

**DETEKSI KEHALALAN SECARA MOLEKULER DAN  
BIOSEKURITI PADA SATE DAGING DI KECAMATAN  
PADANG BARAT KOTA PADANG**

**TESIS**

**Oleh**

**SOVIA HARIANI**

**1821652003**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS ANDALAS**

**PADANG**

**2022**

**DETEKSI KEHALALAN SECARA MOLEKULER DAN  
BIOSEKURITI PADA SATE DAGING DI KECAMATAN  
PADANG BARAT KOTA PADANG**

Oleh

**SOVIA HARIANI  
1821652003**

**TESIS**

Diajukan Sebagai Syarat Memperoleh  
Gelar Magister Program Studi Bioteknologi Universitas Andalas

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2022**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Judul : Deteksi Kehalalan Secara Molekuler dan  
Biosekuriti pada sate daging di Kecamatan  
Padang Barat Kota Padang

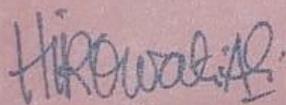
Nama Mahasiswa : Drh. Sovia Hariani

No. BP : 1821652003

Program Studi : Bioteknologi

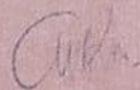
Menyetujui,

### 1. Komisi Pembimbing



dr. Hirowati Ali, MD, Ph.D

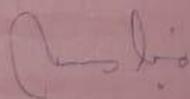
Ketua



Prof. Drh. Hj. Endang Purwati RN, MS, Ph.D

Anggota

### 2. Koordinator Program Studi,



Prof. Apt. Marlina, MS, Ph.D

NIP. 196203111989012001

### 3. Direktur Program Pascasarjana Universitas Andalas



Prof. Dr. rer. soz. Nutsyirwan Effendi

NIP. 196406241990011002

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Hai orang-orang beriman apabila dikatakan kepadamu: “Berlapang-lapanglah dalam majelis”, maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: “Berdirilah kamu”, maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan.”*  
(QS. Surat Al-Mujadalah ayat: 11).

*Alhamdulillah akhirnya tesis ini dapat diselesaikan, meski harus berpacu dalam waktu. Getar getir perasaan bercampur padu harap akan selesai jua. Dengan penuh syukur kupersembahkan untuk mama Marnis tersayang. Untuk suami ku tercinta Arief Budiman, ST selaku imam yang selalu setia mendampingi. Untuk buah hatiku tersayang Alifa Putri Budiman, Rafi Ahmad Husein Putra Budiman dan Fatir Fauzan Azzim Putra Budiman.*

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis lahir di Padang pada tanggal 13 Oktober 1978 adalah anak pertama dari dua tiga bersaudara, putri dari pasangan Bapak Agusman dan Ibu Marnis. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 11 Koto Tengah pada tahun 1991, menyelesaikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 15 Padang pada tahun 1994, selanjutnya menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 7 Padang pada tahun 1997. Penulis memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada tahun 2002 dan kemudian menyelesaikan Profesi Dokter Hewan di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada tahun 2003. Pada tahun 2018 memperoleh kesempatan melanjutkan pendidikan pada Program Studi Magister Bioteknologi Universitas Andalas di Padang.

Padang, Agustus 2022

**SOVIA HARIANI**

## HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

Dengan ini saya, nama: SOVIA HARIANI yang beralamat di Jl. Sariak I No. 13 RT 002 RW 004 Kelurahan Lubuk Buaya Kecamatan Koto Tangah Kota Padang Sumatera Barat, menyatakan bahwa dalam tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah dan disebutkan dalam daftar kepustakaan.

Padang, Agustus 2022

Penulis

SOVIA HARIANI

## **Deteksi Kehalalan Secara Molekuler dan Biosekuriti pada sate daging sapi di Kecamatan Padang Barat Kota Padang**

Oleh : SOVIA HARIANI (1821652003)

(Di bawah bimbingan : dr. Hirowati Ali, MD, Ph.D dan Prof. Drh. Hj. Endang Purwati RN, M.S, Ph.D)

### Abstrak

Kota Padang sebagai ibu kota provinsi Sumatera Barat dikenal sebagai daerah dengan nuansa Islam yang sangat kental. Pada Januari 2019, di Padang ditemukan sate sapi campur babi. Menurut Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009, Pasal 58 ayat 1 menyatakan “Untuk menjamin produk hewan yang aman, sehat, utuh, dan halal, pemerintah pusat dan pemerintah daerah sesuai dengan kewenangannya melakukan pengawasan, pemeriksaan, pengujian, standardisasi, sertifikasi dan registrasi produk asal hewan.” Pemantauan pasokan makanan halal dimulai dari hulu hingga hilir. Daging olahan dan masakan khas Sumatera Barat yang paling banyak ditemui adalah sate. Hampir semua penduduk lokal dan pengunjung Sumatera Barat, khususnya kota Padang, menyukai sate. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi kehalalan dan higienis sate daging sapi yang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang. Penelitian ini menggunakan purposive sampling dengan kriteria; sate dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang, terbuat dari daging, yang belum dan sudah dibakar, langsung habis sehari dan disimpan dengan freezer atau dengan tambahan zat pengawet. Berdasarkan hasil deteksi kehalalan pada 20 sampel diketahui semua sampel negatif kontaminasi babi. Sedangkan hasil biosekuriti menunjukkan bahwa 13 dari 20 sampel terkontaminasi bakteri *E.coli* dan ada 2 sampel yang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* serta tidak ada sampel yang terkontaminasi oleh bakteri *Salmonella, sp.* Pada pengujian zat formalin semua sampel negatif formalin dan bebas dari boraks. Peneliti menyarankan agar penjual sate daging sapi di Kecamatan Padang Kota Padang harus selalu menjaga dan meningkatkan higienis sanitasi dalam proses produksi dan penyajian sate.

Kata kunci: Biosekuriti, Formalin, Halal, Higienis, Sate

## **Molecular Detection of halal and Biosecurity on Sate of Meat in Kecamatan Padang Barat Kota Padang**

Oleh : SOVIA HARIANI (1821652003)

(Di bawah bimbingan : dr. Hirowati Ali, MD, Ph.D dan Prof. Drh. Hj. Endang Purwati RN,M.S, Ph.D)

### **Abstract**

The city of Padang the capital of the province of West Sumatra is known as an area with a very strong Islamic nuance. In January 2019, Padang found beef and pork satay. According to Law No. 18 of 2009, Article 58 paragraph 1 states "To guarantee safe, healthy, intact and halal animal products, the central government and local governments by their authority carry out supervision, inspection, testing, standardization, certification, and product registration animal origin." Monitoring the supply of halal food starts from beginning to end. The most common processed meat and cuisine of West Sumatra is satay. Almost all residents and visitors to West Sumatra, especially the city of Padang, like satay. This study aims to detect the halal and hygienic satay sold in West Padang District, Padang City. This study uses purposive sampling with the criteria; The satay that is sold in Padang Barat District, Padang City, is made from meat, which has not been and has been roasted, immediately runs out a day and is stored in the freezer or with added preservatives. Based on the results of halal detection in 20 samples, it was known that all samples were negative for pork contamination. Meanwhile, the results of biosecurity showed that 13 out of 20 samples were contaminated with *E. coli* bacteria and there were 2 samples contaminated with *Staphylococcus aureus* bacteria, and no samples contaminated with *Salmonella, sp.* In the formalin test, all samples were formalin negative and free of borax. The researcher suggests that meat satay sellers in Padang District, Padang City must always maintain and improve sanitation hygiene in the process of producing and serving satay.

Keyword: Biosecurity, Formalin, Halal, Hygenic, Satay

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya kepada penulis sehingga penulisan tesis yang berjudul **“Deteksi Kehalalan Secara Molekuler dan Biosekuriti pada sate daging sapiSapi di Kecamatan Padang Barat Kota Padang”** dapat diselesaikan. Tesis ini ditulis dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Bioteknologi Program Pasca Sarjana Universitas Andalas Padang.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih banyak kepada Ibu dr. Hirowati Ali, M.D, Ph.D. sebagai pembimbing I, dan Ibu Prof. drh. Hj. Endang Purwati Rahayu Ningsih, MS., Ph.D sebagai Pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, masukan dan saran selama proses pembuatan sampai selesainya proposal penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Direktur Program Pascasarjana, Ketua Program Studi Bioteknologi Pascasarjana, seluruh Dosen Program Studi Bioteknologi Pascasarjana Universitas Andalas. Teknisi Laboratorium Balai Veteriner Regional II Bukittinggi.

Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada suami tercinta Arief Budiman, ST, anak-anak tersayang (Alifa Putri Budiman, Rafii Ahmad Husein Putra Budiman dan Fatir Fauzan Azzim Putra Budiman), beserta mama Marnis atas doa dan dukungan kepada penulis sehingga tesis ini bisa terselesaikan dengan baik. Tidak lupa disampaikan juga ucapan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah memberikan dukungan kepada penulis dalam penyelesaian penelitian ini. Penulis menyadari bahwa dalam pembuatan tesis ini masih banyak kekurangan. Oleh Karena itu penulis mengharapkan saran dan kritikan yang sifatnya membangun.

Padang, Agustus 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN PERSETUJUAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Masalah Penelitian .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Hipotesis .....	3
E. Manfaat Penelitian .....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Pangan Halal .....	5
B. Deteksi Halal Secara Molekuler .....	7
1. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) dan Pemanfaatannya .....	8
C. Biosekuriti Pangan .....	12
1. <i>Escherichia coli</i> .....	13
2. <i>Staphylococcus sp.</i> dan Bahayanya .....	15
3. <i>Salmonella, sp</i> pada Produk Makanan .....	17
4. Formalin .....	20
5. Boraks .....	20
BAB III. METODE PENELITIAN .....	21
A. Waktu dan Tempat .....	21
B. Alat dan Bahan .....	21
C. Metode Penelitian .....	22
D. Prosedur Penelitian .....	22
1. Deteksi Halal .....	22
2. Deteksi Biosekuriti .....	25
3. Deteksi Zat Pengawet .....	28

E. Prosedur Penelitian .....	29
A. Pengambilan Sampel .....	30
B. Deteksi Halal dengan Metode PCR .....	31
C. Deteksi Biosekuriti .....	36
D. Deteksi Zat Pengawet .....	43
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	47
A. Kesimpulan .....	47
B. Saran .....	47
DAFTAR PUSTAKA .....	48
LAMPIRAN .....	53



## DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Sate Padang.....	7
Gambar 2.	Alat Thermal-cycler PCR.....	10
Gambar 3	Prinsip-prinsip perbanyakan fragmen DNA.....	11
Gambar 4	Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	14
Gambar 5	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
Gambar 6	Bakteri <i>Salmonella, sp</i> .....	19
Gambar 7	Skema Prosedur Penelitian.....	29
Gambar 8	Peta Kecamatan Padang Barat.....	30
Gambar 9	Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel Sate Daging.....	33
Gambar 10	Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel Sate Daging.....	33
Gambar 11	Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel Sate Daging.....	34
Gambar 12	Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel Sate Daging.....	34
Gambar 13	Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel Sate Daging.....	35
Gambar 14	Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel Sate Daging.....	35
Gambar 15	Uji Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	36
Gambar 16	Uji Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	38
Gambar 17	Uji Bakteri <i>Salmonella, sp</i> pada media HE dan BSA.....	40
Gambar 18	Hasil Uji Formalin.....	42
Gambar 19	Hasil Uji Boraks.....	44

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komponen PCR.....	23
Tabel 2. Reaksi biokimia <i>Salmonella spp</i> pada TSIA dan LIA .....	28
Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Kehalalan Sampel sate daging sapidengan PCR.....	31
Tabel 4. Hasil Pengujian Bakteri <i>Escherichia coli</i> Pada Sate Daging .....	37
Tabel 5. Hasil Pengujian Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Pada Sate Daging.....	40
Tabel 6. Hasil Pengujian Bakteri <i>Salmonella,sp</i> Pada Sate Daging .....	42



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sampel Sate daging.....	53
Lampiran 2. Hasil Survei Cara Penyimpanan Produk.....	53



## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Pada bulan Januari tahun 2019 di Kota Padang telah ditemukan adanya sate daging sapi yang dioplos dengan daging babi. Kota Padang sebagai ibukota Provinsi Sumatera Barat dikenal sebagai daerah yang nuansa islamnya sangat kental. Tidak seorangpun yang menyangka bahwa akan ada sate daging sapi yang dioplos dengan daging babi. Kasus ini terkuak dengan adanya salah seorang pembeli yang melapor ke Dinas Kesehatan Kota Padang pada bulan Oktober 2018, bahwa dia curiga kalau sate yang di jual di seputaran Pasar Simpang Haru adalah sate yang bercampur dengan daging babi. Hal ini kemudian di respon oleh Dinas dengan mengambil sampel kemudian diperiksa ke laboratorium BPOM. Hasilnya baru keluar bulan Januari 2019. Cukup lama jarak waktunya. Setelah hasil keluar maka Dinas Kesehatan Kota Padang berkoordinasi dengan Dinas terkait, diantaranya Dinas Pertanian yang merupakan Dinas yang berwenang di bidang kesehatan masyarakat veteriner, dimana pengawasan pangan ASUH (aman, sehat, utuh dan halal) adalah salah satu fungsinya.

Penyediaan pangan halal pada saat ini sudah menjadi suatu gaya hidup manusia. Kata halal merupakan kata yang sering didengar di telinga kita, tidak hanya di Indonesia tetapi juga di luar negeri yang mayoritas beragama non-Muslim. Makanan halal saat ini telah menjadi kebutuhan yang umum, disebabkan karena penduduk dunia baik Muslim maupun non-Muslim telah menganggap makanan halal merupakan makanan yang sehat dan dibutuhkan. Dengan banyaknya produk impor yang beredar di Indonesia mengharuskan orang muslim lebih cermat dalam memilih produk makanan dan minuman tersebut.

Menurut Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009 pasal 58 ayat 1 menyebutkan bahwa “Dalam rangka menjamin produk hewan yang aman, sehat, utuh, dan halal, Pemerintah Pusat dan Pemerintah Daerah sesuai kewenangannya melaksanakan pengawasan, pemeriksaan, pengujian, standardisasi, sertifikasi, dan registrasi produk hewan.” Pengawasan terhadap penyediaan makanan halal dimulai dari hulu sampai ke hilir. Sumber makanan yang sering kita konsumsi salah satunya adalah daging sapi. Daging sapi dengan mudah dapat diperoleh di

pasar-pasar tradisional maupun modern. Proses penyembelihan harus dilakukan di Rumah Potong Hewan (RPH) yang wajib dimiliki oleh Kabupaten dan Kota. Dalam penyediaan daging ASUH (Aman, Sehat, Utuh dan Halal), RPH harus memiliki dua sertifikasi yaitu sertifikasi Nomor Kontrol Veteriner (NKV) yang dikeluarkan oleh Dinas yang menjalankan fungsi Kesehatan Masyarakat Veteriner yang ada di Provinsi dan sertifikasi halal dari MUI (Majelis Ulama Indonesia). Tata cara pemotongan hewan di RPH diatur dalam Undang-Undang nomor 18 Tahun 2009 pasal 61 dan 62, dan untuk petunjuk pelaksanaan teknisnya diatur dalam Peraturan Menteri Pertanian nomor 13 tahun 2010.

Kegunaan sertifikasi halal di RPH adalah untuk memberikan jaminan kehalalan dan higienitas sanitasi dari daging yang dikonsumsi masyarakat di Indonesia. Penyembelihan halal merupakan suatu rangkaian kegiatan yang dimulai dari cara menangani sapi, merebahkan sapi, arah merebahkan sapi sampai penyembelihannya. Juru sembelih harus memiliki sertifikasi halal dari MUI (Majelis Ulama Indonesia). Juru sembelih sering disebut Juleha atau Juru Sembelih Halal. Sertifikasi bagi juleha ini dilakukan agar petugas juru sembelih cakap dan mengerti mana yang termasuk aspek halal di dalam proses penyembelihan sapi.

Di Kota Padang, daging yang dihasilkan dari pemotongan di RPH Air Pacah yang sudah bersertifikasi halal dan NKV. Daging didistribusikan dan diolah untuk berbagai macam olahan pangan. Makanan olahan daging yang paling banyak ditemukan dan menjadi makan khas di Sumatera Barat adalah sate. Hampir semua masyarakat dan pengunjung yang ada di Sumatera Barat, khususnya Kota Padang menyukai sate. Banyak pedagang sate dengan mudah kita temui tersebar di seluruh wilayah Kota Padang. Namun dari sekian banyak gerai sate belum ada yang memiliki label halal. Banyaknya penjualan sate yang belum memiliki label halal, menimbulkan keresahan bagi masyarakat yang akan membeli sate. Keresahan ini semakin terlihat sejak ditemukannya penjualan sate daging sapisapi yang dicampur dengan daging babi. Hal ini diperlukan adanya deteksi kehalalan untuk menjamin kehalalan sate.

Selain adanya jaminan kehalalan, makanan juga harus terjamin kebersihannya dan keamanannya sehingga tercipta makanan halal yang layak.

Banyak makanan yang dijual tanpa memperhatikan kebersihan dan kesehatan. Kebersihan dan kesehatan pangan erat kaitannya dengan keamanan pangan. Banyak penanganan bahan pangan mulai dari tahap persiapan, pembersihan, pengolahan, penyimpanan hingga penyajian makanan tidak dilakukan dengan baik dan tepat maka akan berpotensi menimbulkan dampak negatif terhadap konsumen dan tidak memberikan manfaat terhadap kesehatan tubuh yang memakannya, malah akan menyebabkan timbulnya penyakit. Hingga saat ini peredaran pangan yang tidak aman masih menjadi permasalahan bagi Indonesia. Meskipun ketentuan mengenai keamanan pangan sudah diatur dalam Undang- Undang tentang Pangan dan tentang Kesehatan.

### **B. Masalah Penelitian**

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut :

1. Bagaimana mendeteksi kehalalan pada sate daging sapiyang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang?
2. Bagaimana mendeteksi higinis pada sate daging sapiyang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Mendeteksi kehalalan secara molekuler pada sate daging sapiyang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang
2. Mendeteksi higinis secara biologis dan konservatif pada sate daging sapiyang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang

### **D. Hipotesis**

Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Deteksi kehalalan secara molekuler pada sate daging sapiyang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang berhasil dilakukan
2. Deteksi higinis secara biologis dan konservatif pada sate daging sapiyang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang berhasil dilakukan.

### E. Manfaat Penelitian

Manfaat Penelitian yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah sebagai informasi adanya jaminan kehalalan dan kebersihan sate daging sapi yang diperjualbelikan di Kecamatan Padang Barat. Jumlah penjual yang berjualan sate daging sapi yang halal dan bersih. Identifikasi kehalalan secara molekuler dan higienis secara biologis dan konservatif pada sate daging sapi yang dijual di Kecamatan Padang Barat Kota Padang sehingga konsumen mendapatkan jaminan kehalalan dan kebersihan dari sate daging sapi yang dimakan.



## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Pangan Halal**

Halal jika dipandang dalam ajaran hukum Islam, merupakan persoalan sangat penting dan dipandang sebagai inti beragama. Halal dan haram adalah suatu yang harus dipahami dengan sepenuhnya. Setiap muslim sebelum melakukan, menggunakan, dan mengkonsumsi sesuatu sangat dituntut untuk memastikan terlebih dahulu kehalalan dan keharamannya. Jika sudah dipastikan kehalalannya, maka dibolehkan melakukan, menggunakan atau mengkonsumsinya. Sebaliknya jika diketahui jelas ketidak halalannya atau jelas keharamannya, maka umat muslim harus menjauhkan diri dari hal haram tersebut. Karena begitu pentingnya kedudukan halal dan haram dalam agama Islam, banyak ulama yang menyatakan, bahwa hukum fiqh Islam merupakan pengetahuan tentang halal dan haram. (Rahmadani, 2015).

Halal berarti membebaskan, melepaskan, memecahkan dan membolehkan. Dalam kajian dengan hukum sara', halal memiliki dua pengertian. Pertama menunjukkan bahwa kata halal menyangkut kebolehan menggunakan benda-benda atau apa saja untuk memenuhi kebutuhan fisik, termasuk didalamnya makanan, minuman, obat-obatan. Pengertian kedua berkaitan dengan kebolehan memanfaatkan, memakan, meminum dan mengerjakan sesuatu yang kesemuanya ditentukan berdasarkan nash (Sucipto, 2012).

Produk yang dihasilkan pada umumnya selalu ingin dikembangkan agar dapat menembus pasar global dan pasar di Indonesia. Untuk bisa terwujud, maka salah satu syaratnya adalah produk harus halal. Halal sudah menjadi salah satu syarat yang ada pada produk. Ini diatur dalam Undang-Undang Republik Indonesia No. 33 tahun 2014 tentang jaminan produk halal pada pasal 4 menyebutkan bahwa semua produk yang masuk, beredar dan diperdagangkan wajib memiliki sertifikat halal (Undang-Undang RI No.33 pasal 4 Tahun 2014).

Dalam Undang-Undang No. 7 tahun 1996, Pangan diartikan sebagai segala sesuatu yang berasal dari sumber daya hayati dan air, baik yang diolah maupun yang tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman yang dapat

dikonsumsi oleh manusia. Berbicara masalah pangan, maka didalamnya termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang digunakan dalam proses sebelum diolah, pada saat pengolahan, dan sampai pada pembuatan makanan dan minuman serta penyajiannya (Undang-Undang RI No. 7 Tahun 1996).

BPPOM telah menemukan adanya pemalsuan daging sapi dengan daging babi pada produk olahan daging seperti abon dan dendeng. Semua produk tersebut beredar di beberapa kota besar di Indonesia. Makanan yang beredar di pasaran yang targetnya adalah umat muslim, maka makanan yang untuk konsumsi umat muslim harus memenuhi syarat-syarat yang telah ditetapkan oleh agama islam yaitu halalan thoyiban (Waharjani, 2015).

Banyak makanan yang bahan dasarnya berasal dari daging, dan ini rawan untuk dipalsukan. Salah satunya yang paling banyak digemari adalah Sate Padang. Beragam jenis sate Padang, diantaranya yang terkenal adalah: sate dangung-dangung, sate kacang dangung-dangung, sate Padang Panjang, sate Batusangkar dan sate Pariaman. Masing-masing sate memiliki sejarah, tempat dan cita rasa yang berbeda. Sate Padang juga membawa pengaruh dalam budaya dan lingkungan, karena dengan adanya penjual Sate Padang berdampak pada naiknya perekonomian masyarakat Minang. Banyak pedagang Sate Padang juga menjual satenya di hari lebaran dengan jumlah yang banyak dan dengan keuntungan yang berlebih. Sate Padang juga menjadi salah satu alasan banyaknya orang yang pulang ke kampung halaman karena ingin mencicipi Sate Padang. Ada yang beranggapan jika tidak makan sate Padang berarti tidak pulang ke kampung halaman. Sate Padang juga menjadi salah satu pilihan menu sarapan pagi bagi masyarakat Minang, dan kebanyakan pengunjungnya adalah anak sekolah (Maulana *et al.*, 2016).

Pada dasarnya sate Padang (Gambar 1) memiliki bumbu-bumbu dan rempah-rempah yang spesifik dari masing-masing daerah yang ada di Sumatera Barat. Rasa khas sate Padang di masing-masing daerah dibedakan dari tambahan bumbu dan rempah serta racikannya. Sate Padang yang berasal dari Pariaman

kuahnya berbeda dengan Sate Padang yang berasal dari Padang Panjang. Baik rasa maupun warnanya (Maulana *et al.*, 2016).



Gambar 1. Sate Padang (dokumen pribadi)

## B. Deteksi Halal Secara Molekuler

Metode deteksi halal yang pernah dilakukan sebelumnya adalah menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR ini mempunyai kemampuan yang sensitif untuk deteksi keberadaan daging babi di dalam daging segar maupun produk olahan yang dicampur dengan bahan lain (Widayat *et al.*, 2019). Keberadaan komponen bahan makanan yang mengandung babi dalam bahan dan produk pangan yang diidentifikasi melalui lemak, protein maupun DNA (Kusumasstuti *et al.*, 2011).

Saat ini ada banyak metode analisis yang digunakan untuk mendeteksi otentikasi makanan halal antara lain metode analisis Pork Detection Kit (PDK), EnzymLinked Immunosorbent Assay (ELISA), Real-Time Polymerase Chain Reaction DNA (RT-PCR), duplex droplet digital PCR (dddPCR), Gas Chromatography (GC), Gas Chromatography-Mass Spectrophotometri (GC-MS), Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FTIR), High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Proton Nuclear Magnetic Resonance ( $^1\text{H}$  NMR) Spectroscopy (Andriyani *et al.*, 2019).

Tanabe *et al.* (2007) telah melakukan uji kontaminasi alergen makanan olahan di Jepang dengan menggunakan teknologi PCR untuk mengamplifikasi DNA babi menggunakan primer yang spesifik DNA babi.

Dalam penelitian lain, Alaraidh (2008) menggunakan teknologi PCR untuk mengamplifikasi DNA babi menggunakan primer yang spesifik DNA babi, pada uji kontaminasi daging impor di pasar Saudi Arabia.

Murugaiah *et al.* (2009) melakukan penelitian untuk identifikasi spesies babi. Penelitian ini Judul penelitiannya adalah menggunakan DNA mitokondria spesifik untuk identifikasi makanan olahan terkontaminasi daging babi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari hubungan antara kadar gula darah, serat otot dan kualitas daging babi.

Erwanto *et al.* pada tahun 2014 menganalisis makanan olahan daging berupa bakso yang ada di pasar tradisional di Indonesia. Penelitian ini menggunakan reaksi PCR. Menggunakan gen otokrom untuk memisahkan kontaminasi babi pada pangan olahan yang ada di pasaran Surabaya. Bakso yang dijual di pasar Surabaya dan Yogyakarta dilakukan pengujian untuk kontaminasi babi.

Teknologi Real Time PCR merupakan teknologi molekular terkini untuk mendeteksi adanya kontaminasi DNA babi/celeng pada daging dan makanan olahan daging. Pengujian menggunakan Real Time PCR ini dapat menganalisa secara kuantitatif dan hasilnya bisa langsung didapatkan pada waktu itu juga (Rachmawati, 2014).

### **1. *Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Pemanfaatannya***

*Polymerase Chain Reaction (PCR)* adalah suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro*. Tahun 1985, Kary B. Mullis pertama kali mengembangkan PCR. Pencapaian amplifikasi DNA pada PCR dapat terwujud jika menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Fungsi pengawalan sintesis rantai DNA adalah Primer DNA yang merupakan sekuens oligonukleotida pendek. Dalam PCR terjadi pelipatgandaan fragmen DNA. Primer yang digunakan pada PCR umumnya terdiri dari 20-30 nukleotida. Template atau cetakan DNA adalah fragmen DNA yang akan dilipatgandakan yang terdapat dalam spesimen klinik dan merupakan patogen. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) menempel pada ujung 3' primer pada saat proses pemanjangan dan ion magnesium menstimulasi aktivasi polimerase (Zuhriana, 2010).

Reaksi berantai polimerase atau PCR (*Polimerase Chain Reaction*) adalah suatu metode *in vitro* untuk mensintesis sekuens tertentu dari DNA dengan menggunakan dua primer oligonukleotida untuk menggabungkan pita yang berlawanan dan mengapit dua target DNA. Dalam proses PCR terdapat tiga tahapan. Dimana tahapan-tahapan tersebut adalah tahap denaturasi DNA templat, tahap penempelan atau annealing primer, dan tahap polimerisasi atau extension rantai DNA (Yudha. 2012).

Proses PCR memiliki 3 tahapan penting yang berulang dengan cepat dalam 30 - 40 siklus. Tahap pertama denaturasi, denaturasi awal dilakukan sebelum enzim taq polimerase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Pada denaturasi DNA terjadi proses pembukaan dari DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Untuk dapat memastikan bahwa molekul DNA terdenaturasi dengan baik dibutuhkan waktu kurang lebih 3 menit. Denaturasi yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami renaturasi yaitu dimana DNA kembali membentuk DNA untai ganda secara cepat, dan ini mengakibatkan gagalnya proses PCR. Waktu denaturasi yang terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim Taq polimerase. Waktu paruh dari aktivitas enzim tersebut adalah lebih dari 2 jam, 40 menit, 5 menit masing-masing pada suhu 92,5; 95 dan 97,5°C (Zuhriana, 2010).

Tahap kedua dari PCR adalah annealing atau penempelan primer. Umumnya kriteria yang digunakan untuk merancang primer yang baik adalah primer yang berukuran 18 – 25 basa, mengandung 50 – 60 % G+C dan untuk kedua primernya sebaiknya sama. Sekuens DNA dalam masing-masing primer itu sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena hal ini akan menyebabkan terbentuknya struktur sekunder pada primer tersebut dan mengurangi efisiensi PCR. Waktu annealing yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30 – 45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Temperatur penempelan yang digunakan berkisar antara 36°C sampai dengan 72°C, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50 – 60°C (Zuhriana, 2010).

Tahap ketiga adalah pemanjangan Primer atau extention. Selama tahap ini Taq polimerase memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72°C

diperkirakan 35 – 100 nukleotida/detik. Jumlah nukleotida bergantung pada buffer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Dengan demikian untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, waktu yang dibutuhkan untuk perpanjangan primer cukup 1 menit. Pada akhir siklus PCR waktu yang digunakan diperpanjang sampai 5 menit, dengan demikian diharapkan seluruh produk PCR membentuk DNA untai ganda (Zuhriana, 2010).

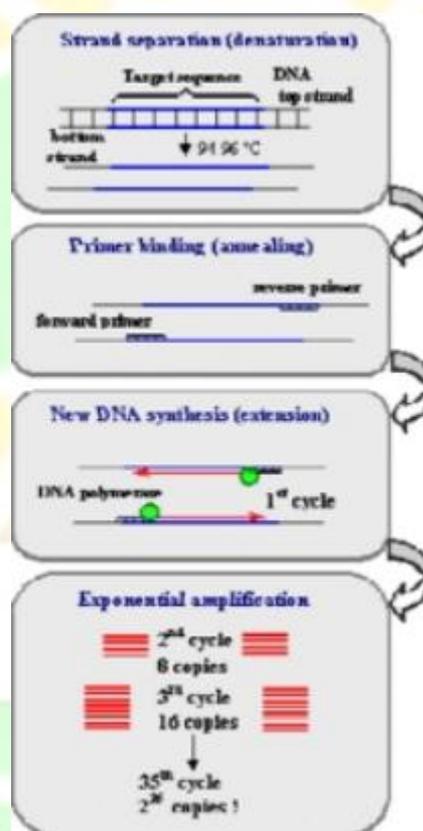
PCR menggunakan enzim Taq DNA polimerase. Dari setiap siklus, pada akhirnya akan terjadi penambahan satu nukleotida A di ujung 3'' dari potongan DNA yang dihasilkan. Sehingga nantinya produk PCR ini dapat di kloning dengan menggunakan vektor yang ditambahkan nukleotida T pada ujung 5''. Thermocycler (gambar 2) adalah alat yang digunakan dalam proses PCR (Zuhriana, 2010).



Gambar 2. Alat Thermal-cycler PCR (dokumen pribadi)

Proses PCR secara umum merupakan rangkaian yang didahului dan diakhiri oleh tahapan - taapan yang terisir dari: pradenaturasi selama 1-9 menit di awal reaksi untuk memastikan kesempurnaan denaturasi dan mengaktifasi DNA Polymerase. Proses setelah skilus PCR terakhir adalah Final Elongasi yang dilakukan pada suhu optimum enzim yaitu 70-72°C selama 5-15 menit sehingga setiap utas tunggal yang tersisa diperpanjang secara sempurna (Zuhriana, 2010).

Perbanyakan DNA (gambar 3) dengan PCR secara teknis memerlukan tujuh komponen yaitu: template/cetakan DNA, enzim DNA polymerase yang tahan panas, satu pasang primer, dNTP, kofaktor  $MgCl_2$ , larutan penyangga dan air. Sebelum dilakukan PCR semua komponen tersebut dimasukan dan dicampur di dalam tabung ukuran 200  $\mu L$  dalam kondisi dingin. Perbanyakan DNA dengan PCR menggunakan metode konvensional terdiri dari tiga langkah yang diulang untuk suatu siklus tertentu yaitu denaturasi cetakan/template DNA (Zuhriana, 2010).



Gambar 3. Prinsip-prinsip perbanyakan fragmen DNA. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>)

Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (postextension). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Handoyo *et al*, 2000).

PCR memiliki keunggulan yang sangat tinggi. Berdasarkan atas spesifitas, efisiensi dan keakuratannya. Spesifitas PCR merupakan suatu kemampuannya untuk mengamplifikasi sehingga menghasilkan produk melalui beberapa siklus. Keakuratan yang tinggi dikarenakan DNA polymerase mampu menghindari kesalahan pada amplifikasi produk. Biaya yang cukup tinggi merupakan salah satu masalah pada PCR. Kelebihan lain metode PCR adalah pelipatgandaan suatu fragmen DNA (110 bp,  $5 \times 10^{-9}$  mol) sebesar 200.00 kali setelah dilakukan 20 siklus reaksi selama 220 menit (Zuhriana, 2010).

### C. Biosekuriti Pangan

Penyediaan makanan mulai dari proses pengolahan sampai penyajian dan pengemasan harus memperhatikan sanitasi. Sanitasi makanan dapat diartikan sebagai salah satu kegiatan dan tindakan yang diperlukan dalam membebaskan makanan dan minuman dari segala bahaya yang dapat mengganggu atau merusak kesehatan. Rangkaian kegiatan yang harus memperhatikan sanitasi ini mulai dari sebelum makanan diproduksi, dalam proses pengolahan, penyimpanan, pengangkutan, sampai makanan dan minuman tersebut dikonsumsi oleh masyarakat atau konsumen. Sanitasi makanan ini bertujuan untuk menjamin keamanan dan kemurnian makanan, mengamankan konsumen terserang penyakit, menjamin penjualan makanan yang agar tidak merugikan pembeli dan mengurangi kerusakan dari makanan (Lumare *et al.*, 2016).

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 20 Tahun 2019 tentang Pengawasan Kemasan Pangan membedakan bahan yang dibolehkan untuk digunakan sebagai Kemasan Pangan menjadi dua, yaitu:

1. Zat kontak pangan didefinisikan sebagai suatu komponen bahan yang digunakan dalam pembuatan, pengepakan, pengemasan, dan penyimpanan pangan, yang tidak menimbulkan efek teknis terhadap pangan (Peraturan BPOM No. 20 Tahun 2019).
2. Bahan Kontak Pangan merupakan bahan kemasan pangan yang bersentuhan dengan pangan. Terdiri dari kemasan pangan aktif, kemasan pangan pintar, perekat, keramik, gabus, karet dan elastomer, kaca, resin penukar ion, logam dan paduan logam, kertas dan karton, plastik, selulosa teregenerasi, silikon,

kain, lilin, kayu, pengkilap, dan penyalut (Peraturan BPOM No. 20 Tahun 2019).

Proses produksi makanan dilakukan melalui serangkaian kegiatan yang meliputi persiapan, pengolahan, dan penyajian makanan. Keterlibatan manusia dalam proses pengolahan makanan sangat besar, sehingga penerapan sanitasi perlu mendapatkan perhatian khusus karena manusia berpotensi menjadi salah satu mata rantai dari penyebaran penyakit, terutama yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen melalui makanan (Purnawijayanti, 2021).

Secara historis, bakteri telah menjadi penyebab beberapa penyakit paling mematikan dan epidemi yang meluas dalam peradaban manusia. Penyakit seperti TBC, tifus, wabah, difteri, tipus, kolera, disentri, dan radang paru-paru telah memakan banyak korban manusia. Pada awal abad kedua puluh, pneumonia, tuberkulosis dan diare adalah tiga penyebab utama kematian (Todar, 2020).

Dari hasil penelitian dengan menggunakan pendekatan kajian sistematis dan kuantitatif menyebutkan bahwa telah terjadi kejadian luar biasa (KLB) keracunan pangan di Indonesia periode 2000-2015, dan kejadian ini meningkat setiap tahunnya. 60% dari kejadian keracunan pangan diduga disebabkan oleh bakteri. Bakteri pathogen penyebab tertinggi dalam kasus keracunan pangan diantaranya *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphyococcus sp.*, *Salmonella* (Arisanti *et al.*, 2018).

### **1. *Escherichia coli***

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri flora normal yang sering ditemukan pada usus manusia, dapat menyebabkan infeksi primer pada manusia seperti diare (Karsinah *et al.*, 2011).

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Songer dan Post (2005) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Class	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>

Famili : *Enterobacteriaceae*  
Genus : *Escherichia*  
Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 4. Bakteri *Escherichia coli* (Manning, 2010)

*Escherichia coli* adalah bakteri flora normal yang sering dijumpai pada usus manusia. Sifatnya yang unik menyebabkan bakteri ini sering ditemukan dalam usus manusia dan dapat menyebabkan infeksi primer seperti diare. *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang termasuk dalam family *Enterobacteriaceae*, yang ada di dalam tubuh manusia. Bergerak menggunakan flagel dan berbentuk batang pendek atau biasa disebut kokobasil. Bakteri ini (Gambar 4) mempunyai flagel dengan ukuran  $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$  dan sampai (Radji, 2011).

Bakteri *E. coli* memiliki ukuran dengan panjang kurang lebih  $2 \mu\text{m}$ , diameter  $0,7 \mu\text{m}$ , lebar  $0,4-0,7 \mu\text{m}$ . Sifat bakteri ini diketahui bersifat anaerob fakultatif, dimana bakteri ini masih tetap bisa hidup dalam kondisi sedikit oksigen. Dan untuk mengenali koloninya, dapat kita lihat ciri pada koloni yang berbentuk bundar, tampak cembung, halus dan memiliki tepi yang nyata (Hidayati *et al.*, 2016).

*E.coli* terdiri dari 150 tipe antigen O, 50 tipe antigen H, dan 90 tipe antigen K. Beberapa antigen O dapat dibawa oleh mikroorganisme lain, sehingga sama seperti yang dimiliki oleh Shigella. Penyakit yang spesifik terkait dengan antigen O, dapat ditemukan pada penyakit infeksi saluran kemih dan diare (Karsinah *et al.*, 2011).

Bakteri *E.coli* tergolong bakteri anaerob fakultatif yang dapat hidup pada keadaan aerob maupun anaerob. Sebagai sumber karbon digunakan oksigen dari luar dalam menghasilkan tenaga untuk tumbuh secara oksidatif, dan menggunakan cara fermentasi dalam menghasilkan energi untuk kelangsungan hidup (Manning, 2010).

Bakteri *E.coli* dapat berkembang dalam usus manusia dan kemudian menginfeksi manusia sehingga menimbulkan penyakit. Hal ini dapat terjadi jika seseorang mengonsumsi makanan yang tercemar oleh bakteri *E.coli* seperti minum susu, makanan yang diolah tidak matang secara sempurna, atau makanan dan minuman yang tercemar oleh kotoran hewan dan manusia, maka bakteri ini dapat berkembang dalam usus manusia (Jawetz, 2005).

Bakteri ini dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui tangan atau alat-alat seperti botol dot, termometer, dan peralatan makan yang tercemar oleh tinja. Penularan bakteri ini bisa terjadi apabila pekerja yang membuat makanan tangannya sudah terkontaminasi oleh bakteri ini, dan dapat menyebabkan penularan penyakit melalui makanan yang disebut dengan istilah Foodborne disease (Paramitha *et al.*, 2010).

Beberapa jenis *Escherichia coli* patogen menyebabkan penyakit melalui pengeluaran racun oleh bakteri yang disebut *Shiga-like toxin*. Bakteri yang memproduksi racun ini disebut *Shiga Toxin-producing Escherichia coli* (STEC) atau Verocytotoxic *Escherichia coli* (VTEC) atau *Enterohemo hemorragic Escherichia coli* (EHEC). Salah satu STEC yang paling sering teridentifikasi adalah *Escherichia coli* O157:H7 (CDC, 2011).

## **2. *Staphylococcus sp.* dan Bahayanya**

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya intoksikasi yang bersifat piogenik. Bakteri ini masuk ke

dalam kulit melalui folikel-folikel rambut, muara kelenjar keringat dan luka- luka kecil. Kemampuan patogenik strain *Staphylococcus aureus* tertentu merupakan efek gabungan dari faktor ekstraseluler, toksin-toksin, dan sifat invasif strain tersebut (Jawetz *et al.*, 2008).

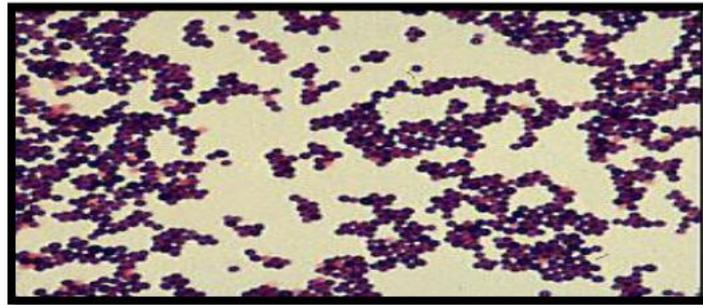
Berbagai macam jenis infeksi pada manusia disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, seperti infeksi kulit (jerawat, pioderma atau impetigo). Infeksi saluran pernafasan yang serius (pnemonia), mastitis dan meningitis, infeksi pada saluran urine, infeksi kronis seperti osteomielitis dan endokarditis. Bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi nosokomial akibat luka tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan di rumah sakit. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan (Radji., 2011).

Bakteri *Staphylococcus aureus* (Gambar 5) dapat hidup dan berkembang biak dalam tubuh manusia. Orang yang tampak sehat tanpa gejala dapat membawa *Staphylococcus aureus*. 25-30 % atau 1/3 bagian tubuh kita mengandung bakteri *Staphylococcus aureus* yang koloninya dapat ditemukan pada permukaan kulit, hidung, tanpa menyebabkan infeksi. Jika *Staphylococcus aureus* dimasukkan ke dalam tubuh melalui luka akan menyebabkan infeksi yang sedikit dan tidak membutuhkan perawatan khusus. Pada kondisi tertentu *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan masalah serius, seperti luka atau pneumonia (radang paru-paru). Penularan terjadi karena mengkonsumsi produk makanan yang diolah dengan tangan, yang tidak segera dimasak dengan baik ataupun karena proses pemanasan dan penyimpanan yang tidak sesuai. Jenis makanan yang sering terkontaminasi adalah seperti pastries, custard, saus salad, sandwich, daging cincang dan produk daging lainnya. Jika makanan dibiarkan pada suhu kamar dalam beberapa jam sebelum dikonsumsi, maka *Staphylococcus* akan memproduksi toksin dan berkembang biak dan tahan terhadap panas (Radji, 2011).

Menurut Warsa (1994) klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	:	<i>Plantae</i>
Phylum	:	<i>Thailophyta</i>
Class	:	<i>Schizomycetes</i>

Ordo : *Eubacteriales*  
 Famili : *Micrococcaceae*  
 Genus : *Staphylococcus*  
 Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 5. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Todar, 2020)

*Staphylococcus* mudah tumbuh pada pembedakan bakteri di dalam lingkungan aerobik atau mikroaerofilik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, dan membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-35°C). Koloni *Staphylococcus* pada media padat akan tampak berbentuk bulat, halus, menonjol, dan mengkilat. Koloni *Staphylococcus aureus* berwarna abu-abu sampai kuning emas (Jawetz, 2005).

### 3. *Salmonella, sp* pada Produk Makanan

Taksonomi dari *Salmonella typhi* (Gambar 6) adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*  
 Phylum : *Proteobacteria*  
 Class : *Enterobacteriales*  
 Ordo : *Gamma Proteobacteria*  
 Famili : *Enterobacteriaceae*  
 Genus : *Salmonella*  
 Spesies : *Salmonella enteric*  
 Subspesies : *enteric I*  
 Serotipe : *typhi* (Jawetz *et al.*, 2010)

Bakteri *Salmonella typhi* memiliki ciri-ciri yaitu berbentuk batang, tidak berspora, ukuran 103,5 µm x 0,5-0,8 µm, besar koloni rata-rata 2-4 mm dan

memiliki flagela peritrikh. Bakteri ini dapat memfermentasikan glukosa dan manosa tanpa membentuk gas. Namun tidak dapat memfermentasikan laktosa dan sukrosa. Sebagian besar isolat *Salmonella* yang berasal dari bahan klinik menghasilkan H<sub>2</sub>S (Jawetz *et al.*, 2006).

Hasil isolat *Salmonella typhi* pada media SSA (salmonella dan shigella agar) pada suhu 37°C akan menunjukkan koloni yang tampak cembung. Selain itu juga tampak koloni tanpa warna atau transparan dan dibagian pusat terdapat bercak hitam (Nugraha, 2012).

Bakteri *Salmonella typhi* dapat ditularkan dari makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri. Bakteri yang masuk dalam jumlah lebih kurang 10<sup>6</sup> – 10<sup>9</sup>, maka sebagian bakteri dihancurkan oleh asam lambung dan sisanya masuk ke saluran pencernaan dan berkembang biak di dalam saluran pencernaan tersebut. Jika respon imunitas humoral mukosa IgA usus kurang baik maka bakteri akan masuk ke dalam usus halus. Awalnya akan menembus sel-sel epitel, terutama sel M lalu ke lamina propia. Di lamina propia bakteri berkembang biak dan difagosit oleh sel fagosit yaitu makrofag (Nelwan, 2007).

Jika bakteri masuk ke dalam hati, bakteri ini masuk ke dalam kandungan empedu kemudian berkembang biak. Bakteri akan diekskresikan bersama dengan cairan empedu ke dalam lumen usus. Sebagian bakteri dikeluarkan bersama faeses, dan sebagian lagi masuk ke dalam sirkulasi menembus usus. Proses ini akan terus berulang. Akibat aktivasi makrofag maka saat fagositosis bakteri *Salmonella* akan terjadi pelepasan beberapa mediator inflamasi yang menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik seperti demam, malaise, myalgia, sakit perut, sakit kepala, instabilitas vascular, gangguan mental dan koagulasi (Nelwan, 2007).

Bakteri *Salmonella typhi* dapat berkembang biak di dalam makrofag, kemudian dibawa ke plaque Peyeri Ileum distal, selanjutnya menuju kelenjar getah bening mesenterika. Bakteri masuk melalui duktus torasikus ke dalam sistem peredaran darah sehingga menyebabkan bakterimia (asimtomatik) dan demam tifoid. Bakterimia asimtomatik terjadi dalam waktu kurang lebih 24-72 jam setelah bakteri tertelan dan biasanya tanpa gejala, karena bakteri langsung ditangkap oleh sel-sel sistem retikuloendotelial tubuh yang utama yaitu hati, limpa

dan sumsum tulang. Pada organ ini, bakteri akan meninggalkan makrofag dan kemudian berkembang biak diluar sel atau di ruang sinusoid. Selanjutnya bakteri menuju ke dalam sirkulasi darah yang akan menyebabkan bakterimia kedua kalinya dengan tanda dan gejala infeksi sistemik (Nelwan, 2007).

Pada umumnya organisme yang berasal dari genus *Salmonella* merupakan penyebab berbagai macam infeksi, seperti gastroenteritis ringan sampai berat (demam tifoid dan bakterimia). *Salmonella* adalah agen penyebab salmonellosis yaitu penyakit endemis dan menimbulkan kerugian yang besar di Indonesia (Jawetz *et al.*, 2010).

Penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella*, atau biasa disebut Salmonellosis, dibagi berdasarkan jenis tifoid dan non tifoid. Pada jenis non tifoidal, *Salmonella* akan menyebabkan infeksi pada intestinal yang disertai dengan diare, demam, dan kram abdomen yang berlangsung selama 1 minggu atau lebih. Jenis non tifoidal juga dapat menimbulkan terjadinya bakteremia, infeksi saluran kemih dan osteomielitis. Salmonellosis bisa menyerang seluruh usia, namun angka kejadian tertinggi masih diderita oleh bayi dan anak-anak (Jorgensen *et al.*, 2015).

Menurut SNI 7388:2009 batas Maksimum Cemar Mikroba (BMCM)/parameter Jumlah Total Kuman *Staphylococcus aureus* (Gambar 6) untuk Daging segar/Beku adalah  $1 \times 10^2$  koloni/gram.



Gambar 6. Bakteri *Salmonella*, sp (Rima *et al.*, 2017)

#### 4. Formalin

Penggunaan bahan tambahan pangan dalam proses produksi pangan perlu diwaspadai bersama, baik oleh produsen maupun konsumen. Dampak penggunaannya dapat berakibat positif maupun negatif bagi masyarakat. Di bidang pangan kita memerlukan sesuatu yang lebih baik untuk masa yang akan datang, yaitu pangan yang aman untuk di konsumsi, lebih bermutu, dan bergizi (Cahyadi,2012).

Daging termasuk makanan yang mengandung protein. Protein merupakan salah satu zat makanan yang penting bagi tubuh, mempunyai fungsi sebagai pertumbuhan sel, pengganti sel yang rusak dan sebagai bahan bakar dalam tubuh. Oleh sebab itu kekurangan protein dapat menyebabkan gangguan pada manusia. Daging mudah rusak, untuk penyimpanan yang lama dibutuhkan bahan pengawet. Bahan pengawet yang sering disalah gunakan yaitu formalin (Cahyadi, 2009).

Menurut Peraturan Badan Pengawas Obat Hewan dan Makanan Nomor 11 tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan, formalin tidak termasuk bahan tambahan yang dibolehkan.

#### 5. Boraks

Boraks atau biasa disebut asam borat, memiliki nama lain, sodium tetraborate biasa digunakan untuk antiseptik dan zat pembersih selain itu digunakan juga sebagai bahan baku pembuatan detergen, pengawet kayu, antiseptik kayu, pengontrol kecoak (hama), pembasmi semut dan lainnya (Adinugroho, 2013). Boraks dapat menyebabkan gangguan otak, hati, dan ginjal. Dalam jumlah banyak boraks menyebabkan demam, anuria, koma, kerusakan sistem saraf pusat, sianosis, kerusakan ginjal, anemia, muntah, diare, pingsan, bahkan kematian (Widyaningsih *et al.*, 2006).

### BAB III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2022 di Laboratorium Balai Veteriner Regional II Bukittinggi - Baso.

#### B. Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan untuk deteksi halal dalam penelitian ini adalah; tube mixer, mortar, gunting, pinset, sentrifus, refrigerator, freezer  $-20^{\circ}\text{C}$ , thermocycler, electrophoresis system, biosafety cabinet class II, PCR work station, microwave, gel documentation, micropipet dan tip berfilter 0.1-2.5ul; 2-20ul; 20-200ul dan 100-1000ul, microtube 1,5-ml, PCR tube 0,2 ml, Freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ , timbangan analitik, erlenmeyer 50 ml, 500ml, 1l, gelas piala 500ml, 1l, gelas ukur 100ml, thermomixer, gloves powder free, dan masker.

Alat yang digunakan untuk deteksi biosekuriti dalam penelitian ini adalah; neraca dan pH meter, pipet ukur, test tube, tabung durham, cawan petri, inkubator, ose bengkok, waterbath sirkulasi, laminar flow, erlemeyer dan stomacher.

Bahan yang digunakan dalam deteksi halal secara molekuler dalam penelitian ini adalah; Sate daging, Etanol 96%, Primer *Forward* Babi (5'-ATG AAA CAT TGG AGT AGT CCT ACT ATT TAC -3'), Primer *Reverse* Babi (5'-CTA CGA GGT CTG TTC CGA TAT AAG G -3'), PBS pH 7,2 – 7,4, Dneasy® Blood and Tissue Mini Kit (Qiagen No. Cat. 69506), taq DNA Polymerase (Vivantis, PL1202), dNTPs, agarose, sybersave reagen, aquades steril, buffer TBE, loading buffer dan DNA ladder.

Bahan yang digunakan dalam deteksi biosekuriti adalah larutan BPW (Butterfields Phosphat Water) 0,1%, larutan LSTB (Lauryl Sulfate Tryptose Broth), BGLB Broth 2 % (Brilliant Green Lactose Bile), L-EMB agar (Levine-Eosin Methylen Blue), EC Broth ( E.coli broth ), Baird Parker Agar (BPA), Egg yolk tellurite emulsion, Brain Heart Infusion Broth (BHIB), Triple Sugar Iron Agar (TSIA), koagulase plasma kelinci (coagulase rabbit plasma) dengan EDTA 0,1%, larutan Buffered Pepton Water 0,1% (BPW), lactose broth, tetra thionate

broth (TTB), Hecto Enteric (HE) agar, Xylose Lactose Dextrose agar (XLD), Bismuth Sulfit agar (BSA), Triple Sugar Iron agar (TSIA).

### C. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan purposive sampling dengan kriteria sampel sebagai berikut :

- a) Sate yang dijual di 4 lokus dimana terdapat pembeli dan lingkungan yang beragam yang ada di Kecamatan Padang Barat Kota Padang
- b) Sate yang terbuat dari daging sapi
- c) Sate yang belum dan sudah dibakar
- d) Sate yang langsung habis sehari dan disimpan dengan freezer atau dengan tambahan zat pengawet.

### D. Prosedur Penelitian

#### 1. Deteksi Halal

Pertama spesimen sate daging sapi ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dipotong kecil-kecil menggunakan gunting, selanjutnya digerus dalam mortar dan ditambahkan PBS untuk membuat suspensi 10 - 20 %. untuk memperoleh supernatan sebagai sampel untuk ekstraksi DNA, suspensi tersebut disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit.

#### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan Dneasy® Blood and Tissue KIT dari Qiagen (No. Cat. 69506). Pertama, supernatan sampel sebanyak 200 µl dimasukkan ke dalam microtube 1,5 ml dan ditambahkan buffer ATL 200 µl. Kemudian ditambahkan 25 µl proteinase K, divorteks beberapa detik dan diinkubasi 56°C selama 1-3 jam, selama inkubasi dilakukan vorteks beberapa kali. Kemudian divorteks Kembali selama 15 detik dan ditambahkan 200 µl Buffer AL. Divorteks kembali selama 15 detik, dan ditambahkan 200 µl ethanol absolut, kemudian divorteks kembali dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 5 menit. Ambil larutan dengan pipet masukan ke dalam Dneasy Mini spin column dan disetrifus 8000 rpm selama 1 menit. Kemudian dibuang filtrat dan tabung koleksinya. Spin column ditempatkan di dalam tabung koleksi 2 ml yang baru dan ditambahkan

500 µl Buffer AW1, kemudian disentrifus 8000 rpm selama 1 menit. Selanjutnya filtrat dan tabung koleksinya dibuang. Spin column ditempatkan didalam tabung koleksi 2 ml yang baru, tambahkan 500 µl Buffer AW2. Kemudian disentrifus 14.000 rpm selama 3 menit, filtrat dan tabung koleksinya dibuang. Spin column ditempatkan di dalam tabung koleksi 1,5 ml yang baru dan tambahkan 50 µl Buffer AE untuk elusi. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit dan disentrifus 8000 rpm selama 1 menit. Kemudian spin column dibuang dan DNA yang didapatkan disimpan di dalam suhu -20°C atau dapat langsung digunakan.

### ***Polymerase Chain Reaction (PCR)***

Preparasi reagen master mix ini menggunakan Taq DNA Polymerase dari Vivantis (PL1202). Pembuatan komposisi master mix reaksi atau preparasi dengan total volume 25 µl per reaksi adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Komponen PCR

No	Komponen PCR	Volume (µl)
1.	RNase-free water	13,75
2.	10xPCR Buffer	2,5
3.	dNTPs	2,5
4.	Primer Foward (20mM)	0,5
5.	Reverse Primer (20 mM)	0,5
6.	Taq Pol (Vivantis)	0,25
7.	DNA template	5
	Jumlah	20

Semua komponen di atas satu persatu secara berurutan dimasukkan ke dalam tabung PCR 0,2 ml atau 0,5 ml. Cetakan DNA (kontrol negatif, sampel dan kontrol positif ) dimasukkan terakhir. Tabung PCR ditutup dengan rapat dan kemudian dilakukan *spin down*. Tabung PCR dimasukkan ke dalam mesin *thermal cycler* dengan kondisi reaksi sesuai dengan primer yang digunakan.

### Tahapan PCR

Tahap denaturasi awal: 94°C selama 5 menit

35 siklus meliputi :

- i. Denaturasi : 94°C selama 30 detik
- ii. Annealing : 58°C selama 60 detik
- iii. Ekstensi : 72°C selama 45 detik

Tahap ekstensi tambahan : 72°C selama 4 menit, 40°C ( $\infty$ )

Hasil PCR yang terdapat dalam tabung Eppendorf 0,2 ml dikeluarkan dari mesin PCR dapat langsung dielektroforesis atau disimpan terlebih dahulu pada suhu 4°C sampai siap untuk dielektroforesis. Uji PCR kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan guna memvalidasi hasil PCR. Kontrol positif adalah sampel yang diperiksa dengan hasil yang didapatkan hasil positif. Kontrol negatif adalah RNase free water yang diekstraksi.

### Elektroforesis dan Visualisasi Hasil

Dilakukan penimbangan agarose sebanyak 0,6 gram dalam 30 ml bufer TBE 1X (Tris-Borat-EDTA) atau 1 gram agarose dalam 50 ml bufer TBE 1X (Tris-Borat-EDTA). Kemudian agarose dipanaskan dalam microwave sampai melebur dan menjadi cair. Agarose cair kemudian didinginkan dalam suhu kamar sampai suhu agarose menjadi sekitar 60°C. Tambahkan Sybersave ke dalam agarose cair dengan konsentrasi akhir 0,01-0,03 %. Misal untuk 30-50 ml agarose ditambahkan kira-kira 3 ul sybersave dan dicampur sampai rata. Selanjutnya agarose dituangkan ke dalam cetakan gel agarose, yang sebelumnya dipasang sisir dan biarkan sampai membentuk gel. Kemudian gel dimasukkan ke dalam bejana elektroforesis dan ditambahkan buffer TBE 1X sampai mencapai batas garis elektroforesis. Kemudian dibuat campuran dalam tabung PCR 0,2 atau 0,5 ml yang terdiri 1 bagian loading buffer DNA ditambah 9 bagian hasil PCR (1  $\mu$ l loading buffer + 9  $\mu$ l hasil PCR). Masukkan campuran ke dalam sumuran gel agarose dengan hati-hati dan masukan marker DNA untuk menghitung panjang molekul DNA. Masukan kontrol positif dan kontrol negatif ke dalam sumuran gel untuk memvalidasi hasil PCR. Hasil PCR (DNA) dielektroforesis selama 35 menit, dengan tegangan konstan yaitu 80-120 volt. Setelah proses elektroforesis, kemudian gel diambil dan diletakkan di atas permukaan UV-transilluminator. Gel

difoto dengan kamera digital atau Gel doc. Untuk identifikasi panjang molekul DNA sampel dan DNA kontrol dengan acuan marker DNA yang digunakan.

Interpretasi

Hasil uji dianggap valid jika pada kontrol positif muncul pita-pita DNA dengan panjang molekul DNA yang sudah diketahui sebelumnya dan sebaliknya kontrol negatif dan kontrol internal tidak muncul pita-pita DNA (artinya tidak ada kontaminasi). Panjang molekul amplicon untuk babi 149 bp. Hasil dikatakan positif jika pada lajur dari sumuran sampel menunjukkan adanya pita-pita DNA yang sesuai atau sejajar panjang molekulnya dengan panjang molekul kontrol positif. Hasil negatif apabila tidak muncul pita DNA pada lajur dari sumuran sampel atau spesimen seperti pada kontrol negatif.

## 2. Deteksi Biosekuriti

Uji *Escherichia coli*

Untuk melakukan uji *Escherichia coli*, pertama sampel padat dan semi padat ditimbang secara aseptik sebanyak 25 gram. Kemudian masukkan dalam wadah steril atau plastik Stomacher. Sampel daging yang sudah ditimbang ditambahkan 225 ml larutan BPW 0,1% steril dan diblender selama 1-2 menit. Ini merupakan larutan dengan pengenceran  $10^{-1}$ . Dengan menggunakan pipet steril, sebanyak 1 ml suspensi dipindahkan ke dalam larutan BPW untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Kemudian dengan mengambil 1 ml sampel dari pengenceran  $10^{-2}$  dengan menggunakan pipet steril dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan BPW. Kemudian diinkubasi dengan suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam. Pengamatan dan pembacaan hasil dengan cara menghitung koloni yang berwarna ungu.

Uji *Staphylococcus aureus*

sampel daging (padat) sebanyak 25 gram sampel ditimbang secara aseptik, kemudian masukkan dalam wadah steril atau plastik stomacher. Kemudian ditambahkan 225 ml larutan BPW steril dan dihomogenkan dengan stomacher selama 1 – 2 menit. Ini merupakan larutan dengan pengenceran  $10^{-1}$ . Dengan menggunakan pipet steril dipindahkan 1 ml suspensi diatas dan dimasukkan kedalam larutan BPW untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Pengenceran

selanjutnya ( $10^{-3}$ ) disiapkan dengan mengambil 1 ml sampel dari pengenceran  $10^{-2}$  dengan menggunakan pipet steril dan dimasukkan kedalam 9 ml larutan BPW. Dengan cara yang sama dilakukan pengenceran selanjutnya  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan seterusnya, sesuai dengan kebutuhan sampel. Tahap Pengujian dilakukan bersama kontrol positif yaitu hasil pemeriksaan yang positif. Diambil 1 ml sampel dari  $10^0$  ke dalam larutan 9 ml BPW menjadi pengenceran  $10^{-1}$ . Dengan cara yang sama dibuat pengenceran  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan seterusnya. Dituang sebanyak 15 – 20 ml media BPA (*Baird-Parker* Agar) yang sudah ditambah dengan egg yolk tellurite emulsion (5 ml ke dalam 95 ml media BPA) pada masing-masing cawan yang akan digunakan dan dibiarkan sampai padat. Secara aseptis dipindahkan 1 ml larutan sampel kedalam 3 petri BPA dan egg yolk tellurite emulsion masing-masing 0,4 ml, 0,3 ml dan 0,3 ml. Inokulum diratakan pada permukaan agar dengan menggunakan batang gelas bengkok dan biarkan selama 1 jam. Kemudian cawan petri dibalik dan diinkubasi selama 45-48 jam pada suhu  $35^{\circ}$  C. selanjutnya dipilih cawan petri yang mempunyai koloni 20-200, jika tidak ada cawan petri pada pengenceran terendah ( $<20$  koloni dan atau  $> 200$  koloni) yang mempunyai ciri *Staphylococcus aureus*, maka dilanjutkan penghitungan koloni pada cawan petri dengan pengenceran yang lebih tinggi.

Pembacaan Hasil koloni *Staphylococcus aureus* mempunyai ciri : bundar, licin/halus, cembung, diameter 2-3 mm, abu-abu hingga kehitaman, tepi koloni putih dan dikelilingi daerah yang terang. Perhitungan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada cawan petri yang mempunyai koloni 20-200. Jika tidak ada (1) hitung cawan petri yang mempunyai ciri koloni *Staphylococcus aureus*  $>200$ , jika cawan petri pada pengenceran yang lebih tinggi tidak mempunyai ciri koloni *Staphylococcus aureus*. Jika tidak ada (1) dan (2), hitung jumlah koloni *Staphylococcus aureus* pada pengenceran yang paling rendah yang mempunyai koloni  $<20$ . Dilakukan pencatatan jumlah masing-masing koloni yang mempunyai ciri seperti pada nomor 1. Untuk meneguhkan koloni *Staphylococcus aureus*, maka dilakukan uji koagulase.

Uji koagulase

Uji koagulase dilakukan dengan mengambil 1 atau lebih koloni yang diduga *Staphylococcus aureus* dan dimasukkan ke dalam 0,2 – 0,3 ml BHIB

(Brain Heart Infusion Broth) untuk dihomogenkan. Kemudian diambil suspensi sebanyak 1 ose yang berdiameter 3,0 mm dari BHIB dengan goresan pada agar miring TSIA (Triple Sugar Iron Agar). Berikutnya diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18-24 jam. Kemudian diinkubasi kembali pada suhu 35 °C selama 6 jam dan diamati setiap jam terhadap pembentukan gumpalan. Hasil uji koagulase dinyatakan positif *Staphylococcus aureus* jika tampak adanya penggumpalan.

#### Perhitungan

Perhitungan dilakukan pada jumlah koloni-koloni yang menunjukkan ciri khas *Staphylococcus aureus* dan yang memberikan hasil uji koagulase positif dari ketiga cawan petri tersebut dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Kemudian perhitungan yang didapat dicatat hasilnya sebagai jumlah *Staphylococcus aureus* per mililiter atau per gram produk bahan makanan.

#### Uji *Salmonella, sp*

##### Pra Pengkayaan

Sampel ditimbang sebanyak 25 gram dimasukkan kedalam tempat wadah steril. Kemudian sampel daging ditambahkan 225 ml lactose broth dan dihomogenisasi dengan stomacher selama 1-2 menit dalam kecepatan rendah. Ambil suspensi kemudian dipindahkan ke dalam erlenmeyer atau tempat wadah steril. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35<sup>0</sup> C selama 24 jam± 2 jam.

##### Seleksi pada media agar

Satu koloni diambil dari masing-masing media pengkayaan dengan menggunakan loop/jarum ose, kemudian diinokulasikan/digoreskan ke HE, XLD dan BSA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35<sup>0</sup>C selama 24 jam± 2 jam. Jika belum jelas pada BSA dapat diinkubasi kembali selama 24 jam± 2 jam.

##### Pembacaan koloni *Salmonella spp* sbb :

Koloni *Salmonella spp* pada media HE tampak berwarna hijau kebiruan dengan atau tanpa titik hitam dari H<sub>2</sub>S. sedangkan pada media BSA koloni tampak berwarna keabu-abuan atau kehitam-hitaman kadang-kadang metalik. Dengan makin lamanya waktu inkubasi akan menyebabkan media di sekitar koloni menjadi berwarna coklat kemudian berubah menjadi hitam. Dengan menggunakan ose diambil koloni tersangka dari ketiga media diatas kemudian diinokulasikan ke

TSIA dan LIA dengan cara menusuk pada dasar dan digoreskan pada media agar miring. TSIA diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 ± 2 jam, dengan membiarkan tutup sedikit dikendurkan untuk menghindari produksi H<sub>2</sub>S berlebih. Koloni spesifik akan memberikan reaksi sbb :

Tabel 2. Reaksi biokimia *Salmonella spp* pada TSIA dan LIA

Media	Agar Miring (Slant)	Agar Dasar (Bult)	H <sup>2</sup> S	Gas
TSIA	Alkalin/K (Merah)	Asam/A (Kuning)	Positif (hitam)	Negatif/ positif
LIA	Alkalin/K (ungu)	Alkalin/K (ungu)	Positif (hitam)	Negatif/ positif

### 3. Deteksi Zat Pengawet

#### Uji Boraks

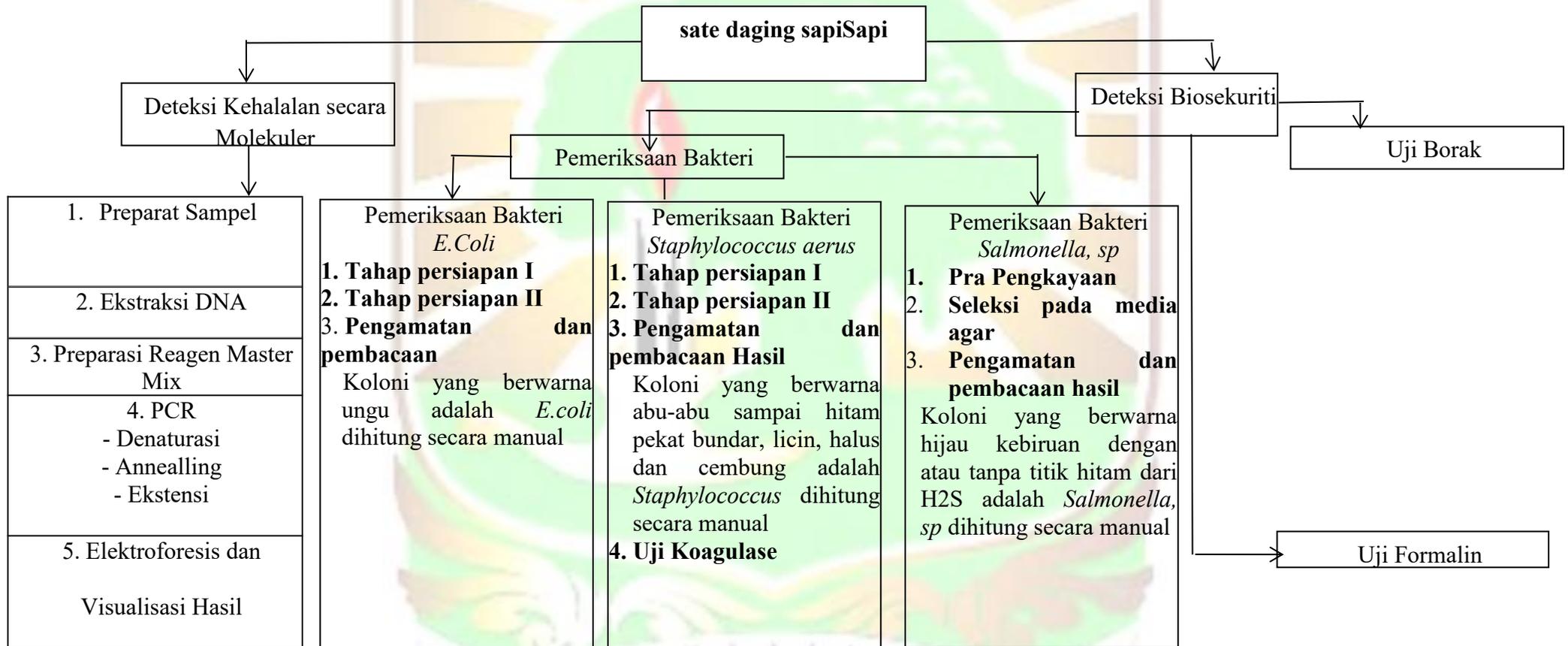
Uji Boraks dilakukan dengan menggunakan Chemkit. yaitu sampel diambil lebih kurang 1 gram, kemudian digerus menggunakan mortal. Kemudian dilarutkan dengan aquadest lebih kurang 10 ml. Diambil 1 ml ekstrak ditambahkan 15-20 tetes pereaksi 1 dihomogenkan dengan cara digoyang- goyangkan kemudian dicelupkan pereaksi 2 (kertas kunyit). Kemudian kertas kunyit dijemur dibawah cahaya matahari selama 10 menit. Diamati perubahan warna (positif warna merah bata, negatif warna tidak ada).

#### Uji Formalin

Uji Formalin dilakukan dengan menggunakan merkkit. Pertama, sampel diambil lebih kurang 1 gram, kemudian digerus menggunakan mortal. Kemudian dilarutkan dengan aquadest lebih kurang 10 ml. Diambil 5 ml ekstrak ditambahkan 5 tetes pereaksi 1 kemudian ditambahkan pereaksi 2 sebanyak 1 sendok dihomogenkan dengan cara digoyang- goyangkan. Diamati perubahan warna (positif warna ungu, negatif warna tidak berubah sampai kuning)

### E. Prosedur Penelitian

Skema atau diagram alir penelitian ini dapat dilihat pada gambar 7 berikut ini:



## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Pengambilan Sampel

Deteksi kehalalan daging dimulai dengan pengambilan sampel daging dari beberapa pedagang sate daging sapi Kecamatan Padang Barat Kota Padang. Sampel diambil dari 20 pedagang sate daging sapi yang tersebar secara merata di beberapa kelurahan yang ada di Kecamatan Padang Barat yang diketahui di sana terdiri dari penduduk yang beragam suku dan agama. Data pengambilan sampel sate daging sapi dapat dilihat pada lampiran 1. Lokasi tempat pengambilan sampel sate daging sapi adalah di Kecamatan Padang Barat. Peta lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada gambar 8 di bawah ini.



Gambar 8. Peta Kecamatan Padang Barat Kota Padang (Sumber: Google map)

Makanan khas Sumatera Barat salah satunya adalah sate Padang. Sate Padang mempunyai keanekaragaman jenis dan racikan bumbu yang berbeda pada masing-masing produsen. Sate Padang merupakan makanan warisan Indonesia yang perlu dijaga dan dilestarikan. Sate Padang mewakili salah satu karakteristik umum hidangan tradisional Minangkabau yang merupakan bagian penting dari

gastronomi Indonesia. Karakteristik umum hidangan tradisional Minangkabau dapat direpresentasikan oleh sate Padang. Orang Minang sangat lihai dalam mengolah bumbu, dan ini dicerminkan dari aroma rempah sate Padang. Cita rasanya sate Padang adalah pedas, namun demikian sate Padang terbukti mampu menembus batas geografis. Masyarakat lain yang bukan masyarakat Minang, bisa menyukainya. sehingga sate Padang dan kuliner khas Minangkabau lainnya dianggap sebagai salah satu penghuni kasta tertinggi dalam khasanah gastronomi Nusantara” (Indonesiakaya, 2016).

### B. Deteksi Halal dengan Metode PCR

Identifikasi kehalalan pada sate daging sapi bertujuan untuk mengetahui apakah sate daging sapi yang dijual di Kecamatan Padang Barat khususnya di wilayah kelurahan yang terdapat penduduk dengan suku dan agama yang beragam terjamin kehalalannya. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali untuk masing-masing sampel yang diambil pada waktu dan penjual yang sama. Hasil pengujian kehalalan dengan PCR dapat dilihat dari tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Kehalalan (spesies) Sampel sate daging sapi dengan PCR

Kode Sampel	Nama	Hasil Pengujian I	Hasil Pengujian II
01	SD01	Negatif (-)	Negatif (-)
02	SD02	Negatif (-)	Negatif (-)
03	SD03	Negatif (-)	Negatif (-)
04	SD04	Negatif (-)	Negatif (-)
05	SD05	Negatif (-)	Negatif (-)
06	SD06	Negatif (-)	Negatif (-)
07	SD07	Negatif (-)	Negatif (-)
08	SD08	Negatif (-)	Negatif (-)
09	SD09	Negatif (-)	Negatif (-)
10	SD10	Negatif (-)	Negatif (-)
11	SD11	Negatif (-)	Negatif (-)
12	SD12	Negatif (-)	Negatif (-)
13	SD13	Negatif (-)	Negatif (-)
14	SD14	Negatif (-)	Negatif (-)
15	SD15	Negatif (-)	Negatif (-)
16	SD16	Negatif (-)	Negatif (-)
17	SD17	Negatif (-)	Negatif (-)
18	SD18	Negatif (-)	Negatif (-)
19	SD19	Negatif (-)	Negatif (-)
20	SD20	Negatif (-)	Negatif (-)

Deteksi halal secara molekuler menggunakan primer spesifik babi. Primer merupakan salah satu komponen utama dalam proses PCR. Primer digunakan untuk memotong gen target. Dalam primer ada 3 hal yang jadi perhatian, yaitu sekuen DNA target (referensi), melting temperatur dan komposisi GC. Dalam penelitian ini primer yang digunakan berdasarkan desain yang diteliti oleh Dooley *et al.* (2004) dengan panjang 149 bp. Dalam sekuen DNA target yang diperhatikan adalah star kodon yaitu basa sebagai awalan gen yaitu ATG. Dan harus memperhatikan stop kodon, yaitu antara basa TAA, TAG dan TGA. Sekuen DNA target yang diambil adalah gen mitokondria sitokrom b. Urutan gennya diambil berdasarkan yang ada pada GenBank yaitu urutan X56295. Berikut gambaran sekuen gen dari *S.scrofa* (babi) mitokondria sitokrom b. yang diambil dari NCBI:

### **S.scrofa mitochondrion cytb gene for cytochrome b**

GenBank: X56295.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

```
>X56295.1 S.scrofa mitochondrion cytb gene for cytochrome b
ATGACCAACATCCGAAAATCACACCCACTAATAAAAAATTATCAACAACGCATTTCATTGACCTCCCAGCCC
CCTCAAACATCTCATCATGATGAACTTCGGTTCCTCTTAGGCATCTGCCTAATCTTGCAAATCCTAAC
AGGCCTGTTCTTAGCAATACATTACACATCAGACACAACAACAGCTTCTCATCAGTTACACACATTTGT
CGAGACGTA AATTACGGATGAGTTATTCGCTATCTACATGCAAACGGAGCATCCATATTCTTTATTTGCC
TATTCATCCACGTAGGCCGAGGTCTATACTACGGATCCTATATATTCTAGAAACATGAAACATTGGAGT
AGTCCTACTATTTACCGTTATAGCAACAGCCTTCATAGGCTACGTCCTGCCCTGAGGACAAATATCATT
TGAGGAGCTACGGTCATCACAATCTACTATCAGCTATCCCTTATATCGGAACAGACCTCGTAGAATGAA
TCTGAGGGGGCTTTTCCGTGACAAAGCAACCCTCACACGATTCTTCGCTTCCACTTTATCCTGCCATT
CATCATTACCGCCCTCGCAGCCGTACATCTCATATTCTGCACGAAACCGGATCCAACAACCCCTACCGGA
ATCTCATCAGACATAGACAAAATTCATTTACCCATACTACACTATTAAGACATTCTAGGAGCCTTAT
TTATAACTAATCCTACTAATCCTTGACTATTCTCACCAGACCTACTAGGAGACCCAGACAACCTACAC
CCCAGCAAACCCACTAAACACCCACCCCATATTAACCAGAATGATATTTCTTATTCGCTACGCTATT
CTACGTTCAATTCCTAATAAACTAGGTGGAGTGTTGGCCCTAGTAGCCTCCATCCTAATCCTAATTTAA
TGCCCACTATGCACACATCCAACAACGAGGCATAATATTTGACCACTAAGTCAATGCCTATTCTGAAT
ACTAGTAGCAGACCTATTACACTAACATGAATTGGAGGACAACCCGTAGAACACCCGTTTCATCATCATC
GGCCAACACTAGCCTCCATCTTATACTTCTAATCATTCTAGTATTGATACCAATCACTAGCATCATCGAAA
ACAACCTATTA AATGAAGA
```

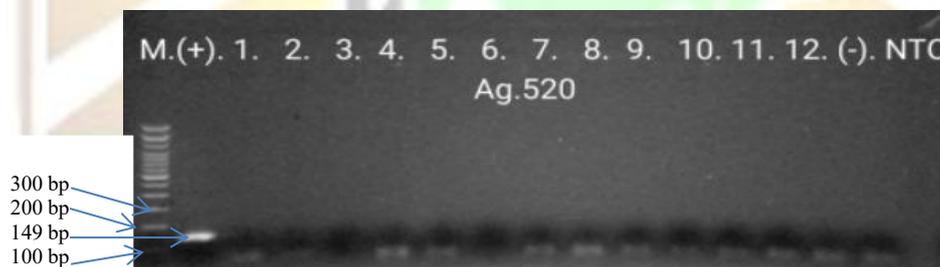
DNA mitokondria memiliki karakteristik yang dapat digunakan dalam analisis biologi dan keragaman genetik. Ini disebabkan karena mtDNA mampu mengkopi diri dalam jumlah yang tinggi. mtDNA memiliki ukuran yang relatif kecil, yaitu berkisar antara 14 kb- 34 kb, ini mejadikannya dapat dipelajari dalam satu kesatuan yang utuh.

Gen sitokrom b (*cyt b*) merupakan bagian dari sitokrom pada transpor eletron yang terletak pada rantai respirasi mitokondria dan dikodekan oleh

mtDNA. Dalam beberapa studi identifikasi spesies daging mentah dan daging yang telah diolah, gen *cyt b* banyak digunakan (Hapsari & Misrianti, 2007).

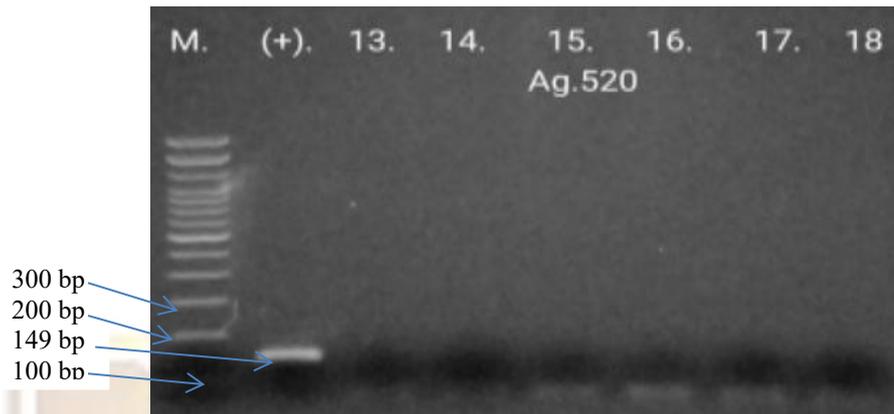
Gen *cyt b* dapat digunakan untuk membandingkan spesies dalam satu genus atau famili. Banyak peneliti menggunakan gen *cyt b* untuk mengidentifikasi material dari jenis hewan yang berbeda. Selain itu *cyt b* juga digunakan untuk penanda hewan berdasarkan urutan *cyt b*. Setiap gen ini memiliki daerah yang spesifik untuk setiap hewan, ini merupakan karakteristik yang khas dari gen tersebut (Septianingtyas, 2011).

Dalam penelitian ini pengujian kehalalan dengan menggunakan PCR dilakukan dua kali pengujian. Ini bertujuan untuk menghindari hasil yang keliru. Pengujian pertama dan kedua, sama-sama dimulai dari ekstraksi dan sampai visualisasi hasil. Dari 20 sampel sate daging sapi yang dilakukan pengujian pertama dengan PCR untuk menentukan kehalalannya didapatkan hasil negatif babi. Begitu juga dengan pengujian kedua, didapatkan hasil negatif babi. Visualisasi hasil pengujian PCR pertama dari sate daging sapi dengan metode PCR dapat dilihat pada gambar berikut ini.



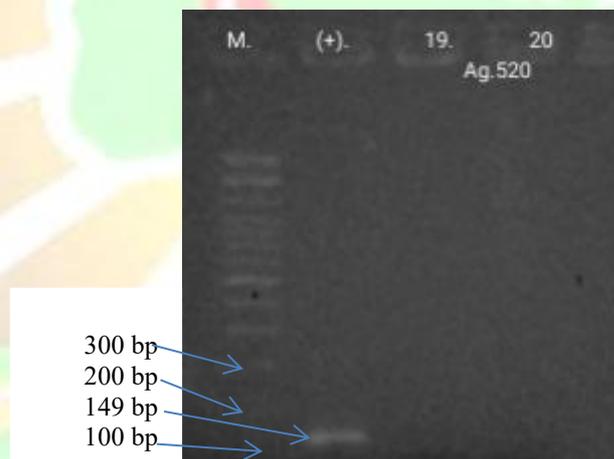
Gambar 9. Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel Sate Daging. (M: Marker (100 bp), 1-12: kode sampel, NTC: kontrol.)

Pada gambar 9. visualisasi hasil pengujian dari sampel 1 sampai dengan 12 tidak muncul pita seperti yang ada pada kontrol. Tidak munculnya pita berarti sampel tidak terkontaminasi oleh daging babi. Pita akan muncul ada gen target sesuai pada sampel.



Gambar 10. Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel sate daging sapi(M: Marker (100 bp), 13-18: kode sampel)

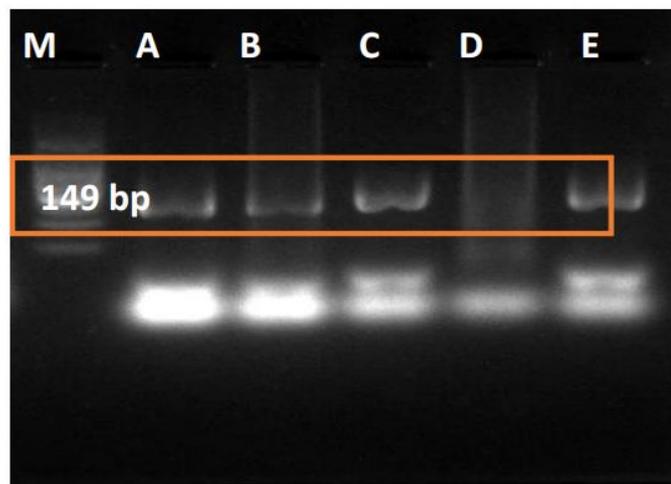
Gambar 10. melihatkan bahwa tidak ada pita yang muncul pada sampel no 13 sampai dengan 18, berarti sampel yang kita uji tidak terkontaminasi oleh daging babi.



Gambar 11. Visualisasi Hasil Pengujian I PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel sate daging sapi(M: Marker (100 bp), 19-20: kode sampel)

Gambar 11 untuk uji sampel no 19 dan 20 tidak ditemukan kemunculan pita. Artinya negatif babi, karena tidak ada gen target yang sesuai pada sampel yang diuji. Berdasarkan visualisasi hasil PCR pada semua sampel sate daging sapi yang diperiksa pada Pengujian I didapatkan hasil negatif. Hal ini diindikasikan dengan tidak ditemukannya pita DNA pada hasil visualisasi, sehingga dapat disimpulkan bahwa semua sampel daging memang tidak terkontaminasi oleh daging babi.

Berbeda dengan hasil penelitian Latifatoel *et al.*,(2020), hasil uji positif babi pada sampel softgel candy. Uji ini menggunakan primer babi dengan band DNA sebesar 149 bp. Hasil visualisasi uji dapat dilihat pada gambar 11 dibawah.



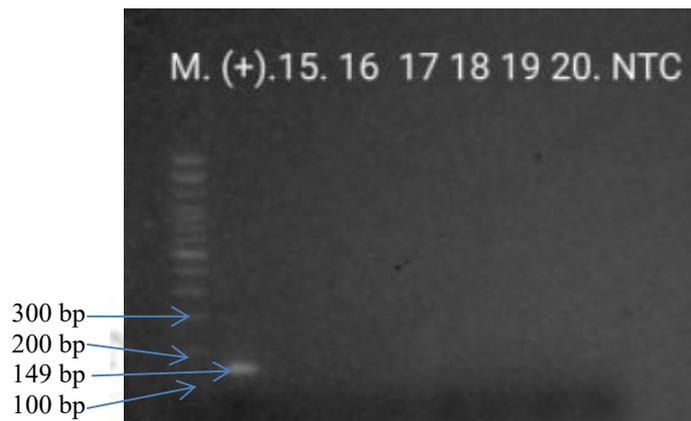
Gambar 12. Visualisasi Hasil Positif Spesies Babi (Latifatoel *et al.*, (2020))

Untuk memvalidasi hasil uji, maka dilakukan pengujian kedua pada sampel sate daging sapiyang sama. Proses pengujian dimulai dari ekstraksi sampai dengan visualisasi hasil. Dari pengujian kedua tersebut, sebanyak 20 sampel sate daging sapiyang sama didapatkan hasil negatif babi. Berikut gambaran hasil pengujian kedua dari identifikasi kehalalan pada sate daging sapi di Kecamatan Padang Barat Kota Padang. Gambaran hasil pengujian kedua dapat dilihat sebagai berikut :



Gambar 13. Visualisasi Hasil Pengujian II PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel sate daging sapi (M: Marker , 1-140: kode sampel)

Gambar 13 merupakan pengujian PCR kedua pada sampel 1 sampai dengan 14. semua sampel tidak muncul pita DNA, disebabkan tidak ditemukannya gen target pada sampel yang diuji.



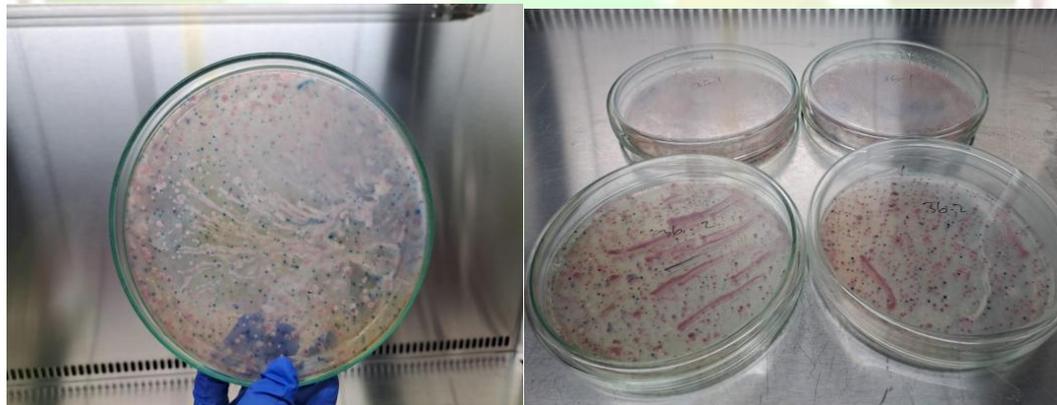
Gambar 14. Visualisasi Hasil Pengujian II PCR Identifikasi Spesies Babi pada sampel sate daging sapi(M: Marker , 15-20: kode sampel)

Visualisasi hasil Pengujian kedua PCR pada sampel 15 sampai dengan 20, terlihat tidak ada pita DNA yang muncul. Pita akan muncul jika gen target terdapat dalam sampel yang diuji. Pada pengujian ini semua sampel dinyatakan negatif, dan tidak terkontaminasi oleh daging babi.

### C. Deteksi Biosekuriti

#### Uji *Escherichia coli*

Pengujian bakteri *E. coli* pada sate daging sapi yang belum dibakar dan yang sudah dibakar dilakukan secara terpisah. Jumlah koloni *E. coli* yang ditemukan pada pengujian dihitung secara manual.



Gambar 15. Uji bakteri *Escherichia coli*

Pengujian *E. coli* metode kromogenik dengan menggunakan media Brillain *E. coli*. Pada gambar 15. terlihat koloni yang berwarna ungu adalah *E. coli*. Dan koloni yang berwarna pink merupakan bakteri lain yang bukan *E. coli*. Salah satu sebagai indikator dalam persyaratan mikrobiologi, *E. coli* adalah salah indikator

tercemarnya air atau makanan. Bakteri *E. coli* dalam sumber air atau makanan merupakan indikasi bahwa telah terjadi kontaminasi kotoran manusia. Keberadaan *E. coli* dalam makanan atau minuman menunjukkan adanya praktek sanitasi yang tidak baik. *E. coli* bisa berpindah dengan kontak langsung yaitu dari tangan ke mulut dan tidak langsung yaitu melalui makanan, air, susu dan produk-produk lainnya. *E. coli* yang sudah mengkontaminasi makanan dan minuman, kemudian masuk kedalam tubuh manusia, dan dapat menyebabkan gejala seperti kholera, disentri, gastroenteritis, diare dan berbagai penyakit saluran pencernaan lainnya (Manning, 2010). Hasil pengujian bakteri *E.coli* pada sampel sate daging sapi yang belum dibakar dan sudah dibakar didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil Pengujian Bakteri *Escherichia coli* Pada Sate Daging Sapi

No	Kode Sampel	<i>Escherichia coli</i> (koloni)	
		<i>Sebelum dibakar</i>	<i>Sesudah dibakar</i>
1	SD01	11350	265
2	SD02	430	<10
3	SD03	250	70
4	SD04	< 3	>10
5	SD05	>3	>10
6	SD06	>3	620
7	SD07	>3	695
8	SD08	>3	390
9	SD09	645	95
10	SD10	1655	<10
11	SD11	>3	5
12	SD12	>3	240
13	SD13	< 3	<10
14	SD14	30	345
15	SD15	>3	>10
16	SD16	10300	8700
17	SD17	14500	2842
18	SD18	10650	13000
19	SD19	2164	15
20	SD20	< 3	<10

Bedasarkan data yang ditampilkan pada tabel 4 diatas dapat kita lihat bahwa pada sampel sate daging sapiyang belum dibakar, ditemukan hasil 13 dari 20 sampel terkonaminasi bakteri *E.coli* jumlah koloninya berada di atas SNI yaitu  $<3/g$  (SNI 7388;2009). Penelitian ini hampir sama dengan penelitian Jasmadi (2014) tentang keberadaan *Escherichia coli* pada sampel daging sapi yang dijual di pasar tradisional dan pasar modern di Pekanbaru dengan menggunakan metode Most Probable Number (MPN). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sampel terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli*.

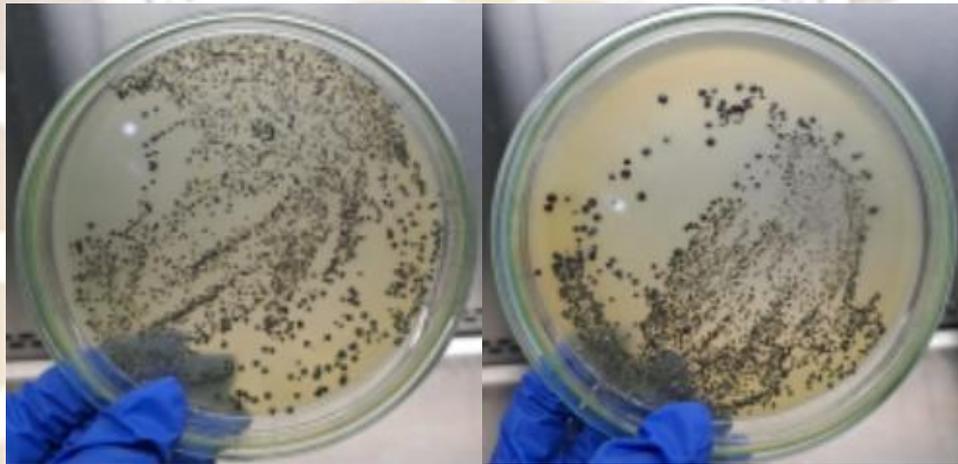
Ditemukannya *Escherichia coli* dengan tingkat kontaminan yang cukup tinggi pada daging memberikan informasi bahwa masih rendahnya kesadaran personal dalam hal kebersihan sanitasi dan higienis dalam proses penyajian dan penanganan terhadap daging. Di pasar proses penyajian daging ayam masih kurang memperhatikan aspek sanitasi dan higiene. Ini terlihat dari cara pedagang mempersiapkan dan menjual daging tidak ditutup dan tidak disimpan dalam suhu kamar atau pada suhu dingin. Akibat dari suhu penyimpanan yang tidak sesuai ini akan berdampak cepatnya bakteri berkembang pada daging (Suardana *et al.*, 2005).

Peguajian untuk sampel sate daging sapi yang sudah dibakar, hasilnya dapat dilihat pada tabel 4. Jika dibandingkan dengan sampel sate daging sapi yang belum dibakar, maka jumlah koloni *E.coli* yang ditemukan pada pengujian sampel sate daging sapi yang sudah dibakar lebih rendah dari pada jumlah koloni sampel sate daging sapi yang belum dibakar. Berdasarkan standar nasional indonesia SNI 7388:2009 batas maksimum koloni *E.coli* pada daging olahan asap adalah  $<3/g$ . pada pemeriksaan uji sampel sate daging sapi yang dibakar masih ditemukan bakteri *E.coli* dengan jumlah koloni diatas SNI. Meski sate sudah dibakar, namun masih ada kontaminasi bakteri *E.coli*. Menurut Antara *et al.*, (2002) pekerja dengan personal hygiene yang kurang baik akan mempercepat penyebaran berbagai macam bakteri seperti bakteri *E. coli*. Kontaminasi *Escherichia coli* yang patogen seperti enterotoxigenic dalam jumlah sedikit saja pada makanan dapat menyebabkan masalah serius (Oyofu *et al.*, 2001). Jika pengolah makanan tidak mencuci tangan dengan bersih setelah buang air besar,

memungkinkan adanya bakteri *E. coli* pada tangan pengolah makanan (Taylor *et al.*, 2002).

#### Uji *Staphylococcus aureus*

Jumlah sampel yang diuji bakteri *Staphylococcus* adalah 20 sampel sate daging sapi yang belum dibakar dan 20 sampel sate daging sapi yang sudah dibakar.



Gambar 16. Uji Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada gambar 16. uji *Staphylococcus aureus* menggunakan media BPA (Baird Parket Agar) dan hasil negatif. Media BPA merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* mempunyai ciri khas bundar, licin, halus, cembung dan diameter 2-3 mm. Warna koloni berwarna abu-abu sampai hitam. Hasil pemeriksaan uji *Staphylococcus aureus* pada sampel sate daging sapi yang belum dibakar dan sudah dibakar dapat dilihat pada tabel 5. berikut :

Tabel 5. Hasil Pengujian Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Sate Daging Sapi

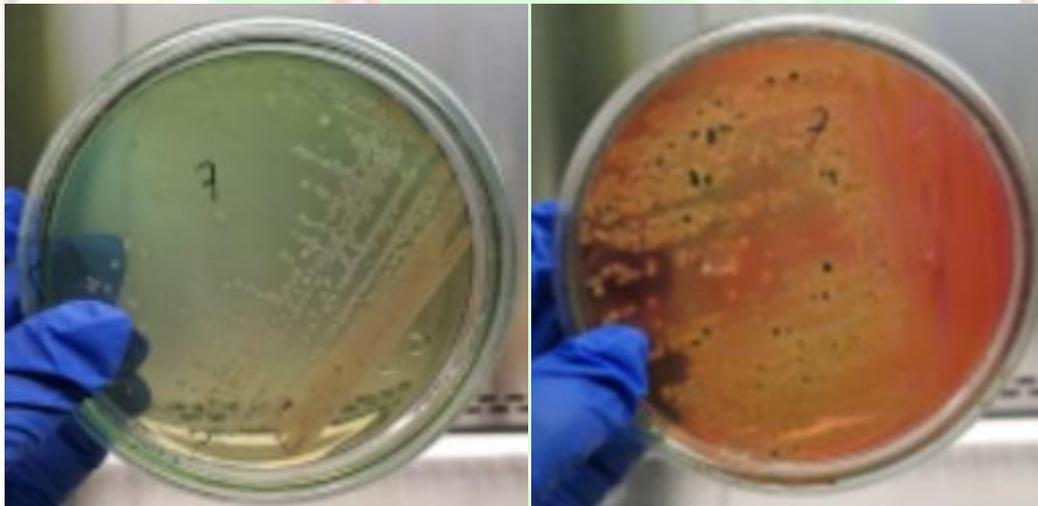
No	Kode Sampel	<i>Staphylococcus aureus</i> (koloni)	
		Sebelum dibakar	Sesudah dibakar
1	SD01	0	0
2	SD02	0	0
3	SD03	0	0
4	SD04	0	0
5	SD05	0	0
6	SD06	0	0
7	SD07	0	0
8	SD08	0	0
9	SD09	0	0
10	SD10	0	100
11	SD11	0	0
12	SD12	0	0
13	SD13	0	0
14	SD14	0	0
15	SD15	0	0
16	SD16	100	0
17	SD17	0	0
18	SD18	0	0
19	SD19	230	100
20	SD20	0	0

Berdasarkan data yang ditampilkan pada tabel 5 di atas, pada pengujian sampel sate daging sapi yang belum dibakar ada 2 sampel yang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus*. yaitu sampel SD16 dan sampel SD19 dengan jumlah koloni masing-masing 100 dan 230 koloni. Batas maksimum cemaran *Staphylococcus aureus* pada produk olahan daging berdasarkan standar SNI 7388:2009 adalah  $1 \times 10^2$  kloni/g. Sampel SD16 dengan 100 koloni berarti masih dalam batas maksimum standar SNI, sehingga masih layak untuk konsumsi. Berbeda dengan hasil yang ditemukan pada sampel SD19 sebanyak 230 koloni, cemaran bakteri berada diatas batas maksimum SNI 7388:2009, sehingga ini tidak layak untuk konsumsi. Berbeda dengan penelitian Rahayu *et al.*, (2014), semua sampel sosis yang diuji tercemar oleh *Staphylococcus aureus*. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Palupi *et al.*, (2014), hasil pengujian *Staphylococcus aureus* pada sate daging sapi ini lebih bagus dibandingkan dengan pengujian *Staphylococcus aureus* pada ayam beku.

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen. Keberadaan bakteri ini dapat digunakan sebagai indikator dari pengolahan makanan yang tidak memperhatikan higienis dan sanitasi. Bakteri ini mampu menghasilkan enterotoksin yang dapat langsung dideteksi dalam makanan. Bahan makanan yang sering dan banyak ditumbuhi bakteri ini adalah daging. Walaupun makanan yang tercemar sudah disimpan dalam lemari es, toksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* tetap ada dalam makanan dan tahan terhadap pemanasan saat memasak (Palupi *et al.*, 2010).

#### Uji *Salmonella, sp*

Sebanyak 20 sampel sate daging sapi yang belum dibakar dan yang sudah dibakar diuji untuk mengetahui kontaminasi *Salmonella, sp*.



Gambar 17. Uji Bakteri *Salmonella sp*. pada media HE dan BSA

Gambar 17 adalah media HE (Hektoen Enteric) dan media BSA (Bismuth Sulfit Agar) yang digunakan untuk uji *Salmonella sp*. Dari gambar tidak ditemukan adanya koloni *Salmonella sp*. Pada media HE koloni *Salmonella sp* terlihat berwarna hijau kebiruan dengan atau tanpa titik hitam H<sub>2</sub>S. Pada media BSA koloni *Salmonella sp* terlihat keabua-abuan atau kehitaman, kadang metalik. Media di sekitar koloni berwarna coklat dan semakin lama waktu inkubasi semakin berubah menjadi hitam.

Data hasil dari pengujian sampel bakteri *Salmonella sp*. yang diuji pada media HE dan BSA dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 6. Hasil Pengujian Bakteri *Salmonella,sp* Pada Sate Daging Sapi

No	Kode Sampel	<i>Salmonella,sp</i> (koloni)	
		Sebelum dibakar	Sesudah dibakar
1	SD01	0	0
2	SD02	0	0
3	SD03	0	0
4	SD04	0	0
5	SD05	0	0
6	SD06	0	0
7	SD07	0	0
8	SD08	0	0
9	SD09	0	0
10	SD10	0	0
11	SD11	0	0
12	SD12	0	0
13	SD13	0	0
14	SD14	0	0
15	SD15	0	0
16	SD16	0	0
17	SD17	0	0
18	SD18	0	0
19	SD19	0	0
20	SD20	0	0

Berdasarkan dari hasil yang ditampilkan pada tabel 6 dapat kita lihat bahwa semua sampel yang diuji tidak terkontaminasi bakteri *Salmonella, sp*. Menurut SNI 7388:2009, bakteri *Salmonella, sp* dalam makanan harus negatif untuk setiap 25 g sampel. Suatu produk pangan hewani aman dikonsumsi jika tidak mengandung bakteri patogen, hal ini sangat berbahaya karena dapat menimbulkan penyakit pada manusia akibat mengkonsumsi pangan asal hewan yang terkontaminasi bakteri patogen tersebut yang dikenal dengan istilah *Food Borne Disease* (Syarifah *et al*, 2015). *Salmonella* merupakan bakteri yang sering mengontaminasi makanan seperti telur dan hasil olahannya, ikan dan hasil olahannya, daging ayam, daging sapi, serta susu dan hasil olahannya seperti es krim dan keju (Jay *et al.*, 2005).

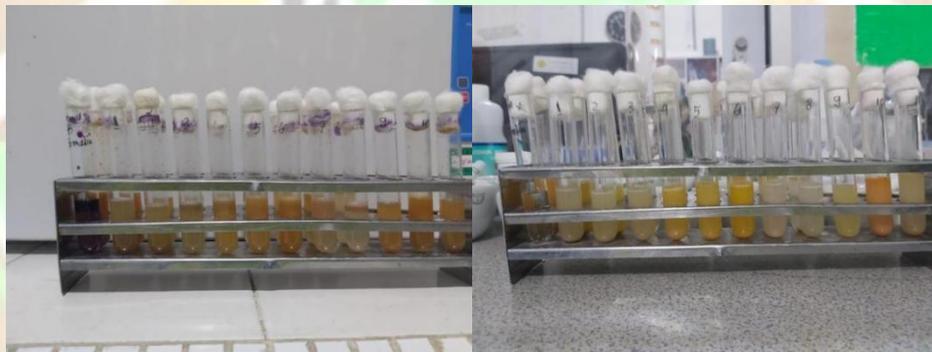
Tidak ditemukannya bakteri *Salmonella, sp* pada sate daging, kemungkinan karena daging sudah di rebus dan sudah dibakar. Sehingga kadar air dalam daging sudah berkurang. Air merupakan medium transportasi diantara serat daging sehingga kadar air berperan penting pada kehidupan mikroorganismenya (Soeparno, 2005). Jaringan hewan sehat umumnya bebas dari bakteri pada saat

dipotong, tetapi lingkungan dengan hygiene dan sanitasi yang kurang baik sering menyebabkan daging segar terkontaminasi oleh berbagai jenis dan jumlah mikroorganisme (Jay *et al.*, 2005). Pada penelitian ini sampel diambil dari sate daging sapi yang sudah direbus dan dibakar. Untuk mengurangi kontaminasi bakteri, disarankan untuk mengolah daging dengan benar yaitu dengan cara dimasak sampai benar-benar matang.

#### D. Deteksi Zat Pengawet

##### Uji Formalin

Banyak produk pangan diberikan tambahan zat yang dapat menunda pembusukan. Hal ini juga bisa terjadi pada sate daging sapi. Untuk mengetahui ada tidaknya kandungan zat tambahan pengawet pada sate daging sapi, maka dilakukan uji formalin. Uji dilakukan pada sampel sate daging sapi sebanyak 20 sampel. Sampel diuji formalin dengan menggunakan merkkit. Hasil pengamatan uji formalin pada sampel sate daging sapi dapat dilihat pada gambar 18 di bawah ini.



Gambar 18. Hasil Uji Formalin

Pada gambar 18 dapat kita lihat bahwa hasil uji formalin negatif. Hal ini ditandai dengan tidak adanya perubahan warna menjadi ungu. Pengujian formalin menggunakan prinsip reaksi antara reagen dengan formaldehid yang menghasilkan warna ungu. Pada test kit terdapat 2 reagen yaitu reagen 1 dengan kandungan Sodium hidroksida dan reagen 2 kandungannya Ethalt Natriumhidroksida. Kedua reagen ini bereaksi secara kimia kompleks menjadi 4-amino-3hidroksino5-mercapto-1,2,4-triazole kemudian bereaksi dengan formaldehid membentuk tetrazine merah-ungu. Pada gambar 18, sebanyak 20 sampel yang diuji, tidak terjadi perubahan warna. Dapat diasumsikan semuanya

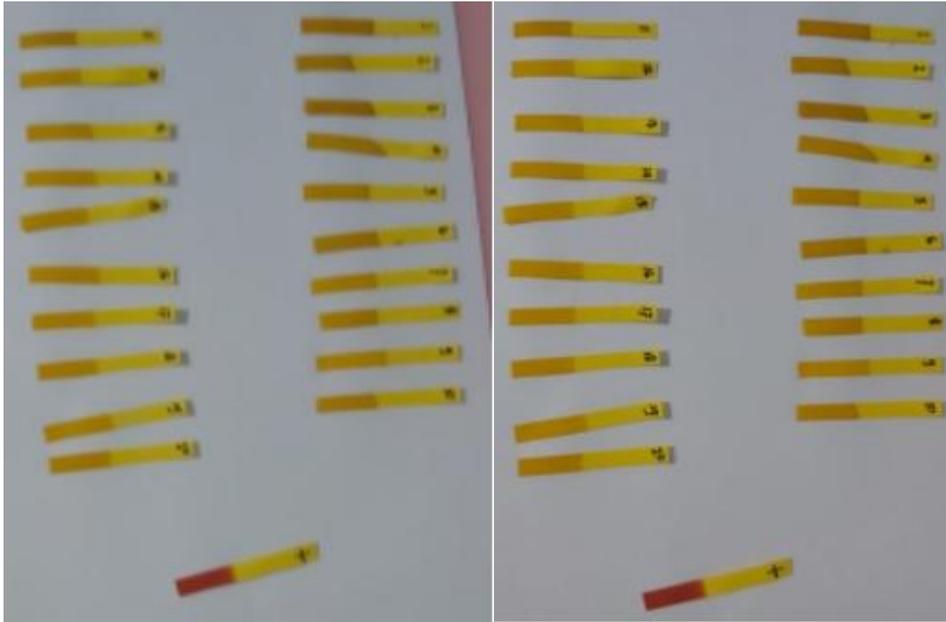
negatif formalin, karena tidak terjadi perubahan warna pada pelarut. Hasil positif formalin akan menunjukkan warna larutan berubah menjadi ungu dan untuk negatif formalin warna tidak mengalami perubahan. Analisis yang dilakukan pada uji formalin menggunakan analisis kualitatif. Uji kualitatif hanya dapat menentukan ada atau tidaknya kandungan formalin namun tidak dapat menentukan kadar formalin yang terdapat dalam makanan. Analisis kualitatif yang paling mudah untuk dilakukan yaitu dengan cara menambahkan zat kimia (pereaksi) tertentu pada bahan yang diduga mengandung formalin, sehingga dihasilkan suatu perubahan warna yang khas (Widyaningsih dan Erni, 2006).

Beberapa efek negatif jangka pendek yang disebabkan oleh paparan formalin adalah iritasi saluran pernafasan dan pencernaan, muntah dan pusing. Dampak jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan pada hati, ginjal, jantung, limpa dan pankreas terjadinya penuaan (Mahdi, 2012).

### **Uji Boraks**

Sampel sate daging sapi yang diambil dari pedagang restoran dan gerobak. Dari pengambilan tersebut didapatkan informasi bahwa sebagian pedagang menghabiskan dagangannya dalam sehari dan ada yang disimpan dalam freezer. Untuk mengetahui apakah sate daging sapi tersebut diberikan zat tambahan atau tidak, maka sebanyak 20 sampel sate daging sapi dilakukan uji boraks. Dari pengujian yang dilakukan didapatkan hasil semua sampel negatif boraks. Uji borak yang positif ditandai dengan perubahan warna pada kertas uji dari warna kuning menjadi warna merah kecoklatan. Ini sesuai dengan pernyataan Muharrami (2015) dalam penelitiannya tentang kandungan boraks dalam kerupuk puli, dimana terjadi perubahan warna kurkumin dari kuning menjadi merah kecoklatan.

Pengujian deteksi kandungan boraks pada sampel sate daging sapi yang disimpan dalam lemari pendingin yang diuji menggunakan kertas kurkumin uji dapat dilihat pada gambar 19 di bawah ini.



Gambar 19. Hasil Pengujian Boraks

Berdasarkan gambar 19 di atas dapat dilihat bahwa semua sampel sate daging sapi yang diuji negatif boraks. Hal ini dapat diketahui dari perbedaan warna kertas uji antara sampel (kertas bagian atas) dan kontrol (kertas bagian bawah). Hasil uji negatif borak pada 20 sampel sate daging sapi yang diambil di Kecamatan Padang Barat Kota Padang menyatakan bahwa sate yang dijual bebas dari zat aditif boraks, sehingga aman untuk dikonsumsi.

Prinsip uji boraks dengan menggunakan Chemkit adalah terjadinya pembentukan senyawa rososianin berwarna merah bata dari reaksi antara boron (unsur yang terkandung dalam boraks) dan kurkumin ( $C_{21}H_{20}O_6$ ). Nama kimia dari boraks adalah natrium tetraborat dengan rumus  $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$  dan asam borat dengan rumus  $H_3BO_3$ . Dalam uji digunakan HCl yang berfungsi untuk menguraikan boraks dari ikatannya menjadi asam borat, kemudian kertas uji yang mengandung senyawa kurkumin dicelupkan yang nantinya akan mengikat boraks sehingga terbentuk reaksi kimia kompleks boron-kurkumin yang selanjutnya akan membentuk kompleks *rososianin* yang akan menghasilkan warna merah bata (Padmaningrum, 2013).

Test kit tersebut mempunyai 2 pereaksi yaitu pereaksi 1 berisi propilene berwarna putih, tembus cahaya, dan tertutup rapat. Pereaksi 2 berisi kertas pereaksi boraks. Boraks adalah senyawa yang berbentuk kristal, warna putih, tidak

berbau, dapat larut dalam air dan stabil pada suhu dan tekanan yang normal. Biasanya boraks digunakan sebagai bahan pengawet, antiseptik dan pembasmi kecoa. Dalam kehidupan sehari-hari boraks sering disalahgunakan sebagai bahan tambahan makanan untuk menambah rasa dan keawetan makanan (Mayasari & Mardiroharjo, 2012). Dalam kehidupan boraks dapat berdampak negatif dengan tingkatan dampak yang sangat buruk terhadap kesehatan manusia. Pada sistem metabolisme manusia borak berdampak racun yang sangat berbahaya (Suklan, 2002).



## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai Deteksi Kehalalan secara Molekuluer dan Biosekuriti Pada sate daging sapi di Kecamatan Padang Barat Kota Padang yang sudah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Deteksi kehalalan pada sampel daging sate sebanyak 20 sampel yang diambil di Kecamatan Padang Barat Kota Padang, semuanya halal.
2. Deteksi higienis secara biologis dan konservatif didapatkan hasil bahwa 20 sampel sate daging sapi yang belum dibakar sebanyak 13 sampel terkontaminasi *E. coli*, 1 sampel terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* di atas SNI dan negatif *Salmonella sp.* Untuk Sampel sate daging sapi yang sudah dibakar 20 sampel terkontaminasi *E. coli*, 20 sampel aman dari *Staphylococcus aureus*, 20 sampel negatif *Salmonella, sp.* 20 sampel negatif boraks dan formalin.

### B. Saran

Pada penelitian yang telah dilakukan, penulis memiliki beberapa saran :

1. Penjual sate daging sapi di Kecamatan Padang Barat Kota Padang harus selalu menjaga dan meningkatkan kebersihan diri dan lingkungan dalam proses produksi dan penyajian sate.
2. Pemerintah Kota Padang melalui dinas teknis harus selalu melakukan pembinaan, pengawasan dan evaluasi dalam penjaminan kehalalan dan biosekuriti sate daging sapi yang di jual di Kota Padang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adeberg, Jawetz and Melnick. 2008. *Medical Microbiology*. Edisi 23. Jakarta. Buku Kedokteran EGC
- Adinugroho, N. 2013. Pengaruh pemberian boraks dosis bertingkat terhadap perubahan gambar makroskopis dan mikroskopis hepar selama 28 hari. Karya tulis ilmiah fakultas kedokteran. Universitas Diponegoro Semarang.
- Alaridh, I.A. 2008. Improved DNA Extraction Method for Porcine Contaminants, Detection in Imported Meat to The Saudi Market, Saudi. *Journal of Biological Sciences*, Vol.15 No.(2), pp: 225-229.
- Andriyani, Nor Lutfi Fais dan Siti Muarifah. 2019. Perkembangan Penelitian Metode Deteksi Kandungan Babi Untuk Menjamin Kehalalal Produk Pangan Olahan. *Journal of Islamic Studies and Humanities*. Vol. 4 No.1 hal 104-126
- Arisanti, R.R., I. Citra, dan A.W Siswanto. 2018. Kontribusi agen dan faktor penyebab keracunan pangan di Indonesia: Kajian Sistematis. *Berita Kedokteran Masyarakat* 34 (3): 99-106.
- Cahyadi, W. 2009. *Bahan Tambahan Pangan*. Cet. 2. Bumi Aksara. Jakarta.
- Dooley J, Kelly E Paine, Stephen D. Garret, Helen M. Brown. 2004. Detection of Meat Spesies Using Tag Man real time PCR Assay. *Science Direct Meat Science* 68 (431-438).
- Gema Rahmadani. 2015. Halal dan Haram dalam Islam. *Jurnal Ilmiah Penegakan Hukum*. Volume 2 No. 2
- Handoyo dan A. Rudiretra. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerasi Chain Reaction (PCR). *Unitas*. Vol. 9 No. 1
- Hapsari, A., & Misrianti, R. 2007. GenSitokrom b Sebagai Penanda Molekuler untuk Mendeteksi Cemaran Daging Tikus pada Bakso. Laporan Penelitian Biologi Molekuler. Bogor: Lembaga Penelitian Institut Pertanian Bogor
- Indonesiakaya (2016). Dipetik April 20, 2016, dari [www.indonesiakaya.com](http://www.indonesiakaya.com): <http://www.indonesiakaya.com/kanal/detail/sate> padang si pedas gurih yang menggoyang lidah
- Jasmadi, Haryani Y., Jose C. 2014. Prevalensi Bakteri *Coliform* dan *Escherechia coli* Pada Daging Sapi yang Dijual Di Pasar Tradisional dan Pasar

Modern Di Kota Pekanbaru. JOM FMIPA Volume 1 No. 2 Universitas Riau

- Jawetz, E., Melnick, J.L. dan Adelberg, E.A., 2005, Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, Penerbit Salemba Medika, Jakarta
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. Modern Food Microbiology. Seventh Edition. USA. Springer Science and Bussuness Media Inc. p473-495.
- Jorgensen, J.H. and Turnidge, J.D. (2015) Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, American Society of Microbiology
- Karsinah, L., H.M., Suharto dan Mardiasuti, H.W. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran : Batang Negatif Gram Escherichia. : Binarupa Aksara Publisher. Tangerang.
- Kuntoro B, Maheswari RRA, Nuraini H. 2012. Hubungan Penerapan Standard Sanitation Operasional Procedure (SSOP) Terhadap Mutu Daging Ditinjau dari Tingkat Cemaran Mikroba. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan 15(2): 70-80
- Kusmasstuti., Himmatul B. dan Abdul H. 2011. Identifikasi Pola Khas Spektra Infra Merah Protein Kulit, Kikil dan Rambak Babi dan Sapi. Laporan Penelitian Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Latifatoel Chilmi, Tri Susilowati, Yuanita Rachmawati, Saiku Rokhim, Inggrit Tyautari. Uji Deteksi Gen DNA Encoding cyt b Pada Sampel Soft gel Candy Menggunakan Metode PCR. Journal of Halal Product and Research (JPHR). 2020
- Mahdi, C. 2012. Recognizing the Dangers of Formalin, Borax and Dangerous Dyes and Food
- Manning SD. 2010. Deadly Diseases and Epidemics: *Escherichia coli* Infection, 2<sup>nd</sup> Ed. Chelsea Publishers. New York
- Maulana Rahmad Sari, Mirna Nur Aulia dan Dony Riyadi. 2016. Sate Padang Sumatera Barat Sebagai Gastronomi Unggulan di Indonesia. The Journal Gastronomy Tourism. Volume 3 Nomor 2. Hal. 108
- Mayasari, D., & Mardiroharjo, N. (2012). Pengaruh Pemberian Boraks Peroral Sub Akut Terhadap Terjadinya Atrofi Testis Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus* Strain Wistar). Jurnal, 8(1); 22-27.

- Mercy. A. Lumare dan Irza N. Ranti. 2016. Kebersihan (Hygiene) Makanan dan Sanitasi di Rumah Makan Kampus. GIZIDO. Vol. 8 No. 1
- Method of Detecting Pork in Foods for Verifying Allergen Labeling and for Identifying Hidden Pork Ingredients in Processed Foods. Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol.71 No.7, pp: 1663-1667.
- Muharramin, L. K. 2015. Analisis Kualitatif Kandungan Boraks Pada Krupuk Puli di Kecamatan Kamal. Jurnal Pena Sains. Vol 2. No. 2
- Murugaiah, C., Noor, Z.M., Mastakim, M., Bilung, L.M., Selamat, J., Radu, S. 2009. Meat Species Identification and Halal Authentication Analysis using Mitochondrial DNA, Meat Science, Vol. 83, pp: 57– 61.
- NCBI. 2016. S.scrofa mitokondria cytb gene for cytochrome b. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. diakses pada tanggal 26 Agustus 2022.
- Nelwan RHH. 2007. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid III. Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK UI.
- Nugraha A, Ida BNGS, Ketut TPG. 2012. Deteksi Bakteri *Salmonella spp* dan Pengujian Kualitas Telur Ayam Buras. Indonesia Medicus Veterinus. 1 (3) hal 320-329
- Padmaningrum, RT., Marwati, S. 2013. Tester Kit untuk Uji Boraks dalam Makanan. Jurnal Penelitian Saintek. Universitas Negeri Yogyakarta. Vol 18
- Palupi, KT, Adiningsih, MW, Sunartatie, T, Afiff, U, Purnawarman, T. 2010. Pengujian Staphylococcus aureus pada Daging Ayam Beku yang Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyeberangan Merak. Majalah Kehewan Indonesia 1(2): 1-12.
- Paramitha G.W., Soprima M., Haryanto B., 2010. Perilaku Ibu Pengguna Botol Susu dengan Kejadian Diare pada Balita. Makara, Kesehatan. 14:46-50
- Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan.
- Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan No. 20 Tahun 2019 tentang Kemasan Pangan.
- Praja, D. I. 2015. Zat Aditif Makanan Manfaat Dan Bahayanya. Yogyakarta: Garudhawaca.
- Purnawijayanti, 2021. Sanitasi Higieni dan Keselamatan Kerja dalam Pengolahahn Makanan. Penerbit Kanisius, Jogjakarta.

- Rachmawati, Y. 2014. Karakter Fenotip dan Molekular Melon (Cucumis melo L. "Tacapa") pada Media Tanam Tanah Karst, Tesis Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Radji, M., 2011, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.
- Rima Rizky Amiruddin, Darniati, Ismail. 2017. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella sp* pada Ayam Bakar di Rumah Makan Kecamatan Syiah Kuala Kota Banda Aceh. *Jimvet*. 01(3) : 365-374.
- Soeparno. 2005. Ilmu dan Teknologi Daging. Edisi Ke-4. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- Songer, J. G., dan Post, K. W. 2005. *Veterinary Microbiology*. St. Louis: Elsevier.
- Suci, N. H., Darmawi, Rosmaidar, T. Armasyah, Maryulin Dewi, Faisal Jamin dan Fakhurrrazi. 2016. Pertumbuhan *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*). *Jurnal Medika Veterinaria*. Volume 2. No. 2
- Sucipto. 2012. Halal dan Haram Menurut Al-Ghazali Dalam Kitab Mau'idhotul Mukminin. Makalah Ajar Fakultas Syari'ah IAIN Raden Intan Lampung
- Suklan H., What and Why Borax in Food. *Water Health and Sanitasion (PAS)*.2002; Vol. IV Number 7
- Syarifah, I., Novarieta, E. 2015. Deteksi *Salmonella sp.* pada Daging Sapi dan Ayam. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*
- Tanabe, S., Miyauchi, E., Muneshige, A., Mio, K., Sato, C., & Sato, M., (2007), PCR Suardana, I.W dan I.B, Swacita . 2009. *Higiene Makanan*. Udayana University Press, Bali.
- Todar, K, 2020. Online Textbook of bacteriology. Overview of Bacteriology. <http://www.textbookofbacteriology.net/index.html>. Hal 5, Diakses pada 2 April 2022
- Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014. Tentang Jaminan Produk Halal. Pasal 4. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 295)
- Waharjani, 2015. Makanan Yang Halal Lagi Baik dan Implikasinya Terhadap Kesalahan Seseorang. *Jurnal Komunikasi dan Pendidikan Islam*, Volume 4, Nomor 2.
- Widayat, Tri Winarni Agustini, Meiny Suzery, Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, Silvia Rahmi Putri dan Kurdianto. 2019. Real Time Polymerase Chain

Reaction (RT-PCR) sebagai alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non Pangan. *Indonesisa Journal of Halal*

Widyaningsih, T. D., E. S. Murtini. 2006. *Alternatif Pengganti Formalin Pada Produk Pangan*. Trubus Agrisarana, Jakarta.

Yudha. 2012. "Polymerase Chain Reaction (PCR)". (Online). <http://biologi-yudha.blogspot.com/2012/06/polymerase-chain-reaction-pcr.html>.

Zuhriana. K,Y. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR) . *Saintek* 5(6)



## LAMPIRAN

Lampiran 1. Sampel Sate daging

Kode Sampel	Nama	Alamat
01	SD01	Kelurahan Pondok
02	SD02	Kelurahan Pondok
03	SD03	Kelurahan Pondok
04	SD04	Belakang tangsi
05	SD05	Belakang tangsi
06	SD06	Belakang tangsi
07	SD07	Kampung pondok
08	SD08	Pondok
09	SD09	Pondok
10	SD10	Taman Melati
11	SD11	Jl. M Yamin
12	SD12	Jl. M. Yamin
13	SD13	Pasar Raya
14	SD14	Jl. Permindo
15	SD15	Purus
16	SD16	Purus
17	SD17	Purus
18	SD18	Veteran
19	SD19	Veteran
20	SD20	Veteran

## Lampiran 2. Hasil Survei Cara Penyimpanan Produk

No	Kode Pedagang	Alamat Pedagang	Daging Sate langsung Habis Sehari	Penyimpanan di Freezer	Aditif
1	SD01	Kelurahan Pondok	√		
2	SD02	Kelurahan Pondok	√		
3	SD03	Kelurahan Pondok	√		
4	SD04	Belakang Tangsi		√	
5	SD05	Belakang Tangsi		√	
6	SD06	Belakang Tangsi		√	
7	SD07	kampung Pondok		√	
8	SD08	kampung Pondok	√		
9	SD09	kampung Pondok		√	
10	SD10	Taman Melati		√	
11	SD11	Jl. M Yamin		√	
12	SD12	Jl. M Yamin		√	
13	SD13	Pasar Raya	√		
14	SD14	Jl. Permindo	√		
15	SD15	Purus	√		
16	SD16	Purus	√		
17	SD17	Purus	√		
18	SD18	Veteran	√		
19	SD19	Veteran	√		
20	SD20	Veteran	√		