



DETEKSI DNA BABI PADA PRODUK SOSIS MENGGUNAKAN REAL TIME-POLYMERASE CHAIN REACTION (RT-PCR)

Dewi Nurul Mustaqimah¹⁾, Triayu Septiani²⁾, Anna Priangani Roswien^{2*)}

¹⁾ Fakultas Kedokteran Gigi Universitas YARSI, Jakarta, Indonesia

²⁾ Halal Research Center-Lembaga Penelitian Universitas YARSI, Jakarta, Indonesia

*) Email Korespondensi : annap_ros@yahoo.com

Abstrak

Sosis adalah salah satu produk olahan daging yang saat ini di Indonesia sudah diperjualbelikan sampai ke pinggiran kota bahkan ke desa-desa. Bahan baku sosis adalah daging sapi, ayam, ikan dan babi. Sampai saat ini harga daging sapi dirasakan oleh banyak konsumen masih sangat mahal. Namun, ternyata produsen sosis banyak yang menjual produknya dengan harga yang sangat murah. Kondisi tersebut dapat menimbulkan kecurigaan dari konsumen jangan-jangan ada penggantian atau pencampuran daging sapi dengan atau oleh daging babi. Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan penelitian ini adalah untuk menguji kandungan daging babi (DNA babi) pada produk sosis yang dijual di pasar-pasar tradisional di Jakarta dan di gerai-gerai frozen food di perkampungan sekitar Jakarta. Pengujian DNA babi menggunakan metode Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sampel uji (10 sampel uji) dengan merek yang berbeda baik yang mencantumkan atau tidak mencantumkan logo halal MUI, semuanya tidak terdeteksi mengandung DNA babi.

Kata kunci: DNA babi, Logo/Label halal, produk olahan daging, RT-PCR, Sosis

Abstract

Detection of Pig DNA In Sausage Products Using Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). Sausage is a processed meat product that is currently being traded in Indonesia to the outskirts of cities and even to villages. The raw materials for sausages are beef, chicken, fish and pork. Until now, the price of beef felt by many consumers is still very expensive. However, it turns out that many sausage producers sell their products at very cheap prices. This condition can raise suspicion from consumers that there is a replacement or mixing of beef with or by pork. Based on this, the purpose of this study was to examine the content of pork (pork DNA) in sausage products sold in traditional markets in Jakarta and in frozen food outlets in the villages around Jakarta. Pig DNA testing used the Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. The results showed that all the test samples (10 test samples) with different brands, whether or not including the MUI halal logo, were not detected to contain pork DNA.

Keywords: *Pig DNA, Halal Logo/Label, Processed Meat Products, RT-PCR, Sausages.*

PENDAHULUAN

Kebutuhan pangan asal hewan dari hari ke hari semakin terus meningkat, seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap manfaat gizi bagi kehidupan manusia. Seiring dengan perkembangan kebutuhan tersebut,

keamanan dan kehalalan pangan asal hewan juga tidak terlepas dari perhatian konsumen.

Di Indonesia, produk olahan daging seperti baso, sosis dan burger sudah banyak penggemarnya. Pada umumnya bahan baku untuk pembuatan baso, sosis, dan burger itu

adalah daging sapi atau daging ayam. Sampai saat ini, harga daging sapi dan ayam masih sangat mahal. Konsekuensi dari mahalnya harga daging-daging tersebut, banyak produsen/penjual baso, sosis dan burger yang mencampur atau mengganti daging sapi atau ayam itu dengan daging hewan lain yang harganya lebih murah, seperti daging babi, dan daging celeng.

Indonesia adalah Negara yang mayoritas penduduknya beragama Islam. Oleh karena itu, kasus di atas dapat mengganggu ketenangan bathin ummat Islam, karena produk pangan tersebut haram untuk dikonsumsi.

Pencampuran atau penggantian daging sapi atau ayam dengan daging lain pada produk olahan daging biasanya bertujuan untuk menekan biaya produksi, sehingga produsen penjual produk olahan daging tetap dapat menjual produknya dengan harga yang terjangkau atau harga yang sama dengan harga sebelum ada kenaikan harga daging sapi, atau untuk mendapatkan keuntungan yang lebih banyak.

Permasalahan yang muncul adalah apabila pencampuran atau penggantian tersebut menggunakan jenis / spesies daging yang tidak boleh dikonsumsi oleh masyarakat tertentu terkait dengan agama atau budaya. Contoh kasus tersebut adalah ditemukan produk sosis yang dijual di pasar tradisional dan pasar modern di Yogyakarta ada yang terbuat dari campuran daging sapi dengan daging babi. Isu dari hasil penelitian tersebut mengakibatkan kekhawatiran dan keresahan masyarakat (khususnya ummat Islam) terkait dengan keamanan dan kehalalan pangan.

Produk sosis banyak diperjualbelikan di pasar tradisional dan saat ini penjualannya sudah merambah ke pinggiran kota atau perkampungan, yang seringkali harganya bisa lebih murah. Oleh karena itu permasalahan dari penelitian ini: apakah produk sosis sapi yang diperjual belikan di pasar tradisional dan digeraikan *frozen food* di kota atau di pinggiran kota Jakarta mengandung daging babi atau tidak.

Komponen bahan baku dari produk sosis adalah daging. Salah satu metode untuk identifikasi spesies daging hewan adalah teknik *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Teknik RT-PCR dipilih sebagai alat identifikasi karena mempunyai akurasi tinggi dalam mendeteksi ada tidaknya kandungan daging babi dalam produk olahan daging tersebut. (Cai, *et al.* 2012; Erwanto, *et al.* 2018; Janosi (2006); Soedjono (2004).

Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah untuk menguji kandungan daging babi (DNA babi) pada produk sosis yang dijual di pasar-pasar tradisional di Jakarta dan di gerai-gerai frozen food di perkampungan sekitar Jakarta, baik yang berlabel halal maupun tidak.

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan penelitian adalah produk sosis dalam keadaan mentah baik yang berlogo halal ataupun tidak berlogo halal dan dijual dengan harga yang murah. Bahan yang digunakan untuk analisis DNA babi adalah *DN-easy Mericon Food, Mericon Pig Kit*, agarose, DNA Ladder, loading dye dan buffer TAE.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah micro pipet (Eppendorf), Nanodrop Spectrophotometer (Tecan), tips 10 µL, 100 µL, 1000 µL, mesin Real Time-Polymerase Chain Reaction (Mygomini), alat elektroforesis (Biorad), dan gel documentation (GBox SensGene).

B. Pengujian DNA Menggunakan Metode RT-PCR

Analisa DNA babi pada sampel dilakukan dengan menggunakan *Mericon Pig Kit*. Tambahkan 130 mikrolit multiplex PCR master mix ke dalam tube mericon assay, vortex dan disentrifus. Tambahkan 200 mikrolit *quantitect nucleic acid dilution buffer* ke dalam *Dissolve positif DNA*, vortex dan disentrifus. Set up sampel dan kontrol reaksi sesuai tabel berikut ini.

Component	Sample	Positive PCR control	Negative PCR control
Reconstituted mericon Assay	10 µl	10 µl	10 µl
Sample DNA	10 µl	-	-
Dissolved Positive Control DNA	-	10 µl	-
QuantiTect Nucleic Acid Dilution Buffer or RNase-free water	-	-	10 µl
Total volume	20 µl	20 µl	20 µl

Gambar 1. Set up sampel

Set program PCR dan masukkan tube yang berisi sampel dan kontrol ke dalam mesin lalu *run* sesuai program RT-PCR berikut ini.

Step	Time	Temperature	Comments
Initial PCR activation step	5 min	95°C	Activation of HotStarTaq Plus DNA polymerase
3-step cycling:			
Denaturation	15 s	95°C	Data collection at 60°C
Annealing	15 s	60°C	
Extension	10 s	72°C	
Number of cycles	45		
Detection	Reporter	Excitation/emission	Channel
Target	FAM	495/520 nm	Green
Internal control	VIC	524/557 nm	Yellow

Gambar 2. Set Profram RT-PCR

C. Preparasi Sampel

1. Isolasi DNA

Isolasi DNA dari sampel menggunakan *DN-easy Mericon Food Kit*. Ambil 200 mg sampel dan tambahkan 1 ml *food lysis buffer* (bisa secara langsung 1 ml ataupun bertahap 500 μ l dan 500 μ l, (tergantung jenis sampel)). Dilanjutkan dengan proses purifikasi dengan mengambil 1 ml sampel dan menambahkan 2.5 μ L proteinase-K, vortex dan inkubasi pada suhu 60°C selama 30 menit. disentrifus dengan kecepatan 2500 x g selama 5 menit. Pindahkan lapisan bening dari *lysis tube* (tanpa menyentuh endapan pada dasar tube), ke mikro tube yang baru yang telah berisi kloroform 500 μ L. Vortex selama 15 detik dan sentrifus dengan kecepatan 14000 x g selama 15 menit. Ambil lapisan bening dan hitung berapa volumenya, lalu tambahkan 1:1 volume buffer fosfat dan vortex selama 15 detik. Tempatkan seluruh cairan ke dalam Qiaquick spin column dan disentrifus 17900 x g selama 1 menit. Buang cairan yang tertampung di collection tube. Tambahkan 500 mikrolit Buffer AW2, sentrifus 17900 x g selama 1 menit dan buang supernatnya. Tempatkan *Qiaquick spin column* pada 2 ml collection tube yang baru dan sentrifus ulang pada 17900 x g selama 1 menit pada dry membran. Buang collection tube dan tempatkan *Qiaquick spin column* pada tube baru 1.5 ml. Tambahkan 150 mikrolit buffer EB dan diamkan selama 1 menit pada suhu ruang lalu sentrifus selama 1 menit. DNA hasil elusi dapat langsung digunakan untuk

PCR atau simpan pada suhu -20°C sebelum digunakan.

2. Analisis Kemurnian DNA

Analisis kemurnian DNA dilakukan menggunakan instrumen Tecan Nanodrop Spectrophotometer. Lakukan blank menggunakan Elusion Buffer pada *plate*, dilanjutkan dengan sampel DNA yang telah diekstraksi, diambil sebanyak 2 μ L dan diletakkan pada *plate* Tecan, masukkan kembali *plate* ke dalam instrumen, dan kemudian lakukan pembacaan kemurnian DNA dengan menggunakan blank EB. Hasil kemurnian DNA akan keluar berupa tabel yang meliputi rasio konsentrasi protein terhadap konsentrasi DNA.

3. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa kemurnian DNA dan grafik yang menunjukkan keberadaan DNA babi dalam sampel sosis dengan menggunakan RT-PCR

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Isolasi dan Kemurnian DNA Sampel

Sampel produk sosis yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan atau dibeli dari pasar tradisional di Jakarta Selatan, Barat dan Pusat serta dari beberapa toko frozen food di pinggiran kota Jakarta.

Hasil isolasi dan kemurnian DNA pada sampel penelitian terlihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Data Konsentrasi dan Kemurnian DNA Sampel Sosis dan Kontrol Positif

Nomor	Sampel ID	Konsentrasi DNA (ng/ μ L)	Ratio A260/280	Keterangan
1	Kontrol (-)	102.2	1.83	Ada logo halal MUI
2	SPC2	38.8	1.87	Ada logo halal MUI
3	SPC1	46	1.86	Ada logo halal MUI
4	SPL2	39.9	1.9	Ada logo halal MUI
5	SPL1	61.4	1.88	Ada logo halal MUI
6	SPM	46.8	1.86	Ada logo halal MUI
7	SPS1	36.6	1.82	Ada logo halal MUI
8	SPS2	43	1.89	Ada logo halal MUI
9	SPL3	50.5	1.91	Ada logo halal MUI
10	SK+	35.3	1.92	Tidak ada logo halal

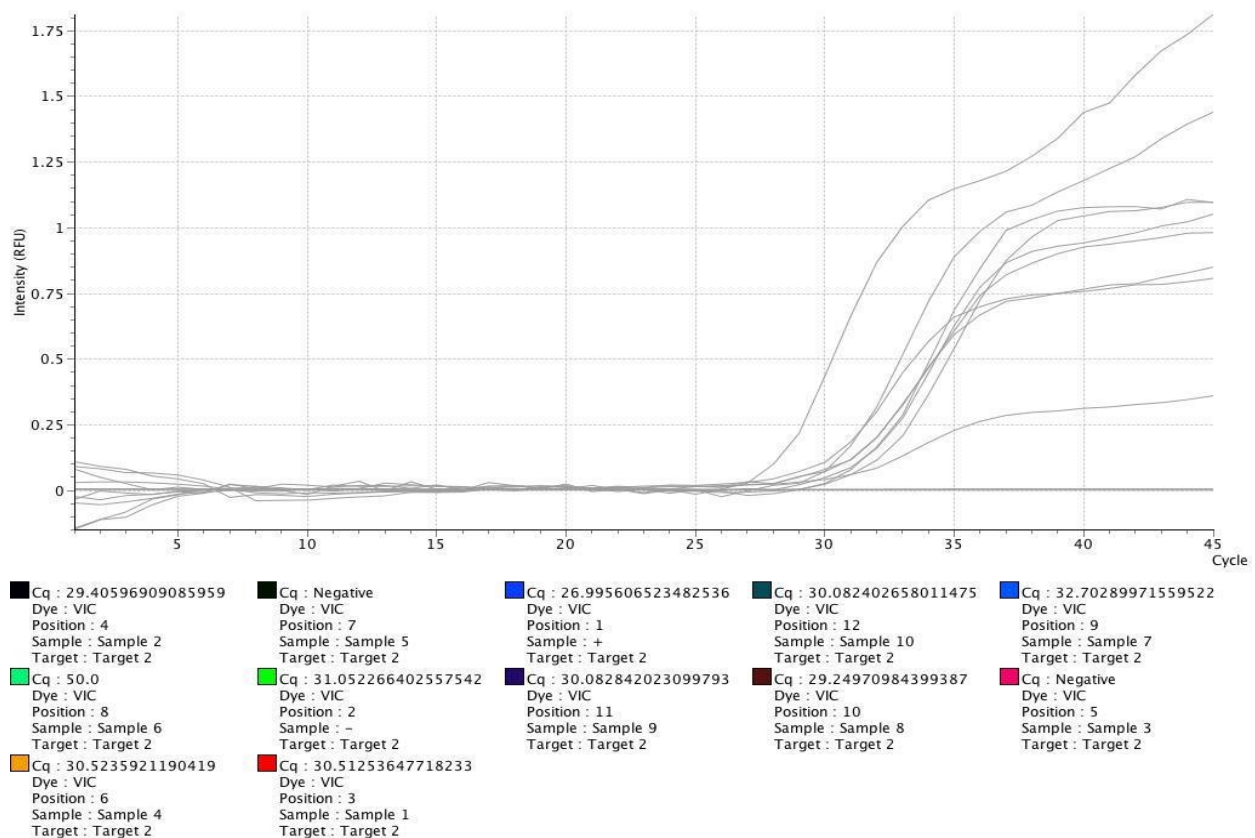
Keterangan : kontrol (-) = Sosis sapi
: SK+ = Sosis babi

Dari Tabel 1 di atas terlihat bahwa semua sampel yang digunakan berupa daging untuk sosis dalam kemasan. Dalam kemasan produk sosis tersebut ada yang mencantumkan label/logo halal MUI dan ada yang tidak mencantumkan logo halal. Hasil isolasi DNA total menunjukkan nilai konsentrasi yang berbeda dan konsentrasi terbesar yaitu sampel SPL 2 sebesar 61.4 ng/ μ L. Semua sampel (No. 1 s/d 10) menunjukkan nilai ratio pada A 260 / 280 nm diantara rentang 1.82 sampai 1.92. Nilai rentang ratio tersebut menunjukkan bahwa DNA yang diisolasi ini sudah murni. Apabila nilai rasionya kurang dari 1.80 atau nilai rasionya lebih dari 2.0 maka proses isolasi DNA total tidak berjalan dengan baik. Hal ini disebabkan adanya pengotor berupa RNA atau protein, sehingga mempengaruhi kemurnian DNA. Selain RNA dan protein, adanya komponen reagen atau kit yang terbawa saat proses isolasi seperti fenol, alkohol, dan kloroform pun mampu mempengaruhi kemurnian DNA total yang dihasilkan (Widayat et al, 2019).

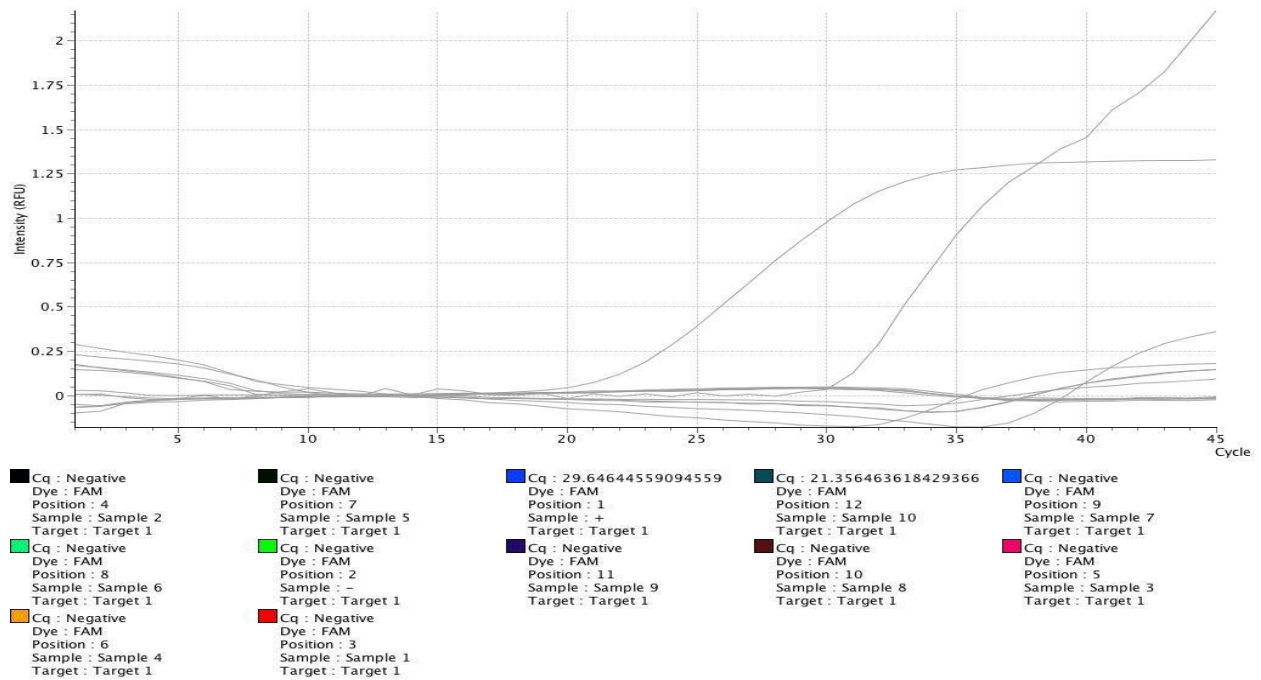
B. Keberadaan DNA Babi pada Sampel

Untuk melihat ada atau tidaknya DNA babi pada sampel penelitian ini digunakan Mericon pig kit. Dalam Mericon pig kit ini terdapat 2 Chanel / dye yaitu dye FAM dan dye VIC untuk melihat kurva amplifikasinya. Dye FAM digunakan untuk melihat ada atau tidaknya kurva amplifikasi DNA babi pada sampel dan kontrol positif. Sedangkan dye VIC digunakan untuk melihat internal control dimana nilai Cq pada dye VIC menunjukkan berhasil atau tidaknya proses RT PCR. Semua sampel dan kontrol positif yang digunakan harus memiliki kurva amplifikasi dan nilai Cq-nya di bawah 33 pada dye VIC.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sampel, kontrol positif dan kontrol negatif menunjukkan kurva amplifikasi pada dye VIC dan semua nilai Cq-nya di bawah 33 (Gambar 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa proses amplifikasi pada RT PCR berjalan baik. Pada grafik dye FAM, hasil penelitian ini (Gambar 4) menunjukkan bahwa hanya kontrol positif dan sampel Nomor 10 SK+ yang menunjukkan kurva amplifikasi DNA babi.



Gambar 3. Grafik Amplifikasi dan Nilai Cq dari Sampel, Kontrol positif dan Kontrol negative pada dye VIC



Gambar 4. Grafik Amplifikasi dari Sampel Uji dan Kontrol positif pada dye FAM

Hal tersebut jelas disebabkan karena kontrol positif (dalam kit) dan SK+ memang mengandung DNA babi. Sedangkan pada sampel daging sosis lainnya tidak mengandung DNA babi. (dimana nilai Cq-nya “negatif”). Nilai Cq pada SK+ (sampel nomor 10) adalah 21,356, sedangkan pada kontrol positif (dalam kit) sebesar 29,646. Perbedaan nilai tersebut dapat dipastikan bahwa konsentrasi DNA babi pada SK+ lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol positif yang tersedia dari dalam kit, sehingga kurva amplifikasi SK+ teramplifikasi lebih awal dari kurva amplifikasi kontrol positif (DNA babi) yang terdapat dalam kit.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Sampel produk sosis yang digunakan dalam penelitian ini yang dibeli dari pasar tradisional di Jakarta Selatan, Barat dan Pusat serta dari beberapa toko frozen food di pinggiran kota Jakarta, tidak terbuat atau tidak berbahan baku daging babi.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, para pelaku usaha produk olahan daging seperti sosis, yang dalam proses produksinya tidak menggunakan daging babi, disarankan mendaftarkan produknya untuk mendapatkan Sertifikat Halal, sehingga umat Islam bisa mendapatkan ketenangan bathin untuk mengkonsumsinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaraidh, I. A. 2008. Improved DNA Extraction For Porcine Contaminants, Detection in Imported Meat to the Saudi Market. *Saudi Journal of Biological Sciences* 15 (2) : 225 – 229.
- Cai, H., Gu, X., Scanlan, M. S., Ramatlapeng, D. H. and Lively, C. R. 2012. Real Time Assays for Detection and Qualification of Quantification of Porcine and Bovine DNA in Gelatin Capsules. *Journal of Food Composition and Analysis* 25 (2012); 83 – 87.
- Erwanto, Y., Rohman, A., Arsyanti, L. and Pranoto, Y. 2018. Identification of Pig DNA in Food Products Using Polymerase Chain Reaction (PCR) for Halal Authentication – a review. *International Food Research Journal* 25 (4) : 1322 – 1331 (August 2018).
- Janosi, A. 2006 Species Detection of Meat by Polymerase Chain Reaction Technique Corvinus University of Budapest. Budapest. Rumania.
- Junaidi, A. J. 2015 Policy on Safety and Halalness of Animal Products (Critical Point of Halal Slaughtering). Training and Workshop of Halal Auditor. Universitas YARSI. Jakarta.

Soedjono, R. D. 2004. Detection of Porcine Meat in Meat Products by Using Polymerase Chain Reaction Technique. *J. Veteriner* 5 (3) : 116 – 126.

Widayat, Agustini, T.W., Suzery, M., Al Baarri, A.N., Putri, S.R., Kusdianto, 2019. Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Sebagai alat deteksi DNA babi dalam beberapa produk non pangan. *Indonesian Journal of Halal*. Vol 2 (1) : 26-33.