

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kemajuan industri halal yang sangat pesat. Menurut *Global Islamic Economy Report* (2018) dalam Sonia (2020) Indonesia menempati posisi sebagai negara dengan perkembangan ekonomi syariah (halal) global, dan berada pada peringkat ke-10 dari 15 negara teratas. Pertumbuhan pasar industri halal tersebut didukung oleh beberapa sektor utama, yaitu perbankan, makanan dan minuman, *fashion muslim*, kesehatan, serta kosmetik. Hal tersebut telah diatur oleh Kementerian Agama pada Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal sebagai bentuk perlindungan terhadap konsumen muslim salah satunya dengan menggunakan label halal pada suatu produk (Putri, 2021).

Namun, disamping daripada perkembangan ekonomi syariah secara global, Indonesia juga memiliki beberapa resiko yang berpotensi menjadi ancaman bagi pertumbuhan ekonomi halal tersebut. Salah satunya diakses dari Maharani (2025) bahwa BPJPH dan BPOM telah melaksanakan pengawasan ulang terhadap produk pangan yang telah dikomersialkan dan bersertifikat halal. Hasil menunjukkan bahwa masih terdapat beberapa produk pangan olahan yang mengandung unsur babi. Produk yang diuji berjumlah 11 dan 9 diantaranya positif mengandung unsur babi pada proses, alat maupun bahan yang tidak memenuhi syarat kehalalan suatu produk. Karena hal tersebut, tingginya kesadaran masyarakat terhadap produk halal menimbulkan tuntutan yang semakin tinggi dan kritis juga. Mereka tidak hanya menginginkan produk yang higienis serta bergizi, tetapi bagi umat Islam, kehalalan menjadi faktor utama dalam menentukan layak atau tidaknya suatu produk untuk dikonsumsi. Beberapa aspek yang perlu diperhatikan konsumen, diantaranya: 1) Peralatan dan wadah yang dipakai dalam proses pengemasan harus terjamin bebas dari kontaminasi najis; 2) Daging yang digunakan wajib berasal dari hewan halal serta disembelih sesuai dengan ketentuan syariat Islam; dan 3) Bahan tambahan maupun campuran yang digunakan tidak boleh

termasuk dalam kategori titik kritis (*critical point*) (Purwanto dkk., 2020). Sebagaimana mengacu kepada firman Allah ta'ala yang disebutkan dalam surat Al-Baqarah ayat 168:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُبِينٌ ﴿١٦٨﴾

Artinya: “Wahai manusia, makanlah (makanan) di bumi yang halal lagi baik dan janganlah mengikuti Langkah-langkah setan. Sesungguhnya ia bagimu merupakan musuh yang nyata”.

Disamping perkembangan ekonomi syariah, perkembangan teknologi pangan yang terus meningkat dari tahun ke tahun menyebabkan pola konsumsi masyarakat juga mengalami perubahan. Khususnya di wilayah perkotaan, masyarakat lebih cenderung memilih produk pangan praktis seperti *ready to eat* dan *ready to cook* (Wulandari dkk., 2016). Tak jarang juga masyarakat perkotaan memilih makanan siap saji yang dijual oleh pedagang kaki lima, seperti sosis, *nugget*, baso, dan jenis daging olahan lainnya. Hal tersebut jika dilihat dari bagaimana temuan BPJPH dan BPOM seharusnya menjadi fokus yang cukup bagi industri pangan halal, karena menurut Laila (2018) beberapa penelitian menunjukkan bahwa cemaran pada pangan seperti cemaran babi dapat ditemukan pada berbagai produk pangan olahan, seperti daging giling, bakso, sosis, gelatin, hingga mesin penggiling daging.

Dalam hal ini, produk daging olahan seperti sosis dan bakso telah banyak diteliti oleh peneliti terdahulu, khususnya dalam analisis potensi adanya kontaminasi atau pencampuran daging dengan spesies lain. Namun, penelitian serupa pada produk olahan lain seperti *nugget* masih relatif terbatas. Padahal, proses pembuatan *nugget* umumnya melibatkan berbagai tahapan pengolahan serta pencampuran bahan tambahan seperti dibumbui, dilapisi tepung perekat, diberi lapisan tepung roti (*breeding*), selanjutnya digoreng setengah matang dan dibekukan (Wulandari dkk., 2016). Kompleksitas komposisi tersebut menyebabkan struktur bahan penyusun *nugget* menjadi tidak lagi mudah dikenali secara fisik karena telah mengalami proses

penggilingan, pencampuran, dan pembentukan ulang. Kondisi ini berpotensi membuka peluang terjadinya kontaminasi silang atau pencampuran dengan bahan lain yang tidak diinginkan, seperti daging babi, baik secara sengaja maupun tidak sengaja selama proses produksi. Selain itu, proses produksi yang panjang mulai dari penyiapan bahan baku, penggilingan, pencampuran adonan, pencetakan, pelapisan tepung, hingga pengemasan menjadikan produk *nugget* memiliki beberapa titik kritis (*critical points*) yang berpotensi meningkatkan risiko kontaminasi silang antar bahan (Barakat dkk., 2014).

Untuk mengatasi hal tersebut, pendekatan deteksi DNA lebih banyak digunakan dalam identifikasi secara molekuler untuk produk pangan olahan dibandingkan analisis berbasis protein. Hal ini disebabkan protein cenderung lebih mudah mengalami denaturasi dan degradasi selama proses pengolahan seperti pemanasan, penggilingan, dan pencampuran, sehingga menjadi sulit dideteksi secara spesifik. Sebaliknya, DNA relatif lebih stabil dan masih dapat terdeteksi meskipun telah mengalami fragmentasi akibat proses pengolahan. Menurut penelitian Şakalar (2012) pada proses perebusan dan pemanasan dapat menyebabkan fragmentasi atau degradasi DNA pada produk daging. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa keberhasilan identifikasi spesies melalui qPCR dipengaruhi oleh suhu pemanasan, lama perlakuan panas, serta ukuran fragmen DNA yang diamplifikasi. Semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu pemanasan, maka tingkat fragmentasi DNA yang terjadi juga semakin besar.

Karakteristik *nugget* sebagai produk olahan daging dengan struktur yang telah terdegradasi dan komposisi yang kompleks ini menjadikannya salah satu produk pangan yang memerlukan pengawasan dan metode deteksi yang akurat untuk memastikan keaslian serta kehalalan bahan bakunya. Sebagaimana Guntarti (2015) *nugget* dengan kompleksitasnya, perlu adanya kepastian tidak adanya campuran yang tidak diinginkan. Jaminan halal pada produk pangan berperan terutama dalam mendeteksi kemungkinan adanya cecair babi dengan memaksimalkan metode autentikasi halal pada produk pangan *nugget* salah satunya adalah dengan dilakukan pengukuran kuantitas DNA atau ekstraksi DNA (Hermawan dkk., 2024).

Proses ekstraksi DNA dapat dilakukan melalui beberapa metode seperti metode konvensional dengan menggunakan berbagai bahan kimia serta tahapan prosedural tertentu sebagaimana direkomendasikan dalam standar ISO 21571 (2008). Namun seiring dengan perkembangan teknologi di bidang Biologi molekuler, metode tersebut dikembangkan dan dirancang agar lebih efisien, praktik dan mudah diaplikasikan, salah satunya melalui penggunaan kit ekstraksi DNA komersial, seperti *Processed Food DNA Extraction Kit* (Tiangen). Metode ini memiliki keuntungan diantaranya waktu pelaksanaan yang lebih efisien, namun memiliki keterbatasan berupa volume dan konsentrasi yang terbatas dengan harga kit yang relatif mahal (Herlangga, 2023).

Kualitas ekstraksi DNA dapat dinilai melalui kuantitas DNA yang dihasilkan. Pengukuran kuantitas DNA dilakukan pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm menggunakan alat spektrofotometer Nanodrop. Tingkat kemurnian DNA ditentukan berdasarkan rasio absorbansi A260/A280, di mana DNA dikategorikan murni apabila nilai rasio tersebut berada pada kisaran 1,8–2,0. Gelombang tersebut digunakan karena penyerapan sinar ultraviolet oleh nukleotida secara maksimal dapat dicapai pada panjang gelombang A260 nm, sedangkan penyerapan sinar ultraviolet maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang A280 nm (Mustafa dkk., 2017). Namun, untuk metode identifikasi DNA yang berbasis protein ini ternyata memiliki keterbatasan dan tantangan tersendiri. Hal tersebut karena protein cenderung tidak stabil ketika terkena pemanasan atau perlakuan proses lainnya (Aditia & Fauziyyah, 2023). Kondisi ini semakin buruk apabila sampel telah dilakukan proses pengolahan lebih lanjut, seperti pemasakan pada suhu tinggi, yang berpotensi menyebabkan denaturasi hingga kerusakan senyawa target sehingga menghambat jalannya proses identifikasi. Hal ini didukung oleh pernyataan Abasiyanik (2012), perlakuan suhu pemanasan dapat mempengaruhi kualitas DNA dengan menyebabkan degradasi DNA menjadi fragmen-fragmen kecil.

Selain suhu, variabel massa sampel juga menjadi faktor penting yang perlu diperhatikan dalam ekstraksi DNA, karena belum terdapat kepastian atau standar baku mengenai massa sampel yang paling tepat untuk menghasilkan DNA dengan

konsentrasi dan kemurnian yang optimal. Hal ini ditunjukkan oleh adanya variasi massa sampel yang digunakan dalam penelitian-penelitian sebelumnya terkait ekstraksi DNA pada bahan pangan terutama daging. Dan meskipun standar ISO 21571-1:2008 (E) (2008) menerangkan bahwa secara umum metode ekstraksi DNA penggunaan porsi ujinya merupakan antara 200 – 500 mg, akan tetapi matriks sampel yang mengandung DNA dalam jumlah yang sangat rendah atau DNA terdegradasi, ukuran porsi ujinya dapat ditingkatkan melebihi standar ISO dan dilakukan setidaknya pada dua porsi uji untuk setiap sampel. Ini artinya, masih diperkirakan ada massa yang lebih optimal untuk matriks daging terutama *nugget*.

Untuk mengatasi keterbatasan tersebut dipandang perlu untuk dilakukan uji lanjut menggunakan *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (qPCR) yang menawarkan akurasi dan efisiensi lebih tinggi dibandingkan dengan metode protein (Aditia & Fauziyyah, 2023). qPCR memungkinkan proses amplifikasi DNA diamati secara langsung selama reaksi berlangsung, digunakan teknik enzimatik *in vitro* yang berfungsi untuk menggandakan fragmen DNA tertentu hingga menghasilkan salinan DNA dalam jumlah sangat besar. Reaksi qPCR ini membutuhkan beberapa komponen utama, yaitu DNA target, primer, dNTP, serta enzim DNA polimerase yang tahan terhadap suhu tinggi. Dengan keunggulan tersebut, qPCR menjadi metode yang sangat tepat untuk mendeteksi dan kuantifikasi adanya cemaran DNA babi terutama pada pangan olahan seperti daging (Artika dkk., 2022)

Berdasarkan uraian tersebut, meskipun metode identifikasi DNA menggunakan qPCR telah banyak digunakan untuk mendeteksi cemaran daging babi dalam autentikasi halal pada produk pangan, akan tetapi masih terdapat kekurangan dalam proses ekstraksinya sehingga membutuhkan pengembangan metode, terutama pada variabel suhu dan massa sampel yang belum memiliki standar optimal yang spesifik, khususnya pada matriks *nugget*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi metode ekstraksi DNA menggunakan metode kit melalui variasi suhu dan massa sampel untuk menghasilkan DNA dengan kualitas yang optimal guna

mendukung identifikasi daging babi menggunakan qPCR sebagai upaya autentikasi halal pada produk *nugget*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variasi suhu inkubasi terhadap kemurnian dan konsentrasi DNA yang diekstraksi dari matriks *nugget*?
2. Bagaimana pengaruh variasi massa sampel terhadap kemurnian dan konsentrasi DNA yang diekstraksi dari matriks *nugget*?
3. Pada suhu inkubasi berapakah yang memberikan hasil DNA paling optimal untuk proses identifikasi DNA babi menggunakan metode kit Tiangen?
4. Pada massa sampel berapakah yang memberikan hasil DNA paling optimal untuk proses identifikasi DNA babi menggunakan metode kit Tiangen?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis pengaruh variasi suhu inkubasi terhadap kemurnian dan konsentrasi DNA yang dihasilkan dari matriks *nugget*.
2. Menganalisis pengaruh variasi massa sampel terhadap kemurnian dan konsentrasi DNA yang dihasilkan dari matriks *nugget*
3. Menentukan suhu inkubasi yang menghasilkan kualitas DNA paling optimal untuk proses identifikasi DNA babi menggunakan metode ekstraksi DNA berbasis kit Tiangen
4. Menentukan massa sampel yang menghasilkan kualitas DNA paling optimal untuk proses identifikasi DNA babi menggunakan metode ekstraksi DNA berbasis kit Tiangen

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka hipotesis penelitian dirumuskan sebagai berikut:

1. Kondisi optimum ekstraksi DNA menggunakan kit Tiangen berada pada rentang suhu inkubasi 50°C - 70°C
2. Kondisi optimum ekstraksi DNA menggunakan kit Tiangen berada pada rentang massa sampel 25 mg – 300 mg

3. Terdapat pengaruh suhu inkubasi terhadap nilai CT qPCR pada DNA *nugget*
4. Terdapat pengaruh massa sampel terhadap nilai CT qPCR pada DNA *nugget*

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

- Mengembangkan kajian ilmu bioteknologi dan biologi molekuler, khususnya dalam penerapan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk identifikasi DNA pada produk pangan olahan..
- Menambah pengetahuan terkait faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas ekstraksi DNA pada matriks pangan olahan seperti *nugget*.
- Mendukung pengembangan metode autentikasi halal berbasis teknologi molekuler dalam mendeteksi keberadaan DNA babi pada produk pangan.

2. Manfaat Praktis

- Memberikan informasi bagi industri pangan mengenai metode ekstraksi DNA yang efektif dari produk olahan seperti *nugget*, sehingga dapat digunakan untuk uji keaslian bahan baku dan verifikasi kehalalan.
- Menjadi acuan bagi laboratorium dalam memilih kondisi ekstraksi DNA yang tepat untuk memperoleh hasil lebih murni dan konsentrasi optimal.
- Mendukung pengembangan sistem jaminan halal dengan menyediakan metode analisis molekuler yang lebih akurat, cepat, dan aplikatif pada produk pangan olahan.