

Sus sp. UJI DETEKSI GEN DNA ENCODING *cyt b* PADA SAMPEL SOFT GEL CANDY MENGGUNAKAN METODE PCR

*Sus sp. DNA ENCODING *cyt b* GENE DETECTION TEST ON SOFT GEL CANDY SAMPLES USING PCR METHOD*

Received: 08/10/2020; Revised: 10/11/2020; Accepted:24/03/2021; Published: 30/05/2021

Latifatoel Chilmi*, Tri Susilowati, Yuanita Rachmawati, Saiku Rokhim, Inggrit Tyautari
Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Ampel Surabaya
Jl. Ahmad Yani No.117, Surabaya

*Corresponding author: latifatoelc@gmail.com

ABSTRAK

Softgel candy bertekstur lunak yang diproses dengan penambahan beberapa komponen seperti gum, pektin, pati juga gelatin, untuk mendapatkan suatu produk yang kenyal dan dikemas setelah melalui perlakuan aging terlebih dahulu. Gelatin adalah salah satu komponen utama dalam pembuatan kembang gula lunak yang berasal dari hidrolisis kolagen jaringan ikat dan tulang binatang yang berfungsi sebagai sifat gelling agent, zat penstabil ataupun emulsifier. Namun gelatin yang digunakan pada produk belum berlabel halal Majelis Ulama Indonesia (MUI) sangat rentan berasal dari gelatin babi, mengingat gelatin babi lebih murah dibanding sapi. Tujuan penelitian ini adalah menguji kontaminan DNA babi pada 17 sampel softgel candy tidak berlabel halal MUI. Penelitian ini menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Tujuh belas sampel diisolasi DNA, kemudian dilakukan spektrofotometri, dilanjutkan PCR. Produk PCR di running menggunakan elektroforesis. Visualisasi DNA dengan UV transluminator. Primer yang digunakan adalah primer gen pengkode *cyt b* DNA babi. Hasil menunjukkan bahwa 17 sampel negatif kontaminan, sementara kontrol positif daging babi menunjukkan band DNA sebesar 149 bp. Hal ini menunjukkan bahwa Softgel Candy 17 sampel tidak mengandung gelatin babi.

Kata kunci: Softgel Candy, gelatin babi, *cyt b* babi, PCR

ABSTRACT

*Softgel candy is soft-textured confectionery processed by the addition of several components such as gum, pectin, starch and gelatin, to obtain a supple product and packed after aging treatment first. Gelatin is one of the main components in the manufacture of soft candy derived from the hydrolysis of collagen connective tissue and animal bone that serves as the nature of gelling agents, stabilizers or emulsifiers. However, the gelatin used in products not yet labeled halal Indonesian Council of Ulama (MUI) is particularly vulnerable to pork gelatin, since pork gelatin is cheaper than cattle. The purpose of this study was to test the contaminants of pig DNA on 17 samples of soft candles not labeled halal MUI. This research used Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Seventeen samples were isolated by DNA, then spectrophotometry was performed, followed by PCR. The PCR product is run electrophoresis. Visualize the DNA with a UV gel documentation. Primer used is primer gene encoding *cyt b* DNA pork. Results showed that 17 samples were negative contaminants, while the positive control of pork showed a DNA band of 149 bp. This shows that Softgel Candy 17 samples do not contain pork gelatin..*

Keywords: Softgel Candy, Pork gelatin, pork bac *cyt*, PCR

How to cite: Chilmi L, Susilowati T, Rachmawati Y, Rokhim S, Tyautari I. 2021. *Sus sp.* DNA Encoding cyt b Gene Detection Test on Soft Gel Candy Samples Using PCR Method. *Journal of Halal Product and Research*. 4(1), 14-19, <https://dx.doi.org/10.20473/jhpr.vol.4-issue.1.14-19>.

PENDAHULUAN

Softgel candy atau kembang gula lunak merupakan makanan yang diproses dengan penambahan hidrokoloid dalam bentuk gum, pati, pectin, gelatin dan lainnya yang menyebabkan terbentuknya tekstur kenyal (SNI 3547-2-2008, BSN 2008). Pada proses pemasaran produk softgel candy serigkali terlepas dari pengawasan pihak berwenang, seperti ditemukannya softgel candy yang tidak berlabel halal dan tidak terdaftar BPOM. Menurut Rachmawati dkk (2018) gelatin menjadi titik kritis kehalalan dari softgel candy karena bahan baku pembuatan gelatin tidak hanya berasal dari bahan halal, namun bahan tidak halal juga seperti babi. Persentase gelatin yang beredar di pasar dan sering didapati berasal dari bahan baku kulit babi sebanyak 46%, tulang sapi 23,1 %, kulit sapi 29,4%, dan bahan produk perikanan sebanyak 1,5% (Karim & Bath, 2009). Gelatin memiliki sifat gelling agent, emulsifier, dan penstabil. Gelatin didapat dari protein hasil hidrolisis jaringan ikat (kolagen), tulang, kulit melalui proses asam ataupun basa.

Sebagai umat muslim wajib hukumnya untuk menjalankan perintah-Nya dan meninggalkan larangan-Nya. Al-Qur'an Surat Al-Baqarah (2:173) dijelaskan larangan untuk memakan daging babi. "*Sesungguhnya Allah hanya mengharamkan bagimu bangkai, darah, daging babi, dan binatang yang (ketika disembelih) disebut (nama) selain Allah....*" (Q.S. Al-Baqarah : 173).

Allah mengharamkan babi bukan tanpa alasan mendasar, dijelaskan lebih lanjut pada surat Al-An'am:145 "Katakanlah: "Tiadalah aku peroleh dalam wahyu yang diwahyukan kepadaku, sesuatu yang diharamkan bagi orang yang hendak memakannya, kecuali kalau makanan itu bangkai, atau darah yang mengalir atau daging babi -- karena sesungguhnya semua itu kotor -- atau binatang yang disembelih atas nama selain Allah. Barangsiapa yang dalam keadaan terpaksa, sedang dia tidak menginginkannya dan tidak (pula) melampaui batas, maka sesungguhnya Tuhanmu Maha Pengampun lagi Maha Penyayang". Ayat tersebut menerangkan bahwa pelarangan konsumsi babi karena babi termasuk pada sesuatu yang kotor.

Otentifikasi mengenai kontaminan DNA babi pada suatu makanan perlu dilakukan salah satunya melalui teknologi molekular. Menurut Rachmawati dkk (2018) teknologi molekular dapat memastikan suatu sampel makanan tercemar oleh unsur babi meskipun dalam jumlah yang sedikit karena mengidentifikasi hingga tingkat urutan basa nukleotidanya. Teknologi molekular yang sering digunakan dalam identifikasi kontaminan babi pada olahan makanan adalah PCR konvensional, multi-plex PCR, dan Real-time PCR. Menurut Muladno (2010) PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan metode yang digunakan untuk melipatgandakan DNA pada daerah target. Proses pelipatgandaan ini dengan mensintesis molekul DNA dengan bantuan enzim, dan dNTPs yang terdiri dari dATP, dTTP, dGTP, dCTP. Gaffar (2007) menjelaskan bahwa PCR melibatkan banyak siklus yang terdiri tiga siklus berurutan, yaitu pemisahan (denaturasi) rantai DNA template, penempelan (annealing) pasangan primer pada DNA target dan pemanjangan (extension) primer atau reaksi polimerase yang dikatalisis oleh enzim DNA polimerase serta terjadi berulang hingga 30-40 siklus.

Cyt b merupakan gen yang ditemukan pada organel mitokondria yang terlibat dalam pengangkutan elektron. Urutan sekuens pada cyt b merupakan daerah konservasi sehingga banyak penelitian menggunakan gen ini untuk mengklasifikasikan dan menentukan filogenetik suatu spesies satu dengan spesies lainnya (Widayanti dkk, 2006). Urutan gen cyt b berasal dari *Sus scrofa* memiliki panjang urutan 1140 bp. *Sus sp.* adalah spesies yang sering digunakan untuk konsumsi manusia. Metode analisis menggunakan DNA memiliki beberapa keunggulan yaitu DNA dapat ditemukan di semua sel baik pada individu dengan informasi genetik yang identik maupun tidak.

Penelitian ini dilakukan pada sampel beberapa softgel candy yang tidak berlabel halal dari MUI dan berkomposisi gelatin babi bukan dari gelatin sapi. Adanya kandungan gelatin babi pada softgel candy merupakan kendala yang dihadapi oleh umat muslim dimana telah di jelaskan bahwa haram untuk mengkonsumsi daging babi menurut Al-Qur'an. Sedangkan pemasaran softgel candy sendiri sangat

pesat pada kalangan anak usia dini. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menguji kontaminan DNA babi pada 17 sampel softgel candy tidak berlabel halal MUI.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain : minitube, aluminium foil, microtube, neraca analitik, pengaduk kaca, spatula, alat penggerus, gelas erlenmayer, gelas ukur 100 mL, gelas beaker, corong, mikropipet, alat sentrifuge, UV transluminator, thermocycler, lemari pendingin, seperangkat elektroforesis dan spektrofotometer. Sampel sebanyak 17 buah diambil secara purposive sampling dengan kriteria lunak, tertera bahan gelatin pada komposisinya, tidak berlabel halal, dan berada di wilayah sekitar kampus UIN Sunan Ampel Surabaya. Bahan lainnya yang digunakan dalam penelitian ini adalah KIT isolasi Promega, ethanol 70%, buffer TAE, DNA ladder, Go taq green master mix, primer cyt b, pewarna DNA Diamond Nuclei Acid, sampel kontrol positif berupa daging babi, darah babi, usus babi, lemak babi, dan hati babi. Urutan sekuens primer cyt b yang digunakan dalam penelitian ini seperti pada tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Sekuens Primer Pork R dan Pork F

Target Gen	Primer	Sequence 5' 3'	Amplicon (bp)
Cyt b	Pork-R	ATG AAA CAT TGG AGT AGT CCT ACT ATT TAC C	149 bp
	Pork-F	CTA CGA GGT CTG TTC CGA TAT AGG G	

CARA KERJA

Isolasi DNA

Di timbang sebanyak 50 mg ditambahkan 600 μ L Nucleic Lisis Solution yang dimasukkan kedalam microtube di vortex selama 10 s. Sampel di inkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Untuk melisiskan dan mengendapkan proteinnya ditambahkan RNase Solution 3 μ L dan di vortex kembali selama 10 s, di inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Sampel di dinginkan pada suhu ruangan selama 15 menit, 200 μ L Protein Precipitation Solution. Di vortex selama 10 s, dimasukkan kulkas selama 5 menit, di sentrifuge pada 15.000 x g selama 4 menit. Supernatan dimasukkan kedalam tube berisi 600 μ L isopropanol, di inversi beberapa, di sentrifuge pada 15.000 x g 1 menit. Supernatan yang dihasilkan dibuang dan ditambahkan 600 μ L Etanol 70 %, di vortex selama 1 menit, di sentrifuge pada 15.000 x g selama 1 menit, etanol dibuang, di kering angikann, ditambahkan 100 μ L DNA Rehydration solution untuk melarutkan hasil DNA. DNA hasil isolasi kemudian di ukur konsentrasinya menggunakan alat spektrofotometer, dengan DNA rehydration solution sebagai larutan blanko.

PCR

Komponen PCR terdiri dari 1 μ L primer Forward (F) dan 1 μ L primer Reverse (R). Ditambahkan GoTaq Green 12,5 μ L di suspensi 7x, template DNA 2,5 μ L ditambahkan 8 μ L Nucleic Free Water dan di vortex selama 10 s. Proses PCR dilakukan pada kondisi Pre Denaturation : 98°C – 2 min, Denaturation : 95°C – 30 sec, Annealing : 60°C – 30 sec, Extention : 72°C – 40 sec, dan Post Extention : 72°C – 5 min sebanyak 40 siklus.

Elektroforesis

Proses elektroforesis dilakukan dengan menggunakan agarose 2% yang ditambahkan pewarna Diamond Nucleic dye sebanyak 10 mL. Proses elektroforesis dilakukan pada 50 volt selama 75 menit. Digunakan DNA ladder 100 bp sebagai penanda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gelatin merupakan agen pengental yang sering digunakan pada berbagai produk pangan. Seringkali ditemukan softgel candy yang tidak terdaftar BPOM dan tidak berlabel halal, hal ini disebabkan karena distribusi softgel candy yang lepas dari pengawasan BPOM maupun pihak berwenang lainnya. Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel di sekitar lingkungan UIN Sunan Ampel Surabaya dan sekitarnya. Sampel selanjutnya dilakukan isolasi DNA serta diukur konsentrasi dan kemurnian DNA. Hasil isolat kemudian diperbanyak dengan metode PCR. Amplifikasi DNA hasil ekstraksi mengikuti prosedur Dooley et al (2004) menggunakan primer cytochrome b (cyt b). Sekuens

primer kurang dari 16 basa dapat mengakibatkan amplifikasi PCR non spesifik. Pada ukuran primer yang pendek kemungkinan dapat menyebabkan kurang spesifiknya primer dan berpengaruh pada proses PCR. Sedangkan pada panjang primer 30 basa tidak dapat meningkatkan spesifiknya primer yang bernilai (Puspitaningrum, 2015).

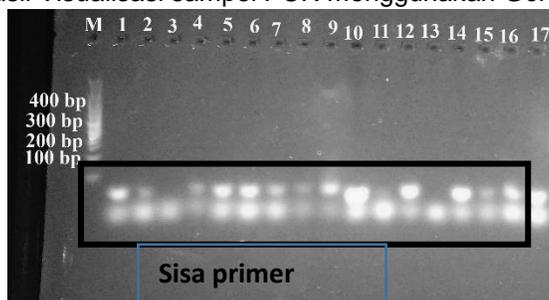
Setiap sampel yang akan dilakukan PCR dideteksi konsentrasi yang dimiliki masing-masing sampel. Spektrofotometri pada seluruh sampel yang telah dilakukan didapatkan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi yang didapatkan dari 17 sampel diantaranya paling rendah 0,0 µg/ml hingga tertinggi 0,4 µg/ml, rinciannya terdapat pada tabel 2 berikut :

Tabel 2. Konsentrasi DNA hasil isolasi sampel

Sampel	Konsentrasi (ng/µl)
1	0,429
2	0,024
3	0,289
4	0,015
5	0,029
6	0,118
7	0,163
8	0,135
9	0,034
10	0,100
11	0,058
12	0,101
13	0,049
14	1,082
15	-0,208
16	0,473
17	0,015

Hasil isolasi DNA dari tiap sampel menghasilkan konsentrasi yang berbeda-beda. Menurut Brown (2010) kemurnian konsentrasi DNA hasil spektrofotometri dan memiliki konsentrasi berada dibawah 1,8 menandakan bahwa DNA isolasi masih terkontaminasi oleh komponen lain seperti protein. Namun, apabila nilai kemurnian konsentrasi yang dimiliki berada diatas 2.0 menandakan bahwa isolasi DNA masih terkontaminasi oleh komponen RNA. Hasil PCR kemudian di running menggunakan elektroforesis. Hasil elektroforesis di visualisasi menggunakan alat UV transluminator. Hasil gambar ke 17 sampel menggunakan UV transluminator seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.

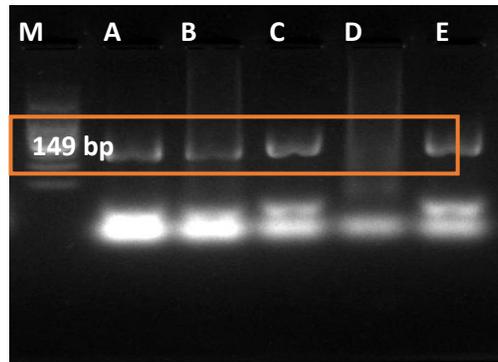
Gambar 1. Hasil Visualisasi sampel PCR menggunakan *Gel Documentation*



(Dok. Pribadi, 2017)

Keterangan:

M = kontrol positif daging babi (Marker)

1-17 = sampel *softgel candy***Gambar 2.** Hasil Visualisasi PCR babi menggunakan *Gel Documentation*

(Dok. Pribadi, 2017)

Keterangan:

M: Marker atau Ladder 100 bp

A: Daging babi

B: Darah babi

C: Usus Babi

D: Lemak babi

E: Hati babi

Dari hasil visualisasi UV transluminator tersebut, pada sampel 1 – 17 tidak tampak pita DNA pada daerah 149 bp. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada semua sampel negatif DNA terhadap babi. Sedangkan pada kontrol positif muncul pita DNA pada daerah 149 bp. Hal demikian menunjukkan bahwa metode PCR optimum digunakan untuk pengujian, akan tetapi pada ke 17 sampel negatif terhadap kontaminasi DNA babi. Tidak memungkinkan suatu makanan mutlak tidak mengandung pencemaran keharaman. Juga semua metode dapat mendeteksinya. Metode PCR telah membuktikan bahwa tidak adanya kontaminasi DNA babi pada seluruh sampel. Sehingga dapat disimpulkan penggunaan gelatin babi tidak terdapat pada sampel yang telah diuji. Namun, kembali kepada individu masing-masing untuk tetap waspada dan berhati-hati dalam memilih makanan softgel candy terutama untuk balita yang masih butuh pengawasan dari orang tua dalam memilih jajanannya.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan pada sampel softgel candy yang didapatkan dari wilayah sekitar UIN Sunan Ampel Surabaya terbukti tidak terdapat kontaminasi DNA babi. Walaupun demikian perlu adanya controlling produk dari pemerintah, terkait produk yang bergelatin tidak berlabel halal.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, T.B. 2010. Gene Cloning and DNA Analysis. Wiley & sons Publisher, Chichester.
 BSN, Badan Standardisasi Nasional, (2008), SNI (Standar Nasional Indonesia), Jakarta.
 Dooley, J. J., Paine, K. E., Garret, S. D., and Hellen M. B. 2004. Detection of Meat Species using TaqMan real-time PCR assays. Meat Science 68 (2004) 431-438. Edward Jenner Institute for Vaccine Research, Compton, Newbury, Berkshire RG20 7NN, UK.
 Gaffar, A. 2007. Buku Ajar Bioteknologi Molekul. FMIPA Universitas Padjadjaran.
 Handoyono, D dan Ari Rudiretna. 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (Pcr). Unitas. Vol. 9, No. 1. Pusat Studi Bioteknologi – Universitas Surabaya.
 Muladno. (2010). Teknologi Rekayasa Genetik (2nd ed.). Bogor: IPB Press.

- Nhari, R. M. H. R, A. Ismail and Y. B Che Man. 2012. Analytical Methods for Gelatin Differentiation from Bovine and Porcine Origins and Food Products, *J. Food sci.*, 71, R42-R46.
- Rachmawati, Y., Rokhim, S., Munir, M., & Agustina, E. (2018). Deteksi Kontaminan Fragmen DNA Pengkode cyt b Babi Pada Sampel SOFTGELLCANDY Tak Berlabel Halal. *Indonesia Journal of Halal*, 1(1), 25. <https://doi.org/10.14710/halal.v1i1.3115>.
- Standar Nasional Indonesia (SNI) 3547.2-2008. 2008. *Kembang Gula - Bagian 2 : Lunak*. Jakarta.