



Deteksi Gen PRE-1 pada Sosis yang Diperjualbelikan di Kedungmundu

Detection of The PRE-1 Gene in Sausages Traded in Kedungmundu

Yuni Kristina Doin¹, Aprilia Indra Kartika¹, Ayu Rahmawati Sulistyanyingtyas²

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang

²Program Studi D III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang

*Corresponding author: doinyunikristina@gmail.com**

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

Abstrak

Gen P14 penyandi PRE-1 spesifik hanya dijumpai pada daging babi. Tujuan penelitian ini untuk identifikasi campuran daging babi pada sosis sapi yang belum melalui proses pengujian dari Balai Penanggulangan Obat dan Makanan (BPOM) atau yang belum memiliki label halal yang diperoleh dari agen sosis berdasarkan gen P14. Amplifikasi gen P14 menggunakan metode PCR. Sampel sosis positif mengandung gen *cyt b* dengan produk 274 bp yang menandakan komposisinya adalah daging sapi dan tidak mengandung cemaran daging babi.

Kata kunci: Deteksi gen PRE-1, sosis sapi, PCR

Abstract

*The specific P14 encoding PRE-1 gene is only found in pork. This study aims to identify pork mixture in beef sausages that have not yet been tested by the food and drug control agency (BPOM) or which don't have a halal label yet obtained from sausage agents based on the P14 gene. Amplification of the P14 gene using the PCR method. Positive sausage samples contain *Cyt b* gene with 274 bp product which indicates that the composition is beef and does not contain pork contamination.*

Keyword: Detection of PRE-1 gene, beef sausage, PCR

PENDAHULUAN

Peningkatan kebutuhan produk pangan hewani berkaitan dengan kesadaran masyarakat terhadap manfaat gizi dalam makanan. Jenis produk hewani seperti daging, susu dan telur merupakan bahan pangan hewani berkualitas tinggi karena mengandung protein yang tersusun dari asam amino esensial. Asam amino esensial tidak dapat dihasilkan oleh tubuh dan perlu asupan dari luar sehingga konsumsi produk hewani sangat penting (Nuraini *et al.*, 2012).

Kendala yang dihadapi dalam konsumsi produk hewani adalah kontaminasi dari bahan-bahan berbahaya bagi kesehatan seperti pengawet, pewarna, pencampuran daging tikus, daging babi atau campuran jenis lain. Dikarenakan pada saat proses pengilingan daging yang dilakukan tidak steril atau alat penggiling digunakan untuk semua jenis hewan tidak dipisahkan, harga daging babi yang cukup murah dibandingkan dengan harga daging sapi yang relatif lebih mahal. Menurut Undang Undang No. 7 Tahun 1996 tentang pangan pasal 21 disebutkan bahwa setiap orang dilarang mengedarkan pangan yang mengandung bahan yang kotor, busuk, tengik, terurai, atau mengandung bahan nabati atau hewani yang berpenyakit atau berasal dari bangkai sehingga menjadikan pangan tidak layak dikonsumsi manusia (Perwakilan dan Republik, 1996). Komponen atau zat berbahaya bagi tubuh yang terdapat dalam daging babi seperti cacing *Taenia solium*, cacing *Trichinella spiralis*, virus



influenza, dan jenis parasit lainnya (Yuningsih, 2010). Oleh sebab itu, daging babi tidak layak untuk dikonsumsi.

Kasus kontaminasi daging babi terjadi di kota Yogyakarta pada saat dilakukan razia menjelang lebaran 2010 ditemukan bakso bercampur daging babi. Selain itu, di Jawa Timur ditemukan penjual yang menjual daging sapi yang dicampur dengan daging babi, penjual yang menjual daging busuk dan penjual yang menjual daging ayam dan daging babi (Yuningsih, 2010). Oleh sebab itu, pengujian tentang keamanan produk hewani penting untuk dilakukan.

Metode deteksi kontaminasi daging babi yang telah dilakukan pada berbagai produk menggunakan Teknik Molekuler seperti konvensional PCR, Multiplex PCR, dan *Real Time* PCR. Teknologi Molekuler dapat digunakan sebagai solusi yang akurat untuk memastikan suatu sampel makanan mengandung kontaminasi daging babi, dilihat dari kandungan *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) (Nuraini *et al.*, 2012). Teknologi ini dapat berguna untuk memastikan suatu sampel makanan mengandung kontaminasi daging babi, meskipun dalam jumlah sedikit. Teknologi molekuler dapat digunakan sebagai metode identifikasi kontaminasi daging babi pada daging dan makanan olahan secara cepat / *rapid test* adalah metode PCR. (Rachmawati *et al.*, 2015). Kelebihan dari metode ini yaitu memiliki spesifitas tinggi, sangat cepat, efisiensi dan keakuratannya, sedangkan kekurangan dari metode ini yaitu mudah terkontaminasi dan reagen yang digunakan sangat mahal (Irianto, 2017).

Primer P14 merupakan salah satu dari ke-13 Lokus PRE-1 (*Porcine repetitive element*) yang terdapat dalam genom babi (Fibriana *et al.*, 2012). Lokus PRE-1 merupakan sekuen *Short Interspersed Nucleotide Element* (SINE) genom babi yang memiliki panjang nukleotida 481 bp (Singer *et al.*, 1987 ; cit Fibriana *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian Fibriana *et al.*, (2012) menggunakan primer P14 yang merupakan salah satu dari ke-13 lokus PRE-1 yang terdapat pada genom babi. Pengujian sampel sosis di kota Yogyakarta terdeteksi positif mengandung DNA mamalia dengan primer universal mamalia yaitu P195 dan CB sebesar 100% dan 0%. Presentase cemaran DNA babi dengan primer spesifik babi P14, PPA6, PPA8 dan pork masing-masing sebesar 88,89%, 22,22%, 22,22%, dan 22,22% (Priyanka, 2017). Pengujian 18 sampel mie instan didapatkan 1 sampel yang positif mengandung fragmen DNA cyt b babi (Nihayati dan Khoiriyah, 2017). Pengujian sampel kornet sapi pada tiga merk di wilayah kedungmundu didapatkan sampel kornet tidak mengandung daging babi (Wijaya, 2018).

Tingginya minat masyarakat mengkonsumsi produk hewani berupa sosis menyebabkan pengujian keamanan pangan secara molekuler penting dilakukan pada sampel sosis yang belum memiliki label halal atau belum melalui tahap pengujian dari BPOM. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi cemaran daging babi pada sampel sosis yang belum memiliki label halal yang diperjualbelikan di kedungmundu menggunakan primer P14 dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

METODE

Bahan dan Metode

Alat dan bahan yang digunakan diantaranya timbangan analitik, *incubator*, mikropipet, mortal, *waterbath*, tabung konikel, *microwave*, vortex, *sentrifuge*, cetakan gel agarose, gelas ukur, erlenmeyer, alat elektroforesis, *power supply*, *ultraviolet transilluminator* dan alat *thermocycler*, Sampel sosis sapi, Tris EDTA (TE), gel agarose, master mix, primer *forward* P14, primer *reverse* P14, primer *forward* spesifik sapi, primer *reverse* spesifik sapi, *loading dye* (larutan pemberat), larutan tris *acid* EDTA (TAE 1x), *buffer GB*, Proteinase K,



ethanol absolut 96 - 100%, *buffer PW*, *buffer GD*, *fluorovue nucleic acid* dan *nuclease free water*.

Isolasi DNA

Isolasi dilakukan dengan uji pendahuluan. Jus buah disaring lalu diinokulasikan pada media *buffer pepton water* dengan perbandingan 1 : 9 kemudian diinkubasi selama \pm 18 jam dengan suhu 37°C. Hasil kultur dipindahkan ke dalam tabung konikal lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, pellet ditambahkan 1500 μ l dan proteinase K 10 μ l. Gojog selama 15 menit, inkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit, setiap 10 menit dikeluarkan dan digojog secara perlahan. Larutan disentrifus kembali dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit setelah itu supernatan ditambahkan phenol CIAA 700 μ l lalu disentrifus 8000 rpm selama 10 menit, lapisan atas ditambahkan etanol absolut dingin 1:1, dipindahkan benang-benang DNA ke dalam mikrotube, dicuci dengan etanol 70% kemudian disentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit dilakukan sebanyak 2x. Pellet dikeringanginkan, ditambahkan TE 100 μ l, dimasukkan ke dalam freezer selama semalam. Kemurnian DNA dicek menggunakan elektroforesis *agarose*. Isolasi DNA menggunakan kit TIANamp Genomic DNA. Amplifikasi gen spesifik yaitu *Cytochrome b (cyt b)* dengan primer sapi dan PRE-1 dengan primer P14.

Hasil yang diperoleh divisualisasi dengan UV *transmiluminator*. Sampel dikatakan positif apabila terdapat pita DNA yang sama pada marker dan kontrol positif daging babi, dan apabila terdapat hasil smear pada pita DNA yang artinya sampel tersebut telah terkontaminasi atau campuran larutan DNA tidak bersih dan hasil negatif tidak di dapatkan pita DNA pada sampel.

HASIL

Hasil isolasi DNA terdapat pita yang menunjukkan terdapat genom pada kontrol positif daging babi, daging sapi dan sampel sosis satu sampai empat. Berikut gambar 5 menunjukkan hasil isolat dari daging sapi dan daging babi pada agarose 1%.



Gambar 5. Elektroforesis hasil isolasi genom menggunakan agarose 1 %

Ket: (1. Kontrol positif daging babi ; 2. Kontrol positif daging sapi ; 3. Sampel 1 ; 4. Sampel 2 ; 5. sampel 3 ; 6. Sampel 4).

Hasil isolasi DNA menggunakan agarose 1% terdapat smear. Tahap selanjutnya diukur konsentrasi dan kemurnian DNA. Berikut Tabel 4 yang menunjukkan Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA.

Tabel 4 Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA

No	Nama Sampel	Konsentrasi DNA	A260/A280 (Kemurnian)
1	kontrol daging sapi (DS)	45.1 ng/ μ l	2.17



2	kontrol daging babi (DB)	59.5 ng/μl	2.12
3	Sampel sosis 1	54.8 ng/μl	2.11
4	Sampel sosis 2	53 ng/μl	2.06
5	Sampel sosis 3	89 ng/μl	2.03
6	Sampel sosis 4	25.3 ng/μl	2.13

Kemurnian dari isolasi DNA yang didapatkan dalam penelitian ini yaitu lebih dari 2,0 yang menunjukkan bahwa DNA masih mengandung kontaminasi RNA. Tahap selanjutnya dilakukan amplifikasi DNA. Konsentrasi yang template pada semua sampel sosis, kontrol daging sapi dan daging babi disamakan konsentrasinya sebesar 150 ng/μl.

Hasil dari amplifikasi DNA didapat hasil pada kontrol daging sapi positif dengan produk akhir 274 bp, kontrol daging babi positif dengan produk akhir 481 bp, sampel 1, 2, 3 dan 4 terdapat pita DNA yang sejajar dengan kontrol positif daging sapi yang menunjukkan bahwa sampel 1, 2, 3 dan 4 tidak mengandung kontaminasi daging babi dapat dilihat pada gambar 6 berikut ini.



Gambar 6. Elektroforesis Hasil Amplifikasi DNA gen p14 dan gen sapi.

Ket: (DB: Daging Babi; DS: Daging Sapi; M: Marker; 1: Sampel sosis 1; 2: sampel sosis 2; 3: sampel sosis 3; 4: sampel sosis 4)

DISKUSI

DNA yang *smear* disebabkan kontaminasi RNA pada proses isolasi, RNA merupakan bagian dari asam nukleat yang berada dalam inti sel yang tersusun oleh unit-unit struktural yang disebut nukleotida dan memiliki fungsi untuk mengarahkan sintesis protein ke luar inti sel dan masuk ke dalam sitoplasma (Irianto, 2017). Keberadaan DNA dan RNA yang berada di dalam inti sel sehingga hal inilah yang menyebabkan DNA sangat muda terkontaminasi oleh RNA.

Konsentrasi DNA template disamakan konsentrasinya. DNA template merupakan molekul DNA untai ganda yang mengandung sekuen target yang akan diamplifikasi. Sehingga DNA template diperbanyak, jika DNA template sama maka dimungkinkan produk PCR atau amplifikasi juga sama. Sehingga menghasilkan ketebalan band yang sama. Konsentrasi DNA yang rendah menyebabkan primer tidak dapat di target dan jika konsentrasi yang terlalu tinggi akan menyebabkan *mispriming* (muladno, 2010).

Keberhasilan amplifikasi DNA diidentifikasi dengan UV Transilluminator dan dibuktikan dengan adanya pita tunggal DNA berukuran 274 bp yang terdapat pada sampel sosis berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa dalam sosis yang diuji memiliki bahan utama daging sapi karena terdeteksi gen *cytochrome b*. Gen *cytochrome b* spesifik pada daging sapi dan tidak dimiliki oleh daging lain yang bersifat *conserve* hanya ada pada daging



sapi tidak pada organisme lain. *Cytochrome b* berfungsi sebagai transpor elektron dalam mitokondria dan terletak di rantai respirasi mitokondria. Gen *Cytochrome b* (*cyt b*) dikode oleh DNA mitokondria, sehingga hanya spesifik pada daging sapi (Primasari, 2011).

Daging babi ditemukan pada kontrol positif ditandai dengan adanya pita DNA yang membuktikan bahwa primer p14 hanya spesifik pada gen PRE-1 (*Porcine Repetitive Element*) dan tidak ditemukan pada sapi. gen PRE-1 (*Porcine Repetitive Element*) terletak pada bagian sentromer dari kromosom didalam genom babi dengan akhir produk 481 bp (Nuraini, 2004).

Sosis yang dijual di daerah Kedungmundu mengandung daging sapi dan tidak terdapat kontaminasi daging babi. Walaupun sosis belum melalui proses pengujian dari Balai Penanggulangan Obat dan Makanan (BPOM) atau tidak memiliki label halal, namun sosis tersebut layak dikonsumsi dan terbukti tidak mengandung daging babi (halal). Pemeriksaan molekuler untuk menentukan halal dan haram suatu makanan sangat efektif karena menggunakan primer yang spesifik pada gen yang ditarget.

KESIMPULAN

Sampel sosis positif mengandung gen *cyt b* dengan produk 274 bp yang menandakan komposisinya adalah daging sapi dan tidak mengandung daging babi.

SARAN

1. Untuk peneliti selanjutnya sebaiknya melakukan variasi waktu inkubasi pada proses pelisisan.
2. Untuk peneliti selanjutnya sebaiknya menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu sebesar 200 ng/ul.

REFERENSI

- Fibriana, Fidya, Tuti Widiyanti, dan Retnoningsih A. 2012. "Deteksi Daging Babi Pada Produk Bakso di Pusat Kota Salatiga Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction." *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* 4.2
- Irianto K, 2017. Biologi Molekuler (*molecular Biology*) Teori-Praktikum-Glosarium. Bandung: Alfabeta.
- Muladno. 2010. Teknologi Rekayasa Genetik, Edisi Kedua. IPB Press: Bogor
- Nuraini, H. 2004. Pengembangan Sekuen Porcine Repetitive Element-1 (PRE-1) Sebagai Penanda Molekuler Untuk Mendeteksi Material Babi Pada Produk Baging Olahan. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor. Halaman: 26-28.
- Nuraini, H., Primasari, A., Andreas, E., dan Sumantri, C. 2012. The use of cytochrome b gene as a specific marker of the rat meat (*Rattus norvegicus*) on meat and meat products. *MediaPeternakan*, 35(1), 15.
- Primasari, A. 2011. Sensitifitas gen sitokrom b (*cyt b*) sebagai marka spesifik pada genus *Rattus* dan *Mus* untuk menjamin keamanan pangan produk asal daging. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Priyanka, V. A. 2017. Deteksi Cemar Daging Babi Pada Produk Sosis Sapi di Kota Yogyakarta Dengan Metode Polymerase Chain Reaction. Yogyakarta: Universitas ATMA jaya Yogyakarta fakultas teknobiologi.
- Puspitaningrum Y. 2015. *Deteksi DNA gelatin sapi dan gelatin babi pada simulasi gummy vitamin c menggunakan real-time PCR untuk analisis kehalalan* Bachelor's thesis, UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan.



- Rachmawati, Y., Rokhim, S., Munir, M., dan Agustina, E. 2015. Deteksi Kontaminan Fragmen Dna Pengkode Cyt B Babi Pada Sampel Softgellcandy Tak Berlabel Halal. *Indonesia Journal of Halal*, 1(1).
- Undang Undang No. 7 Tahun 1996 Tentang: Pangan. "Lembaran Negara RI Tahun 3656. 1996.
- Wijaya H, Darmawati S, dan Kartika A. "Deteksi Daging Babi pada Tiga Merk Kernet Sapi Berdasarkan Gen Cytochrome b dengan Metode PCR." *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*. Vol. 1. 2018.
- Yuningsih R, 2010. Perlindungan Konsumen Dari Dampak Buruk Makan Tidak Halal Bagi Kesehatan. Jakarta :Aspirasi vol 1, hal. 182–183.

