

SKRIPSI

**DETEKSI CEMARAN DAGING BABI PADA PRODUK SOSIS SAPI DI
KOTA YOGYAKARTA DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN
REACTION***

Disusun oleh :
Vallery Athalia Priyanka
NPM : 130801398



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

DETEKSI CEMARAN DAGING BABI PADA PRODUK SOSIS SAPI DI
KOTA YOGYAKARTA DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN
REACTION*

SKRIPSI

Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat S-1

Disusun oleh:

Vallery Athalia Priyanka

NPM : 130801398



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul

DETEKSI CEMARAN DAGING BABI PADA PRODUK SOSIS SAPI DI
KOTA YOGYAKARTA DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN
REACTION*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : Vallery Athalia Priyanka

NPM : 130801398


Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada hari Jumat, 14 Juli 2017

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

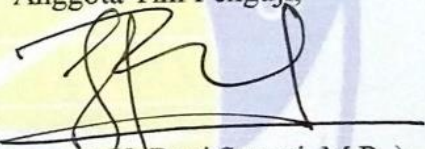
SUSUNAN TIM PENGUJI

Pembimbing Utama,



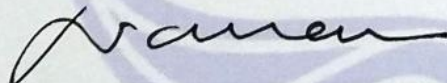
(Ir. Susana Ristiarini, M.Si)

Anggota Tim Penguji,



(Dr. rer. nat. Y. Reni Swasti, M.P.)

Pembimbing Pendamping,

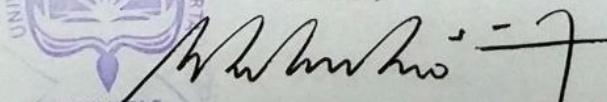


(Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., PhD)

Yogyakarta, 31 Juli 2017

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,



(Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Vallery Athalia Priyanka

NPM : 130801398

Judul Skripsi : Deteksi Cemarkan Daging Babi pada Produk Sosis Sapi di Kota Yogyakarta dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujur-jujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila di kemudian hari ternyata saya terbukti melanggar pernyataan saya tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 27 Juni 2017
Yang menyatakan,



Vallery Athalia Priyanka
130801398

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan dan semesta atas segala berkat dan penyertaan yang telah dianugerahkan kepada penulis selama persiapan dan pelaksanaan penelitian hingga skripsi ini selesai dengan baik. Penelitian dan naskah skripsi ini sekaligus menjadi tugas akhir dan syarat kelulusan untuk menyelesaikan studi S-1 di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Terlaksananya penelitian dan terselesaikannya naskah skripsi ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menghaturkan terima kasih kepada

1. Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberi bimbingan dan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan naskah skripsi ini.
2. Ir. Susana Ristiarini, M.Si, selaku dosen pembimbing utama yang kesabaran dan masukan positifnya telah banyak membangun semangat dan membantu penulisan naskah skripsi ini.
3. Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., PhD, sebagai dosen pembimbing pendamping, atas bimbingan yang bijaksana, motivatif, dan kepedulian selama pelaksanaan masa akhir studi ini.
4. Seluruh dosen Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah bertukar-pikiran pengetahuan selama kuliah, staf Tata Usaha Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah

membantu urusan administrasi selama studi, serta staf laboratorium yang telah banyak memberikan bantuan selama pelaksanaan penelitian.

5. Penulis juga berterima kasih kepada Profesor Worawidh, Pi Nid, Pi Fai, Pi Aom, Pi Pueng, Pi Bow, Pi Ploy, Pi Pan, dan Pi Art, serta seluruh staff Profesor Worawidh di *Wildlife Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine Kamphaengsaen Campus, Kasetsart University, Thailand*, yang telah memberi ilmu, semangat, dan kekeluargaan selama penulis mengerjakan penelitian.
6. Orang tua, adik, kakak, dan seluruh keluarga tercinta yang telah memberi dukungan dan bantuan secara moril maupun material.
7. Teman-teman yang sudah menemani penulis berproses menjadi pribadi yang bijaksana dan bertanggungjawab, yang selalu memberi percikan api saat bara semangat mulai memadam.

Terima kasih yang tak terhingga juga penulis haturkan kepada semua pihak yang belum disebutkan tetapi telah sangat membantu penulis dalam penyelesaian naskah skripsi ini. Besar harapan penulis agar naskah yang masih perlu disempurnakan ini kiranya dapat bermanfaat bagi banyak orang.

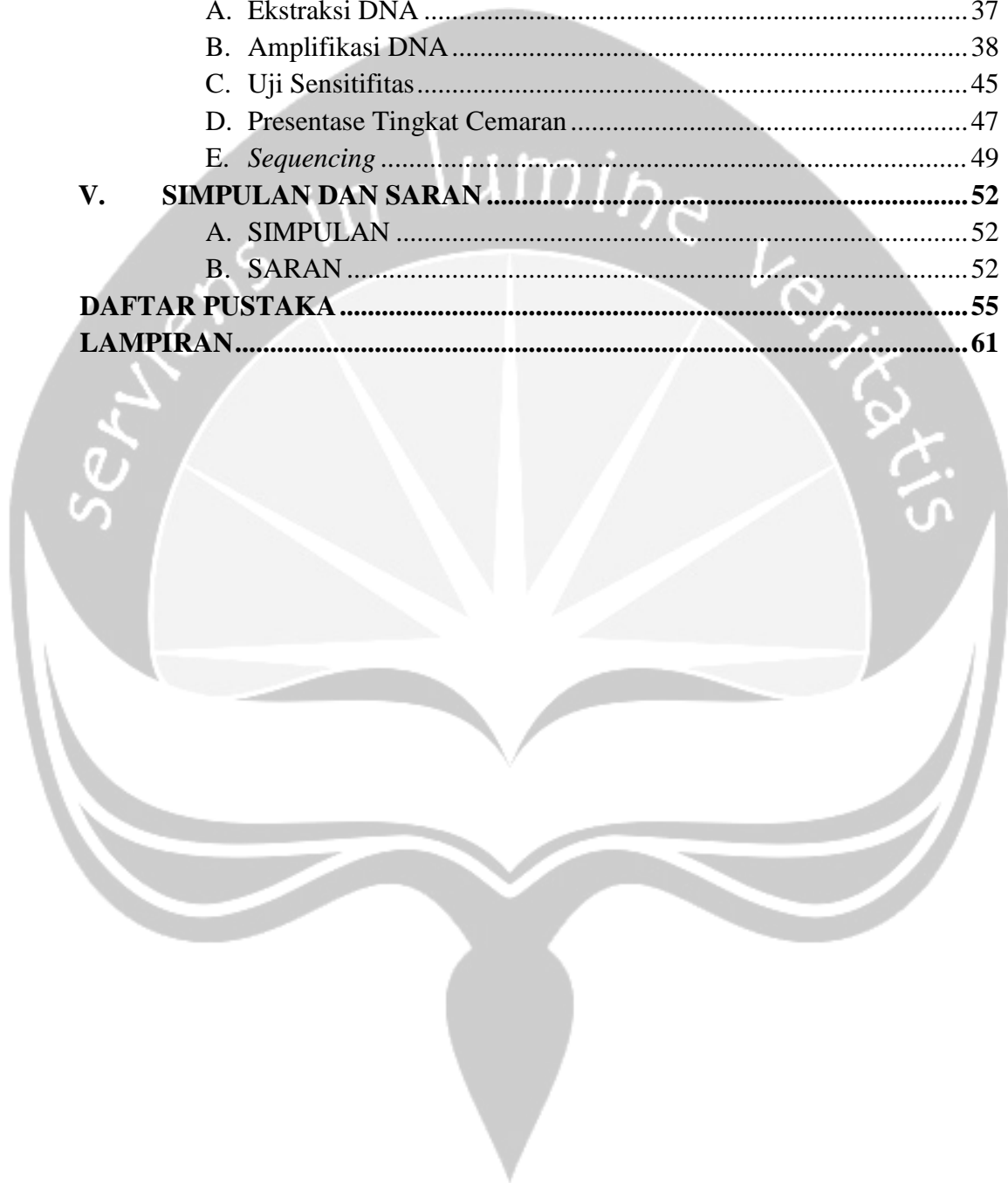
Yogyakarta, 27 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGANTAR	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Keaslian Penelitian	4
C. Perumusan Masalah	6
D. Tujuan Penelitian	7
E. Manfaat Penelitian	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Makanan Olahan Daging.....	8
B. Metode Deteksi Cemaran Pangan	11
C. <i>Porcine Repetive Element</i>	16
D. Primer Pendeteksi Cemaran Daging Babi.....	17
E. <i>Sequencing</i>	20
F. KOD FX Neo	22
G. Hipotesis.....	23
III. METODE PENELITIAN	24
A. Waktu dan Tempat Penelitian	24
B. Alat dan Bahan	24
C. Rancangan Percobaan	25
D. Tahapan Penelitian	26
E. Cara Kerja	26
1. Pengumpulan Sampel.....	26
2. Ekstraksi DNA sampel dan DNA kontrol.....	29
3. Pengukuran Konsentrasi dan Kuantitas DNA.....	29
4. Amplifikasi DNA sampel dan DNA kontrol.....	30
5. Analisa Hasil Amplifikasi	32
6. Pengujian Sensitifitas Metode PCR-Primer Spesifik.....	32

7. <i>Sequencing</i> hasil positif.....	33
8. Amplifikasi dengan <i>Direct PCR</i>	35
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Ekstraksi DNA	37
B. Amplifikasi DNA	38
C. Uji Sensitifitas	45
D. Presentase Tingkat Cemaran	47
E. <i>Sequencing</i>	49
V. SIMPULAN DAN SARAN	52
A. SIMPULAN	52
B. SARAN	52
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	61



DAFTAR TABEL

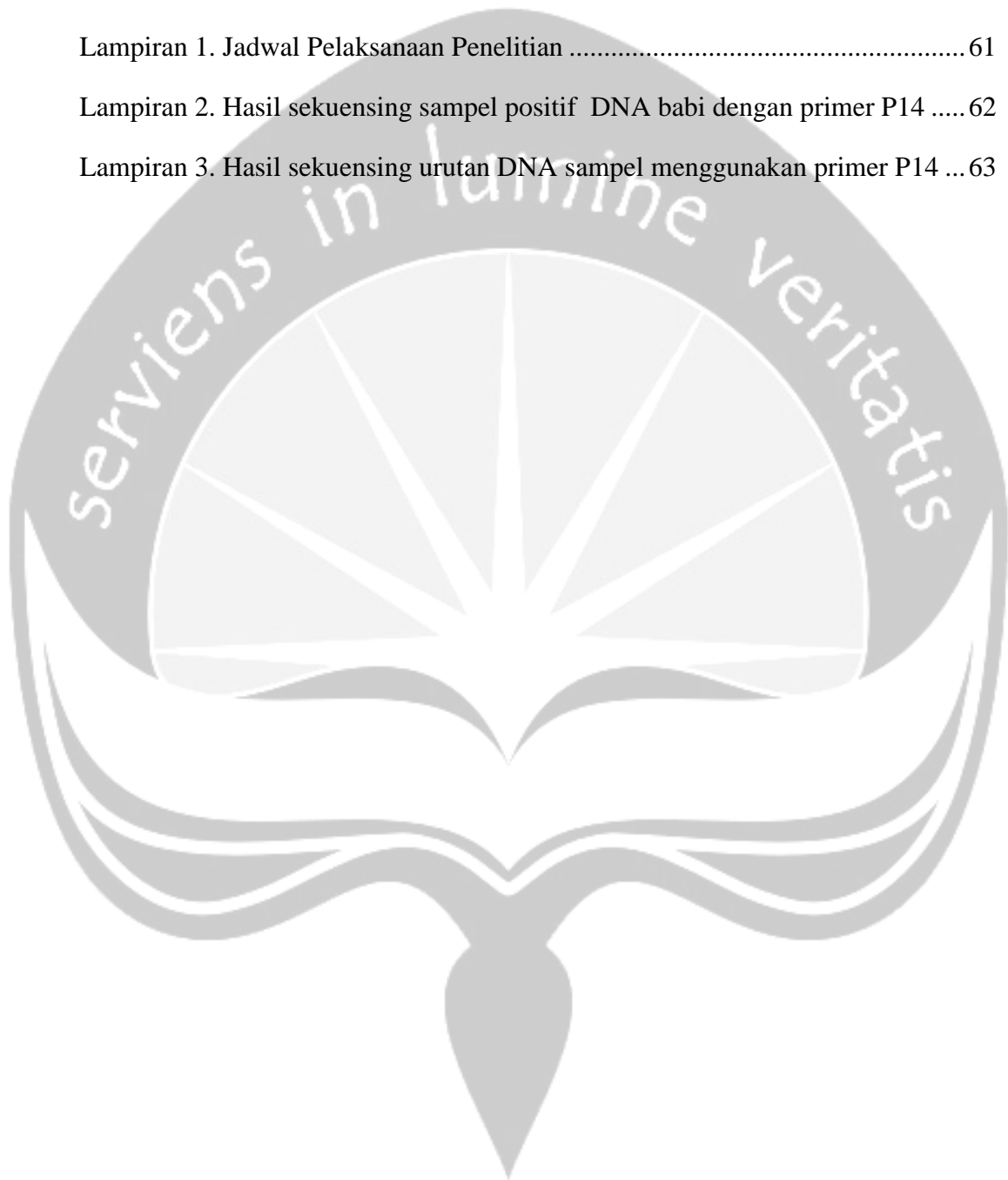
	Halaman
Tabel 1. Syarat Mutu Sosis Daging	10
Tabel 2. Fragmen <i>Species-specific restriction enzyme</i> dari fragmen PCR cyt c 359 bp yang dihasilkan oleh primer yang terindikasi	16
Tabel 3. Urutan basa dan ukuran Primer.....	25
Tabel 4. Jenis Sampel yang digunakan dalam Penelitian	27
Tabel 5. Komposisi <i>Master Mix</i> dengan <i>Hot Start Taq DNA polymerase</i>	30
Tabel 6. Komposisi <i>Master Mix</i> dengan <i>Direct Animal Taq DNA polymerase</i>	30
Tabel 7. Siklus PCR dengan <i>Hot Start Taq DNA polymerase</i> dan	31
Tabel 8. Siklus PCR dengan <i>Direct Animal Taq DNA polymerase</i>	31
Tabel 9. Komposisi <i>Master Mix</i> dengan <i>KOD FX Neo</i>	35
Tabel 10. Siklus PCR dengan <i>KOD FX Neo</i>	36
Tabel 11. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kuantitas DNA	37
Tabel 12. Hasil deteksi DNA babi pada sampel sosis dengan variasi primer.....	38
Tabel 13. Hasil Visualisasi Amplifikasi Sampel Sosis B dan F	48
Tabel 14. Hasil pencarian hasil sekuensing sampel DNA babi dengan data sekuen DNA babi dari NCBI.....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Sampel Sosis	28
Gambar 2. Hasil potongan pita pada gel agarosa.....	34
Gambar 3. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer P14.....	40
Gambar 4. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer P195.....	41
Gambar 5. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer CB.....	42
Gambar 6. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer PPA6.....	43
Gambar 7. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer PPA8.....	43
Gambar 8. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer <i>pork</i>	44
Gambar 9. Hasil visualisasi produk PCR sampel positif DNA babi dengan variasi konsentrasi.....	46
Gambar 10. Hasil visualisasi amplifikasi produk PCR menggunakan primer P14 sampel sosis sapi B dan F dengan <i>direct PCR</i> menggunakan KOD ..	47
Gambar 11. Hasil visualisasi amplifikasi produk PCR menggunakan primer P14 sampel sosis sapi B dan F dengan lisat sosis menggunakan KOD.....	49
Gambar 12. Perbandingan hasil sekuens sampel DNA babi menggunakan primer P14 dengan data sekuens DNA babi dari NCBI	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian	61
Lampiran 2. Hasil sekuensing sampel positif DNA babi dengan primer P14	62
Lampiran 3. Hasil sekuensing urutan DNA sampel menggunakan primer P14 ...	63



INTISARI

Produk makanan dengan bahan dasar daging beresiko terhadap pencampuran dengan daging lain, dimana pencampuran tersebut sulit untuk dideteksi dengan mata telanjang. Kemajuan teknologi khususnya di bidang molekuler menawarkan kemudahan untuk mendeteksi adanya cemaran daging lain pada produk pangan. Tujuan penelitian ini untuk mendeteksi cemaran daging babi dalam produk sosis sapi dari beberapa pasar di Kota Yogyakarta menggunakan teknik PCR, melakukan verifikasi hasil elektroforesis produk PCR sampel dengan metode sekuensing dan mengetahui primer yang lebih efektif dan sensitif dalam mendeteksi DNA babi pada sampel sosis. Metode PCR yang digunakan menggunakan enzim polimerase Taq *Direct Animal* dan *Hot Start*, serta KOD FX Neo.

Penelitian ini menggunakan 6 primer, terdiri dari 2 primer universal mamalia yaitu primer P195 dan CB, dan 4 primer spesifik babi yaitu P14, PPA6, PPA8, dan *pork*. Primer universal mamalia digunakan untuk mendeteksi kandungan DNA mamalia pada sampel, sedangkan primer spesifik babi untuk mendeteksi kandungan DNA babi pada sampel. Sampel yang digunakan berjumlah 9 sosis. Tujuh sampel diambil dari pasar di Yogyakarta dan 2 sampel diambil dari pasar di Thailand. Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa sampel terdeteksi positif mengandung DNA mamalia dengan primer universal mamalia yaitu P195 dan CB sebesar 100% dan 0%. Primer CB mengamplifikasi DNA mamalia pada semua sampel dengan ukuran tidak spesifik. Presentase cemaran DNA babi dengan primer spesifik babi P14, PPA6, PPA8 dan *pork* masing-masing sebesar 88,89%, 22,22%, 22,22%, dan 22,22%.

Primer PPA6, PPA8, dan *pork* mengamplifikasi DNA babi dengan ukuran tidak spesifik sedangkan primer P14 mengamplifikasi DNA babi dengan ukuran spesifik pada semua sampel, sehingga primer P14 lebih baik dalam mendeteksi cemaran DNA babi pada sampel. Primer P14 diuji sensitifitasnya dalam mendeteksi DNA babi. Satu sampel positif babi dibuat variasi konsentrasi dari 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, dan 100%. Hasilnya primer P14 dapat mendeteksi cemaran DNA babi pada sampel hingga 1%. Dua sampel yang positif tercemar DNA babi menggunakan primer P14 diambil untuk disekuensing. Hasil sekuensing menunjukkan bahwa pita yang terbentuk dari produk PCR dengan primer P14 adalah spesies *Sus scrofa*.