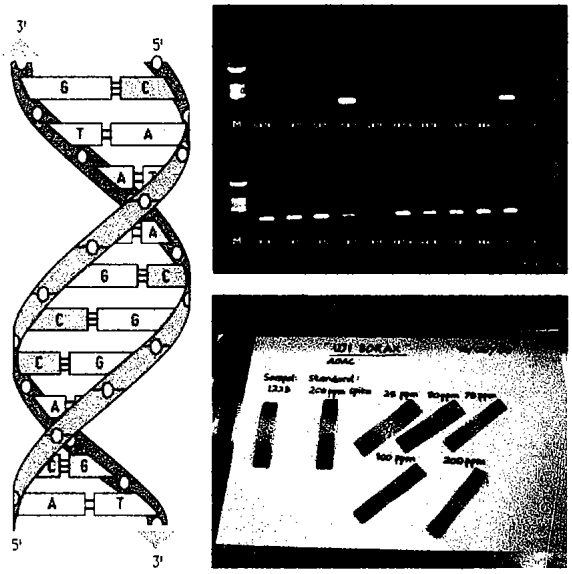
ISSN : 1411 - 9161

VELABO

BULETIN LABORATORIUM VETERINER



DEPARTEMEN PERTANIAN
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN
BALAI PENYIDIKAN DAN PENGUJIAN VETERINER
REGIONAL III

VELABO	VOL. 26	NO. 02	Hlm : 1 - 14	Bandar Lampung Desember 2009

Pengantar Redaksi

Puji dan syukur kita panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat karunia-Nya Buletin Laboratorium Veteriner (VELABO) Volume 26, No. 02, Edisi Desember 2009, dapat diterbitkan dan kembali dihadapkan pembaca sekalian.

Pada Velabo ini, pembaca dapat mengupas tentang hasil Pengembangan Teknik Diagnosa Rabies Secara Biomolekuler di BPPV Regional III, Boraks Sebagai Pengawet Makanan dan Monitoring Pemalsuan Daging babi Pada Produk Asal Hewan Di Pasar Provinsi Lampung Menggunakan Teknik cPCR (Polymerase Chain Reaction) di BPPV Regional III.

Harapan kami sajian Velabo ini dapat bermanfaat untuk pembaca, kalaupun ada kekurangan disana-sini adalah hal yang wajar dalam proses belajar dan mohon untuk dimaklumi.

Redaksi

ISSN : 1411 - 9161

Diterbitkan 2 kali setahun oleh :

BALAI PENYIDIKAN DAN PENGUJIAN VETERINER REGIONAL III
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN, DEPARTEMEN PERTANIAN

VELABO

Buletin Laboratorium Veteriner

Penanggung Jawab
Kepala Balai Penyidikan dan
Pengujian Veteriner Regional III
drh. Syamsul Ma'arif, M.Si

Pemimpin Redaksi
drh. Enny Saswiyanti

Redaktur Pelaksana
drh. Rismayani Sari Dewi, M.T.A

Anggota Redaksi
drh. Sri Marfiatiningsih
drh. IGNA. Wisnu Adi Saputra

Sekretaris Redaksi
Sulistiowati

Sirkulasi dan Distribusi
Tuti Mulyani

Alamat Redaksi
Jln. Untung Suroapti No.2 Labuhan Ratu
Kedaton Bandar Lampung - 35412
Telp 0721 - 701851 - 772894
Faksimile 0721 - 772894

DAFTAR ISI

Pengantar Redaksi

Daftar Isi

Pengembangan Teknik Diagnosa Rabies Secara Biomolekuler Di BPPV Regional III
Oleh
Eko Agus Srihanto (dkk)
1 -5

Boraks Sebagai Pengawet Makanan
Oleh
Rismayani Sari Dewi
6 - 9

Monitoring Pemalsuan daging Babi Pada Produk Asal Hewan Di Pasar Provinsi Lampung Menggunakan Teknik cPCR (Polymerase Chain Reaction) *Di BPPV Regional III*
oleh
Eko Agus Srihanto(dkk)
10 -14

PENGEMBANGAN TEKNIK DIAGNOSA RABIES SECARA BIOMOLEKULER DI BPPV REGIONAL III LAMPUNG

Srihanto, E.A. dan Cahyaningsari, D

ABSTRAK

Telah berhasil dikembangkan teknik diagnosa Rabies secara biomolekuler dengan metoda PCR konvensional (cPCR) dan Real Time PCR (qPCR). Pengujian terhadap penyakit Rabies dilakukan pada otak anjing yang telah mengalami autolisis. Amplifikasi DNA sampel dilakukan untuk mendapatkan *copy* DNA untuk dianalisis menggunakan primer spesifik. Dengan sensitivitas dan spesivitas yang dimiliki PCR mampu mendeteksi target yang seminimal mungkin sehingga terjadinya positif palsu dapat dihindari.

Metoda uji PCR konvensional menggunakan primer Rabies Gene N dan SS III One Step RT PCR With Platinum Taq menunjukkan hasil positif pada kedudukan 485 bp. Sedangkan uji Real Time PCR menggunakan primer yang sama dengan menggunakan Superscript III Platinum SYBR Green One Step qRT PCR with ROX menunjukkan hasil positif pada siklus 21,43 (Ct Value < 37).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan metode uji yang spesifik, cepat dan akurat sehingga dapat dijadikan alternatif dalam mendiagnosa suatu penyakit seperti Rabies meskipun sampel yang diuji telah mengalami autolisis.

Kata kunci : rabies, autolisis, cPCR dan qPCR

ABSTRACT

Biomolecular application of Rabies Diagnosis was successful conducted by using conventional PCR (cPCR) and Real Time PCR (qPCR) methods. They were conducted on autolysis brain of dog. The sample was amplified to get DNA copies by specific primer. Specifically and sensitively, PCR technique is able to detect target as well.

Conventional PCR used primer of Rabies gene N and SS III One Step RT PCR with Platinum Taq, while Real Time PCR used the same primer as cPCR and Superscript III Platinum SYBR Green One Step qRT PCR with ROX. The result of conventional PCR showed that the autolysis brain of dog was positive. It signed that band of DNA product was in position of 485 bp. Ct value of DNA which amplified by Real Time PCR was 21,43. It was considered positive because ct value was less than 37.

Polymerase Chain Reaction (PCR) is a specific, fast and accurate assay, so that it could be alternative methode to diagnose disease just like Rabies although the sample was already autolysis.

Keywords : rabies, autolysis, cPCR and qPCR

I. PENDAHULUAN

Kasus Rabies di Indonesia terutama di wilayah Sumatera bagian selatan masih tergolong cukup tinggi. Data laporan tahunan 2008 tercatat 34 sampel positif dari 43 sampel yang diterima oleh laboratorium. Sedangkan sampai bulan Juli 2009 terdapat 10 sampel dinyatakan positif. Tetapi hasil tersebut tidak dapat menggambarkan kondisi di lapangan karena jumlah yang sesungguhnya kemungkinan sangat banyak disebabkan banyak faktor yang terjadi (Anonimous, 2008).

Dalam upaya pengendalian rabies diperlukan diagnosa yang cepat, tepat dan akurat. Diagnosa rabies yang sering dipakai antara lain pewarnaan seller, FAT (Flourecent Antibody Technique), ELISA, pemeriksaan histopatologi, imunohistokimia dan uji biologi. Seiring dengan perkembangan teknologi penggunaan PCR sebagai salah satu metoda uji mulai dikenalkan di BPPV Regional III.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Penyakit anjing gila atau rabies disebabkan oleh Lyssavirus yang termasuk ke dalam familia Rhabdoviridae. Virus rabies mempunyai panjang 170 nm dan lebar 70 nm. Virus ini tergolong virus ss-RNA dengan panjang genom 11-12 kb dan tersusun secara struktural atas lima daerah penyandi protein (Fenner, et.al, 1993). Susunan genom tersebut adalah 3'-N-NS-M-G-L-5', dimana genom ini menjadi protein inti (N), nonstruktural atau phosphor (NS), matriks (M2), glikoprotein (G) dan polymerase/transkriptase (L). Protein N, NS dan L berada di dalam nukleokapsid, sedangkan protein G dan M berada di dalam amplop (Arai, 1996; Suwarno, 2006; dalam Faizah, 2008).

Penggunaan teknik PCR untuk mendiagnosa rabies dilakukan dengan RT-PCR (Reverse Trancriptase Polymerase Chain Reaction) untuk mengubah RNA menjadi DNA yang selanjutnya dilakukan amplifikasi untuk menghasilkan cDNA untuk dianalisis. Sebagai dasar diagnosa dengan teknik PCR dapat dilakukan dengan amplifikasi terhadap gen-N dan gen-G. Di BPPV Regional III pengembangan metoda pemeriksaan rabies dengan menggunakan teknik PCR dilakukan terhadap gen-N virus rabies. Gen-N dipilih dengan pertimbangan bahwa gen ini dianggap lebih stabil walaupun perubahan asam nukleat juga sudah ditemukan.

III. MATERI DAN METODA

A. Materi

Materi yang dipakai adalah otak anjing segar dan otak dalam keadaan autolisis.

Materi lain yang dipakai adalah sebagai berikut :

1. Forward Primer : **5'-TTT TCA AGA TYG TGG AGC AC-3'**
2. Reverse Primer : **5'- ACW GAC ATT ACA TGG GGR GCA C-3'** (Designed by Eko Agus S. and Diyan C.)
3. Superscript III Platinum SYBR Green One Step® qRT PCR with ROX (Invitrogen)
4. Superscript III One Step® RT PCR With Platinum Taq (Invitrogen)
5. Agarose
6. TAE 1x
7. Ethidium bromide
8. *Qiagen Mini kit*
9. RNAse Free Water

B. Metoda

Metoda yang dipakai dengan konvensional PCR dan Real Time PCR.

a. Metoda konvensional PCR

Dalam satu kali reaksi untuk konvensional PCR dibutuhkan perbandingan reagen sebagai berikut :

PCR 2X Mix	: 12,5 µl
SS III Plat. Taq	: 1 µl
Primer Forward	: 1 µl
Primer Reverse	: 1 µl
RNAse Free Water	: 7 µl
t-RNA	: 2,5 µl

Keterangan : konsentrasi primer 20 pmol

Metoda konvensional PCR menggunakan program sebagai berikut :

Siklus I (1x) : 55^0C : 30 menit
Siklus II (1x) : 95^0C : 5 menit
Siklus III (40x) :
Step I : 94^0C : 45 detik
Step II : 55^0C : 45 detik
Step III : 72^0C : 60 detik
Siklus IV (1x) : 72^0C : 4 menit
Siklus V (1x) : 4^0C : ~

Selanjutnya c-DNA dielektroforesis dengan agar gel kemudian dirunning selama 20 menit, 125 Volt dan 400 A. Visualisasi dilakukan dengan menggunakan UVP Transiluminator.

b. Metoda Real Time PCR

Dalam satu kali reaksi untuk Real Time PCR dibutuhkan perbandingan reagen sebagai berikut :

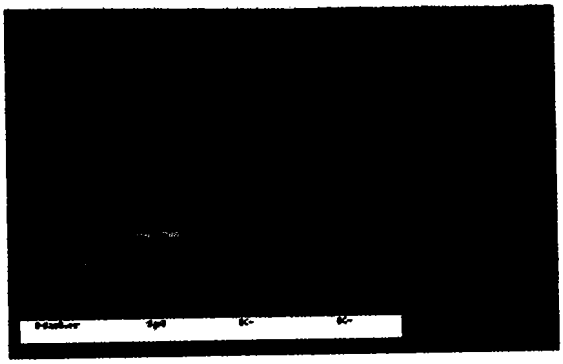
SybrGreen	: 12,5 µl
SS III Plat. Taq	: 1 µl
Primer Forward	: 1 µl
Primer Reverse	: 1 µl
RNAse Free Water	: 6,5 µl
t-RNA	: 3 µl

(Keterangan : konsentrasi primer 20 pmol)

Metoda Real Time PCR menggunakan program sebagai berikut :
Siklus I (1x) : 50^0C : 30 menit
Siklus II (1x) : 95^0C : 5 menit
Siklus III (40x) :
Step I : 95^0C : 15 detik
Step II : 60^0C : 60 detik

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

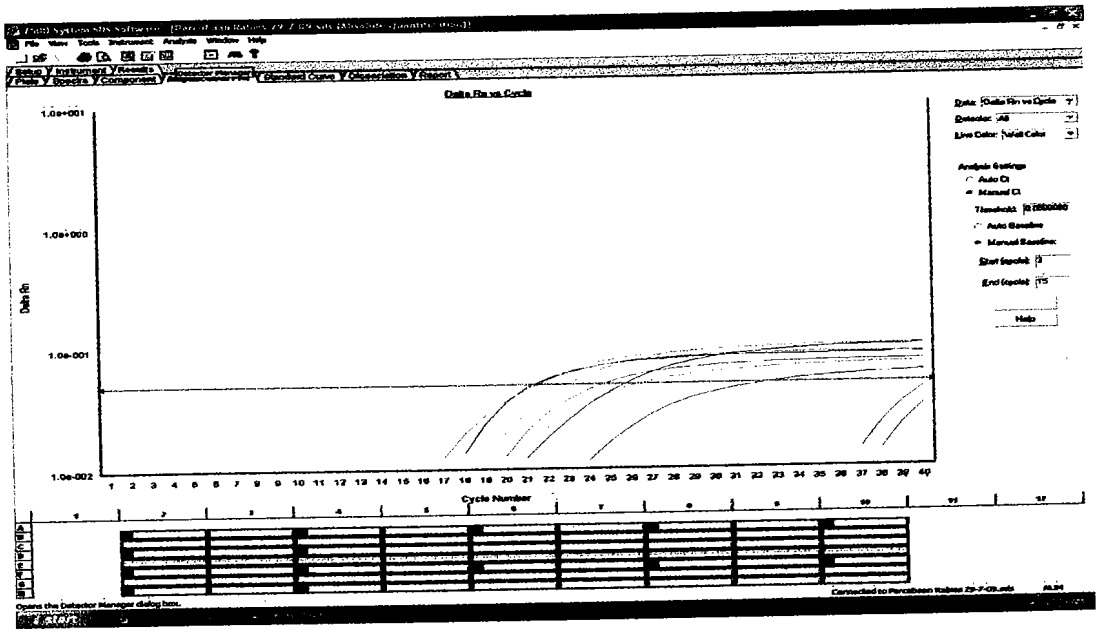
Dari hasil amplifikasi DNA virus dan dilanjutkan dengan visualisasi diperoleh hasil konvensional sebagai berikut :



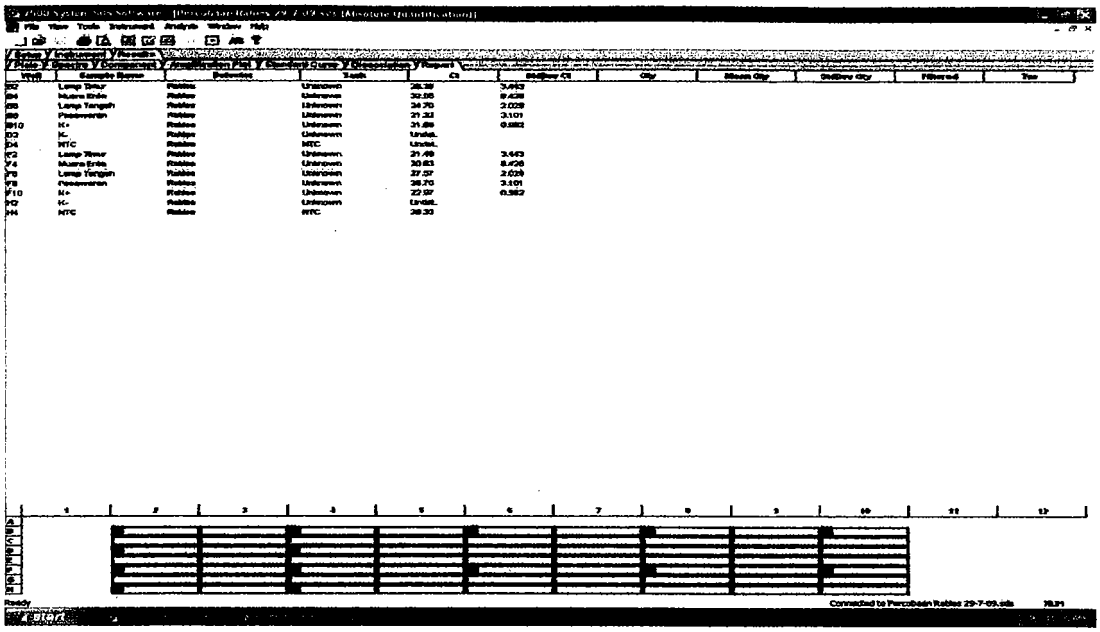
Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA virus rabies Gen N dengan konvensional PCR

Hasil amplifikasi DNA virus rabies gen N menunjukkan hasil positif pada posisi 485 bp. Primer rabies gen N mengamplifikasi pada posisi 533–1017 bp. Hasil amplifikasi tersebut berjalan dengan baik dengan ditandai tidak adanya amplikon di kontrol negatif dari reaksi yang dihasilkan.

Dari hasil amplifikasi DNA virus dengan menggunakan Real Time PCR diperoleh hasil sebagai berikut :



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA virus rabies Gen N dengan Rel Time PCR (berupa grafik)



Gambar 3. Hasil amplifikasi DNA virus rabies Gen N dengan Rel Time PCR (berupa angka)

Hasil amplifikasi DNA virus rabies gen N dengan menggunakan teknik Real Time PCR menunjukkan hasil positif apabila hasil cDNA berada di bawah siklus ke-37. Hasil amplifikasi tersebut berjalan baik dengan ditandai tidak adanya amplikon di kontrol negatif dan non template control (NTC) dari reaksi yang dihasilkan.

Penggunaan Sybr Green dalam Real Time PCR perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengingat Sybr Green tidak spesifik sehingga kemungkinan adanya positif palsu sangat besar walaupun primer yang dipergunakan spesifik terhadap virus target.

Diagnosa virus rabies (gen N) dengan menggunakan teknik PCR sangat dibutuhkan terutama apabila sampel sudah dalam keadaan autolisis. Dengan sensitivitas dan spesivitas tinggi yang dimilikinya PCR mampu mendeteksi target seminimal mungkin sehingga terjadinya positif palsu dapat dihindari.

IV. SIMPULAN

Diagnosa virus rabies Gen N dapat dilakukan dengan menggunakan teknik PCR (konvensional dan Real Time PCR), walaupun sampel sudah dalam keadaan autolisis.

Diagnosa dapat berjalan dengan cepat, akurat dan tepat karena menggunakan primer yang spesifik.

Dengan sensitivitas dan spesivitas yang tinggi, PCR mampu mendeteksi target seminimal mungkin sehingga terjadinya positif palsu dapat dihindari.

V. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang karakterisasi virus rabies yang ada di Indonesia untuk mengetahui terjadinya evolusi dan mutasi genetik.

Penggunaan Sybr Green untuk Real Time PCR perlu dilakukan lebih mendalam karena dapat mengakibatkan positif palsu.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada drh. Faizah, M.T.A. atas bantuannya dalam melakukan uji banding terhadap primer rabies gen N yang telah kami desain.

VI. DAFTAR PUSTAKA

1. *Anonimous. 2008.* Laporan Tahunan Penyakit Hewan. Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III. Bandar Lampung.

2. Faizah. 2008. Diagnosis Rabies Dengan Teknik PCR (Polymerase Chai Reaction), vol. 20, Juni. BBVet Denpasar. Denpasar.

3. Fenner, F.J., Gibbs, E.P.J., Murphy, F.A., Rott, R., Studart, M.J., White, D.O. 1993. Veterinary Virology. 2nd edition. Academic Press Inc. Califomia, pp. 489-505.

4. Suwarno. 2006. Penggunaan Teknik PCR untuk Diagnosa Virologi. Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

BORAKS SEBAGAI PENGAWET MAKANAN

Saridewi, R dan Khoiriyah, A

ABSTRAK

Bahan tambahan makanan (aditif makanan) digunakan agar makanan tampak lebih menarik, tahan lama dan mendapatkan kualitas yang kenyal, renyah serta padat. Senyawa boraks dapat masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan dan pencernaan. Akibat terdepositnya boraks di dalam tubuh menimbulkan efek racun seperti kerusakan sistem syaraf pusat, hati, otak, lambung, usus, dan ginjal.

Kata kunci : makanan, boraks, efek, racun

ABSTRACT

Feed additives used for nice, durable, preservative, crispy, and solid characteristic things. Borax compounds come into body through digestion and inhalation system. Generally, accumulated borax would be poison effect in center nerve system, liver, brain, gastric, intestine, and kidney.

Keywords : feed, borax, effect, poison

I. PENDAHULUAN

Bahan tambahan makanan (aditif makanan) digunakan agar makanan tampak lebih menarik dan tahan lama serta sebagai pengawet, pewarna, penyedap rasa, aroma, anti oksidan, dan lain-lain. Bahan tersebut tidak bernilai gizi, tetapi ditambahkan ke dalam makanan pada pembuatan atau pengangkutan untuk mempengaruhi atau mempertahankan sifat khas makanan tersebut (Maun dan Tilda, 1991). Bahan aditif makanan antara lain formalin, boraks, dan lain-lain ditambahkan pada makanan seperti pada mi, tahu, bakso, batagor dan ikan asin dapat mengandung zat kimia berbahaya bagi tubuh kita. Salah satu bahan tambahan yang dilarang digunakan dalam makanan adalah asam boraks dan garamnya natrium tetraboraks (boraks). Kandungan bahan pengawet yang akan dibahas lebih lanjut salah satunya adalah boraks. Hal ini disebabkan penggunaan boraks selain sebagai pengawet, juga dimaksudkan untuk mendapatkan kualitas makanan yang bersifat kenyal, renyah, dan padat, terutama pada jenis makanan yang mengandung pati, seperti bakso, mi, empek-empek (Zulharmita, 1995; dan Kasmayadi, 1992).

Boraks seringkali disalahgunakan dalam proses pembuatan bahan makanan, seperti digunakan sebagai bahan tambahan untuk pembuatan bakso, nuget, tahu, ketupat/lontong serta kerupuk. Ciri-ciri dari dari makanan yang mengandung boraks adalah sifatnya yang kenyal. Kandungan boraks pada makanan ini tentunya sangat berbahaya bagi kesehatan, karena boraks tidak boleh digunakan untuk bahan makanan maupun minuman.

Bahayanya, kita sebagai konsumen sulit menentukan apakah makanan yang kita santap mengandung bahan pengawet atau tidak karena hanya bisa diketahui melalui uji laboratorium. Deteksi boraks secara akurat hanya dapat dilakukan di laboratorium dengan menggunakan bahan-bahan kimia, yaitu melalui uji boraks.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Boraks mempunyai nama lain natrium biborat, natrium piroborat, natrium tetraborat, umumnya digunakan sebagai bahan solder, bahan pembersih, untuk mematri logam, pengawet kayu, proses pembuatan gelas dan enamel, antiseptik, desinfektan, serta pembasmi kecoa (Anonimous, 2008).

Boraks (Sodium tetraborat) digunakan sebagai bahan insektisida, pupuk, bahan kosmetika, air resirkulasi dan bahkan digunakan dalam makanan olahan. Produsen makanan menggunakan boraks karena sifat boraks yang dapat mengawetkan. Boraks tidak diijinkan sebagai bahan tambahan makanan karena dapat merugikan kesehatan konsumennya. Karakteristik boraks berbentuk kristal putih, tidak berbau, sedikit larut dalam air, stabil pada suhu serta tekanan normal. Borakss dipasaran terkenal dengan nama pijer, bleng, gendar dan air kl. (Silvia, 2004).

Senyawa boraks dapat masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan dan pencernaan atau absorbsi melalui kulit yang luka atau membran mukosa. Absorbsi ini berlangsung cepat dan sempurna, sedangkan absorbsi kulit yang normal tidak cukup menimbulkan keracunan. (Mujamil, 1997).

Dosis lethal pada orang dewasa adalah 15-20 gram, sedangkan pada bayi adalah 3-6 graiii (Maun, 1991).

III. PEMBAHASAN

Boraks menimbulkan efek racun pada manusia, tetapi mekanisme toksisitasnya berbeda dengan formalin. Menurut Winarno *et al.* (1994), pemakaian zat pengawet seperti formalin pada makanan dapat menyebabkan keracunan pada tubuh manusia. Gejala yang biasa timbul antara lain sukar menelan, sakit perut akut disertai muntah-muntah, diare berdarah, timbulnya depresi susunan saraf, atau gangguan peredaran darah. Konsumsi formalin pada *dosis sangat tinggi dapat mengakibatkan* konvulsi (kejang-kejang), haematuri (kencing darah), dan haimatomesis (muntah darah) yang berakhir dengan kematian injeksi formalin dengan dosis 100 gram dapat mengakibatkan kematian dalam waktu 3 jam. Toksisitas boraks yang terkandung di dalam makanan tidak langsung dirasakan oleh konsumen. Boraks yang terdapat dalam makanan akan diserap oleh tubuh dan disimpan secara kumulatif dalam hati, otak, atau testis (buah zakar), sehingga dosis boraks dalam tubuh menjadi tinggi (Winarno *et al.*, 1994).

Gejala Keracunan boraks antara lain :

a. Keadaan umum : lemah, sianosis, hipotensi
b. Terhirup : iritasi membran mukosa, tenggorokan sakit, dan batuk, efek *pada sistem saraf pusat berupa* hiperaktifitas, agitasi dan kejang. Aritmia berupa atrial fibrilasi, syok dan asidosis metabolik. Kematian dapat terjadi setelah pemaparan, akibat syok, depresi saraf pusat atau gagal ginjal.
c. Kontak dengan kulit : eritrodemik rash (merah), iritasi dan gejala seperti orang mabuk, deskuamasi dalam 3 sampai 5 hari setelah pemaparan.
d. Tertelan : mual, muntah, diare, *gangguan pencernaan, denyut* nadi tidak beraturan, nyeri kepala, gangguan pendengaran dan penglihatan, sianosis, kejang dan koma. Keracunan berat dan kematian umumnya terjadi pada bayi dan anak-anak dalam 1-7 hari setelah penelanan, sedangkan pada orang dewasa jarang terjadi.

Dampak negatif toksisitas boraks yang terkandung dalam makanan tidak secara langsung dirasakan oleh *pengkonsumsinya. Tetapi akan diserap* oleh tubuh dan terdeposit secara kumulatif di dalam organ, misalnya pada hati, ginjal, jaringan lemak, pembuluh darah, otak dan lain-lain.

Boraks akan menyerang langsung sistem saraf pusat dan menimbulkan gejala keracunan seperti demam, mual, muntah, diare, kejang, iritasi kulit dan jarinagn lemak, apatis, depresi, anuria, sianosis, hipotensi/tekanan darah turun, kerusakan ginjal, pingsan bahkan kematian. Pada dosis cukup tinggi, boraks dalam tubuh akan menyebabkan timbulnya gejala pusing-pusing, muntah, mencret, dan kram perut. Pada anak-anak dan bayi bila kadar boraks di dalam tubuhnya mencapai 5 gram atau lebih maka akan

terjadi keracunan sangat fatal yang dapat menyebabkan kematian. Pada orang dewasa dapat menimbulkan kematian bila kadarnya mencapai 10-20 gram.

Akibat dari terdepositnya boraks di dalam tubuh melalui makanan, secara umum menimbulkan kerusakan pada sistem saraf pusat, hati, otak, gastrointestinal serta ginjal. Untuk itu berhati-hatilah dalam memilih makanan dan pastikan bahan makanan yang dikonsumsi terbebas dari boraks.

Mekanisme keracunan boraks dan senyawa boraks lainnya belum diketahui. Secara klinis dan patologis ditemukan kelainan pada susunan saraf pusat, saluran pencernaan, ginjal, hati, dan kulit. Paling mengkhawatirkan adalah adanya efek kumulatif, bila menyerang susunan saraf pusat akan menyebabkan depresi, kekacauan mental, dan pada anak-anak kemungkinan akan menyebabkan retardasi mental (Goldfrank *et al.*, 1986).

Boraks akan diubah menjadi asam boraks dalam lambung, sehingga gejala keracunan sama dengan asam boraks. Setelah diabsorbsi akan terjadi kenaikan konsentrasi dan ion boraks dalam cairan serebrospinal, konsentrasi tertinggi akan ditemukan dalam jaringan otak, hati, dan lemak.

Namun masih banyak ditemukan penyalahgunaan boraks sebagai pengawet makanan, antara lain terdapat dalam bakso, mi, kerupuk, empek-empek, pisang molen, pangsit, bakmi, dan lain-lain. (Maun, 1991).

Bahan pengawet lain yang menghasilkan kualitas makanan yang setara dengan penggunaan boraks, mungkin masih belum ditemukan oleh produsen makanan sebab *zat penggantinya masih dalam taraf* penelitian para ahli (Ridwan *et al.*, 1993).

Tingkat pengetahuan yang rendah mengenai bahan pengawet merupakan faktor utama penyebab penggunaan boraks pada makanan. Beberapa survei menunjukkan, alasan produsen menggunakan boraks sebagai bahan pengawet karena daya awet dan mutu mi yang dihasilkan menjadi lebih bagus, serta murah harganya, tanpa peduli bahaya yang dapat ditimbulkan. Beberapa bahan tambahan makanan mempunyai pengaruh yang kurang baik terhadap kesehatan manusia; karena itu pemerintah (Departemen Kesehatan) telah mengatur/menetapkan jenis-jenis bahan tambahan makanan yang boleh dan tidak boleh digunakan dalam pengolahan makanan (Depkes RI, 1979).

Untuk itu, perlu dilakukan upaya peningkatan kesadaran dan pengetahuan bagi produsen dan konsumen tentang bahaya pemakaian bahan kimia yang bukan termasuk kategori bahan tambahan pangan. Selain itu, diperlukan sikap pemerintah yang lebih tegas dalam melarang penggunaan jenis pengawet tersebut pada produk pangan.

IV. SIMPULAN

Bahan tambahan makanan digunakan agar makanan tampak lebih menarik dan tahan lama.

Senyawa boraks masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan dan pencernaan sehingga menimbulkan kerusakan sistem syaraf pusat, hati, otak, lambung, usus, dan ginjal.

Konsumen perlu berhati-hati dalam memilih makanan dan pastikan bahan makanan yang dikonsumsi terbebas dari bahan pengawet

V. DAFTAR PUSTAKA

1. Anonimous. 2008. http://bioalami.blogspot.com/2008/07/waspadai-makanan-mengandung - boraks.html. Diakses, Kamis 29 Oktober 2009.

2. Depkes RI. 1979. Bahan-bahan yang dilarang dalam Makanan. Lampiran Peraturan Menteri Kesehatan RI tanggal 19 Juni 1979. Jakarta.

3. Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA, Weisman RS. 1986. Toxicologic Emergencies. New York: Appleton Century Crofts. USA.

4. Kasmayadi. 1992. Analisis Kandungan Boraks pada Bakso yang Beredar di Kecamatan Ilir Barat Palembang. Skripsi Sarjana Pendidikan Kimia FKIP Universitas Sriwijaya. Palembang.

5. Maun S, Tilda SS. 1991. Penyalahgunaan Zat Kimia Boraks dalam Makanan. Majalah Ilmiah Trisakti, No:6. Jakarta.

6. Mujamil J. 1997. Deteksi dan Evaluasi Keberadaan Boraks pada Beberapa Jenis Makanan di Kotamadya Palembang. FKIP Universitas Sriwijaya, Palembang. Dalam Cermin Dunia Kedokteran, No:120.

7. Ridwan IN, Rumenta P. Faisal A. 1993. Subtitusi Boraks dengan Bahan Tambahan Kimia yang diizinkan pada Pembuatan Kerupuk. Komunikasi IHP, No:3.

8. Silvia, S. 2004. Uji Toksisitas Subkronis Boraks (Sodium Tetraborat) pada Hati dan Ginjal Mencit (*Mus musculus L*) Galur Swiss Webster. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

9. Winarno FG., Rahayu FS. 1994. Bahan Tambahan untuk Makanan dan Kontaminan. Pustaka Sinar. Jakarta.

10. Zulharmita A. 1995. Kandungan Boraks pada Makanan Jenis Mie yang Beredar di Kotamadya Padang. Cermin Kedokteran, No:103. Padang.

MONITORING PEMALSUAN DAGING BABI PADA PRODUK ASAL HEWAN DI PASAR PROVINSI LAMPUNG MENGGUNAKAN TEKNIK cPCR (*Polymerase Chain Reaction*) DI BPPV REGIONAL III Tahun 2009

Srihanto, E.A[1]., Cahyaningsari, D[1]., Saridewi, R[2]., Khoiriah, A[2]., Novalia, D[2]., Ngatini[2]., Wirdanila[1]., Firwantoni[1].

ABSTRAK

Telah diperiksa sebanyak 44 sampel yang terdiri dari dendeng, abon, sosis dan bakso yang berasal dari pasar modern dan pasar tradisional di wilayah Lampung. Sampel diuji terhadap kemungkinan adanya pencampuran dan pemalsuan daging babi. Daging sapi dan daging babi sebagai kontrol positif. Sampel diamplifikasi dengan kontrol positif sebagai pembanding.

Dengan menggunakan primer yang spesifik, sampel diamplifikasi untuk mendapatkan kopi DNA agar dapat dianalisis. Dengan sensitivitas dan spesivisitas yang dimiliki PCR mampu mendeteksi target seminimal mungkin sehingga terjadinya positif palsu dapat dihindari. Dari hasil pemeriksaan menunjukkan *bands* (pita) yang mengandung DNA sapi terletak pada posisi 116 bp. Sedangkan *bands* (pita) yang mengandung DNA babi terletak pada posisi 149 bp.

Teknik PCR mampu mengidentifikasi daging hewan secara spesifik, sehingga pencampuran atau pemalsuan daging dengan daging yang tidak halal seperti daging babi dapat diketahui secara akurat dan cepat.

Kata kunci : PCR, daging, hewan, DNA

[1] Laboratorium Bioteknologi
[2] Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner

I. PENDAHULUAN

Pada saat ini, kegiatan pemalsuan daging semakin marak terjadi seperti pencampuran daging sapi dengan daging babi atau produk tidak halal lainnya untuk pembuatan berbagai macam makanan seperti dendeng, abon, bakso dan produk olahan lainnya. Baru-baru ini telah ditemukan 5 merk dendeng/abon yang positif mengandung daging babi (Kompas, 17 April 2009). Secara kasat mata produk tersebut tidak dapat dibedakan dengan daging asli, oleh sebab itu diperlukan suatu teknologi pengujian untuk memastikan apakah produk olahan tersebut tercemar atau tidak. Hal ini perlu dilakukan untuk memastikan keakuratan dan kepastian hasil diagnosa karena dengan adanya pemalsuan daging babi dapat merugikan konsumen dan produk tersebut menjadi tidak halal (Hardiman dkk., 2007).

Beberapa pengujian yang sudah dikembangkan yaitu dengan uji cepat (rapid test) dan uji *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Salah satu teknologi pengujian yang sekarang ini dikembangkan adalah dengan pengujian biologi molekuler dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Muladno, 2001 dalam Muflihanah, 2006).

Peranan biologi molekuler tidak bisa dipisahkan dengan perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan dunia. Semakin banyaknya kejadian penyakit yang disebabkan oleh parasit, bakteri dan virus, peranan biologi molekuler menjadi sangat penting. Banyak hal yang dapat dikerjakan oleh teknologi biologi molekuler yang berhubungan dengan pendiagnosaan penyakit. Tidak hanya sebagai metoda untuk pendiagnosaan penyakit tetapi perkembangan biologi molekuler sudah diterapkan secara luas di dunia kedokteran meliputi studi genetika, biologi, evolusi, kedokteran forensik, kesehatan masyarakat veteriner dan

penentuan hubungan orang tua dengan anak serta lainnya.

Pada bidang kesehatan masyarakat veteriner, PCR sebagai salah satu metoda uji mempunyai peranan yang penting dalam membantu mendiagnosa adanya pemalsuan daging babi dengan cepat dan lebih akurat. Kemampuan yang dimiliki oleh teknologi uji PCR dalam memperbanyak DNA target yang dicari secara spesifik, akan sangat bermanfaat dan dapat diandalkan untuk diagnosa ada/tidaknya suatu produk asal hewan tercampur dengan daging babi.

Amplifikasi DNA sampel dilakukan untuk mendapatkan kopi DNA agar dapat dianalisis menggunakan primer yang spesifik. Dengan sensitivitas dan spesivisitas yang dimiliki PCR mampu mendeteksi target yang seminimal mungkin sehingga terjadinya positif palsu dapat dihindari. Teknik PCR mampu mengidentifikasi daging hewan secara spesifik, sehingga pencampuran atau pemalsuan daging dengan daging yang tidak halal seperti daging babi dapat diketahui secara akurat dan cepat.

II. MATERI DAN METODA

A. MATERI

Sampel berupa dendeng, abon, bakso dan sosis yang merupakan hasil survelen di beberapa pasar besar dan pasar tradisional di kota Bandar Lampung. Daging sapi dan daging babi digunakan sebagai kontrol positif sebagai parameter pemeriksaan.
Materi lainnya berupa PureLinkRNA/DNA Purification Kit cat.no. 12280-027; Ethanol absolute cat.no. 1.00983.2500 (Merck); Platinum Blue PCR Super Mix catalog no. 12580-015 (Invitrogen); **Primer babi** Forward: **5' ATG AAA CAT TGG AGT AGT CCT ACT ATT TAC C 3'**, Reverse: **5' CTA CGA GGT CTG TTC CGA TAT AAG G 3'; Primer sapi** Forward: **5' CGG AGT AAT CCT TCT GCT CAC AGT 3'**, Reverse: **5' GGA TTG CTG ATA AGA GGT TGG TG 3';** Agarose cat. no. 15510-027; TAE cat.no. 161-0743; Ethidium Bromide cat.no. 161-0433; 100 bp DNA Ladder cat. no. 15628-019; dan Loading Dye cat. no. G.2101

B. METODA

B.1 Metoda Ekstraksi

Ekstraksi sampel menggunakan PureLink RNA/DNA Purification Kit cat.no. 12280-027. DNA hasil ekstraksi selanjutnya dilakukan dengan proses amplifikasi untuk mendapatkan kopi DNA agar bisa dianalisis.

B.2 Metoda Amplifikasi

Amplifikasi DNA dengan volume 25µl :
Platinum Blue PCR Super Mix : 21 µl
Primer Forward : 1 µl
Primer Reverse : 1 µl
DNA sampel : 2 µl

Untuk program Amplifikasi DNA :
Denaturasi awal (1x) : 94^{0}C: 5 menit
Amplifikasi (35x)
Denaturasi : 94^{0}C : 30 detik
Annealing : 58^{0}C : 60 detik
Ekstensi : 72^{0}C : 45 detik
Ekstensi akhir (1x) : 72^{0}C : 4 menit

Elektroforesis dilakukan pada gel agarose dengan menggunakan voltase 110-125 volt selama 20 menit. Pembacaan hasil elektroforesis dilakukan di bawah sinar ultra violet dengan alat UVP Transiluminator.

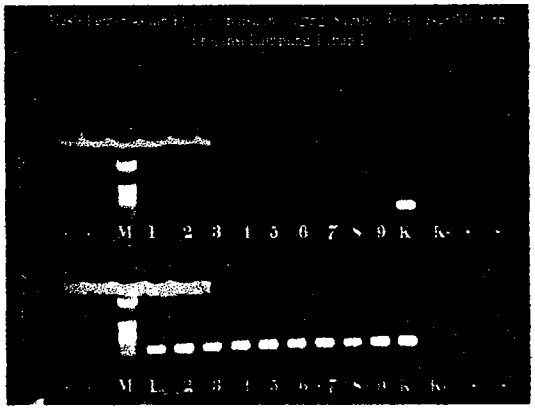
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan elektroforesis diperoleh data dari sejumlah pasar modern dan pasar tradisional, dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1 .Data hasil pengujian di beberapa Pasar Modern di Provinsi Lampung

Asal Sampel	Jenis sampel	Hasil	
		Sapi	Babi
Milenium- Natar Lampung selatan	Abon Sapi	+	-
	Sosis Sapi	+	-
Carefour – Tj. Karang Pusat B. Lampung	Dendeng	+	-
	Abon	+	-
	Rolade	+	-
Giant – Tj. Karang Pusat B. Lampung	Abon	+	-
	Sosis	+	-
	Dendeng	+	-
Chandra – Tj. Karang Timur B. Lampung	Bakso	+	-
	Ham	+	-
Chandra – Tk. Betung Utara B. Lampung	Bakso	+	-
	Sosis	+	-
Gelael – Tj. Karang Timur B. Lampung	Sosis	+	-
	Dendeng	+	-
Hypermart – Tj. Karang Pusat B. Lampung	Abon	+	-
	Bakso	+	-
	Dendeng	+	-

Hasil dari pemeriksaan sampel dapat divisualisasikan sebagai berikut :



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Sampel dari Pelayanan Aktif Pasar Modern Tahap I

Keterangan :

M = Marker
1 = Sosis
2 = Abon
3 = Rolade
4 = Abon
5 = Dendeng
6 = Abon
7 = Sosis
8 = Dendeng
9 = Bakso
K + = Kontrol Positif Babi
K - = Kontrol Negatif Babi

M = Marker
1 = Sosis
2 = Abon
3 = Rolade
4 = Abon
5 = Dendeng
6 = Abon
7 = Sosis
8 = Dendeng
9 = Bakso
K + = Kontrol Positif Sapi
K - = Kontrol Negatif Sapi

Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Sampel dari Pelayanan Aktif Pasar Modern Tahap II

Keterangan :

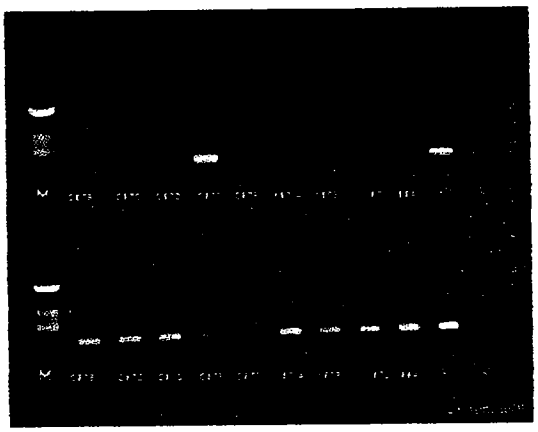
M = Marker
10 = Ham
11 = Bakso
12 = Sosis
13 = Sosis
14 = Dendeng
15 = Abon
16 = Bakso
17 = Dendeng
K + = Kontrol Positif Babi
K - = Kontrol Negatif Babi

M = Marker
10 = Ham
11 = Bakso
12 = Sosis
13 = Sosis
14 = Dendeng
15 = Abon
16 = Bakso
17 = Dendeng
K + = Kontrol Positif Sapi
K - = Kontrol Negatif Sapi

Tabel 2. Data hasil pengujian di beberapa Pasar Tradisional di Lampung

No	Lokasi Pengambilan	Nama Pemilik	Jenis Sampel	Hasil	
				Sapi	Babi
1.	Pasar Bernung	Ibu Sri	Bakso Sapi	+	–
		Pak Gianto	Bakso Sapi	+	–
2.	Pasar Cimeng	Pak Sugeng	Bakso Sapi	+	–
		Hunairoh	Bakso Sapi	+	–
		Hunairoh	Baso Sosis	+	–
		Ibu Wawan	Abon Sapi	+	–
		Ibu Wawan	Abon Sapi	+	–
		Pak Jono	Bakso Sapi	+	–
3.	Pasar Gudang Lelang	Toko Ibu Risma	Abon Sapi	+	–
		Ibu Amien	Dendeng Sapi	+	–
		Ayin	Bakso Sapi	+	–
		Yuli	Dendeng Sapi	+	–
		Pak Dede	Sosis Babi	+	+
		Ibu Eni Sri Sugiani	Abon Sapi	+	–
4.	Pasar Kang kung	Ibu Ratin	Bakso Sapi	+	–
		Pak Muhajir	Abon Sapi	+	–

		Pak Wiji	Bakso Sapi	+	–
5.	Pasar Panjang	Pak De Kumis	Bakso Sapi	+	=
		Ibu Putri	Abon Sapi	+	–
		Toko Wahyu	Abon Sapi	+	–
6.	Pasar Smep	Ibu Ning	Bakso Sapi	+	–
		Toko Kue selly	Abon Sapi	+	–
		Ibu Rina	Bakso Sapi	+	–
7.	Pasar Koga	Cik Santi	Bakso Sapi	+	–
		Toko Pur	Abon Sapi	+	–
		Ibu Pon	Bakso Sapi	+	–
		Toko Narto	Abon Sapi	+	–



Gambar 3. Hasil Pemeriksaan Sampel dari Konsumen

Keterangan :
Pemeriksaan sampel dengan menggunakan primer babi. Hasil produk daging yang sudah dimasak menunjukkan hasil positif daging babi yang terletak pada 149 bp.

Uji biologi molekuler dapat digunakan untuk mendeteksi pemalsuan terhadap suatu produk hasil ternak atau sudah dalam bentuk olahan (bakso, dendeng, sosis, daging kaleng atau daging sudah dalam kondisi matang) terhadap daging yang tidak halal (daging babi). DNA sebagai unit terkecil dari makhluk hidup digunakan sebagai detektor pengujian. Penggunaan primer spesifik dari individu tertentu (sapi, babi) dapat membantu dalam identifikasi spesies hewan pada produk asal hewan atau olahannya secara dini dan akurat. Dengan sensitivitas dan spesivitas yang tinggi teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat meng-*copy* DNA target sampai menjadi milyaran *copy* sehingga dapat dianalisis.

IV. SIMPULAN

Sampel yang berasal dari pasar modern dan pasar tradisional yang diperiksa di laboratorium Bioteknologi BPPV Regional III negatif terhadap pencampuran daging babi.

V. SARAN

Perlu dilakukan monitoring di pasar tradisional terhadap produk asal hewan yang diindikasikan mengandung daging babi dikarenakan kasus pemalsuan dan pencampuran daging babi di Lampung masih sangat tinggi.

VI. DAFTAR PUSTAKA

1. Anonimous, 2009. Ditemukan Lima Merek Dendeng Positif DNA Babi, Kompas tanggal 17 April 2009.

2. Hardiman., Muflihanah., Dini M., Fitrahadiyani., Irmayanti., Suriani., M.Husni H., M. Idris. 2007. Identifikasi Spesies Daging Hewan Dengan Menggunakan teknik cPCR (*Convensional Polymerase* Chain Reaction). Diagnosa Veteriner Vol. 5 No. 2. BBVet Maros.

3. Invitrogen. 2006. PureLink RNA/DNA Purification Kit cat.no. 12280-027. Calsbad. CA.

4. Muladno. 2001. Apa Dibalik Pengharaman Itu? Kumpulan Materi Pelatihan dan Pendeteksian Unsur Babi dalam Makanan Jadi melalui Uji DNA. LIPI. Cibinong.

5. Muflihanah. 2006. An Analysis of Antimicrobial Ampicillin Gene Resistance to Salmonella typhi with Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique. Program Pasca Sarjana, Universitas Hassanudin. Makassar.