

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Konsumsi daging dan produk olahan daging terus mengalami peningkatan di seluruh dunia (Ursachi *et al.*, 2021) tak terkecuali di negara berkembang seperti Indonesia. Peningkatan tersebut salah satunya disebabkan karena daging dan produk olahan daging menyediakan sumber protein berkualitas tinggi, mengandung vitamin, mineral, dan zat gizi mikro yang tidak banyak diproduksi di dalam tubuh namun sangat diperlukan untuk berbagai aktivitas tubuh (Hossain *et al.*, 2020). Selain itu, penampakan produk yang lebih menarik dan cita rasa yang bervariasi menyebabkan produk olahan daging diterima baik oleh konsumen (Sembor, 2012). Adapun produk olahan daging yang beredar di Indonesia dan paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat terutama kalangan anak-anak diantaranya *nugget*, sosis, dan bakso (Muslimatun & Ari Wiradnyani, 2016) yang terus dimodifikasi dengan tujuan untuk menarik minat masyarakat untuk membeli dan mengkonsumsinya.

Pada konsumsi produk olahan daging, selain aspek nutrisi terdapat aspek lain yang selalu diperhatikan oleh konsumen yaitu kehalalan pangan (Firdausi *et al.*, 2020). Kehalalan produk pangan merupakan persyaratan yang harus terpenuhi terutama bagi masyarakat Indonesia yang mayoritas beragama Islam, sehingga produk pangan yang beredar di Indonesia harus berlabel halal (Rachmawati *et al.*, 2018). Sejalan dengan meningkatnya *halal lifestyle* dimasyarakat, permintaan konsumen terhadap info nutrisi dan pelabelan makanan yang jelas (halal/non halal) juga meningkat, baik dari kalangan muslim maupun non muslim (Firdausi *et al.*, 2020; Hrbek *et al.*, 2020). Pemerintah Indonesia telah membuat regulasi mengenai kehalalan pangan (Mahbubi *et al.*, 2019), namun masih banyak produsen yang melakukan pemalsuan produk olahan daging dengan mencampur atau mengganti jenis daging dengan daging yang tidak halal seperti babi dan tikus dengan tujuan menekan biaya produksi dan meningkatkan cita rasa (Indriati & Yuniarsih, 2019; Rahmania *et al.*, 2015).

Kasus pemalsuan produk olahan daging di Indonesia sering dikabarkan oleh media masa. Iswinarno (2020) mengabarkan adanya kasus pedagang yang menjual

daging oplosan sapi dan babi kepada penjual bakso dan rendang yang dipasarkan ke beberapa daerah di Jawa Barat. Martinus (2016) juga mengabarkan adanya kasus pedagang yang mencampurkan daging tikus got pada daging ayam di Sulawesi Utara. Selain itu, Sari (2017) menemukan DNA babi pada sampel produk olahan daging di Pasar Tradisional Riau. Permasalahan ini tentu meresahkan masyarakat karena produk olahan daging yang dikonsumsi sulit dibedakan tampilannya dengan mata telanjang (Riris *et al.*, 2019). Oleh karena itu, metode deteksi spesies pada produk olahan daging terus dikembangkan salah satunya melalui teknik amplifikasi DNA melalui *Multiplex-PCR* dan penggunaan penanda genetik DNA (Alikord *et al.*, 2017).

Penggunaan penanda genetik DNA diharapkan dapat membantu proses deteksi, karena penanda DNA merupakan bagian DNA yang bertindak sebagai ciri dan bersifat spesifik, sehingga dapat memudahkan dalam proses deteksi jenis daging pada produk olahan daging (Widateti *et al.*, 2015). DNA mitokondria (mtDNA) merupakan salah satu penanda DNA yang biasa digunakan untuk identifikasi spesies dan ditemukan pada sel hewan dalam banyak salinan (Hossain *et al.*, 2020). *Multiplex-PCR* merupakan salah satu teknik PCR dengan tingkat akurasi dan sensitivitas yang tinggi, bersifat spesifik, cepat serta efisien dibandingkan PCR konvensional (Kitpipit *et al.*, 2014). *Multiplex-PCR* dapat mengamplifikasi beberapa siklus target (2-5 sampel) secara bersamaan dalam satu tabung (Kim *et al.*, 2016), sedangkan PCR konvensional hanya dapat mengamplifikasi satu siklus target dalam satu tabung.

Alikord *et al.* (2017) berhasil menggunakan m-PCR dan penanda DNA sebagai metode paling spesifik dan sensitif mendeteksi kontaminasi daging kuda, keledai, dan babi pada produk olahan daging berlabel halal di Turki. Indriati & Yuniarsih (2019) juga menggunakan m-PCR dan gen *Cyt b* untuk deteksi adanya kontaminasi daging babi pada produk olahan daging sapi di Indonesia. Bagaimanapun kasus pemalsuan produk olahan daging di Indonesia tidak hanya disebabkan kontaminasi daging babi, tetapi banyak juga ditemukan kontaminasi daging tikus. Oleh karena itu, penggunaan *Multiplex-PCR* dan penanda DNA untuk mendeteksi kontaminasi daging tikus dan babi pada produk olahan daging yang beredar di Indonesia perlu dilakukan.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari Program Kreativitas Mahasiswa Riset Eksakta (PKM-RE) 2021 yang dilakukan oleh peneliti dan telah berhasil menggunakan *Multiplex*-PCR dan mendesain primer multipleks yang menghasilkan amplicon berukuran 272 bp dari primer ayam, 522 bp dari primer sapi, 622 bp dari primer babi, dan 588 bp dari primer babi. Namun, hasil visualisasi produk *Multiplex*-PCR menggunakan elektroforesis gel agarose menunjukkan amplicon dari primer babi, sapi dan tikus belum dapat terbedakan. Perbedaan ukuran amplicon masing-masing primer babi, sapi dan tikus <200 bp (perbedaan ukuran amplicon babi-tikus:34 bp, sapi-tikus:100 bp dan babi-sapi:66 bp). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan desain ulang primer babi dan sapi yang akan menghasilkan amplicon dengan perbedaan ukuran masing-masing primer ≥ 200 bp baik dengan primer ayam maupun primer tikus, sehingga kombinasi primer multipleks yang telah didesain ulang akan digunakan dalam *Multiplex*-PCR untuk deteksi cepat kehalalan spesies pada produk olahan daging.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu “Bagaimana urutan pasangan primer multipleks babi, tikus, sapi, dan ayam yang mampu menghasilkan amplicon yang dapat terbedakan melalui hasil elektroforesis gel agarose?”.

1.3. Pertanyaan Penelitian

1. Apakah primer babi dan sapi yang akan didesain ulang bersifat spesifik dan memenuhi standar primer untuk *Multiplex*-PCR?
2. Apakah primer babi dan sapi yang akan didesain ulang dapat digunakan bersama primer ayam dan tikus dalam *Multiplex*-PCR secara *in silico*?
3. Bagaimana kualitas genom DNA yang diekstraksi dari sampel daging dan produk olahan daging?
4. Bagaimana kondisi (suhu *annealing*) optimum untuk *Multiplex*-PCR secara *in vitro* sehingga dihasilkan amplicon ayam, babi, tikus dan sapi yang dapat terbedakan melalui elektroforesis gel agarose?
5. Apakah kombinasi primer multipleks gen penanda halal dapat digunakan untuk deteksi cepat kehalalan jenis daging atau spesies pada produk olahan daging?

1.4. Batasan Masalah

1. Spesies yang digunakan yaitu ayam (*Gallus gallus domesticus*), tikus (*Rattus norvegicus*), sapi (*Bos taurus*) dan babi (*Sus scrofa*).
2. Primer yang akan didesain ulang hanya primer babi dan sapi dengan perbedaan ukuran masing-masing primer minimal 200 bp baik dengan primer ayam maupun primer tikus.
3. Parameter yang digunakan untuk optimasi proses amplifikasi yaitu suhu *annealing* (Ta) berdasarkan penelitian Qin (2019) yang dimodifikasi.
4. Parameter keberhasilan amplifikasi *Multiplex*-PCR menggunakan primer multipleks gen penanda halal yaitu visualisasi hasil amplifikasi dengan elektroforesis gel agarose mampu membedakan amplicon ayam, babi, sapi, dan tikus.
5. Parameter kehalalan produk olahan daging yang akan diteliti tidak didasarkan pada prosedur penyembelihan hewan, akan tetapi didasarkan pada hewan atau spesies yang terdeteksi yaitu hewan yang halal dikonsumsi menurut ajaran islam seperti sapi dan ayam serta hewan yang haram dikonsumsi seperti tikus dan babi.

1.5. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu mendesain urutan pasangan primer multipleks babi, tikus, sapi, dan ayam yang mampu menghasilkan amplicon yang dapat terbedakan melalui hasil elektroforesis gel agarose.

1.6. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini yaitu kombinasi primer multipleks gen penanda halal yang telah didesain dan teknik *Multiplex*-PCR yang dioptimasi dapat membantu dalam pendeteksian kehalalan jenis daging pada produk olahan daging secara cepat dan mudah dengan biaya yang lebih murah.

1.7. Struktur Organisasi

Skripsi ini secara garis besar terdiri dari lima bagian. Seluruh bagian dalam skripsi ini saling berkaitan dan melengkapi isi dari skripsi. Bagian tersebut antara lain Bab I Pendahuluan, Bab II Tinjauan Pustaka, Bab III Metode Penelitian, Bab IV Temuan dan Pembahasan, serta Bab V Simpulan, Implikasi, Rekomendasi, dan

Hambatan penelitian. Bab I terdiri dari latar belakang penelitian, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, batasan masalah, tujuan serta manfaat dari penelitian yang dilakukan. Bab II berisi penjelasan mengenai tinjauan atau kajian pustaka yang relevan dengan penelitian yang dilakukan. Kajian tersebut meliputi: Daging dan produk olahan daging, Makanan halal, Penanda genetik, DNA mitokondria (mtDNA), *Multiplex-Polymerase Chain Reaction* (Isolasi DNA, Elektroforesis gel Agarose). Bab III berisi metode pada penelitian yang dilakukan, antara lain jenis penelitian, waktu dan tempat penelitian, prosedur penelitian, indikator keberhasilan, teknik pengumpulan data dan analisis data, penafsiran dan penyimpulan data serta diagram alir penelitian. Bab IV berisi temuan atau hasil penelitian serta pembahasan mengenai penelitian yang dilakukan yang didukung dengan teori yang relevan dari penelitian yang telah dilakukan oleh para peneliti sebelumnya. Bab V berisi kesimpulan, implikasi, rekomendasi serta hambatan penelitian yang dapat dijadikan sebagai acuan atau penunjang untuk pengembangan dan keberhasilan penelitian selanjutnya.