



**DETEKSI DNA SPESIES PADA PRODUK MAKANAN OLAHAN  
DAGING AYAM MENGGUNAKAN GEN GH (GROWTH  
HORMONE) SEBAGAI PENANDA MOLEKULER**

*Detection of Species DNA in Chicken Meat Processed Food Products  
Using GH (Growth Hormone) Genes as Molecular Markers*

**Alfi Sophian<sup>1\*</sup>, Sri Utaminingsih<sup>1</sup>, Yenita<sup>1</sup>, Ratna Purwaningsih<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, Badan POM

<sup>2</sup>Direktorat Pengawasan Produksi Pangan Olahan, Badan POM

\*e-mail: [alfi.sophian@pom.go.id](mailto:alfi.sophian@pom.go.id)

DOI: 10.33830/fsj.v4i1.6358.2024

Diterima: 5 September 2023, Diperbaiki: 28 Mei 2024, Disetujui: 21 Juni 2024

**ABSTRACT**

*The species DNA detection test in processed chicken meat food products using genetic growth hormone (GH) gene markers is a novel approach for authenticity test regarding the presence of a particular species in a product. This research aimed to test the ability of the GH genetic marker to detect the presence of chicken species in processed chicken meat food products. The method used in this research is a molecular biology method using real-time PCR with the SYBR Green kit. The genetic marker primers used were designed independently from the NCBI website. Based on DNA isolation data, the DNA concentration value is 43.60 ng/μL – 45.20 ng/μL with an average of 44.11. The purity value of isolated DNA is 1.855 – 1.925 with an average of 1.906. Chicken species DNA was detected in all samples using real-time PCR analysis, with a Ct value of 24.50 and a Tm value of 78.10. However, the Ct and Tm values were not detected in the negative control (NTC) and specificity (internal) control samples. In the positive control LOD, the Ct value was detected at 27.20 with a Tm value of 79.40. In the positive control, a Ct value of 21.10 and a Tm value of 78.10 were detected. The results indicate that all samples contained the GH gene, and hence, chicken species DNA was detected in all samples. This suggests that the GH genetic marker can be potentially used for species DNA identification testing.*

**Keywords** : chicken, detection, DNA, testing.

## ABSTRAK

Uji deteksi DNA spesies pada produk pangan olahan daging ayam dengan penanda gen hormon pertumbuhan (GH) merupakan hal baru untuk uji autentikasi mengenai keberadaan spesies tertentu pada suatu produk. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan penanda genetik GH dalam mendeteksi keberadaan spesies ayam pada produk olahan daging ayam. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode biologi molekuler menggunakan real-time PCR dengan kit SYBR Green. Primer penanda genetik yang digunakan didesain secara mandiri dari situs NCBI. Berdasarkan data isolasi DNA, nilai konsentrasi DNA berada pada rentang 43,60 ng/ $\mu$ L – 45,20 ng/ $\mu$ L dengan nilai rata-rata 44,11. Nilai kemurnian DNA hasil isolasi berada pada rentang 1,855 – 1,925 dengan rata-rata 1,906. Untuk analisis PCR real-time, seluruh sampel terdeteksi mengandung DNA spesies ayam pada Ct 24,50 dengan nilai Tm 78,10. Sedangkan pada kontrol negatif, NTC dan kontrol spesifisitas tidak terdeteksi nilai Ct dan Tm. Untuk LOD kontrol positif nilai Ct terdeteksi sebesar 27,20 dan nilai Tm sebesar 79,40. Sedangkan pada kontrol positif terdeteksi nilai Ct sebesar 21,10 dan nilai Tm sebesar 78,10. Berdasarkan hasil penelitian ditemukan bahwa seluruh sampel terdeteksi gen GH. Dapat disimpulkan bahwa seluruh sampel yang digunakan mendeteksi DNA spesies ayam, sehingga potensi penanda genetik GH dapat digunakan dalam pengujian identifikasi DNA spesies.

**Kata Kunci** : ayam, deteksi, DNA, uji.

---

## PENDAHULUAN

Deteksi DNA spesies merupakan salah satu jenis pengujian yang umumnya digunakan sebagai acuan dalam uji autentikasi. Perkembangan dunia molekuler membuka banyak peluang pengujian yang menggunakan real-time PCR sebagai dasar pengembangan metode deteksi DNA spesies. Dalam melakukan pengujian untuk memastikan keberadaan suatu spesies pada suatu produk olahan daging hewan, diperlukan metode yang terukur dan dapat diandalkan. Salah satu poin penting dalam melakukan deteksi DNA spesies menggunakan real-time PCR adalah penggunaan penanda genetik yang sesuai.

Pemanfaatan penanda genetik *Growth Hormone* (GH) dalam penelitian DNA spesies telah dilakukan pada ayam lokal untuk melihat korelasinya dengan karkas ayam dan menganalisis persilangan genetik beberapa varian ras ayam (Sato *et al.*, 2011; Khaerunnisa, 2017). Penelitian DNA spesies dengan menggunakan penanda genetik spesies tipe liar menjadi acuan uji autentikasi pada tes DNA spesies pada produk pangan berbahan dasar daging hewan (Sophian, 2021a). Dalam melakukan uji autentikasi diperlukan banyak referensi dan mencari sumber penanda genetik yang tepat sehingga dapat menjamin mutu dan mutu hasil uji yang dihasilkan dapat diakui valid.

Penggunaan penanda genetik GH dalam uji autentikasi atau uji deteksi DNA spesies pada produk olahan daging ayam merupakan suatu hal yang baru. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan agar dapat menjadi informasi dan sumber referensi bagi penelitian serupa, sehingga pengembangan metode pengujian deteksi DNA spesies dapat dijadikan dasar untuk menghasilkan metode pengujian otentikasi yang valid.

## **METODE**

### **Persiapan Sampel**

Langkah awal diawali dengan menimbang sampel seberat 0,5 g kemudian dimasukkan ke dalam tabung *centrifuge* berukuran 2 mL, kemudian ditambahkan 700 µL Food Lysis Buffer [Qiagen] dan 25 µl proteinase K [Qiagen], kemudian diinkubasi dalam *waterbath shaker* pada suhu 70°C selama 60 menit. . Setelah inkubasi selesai, langkah selanjutnya adalah sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 1400 rpm. Supernatan yang diperoleh dari centrifuge kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro sentrifus baru berukuran 1,5 mL, ditambahkan 700 µL kloroform setelah itu dihomogenisasi dengan pusaran selama 30 detik dan disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm selama 10 menit. Pindahkan 350 µl supernatan ke dalam tabung centrifuge 1,5 mL yang baru. Supernatan siap diproses menggunakan alat ekstraksi DNA otomatis (Qiacube) (Sophian, 2021b; Sophian & Abinawanto, 2022).

### **Ekstraksi DNA Menggunakan Qiacube**

Tahap awal dimulai dengan melakukan input protokol Qiacube pada kit Dneasy Mericon Food Kit [Germany]. Semua sistem dilakukan secara otomatis dengan menggunakan sistem robotik sehingga keterlibatan manusia hanya pada tahap lisis awal. Protokol yang digunakan adalah Ekstraksi DNA total dari bahan pangan mentah atau olahan dengan metode standar pada kit. Sampel dipipet sebanyak 350 µl ke dalam tabung 1,5 mL kemudian dimasukkan ke dalam Qiacube. Setelah itu dilanjutkan dengan menyusun kit yang akan digunakan sesuai peta protokol. Setelah semua hasilnya sesuai, barulah alat dijalankan (Sophian, 2021c; Sophian & Abinawanto, 2022).

### **Analisis DNA Hasil Isolasi**

DNA hasil isolasi dianalisis kemurnian dan konsentrasinya menggunakan nanofotometer pada panjang gelombang A260/A280 (Sophian, 2021).

### **Primer**

Primer yang digunakan pada penelitian ini adalah gen GH yang dirancang dari situs NCBI dengan urutan primer Forward: 5'- CCC AGG CTG CGT TTT GTT AC - 3', dan urutan primer Reverse: 5'- CAC GTG GAG ACC CTC TGT TC -3' dengan panjang deret primer 131 bp.

### **Pengaturan Campuran Utama**

Siapkan master mix dengan memipet 10  $\mu$ L master mix ke dalam tabung PCR lalu tambahkan masing-masing 1  $\mu$ L primer forward dan reverse serta 1  $\mu$ L PCR grade H<sub>2</sub>O, lalu masukan 5  $\mu$ L DNA cetakan. Putar master mix dan DNA template yang sudah tercampur ke dalam tabung PCR selama 30 detik. Setelah itu sampel siap dilanjutkan tahapan PCR.

### **Pengaturan Real-Time PCR**

Analisis real-time PCR dilakukan dengan metode 2 step cycle yang dilanjutkan dengan analisis Melt Curve dengan pengaturan alat sebagai berikut: Denaturasi 95 °C selama 45 detik dan Annealing/Ekstensi 60 °C selama 45 detik sebanyak 40 siklus, setelah itu pilih detektor berwarna hijau untuk diaktifkan, kemudian dilanjutkan dengan pengaturan metode kurva leleh tahap pertama 72 °C selama 90 detik dan tahap kedua 95 °C selama 5 detik kemudian mengaktifkan detektor hijau (Sophian, 2021; Sophian & Abinawanto, 2022; Sophian *et al.*, 2021).

### **Uji Spesifisitas**

Uji spesifisitas dilakukan dengan menambahkan DNA cetakan spesies lain atau DNA non target yang digunakan sebagai kontrol untuk melihat apakah primer dapat mendeteksi spesies target secara spesifik atau tidak.

### **Kontrol positif**

Kontrol positif yang digunakan adalah DNA ayam yang diisolasi dari daging ayam. Control ini berfungsi sebagai pembading dalam menentukan nilai positif dari sampel yang diuji.

### **Kontrol LOD**

Batas deteksi digunakan sebagai kontrol positif DNA ayam yang diencerkan 100 kali atau 1:100.

### **Kontrol Negatif**

Kontrol negatif dibuat dengan menggunakan air bebas nukleotida yang digunakan sebagai templat selama pengujian. Kontrol negatif dibuat untuk melihat atau memantau rangkaian proses pengujian yang dilakukan dari adanya kontaminasi proses pengujian antar sampel.

### **Kontrol NTC**

Kontrol NTC (*No Template Control*) dilakukan dengan mencampurkan campuran induk tanpa cetakan DNA. Kontrol NTC dilakukan untuk melihat apakah terjadi kontaminasi pada master mix pada saat pengujian (Sophian *et al.*, 2021; Sophian, 2021a).

### **Analisis data**

Analisis data dilakukan dengan melakukan uji rata-rata nilai CT dan Tm kemudian membandingkannya dengan kontrol yang digunakan. Interpretasi positif akan disimpulkan jika sampel yang diuji diamplifikasi dan menghasilkan nilai Ct dan Tm, sedangkan untuk interpretasi negatif disimpulkan jika tidak terjadi amplifikasi yang ditandai dengan tidak terdeteksinya nilai Ct dan Tm (Sophian *et al.*, 2020; Sophian *et al.*, 2021; Sophian & Abinawanto, 2022).

## **HASIL PEMBAHASAN**

### **Hasil Isolasi DNA**

Hasil isolasi DNA diperoleh nilai konsentrasi DNA pada rentang 43,60 – 45,20 dengan nilai rata-rata konsentrasi 44,11. Nilai kemurnian DNA hasil isolasi berada pada rentang 1,855 – 1,925 dengan nilai kemurnian rata-rata 1,906. Data selengkapnya disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Isolasi DNA

Nomor	Konsentrasi (ng/ $\mu$ L)	Kemurnian (A260/A280)
1	44,50	1,925
2	45,20	1,914
3	44,10	1,855
4	44,20	1,912
5	43,30	1,875
6	44,10	1,923
7	43,60	1,922
8	43,90	1,925
Rata-Rata	44,11	1,906

Dalam proses isolasi DNA yang dilakukan, teknik yang umumnya adalah melakukan lisis terhadap sel dimana DNA akan keluar setelah dinding sel pecah. Untuk itu, pemeliharaan jenis lisis yang tepat akan mempengaruhi tahapan ini, dimana beberapa kit menggunakan bantuan proteinase K dalam memecah dinding sel, selanjutnya akan masuk dalam proses binding. Beberapa penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa alkohol memiliki peran penting dalam tahapan ini. Penelitian yang dilakukan oleh Wulan et al. (2022); Sophian et al. (2022), menunjukkan bahwa penggantian larutan binding kit komersial menggunakan ethanol dapat meningkatkan nilai konsentrasi DNA hasil isolasi. Hal ini juga berbanding lurus dengan penelitian yang dilakukan oleh Utaminingsih & Sophian (2022) yang melakukan isolasi DNA pada sampel kondroitin, dimana modifikasi yang serupa juga dilakukan dan menghasilkan nilai konsentrasi DNA hasil isolasi yang lebih baik jika dibandingkan dengan kit komersial. Kedua penelitian tersebut juga tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Utami et al. (2023), yang mengisolasi DNA pada produk surimi.

#### **Hasil Analisis Real-Time PCR**

Berdasarkan hasil analisis real-time PCR diperoleh data seperti disajikan pada Tabel 2.

Tabel. 2. Hasil Analisis Real-Time PCR

Perlakuan	Analisis	
	<i>Ct</i>	<i>Tm</i>
Sample	24,50	78,10
Kontrol Negatif	-	-
NTC	-	-
Kontrol Spesifitas	-	-
Kontrol LOD	27,20	79,40
Kontrol Positif	21,10	78,10

Dari data pada Tabel 2 terlihat bahwa sampel terdeteksi pada Ct 24,50 dengan nilai Tm sebesar 78,10. Sedangkan pada kontrol negatif, NTC dan kontrol spesifisitas tidak terdeteksi nilai Ct dan Tm. Hal ini dapat dijadikan sebagai cara untuk melihat rangkaian proses pengujian yang baik, dimana setiap pengendalian yang digunakan mempunyai maksud dan tujuan tertentu untuk dijalankan. Kontrol negatif digunakan untuk melihat kinerja tester pada saat melakukan pengujian, dimana jika kontrol negatif menunjukkan nilai Ct dan Tm yang terdeteksi maka dapat dianggap dalam melakukan pengujian terdapat kontaminasi pada proses pengolahan sampel. NTC digunakan untuk melihat performa dari master mix yang digunakan, dimana nilai yang tidak terdeteksi dapat menandakan bahwa master mix yang digunakan tidak terkontaminasi dengan DNA target dan sebaliknya.

Sedangkan untuk kendali spesifisitas digunakan untuk melihat keakuratan primer yang digunakan, dimana jika kendali spesifisitas ini menunjukkan nilai Ct dan Tm yang terdeteksi maka dapat diasumsikan bahwa primer yang digunakan tidak mempunyai spesifisitas yang baik sehingga proses pengujian gagal untuk menyimpulkan. Kit yang digunakan dalam penelitian ini adalah kit master mix dengan jenis SYBR Green, dimana kit ini memiliki keunggulan dalam segi nilai ekonomis pengujian jika dibandingkan dengan penggunaan kit dengan jenis Taq Man Probe.

Untuk LOD kontrol positif nilai Ct terdeteksi sebesar 27,20 dan nilai Tm sebesar 79,40. Sedangkan pada kontrol positif terdeteksi nilai Ct sebesar 21,10 dan nilai Tm sebesar 78,10. Perbedaan nilai ini dapat terjadi karena konsentrasi cetakan DNA yang digunakan juga berbeda sehingga nilai Ct juga akan dipengaruhi oleh konsentrasi cetakan DNA yang digunakan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Sophian et al. (2021), Sophian (2021) dan Sophian & Abinawanto (2022),

dimana dalam penelitiannya diketahui bahwa nilai Ct pada sampel dapat dipengaruhi oleh konsentrasi template yang digunakan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan bahwa seluruh sampel terdeteksi gen GH. Dapat disimpulkan bahwa seluruh sampel yang digunakan mendeteksi DNA spesies ayam sehingga potensi penanda genetik GH dapat digunakan dalam pengujian identifikasi DNA spesies.

## DAFTAR PUSTAKA

- Khaerunnisa, I., Jakaria, J., Arief, I. I., Budiman, C., & Sumantri, C. (2017). The Associations of GH and GHR Genes with Carcass Components in Indonesian Kampung and Broiler Chicken Cross. *Media Peternakan*, 40(2), 78–87. <https://doi.org/10.5398/medpet.2017.40.2.78>
- Qiagen. (2020). DNeasy® Mericon® Food Handbook for Extraction of Total Nucleic Acids from a Range of Food Sample Types. [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop). Technical Support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com). Website. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)
- Sato, S., Ohtake, T., Uemoto, Y., Okumura, Y., & Kobayashi, E. (2011). Polymorphism of insulin-like growth factor 1 gene is associated with breast muscle yields in chickens. *Animal Science Journal*, 83(1), 1–6. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2011.00917.x>
- Sophian, A. (2021a). Detection of Species DNA in Chicken Meatball Products Using NGF Genes as Molecular Markers. *BiosciED: Journal of Biological Science and Education*, 2(2), 47–51. doi:10.37304/bed.v2i2.3422
- Sophian, A. (2021b). Short Communication: Analysis of purity and concentration of extracted DNA on salted fish processed food products. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 19(1). doi:10.13057/biofar/f190104.
- Sophian, A. (2021c). Species DNA Detection Using PGR Gene Genetic Markers in Chicken Nuggets. *Indonesian Food Science & Technology Journal*, 5(1), 17–20. Retrieved from <https://online-journal.unja.ac.id/iftj/article/view/14618>
- Sophian, A., & Abinawanto. (2022). Study of Co1 and BIK BCL2 Gene Analysis in Gorontalo Local Chicken. *Journal of Hunan University Natural Sciences*, 49(1), 220–227. doi:10.55463/issn.1674-2974.49.1.28
- Sophian, A., Purwaningsih, R., Lukita, B. L., & Ningsih, E.C. (2020). Detection of Salmonella typhimurium ATCC 14028 in supplement health product liquid preparation using Real-Time PCR (qPCR). *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 18(2). doi:10.13057/biofar/f180202.
- Sophian A, Purwaningsih R, Muindar, Igrisa E,P,J, & Amirullah M,L. (2021). Short Communication: Analysis of purity and concentration of DNA extracted from intron patho gene-spin extraction on crab processed food product samples. *Asian J Trop Biotechnol* 18: 13-27.
- Sophian, A., Sri, U., & Sofia, U. D. (2022). DNA isolation in processed chicken meat products (nugget) using modified DNeasy Mericon Food kit (Qiagen). *HO*

*CHI MINH CITY OPEN UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE-ENGINEERING AND TECHNOLOGY*, 12(2), 15-21.

- Utami, S. D., Utaminingsih, S., & Sophian, A. (2023). Analisis DNA Hasil Isolasi Pada Produk Pangan Olahan Ikan (Surimi Ikan) Menggunakan Nano Photometer. *JRST (Jurnal Riset Sains dan Teknologi)*, 7(1), 9-13.
- Utaminingsih, S., & Sophian, A. (2022). Analysis of Purity and Concentration of DNA Isolation Results on Chondroitin Samples. *BiosciED: Journal of Biological Science and Education*, 3(2), 56-61.
- Wulan DT, Sutanta M, Sophian A. (2021). Short Communication: Comparison of two commercial DNA extraction kit to obtain high quality porcine DNA. *Asian J Trop Biotechnol* 18: 69-72.