

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b>	i
<b>PENGESAHAN SKRIPSI</b>	ii
<b>PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI</b>	iii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b>	iv
<b>KATA PENGANTAR</b>	v
<b>DAFTAR ISI</b>	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	x
<b>DAFTAR TABEL</b>	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	xii
<b>DAFTAR SINGKATAN KATA</b>	xiii
<b>INTISARI</b>	xv
<b>ABSTRACT</b>	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Urgensi Penelitian	4
D. Tujuan Penelitian	5
1. Tujuan Umum	5
2. Tujuan Khusus	5
<b>BAB II DASAR TEORI</b>	6
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Bakso daging	6
2. Anjing dan keharamannya	8
3. Sistem jaminan mutu halal	10
4. Pemalsuan Daging ( <i>Meat adulteration</i> )	12
5. <i>Real-Time</i> PCR	14
6. Kuantifikasi dengan metode <i>Real-Time</i> PCR	17
7. Desain primer	20
8. DNA mitokondria	25
9. Fragmen <i>D-loop</i>	26
10. Validasi metode	27
B. Landasan Teori	31
C. Hipotesis Penelitian	33
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	34
A. Rancangan Penelitian	34
1. Jadwal penelitian	34
2. Tempat penelitian	34
3. Desain penelitian	34
B. Definisi Operasional Variabel Penelitian	36
1. Variabel bebas	36
2. Variabel tergantung	37

3. Variabel terkontrol .....	37
C. Bahan .....	38
1. Sampel dan teknik <i>sampling</i> .....	38
2. Pelarut, pereaksi, dan bahan lainnya .....	38
D. Alat .....	39
E. Jalannya Penelitian .....	39
1. Perancangan primer .....	39
2. Isolasi DNA daging segar .....	42
3. Isolasi DNA bakso sapi .....	44
4. Pengukuran konsentrasi dan indeks kemurnian DNA .....	46
5. Analisis kuantitatif DNA hasil isolasi menggunakan RT-PCR.....	46
6. Optimasi suhu penempelan primer .....	47
7. Uji spesifisitas primer .....	47
8. Uji sensitivitas .....	47
9. Uji keterulangan ( <i>repeatability</i> ) .....	47
10. Analisis sampel bakso sapi pasaran .....	47
F. Analisis Data .....	49
1. Optimasi suhu penempelan primer .....	49
2. Spesifisitas primer .....	49
3. Sensitivitas .....	50
4. Efisiensi amplifikasi .....	51
5. Keterulangan ( <i>repeatability</i> ) .....	51
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>52</b>
A. Perancangan dan Pemilihan Primer Spesifik terhadap DNA Anjing .....	52
B. Isolasi DNA Daging Segar .....	58
C. Optimasi Suhu Penempelan Primer .....	66
D. Uji Spesifisitas <i>D-Loop</i> 1 Set 5 .....	71
E. Uji Sensitivitas, Linearitas, dan Efisiensi Amplifikasi .....	73
F. Uji Keterulangan .....	76
G. Uji Cemarkan Daging Anjing pada Bakso Sapi Pasaran .....	77
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>83</b>
A. Kesimpulan .....	83
B. Saran .....	84
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>85</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>95</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Anjing ( <i>Canis lupus familiaris</i> ) .....	9
Gambar 2. Mekanisme <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	15
Gambar 3. Grafik Hubungan antara Jumlah Siklus PCR dengan Intensitas Fluoresen dalam Analisis <i>Quantitative PCR</i> .....	17
Gambar 4. Desain penelitian .....	35
Gambar 5. Hasil optimasi suhu penempelan primer <i>D-loop</i> 1 set 5 terhadap isolat DNA anjing dan 8 spesies pembanding .....	70
Gambar 6. Hasil uji spesifisitas primer <i>D-loop</i> 1 set 5 terhadap DNA anjing dan 8 spesies pembanding .....	72
Gambar 7. Hasil kurva amplifikasi pada uji sensitivitas 8 seri pengenceran DNA anjing .....	74
Gambar 8. Kurva baku hasil uji linearitas dan efisiensi amplifikasi .....	75
Gambar 9. Kurva amplifikasi hasil uji keterulangan .....	77
Gambar 10. Uji konfirmasi sampel bakso pasaran terhadap DNA sapi menggunakan primer sapi .....	79
Gambar 11. Hasil analisis sampel bakso sapi pasaran terhadap primer anjing ....	81

## DAFTAR TABEL

Tabel I. Jadwal Penelitian .....	34
Tabel II. Definisi operasional variable penelitian setiap langkah penelitian .....	36
Tabel III. Campuran Reaksi <i>Real-Time</i> PCR .....	46
Tabel IV. Program Suhu Reaksi <i>Real-Time</i> PCR .....	47
Tabel V. Profil kandidat primer <i>D-loop</i> 1 .....	53
Tabel VI. Analisis struktur sekunder primer <i>D-loop</i> 1 set 5 .....	56
Tabel VII. Profil primer <i>D-loop</i> 1 set 5 .....	58
Tabel VIII. Hasil pengukuran isolat daging segar.....	65
Tabel IX. Profil temperatur pelelehan dan penempelan primer <i>D-loop</i> 1 set 5 ...	68
Tabel X. Profil kemurnian dan konsentrasi DNA sampel bakso pasaran .....	78

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuen gen <i>D-loop</i> 1 DNA mitokondria anjing .....	97
Lampiran 2. Profil primer <i>D-loop</i> 1 set 5 pada situs IDT DNA .....	97
Lampiran 3. Uji spesifisitas primer <i>D-loop</i> 1 set 5 menggunakan BLASTn .....	98
Lampiran 4. Hasil analisis struktur sekunder <i>hairpin</i> primer <i>forward D-loop</i> 1 set 5 menggunakan <i>Oligo Analyzer Tool</i> .....	100
Lampiran 5. Hasil analisis struktur sekunder <i>self-dimer</i> primer <i>forward D-loop</i> 1 set 5 menggunakan <i>Oligo Analyzer Tool</i> .....	101
Lampiran 6. Hasil analisis struktur sekunder <i>hairpin</i> primer <i>reverse D-loop</i> 1 set 5 menggunakan <i>Oligo Analyzer Tool</i> .....	103
Lampiran 7. Hasil analisis struktur sekunder <i>self-dimer</i> primer <i>reverse D-loop</i> 1 set 5 menggunakan <i>Oligo Analyzer Tool</i> .....	103
Lampiran 8. Hasil analisis struktur sekunder <i>heterodimer</i> primer <i>D-loop</i> 1 set 5 menggunakan <i>Oligo Analyzer Tool</i> .....	105
Lampiran 9. Spesifikasi primer <i>D-loop</i> 1 set 5 berdasarkan dokumen manufaktur primer dari IDT DNA .....	108
Lampiran 10. Hasil perhitungan $T_m$ dan $T_a$ primer <i>D-loop</i> 1 set 5 menggunakan <i>Thermo Fisher Scientific</i> .....	109
Lampiran 11. Program suhu RT-PCR dalam optimasi suhu penempelan primer <i>D-loop</i> 1 set 5.....	109
Lampiran 12. Data hasil optimasi suhu penempelan primer <i>D-loop</i> 1 set 5.....	110
Lampiran 13. Data uji spesifisitas .....	111
Lampiran 14. Data hasil uji sensitivitas .....	113
Lampiran 15. Data hasil uji efisiensi amplifikasi .....	114
Lampiran 16. Data hasil uji keterulangan .....	113
Lampiran 17. Data hasil analisis sampel bakso sapi pasaran menggunakan primer anjing <i>D-loop</i> 1 set 5.....	114
Lampiran 18. Data hasil analisis sampel bakso sapi pasaran menggunakan primer sapi .....	116

## DAFTAR SINGKATAN KATA

$\mu\text{g}$	: mikrogram
$\mu\text{L}$	: mikroliter
$\mu\text{M}$	: mikromolar
BLAST	: <i>basic local alignment search tool</i>
Cq	: <i>quantification cycle</i>
Ct	: <i>threshold cycle</i>
CV	: <i>coefficient of variation</i>
D-loop	: <i>displacement loop</i>
dsDNA	: <i>double-stranded DNA</i>
GC	: <i>guanine cytosine</i>
IDT	: <i>Integrated DNA Technology</i>
kb	: kilo basa
LoD	: <i>limit of detection</i>
mg	: miligram
mL	: mililiter
mtDNA	: <i>mitochondrial DNA</i>
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i>
ng	: nanogram
nm	: nanometer
pg	: pikogram

RFU	: <i>relative fluorescence unit</i>
RT-PCR	: <i>real time polymerase chain reaction DNA</i>
SMEs	: <i>small and micro enterprises</i>
ssDNA	: <i>single-stranded DNA</i>
Ta	: <i>annealing temperature</i>
Tm	: <i>melting temperature</i>
UMK	: unit mikro dan kecil
UV-Vis	: <i>ultra violet-visible</i>