ttgcaatac attaacatc agacacaca
181 acagctttc cctcagttc acacattgt cgagaagta attacggatg agttattgc
241 tatctactg caaaaggag atccatatto tttatttgc tattcctca cgtaggaga
301 ggtctatac aggatocta tatattocta gaaaatgaa acattggagt agtctacta
361 ttacagta tagcaacgc ctctatagc taagtctgc cctgagaca aatataatc

```

**Gambar 2.6** Database NCBI  
(Sumber : Tanabe *et al*, 2007)

#### 2.5.4 Primer *Cytochrome B*

Banyak penelitian telah menggunakan primer gen sitokrom b untuk mengidentifikasi jenis daging (Lin dkk, 2008). Primer yang biasanya digunakan dalam proses identifikasi suatu spesies adalah primer universal dan primer spesifik spesies. Primer universal gen sitokrom b mitokondria dirancang untuk mampu mengamplifikasi beberapa spesies hewan seperti mamalia, burung, amfibi, reptil, ikan, serangga, dan laba-laba (Kocher dkk, 1989). Metode deteksi dengan menggunakan primer spesifik menunjukkan hasil positif pada babi dan mengamplifikasi gen yang sama dari spesies hewan lain yaitu sapi, ayam, kalkun, dan beberapa spesies mikroorganisme yang umum mengkontaminasi daging (Langen *et al.*, 2010).

Untuk mengoptimalkan diagnosis menggunakan PCR, perlu mempertimbangkan faktor yang mempengaruhi sensitivitas, terutama jenis primer yang digunakan. Meskipun primer PCR memiliki spesifisitas yang tinggi, sensitivitasnya seringkali lebih rendah dari yang diharapkan ketika diterapkan pada sampel lapangan (Sharma *et al.*, 2013).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksplorasi, yaitu dengan melakukan percobaan di laboratorium terhadap kemampuan suatu metode uji untuk mengetahui spesifikasi primer dalam mendeteksi DNA babi pada makanan yang telah diolah.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium TTDC, Lembaga Penyakit Tropik, Universitas Airlangga Kota Surabaya, Jawa Timur. Waktu penelitian dilakukan pada tanggal 23 April - 20 Mei 2024.

#### **3.3 Alat dan Bahan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi *PCR tube* 0,2 ml, 1,5 ml *microcentrifuge tube*, cawan petri, *yellow tip*, *blue tip*, gelas erlenmeyer, *centrifuge*, *spindown*, *vortex*, mikropipet, inkubator, QIAamp Mini spin column (2 ml *collection tube*), plastik, *thermal cycler*, kulkas, *nanodrop*, *microwave*, elektroforesis, *tray* (cetakan gel) dan sisir, timbangan analitik, sumuran gel, dan *uv transilluminator*.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel produk daging babi (kornet) dan daging sapi (bakso) yang dibeli di toko yang ada di sekitar jalan di kota Surabaya, proteinase k, buffer ATL, buffer AL, *ethanol* 96%, buffer AW1, buffer AW2,

buffer AE, buffer TE, primer babi (ND5, Cytho B(1), Cyto B (2), Pork, PPPA 8), marker (Larutan Pewarnaan Asam Nukleat Redsafe™), *PCR Mix Intron*, *NFW* (Nuclease Free Water), bubuk agarose, dan buffer TBE.

### **3.4 Tahap Penelitian**

Tahan penelitian yang dilakukan yaitu:

1. Persiapan sampel
2. Ekstraksi DNA
3. Optimasi primer
4. Amplifikasi DNA babi dan sapi
5. Pembuatan gel agarose
6. Elektroforesis
7. Dokumentasi gel
8. Analisa hasil sokumentasi gel

### **3.5 Cara Kerja**

#### **3.5.1 Persiapan Sampel**

Sampel yang digunakan penelitian ini adalah kornet babi dan bakso sapi yang dibeli di kota Surabaya. Pemilihan sampel kornet babi dan sapi didasarkan pada bahan yang digunakan sebagai campuran yang berbeda tiap sampel. Sampel yang sudah didapatkan, diambil sebanyak 25 ml/gram kemudian ditambahkan lisis buffer dan diinkubasi dengan suhu 60°C selama satu malam.

#### **3.5.2 Ekstraksi DNA**

Tahap pertama dimasukkan 20 µl QIAGEN Protease (proteinase K), 180 µl buffer ATL, dan beberapa sampel kornet babi dan bakso sapi (yang telah diinkubasi) ke dalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml. Diberikan pusran cepat

(vortex) selama 15 detik dan kemudian dispindown. Selanjutnya, dibiarkan diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit. Setelah itu, 200 µl buffer AL ditambahkan, dicampur dengan divortex, dan diputar sekali lagi (spindown).

Tahap selanjutnya ditambahkan 200 µl *ethanol* 96% dan divortex selama 15 detik, kemudian dispindown. Disiapkan *QIAamp Mini spin column* (2ml collection tube) dan campuran yang telah dibuat (paragraf 1) dimasukkan ke dalamnya, lalu disentrifuge dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit. *Collection tube* (2ml) yang berisi filtrat dibuang dan diganti dengan 2 ml *collection tube* yang baru. Buffer AW1 sebanyak 500 µl ditambahkan dan disentrifuge dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit. *Collection tube* (2ml) yang berisi filtrat dibuang dan diganti dengan 2 ml *collection tube* yang baru. Buffer AW2 sebanyak 500 µl ditambahkan dan disentrifuse dengan kecepatan 13.000 rpm selama 3 menit. *Collection tube* (2ml) yang berisi filtrat dibuang dan diganti dengan 2 ml *collection tube* yang baru. Selanjutnya disentrifuge lagi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit.

Tahap terakhir *QIAamp Mini spin column* dipindah pada 1,5 ml *microcentrifuge tube*, kemudian ditambahkan 60 µl Buffer AE. Selanjutnya, campuran tersebut dibiarkan pada suhu ruang selama 1 menit dan disentrifuse dengan kecepatan 8.000 rpm selama 1 menit. Setelah itu hasilnya dilihat dapat dilihat konsentrasinya menggunakan *nanodrop*.

### **3.5.3 Optimasi Primer**

Optimasi dilakukan dengan pengenceran yang dimulai dengan menambahkan *TE buffer* pada masing- masing primer sesuai prosedur yang telah ditentukan (Lampiran 3), kemudian divortex dan dispindown. Selanjutnya, masing- masing primer diambil sebanyak 10 µl dan dipindahkan ke tube yang baru. Pengenceran

kembali dilakukan dengan menambahkan 90  $\mu\text{l}$  *TE buffer*, lalu divortex dan dispindown.

Setelah pengenceran, primer dimasukkan ke dalam mesin PCR lalu dilanjutkan dengan elektroforesis untuk mencari suhu *annealing* yang optimal. Variasi pencarian suhu *annealing* dapat dilihat pada tabel 3.2.

**Tabel 3.1** Variasi Suhu *Annealing*

Nama Primer	Time Melting ( °C)	
	F	R
ND5	55,6°C	55,3°C
Cyto B(1)	47,1°C	50,7°C
Cyto B(2)	57,5°C	58,5°C
Pork	46,9°C	50,0°C
PPA8	56,4°C	54,3°C

Tabel diatas menunjukkan bahwa masing-masing primer memiliki 2 macam suhu, yaitu forward (sebelum gen target) dan reverse (setelah gen target). Tiap pasangan primer memiliki temperatur yang bervariasi karena mengacu pada protokol penggunaan primer tertentu.

#### **3.5.4 Amplifikasi DNA Babi dan Sapi**

Disiapkan primer yang telah diencerkan dan disimpan dalam kulkas. Masing-masing PCR tube yang akan digunakan diberi label sesuai dengan nama primer. Tiap primer dipindah ke tube baru dengan menambahkan konsentrasi *PCR Mix Intron* (12,5  $\mu\text{l}$ ) , NFW (0,5  $\mu\text{l}$ ), Forward (1  $\mu\text{l}$ ), Reverse (1  $\mu\text{l}$ ), dan DNA babi sampel kornet (5  $\mu\text{l}$ ) (Lampiran 2), lalu dispindown. Masing- masing campuran



dimasukkan sesuai dengan total volume 20  $\mu$ l pada PCR tube 0,2 ml. Selanjutnya, mesin *thermal cycler* disiapkan dan dilakukan pengaturan suhu sesuai dengan protokol dari masing-masing primer yang digunakan. Amplifikasi menggunakan sekuens primer spesifik babi (Tabel 3.3). Hasil amplifikasi PCR divisualisasikan menggunakan elektroforesis dan dilihat dengan *UV Transilluminator*.

**Tabel 3.2** Amplifikasi Sekuens Primer Babi

No.	Nama Primer	Sekuens DNA
1.	ND5 Hasil produk : 227 bp	<ul style="list-style-type: none"> <li>• F : 5'-AGC TGC ACT ACA AGC AAT CC-3'</li> <li>• R : 5'-ATG CGT TTG AGT GGG TTA GG-3'</li> </ul>
2.	Cytochrome B(1) Hasil produk : 1140 bp	<ul style="list-style-type: none"> <li>• F : 5'-ATG ACC AAC ATC CGA AAA TC-3'</li> <li>• R : 5'-TCA TTT TAA TAG GTT GTT TTC G-3'</li> </ul>
3.	Cytochrome B(2) Hasil produk : 359 bp	<ul style="list-style-type: none"> <li>• F : 5'-CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3'</li> <li>• R : 5'-GCC CCT CAG AAT GAT ATT TGT CCT CA-3'</li> </ul>
4.	Pork Hasil produk : 130 bp	<ul style="list-style-type: none"> <li>• F : 5'-CTT GCA AAT CCT AAC AGG CCT G-3'</li> <li>• R : 5'-CGT TTG CAT GTA GAT AGC GAA TAA C-3'</li> </ul>
5.	PPA8 Hasil Produk : 126 bp	<ul style="list-style-type: none"> <li>• F : 5' -ATC TAC ATG AAT CAT TAC AAT TAC-3'</li> <li>• R : 5 '-CTA TGT TTT TGA GTT TTG AGT TCA-3</li> </ul>

### **3.5.5 Pembuatan Gel Agarosa dan Elektroforesis**

#### **3.5.5.1 Pembuatan Gel Agarose**

Gel agarosa 2% dibuat dengan menambahkan 0,5 gram bubuk agarosa yang diukur dengan timbangan analitik (Lampiran 2) ke dalam 25 ml buffer TBE. Campuran tersebut kemudian dicampur secara menyeluruh dan dipanaskan dalam *microwave* hingga bubuk agarose larut sepenuhnya atau larutan menjadi jernih yang membutuhkan waktu sekitar 2 menit. Selanjutnya, larutan agarose didinginkan dengan cepat dan ditambah dengan Larutan Pewarnaan Asam Nukleat Redsafe™, dengan volume hingga 0,5 µl. Campuran tersebut kemudian diaduk dengan lembut dan dituangkan ke dalam wadah gel hingga gigi sisir terendam sebagian, khususnya antara ¼ dan ½ panjangnya ke dalam agarosa. Selanjutnya, gel agarosa dibiarkan dingin sampai terbentuk.

#### **3.5.5.2 Elektroforesis**

Gel diekstraksi dari cetakan dan ditempatkan ke dalam ruang elektroforesis. Selanjutnya, buffer TBE dimasukkan untuk merendam gel hingga kedalaman sekitar 1 mm. Sampel primer dan penanda DNA babi dimasukkan ke dalam sumur gel dengan volume hingga 4 µl. Alat elektroforesis diaktifkan (dialiri arus listrik) selama 30 menit. DNA akan bermigrasi ke arah muatan positif. Hasil elektroforesis diamati menggunakan GelDoc.

#### **3.5.5.3 Gel Documentation**

Komputer dan kamera digital diaktifkan, dan gel agarosa dari elektroforesis ditempatkan di dalam *UVtransilluminator*. *UVtransilluminator* diaktifkan dan pita disinari. Paparan radiasi UV akan menyebabkan DNA memancarkan fluoresensi. Hasil gel agarosa di bawah sinar UV direkam pada komputer.

#### **3.5.5.4 Analisa Hasil Amplifikasi**

Temuan amplifikasi diperiksa secara visual menggunakan *Uv Transilluminator*. Penggunaan primer dalam PCR memungkinkan identifikasi pita spesifik yang mengindikasikan adanya DNA babi dalam sampel daging olahan.

**BAB IV**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Sensitivitas Lima Primer Spesifik Babi dalam Mendeteksi DNA Babi Pada Produk Daging Olah**

Hasil kualitas DNA berperan penting untuk mendeteksi adanya kontaminasi babi pada suatu produk olahan. Nilai kemurnian DNA kornet babi pada penelitian yaitu 1,64 nm dengan konsentrasi 26,5 ng/ul (Tabel 1). Kemurnian DNA yang dihasilkan dari sampel kornet babi masih dibawah nilai normal atau keadaan yang dimana tidak terdapat kontaminasi. Matlock (1997) menyatakan bahwa sampel dengan rasio 260/280 di bawah 1,8 menunjukkan jumlah DNA yang rendah atau kontaminasi protein seluler ( $>10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ). Selain itu, pembacaan di bawah 1,8 nm berpotensi menunjukkan adanya kontaminasi alkohol atau larutan fenol (Nayasilana *et al.*, 2010). Sedangkan dari segi konsentrasi, sampel kornet memiliki konsentrasi yang cukup untuk tahap selanjutnya. Sampel dengan konsentrasi DNA lebih dari 1,0 ng/ul memenuhi ketentuan dan sesuai untuk analisis selanjutnya (Yusi *et al.*, 2021).

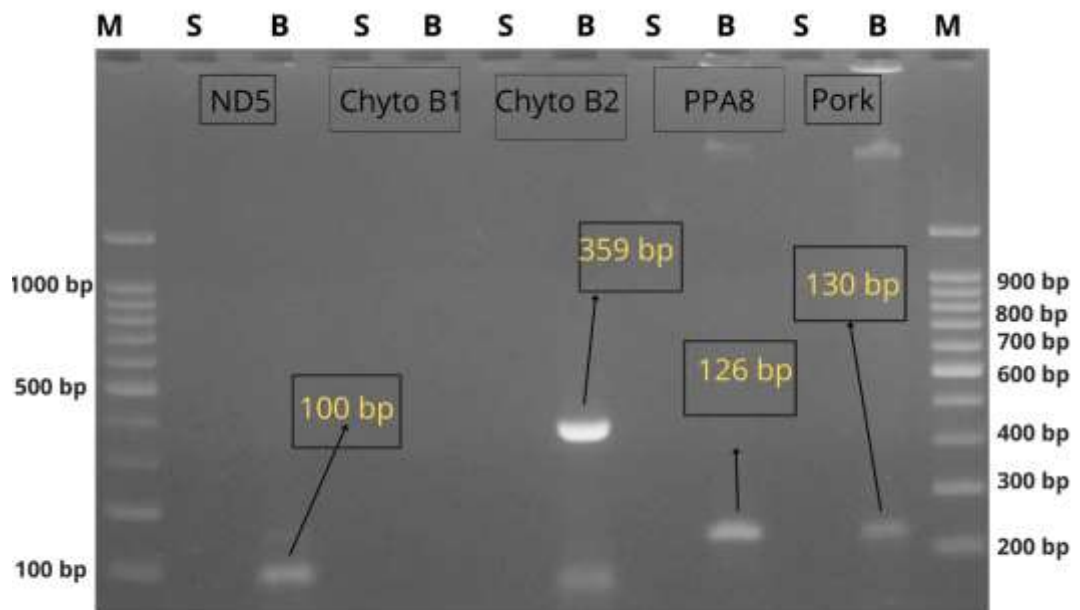
**Tabel 1.** Kualitas DNA Babi dan Sapi

<b>Sampel</b>	<b>Kemurnian (A260/A280)</b>	<b>Konsentrasi (ng/ul)</b>
Babi (Kornet)	1,64	26,5
Sapi (Bakso)	1,87	31,6

Sebagai bagian dari proses amplifikasi, bakso sapi disertakan sebagai

pembandingan untuk menilai sensitivitas primer. Hasil ekstraksi sampel bakso sapi pada penelitian ini memperoleh nilai kemurnian DNA yaitu 1,87 nm dengan konsentrasi 31,6 ng/ul (Tabel 1). Nilai kemurnian diatas 1,8 merupakan nilai yang aman dari kontaminasi. Rasio kontaminasi protein terhadap nukleotida biasanya berada di antara 1,8 dan 2,0 (Sambrok *et al.*, 1989). Hasil konsentrasi bakso sapi jauh lebih banyak dibandingkan konsentrasi kornet babi. Variasi konsentrasi DNA selama proses ekstraksi dapat disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk suhu dan durasi inkubasi. Dengan mengatur suhu dan durasi inkubasi secara tepat, seseorang bisa mendapatkan konsentrasi DNA yang diinginkan (Nova, 2020).

Dari kelima primer yang digunakan, hanya ada tiga primer yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya DNA babi pada produk olahan kornet (Gambar 1). Ketiga primer tersebut yaitu *Cytochrome B(2)*, PPA8, dan Pork. Ukuran amplikon yang diperoleh dari masing-masing primer tersebut, yaitu 359 bp, 126 bp, dan 130 bp.



**Gambar 1.** Visualisasi Primer Spesifik Babi Terhadap DNA Sampel Babi dan Bakso. (Cyto=Cytochrome, PPA8=MTATP8, ND5=*Nadh Dehydrogenase* Subunit 5) Keterangan : M= Marker, S = Sapi (bakso), B = Babi (kornet)

Hasil visualisasi pada primer ND5 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tidak mencapai gen target pada sampel babi. Primer ND5 terdiri atas primer *forward* (F: 5'-AGC TGC ACT ACA AGC AAT CC-3') dan *reverse* (R: 5'-ATG CGT TTG AGT GGG TTA GG-3'). Ukuran produk pada primer ini adalah 100 bp, sedangkan ukuran gen target seharusnya adalah 227 bp. Ketidaksesuaian ukuran gen target yang dihasilkan disebabkan karena primer yang kurang spesifik. Kurang spesifiknya primer dikarenakan keberadaan DNA yang masih belum diketahui dimana letaknya. Sedangkan primer ND5 adalah primer yang didesain untuk target deteksi pada DNA di wilayah mitokondria (Tri dkk, 2017).

Selanjutnya pada primer *Cytochrome* B(1) memberikan hasil bahwa tidak adanya band DNA yang terbentuk pada sampel babi. Penggunaan primer ini

ditargetkan pada ukuran band 1.140 bp dengan sekuens *forward* (F: 5'-ATG ACC AAC ATC CGA AAA TC-3') dan *reverse* (R : 5'-TCA TTT TAA TAG GTT GTT TTC G-3'). Tidak munculnya band DNA babi pada sampel babi disebabkan karena sampel tidak memiliki gen yang ditargetkan oleh primer. Primer ini didesain untuk fokus mengampifikasi pada gen di daerah mitokondria. Oleh karena itu, desain primer ini tidak mampu mengamplifikasi DNA secara umum pada kornet dengan optimum dan spesifik (Arif., 2015).

Dari hasil ini juga dapat diketahui bahwa primer *Cytochrome B(2)*, PPA8, dan Pork dapat digunakan untuk mendeteksi DNA babi pada sampel babi. Hal tersebut dapat dilihat dari munculnya band DNA dengan ukuran band yang ditargetkan. Primer *Cytochrome B(2)* memiliki gen target 359 bp dan sesuai dengan hasil yang diperoleh. Primer ini terdiri dari sekuens *forward* (F : 5'-CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3') dan *reverse* (R : 5'-GCC CCT CAG AAT GAT ATT TGT CCT CA-3'). Selain primer *Cytochrome B(2)*, primer PPA8 juga mampu memunculkan band DNA sesuai gen target yaitu 126 bp. Primer PPA8 memiliki urutan sekuens *forward* (F : 5' -ATC TAC ATG AAT CAT TAC AAT TAC-3') dan *reverse* (R: 5 '-CTA TGT TTT TGA GTT TTG AGT TCA-3). Primer PPA8 memiliki urutan sekuens DNA yang sesuai dengan gen target pada mitokondria yang dimiliki oleh sampel babi (Yoshida *et al.*, 2009). Terakhir ada primer pork yang memiliki ukuran gen target 130 bp dengan sekuens primer *forward* (F: F : 5'-CTT GCA AAT CCT AAC AGG CCT G-3') dan *reverse* (R : 5'CGT TTG CAT GTA GAT AGC GAA TAA C-3'). Munculnya band DNA pada primer pork memang sudah jelas karena primer ini dirancang untuk deteksi babi pada sampel makanan (Tanabe *et al.*, 2007).

Ketiga primer yang digunakan pada penelitian ini untuk deteksi DNA babi karena memiliki sensitivitas yang baik dalam mendeteksi DNA babi, yaitu primer, PPA8, Pork, dan *Cytochrome B*(2). Dari tiga primer tersebut, primer *Cytochrome B*(2) memiliki sensitivitas yang paling tinggi. Sensitivitas primer PCR ditunjukkan dengan tebal pita yang dihasilkan (tabel 2). Pita DNA yang terlihat tebal biasanya memiliki DNA dengan kualitas yang lebih bagus karena terbentuknya DNA yang lebih banyak sehingga terlihat lebih jelas. Sedangkan pita DNA terlihat tipis karena kualitasnya lebih rendah karena yang terbentuk hanya sedikit sehingga terlihat kurang jelas (Hidayati *et al.*, 2016). Hal ini menunjukkan bahwa primer yang digunakan cukup untuk digunakan dalam proses PCR dan dapat menghasilkan produk yang sesuai.

**Tabel 2.** Hasil PCR DNA Babi Pada Sampel Kornet Babi dan Bakso Sapi Menggunakan Lima Primer Berbeda

<b>Primer</b>	<b>Sampel</b>	<b>Teramplifikasi</b>	<b>Ukuran pita yang dihasilkan</b>	<b>Ukuran pita yang ditargetkan</b>
ND5	Positif	✓	100 bp	227 bp
Cyto B (1)	Positif	✗	-	1.140 bp
Cyto B (2)	Positif	✓	359 bp	359 bp
PPA8	Positif	✓	126 bp	126 bp
Pork	Positif	✓	130 bp	130 bp
ND5	Negatif	✗	-	Tidak
Cyto B (1)	Negatif	✗	-	Tidak
Cyto B (2)	Negatif	✗	-	Tidak
PPA8	Negatif	✗	-	Tidak



Pork	Negatif	✘	-	Tidak
------	---------	---	---	-------

Hasil penelitian ini mampu memberikan informasi tambahan bagi konsumen, terutama bagi yang baragama muslim bahwa dalam memilih makanan harusnya bisa mulai berhati-hati terutama makanan dengan bahan dasar daging agar tidak dirugikan dari segi syariat maupun kesehatan. Keharaman babi sudah Allah jelaskan dalam Qs. Al-Maidah ayat 3

**حُرِّمَتْ عَلَيْكُمُ الْمَيْتَةُ وَالدَّمُ وَلَحْمُ الْخِنزِيرِ وَمَا أُهْلَ لِغَيْرِ اللَّهِ ..... [المائدة: 3]**

Artinya : “Diharamkan bagimu (memakan) bangkai, darah, daging babi, dan (daging hewan) yang disembelih bukan atas (nama) Allah,.....” (Qs. Al-Maidah :3)

Keharaman makanan bisa disebabkan karena adanya campuran benda haram seperti daging babi, entah banyak atau sedikit daging yang tercampur. Menurut Imam Sya’rawi (1991) dalam *Khawatir* Asy Sya’rawi, pengharaman bagian-bagian tubuh babi, seperti lemak, kulit, daging dan tulangnya disebabkan karena babi merupakan binatang yang tidak higienis. Babi dikenal sebagai hewan omnivora yang memakan berbagai sumber makanan, termasuk kotoran dan sisa-sisa makanan, yang menimbulkan kekhawatiran terhadap kebersihan dan kesehatannya. Dari perspektif kesehatan, babi sering dikaitkan dengan resiko parasit seperti cacing pita dan bakteri spirilium yang dapat menular ke manusia. Selain itu, sistem pencernaan babi yang kurang efisien dalam mengolah makanan yang tinggi serat dan lemak, serta struktur fisiknya yang berlemak, menambah alasan pengharamannya. Terdapat pula pandangan yang menyatakan bahwa konsumsi daging babi dapat mempengaruhi perilaku, seperti menurunnya libido, meskipun klaim ini memerlukan penelitian lebih lanjut untuk validasi ilmiah. Argumentasi ini

menegaskan pentingnya mempertimbangkan aspek kesehatan dan kebersihan dalam pemilihan konsumsi daging, sejalan dengan pandangan agama dan prinsip-prinsip ilmiah.

Imam Ali Ash Shabuni (1997) dalam kitabnya, *Shofwatut Tafasir*, menjelaskan bahwa daging babi telah haram sejak dari dzatnya. Meskipun babi disembelih dengan cara yang halal tetap saja ber hukum haram karena keharamannya adalah haram *'aini* atau haram yang berasal dari dzatnya. Imam Thantawi (1998) juga menambahkan bahwa diharamkannya bagi manusia daging babi begitu juga lemaknya, kulitnya, dan semua bagian tubuhnya karena kesemuanya itu dipandang menjijikan menurut fitrah manusia dan juga membahayakan bagi tubuh manusia. Dan pengkhususan penyebutan *Lahmul Khinzir* (daging babi) adalah karena daging babi lah yang biasanya dimakan oleh manusia, bukan kulit ataupun tulangnya walaupun semua bagian tubuh babi haram. Keharaman babi dalam Al-Qur'an dijelaskan juga pada Qs. Al- An'am ayat 145.

قُلْ لَا أَجِدُ فِي مَا أُوحِيَ إِلَيَّ مُحَرَّمًا عَلَى طَاعِمٍ يَطْعَمُهُ إِلَّا أَنْ يَكُونَ مَيْتَةً أَوْ دَمًا مَسْفُوحًا أَوْ لَحْمَ خِنْزِيرٍ فَإِنَّهُ رَجْسٌ أَوْ فِسْقًا أُهْلَ لِغَيْرِ اللَّهِ بِهِ... [الأنعام: 145]

Artinya : “Katakanlah, Tidak kudapati di dalam apa yang diwahyukan kepadaku sesuatu yang diharamkan memakannya bagi yang ingin memakannya, kecuali (daging) hewan yang mati (bangkai), darah yang mengalir, daging babi karena ia najis, atau yang disembelih secara fasik, (yaitu) dengan menyebut (nama) selain Allah”.

Imam Abdurrahman As-Sa'di (2000) dalam tafsirnya, *As-Sa'di*, menjelaskan bahwa sesungguhnya ketiga hal yang telah disebutkan diatas (bangkai, darah yang mengalir, dan daging babi) merupakan sesuatu yang kotor, najis, dan membahayakan. Allah mengharamkan ketiga hal tersebut sebagai bentuk kasih sayang kepada manusia agar tidak mendekat dengan sesuatu yang kotor lagi

berbahaya. Kemudian pada *Tafsir Jalalain* (Imam Jalaluddin Mahali dan Suyuti, 2013), kata “*Rijsun*” memiliki arti haram. Penafsiran tersebut senada dengan Imam Al Baghawi (1997) dalam tafsirnya, *Al- Baghawi*, yang juga menafsirkan kata “*Rijsun*” dengan makna haram.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

DNA babi pada produk olahan kornet dapat dideteksi menggunakan primer *Cytochrome B(2)* dengan, PPA8, dan Pork. Namun primer yang paling efisien dari ketiga primer tersebut adalah primer *Cytochrome B (2)* karena memiliki pita DNA yang paling tebal.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah penggunaan primer spesifik babi (*Cytochrome B (2)*, PPA8, dan Pork) untuk deteksi kontaminan babi pada produk makanan yang telah diolah lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahman, Nashir as-Sa'di. (2000). *Tafsir Al- Karim Al- Rahman fi Tafsir Al- Mannan*. Al-Resala, Cet.I, Juz 8, Hal 277.
- Aboul-Maaty, N.A. F., & Oraby, H.A.S. (2019). Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. *Bull Natl Res Cent* 43, 25.
- Aditia, K., & Fauziyyah, A. (2023). Deteksi Kandungan DNA Babi dalam Produk Olahan Daging dengan Metode Real Time-Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Teknologi dan Mutu Pangan*, 2(1), 1-14.
- Al-Baghawi, Abu Muhammad Husen bin Mas'ud al-Farra'. (1997). *Keindahan Wahyu Dalam Tafsir Al- Qur'an- Tafsir Baghawi*. Dâr Taiba. Cet.4, Juz 9, Hal 289.
- Al-Baghawi, Abu Muhammad Husen bin Mas'ud al-Farra'. (1997). *Keindahan Wahyu Dalam Tafsir Al- Qur'an- Tafsir Baghawi*. Dâr Taiba. Cet.4, Juz 11, Hal 139.
- Al-Baghawi, Abu Muhammad Husen bin Mas'ud al-Farra'. (1997). *Keindahan Wahyu Dalam Tafsir Al- Qur'an- Tafsir Baghawi*. Dâr Taiba. Cet.4, Juz 1, Hal 182.
- Al-Baghawi, Abu Muhammad Husen bin Mas'ud al-Farra'. (1997). *Keindahan Wahyu Dalam Tafsir Al- Qur'an- Tafsir Baghawi*. Dâr Taiba. Cet.4, Juz 8, Hal 198.
- Al-Bugha, Mustafa Dib.tt. *al-Tahdhîb fi Adillat Matan al-Ghayah wa al-Taqrîb*. Dar al-Fikr.
- Ali, Muhammad As-Shabuni. (1997). *Shofwatut Tafaasir*. Dar As-Shabuni. Cet. I, Juz 1, Hal 101.
- Ali, Muhammad As-Shabuni. (1997). *Shofwatut Tafaasir*. Dar As-Shabuni. Cet. I, Juz 6, Hal 301.
- Al-Mahalli, Jalaluddin dan Jalaluddin al-Suyûti. (2013). *Tafsir Jalalaîn*. Dar Al Mustafa. Cet. 14, Juz 8, Hal 187.
- Al-Mahalli, Jalaluddin dan Jalaluddin al-Suyûti. (2013). *Tafsir Jalalaîn*. Dar Al Mustafa. Cet. 14, Juz 1, Hal 32.
- Al- Mutawalli, Sya'rawi.(1991). *Tafsir Sya'rawi*. Akhbar Al Youm. Cet.I, Juz 1.
- Amanda U darmania, Cartealy imam civi. (2015). Isolasi RNA total dari mesocarp buah kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *Tenera*). *Proceeding Semin, Nas, Masy, Biodivers*, 171-176.
- Anggita, Aulia Dewi. (2019). *Penggunaan Primer Mitochondrial Nadh Dehydrogenase Subunit 5 (Mt-Nd5) Sebagai Pendeteksi Cemaran Daging Babi Pada Bakso*. (Tesis Sarjana, Universitas Brawijaya).
- Andriyani, E., Fais, N. L., & Muarifah, S. (2019). Perkembangan Penelitian Metode Deteksi Kandungan Babi untuk Menjamin Kehalalan Produk Pangan Olahan. *Journal of Islamic Studies and Humanities*, 4(1), 104–126. <https://doi.org/10.21580/jish.41.4888>
- Apriyantono, A. (2005). *Masalah Halal : Kaitan antara Syar'i, Teknologi dan Sertifikasi*. In Penerbit PT Kiblat Buku Utama. Bandung.

- Aris, S. E., Jumiono, A., Akil, S., Studi, P., Teknologi, M., & Bogor, U. D. (2020). Identifikasi titik kritis kehalalan gelatin. *Jurnal Pangan Halal*, 1. 2(April), 17–22.
- Asensio, L., Garcı, T., & Gonza, I. (2008). Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 19, 1–8.
- Astriani, P. L., K. Ratnayani, S. C. Yowani. (2014). Optimasi Suhu Annealing dan Amplifikasi 0,3 kb gen rpoB di Hili dari rrdR pada Isolat P16 Mycobacterium tuberculosis multidrug resistant di Bali dengan Metode PCR. *Cakra Kimia*, 2(2):11-12.
- Balia, R.L., Suryaningsih, L. dan Putranto, W.S. (2014). Pengujian Pemalsuan Bakso Dengan Daging Babi Melalui Pendekatan Enzimatis Dan Molekuler Pada UKM Di Kawasan Jatinaragor Kabupaten Sumedang. Dharmakarya: Jurnal Aplikasi Ipteks untuk Masyarakat. 3(2) : 70-72.
- Che, M. N. Y. B., & Mat, M. D. (2020). *Analysis of Lard 's Aroma by an Electronic Nose for Rapid Halal Authentication*. August 2010.
- Elena A Zvereva, Demid S Popravko, Olga D Hendrickson , Natalia L Vostrikova , Irina M Chernukha, Boris B Dzantiev, A. V. Z. (2020). *Lateral Flow Immunoassay to Detect the Addition of*.
- Endah Kurniawati, Abdul Rohman, K. T. (2014). Analysis of lard in meatball broth using Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. *Meat Science*, 96(1), 94.
- Endang, P., & Zaeni, A. (2021). *Autentikasi Halal: Aplikasi Spektroskopi FTIR Kombinasi Kemometrika untuk Analisis Lemak Babi dalam Campuran Biner dengan Lemak Sapi*. 1(2), 102–109.
- Erwanto, Y., Abidin, M. Z., & Rohman, A. (2011). PCR-RFLP Using BseDI Enzyme for Pork Authentication in. April. *Journal of Animal Science and Tecnology*, 34(1) :14–18. <https://doi.org/10.5398/medpet.2011.34.1.14>
- Fatchiyah, E.L., Arumingtyas S., Widyarti, & Rahayu, S. 2011. *Biologi molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Fauziah, W. Z., Rantina, P., Andela, R., Pransiska, A., & Anggara, F. (2020). Analisis Kandungan Gelatin Babi pada Masker Keluaran Korea yang Beredar Dipasaran Online Indonesia. *ALKIMIA : Jurnal Ilmu Kimia Dan Terapan*, 3(2)
- Fibriana, F., Widiyanti, T., Retnoningsih, A., & Susanti. (2012). Deteksi Daging Babi Pada Produk Bakso di Pusat Kota Salatiga Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 4(2), 106–112.  
<http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika%0ADeteksi>
- Fitriani, Mayang Sukma Dewi, Bertha Rusdi, Anggi arumsari. (2022). Studi Literatur Identifikasi Kandungan Babi dengan Metode Molekuler dan Metode Immunoassay. Bandung Conference Series: Pharmacy, 2(2):1-4.
- Girindra. (2002). *Kebijakan LPPOM MUI dalam Sertifikasi Halal, Produk Impor Serta Lembaga Sertifikasi Internasional*. Makalah Pada Pelatihan Auditor Halal Internal Perusahaan, 16 Oktober 2002, Jakarta.
- Ha, J., Kim, S., Lee, J., Lee, S., Lee, H., Choi, Y., Oh, H., & Yoon, Y. (2017). Identification of pork adulteration in processed meat products using the developed mitochondrial DNA-based primers. *Korean Journal for Food*

- Science of Animal Resources*, 37(3), 464–468.  
<https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.3.464>
- Hadijah, Ilzamha Rusdan., Dita Purwinda Anggrella. (2021). Sosialisasi Cemarkan Babi Sebagai Persiapan Sertifikasi Halal Pada Warung Makan Kartasura. *JPPM (Jurnal Pengabdian dan Pemberdayaan Masyarakat)*, 5(2): 329-332.
- Halil Yanardağ, İ., Zornoza, R., Faz Cano, Á., Büyükkılıç Yanardağ, A., & Mermut, A. R. (2020). Changes in carbon pools and enzyme activities in soil amended with pig slurry derived from different feeding diets and filtration process. *Geoderma*, 380.
- Handoyo, D., & Rudiretna, A. (2001). Prinsip umum dan pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*, 9(1), 17–29.
- Hartawan, R. 2000. Zat Gizi Terpenting Pada Kehamilan.
- Hidayati., Eniza Saleh., Tahrir Aulawi. (2016). Identifikasi Keragaman Gen BMPR-1B Pada Ayam Arab, Ayam Kampung, dan Ayam Ras Petelur Menggunakan PCR-RFLP. *Jurnal Peternakan*, 13(1):1-12.
- Ihatec.com. (2022, 24 Mei). Hati-hati Ada Banyak Macam Istilah Babi. Diakses pada 24 Juni 2024, dari <https://ihatec.com/istilah-babi/>.
- Indriati, M. (2021). Deteksi kandungan babi pada produk olahan daging menggunakan metode multipleks pcr di kabupaten pandeglang. *Jurnal Untirta*, 16(1).
- Iskandar, A. S., Safitri, D., Setyaningrum, S., & Lidya, B. (2023). Penentuan Sensitivitas dan Spesifisitas Kit PRIME-CYTO untuk Deteksi Kandungan Babi dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Halal Research Journal*, 3(1), 47–65. <https://doi.org/10.12962/j22759970.v3i1.579>
- Islam, K.Z.; Al Ahasan, M.A.; Hossain, M.S.; Rahman, M.H.; Mousumi, U.S.; Asaduzzaman, M. (2021). A Smart Fluorescent Light Spectroscope to Identify the Pork Adulteration for Halal Authentication. *Food and Nutrition Sciences*, 12, 73–89.
- Ismaun., Muzuni., Nur Hikmah. (2021). Deteksi Molekuler Bakteri *Escheria coli* Sebagai Penyebab Penyakit Diare Dengan Menggunakan Teknik PCR. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 6(2):1-9.
- Kharisma, Yolanda Setia., Nony Puspawati., Rizal Maarif Rukmana. (2020). *Deteksi Escherichia coli dengan Metode Polimerase Chain Reaction (PCR). Proceeding 1 st SETIABUDI – CIHAMS 2020*
- Katsir, Ibnu Abu al-Fida' Isma'il. (1999). *Tafsîr Ibn Katsîr*. Dâr Taiba, Cet. II. Juz 1, hal 480.
- Katsir, Ibnu Abu al-Fida' Isma'il. (1999). *Tafsîr Ibn Katsîr*. Dâr Taiba, Cet. II. Juz 9, hal 488.
- Kocher, T.D., Thomas, A., Meyer, S.V., Edwards, S. dan Paabo, F.X. (1989). Dynamic of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 86: 6169-6200.
- Lindiawati, Riris Puspitasari, Dewi Elfidasari, Analekta Tiara Perdana. (2019). Deteksi Kandungan Babi Berbahan Dasar Daging di Kampus Universitas Al Azhar Indonesia. *Jurnal Al Azhar Indonesia*, 5(2) : 66-69.
- Langen, M., Peters, U., Körner, U., Gissel, C., Stanislawski, D. dan Klein, G. (2010). Detection of male pork tissue in meat and meat products by PCR. *Meat Science* 86: 821-824.

- Lin, W. dan Deng-Fwu, H. (2008). Application of species-specific PCR for the identification of dried bonito product (Katsuo-bushi). *Food Chemistry* 106: 390-396.
- Leith, P. (1989). *The Cook's Handbook*. Papemack Division, Macmillan Publ. Ltd, London
- Leonard S, H. Khatib, V. Schutzkus, Y.M. Chang, dan Maltecca C. (2005). Effects of the osteopontin gene variants on milk production traits in dairy cattle. *Journal Dairy Science*. 88(11):4083-4086.
- Lestari, T. R. P. (2020). Keamanan Pangan Sebagai Salah Satu Upaya Perlindungan Hak Masyarakat Sebagai Konsumen. *Aspirasi: Jurnal Masalah-Masalah Sosial*, 11(1), 57–72.
- Luluk, Yusi Rahmania., Widayat., Tri Winarni Agustini., Meiny Suxery., Ahmad Ni'matullah Albaari. (2021). Pengukuran Kandungan DNA Babi Dalam Berbagai Produk Pangan Dengan Metode Real Time- Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesia Journal of Halal*, 129-132.
- Mahzura, Eliza Nasution, Ummi Azhany Husna Nasution. (2023). Konsumsi Makanan Halal dan Haram dalam Perspektif Al Qur'an dan Hadis. *Jurnal Ilmu Komputer, Ekonomi, dan Manajemen*, 3(2):2781-2785.
- Mardesci, H. (2013). Pangan Halal dan Cara Memilih Produk Kemasan yang Aman dan Halal. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2(2), 31–41.
- Matlock, B. (1997). *Assessment of Nucleic Acid Purity*. Wilmington: Thermo Fisher Scientific.
- Mawati, A., Sondakh, E. H. B., Kalele, J. A. D., & Hadju, R. (2017). Kualitas Chicken Nugget Yang Difortifikasi Dengan Tepung Kacang Kedelai Untuk Peningkatan Serat Pangan (Dietary Fiber). *Zootec*, 37(2), 464. <https://doi.org/10.35792/zot.37.2.2017.16782>
- McPherson, M., & Moller, S. (2006). *PCR Second Edition*. Institute of Molecular and Cellular Biology. University of Leeds: Taylor and Francis Group.
- Montolalu, S., Lontaan, N., Sakul, S., & Mirah, AD (2017). Sifat fisiko-kimia dan kualitas organoleptik bakso broiler dengan menggunakan tepung ubi jalar (*Ipomoea batatas L*). *ZOOTEC*, 32 (5).
- Moore, J. C., Spink, J., & Lipp, M. (2012). Development and Application of a Database of Food Ingredient Fraud and Economically Motivated Adulteration from 1980 to 2010. *Journal of Food Science*, 77(4).
- Muladno, R. Priyanto and S. Sulandari. (1999). Identification of Porcine Stress Syndrome in Commercial Pigs Associated Quality. One Day Seminar on Science and Technology. Indonesia Toray Science Foundation, Jakarta.
- Muthia, S., Nurohmi, S., Rahadiyanti, A., & Fathimah. (2018). Hubungan antara Pengetahuan dan Sikap Terhadap Penggunaan Kuas Bulu Babi di Kalangan Penjual Makanan. *Journal of Islamic Nutrition*, 1(1), 33–35.
- Nashirun. (2020). Makanan Halal dan Haram dalam Perspektif Al-Qur'an. *Halalan Thayyiban: Jurnal Kajian Manajemen Halal Dan Pariwisata Syariah*, 3(2), 1–15.
- Nasution, E. M., & Nasution, U. A. H. (2023). Konsumsi Makanan Halal Dan Haram dalam Perspektif Al-Qur'an Dan Hadis. *Jurnal Ilmu Komputer, Ekonomi Dan Manajemen (JIKEM)*, 3(2), 2781–2790.
- Nayasilana I. N., Sri Suci U. A., Firman. (2010). Teknik Analisis Non- Invasif Mitokondria DNA (mtDNA) BILOU (*Hylobates klossii*, Miller 1903)



- Melalui Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Primatologi Indonesia*, 7(1):27-33.
- Nikzad, J., Shahhosseini, S., Tabar zad, M., Nafissi-var cheh, N., & Torshabi, M. (2017). Simultaneous detection of bovine and porcine DNA in pharmaceutical gelatin capsules by duplex PCR assay for Halal authentication. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40199-017-0171-3>.
- Norrakiah, A. S., Shahrul Azim, M. G., Sahilah, A. M., A. S. B. (2015). Halal analysis of raw materials, ingredients and finished bakery product using PCR gen chip southern- hybridization for detection of porcine DNA. *International Food Research Journal*, 22(5), 1883–1887.
- Noviansari, Tika. (2018). Uji Komparasi Hasil Ekstraksi DNA Menggunakan Teknik Sederhana dan Teknik Molekuler GAPDH Pada Gajah Sumatera Betina di Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas. Universitas Lampung.
- Nugraheni, H., Wiyatini, T., & Wiradona, I. (2018). *Kesehatan Masyarakat dalam Determinan Sosial Budaya*. In *Yogyakarta: Penerbit Deepublish*.
- Pearson, A.M., and Tauber F.W. (1984). Processed Meat. In *The Avi Publ Company Inc*.
- Pradnyaniti D. G., Wirajana I. N., Yowani S. C. (2013). Desain Primer Secara in Silico Untuk Amplifikasi Fragmen Gen Rprob Mycobacterium Tuberculosis Dengan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(3): 125-127.
- Purwanto, D. (2006). *Teknik Optimasi PCR*. In Surabaya : Fakultas Farmasi UNAIR Press.
- Puspitasari, R. L., Elfidasari, D., & Perdana, A. T. (2019). Deteksi Kandungan Babi pada Makanan Berbahan Dasar Daging di Kampus Universitas Al Azhar Indonesia. *Jurnal Al- Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 5(2), 66.
- Putri Aprilia, R. U. (2022). *Uji Cemaran Daging Babi pada Abon dan Bakso Sapi dengan Metode Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) dari Beberapa Marketplace Di Indonesia*.
- Qardlawi, Y. (1972). *Al Halal wal Haram fil Islam*. In *al Maktab al Islami*.
- Restu, Mukrimin, & Gusmiaty. (2012). Optimasi Teknik Ekstraksi dan Isolasi DNA Tanaman Suren (Toona Sureni Merr.) untuk Analisis Keragaman Genetik berdasarkan RAPD. *Jurnal Natur Indoensia*, 14(2):138-142. <http://dx.doi.org/10.31258/jnat.14.1.138-142>
- Rini, Tri Puji Lestari. (2020). Penyelenggara Keamanan Pangan Sebagai Salah Satu Upaya Perlindungan Hak Masyarakat Sebagai Konsumen. *Aspirasi : Jurnal Masalah-masalah Sosial*, 11(1):60-63.
- Rohman, A., & Che Man, Y. (2012). Physico-Chemical Methods for Determination of Lard in Food Products for Halal Authentication Study. *Jurnal Agritech*, 28(04).
- Rosita, A. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Umbi Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Menggunakan Primer PCR-RAPD. Universitas Islam Negeri Malang.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning, A Laboratory Manual. Second Edition*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

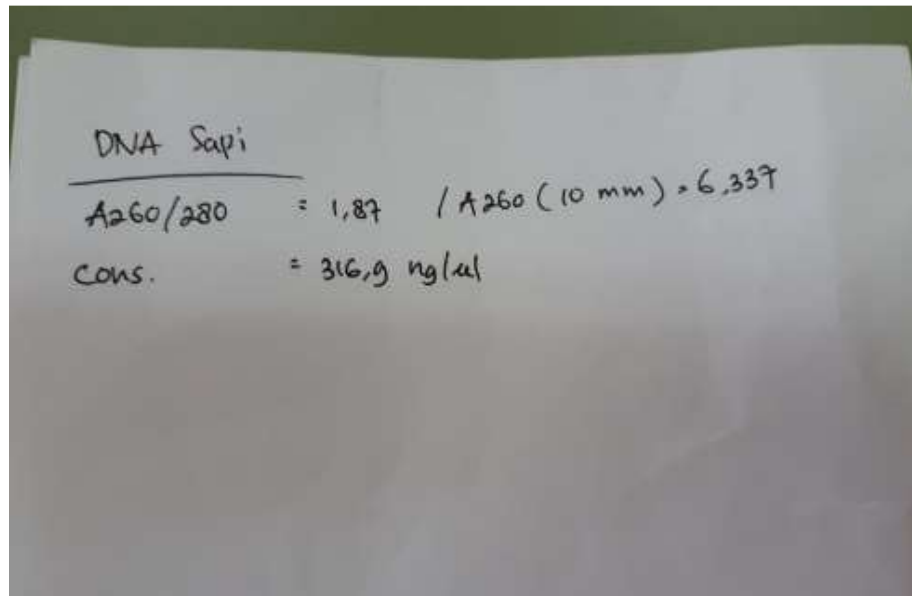
- Sari, F., Laboratorium, U. P. T., Hewan, K., Peternakan, D., Provinsi, H., Pattimura, J., Pekanbaru, N., & Korespondensi, P. (2017). *Identifikasi Spesies Babi pada Produk Pangan Asal Hewan di Pasar Tradisional Povinsi Riau dengan Metode Polymerase Chain Reaction*. 2(1), 55–60.
- Sardi, Arif. (2015). Konstruksi Primer Untuk Mendeteksi Mutasi Gen Rprob Mycobacterium Tuberculosis Dengan Metode Amplification Refractory Mutation System (Arms)-PCR. *Elkawnie : Journal of Islamic Science and Technology*. 1(1):31-45.
- Sasmitha, LV, Yustiantara, PS, & Yowani, SC (2018). Desain Dna Primer Secara In Silico Sebagai Pendeteksi Mutasi Gen Gyra Mycobacterium Tuberculosis Untuk Metode Polymerase Chain Reaction. *Cakra Kimia (E-Journal Kimia Terapan Indonesia)*, 6(1), 63-69.
- Sasmito, D. E. K., Rahadian, K., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik Primer Pada Polymerase Chain Reaction (PCR) Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNMed)*: 1(5), 93-102.
- Sayyid, Muhammad Thantawi. (1997). *Tafsir Al Wasith Lil Qur'anil Karim*. Dar An- Nahdah. Cet.I. Juz 1-3, hal 349.
- Sayyid, Muhammad Thantawi. (1997). *Tafsir Al Wasith Lil Qur'anil Karim*. Dar An- Nahdah. Cet.I. Juz 1-3, hal 341.
- Sayyid, Muhammad Thantawi. (1998). *Tafsir Al Wasith Lil Qur'anil Karim*. Dar An- Nahdah. Cet.I. Juz 6-7, hal 35.
- Sayyid, Muhammad Thantawi. (1998). *Tafsir Al Wasith Lil Qur'anil Karim*. Dar An- Nahdah. Cet.I. Juz 8-14, hal 93.
- Sembor, Sofi M. and Tinangon, Rita. M. (2022). *Industri Pengolahan Daging*. Bandung: CV. Patra Media Grafindo.
- Sharma A, Singla DL, Tuli A, Kaur P, Batth BK, Javed M, Juyal PD. (2013). Molecular prevalence of Babesia bigemina and Trypanosoma evansi in dairy animals from Punjab, India, by duplex PCR: a step forward to the detection and management of concurrent latent infections. *Biomed Research International*. Vol (2013): 1-8.
- Silatno, V., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M., Chesson, A. (2021). Safety evaluation of a food enzyme containing trypsin and chymotrypsin from porcine pancreas. *EFSA Journal*, 19(1).
- Soares, S., Amaral, J.S., Mafra, I., and Oliveira, M. B. P. . (2010). Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay. *Meat Science*, 85(3), 531–538.
- Sri Wahyuni. (2016). *Genetika molekuler*. In *Unimal Press* (pp. 24–30).
- Su San Na Kang, Hyeon Gyu Lee, H. K. (2018). Development and comparison of a porcine gelatin detection system targeting mitochondrial markers for Halal authentication. *LWT Food Sci Techol*, 97, 697–702.
- Sucipto, S., Zahrok, I. A., & Hendrawan, Y. (2018). Identifikasi Jenis Rambak Olahan Berbasis Analisis Citra dan Jaringan Saraf Tiruan. *Jurnal Edukasi Dan Penelitian Informatika (JEPIN)*, 4(2).
- Sumardani, N. L. G., Putri, T. I., Budaarsa, K., & Puger, A. W. (2019). Penganekaragaman Produk Olahan Daging Babi Untuk Meningkatkan Ekonomi Masyarakat Di Desa Semaon Kecamatan Payangan Kabupaten Gianyar. *Buletin: Udayana Mengabdi*. 18(1).

- Tanabe, S., Miyauchi, E., Muneshinge, A., Mio, K., Sato, C., dan Sato, M. (2007). PCR Method of Detecting Pork in Foods for Verifying Allergen Labeling and for Identifying Hidden Pork Ingredients in Processed Foods. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 71 (7): 1663-1667.
- Tri, Joko Raharjo., Ery Nourika Alfiraza., Esti Enjelina., Deni Pranowo. (2017). Validation Of a Non- Specific DyeReal-Time PCR Assay for Porcine Adulteration in Meatball Using ND5 Primer. *Indones. J. Chem.* 17(2):167-174.
- Ulupi, N., & Fatriana, Y. (2012). Pengaruh Penambahan Tepung Tapioka dan Es Batu pada Berbagai Tingkat yang Berbeda terhadap Kualitas Fisik Bakso Sapi. *Buletin Peternakan*, 28 (2), 80-86.
- Triani, Nova. (2020). Isolasi DNA Tanaman Jeruk Dengan Menggunakan Metode CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). *Jurnal Teknologi Terapan*. 3(2):221-225.
- Vallery Athalia Priyanka. (2017). Deteksi Cemaran Daging Babi Pada Produk Sosis Sapi di Kota Yogyakarta dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Ekp*, 13(3), 1576–1580.
- Widyaningrum, P. W. (2019). Pengaruh Label Halal, Kesadaran Halal, Iklan, dan Celebrity Endorser terhadap Minat Pembelian Kosmetik Melalui Variabel Persepsi Sebagai Mediasi. *CAPITAL : Jurnal Ekonomi dan Manajemen*, Vol. 2, Nomor 2, Hal. 75-97.
- Xingyi Jiang, Danielle Fuller, Yun-Hwa Peggy Hsieh, Q. R. (2018). Monoclonal antibody-based ELISA for the quantification of porcine hemoglobin in meat products. *Food Chemistry*, 250, 170–179.
- Yanuarendra, Sherly Lova., Choirul Anna N.A. Pengaruh Konsentrasi Angkak Terhadap Mutu Organoleptik Kornet Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*). *Boga*. 5(1): 258-264.
- Yoshida, Tomato., Tetsuya Nomura., Naoki Shinoda., Toyoka Kusuma., Koh-ichi Kadowaki., Katsuaki Sugiura. (2009). Development of PCR Primers for the Detection of Porcine DNA in Feed Using mtATP6 as the Target Sequence. *Jurnal Food Hyg. Soc. Japan*. 50 (2):89-92.
- Z. Kesmen , F. Sahin, H. Y. (2007). PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages. *Meat Sci*, 77(4), 649–653.
- Z. Kesmen , F. Sahin, H. Y. (2009). *Identification of Different Meat Species Used In Sucuk Production By PCR Assay*. Research / Arastima GD09028.
- Zulham, Z. (2018). Justifikasi Intervensi Negara Atas Kelembagaan Sertifikasi Halal Terhadap Massive And Credential Products. *Journal of Islamic Law Studies*, 1(1), 88–106.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Ekstraksi DNA Babi dan Tahap Amplifikasi

#### 1. Hasil Ekstraksi DNA Babi (atas) dan Sapi (bawah)



## Lampiran 2. Perhitungan

### 1. Perhitungan Konsentrasi Agarose

$$2\% \text{ agarose} = 25 \text{ ml buffer} \longrightarrow 25 \times \frac{2}{100} = \frac{50}{100} = 0,5 \text{ gram agarose}$$

### 2. Perhitungan Konsentrasi Primer

$$\text{Primer} \longrightarrow V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.100 = 50 \text{ ul}.10$$

$$V1 = \frac{500}{100} = 5 \text{ ul}$$

### 3. Perhitungan Suhu *Annealing*

$$\frac{\text{Forward} + \text{Reverse}}{2}$$

**Lampiran 3. Komposisi Pengenceran Primer ( $\mu\text{l}$ )**

<b>ND 5</b>		<b>Cyto B(1)</b>		<b>Cyto B(2)</b>		<b>Pork</b>		<b>PPPA 8</b>	
<b>F</b>	<b>R</b>	<b>F</b>	<b>R</b>	<b>F</b>	<b>R</b>	<b>F</b>	<b>R</b>	<b>F</b>	<b>R</b>
276	278	257	278	286	291	250	261	288	313

**Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan Penelitian**

 <p>Gambar 1. Pengenceran primer</p>	 <p>Gambar 2. Primer divortex</p>
 <p>Gambar 3. Pengaturan suhu PCR</p>	 <p>Gambar 4. Pengisian gel agarose dengan marker dan sampel</p>
 <p>Gambar 5. Sampel DNA yang akan di sentrifuse</p>	 <p>Gambar 6. Hasil ekstraksi DNA sampel kornet</p>
 <p>Gambar 7. Gel agarose diletakkan dibawah UV Trans</p>	 <p>Gambar 8. Penambahan komponen PCR</p>

## Lampiran 5. Jurnal Acuan Pemilihan Primer

### 1. Primer ND5

Indones. J. Chem., 2017, 17 (2), 167 - 174

167

#### Validation of a Non-Specific Dye Real-Time PCR Assay for Porcine Adulteration in Meatball Using ND5 Primer

Tri Joko Raharjo<sup>\*</sup>, Ery Nourika Alfraza, Ecti Enjelina, and Deni Pranowo

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, PO BOX 655 21, Yogyakarta 55281, Indonesia

Received March 1, 2017; Accepted April 5, 2017

#### ABSTRACT

Porcine adulteration in meatball samples were analyzed using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), based on the ND5 primer obtained by previous study. This work consisted of three stages which were annealing temperature optimization, method validation, and application. DNA template was extracted using phenol-ClIA (chloroform-iso amyl alcohol) method. The optimum annealing temperature for ND5 primers (forward primer 5'-CATTGGCCTCACTCACA TTAACC-3' and reverse primer 5'-AAGAGAGAGTTCTACGGTCTGTAG-3') was 58,0 °C, obtained after testing annealing at 50,5 to 55,5 °C gradient temperature with 5 °C interval. Melting curve analysis was done at 65,0 to 95,0 °C, with increasing temperature for 0,5 °C per 2 sec. Method was validated for its specificity, precision and limit of detection. RT-PCR method with ND5 primers produced 227 bp DNA fragment with 78,50 °C Tm value. From eight commercial meatball samples, one was detected containing porcine. The methods showed high specificity and precision, with experimentally determined limits for porcine were no less than 1%.

**Keywords:** meatballs; porcine DNA; method validation; ND5 primer; real-time PCR

#### ABSTRAK

Telah dilakukan analisis kontaminasi babi pada bakso dengan real time polymerase chain reaction (RT-PCR) berdasarkan perbedaan urutan DNA mitokondria. Penelitian yang dilakukan meliputi 3 tahapan yakni optimasi, validasi, dan aplikasi metode, disertai dengan isolasi DNA menggunakan fenol-ClIA (kloroform-iso amil alkohol). Optimasi metode RT-PCR dilakukan dengan menguji gradien temperatur (50,5–55,5 °C) untuk memperoleh temperatur annealing (Ta) optimal dari primer ND5 forward (5'-CATTGGCCTCACTCACA TTAACC-3') dan primer ND5 reverse (5'-AAGAGAGAGTTCTACGGTCTGTAG-3'). Kondisi PCR yang digunakan berupa pre-denaturasi pada temperatur 95 °C selama 30 detik, denaturasi pada temperatur 95 °C selama 2 detik dan annealing pada Ta optimal selama 5 detik serta melting curve analysis pada temperatur 65,0–95,0 °C. Metode divalidasi dengan menentukan spesifitas, presisi dan batas deteksi. Aplikasi metode dilakukan dengan menguji sampel produk bakso di pasaran. Hasil RT-PCR dengan primer ND5 berupa fragmen DNA dengan Tm (titik leleh) sebesar 78,5 °C dengan ukuran fragmen 227 pb. Ta optimal untuk PCR adalah 58,0 °C. Metode memiliki spesifitas dan presisi yang tinggi dimana primer ND5 hanya mengamplifikasi DNA babi dan tidak terbentuk ampikon pada kontrol negatif serta hasil yang konsisten setelah 10 kali pengulangan pada waktu isolasi yang berbeda untuk masing-masing kontrol positif dan negatif. Metode masih dapat mendeteksi sampai dengan 1% kontaminasi babi. Analisis RT-PCR terhadap 8 sampel bakso berhasil mendeteksi 1 sampel dari pasar tradisional yang positif terkontaminasi babi.

**Kata Kunci:** bakso; DNA babi; validasi metode; primer ND5; real-time PCR

#### INTRODUCTION

The increased awareness of consumers regarding the composition of foods has resulted in the need to verify the labelling statements. The incorrect labelling of foods represents a commercial fraud, considering the consumer acquisition. It is very important to establish that species of high commercial value are not substituted, partial or entirely, by other lower value species [1].

The information given to consumers is also essential for them to choose certain foods over others [2]. These practices are of concern for not only economic reason since it leads to unfair competition among producers, but also ethics health and religious since the consumption of certain species is not allowed in some religions [3]. Thus, when considering all the referred concerns, the need to verify the labelling statements is a crucial aspect of consumers, food industries, and food authorities [4].

<sup>\*</sup> Corresponding author. Tel : +62-274-545188  
Email address: tj\_raharjo@ugm.ac.id

DOI: 10.20194/ijc.201646



## 2. Primer PPA8

April 2009

803

## Note

Development of PCR Primers for the Detection of Porcine DNA in Feed Using *mLAMP6* as the Target Sequence

(Received October 12, 2008)

Tomitaru YOSHIDA<sup>1,\*</sup>, Tetsuya NOSHITA<sup>2</sup>, Naoki SHINGO<sup>1</sup>, Toyuko KUSAMA<sup>1</sup>,  
Kob-ichi KADOWAKI<sup>3</sup> and Kazumaki SUGIURA<sup>1</sup><sup>1</sup>Food and Agricultural Materials Inspection Center, 2-1 Shintoshin, Chuo-ku, Saitama-shi, Saitama 330-0731, Japan; <sup>2</sup>Food and Agricultural Materials Inspection Center, Kobe Regional Center, 1-1 Orohama, Chuo-ku, Kobe-shi, Hyogo 651-0082, Japan; <sup>3</sup>Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 1-2-1 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8930, Japan; \* Corresponding author

In Japan, PCR identification of species-specific, animal group-specific and plant DNA is employed as part of the audit program to ensure compliance with the feed ban in place for the control of bovine spongiform encephalopathy (BSE). Since October 2001, animal proteins other than dairy proteins, egg proteins and gelatin have been prohibited to be used in feed for ruminants. Meat-and-bone meal (MBM) derived from poultry, pig and/or fish is allowed to be used in feed for poultry, pigs and fish. Porcine MBM is permitted in feed for domestic animals other than cattle since April 2005. Given the fact that pigs and cattle are the two major sources of MBM in Japan, the identification of porcine DNA with high specificity and sensitivity has become increasingly important to ensure that MBM products are free from ruminant materials. Two PCR primer sets (PPA8 and PPA5) were newly designed using *mLAMP6* and *mLAMP5* as the target sequences, with relatively short amplification sizes. PPA8 and PPA5 were able to specifically detect porcine DNA with the detection limits of 0.01% and 0.001% of porcine MBM in feed, respectively. PPA5 was superior to PPA8 in terms of detection of DNA damaged/fragmented during rendering procedures. The PCR method using these primer sets is registered as the official analytical method for feed in Japan.

**Key words:** animal feed; meat-and-bone meal; PCR; porcine DNA; primer

## Introduction

Bovine spongiform encephalopathy (BSE) is a progressive and fatal disease that affects the central nervous system of cattle. BSE was first confirmed in the United Kingdom (UK) in 1986, and subsequently reported in several other countries in the 1990s. Meat-and-bone meal (MBM) contaminated with a scrapie-like agent is considered to be the vehicle of BSE infection<sup>1</sup>.

Immediately after the detection of the first case of BSE in Japan in September 2001, the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) prohibited the use of all animal protein (mammalian, poultry and fish protein, excluding dairy products, egg products and gelatin) in feed for ruminants, pigs, poultry and fish. All waste inedible animal by-products from slaughtered animals were transformed into MBM and incinerated. In April 2005, the feed ban was amended to allow the use of MBM derived from pigs and poultry in feed except for ruminants and fish on the condition that the MBM is produced in dedicated facilities where no rumi-

nant materials are handled. In May 2008, the feed ban was amended again to allow the use of porcine and poultry MBM in feed for fish.

To ensure the proper implementation of the feed regulations, an audit program composed of on-site inspections of premises involved in feed manufacture, handling, storage or use and taking of feed samples at these premises has been implemented by the Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) under the instructions of the MAFF. The samples are subjected to a range of laboratory tests conducted by the FAMIC for detection of prohibited animal proteins using microscopic, ELISA, and PCR methods for their identification.

PCR can be used for detection of DNA derived from specific species with high sensitivity by using a specific primer set. However, the heat and denaturing treatments applied during the manufacture of MBM may damage the DNA, thus affecting the sensitivity of this method.

The FAMIC has successfully developed primer sets for the detection of mammalian, ruminant, bovine, chicken, fish and plant DNA, which are registered as official primers in the Official Methods of Feed Analysis

<sup>1</sup> Present address: Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 1-2-1 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8930, Japan.

### 3. Primer *Cytochrome B* (2)

AGRITECH, Vol. 32, No. 4, NOVEMBER 2012

## IDENTIFIKASI DAGING BABI MENGGUNAKAN METODE PCR-RFLP GEN *Cytochrome b* DAN PCR PRIMER SPESIFIK GEN AMELOGENIN

Pork Identification Using PCR-RFLP of *Cytochrome b* Gene and Species Specific PCR of Amelogenin Gene

Yuny Erwanto<sup>1,2</sup>, Suglyono<sup>3</sup>, Abdul Rohman<sup>4</sup>, Mohammad Zainal Abidin<sup>1</sup>, Dwi Artyani<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No 3, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281

<sup>3</sup>Pusat Penelitian Produk Halal, Universitas Gadjah Mada, Jl. Kalurang Km. 4, Sekip Yogyakarta 55281

<sup>4</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Kalurang Km. 4, Sekip, Yogyakarta 55281

E-mail: yunyer@yahoo.com

#### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengaplikasikan metode deteksi daging babi dalam campuran daging dengan sapi, kambing dan ayam melalui PCR-RFLP dan PCR dengan primer spesifik untuk babi. Level kontaminasi daging babi dibuat sebesar 1, 3, 5 dan 10% dari total daging dalam campuran. Metode PCR-RFLP menggunakan sepaang primer yaitu gen *cytochrome b* dari mitokondria yang menghasilkan fragmen DNA sebesar 359 bp. Untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi babi dalam adonan daging tersebut diaplikasikan enzim restriksi *BseDI* yang dapat memotong DNA dari gen *cytochrome b* babi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *cytochrome b* dari babi dapat terpotong menjadi dua fragmen yaitu sebesar 228 bp dan 131 bp. Untuk desain primer spesifik digunakan gen amelogenin yang mempunyai ukuran yang berbeda diantara ke empat spesies uji yaitu babi, sapi, ayam dan kambing. Primer spesifik didesain pada panjang fragmen sebesar 353 dan 312 bp. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontaminasi daging babi sebesar 1% masih dapat terdeteksi dengan metode PCR-RFLP tetapi pengujian dengan primer spesifik yang digunakan hanya untuk deteksi DNA babi masih menunjukkan reaksi silang dengan spesies hewan lain yaitu sapi, kambing dan ayam. Pengujian dengan PCR-RFLP pada gen *cytochrome b* menghasilkan hasil yang lebih baik dan jelas untuk pengujian kontaminasi babi dibandingkan dengan PCR dengan primer spesifik. Metode PCR-RFLP merupakan metode yang potensial untuk analisis deteksi keberadaan unsur babi pada produk olahan pangan khususnya untuk deteksi status kehalalan.

**Kata kunci:** Identifikasi, daging babi, gen *cytochrome b*, amelogenin, *polymerase chain reaction*

#### ABSTRACT

A polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR–RFLP) and species specific PCR methods had been applied for identifying pork in mixture of meat. Pork sample in various levels (1, 3, 5 and 10%) was prepared in mixture with beef, chicken and mutton. The primary CYTh1 and CYTh2 were designed in the mitochondrial *cytochrome b b* (*cytochrome b*) gene and PCR successfully amplified fragments of 359 bp. To distinguish pig species existence, the amplified PCR products of mitochondrial DNA were cut by *BseDI* restriction enzyme. The result showed that pig mitochondrial DNA was cut into 131 and 228 bp fragments. A polymerase chain reaction (PCR) method based on the nucleotide sequence variation in the amelogenin gene has been chosen for the specific identification of pork DNAs in mixture meat. The primers designed generated specific fragments of 353 and 312 bp length for pork. The specificity of the primary designed was tested on 4 animal species including pig, cattle, chicken and goat species. Analysis of experimental mixture meat demonstrated that 1% of raw pork tissues could be detected using PCR-RFLP with *BseDI* restriction enzyme but detection using species-specific PCR showed the cross reactivity to beef, chicken and mutton. The *cytochrome b* PCR-RFLP species identification assay yielded excellent results for identification of pig

## 4. Primer Pork

Rev. Environ. Biotech. 7: 160-167, 2007.



### PCR Method of Detecting Pork in Foods for Verifying Allergen Labeling and for Identifying Hidden Pork Ingredients in Processed Foods

Soichi TANABE,<sup>1</sup> Eiji MIYACHI,<sup>1</sup> Akemi MUNEKAGE,<sup>2</sup> Kazuhiro Mio,<sup>3</sup> Chikara SATO,<sup>3</sup> and Masahiko SATO<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan

<sup>2</sup>Central Research Institute, Itoham Foods Inc., Moriya, Itoham 302-0104, Japan

<sup>3</sup>Neuroscience Research Institute and Biological Information Research Center,

National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba, Ibaraki 305-8566, Japan

Received February 7, 2007; Accepted March 8, 2007; Online Publication, July 1, 2007

[doi:10.1271/jes.2007.1]

A PCR method to detect porcine DNA was developed for verifying the allergen labeling of foods and for identifying hidden pork ingredients in processed foods. The primer pair, F2/R1, was designed to detect the gene encoding porcine cytochrome b for the specific detection of pork with high sensitivity. The amplified DNA fragment (138 bp) was specifically detected from porcine DNA, while no amplification occurred with other species such as cattle, chicken, sheep, and horse. When the developed PCR method was used for investigating commercial food products, porcine DNA was clearly detected in those containing pork in the list of ingredients. In addition, 100 ppb of pork in heated gyoza (pork and vegetable dumpling) could be detected by this method. This method is rapid, specific and sensitive, making it applicable for detecting trace amounts of pork in processed foods.

**Key words:** food allergy; PCR; pork; cytochrome b; detection of allergen

Epidemiological studies suggest that between 10% and 20% of the world population exhibits some form of IgE-mediated hypersensitivity which is manifested as asthma, atopic dermatitis, or allergic rhinitis.<sup>11</sup> Among these, allergic reactions to foods are important worldwide health problems. Hen's egg,<sup>20</sup> cow's milk,<sup>19</sup> wheat<sup>21</sup> and peanuts<sup>22</sup> are generally known allergens for food-allergic patients. In contrast, meat is generally less allergenic than common allergy-inducing foods. Thus, a quarter century ago, children with food allergies were advised to be placed on an elimination diet that included meat.<sup>6</sup>

However, there is increasing evidence that even meat can provoke allergic reactions in sensitized patients. The prevalence of beef, pork, and chicken allergy has been reported to be 73%, 58%, and 41%, respectively, among

57 subjects with suspected meat allergies in USA.<sup>7</sup> The frequency of sensitization in skin prick test to pork has been reported to be 2.0% in Germany.<sup>8</sup> The cross-reactivity of pork and cat epithelia/dander has been reported and called "pork-cat syndrome."<sup>9,10</sup> Nearly all patients with IgE antibodies to pork also have IgE antibodies to cat epithelia/dander. However, among patients with IgE antibodies to cat epithelia/dander, only about 20% had IgE antibodies to pork.<sup>9</sup> Hölger *et al.*<sup>10</sup> have performed immunoblotting and cross-inhibition assays, and found porcine serum albumin (PSA) and cat serum albumin (*Fel d 2*) to be jointly recognized molecules. Inhibition assays showed that the spectrum of IgE reactivity to cat serum albumin completely contained IgE reactivity to PSA, suggesting that sensitization to cats was the primary event.<sup>10</sup>

Labeling for food allergens is required in many countries to prevent health hazards caused by foods containing allergens. In Japan, labeling is divided into the two stages, mandatory and recommended, according to the number of cases of actual illness and degree of seriousness.<sup>12</sup> The Ministry of Health, Labour and Welfare has made it mandatory to declare five food items (eggs, milk, wheat, buckwheat, and peanuts) and notified their recommendation to declare another 20 items (abalone, squid, salmon roe, shrimp/prawn, oranges, crab, kiwi fruit, beef, tree nuts, salmon, mackerel, soybeans, chicken (poultry), pork, mushrooms, peaches, yams, apples, gelatin, and bananas).<sup>13</sup> As already mentioned, beef, chicken and pork are recommended to be separately labeled in Japan. Pork has also become one of the labeled foods among 11 items in Korea.

To verify allergen labeling of foods and in order to identify hidden allergens in processed foods, it is important to provide sensitive and specific detection methods. In general, these methods are based on the detection of species-specific proteins by enzyme-linked immuno-

\* To whom correspondence should be addressed. Fax: +81-297-45-6353; E-mail: masahiko.sato@iitoham.co.jp

## 5. Primer *Cytochrome B* (1)



Fullerene Journ. Of Chem Vol.6 No.2: 110-117, 2021

ISSN 2598-1269

doi 10.37033/fjc.v6i2.329

### Perancangan Primer untuk Deteksi Kandungan Gen *Cytochrome b* Babi dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* dan Aplikasinya pada Berbagai Produk Industri

Dianti Devi Astari, Sania Gustiani Dewi, Sinta Setyaningrum, Bevi Lidya\*

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Bandung, Kota Bandung, 40139, Indonesia

#### INFO ARTIKEL

Diterima 01 September 2021  
Dibetajai 28 Desember 2021

**Key words:**  
Primer Design  
Pig *cytochrome b* gene  
*Polymerase Chain Reaction*

**Kata kunci:**  
Perancangan Primer  
Gen *cytochrome b* babi  
*Polymerase Chain Reaction*

#### ABSTRACT

Types of meat from food products that circulating in the market can be detected by *Polymerase Chain Reaction* with the *cytochrome b* gene as a marker. The most important and characteristic component for the PCR reaction is the primer, which is an oligonucleotide that acts as an initiator in the PCR reaction. In this study, the primer designed was intended to amplify the pig *cytochrome b* gene. The design was carried out with the help of the Primer-BLAST application, and manually, three pairs of primers came from BLAST primers, and one pair of primers was designed manually. The primer that has been designed is tested on pork, beef, and food industry products, such as pork sausage, beef sausage, and chicken sausage. The results of PCR amplification were identified qualitatively using 1% Agarose Gel Electrophoresis and visualized using a UV transilluminator. The primer designed manually to produce the whole pig *cytochrome b* gene with a product size of 1140 bp has succeeded in amplifying the product and is specific because it only produces bands in pork samples, while in chicken and beef samples, it does not produce bands. The three pairs of primers suggested by Primer-BLAST could amplify the porcine *cytochrome b* gene with band sizes of 121 bp, 272 bp, and 262 bp, but they are not specified yet because it also can amplify the gene in beef and chicken samples. The manual primer design is the best primer and can be further used to detect foodstuffs contains pig genes by PCR.

#### ABSTRAK

Jenis daging dari produk pangan yang beredar di pasaran dapat dideteksi secara *Polymerase Chain Reaction* dengan gen *cytochrome b* sebagai marker. Komponen terpenting dan bersifat khas untuk reaksi PCR adalah primer, yaitu suatu oligonukleotida yang berperan sebagai inisiator dalam reaksi PCR. Pada penelitian ini, primer yang dirancang ditujukan untuk mengamplifikasi gen *cytochrome b* babi. Perancangan primer menghasilkan tiga pasang primer yang disarankan oleh primer-BLAST dan satu pasang primer yang dirancang manual. Pengujian primer dilakukan terhadap sampel daging babi, daging sapi serta produk industri pangan, yaitu sosis babi, sosis sapi dan sosis ayam. Hasil amplifikasi DNA menggunakan PCR diidentifikasi dengan elektroforesis gel agarose 1% dan divisualisasikan dengan alat UV transiluminator. Primer yang dirancang manual untuk menghasilkan gen *cytochrome b* babi secara utuh dengan ukuran produk 1140 bp telah berhasil mengamplifikasi produk dan bersifat spesifik karena hanya menghasilkan pita pada sampel babi sedangkan pada sampel ayam dan sapi tidak menghasilkan pita. Tiga pasang primer yang disarankan oleh Primer-BLAST mampu mengamplifikasi gen *cytochrome b* babi dengan ukuran pita sebesar 121 bp, 272 bp dan 262 bp, namun belum spesifik karena dapat mengamplifikasi gen pada sampel sapi dan ayam. Primer yang dirancang manual adalah primer terbaik dan dapat digunakan untuk mendeteksi kandungan babi secara PCR.

\*e-mail: bevi\_lidya@ipbuan.ac.id  
\*Telp: 085863244833



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**Form Checklist Plagiasi**

**Nama** : Aisyah Izmi Hamida Salsabila  
**NIM** : 200602110051  
**Judul** : Uji Sensitivitas Lima Primer Spesifik DNA Babi (Susu scrofa)  
 Pada Daging Olahan

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	200	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		

Mengetahui,  
 Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
 NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533  
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: [info@uin-malang.ac.id](mailto:info@uin-malang.ac.id)

#### JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

##### IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 200602110051  
Nama : AISYAH IZAH HAMIDA SALSABILA  
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI  
Jurusan : BIOLOGI  
Dosen Pembimbing 1 : DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si  
Dosen Pembimbing 2 : Dr. H.AHMAD BARIZLMA  
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Uji SENSITIVITAS LIMA PRIMER SPESIFIK DNA BABI (Sus scrofa) PADA PRODUK GLAHAN DAGING

##### IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	22 Juni 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Pengajuan Judul Skripsi	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
2	18 September 2023	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Perubahan Judul	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
3	09 Januari 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Fiksasi Judul Penelitian	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
4	22 Januari 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan Bab 1	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
5	01 Februari 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan Bab 2 dan 3	Ganjil 2023/2024	Sudah Dikoreksi
6	07 Februari 2024	Dr. H.AHMAD BARIZLMA	Bimbingan Ayat Integral	Genap 2023/2024	Belum Dikoreksi
7	21 Mei 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Bimbingan bab 4	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
8	31 Mei 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Revisi bab 1 - 5	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
9	04 Juni 2024	DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si	Revisi akhir	Genap 2023/2024	Belum Dikoreksi
10	04 Juni 2024	Dr. H.AHMAD BARIZLMA	Konultasi ayat integral bab 4	Genap 2023/2024	Belum Dikoreksi

Telah disetujui  
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Disertasi

Dosen Pembimbing 2

Dr. H.AHMAD BARIZLMA

Malang, 26 Juni 2024

Dosen Pembimbing 1

DIDIK WAHYUDI,S.Si., M.Si

Kajur / Kaprodi,