

IDENTIFIKASI DAGING TIKUS PADA PRODUK ASAL HEWAN DENGAN MENGGUNAKAN TEHNIK *POLIMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Srihanto, E.A, Setiaji, G, Rumpaka, R dan Firwantoni

Balai Veteriner Lampung
Jalan Untung Suropati No.2 Labuhan Ratu, Bandar Lampung

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk identifikasi daging tikus di produk asal hewan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi pencampuran daging tikus pada produk asal hewan atau makanan. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan teknik polimerase chain reaction (PCR). Ekstraksi dilakukan untuk mendapatkan DNA dari sampel dan dilanjutkan dengan proses amplifikasi DNA. Uji spesifisitas dan sensitifitas primer dilakukan terhadap daging dari multi spesies dan pada produk asal hewan. Hasil amplifikasi DNA dihasilkan amplicon 188 bp dan tidak mengamplifikasi spesies lain selain tikus. Primer yang digunakan mempunyai spesifisitas dan sensitifitas hanya terhadap DNA tikus.

Kata kunci : tikus, PCR, produk asal hewan

ABSTRACT

The purpose of this research was for the identification of rat meat in products of animal origin. This study aims to detect mixing rat meat products or food of animal origin. The identification was done by using polymerase chain reaction (PCR). Extraction is done to get DNA from the samples and proceed with the process of DNA amplification. Primer specificity and sensitivity test conducted on meat from multiple species and products of animal origin. DNA amplification product generated 188 bp amplicon and not amplify species other than mice. Primers used have the specificity and sensitivity only to mouse DNA.

Keywords: mice, PCR, products of animal origin

PENDAHULUAN

Kebutuhan pangan asal hewan dari hari ke hari terus bertambah seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap manfaat gizi bagi kehidupan manusia. Daging, telur dan susu merupakan bahan pangan hewani berkualitas tinggi karena mengandung protein yang tersusun dari asam amino essensial yaitu asam amino yang tidak dapat dihasilkan oleh tubuh ataupun digantikan oleh sumber makanan lain. Seiring dengan perkembangan kebutuhan tersebut, keamanan pangan asal hewan juga tidak lepas dari perhatian

konsumen. Keamanan pangan didefinisikan sebagai kondisi dan upaya yang diperlukan untuk pencegahan pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia dan bahan lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia (Anonim, 2004). Pemerintah dalam merealisasikan penyediaan daging yang aman menetapkan sebagai daging ASUH, yakni aman, sehat, utuh dan halal. Pangan halal didefinisikan sebagai bahan pangan yang tidak mengandung unsur atau bahan haram atau dilarang untuk dikonsumsi umat Islam serta pengolahannya tidak bertentangan dengan syariat Islam (Anonim, 2001).

Pemerintah telah berupaya melindungi konsumen dengan berbagai Undang-undang dan Peraturan Pemerintah, namun sampai saat ini pemalsuan produk pangan khususnya daging olahan masih sering terjadi. Pencampuran daging lain pada produk daging olahan biasanya bertujuan untuk menekan biaya produksi. Banyak kasus penipuan dengan menggunakan bahan-bahan yang tidak layak konsumsi dan tidak halal.

Pencampuran dengan daging lain pada produk daging olahan biasanya bertujuan untuk menekan biaya produksi. Permasalahan yang muncul adalah apabila pencampuran tersebut menggunakan jenis daging yang tidak boleh dikonsumsi oleh masyarakat tertentu terkait dengan agama dan budaya. Contoh kasus tersebut adalah telah beredarnya isu bakso sapi yang dicampur daging tikus di beberapa daerah akhir-akhir ini mengakibatkan kekhawatiran dan keresahan masyarakat terkait dengan cemaran biologis dan bahan lain sesuai dengan definisi keamanan pangan menurut PP no. 28 Tahun 2004 serta keutuhan daging dan produk olahannya.

Teknik deteksi dan identifikasi spesies hewan menjadi sangat penting dalam daging dan produk olahan untuk mengetahui keaslian produk guna menjamin keamanan dan kehalalan pangan serta melindungi konsumen dari pemalsuan informasi. Metode analisis yang akurat dengan prosedur sederhana dan cepat sangat diperlukan untuk pelabelan produk daging. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi percampuran daging tikus pada produk asal hewan secara molekuler.

METODOLOGI

Materi

Materi untuk penelitian digunakan daging tikus putih, tikus got, tikus rumah, mencit, marmut, kelinci, ayam, sapi, babi dan bakso yang didalamnya terdapat daging tikus. Sampel yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 1. Daging dari berbagai sampel dan produk asal hewan (bakso) tersebut diekstraksi untuk mendapatkan DNANYa.



Gambar 1. Sampel daging segar dan bakso

Materi untuk uji molekuler digunakan bahan antara lain *Purelink viral DNA/RNA minikit* (Invitrogen; cat no. 1361246), primer forward dan reverse untuk tikus, *Platinum blue supermix* (Invitrogen; cat no. 1466597), alkohol absolut (Merck), agarose, 100bp DNA ladder, *sybrsafe* (Invitrogen) dan TBE 1x. Amplifikasi DNA menggunakan mesin *iCycler* (Biorad).

Primer yang digunakan untuk amplifikasi DNA didesain spesifik untuk tikus dengan target gen CytB. Sekuens primer yang digunakan dapat dilihat di Tabel 1.

Tabel 1. Sekuens primer yang digunakan

Primer	Sekuens
Forward	5'-CATGTGGGACGAGGACTATACTATG-3'
Reverse	5'-GTAGTCCCAATGTAAGGGATAGCTG-3'

(Primer didesain oleh Eko AS, 2013)

Metode

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan *Purelink Viral RNA/DNA minikit*. Prosedur yang digunakan sesuai dengan petunjuk pabrik (Invitrogen). Sebanyak 200 µl suspensi sampel ditambah dengan 200 µl lysis buffer dan 25 µl Proteinase K dan dicampurkan dalam tube 1,5 ml. Suspensi

divortex dan diinkubasikan pada suhu 56⁰C selama 15 menit. Suspensi ditambah 250 µl alcohol absolute dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 5 menit. Suspensi ditransfer ke dalam spin column dan disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit. Collection tube diganti dan ditambahkan 500 µl Wash Buffer pada spin column. Collection tube disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit. Cairan pada collection tube dibuang. Collection tube ditambahkan lagi 500 µl Wash Buffer, kemudian disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit. Collection tube diganti dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit. Collection tube diganti dengan recovery tube ukuran 1,5 ml dan ditambahkan 50 µl nuclease free water (NFW). Recovery tube yang berisi NFW diinkubasikan dalam suhu ruang selama 1 menit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 menit. Dioxynucleic acid (DNA) yang diperoleh dapat langsung segera diamplifikasi atau disimpan dalam freezer bersuhu -20⁰C/-80⁰ C.

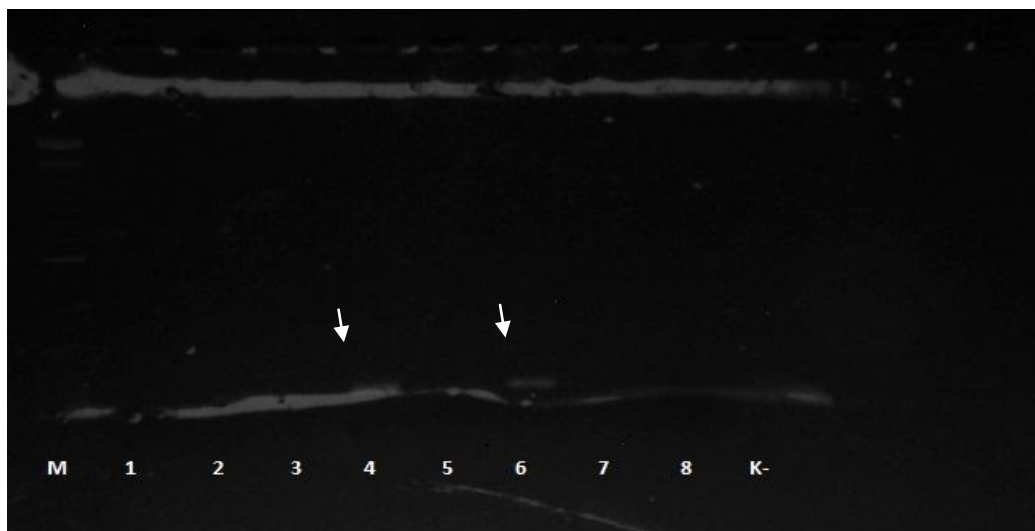
Amplifikasi DNA digunakan tehnik PCR. Volume total *reaction mix* dalam tube PCR adalah 25 µl yang terdiri atas 21 µl *Platinum Blue Supermix*, primer *forward* dan *reverse* masing-masing 1 µl dengan konsentrasi 20 pmol dan 2 µl *template* DNA. *Thermocycler* disiapkan dengan program sebagai berikut: *pre denaturasi* (suhu 95⁰C selama 5 menit); *denaturasi* (suhu 95⁰C selama 30 detik); *annealing* (suhu 60⁰C selama 45 detik); *ekstensi* (suhu 72⁰C selama 1 menit) sebanyak 35 siklus.

Elektroforesis DNA dilakukan pada gel agarose 1,5 % dengan pewarnaan *sybrsafe* dalam larutan TBE buffer 1 x. Gel produk amplifikasi PCR divisualisasikan di atas UV transiluminator dan hasilnya didokumentasikan dengan kamera. Analisis hasil amplifikasi berdasarkan ukuran dari masing-masing fragmen atau pita DNA dibandingkan dengan posisi pita dari marker.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi dilakukan terhadap DNA berbagai macam spesies diantaranya sapi, babi, ayam, kelinci, mencit, marmut, tikus putih dan tikus got. Dari hasil amplifikasi DNA dihasilkan hasil positif pada DNA tikus got dan tikus putih. Spesies lainnya tidak terdeteksi menggunakan primer yang didesain tersebut. Hasil ini menunjukkan bahwa primer tersebut spesifik dan sensitif hanya pada

DNA tikus. Hasil amplifikasi dan tabulasi hasil deteksi antar spesies ditampilkan di Gambar 2 dan Tabel 2.



Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA antar spesies (tanda panah putih menunjukkan hasil positif mengandung DNA tikus) menunjukkan panjang amplikon 188bp

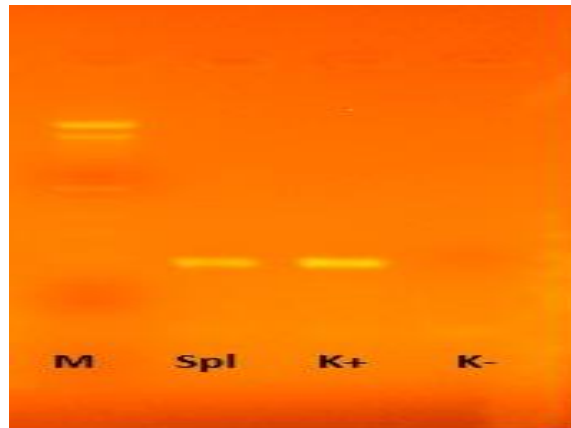
Keterangan : M : marker; 1 : sapi; 2 : babi; 3 : ayam; 4 : tikus putih; 5 : kelinci; 6 : tikus got; 7 : mencit; 8 : marmut; 9 : kontrol negatif; 10 : kontrol internal

Tabel 2. Tabulasi hasil deteksi DNA antar spesies

Sampel	Hasil
Sapi	-
Babi	-
Ayam	-
Tikus got	+
Kelinci	-
Tikus putih	+
Mencit	-
Marmut	-

Keterangan : “ + “ : positif, “ - “ : negatif

Amplifikasi DNA juga dilakukan pada sampel produk asal hewan. Hasil amplifikasi dihasilkan hasil positif pada produk asal hewan. Hasil amplifikasi pada produk asal hewan ditampilkan di Gambar 3. Amplikon menunjukkan produk sebesar 188 bp.



Gambar 3. Hasil amplifikasi DNA produk asal hewan menunjukkan hasil positif mengandung DNA tikus)

Keterangan : M : marker; Spl : sampel ; K+ : kontrol positif; K- : kontrol negatif

Identifikasi daging dari berbagai spesies dapat dilakukan secara fisik dengan melihat bentuk dari daging tersebut. Tetapi masih banyak ditemukan berbagai kelemahan karena membutuhkan keahlian dalam membedakan daging antar spesies. Teknik identifikasi jenis daging di dalam produk asal hewan yang cepat, murah dan cepat diperlukan untuk mengetahui adanya pencampuran daging yang ilegal. Pemalsuan daging pada produk asal hewan yang mungkin terjadi dengan cara penambahan daging lain, substitusi dengan daging lain atau perlakuan pada saat pengolahan (Ballin, 2010). Menurut Kesmen (2004), kebanyakan metode diagnosis pencampuran atau pemalsuan daging antar spesies seperti ELISA (*enzyme linked imuno sorbent assay*), GC (*gas chromatography*), rapid test atau HPLC (*high performance liquid chromatography*) dibutuhkan sampel yang banyak dan dalam kondisi segar. Selain itu tingkat sensitivitas uji juga rendah.

Perkembangan teknologi molekuler digunakan dalam mendeteksi DNA berbagai spesies. Teknik PCR digunakan karena mampu mendeteksi DNA dalam jumlah sedikit di dalam sampel. Selain itu waktu pengujian yang dibutuhkan cepat dan hasilnya akurat walaupun protein sudah mengalami degradasi (sampel dalam keadaan matang atau sudah dalam dalam olahan). Hal ini dibuktikan oleh penelitian Matsunaga (1999) yang masih bisa mengekstrak DNA dari sampel walaupun sudah mengalami pemanasan 100°C dan 120°C. Nuraini (2004) juga mampu mengekstraksi dan mengamplifikasi DNA yang berasal dari produk asal hewan seperti bakso, sosis dan dendeng sehingga

makin menguatkan bahwa DNA tidak rusak walau mengalami pemanasan dan pengolahan.

Identifikasi asal daging pada produk asal hewan sangat berguna bagi konsumen karena beberapa alasan yaitu kemungkinan adanya kerugian ekonomi akibat substitusi daging akibat penipuan produk, kesehatan individu konsumen akibat alergi karena mengkonsumsi daging tertentu dan alasan keagamaan (Miguel *et al.*, 2004). Deteksi dan identifikasi juga diperlukan dalam pelabelan produk untuk menjamin keamanan konsumen. Dengan adanya jaminan keamanan dan kehalalan produk maka pemerintah telah menghindarkan konsumen akan adanya tindak kriminalitas dan meningkatkan rasa keyakinan dalam mengkonsumsi suatu produk asal hewan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Primer yang digunakan mempunyai spesifisitas dan sensitifitas hanya terhadap DNA tikus. Hasil amplifikasi DNA dihasilkan amplicon 188 bp dan tidak mengamplifikasi spesies lain selain tikus. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diberikan saran perlu adanya monitoring yang intensif terhadap produk asal hewan dan turunannya terhadap kemungkinan adanya kasus-kasus pencampuran daging yang tidak lazim dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2001. Departemen Agama Republik Indonesia. *Keputusan Menteri Agama Republik Indonesia tentang Pedoman dan Tata cara Pemeriksaan dan Penetapan Pangan Halal*. Jakarta : DEPAG RI
- Anonim. 2004. *Peraturan Pemerintah Nomor 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan*. Jakarta
- Ballin, NZ. 2010. Authentication of meat and meat product. *Meat sci.* 86: 577-567
- Kesmen, Z., Sahin, F. and Yetim, H. 2007. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausage. *Meat sci.* 77 : 649-653
- Matsunaga, T. 1999. A quick and simple method for the identification of meat species. *Meat sci.* 51 : 143-148

Miguel, A.R. 2004. PCR identification of beef, sheep, goat and pork in raw and heat treated meat mixtures, *J Food Protect* 67 : 172-177

Nuaraini, H. 2004. Pengembangan sekuens Porcine Repetitive Element (RPE-1) sebagai penanda molekuler untuk mendeteksi material babi pada produk daging olahan. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.