

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Babi Lokal (*Sus scrofa domesticus*)

Babi termasuk dalam family Suidae. Nama hog sering digunakan dalam percakapan sehari-hari untuk merujuk babi domestik (*Sus domestica*), namun secara teknis mencakup sejumlah spesies yang berbeda, termasuk babi hutan. Swine adalah kata benda kolektif yang umum digunakan untuk menggambarkan babi sebagai grup. (Hafez, 1969).

Babi berasal dari spesies *Sus scrofa*, walaupun sebagian ada yang menyebutnya *S. domesticus*, dan yang lainnya *S. scrofa* untuk babi hutan. Domestikasi babi kira-kira 5.000 sampai 7.000 tahun lalu. Mantelnya kasar dan tegang. Babi dilahirkan berwarna kecoklatan dan cenderung menjadi abu-abu dengan bertambahnya umurnya. Taring bagian atas membentuk *sharp distinctive tusk* khusus yang tajam yang melengkung keluar dan ke atas. Dibandingkan dengan *artiodactylelain*, kepala babi relatif panjang, tirus, dan bebas kutil. Panjang kepala dan badannya dalam rentang 900-1.800 mm dan beratnya 50-350 kg. (Widowati, 2013).

2.2 Tepung Tulang

Tepung tulang merupakan salah satu bahan baku pembuatan pakan ternak yang terbuat dari tulang hewan. Tulang yang akan dijadikan tepung haruslah tulang yang berasal dari hewan ternak dewasa dan biasanya berasal dari tulang hewan berkaki empat seperti tulang sapi, kerbau, babi, domba, kambing, dan kuda. Tepung tulang dijadikan sebagai salah satu bahan dasar pembuatan pakan

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

② karena mengandung mineral makro yakni kalsium dan posfor serta mineral mikro lainnya. (Kaup,1991).

Tepung tulang selain dijadikan sebagai sumber mineral juga mengandung asam amino dan protein. Kalsium dan posfor sangat diperlukan oleh hewan karena memiliki peranan dalam pembentukan tulang dan kegiatan metabolisme tubuh. Fungsi mineral bagi hewan ternak antara lain : (1) menjaga keseimbangan asam basa dalam cairan tubuh, (2) sebagai khelat, (3) sebagai zat pembentuk kerangka tubuh, (4) sebagai bagian aktif dalam struktur protein, (5) sebagai bagian dari asam amino, (6) sebagai bagian penting dalam tekanan osmotik sel, (7) pendukung aktivitas enzim dan (8) membantu mekanisme transportasi dalam tubuh. (Murtidjo, 2001)

Tabel 2.1. SNI Tepung Tulang.

Karakteristik	Syarat	
	Mutu I (%)	Mutu II (%)
Kadar air (Maks)	8	8
Kadar lemak	3	6
Kadar kalsium (min)	20	30
Kadar pospat (sebagai P ₂ O ₅) (min)	20	20
Kadar posfor (P) (min)	8	8
Kehalusan saringan 25 (min)	90	90
Kadar pasir/silika(maks)	1	1

Sumber : Dewan Standarsasi Nasional, (1992)

Tepung tulang yang baik memiliki ciri-ciri tidak berbau, kadar air maksimal 5 %, berwarna keputih-putihan, tingkat kehalusan 80 saringan, bebas bakteri serta penyakit, dan kadar tepungnya mencapai 94 % (Rasidi, 1999).

Kandungan kalsium yang terdapat pada tepung tulang di pasaran umumnya adalah

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

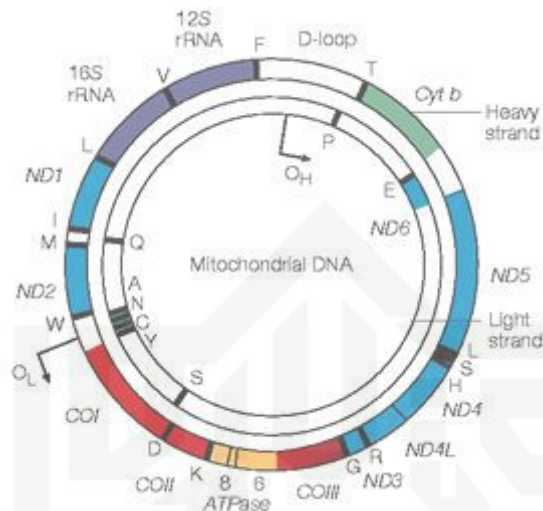
© 19 % – 26 % dan posfor 8 % – 12 %. Kalsium dan posfor merupakan unsur yang diperlukan tubuh dalam jumlah yang sedikit. Walau tubuh hanya memerlukan sedikit kalsium dan posfor, namun pada kenyataannya makhluk hidup tidak mampu memenuhi kedua unsur tersebut hanya dari asupan makanan sehingga sering terjadi kekurangan. Rasidi (1999) menyatakan bahwa unggas tidak dapat memproduksi mineral dalam tubuhnya, sehingga harus disediakan dalam pakan. Kekurangan kalsium dan posfor sangat berpengaruh bagi kegiatan metabolisme dan mampu menimbulkan dampak buruk karena kedua unsur tersebut bersifat esensial. Pakan ternak biasa tidak dapat memenuhi kebutuhan tubuh akan kalsium dan posfor, sehingga ternak perlu diberikan tambahan suplemen atau pakan tambahan yang merupakan sumber kalsium dan posfor. Pakan tambahan yang dapat dijadikan sumber kalsium dan posfor salah satunya adalah tepung tulang.

2.3 DNA Mitokondria

Mitokondria merupakan organel sel penghasil energi yang terdapat dalam sitoplasma. Genom mitokondria berbentuk sirkuler, berantai ganda, memiliki panjang sekitar 16.5 kb yang mengandung basa *guanine* (G) dan *cytosine* (C) berkisar antara 32-45.6%. Kedua basa tersebut menyebar tidak merata diantara kedua untai DNA. Distribusi asimetris nukleotida menimbulkan *heavy strand* (untai berat) dan *light strand* (untai ringan) ketika molekul mtDNA dipisahkan dalam gradien basa CsCl. *Heavy strand* atau untai H berisi lebih banyak nukleotida *guanin* (G) yang mempunyai berat molekul terbesar diantara keempat nukleotida, sedangkan *Light strand* atau untai L berisi lebih sedikit basa G (Reyes, *et al.*, 1998)

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.



Gambar 2.1. Susunan gen dari organisasi genom mitokondria (Taylor dan Turnbull, 2005).

Genom mitokondria terdiri atas gen-gen penyandi rRNA, tRNA dan protein sub unit kompleks enzim rantai respirasi, juga memiliki urutan nukleotida daerah *control region* non penyandi (non-coding region) yang dikenal dengan daerah *displacement loop* (D-Loop) (Taylor & Turnbull, 2005). Replikasi mtDNA dimulai dengan untai-H yang terdapat dalam daerah D-loop mitokondria. Sebanyak 28 produk gen dikodekan dari untai-H, sedangkan untai-L mentranskripsi delapan RNA transfer (tRNA) dan enzim yang disebut ND6. (Reyes, *et al.*, 1998)

Jumlah molekul DNA mitokondria dalam sel sangat bervariasi. Rata-rata terdapat 4-5 salinan molekul mtDNA per mitokondria. Setiap sel dapat berisi ratusan mitokondria yang secara matematis bisa sampai beberapa ribu molekul mtDNA dalam setiap sel seperti dalam sel telur (ovum), namun rata-rata diperkirakan terdapat sekitar 500 mtDNA dalam setiap sel. Hal tersebut

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

menjadikan keberhasilan isolasi mtDNA lebih besar (relatif terhadap penanda DNA nukleus) pada sampel biologis yang mungkin telah rusak karena panas atau kelembaban. (Butler, 2005).

DNA mitokondria ditinjau dari ukuran, jumlah gen dan bentuk, memiliki laju mutasi yang lebih tinggi, sekitar 5-10 kali DNA nukleus, DNA mitokondria terdapat dalam jumlah banyak (lebih dari 1000 kopi) dalam tiap sel, sedangkan DNA nukleus hanya berjumlah dua kopi. DNA nukleus merupakan hasil rekombinasi DNA kedua orang tua sementara DNA mitokondria hanya diwariskan dari ibu atau *maternally inherited* (Butler, 2005). DNA mitokondria pada sel anak seluruhnya disumbangkan oleh ibu dan sperma sama sekali tidak berkontribusi. Keunikan sistem penurunan yang menarik ini telah dimanfaatkan dalam berbagai bidang yaitu penentuan hubungan kekerabatan, studi evolusi dan migrasi, bidang forensik dan identifikasi penyakit genetik. (Cann *et al.*, 1987)

Kemungkinan memperoleh kembali DNA mitokondria dari sampel biologis dalam jumlah sedikit atau dari sampel biologis yang sudah terdegradasi lebih besar daripada DNA inti karena molekul DNA mitokondria terdapat dalam ratusan sampai ribuan kopi disbanding DNA inti yang hanya dua kopi pada setiap selnya. Oleh karena itu, otot, tulang, rambut, kulit, darah dan cairan tubuh lainnya dapat digunakan sebagai sumber materi untuk penentuan lokus DNA mitokondria apabila terjadi degradasi yang disebabkan oleh peralatan atau karena waktu (Butler, 2005).

Penelitian tentang identifikasi jenis daging telah dilakukan oleh beberapa peneliti dengan penggunaan DNA mitokondria. Gen-gen yang paling sering digunakan sebagai penanda jenis hewan atau daging diantaranya adalah sitokrom

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

b (cyt b), 12S dan 16S subunit ribosom RNA dan daerah *displacement loop* (D-loop) (Fajardo *et al.*,2010). Identifikasi jenis daging dalam produk dilakukan Martín *et al.* (2007) yaitu deteksi cemaran jaringan kucing, anjing dan tikus pada pangan dan pakan dengan menggunakan analisis keragaman sekuen dalam 12S rRNA pada DNA mitokondria. Sampel yang digunakan berasal dari daging mentah dan daging yang telah dipanaskan pada suhu dan tekanan tinggi (133°C, 300 kPa) selama 20 menit. Target berhasil diamplifikasi dengan panjang fragmen DNA kucing, anjing dan tikus berturut-turut sepanjang 108, 101 dan 96 pb. Kesmen *et al.* (2007) menggunakan DNA mitokondria untuk mendeteksi adanya daging babi, kuda dan keledai pada sosis. Primer spesifik dirancang pada daerah mitokondria yang berbeda-beda untuk setiap jenis ternak yaitu gen ATPase6/ATPase8 untuk kuda, gen ND2 (NADH dehidrogenase subunit 2) untuk keledai dan gen ND5 (NADH dehidrogenase subunit 5) untuk babi. Panjang fragmen teramplifikasi untuk kuda, keledai dan babi berturut-turut sepanjang 153, 145 dan 227 pb. Kumar *et al.* (2011) menggunakan teknik PCR tunggal untuk deteksi daging kambing (*Capra hircus*). Primer spesifik kambing (DAF-01 dan DGR-04) dirancang pada daerah kekal *d-loop* mitokondria dan dihasilkan produk PCR sepanjang 294 pb.

2.4 *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

PCR adalah suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesa molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA tersebut dengan enzim polimerase dan oligonukleotida

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

pendek sebagai primer. Metode ini berjalan secara enzimatik melalui mekanisme perubahan suhu (Buzdin dan Lukyanov, 2007).

Target PCR yaitu asam nukleat (DNA) untai ganda yang diekstraksi dari sel dan terdenaturasi menjadi asam nukleat beruntai tunggal. Komponen reaksi PCR terdiri atas pasangan primer berupa oligonukleotida spesifik untuk target gen yang dipilih, enzim (umumnya *Taq polymerase*, enzim *thermostable* dan *thermoactive* yang berasal dari *Thermus aquaticus*) dan *trifosfat deoxynucleoside* (dNTP) digunakan untuk amplifikasi target gen secara eksponensial dengan hasil replikasi ganda dari target awal. Reaksi ini dilakukan dalam suatu mesin pemanas yang diprogram secara otomatis disebut *thermocycler*. Mesin tersebut menyediakan kondisi termal yang diperlukan untuk proses amplifikasi (Nollet dan Toldrá, 2011).

Proses yang terjadi dalam mesin PCR meliputi tiga tahap utama yaitu denaturasi (pemisahan untai ganda DNA), *annealing* (penempelan primer) dan ekstensi (pemanjangan primer). Proses yang dimulai dari denaturasi, penempelan dan ekstensi disebut sebagai satu siklus. Produk PCR dapat langsung divisualisasikan melalui proses elektroforesis dan digunakan untuk analisis lebih lanjut (Weissensteiner *et al.*, 2004). Produk PCR dipisahkan dengan elektroforesis gel yang diwarnai dengan etidium bromida dan divisualisasikan dengan sinar ultraviolet (Nollet dan Toldrá, 2011).

2.5 Multiplex PCR

Multiplex PCR merupakan salah satu variasi dari teknik PCR dengan beberapa primer yang digunakan bersama-sama untuk amplifikasi pada beberapa

daerah target (Jain, 2007). Metode ini telah diterapkan pada banyak bidang uji DNA, termasuk analisis delesi, mutasi dan polimorfisme, atau uji kuantitatif PCR dan transkripsi *reverse*. *Multiplex* PCR umum digunakan untuk analisis genotipe yang memerlukan beberapa penciri secara simultan, deteksi patogen, organisme rekayasa genetik (GMO) atau untuk analisis mikrosatelit. *Multiplex* PCR merupakan teknik yang efisien sehingga dapat menghemat biaya untuk analisis PCR dalam skala besar. Kelemahan *multiplex* PCR yaitu terkadang membutuhkan prosedur optimasi panjang untuk menentukan konsentrasi primer, konsentrasi cetakan DNA, komponen *buffer* dan kondisi PCR yang sesuai (Römpler, 2006).

Multiplex PCR terdiri atas beberapa set primer dalam campuran PCR tunggal untuk menghasilkan amplicon dengan berbagai ukuran yang spesifik pada sekuen DNA yang berbeda. Informasi tambahan dapat diperoleh dari teknik *multiplex* PCR dengan penargetan gen sekaligus dari uji coba tunggal yang tidak akan membutuhkan beberapa kali reagen dan dapat menghemat waktu. Temperatur *annealing* untuk masing-masing set primer harus dioptimalkan agar bekerja dengan benar dalam reaksi tunggal dan ukuran amplicon yaitu panjang pasang biasanya, harus cukup berbeda untuk membentuk pita yang berbeda antar beberapa target ketika divisualisasikan dengan gel elektroforesis (Henegariu *et al.*, 1997). Meskipun dengan teknik unipleks (simpleks) PCR konvensional diperoleh hasil yang sama, pendekatan *multiplex* PCR memungkinkan untuk deteksi simultan yang cepat, praktis dan sederhana karena dilakukan sekaligus dalam satu tabung reaksi (Kingombe *et al.*, 2010).