

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Makanan Olahan Daging

Seiring dengan meningkatnya kesejahteraan, tingkat pendapatan dan tingkat pendidikan di masyarakat saat ini, keamanan pangan menjadi penting artinya untuk mendapatkan pangan yang sehat dan aman. Ketersediaan pangan yang sehat dan aman menjadi kunci utama mencapai tingkat gizi yang baik. Perlu proses panjang melalui mata rantai produksi mulai dari penyediaan bibit, prapanen, hingga pasca panen untuk mendapatkan pangan demikian (Bahri dkk., 2006).

Berdasarkan Undang-undang No. 7 tahun 1996, 'pangan' didefinisikan sebagai segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang telah diolah maupun tidak diolah untuk dimanfaatkan sebagai makanan atau minuman, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku, dan bahan lain yang digunakan dalam proses persiapan, pengolahan, dan pembuatan makanan atau minuman (Bahri dkk., 2006).

Menurut Marwanti (2010), ada beberapa macam komponen makanan yang dapat mengancam kesehatan manusia melalui konsumsi makanan, misalnya zat pewarna sintetis, bahan pengawet, dan pemanis buatan. Sedangkan menurut Bahri dkk. (2006), dari awal tahun 2000 banyak beredar produk pangan yang dipalsukan (khususnya pemalsuan daging) dan penggunaan bahan pengawet berbahaya. Isu utama keamanan pangan asal ternak umumnya terdiri dari peredaran daging ayam tiren (mati kemaren), daging ayam berformalin dan boraks, daging sapi

glonggongan (sapi dicekok air sebanyak-banyaknya), dan pemalsuan daging sapi dengan daging kanguru atau daging celeng. Peredaran daging palsu sangat meresahkan dan membahayakan kesehatan masyarakat karena tidak terjamin kualitas dan keamanan pangannya.

Menurut Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-obatan, dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia (2012), salah satu syarat atau kriteria mendapatkan Sertifikasi Jaminan Halal adalah bahan yang digunakan untuk membuat suatu produk makanan tidak boleh berasal dari babi dan turunannya, khamir (minuman beralkohol), turunan khamir yang diperoleh hanya dengan pemisahan secara fisik, darah, bangkai, dan bagian dari tubuh manusia. Line produksi dan peralatan pembantu tidak boleh digunakan secara bergantian untuk menghasilkan produk halal dan produk yang mengandung babi atau turunannya.

Daging didefinisikan oleh Codex Alimentarius sebagai semua bagian dari hewan yang dimaksudkan untuk atau telah dinilai aman dan cocok untuk konsumsi manusia. Daging terdiri dari air, protein dan asam amino, mineral, lemak dan asam lemak, vitamin, dan komponen bioaktif lainnya, dan sedikit karbohidrat (FAO, 2007).

Pemerintah telah mencanangkan swasembada daging pada tahun 2010, sehingga potensi untuk memanfaatkan daging terbuka peluangnya. Masyarakat yang kini menjadi lebih kreatif, meningkatkan nilai jual daging mentah menjadi produk makanan siap konsumsi. Pihak industri sering mengolah daging menjadi kornet atau daging giling, sedangkan pada tingkat rumah tangga sering digunakan sebagai campuran untuk masakan rawon dan sop. Menurut Boles (2007), hanya

25% hasil karkas merupakan bagian daging yang biasa dikonsumsi sebagai steak dan kebab, di mana sebagian besar karkas diproses menjadi sosis dan hamburger.

Sosis sapi (daging) sebagai salah satu produk industri pangan, memiliki standar mutu yang telah ditetapkan SNI. Adapun standar mutu sosis menurut Standar Nasional Indonesia (SNI 01-3820-1995), dijabarkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Sosis Daging

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau	-	Normal
1.2	Rasa	-	Normal
1.3	Warna	-	Normal
1.4	Tekstur	-	Normal
2	Air	% b/b	Maks. 67,0
3	Abu	% b/b	Maks. 3,0
4	Protein	% b/b	Min 13,0
5	Lemak	% b/b	Maks. 25,0
6	Karbohidrat	% b/b	Maks. 8
7	Bahan tambahan makanan		
7.1	Pewarna	Sesuai dengan SNI 01-0222-1995	
7.2	Pengawet		
8	Cemaran logam :		
8.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 2,0
8.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 20,0
8.3	Seng (Zn)	mg/kg	Maks. 40,0
8.4	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0 (250,0*)
8.5	Raksa (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03
9	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	Maks. 0,1
10	Cemaran Mikroba :		
10.1	Angka total lempeng	koloni/g	Maks. 10 ⁵
10.2	Bakteri bentuk koli	APM**/g	Maks. 10
10.3	<i>Escherichia coli</i>	APM**/g	< 3
10.4	<i>Enterococci</i>	koloni/g	10 ²
10.5	<i>Clostridium perfringens</i>	-	Negatif
10.6	<i>Salmonella</i>	-	Negatif
	<i>Staphylococcus aureus</i>	koloni/g	Maks. 10 ²

*kemasan kaleng

**Angka Paling Memungkinkan

B. Metode Deteksi Cemarannya Pangan

Perlindungan konsumen, perdagangan, dan pelaksanaan undang-undang pelabelan bahan pangan merupakan upaya dalam tuntutan pengembangan metode deteksi dan identifikasi jenis daging dan olahannya yang terus meningkat. Tujuan mengetahui sumber daging yang digunakan dalam produk olahan dapat dicapai melalui teknik identifikasi daging yang cepat, murah, dan akurat. Pencegahan terjadinya praktek kecurangan (pemalsuan) oleh oknum dalam produk pangan menjadi bagian penting dalam menjaga regulasi produk pangan.

Identifikasi jenis daging dapat dilakukan dengan menggunakan protein dan metode berbasis DNA. Metode dengan menggunakan protein, antara lain yaitu SDS-PAGE (*Lauryl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) dan ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). SDS-PAGE atau elektroforesis gel poliakrilamida-Sodium Dodecil Sulfat adalah teknik elektroforesis gel yang menggunakan poliakrilamida untuk memisahkan protein yang bermuatan berdasarkan berat molekulnya saja (Hemes, 1998). ELISA merupakan teknik imunologi yang menggunakan enzim untuk mendeteksi adanya antibody atau antigen dalam sebuah sampel (Asensio dkk., 2007). Kelemahan metode menggunakan protein adalah protein mudah terdenaturasi setelah pemasakan, tergantung pada pola ekspresi protein (Rastogi dkk., 2004) sehingga hanya dapat digunakan pada bahan segar (mentah), memerlukan sampel yang cukup banyak dan keakuratannya rendah dalam keadaan matang (Kesmen dkk., 2007).

Kelemahan-kelemahan tersebut menyebabkan perlunya metode yang dapat menghasilkan analisa yang pasti dan dapat digunakan pada sampel yang telah

dimasak. Metode menggunakan amplifikasi PCR dari gen spesifik digunakan untuk tujuan ini karena DNA masih dapat diamplifikasi setelah sampel dimasak (Rastogi dkk., 2004). Hibridisasi DNA dapat digunakan untuk melihat beragam sampel yang telah dicampur dengan menggunakan berbagai *probe*. Hibridisasi DNA memiliki kelemahan yaitu sangat tergantung pada kondisi eksperimen dan dibutuhkan *probe* yang spesifik untuk masing-masing spesies (Lenstra dkk., 2001). Kuantitas DNA yang relatif sedikit sulit untuk diidentifikasi, sehingga identifikasi jenis berbasis DNA lebih sering menggunakan metode PCR (Saiki dkk., 1988).

Menurut Ghovvati dkk. (2009), beberapa teknik molekuler digunakan dalam identifikasi jenis daging, yaitu hibridisasi DNA, dan metode berbasis PCR seperti analisis *Single Strand Conformation Polymorphism* (SSCP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Banyaknya penggunaan metode PCR dalam penelitian deteksi cemaran pangan karena akurasinya yang baik, maka masing-masing metode analisis berbasis PCR dijabarkan sebagai berikut

1. *Single Strand Conformation Polymorphism* (SSCP)

Metode ini merupakan metode analisis dengan teknik sederhana dan sensitif untuk mendeteksi mutasi dan genotip. Prinsip analisis SSCP didasarkan pada fakta bahwa DNA untai tunggal memiliki konformasi terdefiniskan (Dong dan Zhu, 2005). PCR digunakan untuk mengamplifikasi daerah yang diinginkan dan DNA

yang dihasilkan terpisah menjadi molekul untai tunggal melalui elektroforesis dalam gel poliakrilamid yang tidak mendenaturasi (Orita dkk., 1989).

Metode SSCP telah digunakan untuk mengidentifikasi beragam jenis ikan (Rehbein dkk., 1995; Rehbein dkk., 1997; Rehbein dkk., 1998). Metode ini juga dapat digunakan untuk membedakan daging babi Eropa dengan babi hutan (Rea dkk., 1996).

2. *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD-PCR)*

Metode ini merupakan metode perbanyakan fragmen DNA dengan PCR menggunakan primer buatan yang pendek (biasanya 10 bp) dari sekuen yang *random*. Oligonukleotida tersedia sebagai primer *forward* dan primer *reverse* dan biasanya digunakan untuk memperbanyak fragmen dari 1-10 daerah genom secara terus menerus. Perbanyakan fragmen biasanya rentang ukuran 0,5-5 kb dipisahkan dengan elektroforesis gel agarosa, dan polimorfisme terdeteksi, setelah ethidium bromide ditambahkan untuk menunjukkan keberadaan atau ketiadaan pita dari ukuran yang diteliti. Polimorfisme ini dipertimbangkan menjadi yang utama karena variasi daerah penempelan primer, namun polimorfisme juga bisa dihasilkan dari perbedaan panjang dalam amplifikasi sekuen antara daerah penempelan primer (Treuren, 2016).

RAPD sudah digunakan untuk banyak penelitian untuk meneliti hubungan spesies yang berdekatan. RAPD juga digunakan

untuk penelitian *mapping* gen untuk mengisi celah yang tidak terliputi oleh *marker* lain (Treuren, 2016). RAPD yang digunakan untuk mengetahui jenis daging pada proses pembuatan produk makanan juga membentuk pola sidik jari (Martinez dan Man, 1998).

3. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Metode PCR ini merupakan metode amplifikasi yang paling populer. Teknik PCR mampu membuat target yaitu asam nukleat lebih dari satu miliar kali lipat dari sampel DNA yang sangat sedikit atau dalam batas untuk deteksi (Nollet dan Toldra, 2011). Sampel yang dibutuhkan lebih sedikit dibandingkan dengan pengujian berbasis protein.

Salah satu metode hibridisasi DNA ini merupakan metode yang sangat praktis dan akurat, mempunyai kelebihan dapat mendeteksi DNA yang sudah terdegradasi dalam kandungan yang sangat sedikit (Nuraini, 2004). Beberapa jenis analisis PCR digunakan karena sudah mengamplifikasi daerah target dari DNA cetakan dalam waktu yang lebih singkat sehingga cocok untuk identifikasi daging dan produk olahan daging.

Calvo dkk. (2001) mengembangkan dan mengevaluasi prosedur PCR untuk mendeteksi daging babi dalam sosis dan makanan kaleng menggunakan DNA spesifik babi. Kemampuan PCR mengidentifikasi kontaminan mencapai 0,00005% daging babi dalam daging sapi. Metode ini juga dapat menentukan kuantitas cemaran

daging pada produk makanan mentah maupun yang telah dimasak dengan memperkirakan densitas bagian DNA tertentu.

4. *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*

Analisis PCR-RFLP yang dikenal juga sebagai amplifikasi pembelahan sekuen polimorfik adalah teknik yang populer untuk analisis genetic. Teknik ini telah digunakan untuk deteksi intraspecies sebaik variasi interspecies. Ada beberapa teknik yang berhubungan dengan PCR-RFLP dan juga mengikutsertakan gel elektroforesis meliputi teknik untuk DNA *fingerprinting* dan *expression profiling* (Rasmussen, 2012).

Langkah awal dalam analisis PCR-RFLP adalah amplifikasi fragmen yang mengandung banyak variasi. Hal ini diikuti dengan perlakuan amplifikasi fragmen dengan enzim restriksi yang tepat. Ada atau tidaknya hasil daerah pengenalan enzim restriksi dalam pembentukan fragmen restriksi yang berbeda ukuran, identifikasi alel dapat dilakukan dengan resolusi elektroforesis fragmen (Rasmussen, 2012).

Lenstra dkk. (2001) melakukan RFLP menggunakan enam enzim restriksi (AluI, HaeIII, HinfI, MboI, RsaI, TaqI) pada sembilan jenis (ayam, kalkun, babi, sapi, kerbau, domba, kambing, kuda dan manusia). Hasil panjang fragmen dari proses PCR-RFLP dari 359 bp *cyt c* yang dihasilkan dari masing-masing enzim restriksi terhadap masing-masing spesies dijabarkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Fragmen *Species-specific restriction enzyme* dari fragmen PCR cyt c 359 bp yang dihasilkan oleh primer yang terindikasi

Spesies	Enzim					
	RsaI	AluI	HinfI	TaqI	HaeIII	MboI
Ayam	210, 149					
Kalkum	149, 109, 101					
Babi		244, 115				
Sapi			198, 117, 44			
Kerbau				191, 169		
Domba					159, 126, 74	
Kambing						213, 115, 31
Kuda		274, 169, 105, 85				
Manusia						119, 115, 52

Ong dkk. (2007) dan Soedjono (2004) mendeteksi kandungan bahan makanan menggunakan AluI, BsaJI dan RsaI dan berhasil membedakan antara DNA babi, sapi, dan ayam dari sampel yang mengandung sedikitnya 0,25 mg daging atau hingga konsentrasi 0,01%.

C. *Porcine Repetive Element*

Ada serangkaian molekul DNA di dalam lokus yang berfungsi sebagai penyandi genetik terbentuknya protein, DNA semacam ini disebut gen. Ada pula serangkaian molekul DNA di dalam lokus yang tidak berfungsi tetapi mempunyai susunan nukleotida yang khas. Pada lokus-lokus tertentu susunan DNA dari

spesies yang satu mungkin sama atau hampir sama dengan susunan DNA dari spesies lainnya. Demikian juga sebaliknya, adapula lokus tertentu yang susunan DNA penyusunnya sangat spesifik terdapat pada satu spesies tertentu saja (Muladno, 2001).

Lokus-lokus yang mempunyai sekuens DNA khas dan spesifik tersebut yang menarik untuk digunakan sebagai penciri DNA. Dengan berkembangnya teknologi DNA hingga sekarang telah banyak ditemukan berbagai macam penciri DNA diantaranya *Restriction Fragment Length Polymorfism* (RFLP), mini satelit, mikrosatelit, *Short Interspersed Nuclear Element* (SINE), *Long Interspersed Nuclear Element* (LINE), dan lain-lain (Muladno, 2001).

Jerilyn dkk. (2003) melakukan uji PCR intra-*Short Interspersed Elements* (SINE) guna mengidentifikasi spesies sapi, babi, ayam, dan ruminansia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada genom babi terdeteksi lokus intra-SINE PRE-1, lokus ini hanya terdapat pada genom babi. Sulandari dkk. (1997) melakukan evaluasi dari 13 lokus PRE-1 terhadap babi (*Sus scrofa*) dan kerabatnya yaitu *Phacochoerus aethiopicus* dan *Tayassu tajacu*. Hasil evaluasi ini menunjukkan bahwa ketiga spesies tersebut mempunyai urutan PRE-1 di dalam genomnya, sedangkan terhadap spesies *Hippopotamus amphibicus* tidak ditemukan adanya PRE-1. Hal ini menunjukkan bahwa PRE-1 secara spesifik hanya terdapat pada babi dan kerabat dekatnya saja.

D. Primer Pendeteksi Cemaran Pangan

Salah satu gen mtDNA adalah gen *cytochrome b*. *Cytochrome b* (*cyt b*) adalah salah satu bagian dari sitokrom yang terlibat dalam transportasi elektron

dalam mitokondria. Gen *cyt b* dikodekan oleh DNA mitokondria. Adanya variasi urutan pada *cyt b* menyebabkan gen ini banyak digunakan untuk membandingkan spesies dalam genus atau famili yang sama (Widayanti, 2006). Gen *cyt b* ditemukan pada hewan mamalia seperti *Rattus norvegicus*, *Capra hircus*, *Gallus gallus*, *Bos taurus*, *Ovis aries*, *Sus scrofa*, *Equus caballus*, dan *Cavia porcellus* (Primasari, 2011).

Primer universal *cyt b* secara terus menerus dapat mengamplifikasi fragmen yang terdiri dari 359 bp dari gen *cyt b*. Keuntungan dari menggunakan primer universal adalah sebagai kontrol yang dapat digunakan untuk melihat keberhasilan amplifikasi DNA. Selain itu, karena tiap sel mengandung hingga 1000 kopi dari lokus *cyt b* sehingga berguna untuk analisis PCR yang harus meningkatkan sensitifitas untuk membandingkan satu atau *copy* DNA target yang rendah (Ong dkk., 2007).

Wardhana dan Muharsini (2004) melakukan penelitian untuk mengetahui variasi gen *cyt b* pada *Chrysomya bezziana* menggunakan primer CB1SE-CB3R3A, di mana primer ini dapat mengamplifikasi gen *cyt b* berukuran 439 bp. Hasil penelitian ini adalah pohon filogenetik dari populasi *C. Bezziana* yang dihubungkan dengan fragmen gen *cyt b*. Erwanto dkk. (2012) melakukan identifikasi daging babi menggunakan metode PCR-RFLP gen *cyt b* dan PCR primer spesifik gen amelogenin. Hasil penelitian Erwanto dkk. ini menunjukkan bahwa dengan enzim BseDI pada amplicon mitokondrial gen *cyt b* dapat digunakan untuk mendeteksi kontaminasi daging babi. Gen *cyt b* digunakan sebagai primer universal hewan mamalia.

Muangkram dkk. (2016) menggunakan primer P195 untuk mengidentifikasi spesies mamalia berdasarkan sekuen *cyt b*. Primer P195 dapat mengamplifikasi sekuen *cyt b* dengan ukuran kurang dari 200 bp. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini adalah pohon filogenetik yang menggambarkan kekerabatan antara spesies mamalia yang terancam punah.

Tanabe dkk. (2007) melakukan penelitian menggunakan metode PCR untuk mengidentifikasi daging babi pada makanan olahan. Gen yang menjadi target identifikasi ini adalah gen *cyt b*. Urutan 6 primer yang digunakan dirancang dari urutan *cyt b* pada DNA babi yang sudah dipublikasi. Produk PCR yang dihasilkan dari pasangan primer F1-R1, F1-R2, F1-R3, F2-R1, F2-R2, F2-R3, F3-R1, F3-R2, dan F3-R3 adalah 148, 212, 268, 130, 194, 250, 45, 109, dan 165 bp. Proses pembuatan makanan dapat mendegradasi DNA, sehingga kemungkinan ukuran DNA yang tertinggal sekitar 60-150 bp. Hasil penelitian Tanabe dkk. mendapatkan bahwa penggunaan pasangan primer yang tepat untuk mendeteksi cemaran babi adalah F2-R1 dengan ukuran produk PCR sebesar 130 bp.

Yoshida dkk. (2009) menggunakan primer PPA 6 dan PPA 8 untuk mendeteksi DNA babi. Primer PPA 6 dan PPA 8 ini masing-masing akan mengamplifikasi daerah spesifik pada DNA mitokondria (*cyt b*). Primer PPA 6 akan mengamplifikasi daerah *mtATP6* sepanjang 83 bp, sedangkan primer PPA 8 akan mengamplifikasi daerah *mtATP8* sepanjang 126 bp. Hasil dari penelitian Yoshida dkk. ini menunjukkan bahwa sampel daging babi pada masing-masing primer menunjukkan hasil positif DNA babi, sedangkan sampel selain daging babi (kelinci, tikus, manusia, ikan, dan sayuran) menunjukkan hasil negatif.

Primer P14 merupakan salah satu dari 13 primer yang dapat menunjukkan lokus PRE-1 pada genom babi, dan menjadi salah satu standar analisis makanan mengandung daging babi di Laboratorium Genetika Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) (Fibriana dkk., 2012). Hasil penelitian Irawati (2001) mengenai pemanfaatan primer P408 untuk mendeteksi daging babi pada produk sosis menunjukkan bahwa meskipun sosis sudah diberi perlakuan fisik, DNA berhasil diisolasi. Produk PCR menunjukkan bahwa DNA babi di dalam sosis dapat diamplifikasi.

Penelitian dari Muladno dkk. (1999) mengenai bakso sapi yang disengaja dicampur daging babi. Hasil PCR menggunakan P131 dan P408 menunjukkan amplifikasi region PRE-1 pada bakso mengandung daging babi menghasilkan produk PCR sepanjang 478 dan 458 bp, dan semua bakso yang mengandung daging babi dapat terdeteksi. Dengan demikian, upaya mendeteksi daging babi di dalam produk olahan daging seperti sosis dan bakso menggunakan teknik PCR memberikan hasil yang tidak meragukan.

E. Sequencing

Menurut Griffin dan Griffin (1993), sekuensing adalah suatu metode atau proses untuk mengetahui urutan nukleotida pada suatu fragmen DNA. Diketuainya urutan nukleotida pada suatu fragmen DNA yang diinginkan, merupakan langkah untuk menentukan suatu genom hanya dengan mempelajari bagiannya. Sebuah DNA memiliki ribuan hingga jutaan urutan nukleotida, maka sulit untuk mempelajari genom secara utuh.

Penelitian yang dilakukan Rambe dkk. (2014) untuk menganalisis filogenetik dari jamur *Trichoderma* sp., dilakukan proses sekuensing untuk mengetahui urutan basa nukleotida dari kultur jamur *Trichoderma* sp. Proses sekuensing yang dilakukan dengan baik sehingga urutan basa nukleotida yang diharapkan dapat teranalisa dengan baik. Data urutan basa nukleotida yang didapat kemudian digunakan untuk analisis filogenetik sekuens daerah ITS-1 dengan menggunakan program bioinformatika.

Nasronudin dkk. (2010), menggunakan teknik sekuensing untuk mengetahui sub tipe dari *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) pada pasien di daerah Surabaya. Hasil sekuensing, yaitu urutan basa nukleotida, yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan sekuens nukleotida dari genotipe HIV yang pernah dipublikasi sebelumnya. Sebagian besar sampel dapat diketahui sub tipe HIV-nya, namun masih ada satu sampel yang perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah memang merupakan sub tipe HIV yang baru

Penelitian yang dilakukan Ratnayani dkk. (2007) yang menentukan varian nukleotida pada individu suku Bali sebagai pijakan dalam menentukan pola genetik mtDNA suku Bali dalam skala besar. Penelitian ini berhasil menentukan urutan nukleotida daerah *D-Loop* mtDNA dari individu tersebut sebanyak 402 bp. Hasil studi homologi urutan nukleotida kedua individu dari suatu individu suku Bali terhadap urutan Cambridge atau Anderson, menemukan 6 varian nukleotida pada posisi yang berbeda.

F. KOD FX Neo

KOD FX Neo didasarkan pada DNA polimerase dari *hyperthermophilic Archaeon Thermococcus kodakaraensis*. KOD FX Neo memberikan efisiensi dan kemampuan elongasi yang lebih baik daripada enzim PCR konvensional. Cairan enzim KOD FX Neo ini mengandung dua jenis antibodi DNA polimerase anti-KOD yang menghambat polimerasi dan aktivitas 3'→5' eksonuklease, sehingga memungkinkan untuk *Hot Start PCR* (Toyobo, 2017).

Enzim KOD FX Neo efektif untuk amplifikasi dari sampel kasar (misal bahan makanan atau ekstrak tanah). Berbagai sampel atau lisat dapat digunakan secara langsung sebagai *template*. '*Elongation enhancer*' memungkinkan efisiensi dan kemampuan elongasi amplifikasi yang lebih besar (sampai 40 kb dari DNA genom manusia) dibandingkan dengan PCR konvensional. Enzim ini berguna untuk mengamplifikasi target yang sulit, seperti target G/C yang tinggi, A/T, dan atau target yang panjang (Toyobo, 2017).

Badolo dkk. (2015) melakukan penelitian untuk menjaga resistensi senyawa dari *Anopheles gambiae* dengan menggunakan insektisida dan alat baru untuk menilai tingkat resistensi dengan cepat. DNA diekstraksi dari nyamuk yang sudah dikumpulkan. Badolo membandingkan metode *allele specific (AS)-LAMP* dengan PCR-RFLP dan RT-PCR. Tahap amplifikasi dengan PCR-RFLP dan RT-PCR, Badolo dkk. menggunakan enzim KOD FX Neo. Mutasi gen pada *A. gambiae* dapat dideteksi secara jelas, dengan metode LAMP maupun PCR.

G. Hipotesis

1. Terdapat cemaran daging babi dalam sosis sapi yang dijual di pasar di D. I. Yogyakarta.
2. Primer spesifik babi dapat mendeteksi keberadaan DNA babi hingga tingkat kontaminasi 1%.

