

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Urgensi Penelitian	4
D. Tujuan Penelitian	5
E. Tinjauan Pustaka	6
1. Bakso	6
2. Autentikasi Halal	8
3. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	11
4. <i>Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i>	18
5. Perancangan Primer	26
6. DNA Mitokondria (mt-DNA)	30
a. <i>Cytochrome-B (Cyt-B)</i>	33
F. Landasan Teori	34
G. Hipotesis	36
BAB II METODOLOGI PENELITIAN	38
A. Rancangan Penelitian	38
B. Defenisi Operasional Variabel Penelitian	38
1. Variabel Bebas	38
2. Variabel Tergantung	39
3. Variabel Kendali	39
C. Alat dan Bahan Penelitian	39
1. Alat Penelitian	39
2. Bahan Penelitian	40
D. Cara Penelitian	41
1. Pengumpulan Sampel	41

2. Perancangan Primer	41
3. Pembuatan Reagen	42
4. Penyiapan Sampel dan Isolasi DNA Daging Segar	45
5. Pembuatan Bakso dan Isolasi DNA Bakso	46
6. Analisis Kualitatif Isolat DNA dengan Elektroforesis Gel Agarosa	48
7. Pengukuran Kemurnian dan Konsentrasi DNA	49
8. Analisis DNA Daging Anjing Menggunakan <i>Real Time</i> PCR dengan Primer Spesifik	49
9. Optimasi Temperatur Penempelan Primer	50
10. Uji Spesifisitas Primer	51
11. Uji Sensitivitas Metode RT-PCR	52
12. Uji Keterulangan	53
13. Analisis Sampel Bakso di Pasaran	53
E. Analisis Data	53
1. Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA	53
2. Optimasi Temperatur Penempelan Primer	54
3. Uji Spesifisitas Primer	54
4. Uji Sensitivitas	55
5. Uji Keterulangan (<i>Repeatability</i>)	55
F. Skema Penelitian	56
BAB III HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	57
A. Perancangan Primer Spesifik Tertarget DNA Mitokondria Anjing	57
B. Isolasi DNA Anjing dari Daging Segar dan Bakso Pemanding	62
C. Optimasi Temperatur Penempelan Primer Cytb-55 Terhadap DNA Anjing	74
D. Uji Spesifisitas Primer Cytb-55	79
E. Uji Sensitivitas Metode RT-PCR	83
F. Uji Keterulangan (<i>Repeatability</i>)	88
G. Analisis Sampel Bakso Sapi dari Pasaran	92
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	99
A. Kesimpulan	99
B. Saran	100
DAFTAR PUSTAKA	101
LAMPIRAN	110

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Skema Tahap <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	16
Gambar 2.	Struktur Kimia <i>Evagreen</i> Konformasi Terbuka	20
Gambar 3.	Mekanisme <i>Release-on-Demand</i> Pengikatan <i>Evagreen</i> pada double stranded DNA (dsDNA)	21
Gambar 4.	Grafik Kurva Leleh Produk RT-PCR	24
Gambar 5.	Kurva Amplifikasi Menggunakan Metode RT-PCR	25
Gambar 6.	Peta Genom Mitokondria Manusia	30
Gambar 7.	Skema Penelitian	56
Gambar 8.	Analisis BLASTn Primer Cytb-55 Terhadap DNA Mitokondria Anjing	60
Gambar 9.	Hasil BLASTn Primer Cytb-55 Terhadap DNA dari Berbagai Spesies	60
Gambar 10.	Analisis BLASTn Primer Cytb-55 Terhadap DNA <i>Bos taurus</i>	61
Gambar 11.	Analisis BLASTn Primer Cytb-55 Terhadap DNA <i>Capra hircus</i>	61
Gambar 12.	Analisis BLASTn Primer Cytb-55 Terhadap DNA <i>Capra hircus</i>	62
Gambar 13.	Analisis BLASTn Primer Cytb-55 Terhadap DNA <i>Capra hircus</i>	62
Gambar 14.	Elektroforesis Isolat DNA Berbagai Spesies	71
Gambar 15.	Elektroforesis Isolat DNA Bakso Pembanding (Campuran Anjing-Sapi)	71
Gambar 16.	Optimasi Temperatur Penempelan Primer Cytb-55 Terhadap Isolat DNA Anjing	78
Gambar 17.	Spesifisitas Primer Cytb-55 Terhadap Isolat DNA Berbagai Spesies	81
Gambar 18.	Spesifisitas Primer Cytb-55 Terhadap Isolat DNA	82

	Bakso Anjing dan Bakso Sapi	
Gambar 19.	Sensitivitas Primer Cytb-55 Terhadap Seri Pengenceran Isolat DNA Anjing	85
Gambar 20.	Batas Deteksi Primer Cytb-55 Terhadap Seri Pengenceran Isolat DNA Anjing	86
Gambar 21.	Sensitivitas Primer Cytb-55 Terhadap Seri Pengenceran Isolat DNA Bakso Pemandang	88
Gambar 22.	Elektroforesis Isolat DNA Bakso Komersial 1-15	93
Gambar 23.	Hasil Pengujian Bakso Komersial Menggunakan Primer Cytb-55	96
Gambar 24.	Hasil Pengujian Bakso Komersial Menggunakan Primer rRNA-12S	97

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Ukuran dan Kandungan Basa Nukleotida DNA Mitokondria Beberapa Spesies	33
Tabel II.	Formula Bakso Pembanding dengan Persentase Daging Anjing dan Daging Sapi dalam Bobot Total 20 gram	47
Tabel III.	Campuran Reaksi RT-PCR Menggunakan <i>Evagreen</i> dengan Volume Total 20 μ L	50
Tabel IV.	Program Temperatur Reaksi RT-PCR dalam Satu Siklus Amplifikasi	50
Tabel V.	Sekuen Primer Cytb-55	58
Tabel VI.	Hasil Uji Kuantitatif DNA Daging Anjing	72
Tabel VII.	Hasil Uji Kuantitatif DNA Bakso Pembanding	72
Tabel VIII.	Tingkatan Temperatur yang Digunakan pada Optimasi Primer	76
Tabel IX.	Data Respon Amplifikasi Terhadap Isolat DNA Anjing (50 ng/ μ l)	90
Tabel X.	Data Respon Amplifikasi Terhadap Isolat DNA Bakso Pembanding 100% Daging Anjing (50 ng/ μ l)	91
Tabel XI.	Hasil Uji Kuantitatif DNA Bakso Komersial	93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Perancangan Primer dengan Fitur <i>Pick Primers</i> pada NCBI	110
Lampiran 2.	Hasil BLAST Primer Cytb-55 Terhadap Spesies <i>Gallus gallus</i> , <i>Macaca Fascicularis</i> , dan <i>Sus scrofa</i>	111
Lampiran 3.	Hasil BLAST Primer Cytb-55 Terhadap Spesies <i>Gallus gallus</i> , <i>Macaca Fascicularis</i> , dan <i>Sus scrofa</i>	112
Lampiran 4.	Data Lengkap Optimasi Temperatur Penempelan Primer Cytb-55	113
Lampiran 5.	Data Lengkap Uji Spesifisitas Primer Cytb-55 Terhadap DNA Anjing	114
Lampiran 6.	Data Lengkap Uji Spesifisitas Primer Cytb-55 Terhadap Bakso Anjing dan Bakso Sapi	116
Lampiran 7.	Data Lengkap Uji Sensitivitas Terhadap DNA Anjing	117
Lampiran 8.	Data Lengkap Uji Batas Deteksi Terhadap DNA Anjing	118
Lampiran 9.	Data Lengkap Uji Sensitivitas Terhadap DNA Bakso Pemanding (Campuran Daging Anjing-Sapi)	119
Lampiran 10.	Data Lengkap Uji Keterulangan Terhadap DNA Anjing Konsentrasi 50 ng/ μ L	120
Lampiran 11.	Data Lengkap Uji Keterulangan Terhadap DNA Bakso Anjing 100% Konsentrasi 50 ng/ μ L	125
Lampiran 12.	Data Lengkap Pengujian Bakso Komersial dengan Metode RT-PCR Menggunakan Primer Cytb-55	129
Lampiran 13.	Data Lengkap Pengujian Bakso Komersial dengan Metode RT-PCR Menggunakan Primer rRNA-12S	131
Lampiran 14.	Surat Keterangan Selesai Penelitian di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM)	134