

MENDETEKSI BAKSO YANG MENGANDUNG DAGING BABI

Muladno^{1,2}, D. Maryatni¹ & S. Budiarti²

¹⁾ Jurusan IPT, Fakultas Peternakan IPB

²⁾ Laboratorium Bioteknologi Hewan & Biomedis, PAU Bioteknologi IPB

(Diterima 6-9-1999; disetujui 20-12-1999)

ABSTRACT

A preliminary study to detect inclusion of pork in the popular Indonesian food *bakso* at DNA level was conducted using the PCR technique. Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) samples were extracted from pork, beef, *bakso* (either containing pork or beef-pork mix) and used as templates for PCR amplification. Two pairs of primers, P131 and P408 each of which flanking *Porcine Repetitive Element* (PRE-1) at different location in the genome, were utilized as molecular detector. Results of this study clearly showed that PCR product was observed from pork or any *bakso* containing pork, but not from beef. While this study is of laboratory scale, the technique is expected to be a potential procedure for commercial application.

Keyword : PCR, bakso, PRE-1.

PENDAHULUAN

Babi merupakan hewan yang seluruh bagian tubuhnya diharamkan untuk dimakan oleh umat Islam (Al-An'am: 145 dan Al-Maidah: 3), sehingga semua makanan harus bebas dari komponen babi. Bakso yang terbuat dari campuran daging dan tepung sugu merupakan jenis makanan populer yang sangat rawan kehalalannya. Hasil penelitian di Bandung menyebutkan bahwa 23 dari 58 pedagang bakso permanen (37,9 %) dan 21 dari 64 pedagang bakso keliling (32,8 %) membuat bakso yang mengandung campuran daging sapi dan daging babi (Anonimus, 1984). Hasil penelitian lain (Susanto, 1988) juga menyimpulkan bahwa makanan yang mengandung gelatin, *shortening* dan *lard* seperti permen lunak, coklat, *jelly*, kue kering atau biskuit dan sosis dicurigai sebagai makanan yang mengandung komponen babi. Karena adanya komponen babi di dalam makanan tidak dapat dibedakan secara kasat mata, upaya untuk menentukan halal tidaknya bakso atau makanan lainnya perlu dilakukan.

Teknik kromatografi untuk mengetahui adanya lemak babi dalam lemak hewan lain dan teknik imunologi untuk mendeteksi adanya gelatin babi (Winarno, 1988) merupakan dua di antara beberapa upaya yang telah dilakukan. Namun demikian, kedua teknik tersebut memberikan hasil yang kurang akurat apabila kandungan komponen babi di dalam suatu makanan hanya sedikit.

Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) merupakan unit terkecil dari sel dan terdapat di dalam setiap sel seluruh makhluk hidup. Melalui teknologi DNA, adanya bakteri tertentu di dalam daging dapat

dideteksi (Soumet *et al.* 1994 dan Liebana *et al.* 1995). Dengan memanfaatkan pendekatan teknologi tersebut, adanya bakteri patogenik dalam kaldu, produk *seafood*, selada, daging ayam dan daging babi juga dapat diketahui (Niederhauser *et al.* 1992; Dickinson *et al.* 1995; Agersborg *et al.* 1997 dan Bhaduri & Cottrell, 1998). Ini menunjukkan bahwa DNA dari sumber yang sangat kecil dapat diekstrak dan dianalisis lebih jauh.

Porcine Repetitive Element 1 (PRE-1) merupakan salah satu lokus yang tampaknya hanya terdapat di dalam genom babi (Sulandari *et al.* 1997) walaupun mereka hanya membandingkan runutan sekuens DNA lokus tersebut pada babi dengan lokus yang sama pada sapi dan kuda Nil. Dari fakta yang menunjukkan adanya kespesifikan lokus ini pada babi, dalam penelitian ini, dua lokus yang masing-masing diapit oleh sepasang primer P131 dan oleh sepasang primer P408 (Sulandari *et al.* 1997) digunakan sebagai upaya awal untuk mendeteksi adanya daging babi di dalam bakso.

MATERI DAN METODA

Daging yang diperoleh dari 3 ekor babi, organ dalam sapi (hati, paru-paru, limpa), bakso babi (yang secara sengaja dibuat mengandung daging babi saja), dan campuran daging sapi dan daging babi digunakan sebagai materi utama penelitian. Dua pasang primer p131 dan p408, yang masing-masing menghasilkan produk sepanjang 478 dan 458 pasang-basa, digunakan dalam proses amplifikasi lokus PRE-1 melalui teknik PCR.

Ekstraksi DNA dilakukan menurut Sambrook *et al.* (1989). Sebanyak 30 mg dari setiap sampel

tersebut di atas digerus sampai halus dan homogen serta secara terpisah masing-masing dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 ml yang berisi 500 µl larutan penyangga TEN. Kemudian 20 µl larutan 10 mg/µl proteinase-K dan 50 µl larutan 10% SDS ditambahkan ke dalam tabung dan dicampur hingga merata. Larutan dalam tabung ini diinkubasi pada suhu 55°C dalam *water bath shaker* (dalam keadaan geyang) selama 2 jam. Setelah itu, 600 µl campuran phenol/chloroform ditambahkan dan dicampur pelan-pelan hingga merata, lalu diinkubasi kembali pada suhu ruang selama 15 menit sambil terus dibolak-balik. Tabung disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bagian atas (*supernatan*) dipindah ke dalam tabung baru, sedangkan sisanya dibuang. Ke dalam tabung baru tersebut, satu volume phenol/chloroform ditambahkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit sambil dibolak-balik. Setelah disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 15 menit, *supernatan* dipindah lagi ke dalam tabung baru. Ditambahkan pula satu volume chloroform, dan tabung diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit sambil dibolak-balik. Tabung disentrifugasi lagi dengan kecepatan 12000 rpm selama 5 menit dan *supernatan* yang terbentuk dipindah lagi ke dalam tabung baru, lalu ditambah dengan 1 ml ethanol absolut dan 30 µl 5 M NaCl. Setelah dicampur secara

merata, tabung disimpan selama 10-20 menit pada suhu -20°C. Tabung disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Endapan putih yang dihasilkan dicuci dengan ethanol 70% dan kemudian dilarutkan dalam 100 µl larutan TEN. Ribo Nucleic Acid (RNA) di dalam larutan tersebut dihilangkan dengan menggunakan enzim RNase (lihat metode purifikasi DNA, Sambrook *et al.* 1989), hingga larutan tersebut hanya mengandung DNA saja. Konsentrasi DNA yang diperoleh dihitung dengan menggunakan kalkulator DNA.

Analisis PCR dilakukan dengan cara sebagai berikut. Sebanyak 50µg sampel DNA, 200 µg primer, 200 µM dNTP's, 0,3 µl *Taq* DNA Polimerase, 2,5 µl buffer PCR dimasukkan ke dalam tabung dan sejumlah aquabidest ditambahkan hingga volume totalnya mencapai 25 µl. Terakhir, 5 µl minyak mineral ditambahkan ke dalam tabung. Tabung tersebut ditempatkan ke dalam mesin PCR, yang telah diprogram seperti tertera dalam Tabel 1.

Hasil PCR dicampur dengan 1 x larutan *loading dye* dan kemudian dimasukkan ke dalam 0.8% gel agarose yang telah mengandung ethidium bromide untuk selanjutnya dilakukan elektroforesis selama 45 menit pada 50 volt. Gel ditempatkan di atas UV *transilluminator* dan pita yang tampak di dalam gel dipotret dengan kamera polaroid.

Tabel 1. Program pada Mesin PCR

Siklus	Step	Suhu (°C)	Waktu (menit)	Ulangan
01	1	93	02,00	1 X
	2	62	00,30	
	3	72	01,00	
02	1	93	01,00	45 X
	2	62	00,30	
	3	72	01,00	
03	1	72	01,00	1 X
	2	25	00,30	
	3	4	-	

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil PCR dari semua materi yang diamplifikasi dengan memanfaatkan dua pasang primer P131 dan P408 menunjukkan adanya konsistensi bahwa semua sampel yang mengandung

daging babi menghasilkan produk PCR (terlihat pita tunggal, dengan ukuran sesuai yang diharapkan), sedangkan semua sampel yang mengandung daging sapi tidak menghasilkan produk PCR (tidak tampak adanya pita sama sekali).

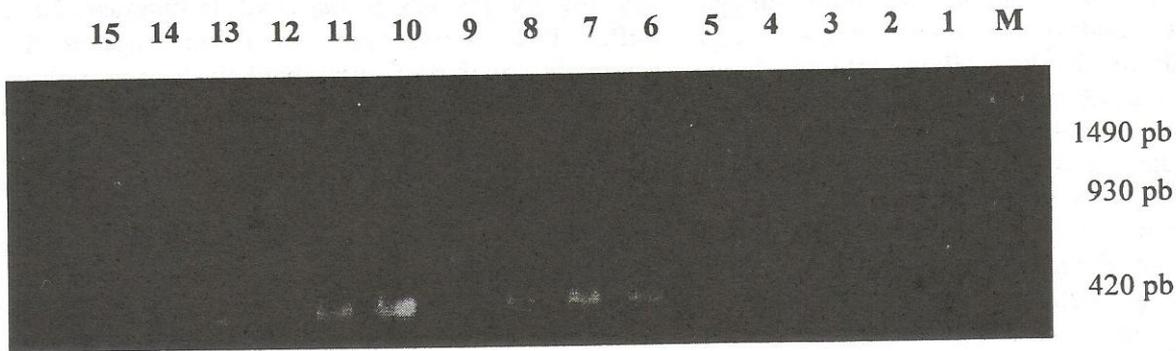
Seperti terlihat pada Gambar 1 di bawah, sepasang primer P131 yang digunakan untuk

mengamplifikasi DNA dari hati sapi mentah (2), daging sapi mentah (3 dan 5), daging sapi matang (4) tidak menghasilkan produk PCR. Hal yang sama juga diperoleh ketika sepasang primer 408 digunakan untuk amplifikasi DNA dari daging sapi matang (14) dan daging sapi mentah (15).

Sebaliknya, apabila kedua pasang primer tersebut digunakan mengamplifikasi DNA yang mengandung daging babi (6 sampai 13), maka ada produk PCR yang dihasilkan dengan ukuran yang sesuai dengan ukuran lokus tersebut (lihat materi dan metoda). DNA yang diekstrak dari daging

mentah/matang atau dari bakso mentah/ matang menghasilkan produk PCR. Jelas bahwa hal ini mengindikasikan bahwa lokus tersebut hanya terdapat di dalam DNA babi dan sama sekali tidak terdapat di dalam DNA sapi. Setelah mengalami perebusan, DNA yang diperoleh masih valid untuk digunakan dalam proses PCR.

Dengan demikian, upaya mendeteksi adanya daging babi di dalam bakso melalui teknik PCR memberikan hasil yang tidak meragukan. Semua bakso yang mengandung daging babi terdeteksi.



Gambar 1. Hasil amplifikasi PCR yang dielektroforesis pada 0,8% agarose. M) DNA marker (*Sty I* digest) , 1) bakso tanpa primer, 2) hati sapi mentah (p131), 3) daging sapi mentah¹ (p131), 4) daging sapi matang¹ (p131), 5) daging sapi mentah² (p131), 6) daging babi mentah¹ (p131), 7) bakso mentah¹ (p131), 8) campuran daging sapi-daging babi¹ (p408), 9) bakso matang² (p408), 10) bakso mentah² (p408), 11) campuran daging sapi-daging babi² (p408), 12) bakso matang³ (p408), 13) daging babi mentah² (p408), 14) daging sapi matang² (p408), 15) daging sapi mentah³ (p408).

Namun dua hal perlu dicatat dari hasil penelitian dalam skala laboratorium. Pertama, bahwa bakso yang digunakan dibuat sendiri dan sengaja diberi daging babi. Artinya kandungan daging babi di dalam bakso diatur sedemikian rupa sehingga proses PCR dapat dilakukan. Kita belum mengetahui kandungan paling minimal daging babi di dalam bakso yang dapat dideteksi melalui teknik PCR ini. Tentu saja, kita berharap agar sekecil apapun kandungan daging babi di dalam bakso dapat terdeteksi keberadaannya. Kedua, bahwa dalam penelitian ini, hanya daging sapi yang digunakan sebagai pembanding. Walaupun dikatakan dalam hasil penelitian Takahashi *et al.* (1992) bahwa sekuens DNA PRE-1 memang spesifik untuk ternak babi dan hasil penelitian lebih lanjut oleh Sulandari *et al* (1997) memperkuat kesimpulan tersebut, sangat riskan apabila pengujian terhadap ada tidaknya sekuens DNA tersebut hanya dilakukan pada ternak sapi saja.

Adakah sekuens tersebut di dalam DNA ayam, kambing, domba, kerbau, itik, atau ternak lain yang dagingnya biasa dikonsumsi manusia? Seandainya ada dan kedua primer tersebut di atas dapat digunakan untuk amplifikasi dalam proses PCR, maka penggunaan primer tersebut sebagai detektor bakso yang mengandung babi masih lemah dan tidak akurat.

KESIMPULAN

Dengan tetap memperhatikan kedua faktor tersebut di atas, secara tentatif, kedua primer pengapit lokus PRE-1 merupakan kandidat detektor kandungan daging babi di dalam bakso. Konfirmasi lebih jauh tentang kespesifikan primer tersebut akan dilakukan dengan mengaplikasikan primer tersebut ke beberapa daging ternak yang biasa dikonsumsi masyarakat Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilaksanakan atas bantuan dana dari Proyek Riset Unggulan Terpadu (RUT) VI tahun anggaran 1999/2000.

DAFTAR PUSTAKA

- Agersborg, A., R. Dahl & I. Martinez. 1997. Sample Preparation and DNA Extraction Procedures for Polymerase Chain Reaction Identification of *Listeria monocytogenes* in seafoods. *Int. Journal Food Microbiol*, 35(3): 275-80
- Al-Qur'an dan Terjemahannya. 1987. *Surat Al-An'am 145 dan Surat Al-Maidah* : 3 hal. 157 dan hal. 212. PT. Serajaya Santra. Jakarta.
- Anonymous. 1984. Penelitian Babi : *Bakso Sapi, Bakso babi ?*. *Tempo*, 7 April 1984.
- Badhuri, S. & B. Cottrell. 1998. A Simplified Sample Preparation Method from Various Foods for PCR Detection of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* : A Possible Model for Other Food Pathogens. *Mol. Cell Probes*, 12(2): 79-83.
- Dickinson, J.H., R.G. Kroll & K.A. Grant. 1995. The Direct Application of PCR to DNA extracted from Foods *Lett. App. Microbiol*, 20 (4) : 212-6.
- Febiana, E., A. Aranaz, A.Mateos, M.Vilafranca, M.E.Gomez, J.C.Tercero, J.Aleman & G. Suarez. 1995. Simple and Rapid Detection of *Microbacterium tuberculosis* Complex Organism in Bovine Tissue Samples by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(1) : 33-36.
- Niederhauser, C., U.Candrian, C.Hofelen, M.Jermini, H.P.Buhler & J.Luthy. 1992. Use of PCR for Detection of *Listeria monocytogenes* in gfood. *Applied and Environmental Microbiology*, 5(5): 1564-1568.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch & T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning Laboratory Manual*. Third Edition. Cold Spring Harbour Lab. Press. New York.
- Soumet, C., G.Ermel, P. Face, & P. Colin. 1994. Evaluation of different DNA Extraction Procedures for the Detection of *Salmonella* from Chicken Products by PCR. *Applied Microbiology*, 19(5) : 294-298.
- Sulandari, S., Muladno., T. Harumi., S. Yanai., Y. Wada & H. Yasue. 1997. Localization of Swine PRE-1 Homologues in 13 Loci of *Phacochoerus aethiopicus* and *Tayassu tajacu*, and Their Sequence Divergence. *Animal Genetics*, 28 : 210 - 215.
- Susanto, T. 1988. *Halal, Walau Berlemak Babi?*. Hasil wawancara dengan Ahmadie Thaha dan Syafiq Basri. *Tempo* 29 Oktober 1988.
- Takahashi H., T. Awata & H. Yasue. 1992. Characterization of swine short interspersed repetitive sequences. *Animal Genetics* 23, 443-448.
- Winarno. 1998. Hasil Wawancara dengan Zaim Ukhrawi. *Babi atau Bukan, Itulah Soalnya*. *Tempo* 5 November 1988.