

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian deteksi molekuler cemaran daging babi pada produk sosis sapi di Kota Yogyakarta dengan metode PCR, diperoleh kesimpulan bahwa

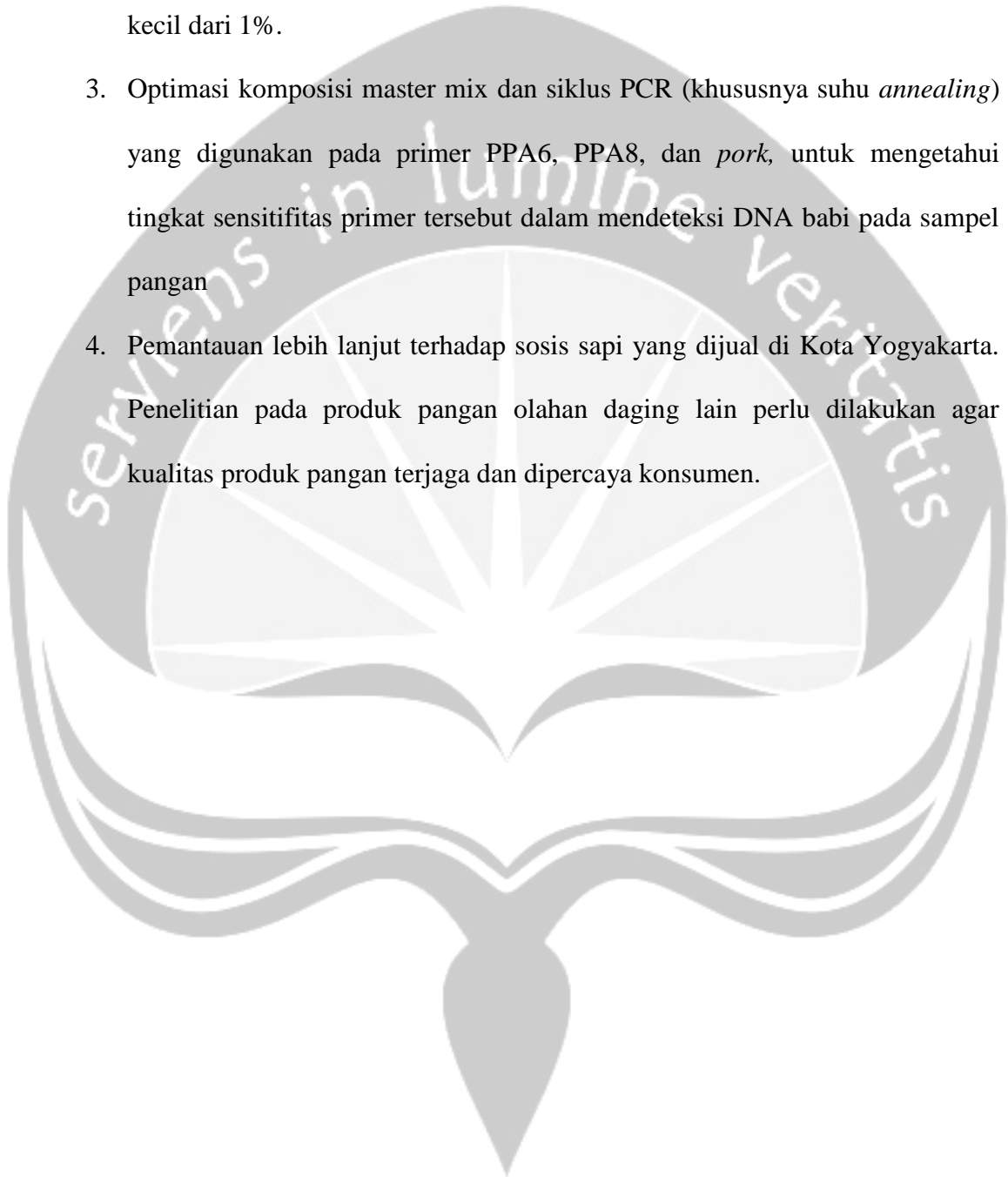
1. Terdapat cemaran daging babi pada sosis sapi bermerk yang dijual di Pasar Kranggan, Pasar Bringharjo, Pasar Pathuk, pedagang asongan, dan sosis tidak bermerk dari supermarket.
2. Sampel terdeteksi positif tercemar DNA babi dengan primer spesifik babi P14, PPA6, PPA8 dan *pork* masing-masing sebesar 88,89%, 22,22%, 22,22%, dan 22,22%. Primer PPA6, PPA8, dan *pork* mengamplifikasi DNA tidak spesifik.
3. Primer yang paling baik untuk mendeteksi adanya cemaran babi pada sosis sapi adalah primer P14 yang dapat mendeteksi DNA babi hingga kontaminasi 1%.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian ini sebaiknya ada hal yang harus diperbaiki untuk penelitian berikutnya, yaitu

1. Jumlah sosis yang digunakan dan pengulangan percobaan diperbanyak. Jumlah sosis yang digunakan minimal 15 sampel dan pengulangan dilakukan minimal 2 kali, agar mendapat hasil yang presisi dan akurat.

2. Uji sensitifitas pada primer tertentu dapat dilakukan lebih bervariasi, variasi konsentrasi sampel dapat diperbanyak atau lebih baik dibuat konsentrasi lebih kecil dari 1%.
3. Optimasi komposisi master mix dan siklus PCR (khususnya suhu *annealing*) yang digunakan pada primer PPA6, PPA8, dan *pork*, untuk mengetahui tingkat sensitifitas primer tersebut dalam mendeteksi DNA babi pada sampel pangan
4. Pemantauan lebih lanjut terhadap sosis sapi yang dijual di Kota Yogyakarta. Penelitian pada produk pangan olahan daging lain perlu dilakukan agar kualitas produk pangan terjaga dan dipercaya konsumen.



DAFTAR PUSTAKA

- Afriliana, L. 2009. *Analisa Kandungan Lemak Babi dalam Produk Pangan secara Kualitatif dengan menggunakan Metode FT-IR dan GC-MS*. Jurusan Ilmu Kimia, FMIPA-UII, Yogyakarta.
- Al-Rashood, K. A., Abdel-Moety, E. M., Rauf, A., Abou-Shaaban, R. R., dan Al-Khamis, K. I. 1995. Triglycerols-profiling by High Performance Liquid Chromatography: A Tool For Detection of Pork Fat (Lard) in Processed Foods. *Journal liquid chromatography* 18: 2661-2673.
- Asensio, G. L. 2007. PCR-based Methods For Fish and Fishery Product Authentication. *Food Control and Technology* 18: 558-566.
- Asyhari. 2011. *Identifikasi Kandungan Babi pada Meat Bone Meal dengan metode Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)*. www.deptan.go.id/bbkptspriok/detailberita.php?id=310. 7 September 2016.
- Badolo, A., Bando, H., Traore, A., Ko-ketsu, M., Guelbeogo, W. M., Kanuka, H., Ranson, H., Sagnon, N., dan Fukumoto, S. 2015. Detection of G119S ace-1^R Mutation in Field-collected *Anopheles gambiae* mosquitoes Using Allele-specific Loop-mediated Isothermal Amplification (AS-LAMP) Method. *Malaria Journal* 14 : 477-485.
- Bahri, S., Sani, Y., Indraningsih. 2006. Beberapa Faktor yang Mempengaruhi Keamanan Pangan Asal Ternak di Indonesia. *Wartazoa* 16(1) : 1-13.
- Betzl, C. 1988. Three Dimensional Structure of Proteinase K at 0.15 nm Resolution. *Eur. J. Biochem* 178 : 155-171.
- Boles, J. A. 2007. *Restructured Meat Product, Animal and Range Sciences*. Montana State University, Unites States.
- Calvo, J.H., Zaragoza, P., dan Osta, R. 2001. Technical Note: A Quick and More Sensitive Method to Identify Pork in Processed and Unprocessed Food by PCR Amplification of a New Specific DNA Fragment. *Journal Animal Science* 8: 2108–2112.
- Dong, Y., dan Zhu, H. 2005. Single-strand Conformational Polymorphism Analysis: Basic Principles and Routine Practice. *Methods in Molecular Medicine* 108: 149-157.
- Dove, A. 1999. The Long Arm of DNA. *Nat Biotechnol* 17: 649-651.
- Erwanto, Y., Sugiyono, Rohman, A., Abidin, M. Z., dan Ariyani, D. 2012. Identifikasi Daging Babi Menggunakan Metode PCR-RFLP Gen

Cytochrome b dan PCR Primer Spesifik Gen Amelogenin. *Jurnal Agritech* 32(4): 370-377.

FAO. 2007. *Composition of Meat*. http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/backgr_composition.html. 24 Oktober 2016.

Fibriana, F., Widiyanti, T., Retnoningsih, A., dan Susanti. 2012. Deteksi Daging Babi pada Produk Bakso di Pusat Kota Salatiga Menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Biosantifika* 4(2): 106-112.

Ghovvati, S., Nassiri, M. R., Mirhoseini, S. Z., Moussavi, A. H., dan Javadmanesh, A. 2009. Fraud Identification in Industrial Meat Product by Multiplex PCR Assay. *Journal Food Control* 20: 696-699.

Griffin, H. G., dan Griffin, A. M. 1993. *DNA Sequencing Protocols*. Human Press Inc., New Jersey.

Hemes, B. D. 1998. *Gel Electrophoresis of Proteins*. Oxford University Press, New York.

Innis, M. A., dan Gelfand, D. H. 1990. *PCR Protocol : A Guide to Methods and Applications*. Academic Press Inc, New York.

Jerilyn, A. W., David, A. H., Bridget, A. A., Jaiprakash, S., Sudhir, K. S., Marks, A. B. 2003. Quantitative intra-short interspersed element PCR for species-specific DNA identification. *Analytical Biochemistry* 316: 259-269.

Kesmen, Z., Sahin, F., dan Yetim, H. 2007. PCR Assay For The Identification of Animal Species In Cooked Sausage. *Meat Science* 77:649-653.

Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-obatan, dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia. 2012. *Persyaratan Sertifikasi Halal*. http://www.halalmui.org/newMUI/index.php/main/go_to_section/39/1328/page/1. 28 September 2016.

Lenstra, J., Buntier, J. B., dan Janssen, F. W. 2001. On the Origin of Meat-DNA Techniques for Species Identification in Meat Products. *Veterinary Science Tomorrow* 2:1-15.

Margawati, E. T., dan Ridwan, M. 2010. *Pengujian Penemuan Daging Babi pada Beberapa Produk Bakso dengan teknologi PCR: Pencarian Sistem Pengujian Efektif*. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Bogor.

Marlina, Mutalib, S. A., Islami, S. N. Sari, H. K., dan Fitria, A. 2013. Pengembangan Metode PCR dan *Southern Hybridization* untuk Deteksi Gen Babi pada Cangkang Kapsul. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III 2013*. Universitas Kebangsaan, Malaysia.

- Martinez, I., dan Man, Y. 1998. Species Identification in Meat Products by RAPD Analysis. *Food Research International* 31 (6-7):459-466.
- Marwanti. 2010. *Keamanan Pangan dan Penyelenggaraan Makanan*. Jurusan PTBB FT UNY, Yogyakarta.
- Meyer. A. 1994. Shortcomings of the Cytochrome b Gene as a Molecular Marker. *Trends in Ecology and Evolution* 9(8): 278-280.
- Muangkram, Y., Wajjwalku, W., Amano, A., dan Sukmak, M. 2016. *The Novel Primers For Mammal Species Identification-based Mitochondrial Cytochrome b Sequence : Implication for Reserved Wild Animals in Thailand and Endangered Mammal Species in Southeast Asia*. Research Article of Mitochondrial DNA Part A, United Kingdom.
- Muladno, Maryatni, D., dan Budiarti, S. 1999. Mendeteksi bakso yang mengandung daging babi. *Med. Pet.* 23(1) : 14-17.
- Muladno. 2001. *Teknologi Rekayasa Genetika Edisi Ke-2*. IPB Press, Bogor.
- Nasronudin, Lusida, M. I., Handajani, R., Lindawati, Efendi, F., dan Utsumi, T. 2010. Analisis Molekuler *Phylogenetic Human Immunodeficiency Virus* (HIV) pada Pasien di Surabaya, Jawa Timur. *Majalah Kedokteran Indonesia* 60 (4) : 172-177.
- Neto, D. E., Caballero, O. L., Vidigal, T., Pena, S. Dan Simpson, A. 1994. Producing Randomly Amplified Polymorphic DNAs from Degraded DNA. *Workshop of Genomic Fingerprinting* 20: 94-95.
- Nollet, L. M. L., dan Toldra, F. 2011. *Safety Analysis of Foods of Animal Origin*. CRC Press, New York.
- Noraksha, R., Hashim, D.M., Che Man, Y.B., Shuhaimi, M., dan Noorfaizan, A. 2009. Potential Use of Amino Acids Analysis for Distinguishing Bovine And Porcine Gelatins. *Proceedings on the 3rd IMT-GT International Symposium on Halal Science and Management*. Universitas Putra Malaysia, Malaysia.
- Nuraini H. 2004. Pengembangan sekuen Porcine Repetitive Element (PRE-1) sebagai penanda molekuler untuk mendeteksi material babi pada produk daging olahan. *Naskah Disertasi*. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurjuliana, M., Che Man, Y.B., Hashim, D. M., Mohamed, A.K.S. dan Syahariza, Z.A. 2009. Rapid Detection of Pork in Food Products by Electronic Nose for Halal Authentication. *Proceedings on the 3rd IMT-GT International Symposium on Halal Science and Management*. Universitas Putra Malaysia, Malaysia.

- Ong, S. B., Zurani, M. I., Jurin, W. G., Cheah, Y. K., Tunung, R., Chai, L. C., Haryani, Y., Ghazali, F. M. dan Son, R. 2007. Meat Molecular Detection Sensitivity of Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism in Species Differentiation of Meat from Animal Origin. *ASEAN Food Journal* 14(1): 51-59.
- Orita, M., Suzuki, Y., Sekiya, T., Hayashi, K. 1989. Rapid and Sensitive Detection of Point Mutations and DNA Polymorphism Using the Polymerase Chain Reaction. *Genomics* 5: 874-879.
- Pratiwi, R. 2001. Mengenal Metode Elektroforesis. *Jurnal Oseana* 26(1): 25-31.
- Primasari, A. 2011. Sensitivitas Gen Sitokrom B (Cyt b) sebagai Marka Spesifik pada Genus Rattus dan Mus untuk Menjamin Keamanan Pangan Produk Asal Daging). *Tesis*. Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahmawati, Sismindari, Raharjo, T.J., Sudjadi, dan Rohman, A. 2016. Analysis of Pork Contamination in Abon Using Mitochondrial D-Loop22 Primers Using Real Time Polymerase Chain Reaction Method. *International Food Research Journal* 23(1) : 70-374.
- Rambe, E., Restuhadi, F., dan Nugroho, T. T. 2014. Amplifikasi DNA dan Sekuensing Daerah ITS-1 Rdna *Trichoderma* sp. LBKURCC22.
- Rasmussen, H. B. 2012. *Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis – Valuable Tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting*. Institute of Biological Psychiatry, Mental Health Centre Sct. Hans, Copenhagen University Hospitals, Roskilde, Denmark. Hlm 315-316.
- Rastogi, G., Dharne, M., Bharde, A., Pandav, S., Ghumatkan, S. V., Krishnamurthy, R., Patole, M. S., dan Shouche, Y. S. 2004. Species Determination and Authentication of Meat Samples by Mitochondrial 12s rRNA Gene Sequences Analysis and Conformation-sensitive Gel Electrophoresis. *Current Science* 87(9): 1278-1281.
- Ratnayani, K., Wirajana, I. N., dan Laksmiwati A. A. I. A. M. 2007. Analisis Variasi Nukleotida Daerah D-Loop DNA Mitokondria pada Satu Individu Suku Bali Normal. *Jurnal Kimia* 1(1) : 7-14.
- Rea, S., Chikuni, K., dan Avellini, P. 1996. Possibility of Using Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) Analysis for Discriminating European Pig and Wild Boar Meat Samples. *Italian Journal Food Science* 3: 211-220.

- Rehbein, H., Kress, G., dan Schmidt, T. 1997. Application of PCR-SSCP to Species Identification of Fishery Products. *Journal Science Food Agricultural* 74: 35-41.
- Rehbein, H., Mackie, I. M., Pryde, S., Gonzales-Sotelo, C., Perez-Martin, R. I., Quinteiro, J., dan Rey-Mendez, M. 1995. Fish Species Identification in Canned Tuna by DNA Analysis (PCR-SSCP). *Inf. Fischwirtsch* 42: 209-212.
- Rehbein, H., Mackie, I. M., Pryde, S., Gonzales-Sotelo, C., Perez-Martin, R.I., Quinteiro, J. dan Rey-Mendez, M. 1998. Comparison of Different Methods to Produce Single Strand DNA for Identification of Canned Tuna by Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis. *Electrophoresis* 19: 1381-1384.
- Reinert, B. 2004. *Regulation of Gene Expression by RNA*. <http://mml.sjtu.edu.cn/laotuo/Art05/ART04%20All%20PDFs%20Fri%20%20Nov%20pm%20Binder1.pdf>. 31 Mei 2017.
- Safitri K. N., dan Wardani, A. K. 2015. Deteksi Cemaran Babi pada Produk Sosis Sapi di Kota Malang dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(3): 1006-1014.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stofell, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., Erlich, H. A. 1988. Primer-directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science* 4839:487-491
- Skutkova, H., Vitek, M., Krizkova, S., Kizek, R., dan Provaznik, I. 2013. Preprocessing and Classification of Electrophoresis Gel Images Using Dynamic Time Warping. *International Journal of Electrochemical Science* 8 : 1609-1622.
- Soedjono, R.D. 2004. Detection of Porcine Meat in Meat Products by using Polymerase Chain Reaction Technique. *Jurnal Veteriner* 5 (3): 116-126.
- Sulandari, S., Muladno, T. Harumi, S. Yanai, Y. Wada, and H. Yasue, 1997. Localization of Swine Pre-1 Homologues in 13 Loci of *Phacochoerus Aethiopicus* and *Tayasu Tajacu* Genomes and Their Sequence Divergence. *Anim. Genetics* 28:210-215.
- Tanabe, S., Miyauchi, E., Muneshige, A., Mio K., Sato, C., dan Sato, M. 2007. PCR Method of Detecting Pork in Foods for Verifying Allergen Labeling and for Identifying Hidden Pork Ingredients in Processed Foods. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 71(7): 1663-1667.

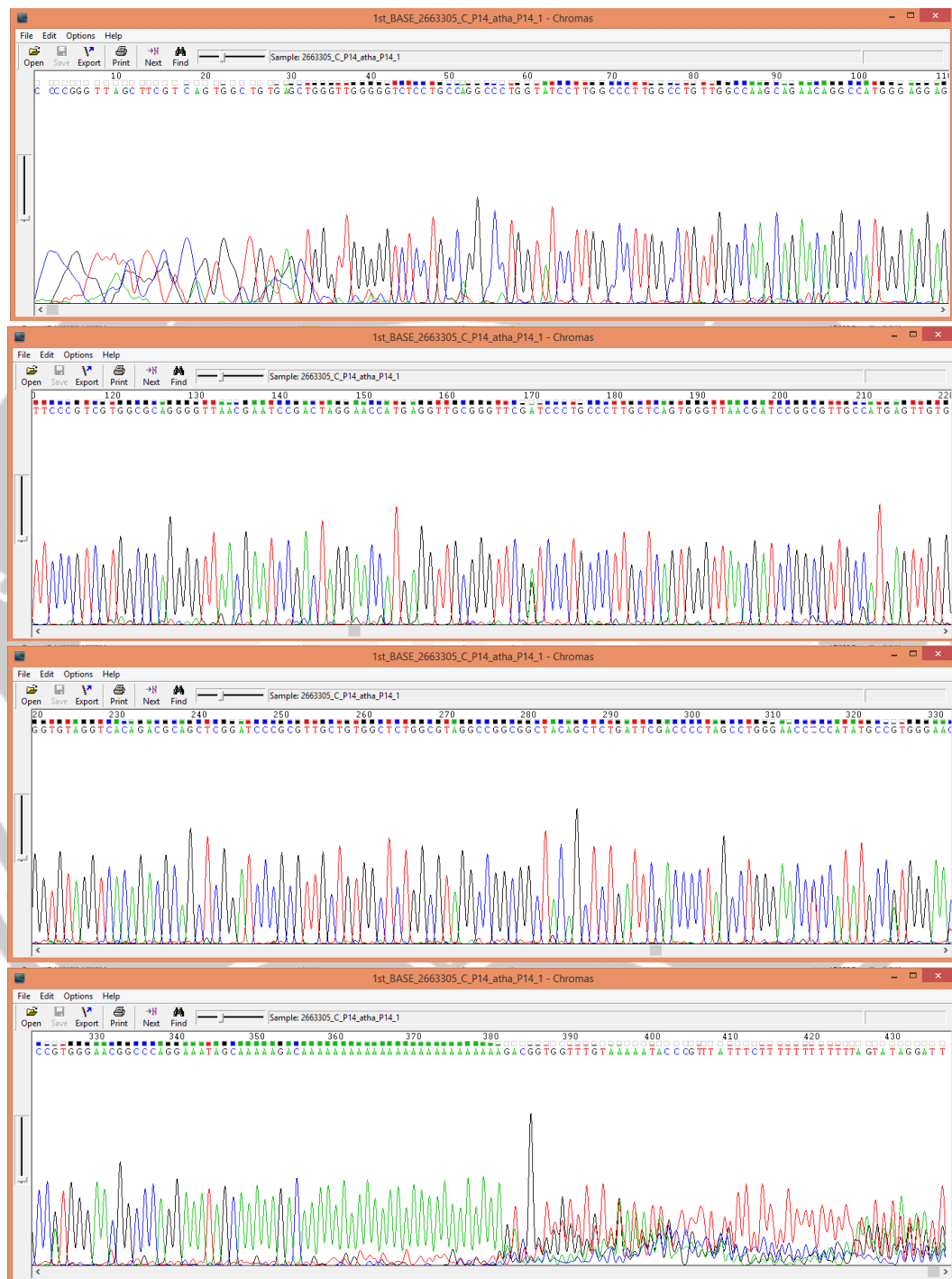
- Toyobo. 2017. *Instruction Manual for KOD FX Neo 1103*. <http://www.toyoboglobal.com/seihin/xr/lifescience/support/manual/KFX-201.pdf>. 4 Juli 2017.
- Treuren, R. V. 2016. *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*. <http://www.wur.nl/en/show/Random-Amplified-Polymorphic-DNA-RAPD.htm>. 28 September 2016.
- Wardani, A. K., dan Sari, E. P. K. 2015. Deteksi Molekuler Cemaran Daging Babi pada Bakso Sapi di Pasar Tradisional Kota Malang Menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(4): 1294-1301.
- Wardhana, A. H., dan Muharsini, S. 2004. Variasi Gen Sitokrom B (DNA mitokondria) pada *Chrysomya bezziana* (Diptera: *Calliphoridae*) di Indonesia. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Wiji, B. 2011. Deteksi Kemurnian Daging Sapi pada Bakso di Kota Yogyakarta dengan Teknik PCR-RFLP. *Naskah skripsi*. Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta.
- Wilfinger, W. W., Mackey, K., dan Chomczynski, P. 1997. Effect of pH and Ionic Strength on the Spectrophotometric Assesment of Nucleic Acid Purity. *BioTechniques* 22: 474-481.
- Yoshida T., Nomura, T., Shinoda, N., Kusama, T., Kadowaki, K. Dan Sugiura, K. 2009. Development of PCR Primers for the Detection of Porcine DNA in Feed Using mtATP6 as the Target Sequence. *Journal Food Hyg. Soc. Japan* 50(2): 89-92.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Tahapan	Feb 2017				Maret 2017				April 2017				Mei 2017				Juni 2017				Juli 2017	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
1. Pengumpulan sampel, daging sapi segar, dan daging babi segar.																						
2. Ekstraksi DNA sampel dan DNA kontrol.																						
3. Kuantifikasi atau mendeteksi kemurnian hasil isolasi DNA sampel dan DNA kontrol.																						
4. Amplifikasi DNA sampel dan DNA kontrol.																						
5. Analisa hasil amplifikasi.																						
6. Pengujian sensitifitas metode PCR - primer sepsifik																						
7. <i>Sequencing</i> hasil positif																						
8. Amplifikasi dengan direct PCR dan Lisat																						
9. Penyusunan naskah skripsi																						
10. Persiapan pendadaran																						
11. Pendadaran																						

Lampiran 2. Hasil sekuensing sampel positif DNA babi dengan primer P14



Lampiran 3. Hasil sekuensing urutan DNA babi sampel menggunakan primer P14

```
CCCCGGGTTAGCTTCGTCAGTGGCTGTGAGCTGGGTTGGGGGTCTCCT
GCCAGGCCCTGGTATCCTTGGCCCTTGGCCTGTTGGCCAAGCAGAACA
GGCCATGGGAGGAGTTCCCGTCGTGGCGCAGGGGTTAACGAATCCGA
CTAGGAACCATGAGGTTGCGGGTTCGATCCCTGCCCTTGCTCAGTGGG
TTAACGATCCGGCGTTGCCATGAGTTGTGGTGTAGGTCACAGACGCAG
CTCGGATCCC GCGTTGCTGTGGCTCTGGCGTAGGCCGGCGGCTACAGC
TCTGATTCGACCCCTAGCCTGGGAACCTCCATATGCCGTGGGAACGGC
CCAGGAAATAGCAAAAAGACAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
GACGGTGGTTTGTA AAAATACCCGTTTATTTCTTTTTTTTTTTTAGTATA
GGATT
```

