

Identifikasi DNA Daging Babi dan Daging Sapi menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* dalam Industri Makanan

DNA Identification of Pork and Beef using Polymerase Chain Reaction Method in Food Industry

Muhammad Arfan Al-Ghozi Prasetyo^{1*}, George Enrique Sanjaya²

¹ Departement of Chemistry, Indonesian Education University

Koresponding Penulis: zflnn@upi.edu

Abstrak

Dalam industri makanan, kepastian identifikasi daging merupakan aspek krusial untuk memastikan standar kualitas, keamanan produk, serta kepercayaan konsumen. Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan mengidentifikasi DNA daging babi dan daging sapi dengan menggunakan metode PCR. Proses isolasi DNA dilakukan dengan efektif menggunakan kit Wizard Genomic DNA Purification Kit Promega yang melibatkan tahapan seperti lisis sel, degradasi RNA, dan presipitasi protein. Hasil uji spesifisitas dengan PCR real-time menunjukkan keberhasilan dalam mengidentifikasi DNA spesifik dari kedua jenis daging tersebut, dengan primer yang memiliki tingkat spesifisitas yang tinggi. Temuan ini menegaskan bahwa PCR merupakan metode yang handal untuk deteksi daging dalam industri makanan. Implementasi teknik ini dapat membantu industri makanan dalam mengurangi risiko kecurangan, meningkatkan kepercayaan konsumen, dan memenuhi standar kualitas yang lebih tinggi. Keseluruhan penelitian memberikan pandangan yang mendalam tentang pentingnya teknologi bioteknologi modern dalam memastikan integritas produk makanan.

kata kunci: bioteknologi, Industri makanan, integritas produk, isolasi DNA, metode PCR

Abstract

In the food industry, accurate meat identification is crucial to ensure quality standards, product safety, and consumer trust. This study aimed to test and identify pig and beef DNA using the PCR method. DNA isolation was effectively carried out using the Wizard Genomic DNA Purification Kit Promega, which involves steps such as cell lysis, RNA degradation, and protein precipitation. Real-time PCR specificity tests revealed successful identification of specific DNA from both types of meat, with primers having a high level of specificity. These findings affirm that PCR is a reliable method for meat detection in the food industry. The implementation of this technique can assist the food industry in reducing fraud risks, enhancing consumer trust, and meeting higher quality standards. The research offers profound insights into the importance of modern biotechnology in ensuring food product integrity.

Keywords: biotechnology, DNA isolation, food industry, PCR method, product integrity.

PENDAHULUAN

Baik daging sapi maupun daging babi, keduanya memiliki ciri khas dan keunikan baik dari segi tekstur, rasa, maupun komposisi nutrisinya. Namun, lebih dari sekadar karakteristik organoleptik, komposisi biokimia dan genetika dari kedua jenis daging ini menjadi titik penting dalam studi ilmiah untuk mengatasi kecurangan dalam dunia industri. Dengan perkembangan teknologi dan biologi molekuler, metode deteksi berbasis DNA seperti Polymerase Chain Reaction (PCR) telah menjadi alat yang sangat berguna dalam bidang ini (Purwantoro et al. 2022)

PCR adalah teknik yang digunakan untuk menggandakan jumlah DNA spesifik dalam sampel. Proses ini melibatkan pemanasan dan pendinginan siklik dari campuran yang mengandung DNA target, primer khusus yang dirancang untuk mengenali urutan DNA tertentu, dan enzim DNA polimerase [2-3]. Teknik ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi jejak DNA dari jenis daging tertentu dalam sampel yang dicurigai. Sebelum adanya metode seperti PCR, identifikasi jenis daging biasanya dilakukan dengan metode fisik atau kimia yang mungkin tidak selalu akurat dan memerlukan waktu yang lebih lama. Selain itu, dengan semakin rumitnya rantai pasokan pangan global, risiko kontaminasi atau pemalsuan produk daging semakin meningkat. Dalam beberapa kasus, produsen mungkin sengaja mencampur daging babi dengan daging sapi untuk mengurangi biaya produksi, sementara dalam kasus lain, kontaminasi dapat terjadi secara tidak sengaja selama proses produksi (Purwantoro et al. 2022; Sipahelut, Muladno, and Priyanto 2019; Widyanto et al. 2021; Yobelanno Sitompul and Artanto 2020)

Daging babi, yang berasal dari hewan domestikasi *Sus scrofa*, memiliki karakteristik biokimia khusus yang membedakannya dari daging hewan lainnya. Secara genetik, babi memiliki sekitar 2,3 miliar pasangan basa dalam genomnya, dan penelitian telah berhasil memetakan sebagian besar dari DNA ini. Struktur protein dan lipid dalam daging babi berkontribusi pada tekstur, rasa, dan sifat nutrisinya. Daging babi kaya akan asam lemak tak jenuh tunggal dan poli, yang memberikan tekstur lembut khas daging babi. Dari perspektif DNA, sekuen gen tertentu dalam DNA babi memungkinkan identifikasi unik dari spesies ini, membedakannya dari spesies lain. Teknik seperti PCR dapat mengidentifikasi urutan DNA spesifik ini untuk memastikan keaslian daging (Sipahelut et al. 2019; Wahyuni, Maryam, and Aminah 2019; Yobelanno Sitompul and Artanto 2020)

Daging sapi, yang diperoleh dari hewan *Bos taurus*, juga memiliki komposisi biokimia yang unik. Genom sapi terdiri dari sekitar 2,8 miliar pasangan basa, yang sedikit lebih banyak dari babi (Sipahelut et al. 2019). Secara biokimia, daging sapi memiliki konsentrasi mioglobin yang lebih tinggi dibandingkan daging babi, yang memberikan warna merah khas daging sapi. Mioglobin bertanggung jawab atas kemampuan daging untuk mengikat oksigen, yang mempengaruhi rasa dan warna daging. Daging sapi juga cenderung memiliki komposisi asam lemak yang berbeda, dengan konsentrasi asam lemak jenuh yang lebih tinggi. Pada level DNA, daging sapi memiliki urutan genetik khusus yang memungkinkan identifikasinya melalui teknik molekuler seperti PCR, membedakannya dari daging hewan lain (Aminah, Ramadini, and Naid

2019; Purwantoro et al. 2022; Salsabila et al. 2023; Sipahelut et al. 2019; Siswata and Erwanto 2021; Wahyuni et al. 2019; Widyanto et al. 2021; Yobelanno Sitompul and Artanto 2020)

Tabel 1. Runutan Basa untuk Sapi dan Babi

	Nama Primer	Runutan Basa
Sapi	<i>Forward</i>	5'- CCGATTCTTCGCTTCCAT-3'
	<i>Reverse</i>	5'- CTACGTCTGAGGAAATTCCTGTTG-3'
Babi	<i>Forward</i>	5'- CTTGCAAATCCTAACAGGCCTG-3'
	<i>Reverse</i>	5'- CGTTTGCATGTAGATAGCGAATAAC-3'

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji dan mengidentifikasi daging babi dan daging sapi dengan menggunakan metode PCR untuk hasil uji primer daging babi dan daging sapi. Dengan demikian, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang akurat mengenai cara mengetahui komposisi daging yang dikonsumsi oleh masyarakat serta memberikan solusi dalam deteksi dini terhadap potensi kecurangan dalam industri makanan.

METODE PENELITIAN

Bahan

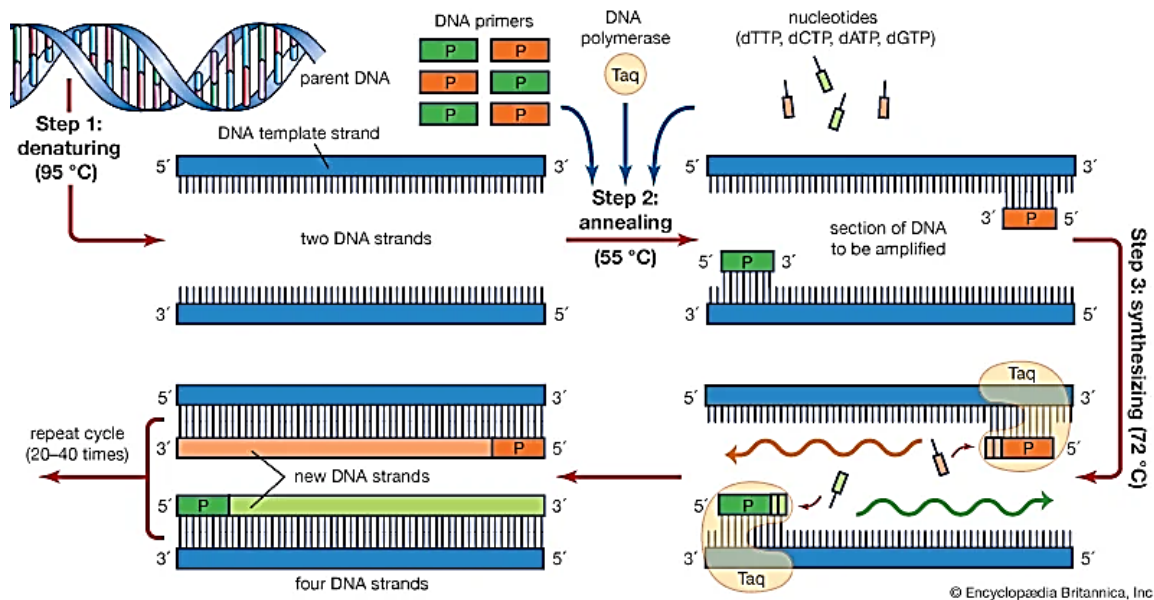
Daging sapi dan babi yang masih segar, etanol 70% yang diproduksi oleh Sigma-Aldrich dari Amerika Serikat, isopropanol yang juga dari Sigma-Aldrich, air demineralisata dari Ikapharmindo di Indonesia, SensiFAST SYBR No-ROX dari Bioline di Amerika Serikat, serta sepasang primer yang urutannya bisa dilihat pada **Tabel 1** yang dikeluarkan oleh PT. Roche. Selain itu, juga digunakan kit komersial dengan nama Wizard® Genomic DNA Purification Kit yang diproduksi oleh Promega dari Amerika Serikat.

Polymerase Chain Reaction

Proses ini melibatkan *three-step process* yang diulang-ulang untuk meningkatkan jumlah salinan DNA yang dihasilkan:

1. Peleburan (Melting) atau Denaturasi: Pada suhu sekitar 94–96 °C, heliks ganda DNA dilebur, yang berarti ikatan hidrogen yang mengikat kedua untai DNA terputus. Sebagai hasilnya, kedua untai DNA berpisah menjadi untai tunggal, yang akan berfungsi sebagai templat bagi primer.
2. Penempelan atau Annealing: Dalam tahap ini, primer yang dirancang khusus menempel pada wilayah komplementer pada untai DNA templat. Tahap ini dilakukan pada suhu yang lebih rendah, biasanya antara 45–60 °C. Karena sifat komplementer DNA, primer hanya akan menempel pada lokasi yang spesifik. Suhu yang tepat sangat penting, karena suhu yang tidak tepat bisa menghambat penempelan primer atau bahkan menyebabkan primer menempel pada lokasi yang salah.
3. Pemanjangan atau Elongasi: Dengan bantuan enzim DNA polimerase (biasanya Taq-polimerase), untai DNA baru disintesis. Enzim ini membaca untai templat DNA dan

menambahkan nukleotida yang sesuai untuk membuat untai komplementer baru. Tahap ini biasanya dilakukan pada suhu sekitar 76 °C, tetapi suhu spesifik mungkin berbeda tergantung jenis polimerase yang digunakan.



Gambar 1. Three-Step Process pada PCR

Isolasi DNA

Proses isolasi DNA dilakukan dengan cara menggunakan proses *pre incubation*, *amplification*, *melting curve analysis*, dan *cooling* dengan data pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Kondisi amplifikasi primer sapi dan babi

Proses	Jumlah siklus	Suhu (°C)	Waktu
Pre Incubation	1	90	10 mwnit
Amplification	30	95	10 detik
		60	20 detik
		72	30 detik
		95	5 detik
		60	1 menit
Melting Curve Analysis		97/5	-
		40	10 detik

Daging sapi dan babi yang segar dihancurkan hingga menjadi halus. Setelah itu, daging tersebut ditimbang sekitar 20 mg dan dimasukkan ke dalam tabung microcentrifuge 1,5 ml. Sejumlah 600µl nucleic lysis solution ditambahkan ke daging yang sudah dihaluskan. Setelah

diaduk rata, campuran dibiarkan di suhu 65°C selama setengah jam. Kemudian, ditambahkan 3µL larutan RNase dan kembali diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, ditambahkan 200µL Protein Precipitation Solution, diaduk dan dimasukkan ke freezer selama 5 menit sebelum disentrifugasi dengan kecepatan 16.000 rpm selama 4 menit. Kemudian, supernatan dipisahkan dan ditambahkan 600µL isopropanol. Setelah diaduk rata, campuran kembali disentrifugasi dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Supernatan dibuang dan ditambahkan 600µL etanol 70%. Setelah diaduk dan disentrifugasi lagi, endapan yang terbentuk dibiarkan menguap menggunakan pengering rambut selama 15 menit. Rehidration DNA solution sebanyak 50µL ditambahkan dan disimpan di suhu 4°C. Untuk memeriksa kemurnian DNA yang telah diisolasi, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 260nm dan 280nm dengan alat Spektrofotometer UV. Kondisi alat PCR yang digunakan untuk pengujian DNA dicatat di **Tabel 2**.

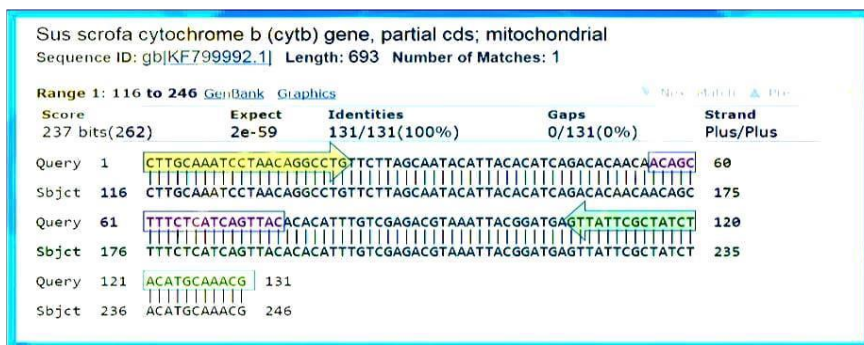
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi DNA dilakukan memakai kit dari Promega bernama Wizard Genomic DNA Purification Kit. Secara dasar, tahapannya meliputi: pelisisan sel, pemecahan RNA, pengendapan protein, serta pengendapan dan pembersihan DNA. Dalam tahap pelisisan, digunakan nucleic lysis solution yang mengandung ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) dan sodium dodecyl sulphate (SDS).

EDTA bertugas mengikat ion magnesium, yang sejatinya menjaga keutuhan sel dan melindungi dari enzim nuklease yang dapat merusak asam nukleat. Sementara SDS, sebuah detergen kationik, berfungsi merusak membran sel. Tahapan berikutnya adalah pemecahan RNA dengan bantuan enzim RNase, yang dapat melarutkan RNA tanpa merusak DNA. Kemudian, pengendapan protein dilaksanakan dengan bantuan Protein Precipitation Solution.

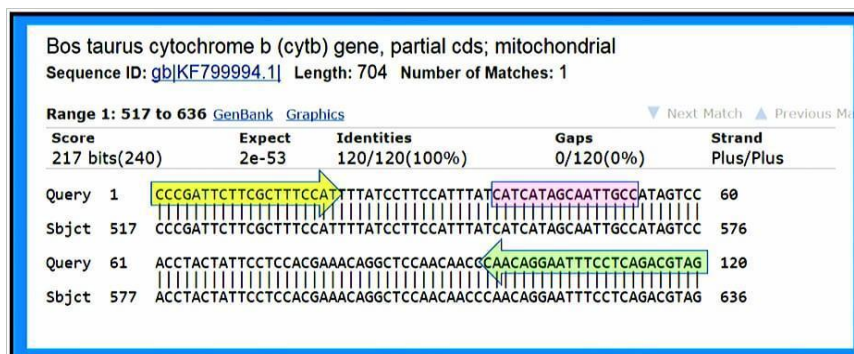
Dalam tahap terakhir, DNA dikendapkan dan dibersihkan menggunakan isopropanol dan etanol 70%. Isopropanol memiliki fungsi untuk memisahkan DNA dari mineral-mineral yang tersisa dari reaksi sebelumnya dengan cara mengendapkan DNA. Sementara, etanol 70% bertujuan untuk membersihkan DNA dari sisa-sisa isopropanol. DNA yang telah diisolasi kemudian disimpan dengan DNA rehidration solution untuk memudahkan analisis dan proses amplifikasi berikutnya.

Dalam konteks uji spesifisitas, tes ini penting untuk memastikan bahwa primer yang digunakan hanya akan mengamplifikasi satu area target saja. Urutan basa primer dianalisis, untuk membandingkan efektivitas antara metode sybr green dan hydrolysis probe saat menganalisis DNA gelatin sapi dan babi via real-time PCR. Hasil dari uji spesifisitas untuk primer babi forward dan reversed dapat dilihat pada **Gambar 1**. Ini mengindikasikan bahwa primer babi forward dan reversed secara spesifik mampu mengamplifikasi DNA mitokondria sitokrom b babi dengan panjang 131 pasang basa.



Gambar 2. Hasil uji primer daging babi

Hasil uji spesifisitas primer sapi forward dan reversed dapat dilihat pada **Gambar 3** yang menunjukkan bahwa sepasang primer tersebut juga spesifik.



Gambar 3. Hasil uji primer daging sapi

Dengan adanya metode deteksi seperti yang ditunjukkan dalam penelitian ini, industri makanan dapat memastikan keaslian produk daging yang mereka jual. Ini tidak hanya membantu dalam memenuhi standar kualitas dan keamanan makanan, tetapi juga memastikan kepercayaan konsumen terhadap produk yang mereka konsumsi. Kecurangan dalam industri makanan, khususnya dalam konteks daging, bukan hanya masalah ekonomi, tetapi juga dapat menimbulkan dampak kesehatan, etika, dan agama. Oleh karena itu, metode deteksi seperti PCR sangat penting untuk mencegah dan mendeteksi praktik kecurangan ini.

KESIMPULAN

Teknik isolasi DNA dengan menggunakan kit Wizard Genomic DNA Purification Kit Promega telah efektif dalam mengisolasi DNA dari sampel. Proses isolasi melibatkan beberapa tahapan penting seperti lisis sel, degradasi RNA, presipitasi protein, dan purifikasi DNA. Uji spesifisitas dengan menggunakan PCR menunjukkan keberhasilan dalam mengidentifikasi DNA spesifik dari daging babi dan sapi. Dengan teknik ini, keberadaan DNA babi atau sapi dapat diidentifikasi dengan pasti, memastikan primer yang digunakan memiliki spesifisitas yang tinggi dan hanya mengamplifikasi area target yang diinginkan. Dengan adanya metode

deteksi yang akurat seperti PCR, praktik kecurangan ini dapat diminimalkan atau bahkan dihilangkan, memberikan jaminan lebih kepada konsumen.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, Aminah, Ristieyen Ramadini, and Tadjuddin Naid. 2019. "Analisis Cemaran DNA Tikus Pada Bakso Daging Sapi Yang Beredar Di Makassar Dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)." *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)* 5(1):93–100. doi: 10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12036.
- Purwanto, Rudi, Hendy Suryandani, Dadan Ahmad Hudaya, Eko Yuniarsih, Tuti Rostianti, Fakultas Teknologi, and Informatika Universitas Mathla'ul Anwar Banten. 2022. *DETEKSI CEMARAN DAGING BABI PADA SOSIS SAPI DENGAN METODE MULTIPLEX PCR DI WILAYAH KABUPATEN PANDEGLANG*. Vol. 01.
- Salsabila, Nurul, Yulia Suciati, Endy Muhammad Astiwara, Kata Kunci, Makanan Halal, Dna Babi, Daging Olahan, and Rt-Pcr Bakso. 2023. *Analisis Kandungan DNA Babi Pada Produk Daging Olahan Di Pasar-Pasar Kelurahan Cempaka Putih Dan Tinjauannya Menurut Pandangan Islam Analysis of Pig DNA Content in Processed Meat Products in Cempaka Putih Village Markets and The Review from an Islamic Perspective*. Vol. 2.
- Sipahelut, Geertruida Margareth, Muladno, and Rudy Priyanto. 2019. "PENGARUH MUTASI GEN RYR-1 TERHADAP KUALITAS DAGING BABI LANDRACE." *Jurnal Nukleus Peternakan*.
Jurnal Nukleus Peternakan.
- Siswata, Hamzah Nata, and Yuny Erwanto. 2021. "Kualitas DNA Dari Bakso Yang Beredar Di Pasaran Kabupaten Bojonegoro." *Jurnal Sains Dan Teknologi Peternakan*.
- Wahyuni, Sri, Siti Maryam, and Aminah Aminah. 2019. "Validasi Metode Analisis Cemaran DNA Babi Pada Bakso Sapi Menggunakan Primer Mitokondria D-Loop22 Dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)." *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)* 5(1):65–72. doi: 10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12035.
- Widyanto, Rahma Micho, Cleonara Yanuar Dini, Irma Sarita Rahmawati, Sekar Ramadhanti Putri, Amelia Nurdini Rozana, Sakinah Hilya Abida, and Yunimar Yunimar. 2021. "Uji Deteksi Adulterasi Daging Babi (Sus Scrofa Domestica) Pada Bakso Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification." *Indonesian Journal of Human Nutrition* 8(1):76–87. doi: 10.21776/ub.ijhn.2021.008.01.8.
- Yobelanno Sitompul, Yeremia, and Sidna Artanto. 2020. "Desain Primer Berdasarkan Gen Mt-12s Rrna Untuk Mendeteksi Cemaran Daging Babi Pada Produk Olahan Asal Daging Sapi Dengan Metode Multipleks-Pcr Designed Primers Based on Mt-12s RRNA Gene to Detect the Adulteration of Pork in Beef Product Using Multiplex-PCR Method." *ACTA VETERINARIA INDONESIA* 8(2):24–30.