

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN KARYA TULIS ILMIAH	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
INTISARI	xvii
ABSTRACT	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Keaslian Penelitian	7
D. Urgensi Penelitian	10
E. Tujuan Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	12
A. Kerangka Teori	12
1. Halal	12
a. Pengertian Halal dalam Islam	12
b. Regulasi tentang Halal	13
2. Gelatin	15
3. Aptamer	17
4. Metode SELEX	19
5. Aptasensor	24
6. Probe	26
7. Probe Molecular Beacon (MB)	30

8. Pengujian dengan <i>Probe Molecular Beacon</i>	31
a. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	31
b. Spektroskopi Fluoresens (Spektrofluorometri)	33
c. Spektrofotometri UV-Vis	35
9. <i>Platform Nanopartikel</i>	38
a. Grafen Oksida (GO)	38
b. Nanopartikel Emas (AuNP)	43
B. Kerangka Konsep	45
C. Hipotesis	47
BAB III METODE PENELITIAN	48
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	48
1. Jenis Penelitian	48
2. Variabel Penelitian	49
3. Definisi Operasional Variabel	49
B. Bahan dan Alat Penelitian	50
1. Bahan	50
a. Seleksi Aptamer dengan GO-SELEX	50
b. Aptasensor berbasis Grafen Oksida dan Amplifikasi Sinyal oleh Polimerase	50
c. Pemurnian ssDNA dengan PCR Asimetris	51
d. Pengujian Probe MB dengan Spektrofluorometri, PCR dan Spektrofotometri UV-Vis	52
2. Peralatan	53
C. Jalannya Penelitian	53
1. Merancang Primer dan ssDNA <i>library pool</i>	53
2. Seleksi Aptamer <i>in vitro</i> dengan Metode GO-SELEX	54
3. Pemurnian Aptamer Hasil Seleksi dengan Metode PCR Asimetris	55
a. PCR asimetris	55
b. Pemurnian dengan Kit DNA <i>Clean and Concentrator 5</i>	56
c. PCR Asimetris	57

d. Pemurnian Gel ssDNA	57
4. Sequencing ssDNA Aptamer	58
5. Aptasensor Berbasis Grafen Oksida dengan Amplifikasi Sinyal oleh Polimerase KF	58
6. Metode Desain Probe Molecular Beacon	59
7. Prosedur Preparasi DNA Sampel	60
8. Deteksi DNA Target Menggunakan Probe Molecular Beacon	61
a. Pengukuran efisiensi peredaman GO terhadap probe MB.....	61
b. Pengukuran intensitas fluoresen dengan penambahan target	62
c. Pengaruh temperatur inkubasi	62
d. Pengaruh waktu inkubasi	62
e. Pengaruh pH	63
f. Pengaruh kekuatan ionik	63
g. Studi selektivitas terhadap DNA babi, sapi, kambing dan ayam	63
h. Korelasi linier dan batas deteksi	63
9. Pengujian Primer Probe Molecular Beacon dengan PCR	64
a. Optimasi Suhu Penempelan (T_A)	64
b. Uji Selektivitas Primer Probe MB	64
c. Uji Sensitivitas terhadap DNA Babi	65
d. Validasi Metode PCR dengan Uji Repeatabilitas	65
10. Pengujian Probe Molecular Beacon dengan Nanopartikel Emas (AuNP) secara Kolorimetri	65
a. Sintesis Nanopartikel Emas (AuNP)	65
b. Pengikatan AuNP dengan Probe MB	66
c. Pengujian Probe MB-AuNP dengan Spektrofotometri UV-Vis	66
D. Analisis Data	67
E. Skema Langkah Kerja	68

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	70
A. Seleksi Aptamer dengan Target Gelatin Babi	70
1. Desain Pustaka ssDNA	70
2. Seleksi Aptamer dengan GO-SELEX Putaran I	72
a. Hasil Elektroforesis Produk PCR Simetris Putaran I	73
b. Hasil Elektroforesis Produk PCR Asimetris Putaran I	76
c. Hasil Pemurnian Produk Seleksi dengan <i>Native</i> PAGE 10%	78
3. Seleksi Aptamer dengan Metode GO-SELEX Putaran II	80
a. Hasil Elektroforesis Produk PCR Simetris Putaran II	80
b. Hasil Elektroforesis Produk PCR Asimetris Putaran II	81
c. Hasil Pemurnian Produk Seleksi dengan <i>Native</i> PAGE 10%	83
4. Seleksi dengan Metode <i>Counter</i> GO-SELEX	85
a. Hasil Elektroforesis Produk <i>Counter</i> GO-SELEX	85
b. Hasil Elektroforesis PCR Asimetris <i>Counter</i> GO-SELEX	86
c. Hasil Pemurnian Produk Seleksi dengan <i>Native</i> PAGE 10%	88
5. <i>Sequencing</i> Produk Seksi Aptamer.....	89
a. Hasil Proses <i>Sequencing</i> dengan Kit <i>BigDye Terminator</i> v3.1	90
b. Optimasi Konformasi Aptamer secara <i>In Silico</i>	93
B. Pengembangan <i>Probe</i> Molecular Beacon untuk Deteksi DNA Babi	95
1. Desain <i>Probe</i> MB dengan <i>Software Beacon Designer 7.5</i>	96
2. Pengujian Primer Hasil Desain <i>Probe</i> MB dengan PCR	97
3. Deteksi DNA Target dengan <i>Platform</i> GO-MB Menggunakan Spektrofotometri	103
a. Pengukuran efisiensi peredaman oleh GO terhadap <i>probe</i> MB	104
b. Pengaruh Temperatur Inkubasi	105
c. Pengaruh Waktu Inkubasi	106

d.	Pengaruh pH	107
e.	Pengaruh Kekuatan Ionik	108
f.	Studi Selektivitas terhadap DNA Babi, Sapi, Kambing dan Ayam	109
g.	Korelasi Linier dan Batas Deteksi	111
C.	Pengujian <i>Probe Molecule Beacon</i> dengan <i>Platform Nanopartikel</i> Emas dan Perak Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	112
1.	Sintesis Nanopartikel Emas (AuNP)	113
2.	Pengujian <i>Probe</i> MB Terimobilisasi dengan Target DNA komplemen, non komplemen, <i>mismatch</i> , <i>deletion</i> dan <i>halfmatch</i> ...	116
	BAB V PEMBAHASAN UMUM	120
	BAB VI KESIMPULAN	127
A.	Kesimpulan	127
B.	Saran	128
	DAFTAR PUSTAKA	130
	LAMPIRAN	144
	Lampiran 1. Formula Larutan Bufer	144
	Lampiran 2. Data hasil <i>sequencing</i>	146
	Lampiran 3. Data hasil optimasi konformasi <i>in silico</i>	148
	Lampiran 4. Data desain <i>probe</i> MB dengan Beacon Designer 7.5	154
	Lampiran 5. Data hasil uji spektrofotometri	157
	Lampiran 6. Ringkasan Disertasi	160
	<i>Summary</i>	173
	Lampiran 7. Daftar Diseminasi dan Publikasi Hasil Penelitian Disertasi.....	185