

Identifikasi Kandungan Daging Sapi Menggunakan PCR Pada Pedagang Bakso Tusuk Keliling Di Lingkungan Kota Mataram

[Identification Of Beef Content Using PCR In Bakso Tusuk Roves Traders In The Mataram City Environment]

Lalu Unsunnidhal^{1,*}), Firman Fajar Perdhana¹), Qabul Dinanta Utama¹) dan Raudatul Jannah²)

¹) Staf Pengajar Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Mataram

²) Staf Pengajar Program Studi Kebidanan, STIKES Yarsi Mataram

*Penulis Korespondensi, Email: lalu.unsunnidhal@unram.ac.id

Diterima Mei 2023/Disetujui 30 Mei 2023

ABSTRAK

Daging merupakan sumber protein penting dalam kehidupan sehari-hari manusia. Selain itu, dengan gaya hidup perkotaan yang sibuk dan padat, makanan olahan kini menjadi salah satu sumber protein utama dalam menu makanan seseorang. Konsumen bergantung pada pelabelan makanan untuk memutuskan apakah produk daging yang mereka beli aman dan terpercaya. Oleh karena itu, penting untuk memastikan pelabelan makanan dilakukan dengan cara yang benar untuk menghindari penipuan konsumen. Lebih banyak konsumen saat ini yang peduli dengan kualitas dan keamanan makanan daripada sebelumnya. Penelitian ini memaparkan metode untuk mengidentifikasi dan mendeteksi kandungan daging sapi menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR) pada 8 produk bakso tusuk dari pedagang keliling di sekitar Kota Mataram, Provinsi Nusa Tenggara Barat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan daging sapi yang digunakan pada produk yang diuji. Temuan penting utama dalam karya ini adalah spesifisitas primer oligonukleotida untuk daging sapi olahan dan penentuan kandungan daging sapi pada bakso tusuk di sekitar Kota Mataram, Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Kata Kunci: Bakso Tusuk, Kota Mataram, PCR, Primer.

ABSTRACT

Meat is an important source of protein in human daily life. In addition, with the busy and dense urban lifestyle, processed foods are now one of the main sources of protein in one's diet. Consumers rely on food labeling to decide whether the meat products they buy are safe and reliable. Therefore, it is important to ensure food labeling is done in the right way to avoid consumer fraud. More consumers today are concerned about food quality and safety than ever before. This study describes a method for identifying and detecting beef content using Polymerase Chain Reaction (PCR) on 8 skewered meatball products from itinerant traders around the city of Mataram, West Nusa Tenggara Province. The purpose of this study was to determine the beef content used in the tested product. The main important findings in this work are the specificity of oligonucleotide primers for processed beef and the determination of beef content in meatball skewers around the city of Mataram, West Nusa Tenggara province.

Keywords: Mataram City, PCR, Primer, Skewer Meatballs.

PENDAHULUAN

Pilihan makanan biasanya mencerminkan gaya hidup, budaya, agama, dan perhatian kesehatan seseorang (Nakyinsige, Man and Sazili, 2012). Daging telah banyak dikonsumsi sebagai sumber penting asupan protein makanan sehari-hari. Selain itu, karena gaya hidup perkotaan yang sibuk dan intens, orang kekurangan waktu untuk menyiapkan makanan dan lebih banyak menghabiskan waktu di tempat kerja. Oleh karena itu, produk daging olahan telah diterima

dan dikonsumsi secara luas karena keragaman dan kenyamanannya terutama yang berbentuk jajanan bakso tusuk. Selanjutnya, pelabelan makanan bertindak sebagai alat penting untuk mengetahui komposisi makanan.

Akhir-akhir ini sering terjadi kesalahan pelabelan makanan atau promosi oleh pedagang, baik pada susu formula, bahan baku seperti tepung, maupun produk daging. Karena terjadinya salah pelabelan dan promosi daging dalam industri makanan dapat menyebabkan konsekuensi negatif, keaslian makanan menjadi

perhatian besar otoritas pemerintah, produsen makanan dan konsumen (Pascoal et al., 2004). Konsumen saat ini mengambil keputusan dalam membeli produk pangan berdasarkan label pangan dan promosi. Oleh karena itu, pelabelan yang salah atau promosi yang salah dapat mengakibatkan penipuan konsumen di masyarakat. Penipuan konsumen dapat mengacu pada penggantian satu spesies daging seperti daging sapi dengan nilai komersial atau nilai gizi daging yang lebih rendah. Di sisi lain, pelabelan yang salah dapat menyebabkan alergi makanan (Hird, Goodier and Hill, 2003) karena alergen yang tidak diinfokan pada konsumen. Selain itu, konsumen yang memiliki larangan daging diet seperti Muslim (Nakyinsige, Man and Sazili, 2012), Budha dan Hindu akan ditipu dengan penggantian tersebut (Pascoal et al., 2004). Terakhir, seiring meningkatnya masalah keamanan pangan seperti wabah (Peter et al., 2004), ada kebutuhan untuk mengembangkan metode terkini untuk menentukan pemalsuan dan produk daging yang tidak diumumkan di pasar.

Ada berbagai metode yang tersedia untuk menentukan dan mengidentifikasi kandungan daging sapi yang ada dalam produk makanan, misalnya analisis spektroskopi (Ding and Xu, 1999), kromatografi (Wissiac et al., 2003), uji imunosorben terkait-enzim (Rao and Hsieh, 2007), dan teknik berbasis DNA seperti reaksi rantai polimerase yang dapat disebut PCR) (Ishak et al., 2019; Jannah and Unsunnidhal, 2019; Unsunnidhal and Jannah, 2019; Unsunnidhal, Ishak and Kusumawati, 2019; Unsunnidhal, Jannah, et al., 2021; Unsunnidhal, Wasito, Nugraha Setyawan, et al., 2021; Unsunnidhal, Wasito, Setyawan, et al., 2021; Fathurrahman et al., 2022; Fihiruddin et al., 2022; Rahman et al., 2022). PCR telah banyak digunakan dalam penentuan spesies bertemu sejak tahun 1989 (Kocher et al., 1989). Teknik analisis berbasis DNA menggunakan PCR semakin berkembang seiring berjalannya waktu. Prinsip PCR melibatkan amplifikasi panjang spesifik DNA yang dapat disalin dan dikalikan untuk menyediakan jumlah DNA yang cukup untuk konfirmasi melalui teknik elektroforesis [9].

Oleh karena itu, teknik berbasis DNA berpotensi untuk identifikasi kandungan daging yang ada. Pada penelitian ini, identifikasi kandungan daging sapi menggunakan PCR dilakukan untuk menghasilkan primer spesifik untuk daging sapi dan mengetahui kandungan daging sapi di produk daging sapi olahan yaitu bakso tusuk.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Sampel daging diperoleh dari 7 (tujuh) bakso tusuk yang diperoleh dari pedagang bakso tusuk keliling di wilayah Kota Mataram, Provinsi Nusa Tenggara Barat, kit komersial oleh QIAGEN (DNeasy Blood and Tissue Kit, Darmstadt, Jerman), kertas label, Primer Oligonukleotida untuk PCR, GreenTaq MasterMix (Promega, USA), air bebas nuklease (NFW), tabung sentrifus 0,2 mL, Eppendorf Gradient Thermocycler (Eppendorf, Jerman), Agarosa (Vivantis, USA), TAE (40mM Tris-acetate, 1Mm EDTA, pH 8.0, FirstBase, Malaysia), SYBR Safe Gel Stain (Invitrogen, USA).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: pendingin es batu, lemari pendingin, Centrifuge, Mesin PCR Thermal Cycler, Alat Elektroforesis dan Alat Dokumentasi Gel.

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental yang dilaksanakan di Laboratorium.

Pelaksanaan Penelitian

Ekstraksi DNA dari Bakso Tusuk yang bersumber dari 7 (Tujuh) pedagang berbeda di wilayah Kota Mataram, Provinsi Nusa Tenggara Barat

Sampel dibawa ke laboratorium dengan, dan siap untuk diekstraksi. Pertama, DNA diekstrak dari 25 mg produk bakso tusuk menggunakan kit komersial oleh QIAGEN (DNeasy Blood and Tissue Kit, Darmstadt, Jerman). Template sampel DNA yang diekstraksi diberi label dan disimpan secara terpisah pada suhu -20°C hingga digunakan.

Primer Oligonukleotida untuk PCR

Urutan nukleotida Primer untuk sapi dalam penelitian ini diperoleh dari desain

bioinformatika menggunakan software Primer3Plus (<https://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>). Urutan nukleotida dipesan dan dibeli dari Gene Universal (USA). Primer disimpan sebagai aliquot terliofilisasi pada -20°C sampai digunakan. Urutan primer forward dan reverse oligonukletida untuk sapi sebagai berikut Forward: 5' AGCAACCCTTACCCGATTCT 3' dan Reverse: 5' GTAGGGGTGGAATGGGATTT 3' dengan target gen untuk deteksi kandungan daging sapi yaitu gen: >NC_006853.1:14514-15653 CYTB [organism=Bos taurus] [GeneID=3283889] [chromosome=MT] yang diperoleh dari National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan ukuran produk hasil amplifikasi adalah 154 bp.

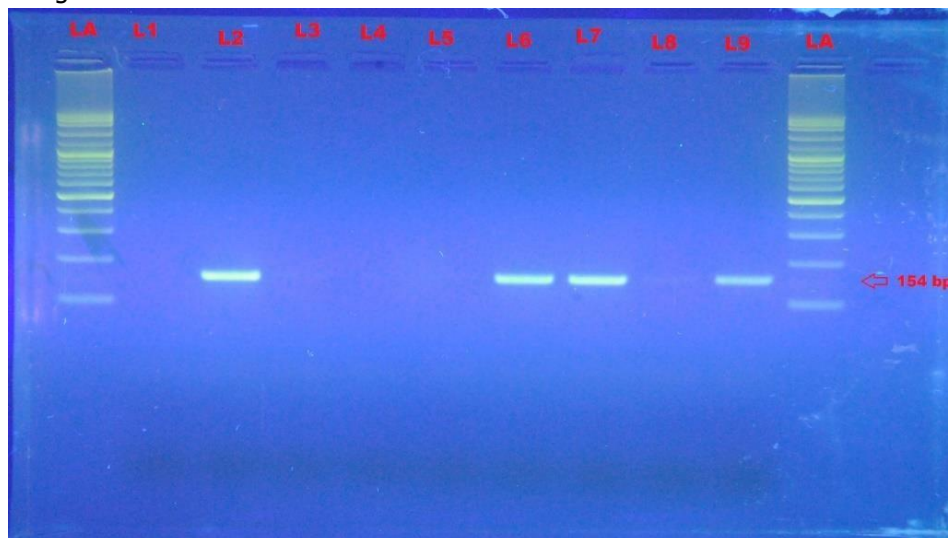
Amplifikasi PCR

Campuran kontrol negatif disiapkan dengan mengganti template sampel DNA yang diekstraksi dengan NFW dan untuk kontrol

positif menggunakan daging sapi asli. Setelah itu dilakukan PCR dengan 35 siklus amplifikasi: denaturasi awal pada suhu 94°C selama 3 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, annealing pada suhu 60°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 30 detik, dan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk akhir PCR disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C sampai pemisahan elektroforesis DNA.

Pemisahan Elektroforesis DNA dan Analisis Gambar

Setelah amplifikasi PCR, 8 μl produk PCR dielektroforesis pada gel agarose pada 100V selama 40 menit dalam buffer. Gel agarosa telah diwarnai. Gel kemudian dilihat dan didokumentasikan menggunakan unit dokumentasi gel.



Gambar 1. Elektroforesis gel agarosa produk PCR hasil amplifikasi dari 7 sampel bakso tusuk dari berbagai wilayah di Kota Mataram. L1: Ampenan, L2: Cakranegara, L3: Mataram Timur, L4: Pagesangan, L5: Sandubaya, L6: Sekarbela, L7: Selaparang, L8: Kontrol Negatif, L9: Kontrol Positif, LA: marker 100 kb.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1. mengacu pada elektroforesis gel agarosa dari produk PCR yang diamplifikasi dari 7 sampel daging olahan dari bakso tusuk, dimana LA mengacu pada marker 100kb (New England BioLabs), L1 mengacu pada templat DNA dari bakso tusuk dari pedagang keliling pada daerah Ampenan di

Kota Mataram, NTB, L2 mengacu pada templat DNA dari bakso tusuk dari pedagang keliling pada daerah Cakranegara di Kota Mataram, NTB, L3 mengacu pada templat DNA dari bakso tusuk dari pedagang keliling pada daerah Mataram Timur di Kota Mataram, NTB, L4 mengacu pada templat DNA dari bakso tusuk dari pedagang keliling pada daerah Pagesangan

di Kota Mataram, NTB, L5 mengacu pada templat DNA dari bakso tusuk dari pedagang keliling pada daerah Sandubaya di Kota Mataram, NTB, L6 mengacu pada templat DNA dari bakso tusuk dari pedagang keliling pada daerah Sekarbela di Kota Mataram, NTB, L7 mengacu pada templat DNA dari bakso tusuk dari pedagang keliling pada daerah Selaparang di Kota Mataram, NTB, L8 mengacu pada negatif kontrol dan L9 mengacu pada positif kontrol.

Banyak penelitian telah melaporkan metode PCR untuk menentukan kandungan daging sapi dalam makanan (Matsunaga et al., 1999; Girish et al., 2004; Aida et al., 2005; Ong et al., 2007; Mane, Mendiratta and Tiwari, 2009; Sahilah et al., 2012). Seperti disebutkan sebelumnya, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode PCR untuk mengetahui kandungan daging sapi pada produk olahan daging yaitu bakso tusuk. Mencegah pemalsuan dan penentuan daging sapi dalam produk bakso tusuk merupakan misi penting dalam kebersihan makanan, codex makanan, kontrol makanan dan forensik veteriner [16]. Dalam penelitian ini, fungsi primer oligonukleotida diuji dengan menjalankan hanya dengan cetakan DNA target yang diekstraksi. Hasilnya terdapat tiga yang positif yaitu L2, L6 dan L7.

Pasangan primer oligonukleotida sapi kemudian dapat menyebabkan hasil positif palsu saat diuji pada produk daging yang tidak mengandung otot daging sapi. Dalam sebuah studi yang dilakukan oleh Hsieh et al., mereka melaporkan bahwa Untuk menghindari reaksi silang atau ketidakcocokan primer dengan daging mentah yang ditargetkan, disarankan bahwa desain primer 'pada ujung 3' harus dilakukan dengan sangat hati-hati untuk menghindari nukleotida dan tidak cocok dengan spesies daging lainnya (Mane, Mendiratta and Tiwari, 2009).

Menurut Martin et al. (Martin et al., 2007), demonstrasi spesifisitas terhadap sejumlah besar spesies lain sangat dibutuhkan untuk primer yang digunakan dalam penelitian ini, karena selalu ada risiko terjadinya reaktivitas silang dengan yang tidak. menguji spesies terkait, sehingga membatasi nilai uji

PCR. Inilah sebabnya mengapa dibutuhkan penelitian lanjutan selain primer pada sapi seperti kambing, ayam, dan templat DNA spesies daging lainnya seperti kerbau, kambing dan bebek dibutuhkan dalam penelitian lanjutan. Selanjutnya, amplikon dengan ukuran sekitar 150 bp akan lebih cocok untuk menganalisis makanan olahan, sedangkan pengurangan ukuran amplikon meningkatkan sensitivitas yang sudah sesuai dengan penelitian ini yaitu dengan amplikon 154 bp (Ishak et al., 2019; Jannah and Unsunnidhal, 2019; Unsunnidhal and Jannah, 2019; Unsunnidhal, Ishak and Kusumawati, 2019; Unsunnidhal, Jannah, et al., 2021; Unsunnidhal, Wasito, Nugraha Setyawan, et al., 2021; Unsunnidhal, Wasito, Setyawan, et al., 2021; Fathurrahman et al., 2022; Fahiruddin et al., 2022; Rahman et al., 2022).

KESIMPULAN

Primer yang digunakan dalam penelitian ini telah berhasil mengamplifikasi gen target yaitu >NC_006853.1:14514-15653 CYTB [organism=Bos taurus] [GeneID=3283889] [chromosome=MT] melalui metode PCR untuk mengetahui kandungan daging sapi pada daging olahan berupa bakso tusuk di wilayah Kota Mataram, Provinsi Nusa Tenggara Barat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aida, A. et al. (2005). Analysis Of Raw Meats And Fats Of Pigs Using Polymerase Chain Reaction For Halal Authentication. *Meat Science*, 69, pp. 47–52.
- Ding, H. and Xu, R. (1999). Differentiation of Beef and Kangaroo Meat by Visible/Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Journal of Food Science*, 64, pp. 814–817.
- Fathurrahman, I. et al. (2022). Molecular Sexing In Bos Taurus Using Quantitative Polymerase Chain Reaction (Qpcr) Method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 976(1). doi: 10.1088/1755-1315/976/1/012002.
- Fahiruddin, F. et al. (2022). Expression And Epitope Prediction Of MPT64

- Recombinant Proteins From Clinical Isolates Of Mycobacterium Tuberculosis As Immunoserodiagnostic Candidates. *Veterinary World*, 15(2), pp. 2376–2383. doi: [ww.doi.org/10.14202/vetworld.2022.2376-2383](https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2376-2383).
- Girish, P. et al. (2004). Sequence Analysis Of Mitochondrial 12S Rrna Gene Can Identify Meat Species. *Meat Scien*, 66, pp. 551–556.
- Hird, H., Goodier, R. and Hill, M. (2003). Rapid Detection Of Chicken And Turkey In Heated Meat Products Using The Polymerase Chain Reaction Followed By Amplicon Visualisation With Vistra Green. *Meat Science*, 65, pp. 1117–1123.
- Ishak, J. et al. (2019). In vitro evaluation of chitosan-DNA plasmid complex encoding Jembrana disease virus Env-TM protein as a vaccine candidate. *Journal of Veterinary Research*, 63(1), pp. 7–16. doi: <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0018>.
- Jannah, R. and Unsunnidhal, L. (2019). Konstruksi Dan Kloning Plasmid Pcdna3 . 1 (+) Dengan Subgenotip B3 Hepatitis B Core Antigen (Hbcag) Sebagai Kandidat Vaksin Dna Hepatitis B. *Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah Kesehatan*, 5(2), pp. 125–131.
- Kocher, T. et al. (1989). Dynamics Of Mitochondrial DNA Evolution In Animals: Amplification And Sequencing With Conserved Primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86, pp. 6196–6200.
- Mane, B., Mendiratta, S. and Tiwari, A. (2009). Polymerase Chain Reaction Assay For Identification Of Chicken In Meat And Meat Products. *Food Chemistry*, 116, pp. 806–810.
- Martin, I. et al. (2007). Mitochondrial Markers For The Detection Of Four Duck Species And The Specific Identification Of Muscovy Duck In Meat Mixtures Using The Polymerase Chain Reaction. *Meat Science*, 76, pp. 721–729.
- Matsunaga, T. et al. (1999). A Quick And Simple Method For The Identification Of Meat Species And Meat Products By PCR Assay. *Meat Science*, 51, pp. 143–148.
- Nakyinsige, K., Man, Y. and Sazili, A. (2012). Halal Authenticity Issues In Meat And Meat Products. *Meat science*, 91(3), pp. 207–214.
- Ong, S. et al. (2007). Meat Molecular Detection: Sensitivity Of Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism In Species Differentiation Of Meat From Animal Origin. *ASEAN Food Journal*, 14, pp. 51–59.
- Pascoal, A. et al. (2004). Survey Of Authenticity Of Meat Species In Food Products Subjected To Different Technological Processes, By Means Of PCR-RFLP Analysis. *European Food Research and Technology*, 218, pp. 306–312.
- Peter, C. et al. (2004). Ifferentiation Of Animal Species In Food By Oligonucleotide Microarray Hybridization. *European Food Research and Technology*, 219, pp. 286–293.
- Rahman, A. et al. (2022). Molecular Verification of Sex-separated Straw of Simmental Cattle (*Bos taurus*) by Polymerase Chain Reaction (PCR). *Proceedings of the 9th International Seminar on Tropical Animal Production (ISTAP 2021)*, 18(Istap 2021), pp. 223–226. doi: 10.2991/absr.k.220207.046.
- Rao, Q. and Hsieh, P. (2007). Evaluation of a Commercial Lateral flow test for rapid detection of beef and sheep content in raw and cooked meats. *Meat Science*, 76, pp. 489–494.
- Sahilah, A. et al. (2012). Comparison Between Pork And Wild Boar Meat (*Sus Scrofa*) By Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP). *Sains Malaysiana*, 41, pp. 199–204.
- Unsunidhal, L., Jannah, R., et al. (2021). Potential of Nanoparticles Chitosan for Delivery pcDNA3.1-SB3- HBcAg. *BIO Web of Conferences*, 41(07003), pp. 1–6.

- Unsunidhal, L., Wasito, R., Setyawan, E. M. N., et al. (2021). Potential of Nanoparticles Chitosan for Delivery pcDNA3.1-tat., *BIO Web of Conferences*, 41(07004), pp. 1–6.
- Unsunidhal, L., Wasito, R., Nugraha Setyawan, E. M., et al. (2021). Potential of polylactic-co-glycolic acid (PLGA) for delivery Jembrana disease DNA vaccine Model (pEGFP-C1-tat). *Journal of Veterinary Science*, 22(6), pp. 1–15. doi: 10.4142/jvs.2021.22.e76.
- Unsunidhal, L., Ishak, J. and Kusumawati, A. (2019). Expression of gag-CA Gene of Jembrana Disease Virus with Cationic Liposomes and Chitosan Nanoparticle Delivery Systems as DNA Vaccine Candidates. *Tropical Life Sciences Research*, 30(3), pp. 15–36. doi: <https://doi.org/10.21315/tlsr2019.30.3.2>.
- Unsunidhal, L. and Jannah, R. (2019). Potential Of Cationic Liposomes And Chitosan Nanoparticles For Delivery DNA Vaccine Model NTC8685-EGFP. *Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah Kesehatan*, 5(2), pp. 120–124.
- Wissack, R. et al. (2003). Screening test to detect meat adulteration through the determination of hemoglobin by cation exchange chromatography with diode array detection. *Meat Science*, 64, pp. 427–432.