

IDENTIFIKASI SPESIES BABI PADA SATE DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Yuli Miswati¹, Rahmanitia P¹, Yade Ep¹, Kiki S¹, Nirma C, Sovia H²

Balai Veteriner Bukittinggi¹
Dinas Pertanian Kota Padang²

yulimiswatibkt@yahoo.co.id

INTISARI

Penyelenggaraan kegiatan untuk kesehatan dan ketentraman batin masyarakat merupakan aspek penting dari bidang Kesehatan Masyarakat Veteriner (Kesmavet). Pengawasan terhadap pangan asal hewan terkait dengan penambahan maupun pemalsuan daging babi sebagai daging sapi perlu dilakukan agar dapat mencegah adanya kemungkinan kerugian ekonomi akibat substitusi penipuan atau pemalsuan guna menjamin ketentraman batin masyarakat terkait aspek halal. Satu sampel sate yang dicurigai daging babi diterima di Balai Veteriner Bukittinggi untuk dilakukan identifikasi spesies babi (gen Leptin). Sampel diuji dengan menggunakan metode polymerase chain reaction (PCR) dengan menggunakan primer spesifik. Hasil uji menunjukkan bahwa sampel sate positif daging babi.

Kata Kunci : Spesies babi, Halal, PCR

Pendahuluan

Peningkatan pendapatan penduduk di Indonesia mempengaruhi pola hidup masyarakat untuk mengkonsumsi daging dan produk olahannya dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani. Penyelenggaraan kegiatan untuk kesehatan dan ketentraman batin masyarakat merupakan aspek penting dari bidang Kesehatan Masyarakat Veteriner (Kesmavet) berdasarkan Peraturan Pemerintah RI nomor 95 tahun 2012 tentang Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Kesejahteraan Hewan. Aktivitas kesehatan masyarakat veteriner dilakukan melalui penjaminan higiene dan sanitasi pada rantai produksi produk hewan, penjaminan produk hewan dalam hal kehalalan bagi yang dipersyaratkan, keamanan, kesehatan dan keutuhan serta pengendalian dan penanggulangan zoonosis.

Pengawasan terhadap pangan asal hewan terkait dengan penambahan maupun pemalsuan daging babi sebagai daging sapi perlu dilakukan agar dapat mencegah adanya kemungkinan kerugian ekonomi akibat substitusi penipuan atau pemalsuan, mencegah adanya bahaya kesehatan dan menyebabkan reaksi alergi tertentu (Bottero

dan Dalmasso, 2011) serta menjamin ketentraman batin masyarakat terkait aspek halal terhadap pangan asal hewan yang beredar. Substitusi daging kuda pada produk olahan daging sapi di Eropa pada tahun 2013 menjadi perhatian di seluruh dunia karena adanya pemalsuan terhadap suatu produk makanan (Masiri et al., 2017).

Aspek halal sangat perlu diperhatikan dalam rangka melindungi konsumen terutama umat muslim dari pemalsuan berupa penambahan daging babi dalam produk makanan (Nakynsige et al., 2012). Kejadian pemalsuan dan substitusi daging babi terhadap daging sapi dan produk olahannya di Indonesia sering terjadi ketika harga daging sapi melonjak tinggi akibat kelangkaan stok daging sapi menjelang hari raya keagamaan dan tahun baru. Babi domestik dan babi hutan yang tidak mendapatkan pengawasan oleh instansi yang membidangi fungsi kesehatan hewan dan kesehatan masyarakat veteriner juga memiliki risiko dalam penularan zoonosis dan foodborne diseases. Risiko penularan zoonosis seperti cysticercosis dan trichinellosis dapat terjadi karena mengonsumsi daging babi hutan yang proses pemotongannya tidak

melalui tahap pemeriksaan kesehatan hewan, baik terhadap hewan hidup (antemortem) maupun daging dan jeroan yang dihasilkan (postmortem).

Salah satu upaya penjaminan pangan asal hewan dilakukan dengan cara pengembangan metode untuk mengidentifikasi spesies terkait dengan analisis kesehatan dan kehalalan suatu produk hewan. Risiko pemalsuan daging babi sebagai daging sapi dan produk olahan daging sapi yang beredar perlu mendapat pengawasan untuk menjamin produk hewan yang aman, sehat, utuh dan halal serta berdaya saing.

Banyak pengujian yang dapat dilakukan untuk mendeteksi adanya daging babi dalam produk hewan, salah satu metode uji yang digunakan adalah *polymerase chain reaction* (PCR) (Dooley et al., 2004; Farouk et al., 2006). Uji PCR dilakukan untuk deteksi gen leptin babi. Leptin adalah suatu protein yang disekresikan oleh jaringan lemak atau adipocyt. Gen leptin digunakan untuk determinasi jenis ternak tertentu karena mempunyai ukuran potongan (*fragment*) berbeda satu jenis dengan jenis lainnya.

Kronologis kejadian

1. Pada tanggal 21 Oktober 2018 ada pengaduan masyarakat ke Dinas Kesehatan Kota (DKK) Padang tentang kecurigaan bahwa sate KMS B dicurigai mengandung daging babi. Petugas DKK membeli lima tusuk sate tersebut dan dikirim ke Balai POM Aceh untuk dilakukan pemeriksaan laboratorium.
2. Tanggal 21 Januari 2019 diketahui bahwa hasil laboratorium Jakarta menyatakan sate tersebut positif daging babi.
3. Tanggal 25 Januari 2019 diadakan rapat gabungan antar Dinas Perdagangan, DKK, BPOM, Dinas Pertanian, Dinas Ketahanan Pangan Kota Padang. Sehubungan pengambilan sampel tanggal 21 Oktober 2018 tidak ada berita acaranya, maka diputuskan akan dilakukan pengambilan

sampel secara resmi. Dalam rapat disepakati bahwa pengujian laboratorium akan dilakukan di Balai Veteriner Bukittinggi (setelah terlebih dulu menelpon ke Balai Veteriner menanyakan kemampuan pengujian dan waktu yang diperlukan maksimal duahari).

4. Tanggal 28 Januari 2019 dilakukan pengambilan sampel sate dari gerobak penjualan oleh Drh. Sovia (Kabid Peternakan) dan disertai penandatanganan Berita Acara pengambilan sampel. Sampel dibawa ke Balai Veteriner Bukittinggi dengan pengawalan polisi.
5. Tanggal 29 Januari 2019 dilakukan pengujian laboratorium dan hasil pengujian selesai.

Materi Dan Metode

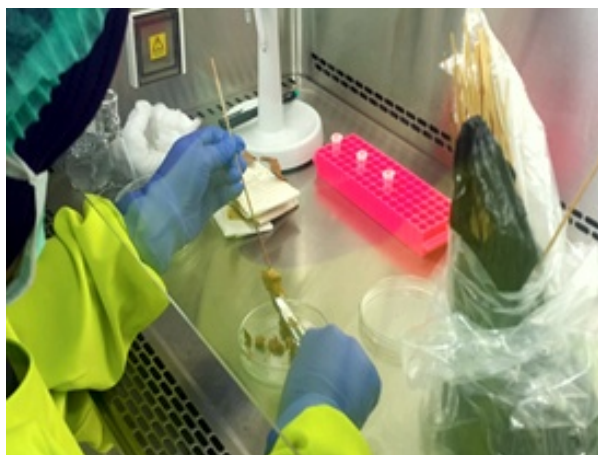
Materi yang digunakan dalam kegiatan ini adalah sate (satu sampel) yang dicurigai daging babi. Sampel diuji dengan menggunakan metode PCR untuk mendeteksi gen leptin babi, dengan menggunakan primer menurut Dooley et al., (2004).

Preparasi sampel

Sampel berupa sate diterima di laboratorium segera dilakukan preparasi. Spesimen berupa sate ditimbang 10 gram, dipotong kecil-kecil dengan gunting, kemudian digerus dalam mortar dan dibuat suspensi 10 - 20 % dengan menggunakan PBS, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit untuk memperoleh supernatan sebagai sampel untuk ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA p sampel dengan metode Dneasy® Blood and Tissue MiniKit (Qiagen No. Cat. 69506).



Gambar 1. Proses preparasi sampel sate dan ekstraksi DNA dilakukan di dalam Biosafety Cabinet Class II

Masukkan ke dalam microtube 1,5 ml supernatan sampel sebanyak 200 μ l. Tambahkan buffer ATL 200 μ l, tambahkan 25 μ l proteinase K, divorteks beberapa detik, inkubasi 56°C selama 1-3 jam, Vorteks beberapa kali selama inkubasi. Vorteks 15 detik, tambahkan 200 μ l Buffer AL. Divorteks 15 detik, tambahkan 200 μ l ethanol absolut, divorteks lagi. Inkubasi dalam suhu ruang selama 5 menit. Pipet larutan tersebut ke dalam Dneasy Mini spin column, setrifus 8000 rpm selama 1 menit. Buang filtrat dan tabung koleksinya. Tempatkan spin column dalam tabung koleksi 2 ml baru, Tambahkan 500 μ l Buffer AW1. Sentrifus 8000 rpm selama 1 menit, buang filtrat dan tabung koleksinya. Tempatkan spin column dalam tabung koleksi 2 ml baru, tambahkan 500 μ l Buffer AW2. Sentrifus 14.000 rpm selama 3 menit, buang filtrat dan tabung koleksinya. Tempatkan spin column dalam tabung koleksi 1,5 ml baru, tambahkan 50 μ l Buffer AE untuk elusi. Inkubasi pada suhu kamar selama 1 menit. Sentrifus 8000 rpm selama 1 menit. Buang spin column dan DNA yang didapat disimpan di dalam suhu -20°C atau langsung digunakan.

Polymerasi Chain Reaction (PCR)

Primer yang digunakan adalah spesifik untuk gen leptin babi sesuai referensi (Dooley et al., 2004). Susunan basa primer spesifik tersebut adalah forward : 5'-ATG AAA CAT TGG AGT AGT CCT ACT

ATTTAC-3' dan reverse : 5'-CTA CGA GGT CTG TTC CGA TAT AAG G -3'. PCR dilakukan dengan menggunakan Kit Vivantis DNA Polymerase (Vivantis, Cat PL1202) dengan volume reaksi 25 μ l : RNase Free Water 13,75 μ l ditambah 10X PCR buffer 2,5 μ l ditambah dNTP 2,5 μ l ditambah primer forward 20 μ M 0,5 μ l primer reverse 20 μ M 0,5 μ l ditambah taq polymerase 0,25 μ l dan template DNA 5 μ l. Program amplifikasi PCR yaitu tahap denaturasi awal: 94°C 5 menit 1 siklus, kemudian 35 siklus meliputi denaturasi : 94°C 30 detik, annealing : 58°C 60 detik, Ekstensi : 72°C 45 detik, tahap ekstensi terakhir 1 siklus : 72°C 4 menit dan penyimpanan 40°C (∞).

Gel Elektroforesi dan Visualisasi

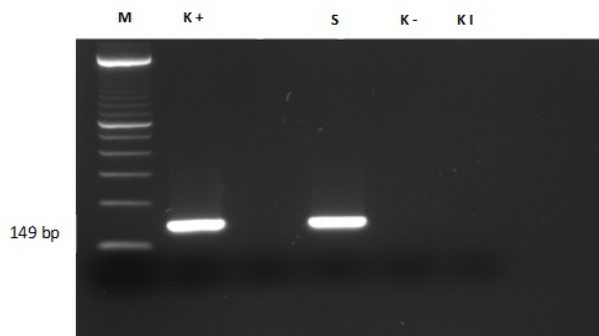
DNA gen leptin babi yang teramplifikasi dideterminasi pada gel agarose 1-2% dengan aliran listrik 100-125 Volt selama 45 - 60 menit. Hasil elektroforesis diwarnai dengan 5 μ l ethidium bromide atau sybersave (10mg/ml) dan divisualisasi dengan transiluminator dan dihubungkan dengan software affinity camera.

Validasi hasil PCR dilakukan dengan cetakan yang berisi DNA dari sampel negatif (kontrol negatif), dan cetakan yang berisi DNA dari sampel positif (kontrol positif) serta kontrol internal. Hasil valid jika pada kontrol positif muncul pita-pita DNA dengan panjang molekul DNA yang sudah diketahui sebelumnya berdasarkan referen. Sebaliknya

kontrol negatif dan kontrol internal tidak muncul pita-pita DNA (artinya tidak ada kontaminasi). Panjang molekul (dalam base pairs atau bp) amplikon gen leptin babi adalah 149 base pairs (bp). Hasil positif jika pada lajur dari sumuran sampel menunjukkan adanya pita-pita DNA yang sesuai (sejajar panjang molekulnya) dengan panjang molekul kontrol positif. Hasil negatif, jika tidak muncul pita DNA pada lajur dari sumuran sampel/ spesimen seperti pada kontrol negatif.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil pengujian yang dilakukan terhadap satu sampel sate menunjukkan positif daging babi (Gambar 2). Sesuai dengan validasi uji kontrol positif menunjukkan hasil positif, kontrol negatif dan kontrol internal PCR menunjukkan hasil negatif, artinya uji yang digunakan adalah valid.



Gambar 2. Hasil elektroforesis gen leptin babi sampel sate ; M = marker 100 bp; K+ = Kontrol positif babi, S = sampel sate; K- = kontrol negatif babi; KI +

Berdasarkan hasil analisis uji keberadaan gen Leptin babi dengan teknik PCR pada produk daging (sate) terdeteksi adanya daging babi, bahkan bila dilihat dari gambar 2 jelas bahwa kualitas ampikon sampel sama dengan kontrol positif daging babi. Hal ini berarti bahwa sate yang diuji adalah murni daging babi. Prosedur atau metode yang digunakan untuk uji ini cukup valid dan akurat. Spesifikasi primer gen Leptin babi yang

digunakan juga dalam uji ini dibuktikan dengan digunakannya daging sapi segar sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya pita DNA ukuran 149 bp.

Setelah menerima jawaban hasil laboratorium Balai Veteriner, pihak yang terkait langsung melakukan penggrebekan ke tempat penjualan sate, mengamankan ratusan tusuk sate yang siap untuk dijual, gerobak satanya dibawa ke Mako Pol PP Kota Padang. Penjual sate diamankan pihak berwajib dan diproses secara hukum. Dengan adanya kasus ini memiliki dampak yang sangat signifikan terhadap penurunan penjualan sate Padang. Untuk mengatasi hal tersebut maka Walikota Padang mengambil tindakan membuat acara makan sate Padang aman, sehat dan halal di Kota Padang.

Pentingnya pengawasan dilakukan secara berkelanjutan terhadap pangan asal hewan yang beredar di masyarakat oleh aparat dari institusi yang berhubungan dan saling bekerja sama untuk melindungi konsumen merasa aman dalam mengkonsumsi pangan asal hewan (aman, sehat, utuh dan halal).

Kesimpulan Dan Saran

1. Hasil pengujian PCR menunjukkan bahwa sampel sate positif daging babi.
2. Pengujian dengan metode PCR cukup valid digunakan untuk mengidentifikasi spesies hewan.
3. Pengawasan secara rutin terhadap pangan asal hewan yang beredar di masyarakat perlu dilakukan oleh aparat dari institusi yang berhubungan dan saling bekerja sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Bottero MT, Dalmaso A. 2011. Review Animal species identification in food products : evaluation of biomolecular methods. *The Veterinary Journal* 190:34-38
- Dooley JJ, Paine KE, Garret SD, Brown HM. 2004. Detection of meat species using TaqMan real time PCR assay. *Jour Meat Science*, 68 :431-438
- Masiri J, Benoit L, thienes C, Kainrath C, Barrios-Lopez B, Agapov A, Dobritsa A, Nadala C, Sung SL, Samadpour M. 2017. A rapid, semi quantitative test for detection of raw and cooked horse meat residues. *Food Control* 76:102-107
- Nakyinsige K, Che Man Y, Sazilli AQ. 2012. Halal authenticity issues in meat and meat products. *Meat Science* 91 :207-214