

Identifikasi Spesies Babi pada Produk Pangan Asal Hewan di Pasar Tradisional Provinsi Riau dengan Metode Polymerase Chain Reaction

FARALINDA SARI

UPT. Laboratorium Veteriner dan Klinik Hewan,
Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Riau, Jl. Pattimura No. 2 Pekanbaru
Penulis Korespondensi, email: faralinda_sari@yahoo.com

ABSTRAK

Indonesia adalah negeri dengan jumlah muslim terbanyak didunia. Kehalalan produk pangan menjadi suatu prioritas utama. Pemerintah harus menjamin keamanan pangan dan kehalalan produk, sehingga konsumen dapat memperoleh pangan yang aman, sehat, utuh dan halal. namun peraturan pengusaha untuk mendapatkan labelisasi yang legal dari LPOM-MUI masih sebatas himbauan, belum menjadi kewajiban bagi semua pedagang pangan. Pemantauan labelisasi halal hanya terbatas kepada produk pangan dalam kemasan, dan belum menyentuh produk pangan yang dipasarkan secara tradisional. Tulisan ini merupakan hasil pengujian identifikasi spesies babi yang dilakukan kepada 204 sampel produk pangan asal hewan, dengan menggunakan metode PCR konvensional. Kegiatan ini dilakukan pada bulan Februari sampai dengan Desember 2016 di 12 Kabupaten/Kota se Provinsi Riau, dengan sasaran penjual makanan tradisional, non kemasan. Hasil pengujian ini menemukan terdapat 2 sampel positif mengandung DNA babi dari total 204 sampel yang diuji.

Kata kunci: PCR, identifikasi spesies babi, Riau, pasar tradisional

ABSTRACT

Indonesia is a country with the largest number of Muslims in the world. Halal food products became a major priority. The government must ensure the safety of food and halal products, so that consumers can obtain safe food, healthy, whole and Halal. The rules to obtain legal labeling of LPOM-MUI is not mandatory for all food traders., monitoring of halal labeling is only limited to the packaging food product inside the packaging, and have not touched food products traditionally marketed. This paper is the result of the porcine species identification testing was done to 204 samples of meat products, using conventional PCR methods. This activity was conducted in February to December 2016 in 12 districts / cities in Riau Province, with the goal of traditional market product, non-packaging. The results of this testing found there were 2 samples positive of pig DNA containing from total 204 samples tested.

Key words: PCR, porcine identification species, Riau, traditional market

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk muslim terbanyak (207 juta penduduk) (BPS,2010) dan telah ditunjuk sebagai Pusat Halal Dunia pada tahun 2011. Kehalalan produk merupakan prioritas utama bagi negara yang mayoritas penduduknya menganut agama Islam. Sampai saat ini, persyaratan halal masih menjadi pilihan bagi produsen. Sertifikasi halal dikeluarkan oleh Lembaga Pengkajian Pangan Obat-obatan dan kosmetika – Majelis Ulama Indonesia (LPOM-MUI), namun hal ini masih bersifat himbauan, belum menjadi kewajiban bagi produsen.

Riau merupakan provinsi yang sedang berkembang pesat seiring dengan meningkatnya pembangunan di Provinsi ini. Hal tersebut berkorelasi dengan bertambahnya pendatang untuk menetap. Pertambahan penduduk membutuhkan makanan yang cukup, sehingga permintaan suplai yang tinggi

diikuti oleh kenaikan harga bahan pokok. Produk asal hewan merupakan sumber makanan yang tinggi protein dan banyak diolah dalam berbagai bentuk produk olahan, seperti bakso, sosis, nugget, kerupuk kulit, dll. Beberapa pelaku produsen dan penjual produk olahan nakal sering melakukan pemalsuan spesies, dengan mencampur daging yang halal dengan yang tidak halal (misal: babi) dan juga daging lain yang tidak layak konsumsi (tikus, biawak, dll) demi keuntungan ekonomi. Maraknya pemburuan babi juga menyebabkan banyaknya penjualan daging babi secara ilegal sehingga tidak terantau distribusinya.

Meningkatnya jumlah penduduk diiringi oleh perkembangan pesat usaha di bidang pangan. Pemerintah kesulitan didalam penjaminan kehalalan semua produk pangan yang beredar. Hal ini menyebabkan masih ditemukannya kasus pengoplosan daging babi dengan daging sapi, daging ayam dan produk halal lainnya. Pengoplosan dapat terjadi pada produk segar dan produk olahan. Pada produk segar karakteristik daging babi dapat dibedakan dengan daging ayam, sapi, kerbau dan lainnya, dimana daging babi mempunyai karakteristik serat daging yang halus, dan lemak di luar lapisan daging dan warnanya yang merah muda. Namun kandungan daging babi pada produk olahan seperti bakso, nugget, burger, sosis menjadi sulit, karena tidak dapat dibedakan secara makroskopis. Terdapat beberapa metode pengujian yang dapat dilakukan untuk menguji adanya kontaminasi kandungan babi pada produk, antara lain dengan identifikasi protein dengan teknik elektroforesis (Kim dan Shelef, 1986; Skarpeid *et al*, 1998), liquid chromatography (Ashoor *et al*, 1998) dan immunoassays (Jones and Paterson, 1985; Hsieh *et al*, 1998). Namun metode ini memiliki kelemahan, karena protein akan kehilangan aktivitas biologinya setelah hewan mati, ditambah sifat protein yang labil dalam kondisi panas. metode *polymerase chain reaction* (PCR) adalah pilihan teknik yang digunakan untuk identifikasi jenis ternak tertentu (CIspeles *et al.*, 1999). Metodologi berbasis PCR merupakan teknik yang berhasil dalam pengidentifikasian kontaminasi babi (Farouk *et al.*, 2006; Wolf *et al.*, 1999; Stratil *et al.*, 1997 dan Wintero *et al.*, 1990).

Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Riau dalam strukturnya terdapat UPT. Laboratorium Veteriner dan Klinik Hewan (UPT. LVKH), merupakan laboratorium pengujian bidang Kesehatan Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner. Pemerintah Daerah memiliki peran menjamin keamanan pangan, dalam hal ini UPT. LVKH berperan didalam pengamanan produk asal hewan. UPT. LVKH secara rutin telah melaksanakan kegiatan surveilans pengambilan sampel produk asal hewan di 12 Kabupaten/Kota se Provinsi Riau, dengan salah satu pengujian yang dilakukan adalah identifikasi spesies babi pada produk. Pelaksanaan surveilans pengujian identifikasi spesies babi (uji kehalalan) merupakan upaya pemerintah daerah untuk memastikan produk yang beredar adalah ASUH (Aman, Sehat, Utuh dan Halal), dengan titik akhir pencapaian ketentraman masyarakat.

MATERIAL DAN METODE

Material

Sampel

Materi sampel merupakan produk asal hewan segar dan olahan, berasal dari kegiatan surveilans pengamanan produk asal hewan UPT. Laboratorium Veteriner dan Klinik Hewan, Dinas Pertanian dan Peternakan Provinsi Riau yang dilaksanakan pada bulan Februari-Desember 2016 di 12 Kabupaten/Kota se Propinsi Riau. Target surveilans adalah pasar tradisional, warung bakso permanen dan pedagang jajanan keliling. Jumlah sampel yang di uji sebanyak **204 sampel** dengan sampel berupa bakso, kiki., kerupuk kulit, nugget, dan sosis.

Reagen

Pengujian ini menggunakan ready to use kit untuk PCR Conventional. Ekstraksi sampel menggunakan Purelink® Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen), primer forward dan reverse untuk babi/Pork (Invitrogen), Platinum blue supermix (Invitrogen; cat no. 1466597), ethanol absolut (Merck), agarose, 100bp DNA ladder, Ethidium Bromide dan TAE 1x.

Peralatan

Peralatan yang digunakan didalam melakukan pengujian adalah: laminar air flow, biosafety cabinet level II, thermocycler (Biorad), gel doc (Biorad), *electrophoresis chamber*, mikropipet, stomacher, centrifuge dingin, waterbath, pinset dan gunting.

Metode Pengujian

Identifikasi spesies babi pada sampel produk asal hewan yang digunakan pada pengujian ini adalah metode Polymerase Chain Reaction (PCR) konvensional dengan primer spesifik babi (Pork). Secara garis besar metode pengujian terbagi menjadi 6 tahapan:

Persiapan Sampel

Sampel ditimbang sebanyak 5 gram dimasukkan kedalam stomacher bag berfilter, ditambahkan 5 ml aquades steril, kemudian distomacher selama 1 menit. Pipet hasil ekstrak, pindahkan kedalam tabung reaksi steril (sampel arsip). Sebanyak 1,5 ml ekstrak sampel dipindahkan ke dalam mikrotube 2 ml, sebagai sampel yang akan di uji. Kontrol positif dikerjakan dengan prosedur yang sama, menggunakan kornet babi kaleng, sedangkan kontrol negatif menggunakan RNA free water steril.

Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dengan melakukan ekstraksi sampel menggunakan Purelink® Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen), dengan prosedur sesuai manual book. Untuk persiapan lysate, ke dalam tabung mikrosentrifuge steril (1,5 ml) ditambahkan 25 µl Proteinase K, 200 µl sampel dan 200 µl lysis buffer, divortex selama 15 detik dan diinkubasi didalam waterbath suhu 56°C selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 250 µl Ethanol Absolute, vortex 15 detik dan diinkubasi di suhu kamar selama 5 menit. Prosedur selanjutnya adalah purifikasi, semua lysate dipindahkan ke dalam Viral Spin Column, kemudian di centrifuge 8000 rpm selama 1 menit, kemudian buang supernatan. Tabung koleksi diganti, tambahkan 500 µl Wash Buffer (W5), centrifuge 8000 rpm selama 1 menit, supernatan dibuang. Tambahkan 500 µl Wash Buffer (W5), centrifuge 8000 rpm selama 1 menit, buang supernatan. Pindahkan spin column ke dalam tabung koleksi baru, centrifuge 8000 rpm selama 1 menit. Ganti spin column ke dalam mikrotube steril (recovery tube) 1,5 ml, kemudian tambahkan 50 µl RNase-Free-Water (E3) tepat dibagian tengah spin column. Inkubasi disuhu ruang selama 1 menit. Centrifuge 12.000 rpm selama 1 menit. Buang spin column, dan DNA yang dihasilkan disimpan pada suhu -20°C dan dapat dilanjutkan ke tahap pengujian selanjutnya.

Mastermix PCR

Mastermix PCR dalam pengujian ini menggunakan kit komersial “ready to use” Platinum Blue Kit®Invitrogen 21 µl, primer spesifik Pork (®Invitrogen) Reverse dan Forward masing-masing 1 µl (konsentrasi 20 pmol). Sekuen primer yang digunakan adalah primer yang digunakan oleh Tanabe *et al* (2007), Primer Pork Forward: 5'-CTTGCAAATCCTAACAGGCCTG-3' dan Primer Pork Reverse: 5'-CGTTTGCATGTAGATAGCGAATAAC-3'. Penambahan template DNA sampel sebanyak 2 µl, dengan volume akhir 25 µl.

Amplifikasi PCR

Amplifikasi dilakukan dengan program sebagai berikut: *pre denaturasi* (suhu 95°C selama 5 menit); *denaturasi* (suhu 95°C selama 30 detik); *annealing* (suhu 60°C selama 45 detik); *ekstensi* (suhu 72°C selama 1 menit) sebanyak 35 siklus. Proses amplifikasi pada pengujian ini menggunakan thermocycler (Biorad).

Elektroforesis

Elektroforesis DNA dilakukan pada gel agarose 1 % dengan pewarnaan *Ethidium Bromide* 2 µl dalam larutan TAE buffer 1 x, dengan pengaturan 125 VA, 400 mA selama 30 menit.

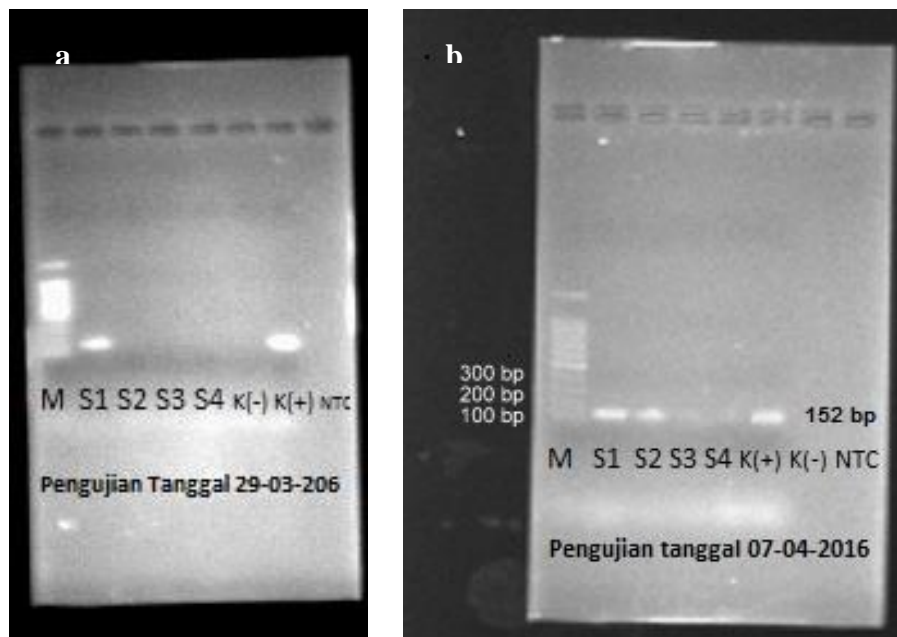
Visualisasi

Gel produk amplifikasi PCR divisualisasikan di dalam Gel Doc dan hasilnya didokumentasikan

dengan kamera. Analisis hasil amplifikasi berdasarkan ukuran dari masing-masing fragmen atau pita DNA dibandingkan dengan posisi pita dari marker dan kontrol positif. Visualisasi sampel yang teridentifikasi mengandung babi ditunjukkan dengan pita yang sejajar dengan kontrol positif babi yang berasal dari kornet babi. Dengan perbandingan marker 100 bp, terdapat pita yang terletak di antara garis pertama dan kedua, antara 100-200 bp. Identifikasi spesies babi dapat diketahui dari adanya potongan DNA spesifik untuk gen leptin babi yang mempunyai ukuran 152pb (Farouk *et al.*, 2006).

HASIL PEMBAHASAN

Dari 204 sampel yang diuji menggunakan PCR, terdapat 2 sampel positif (+) mengandung DNA babi (Gambar 1 a dan b). Gambar 2 menunjukkan 2 sampel (S1 dan S2) yang positif, sampel berasal dari pedagang yang sama, namun tanggal pengambilan sampel yang berbeda. Pengambilan sampel kedua dilakukan untuk konfirmasi test terhadap pedagang. Sampel yang terdeteksi positif mengandung babi adalah bakso. Bakso dan produk pangan olahan asal hewan lainnya paling mudah sebagai kasus pencampuran daging babi didalamnya, karena konsumen tidak akan dapat mendeteksi dan membedakannya secara kasat mata. Pemeriksaan di laboratorium dibutuhkan untuk dapat menentukannya secara akurat.



Gambar 1. Hasil Amplifikasi DNA. a. Hasil amplifikasi DNA positif teridentifikasi spesies babi, b. Hasil Amplifikasi DNA positif babi, dibandingkan dengan sampel positif sebelumnya (pedagang yang sama)

Pengujian ini menunjukkan masih terdapat produk pangan asal hewan di pasar tradisional mengandung babi, dari pedagang pangan yang tidak mencantumkan dagangannya adalah produk non halal. Hal tersebut termasuk ke dalam penipuan konsumen dan menjadi ancaman bagi umat muslim mengkonsumsi pangan yang haram (mengandung babi). Matsunaga *et al* (1999) menyatakan bahwa pengujian PCR menggunakan primer spesifik spesies adalah metode yang mudah dan cepat untuk deteksi spesies pada produk asal hewan. Alaraidh (2008) menggunakan PCR untuk mendeteksi kandungan

spesies babi pada daging impor di Arab Saudi. Sensitifitas, tingkat akurasi yang tinggi dan waktu pengujian yang cepat merupakan pertimbangan didalam pemilihan metode PCR untuk pengujian identifikasi spesies.

Sistem pengawasan pemerintah terhadap kehalalan produk dan distribusi perdagangan pangan skala tradisional dan rumah tangga masih belum maksimal. Labelisasi halal tersertifikasi pada komoditas pangan halal belum bersifat wajib, sehingga kehalalan pangan asal hewan khususnya yang dijual di pasar tradisional dan industri rumah tangga sangat minim pengawasan.

KESIMPULAN

Hasil pengujian mendeteksi 2 (dua) sampel yang positif mengandung DNA babi, hal ini menunjukkan masih terdapat pencampuran produk tidak halal pada pangan asal hewan yang beredar di Provinsi Riau. Diperlukannya surveilans yang intensif, dengan jumlah sampel yang lebih banyak untuk dapat mendeteksi kasus pemalsuan identifikasi spesies babi, khususnya produk pangan asal hewan yang beredar di pasar tradisional dan penjaja makanan keliling.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaraidh IA. 2008. Improved DNA extraction method for porcine contaminants, detection in imported meat to the Saudi market. *Saudi J Biol Sci.* **15(2)**, 225-229.
- Al-Rashood KA, EM Abdel-Moety, A Rauf, RR Abou-Shaban and KI Al-Khamis. 1995. Triacylglycerols profiling by high performance liquid chromatography: A tool for detection of pork fat (lard) in processed food. *J Liq Chromatogr.* **18**, 2661-2672.
- Ashoor SH, WC Monte and PG Stiles. 1998. Liquid chromatographic identification of meats. *J Assoc Off Anal Chem.* **71**, 397-403.
- Badan Pusat Statistik (BPS).2010.Hasil Sensus Penduduk 2010.Jakarta
- Clspedes A, T Garcia, E Cerrera, I Gonzales, A Fernandez, PE Hernandez and R Martin. 1999. Identification of sole (*Solea solca*) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) by PCR amplification of the 5S rDNA gene. *J Agric Food Chem.* **47**, 1046-1050.
- Farouk A, MF Batcha, R Griner, HM Salleh, MR Salleh and AR Sirajudin. 2006. The use of a molecular technique for the detection of porcine ingredients in the Malaysian food market. *Saudi Med J.* **27**, 447-450.
- Hsieh YH, SC Sheu and RC Bridgman. 1998. Development of a monoclonal antibody specific to cooked mammalian meats. *J Food Prot.* **61**, 476-481..
- Jones SI and RLS Paterson. 1985. Double antibody ELISA for detection of trace amounts of pig meat in raw meat mixtures. *Meat Sci.* **15**, 1-13.
- Kesmen, Z., Sahin, F. and Yetim, H. 2007. PCR assay for the identification of animal spesies in cooked sausage. *Meat sci.* **77** : 649-653
- Kim H and LA Shelef. 1986. Characterization and identification of raw beef, pork, chicken and turkey meats by electrophoretic patterns of their sarcoplasmis protein. *J Food Sci.* **51**, 731-741.
- Matsunaga, T, K. Chikuni, R. Tanabe, S. Muroya, K. Shibata, J. Yamada and Y. Shinmura. 1999. A quick and simple method for the identification of meat spesies. *Meat sci.* **51** : 143-148
- Skarpeid HJ, K Kvaal and KI Hildrum. 1998. Identification of animal species in ground meat mixtures by multivariate analysis of isoelectricfocusing protein profiles. *Electrophoresis.* **19**, 3103-3109.
- Spychaj, A, Paul Edward Mozdziak and Edward Pospiech. PCR Methods in Meat Species Identification as a tool for the Verification of Regional and Traditional Meat Products. *Acta Sci,Pol., Technol. Aliment.* **8 (2)** 2009,5-20
- Stratil A, IJ Peelman, M Van Poucke and S Cepica. 1997. A Hinfl PCR-RFLP at the porcine leptin (LEP) gene. *Anim Genet.* **28**, 371-372.
- Tanabe Soichi, Makiko Hase, Takeo Yano, Masahiko Sato, Tatsuya Fujimura and Hiroshi Akiyama. 2007. A Real-Time Quantitative PCR Detection Method for Pork, Chicken, Beef, Mutton and Horseflesh in Food. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71(12)**, 3131-3135.
- Wintero AK, PD Thomsen and WA Davies. 1990. Acomparison of immunoelectrophoresis and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork to beef. *Meat Sci.* **27**, 75-85.

Wolf C, J Rentach and P Heubner. 1999. PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA: A reliable method for species identification. *J Agric Food Chem.* 47, 1350-1355.