

# BAB I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Indonesia dengan penduduk mayoritas muslim membutuhkan jaminan kehalalan produk untuk dikonsumsi. Majelis Ulama Indonesia (MUI) dan LP-POM MUI berusaha memberikan ketenangan kepada masyarakat muslim Indonesia dalam hal konsumsi pangan dengan menerapkan adanya sertifikasi halal MUI. Menurut UU No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal, dinyatakan bahwa jaminan produk halal merupakan kepastian hukum terhadap kehalalan suatu produk yang dibuktikan dengan sertifikat halal. Sering dilaporkan pada media informasi mengenai pencampuran daging babi dalam produk-produk makanan yang dilabel atau dijual sebagai olahan daging sapi. Salah satu makanan olahan yang berpotensi dicampur dengan daging babi adalah sosis. Oleh karena itu, pengembangan metode yang spesifik, sensitif dan akurat untuk deteksi sekaligus kuantifikasi pencampuran daging babi pada produk olahan daging sapi selalu diperlukan<sup>1</sup>.

Berbagai metode deteksi telah dikembangkan untuk mengidentifikasi pencampuran kandungan daging pada suatu produk diantaranya *Mass Spectrometry*<sup>2</sup>, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR)<sup>3</sup>, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)<sup>4</sup> dan *Nuclear Magnetic Resonance*<sup>5</sup>. Metode-metode tersebut sangat spesifik dan akurat karena menganalisis urutan protein spesifik hewan tertentu. Kelemahan metode yang berbasis deteksi protein adalah membutuhkan sampel yang banyak dan kestabilan protein yang akan dianalisis. Protein sangat tidak stabil akibat pemanasan, perubahan pH, dan reaksi kimia, sehingga tidak cocok digunakan untuk deteksi pencampuran pada produk olahan daging. Prinsip deteksi yang bisa digunakan untuk mengetahui pencampuran daging pada produk olahan daging dan turunannya adalah dengan menganalisis DNA. Molekul DNA lebih stabil terhadap perubahan fisika dan perubahan kimia yang terjadi produk olahan daging<sup>6</sup>.

Metode yang sudah sering digunakan untuk menganalisis DNA adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode PCR dapat memperbanyak jumlah DNA dari sampel yang sangat sedikit sebelum dianalisis lebih lanjut. Sehingga metode PCR memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi dengan sensitivitas dan spesifitas tinggi, waktu pengerjaan singkat, dan *reproducible*<sup>6</sup>. Berbagai pengembangan metode PCR telah digunakan untuk mendeteksi adanya DNA target pada sampel seperti *simplex* PCR,

*mutlplex* PCR dan *Quantitative* PCR (qPCR). Metode qPCR sering juga dikenal sebagai *Real-Time* PCR adalah teknik untuk amplifikasi, deteksi dan kuantifikasi fragmen DNA secara bersamaan dan langsung. Kelebihan qPCR adalah waktu pengujian relatif cepat sekitar 70 menit dan hasil pengujian dapat dilihat langsung secara visual melalui grafik yang terbentuk pada komputer yang telah disambungkan dengan mesin qPCR<sup>7</sup>. Selain mendeteksi, qPCR sekaligus menghitung (kuantifikasi) jumlah target molekul DNA hasil amplifikasi tersebut secara tepat<sup>6</sup>.

Beberapa primer PCR yang telah dikembangkan untuk mendeteksi DNA mitokondria diantaranya primer-ND5 untuk deteksi DNA babi pada bakso<sup>8</sup> dan primer-12sRNA untuk deteksi DNA babi pada produk makanan<sup>9</sup>. Namun primer-primer tersebut digunakan hanya untuk PCR konvensional saja karena menghasilkan produk PCR dengan panjang besar dari 300 bp, sehingga belum cocok untuk kuantifikasi absolut dengan metode qPCR. Primer qPCR harus didesain menghasilkan produk sekitar 100 – 250 bp, maka dibutuhkan primer yang baru. Selain itu *melting temperature* ( $T_m$ ) harus lebih tinggi daripada PCR konvensional sekitar 60°C sampai 65°C<sup>10</sup>.

Deteksi DNA mitokondria menggunakan PCR memberikan beberapa keuntungan. DNA mitokondria berbentuk sirkular dan memiliki ribuan copy per sel. Bentuk mtDNA yang melingkar lebih stabil dalam waktu yang lama. Deteksi dengan melihat keberadaan mtDNA banyak digunakan untuk bidang forensik, antropologi, penentuan spesies spesifik, jumlah sampel yang sangat sedikit, sampel biologi yang sudah rusak karena penyimpanan yang lama atau proses fisika. DNA mitokondria memiliki 13 daerah gen yang mengkode protein, 2 gen pengkode rRNA dan 22 gen pengkode tRNA sehingga memiliki 37 gen. Diantaranya daerah *Displacement Loop* (D-Loop) dan gen sitokrom b (*cyt b*) yang memiliki variasi tinggi antar organisme sehingga bisa digunakan untuk spesies spesifik<sup>11</sup>.

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil mendeteksi secara kualitatif adanya DNA babi pada sampel gelatin dan cangkang kapsul *food supplement* menggunakan primer spesifik yang dirancang pada DNA mitokondria daerah *cyt b*. Primer yang digunakan pada penelitian tersebut menghasilkan panjang amplicon 581 bp dengan sensitivitas hanya sampai 1 pg<sup>12</sup>. Deteksi DNA secara kuantitatif dan jumlah DNA lebih kecil dari 1 pg dapat dilakukan dengan menggunakan metode qPCR. Maka, pada penelitian ini perlu didesain primer baru pada daerah D-Loop dan sitokrom b untuk mendeteksi dan mengkuantifikasi DNA babi dengan metode qPCR dan sebagai

aplikasinya primer tersebut digunakan untuk deteksi DNA babi dalam produk sosis yang beredar di Kota Padang.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Bagaimana urutan primer yang spesifik untuk absolut kuantifikasi daerah D-Loop dan gen sitokrom b DNA mitokondria babi
2. Apakah sosis yang beredar di Kota Padang mengandung DNA babi dengan jumlah tertentu?

## **1.3 Tujuan**

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan urutan primer spesifik untuk absolut kuantifikasi D-Loop dan gen sitokrom b DNA mitokondria babi
2. Mendeteksi dan melakukan kuantifikasi absolut kandungan DNA babi pada beberapa jenis sosis yang beredar di Kota Padang dengan metode qPCR.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat, antara lain:

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang jenis daging yang terkandung dalam produk sosis di Kota Padang.
2. Penelitian ini dapat memberikan manfaat pembelajaran dalam bentuk teori dan eksperimen bagi peneliti, dan sebagai referensi bagi peneliti selanjutnya yang terkait dengan penelitian ini.

