

Analisa Kehalalan Baso Sapi Di Pasar Tradisional Tambun, Bekasi dengan Jel Akrilamida

Halal Identification for Meatballs in Pasar Tambun, Bekasi, West Java By Acrylamide Gels

Wahyu Hidayati^{*}, Meta Apriaji, Almawati Situmorang, Ifany Agustian, Miftahul Janah
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka
^{*}E-mail: wahyu_hidayati@uhamka.ac.id

ABSTRACT

Halal foods are important for Moslems and there is a Moslem's duty to eat only Halal foods which is stated in Holly Qur'an. Moreover, government already made some regulations related to Halal certification which should be obeyed by food industries, including home industries. This research aimed to detect a porcine component in meatballs sold in Pasar Tradisional Tambun, Bekasi, West Java by using SDS-PAGE. Here, we combined mechanical and chemistry methods to extract the proteins and compared the protein profiles on an acrylamide gel. We got specific bands of bovine and porcine proteins according to proteins bands that showed on the gel and after comparing with the samples we found that one sample had combining profiles in the extract. We concluded that three samples used in this research were halal, meanwhile, another sample containing porcine substances.

Keywords: Halal, Proteins, Bovine, Porcine, Meatballs, SDS-PAGE.

PENDAHULUAN

Tingginya jumlah penduduk muslim di Indonesia, produk halal menjadi suatu pusat perhatian dari para pelaku industri pangan dan obat-obatan baik dalam maupun luar negeri. Hal ini dapat dilihat dari tingginya jumlah sertifikat halal yang telah dikeluarkan LPPOM MUI yaitu sebanyak 5.896 sertifikat halal dengan jumlah produk mencapai 97.794 item dari 3.561 perusahaan sejak tahun 2005 hingga Desember 2011 (LPPOM MUI 2012). Sebagai perbandingan, pasar produk halal dunia selama satu dekade terakhir telah tumbuh cepat dan mencapai nilai transaksi US\$ 632 miliar per tahun dengan angka pertumbuhan sekitar 17% setiap tahun (LPPOM MUI, 2012).

Pencampuran daging babi ke dalam suatu produk olahan yang menggunakan daging yang berasal dari hewan halal kerap dilakukan oleh beberapa produsen produk olahan daging (Masiri *et al.*, 2016; Tribune dalam Zilhadia *et al.*, (2014) sehingga menyebabkan status produk tersebut menjadi haram. Beberapa hal yang menjadi alasan penggunaan babi sebagai bahan campuran hingga sumber utama antara lain agar harga produk makanan menjadi lebih murah (Nakyinsige *et al.*, 2012), keuntungan yang diperoleh dari penjualan produk tersebut menjadi lebih besar, dan struktur yang dihasilkan lebih baik dibandingkan dengan hewan lainnya.

Produk makanan yang mengandung babi sangat dilarang untuk dikonsumsi di negara-negara dengan penduduk mayoritas Muslim dan Yahudi (Rahmati *et al.*, 2016). Tidak hanya Muslim dan Yahudi yang menghindari konsumsi daging babi, namun juga dialami oleh penganut agama Hindu dan Budha yang dilarang memakan daging sapi dan babi (Ulca *et al.*, 2013). Skarpeid *et al.*, (1998) menyatakan bahwa identifikasi sumber daging sangat penting dilakukan untuk mencari otentitas sumber daging tersebut. Ada beberapa metode yang telah dikembangkan untuk melakukan otentifikasi sumber daging baik berbasis DNA maupun protein (Montowska & Pospiech, 2011). Adapun metode yang telah digunakan untuk identifikasi halal adalah PCR (*Polymerase Chain Reaction*), FTIR Spectroscopy (*Fourier Transform Infrared*), ELISA (*Enzym linked immunosorbent assay*, dan SDS-PAGE (Husni *et al.*, 2017; Hermanto *et al.*, 2014; Hermanto *et al.*, 2013; Demirhan *et al.*, 2012). Metode SDS-PAGE relatif lebih mudah dilakukan dibandingkan dengan metode lainnya dikarenakan mudahnya prosedur yang harus dikerjakan dan tidak diperlukannya teknik khusus (Montowska & Pospiech, 2011).

Pasar Tambun merupakan salah satu pasar tradisional di Kota Bekasi, Jawa Barat yang menjual produk olahan daging sapi, khususnya baso, baik yang diproduksi oleh industri besar maupun industri rumah tangga. Beberapa

produk olahan daging sapi yang dijual di pasar ini belum mencantumkan sertifikat halal, sehingga memunculkan kekhawatiran kehalalan produk-produk tersebut. Oleh karena itu penting untuk dilakukan identifikasi kehalalan pada produk olahan tersebut.

METODE

Penelitian ini meliputi beberapa tahapan yaitu (i) ekstraksi protein kontrol dan sampel, (ii) menentukan kadar protein kontrol dan sampel, (iii) karakterisasi protein menggunakan SDS-PAGE, dan (iv) analisa pita protein pada SDS-PAGE.

Ekstraksi Protein

Ekstraksi protein dilakukan baik pada sampel maupun kontrol positif dan negatif. Tahap ini dilakukan dengan memodifikasi metode yang digunakan oleh (Hermanto & Meutia, 2009). Sebanyak 10 g dihancurkan di dalam 20 ml PBS 0,01 M pH 7,2 dengan menggunakan blender dan dilanjutkan dengan sentrifugasi 5000 rpm selama 5 menit untuk mendapatkan filtrat. Filtrat kemudian disonikasi selama 10 menit dan ditambahkan 3 ml buffer PBS 0,01 M pH 7,2 dan dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4 °C. Supernatan yang terbentuk disimpan dalam tabung eppendorf pada suhu -20 °C. Filtrat kemudian disonikasi selama 10 menit dan ditambahkan 3 ml buffer PBS 0,01 M pH 7,2 dan dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4 °C. Supernatan yang terbentuk disimpan dalam tabung eppendorf pada suhu -20 °C.

Penentuan kadar protein kontrol dan sampel

Kadar protein hasil ekstraksi diketahui dengan menggunakan metode Bradford dan diukur pada panjang gelombang sebesar 595 nm dengan spektrofotometer UV-VIS. Data absorbansi digunakan untuk mengetahui kadar protein yang diperoleh pada tahap ekstraksi (Zilhadia *et al.*, 2014).

Analisa Profil Protein Pada Jel Akrilamida

Tahap ini dilakukan dengan menggunakan gel akrilamid yang terdiri atas dua lapisan gel dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 5% *stacking gel* (akrilamida/bis akrilamida 30:0,8%, Tris-HCl 0,5 M pH 6,8, SDS 10%, ammonium persulfat 10%, TEMED) dan 12% *separating gel* (akrilamida/bis akrilamida 30:0,8%, Tris-HCl 1,5 M pH 8,8, SDS 10%, Ammonium persulfat 10%, TEMED). Sebelum protein dimasukkan kedalam *stacking gel*, protein dipanaskan pada suhu 100 °C selama 5 menit setelah ditambahkan *buffer sample* (1:1). Sebanyak 20 ul campuran tersebut dimasukkan kedalam gel SDS-PAGE dan elektroforesis menggunakan *running buffer* (glisin, SDS, akuades). Proses elektroforesis berlangsung selama selama 120 menit dengan tegangan sebesar 110 V. Jel kemudian

direndam dalam larutan *staining buffer* (Coomassie Blue R250, trikloroasetat, akuades) selama 5 menit pada suhu ruang dilanjutkan dengan merendam gel dalam *destaining solution* (metanol, asam asetat glasial, akuades) hingga profil pita protein terlihat pada gel (Walker, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Protein

Pada penelitian ini, protein berhasil diekstraksi dari sampel dan daging sebagaimana terlihat pada gambar 1. Pada gambar tersebut dapat terlihat adanya profil protein yang menandakan proses ekstraksi berhasil dilakukan.

Ekstraksi protein merupakan tahap yang penting dalam proses yang membutuhkan protein. Hafiz (2005) menyatakan bahwa protein dapat dilepaskan dari suatu jaringan maupun sel melalui penghancuran jaringan tersebut baik secara mekanik maupun kimiawi. Protein yang berasal dari jaringan hewan seperti jaringan otot dan daging dapat diperoleh dengan melakukan pemotongan jaringan tersebut atau yang dikenal dengan teknik *blade homogenizer* (Hafiz, 2005). Pada penelitian ini, ekstraksi protein dilakukan dengan menggunakan blender untuk menghancurkan daging. Teknik *blade homogenizer* merupakan cara yang relatif mudah dan sederhana untuk ekstraksi protein yang berasal dari hewan. Selama proses ekstraksi suhu harus dikondisikan selalu dingin dengan cara mendinginkan peralatan maupun melakukan ekstraksi dalam wadah berisi es. Hal ini diperlukan karena teknik ini akan menghasilkan panas yang dapat mendenaturasi protein (Ahmed 2005).

Pengukuran Konsentrasi Protein

Konsentrasi protein yang diperoleh pada penelitian ini bervariasi dengan bobot protein tertinggi dimiliki oleh sampel D dan kontrol negatif (tabel 1). Pengukuran konsentrasi dilakukan dengan menggunakan metode Bradford. Metode Bradford merupakan metode kuantifikasi protein yang mudah dan cepat sehingga banyak digunakan oleh para peneliti (Bradford 1976 dalam Hafiz 2005). Metode tersebut menggunakan sebuah *dye* yaitu Coomassie Blue G250 yang akan berikatan dengan residu arginin dan lisin yang kemudian akan dapat diketahui konsentrasi protein dalam suatu sampel dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 595 nm (Kruger dalam Walker 1996).

Tabel 1. Konsentrasi ekstrak protein sampel baso dan kontrol

Sampel	Kadar Protein (mg/ml)
Kontrol Positif	701,54
Kontrol Negatif	697,54
Sampel Baso A	617,81
Sampel Baso B	657,49
Sampel Baso C	524,96
Sampel Baso D	765,83

Kadar protein sampel positif dan sampel D memiliki rentang yang sama yaitu berada pada kisaran 700 mg/ml. Hal ini menandakan bahwa ikatan yang terjadi antara residu lisin dan arginin antara kedua sampel tersebut dengan dye relatif sama. Hal ini juga dapat terlihat pada gambar 1, pada lajur 3 dan 7 memiliki ketebalan protein yang sama dibandingkan kontrol negatif dan ketiga sampel lainnya. Warna biru yang muncul pada jel akrilamida tersebut terjadi akibat adanya *blue anionic species* yang terbentuk akibat adanya tarik menarik secara elektrostatik antara protein dengan dye (Hafiz, 2005).

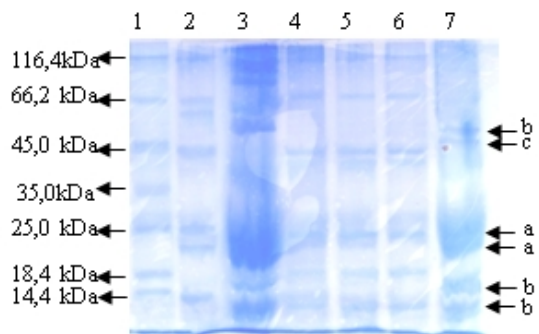
Profil protein pada jel akrilamida

Profil protein yang terlihat pada gel akrilamid menunjukkan adanya perbedaan profil antara daging sapi dan babi (gambar 1). Profil pita yang muncul tersebut akibat adanya ikatan antara coomassie brilliant blue dengan protein sehingga pada jel akrilamid dapat terlihat jejak-jejak protein dengan beragam ukuran (Brunelle & Green, 2014).

Jejak protein yang timbul menandakan adanya migrasi protein yang terjadi akibat adanya pori-pori pada *separating gel* yang membedakan kecepatan gerak protein-protein berdasarkan bobot molekul. Ketika protein masih berada pada *stacking gel*, protein masih memiliki muatan elektrik yang sama dan kecepatan gerak yang sama, namun ketika berada pada *separating gel* protein-protein tersebut akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda. Pada *separating gel*, protein dengan bobot molekul yang kecil dapat bergerak lebih cepat dibandingkan molekul berukuran besar (Walker dalam Walker, 1996).

Data pada gambar 1 menunjukkan adanya pita-pita protein yang berbeda antara daging babi (kontrol positif) dengan daging sapi (kontrol negatif). Profil pita protein pada sampel D terlihat adanya campuran protein antara daging sapi dan babi. Hal ini terlihat adanya pita protein dengan ukuran sekitar 23

dan 25 kDa pada sampel D yang sama dengan pita protein yang terdapat pada kontrol negatif. Adanya kandungan babi terlihat dengan adanya pita protein berukuran sekitar 11, 16, dan 52 yang hanya terlihat pada sampel D dan kontrol positif.



Gambar 1. Hasil SDS-PAGE sampel baso dengan daging babi dan sapi sebagai kontrol. Lajur 1. Protein marker; lajur 2. Kontrol negatif; lajur 3. Kontrol positif; Lajur 4. Sampel A; Lajur 5. Sampel B, Lajur 6. Sampel C; Lajur 7. Sampel D. Panah a. sapi, panah b. Babi, panah c. unknown

Elektroforesis dengan SDS-PAGE dapat mengkarakterisasi protein berdasarkan perbedaan bobot molekul (Hui & Sherkat, 2006 dalam Alikord, 2017). Profil pita yang muncul pada jel akrilamid tersebut merupakan hasil karakterisasi protein sampel dan kontrol. Ukuran pita protein dengan ukuran sekitar 25 kDa pada sampel D juga dilaporkan oleh Hermanto *et al.*, (2013) sebagai pita spesifik daging sapi. Pada penelitian tersebut juga dilaporkan bahwa ada satu pita protein lagi yang spesiik sapi yaitu pita protein dengan ukuran 45.1 kDa merupakan pita spesifik daging sapi. Pada penelitian initerlihat satu pita protein berukuran 45 kDa yang hanya muncul pada sampel D namun tidak muncul positif maupun negatif. Diduga pita protein tersebut merupakan pita protein sapi sebagaimana yang dilaporkan oleh (Hermanto *et al.*, 2013)

Pada penelitian ini ada beberapa pita protein yang berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Zilhadia *et al.* (2014) melaporkan adanya pita protein dengan ukuran 154.88 kDa; 146.55 kDa; 83.18 kDa; 69.18 kDa and 61.66 kDa. Sedangkan Hermanto *et al.*, (2013) melaporkan bahwa protein babi memiliki bobot sebesar 40,5 kDa dan 53,4. Perbedaan ukuran pita protein tersebut terjadi

akibat adanya kelemahan metode SDS-PAGE yaitu penggunaan protein terlarut yang sangat dipengaruhi oleh perlakuan panas yang akan berpengaruh pada denaturasi protein (Fajardo *et al.*, 2010 dalam Nakyinsige *et al.*, (2012)). Hal ini dapat terlihat dari tidak munculnya semua pita protein pada gel akrilamid baik pada penelitian ini maupun pada penelitian yang dilakukan oleh (Zilhadia *et al.*, 2014) dan (Hermanto *et al.*, 2013). Pada penelitian ini jumlah pita protein yang muncul jauh lebih banyak dibandingkan dengan penelitian-penelitian terdahulu, dikarenakan saat melakukan proses ekstraksi, sampel dan kontrol selalu terjaga dalam kondisi dingin untuk meminimalisir terjadinya kerusakan protein yang dapat terjadi saat proses ekstraksi.

KESIMPULAN

Otentifikasi produk olahan sangat penting untuk dilakukan karena tidak hanya Muslim saja yang menghindari konsumsi daging babi sebagaimana diatur dalam Al-Qur'an, namun juga Yahudi, Hindu, dan Budha. Analisis sumber produk olahan dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya adalah SDS-PAGE. Pada penelitian ini, daging babi dan daging sapi memiliki profil pita protein yang berbeda pada gel akrilamida. Pita protein tersebut juga terlihat pada produk olahan daging yaitu baso. Pada penelitian ini terdapat tiga pita protein spesifik sapi yaitu sekitar 23 dan 25 kDa. Pita spesifik babi memiliki ukuran sekitar 11, 16, 22, 36, 52 dan 70 kDa. Sampel D yang digunakan pada penelitian ini terindikasi tercampur dengan daging babi yang kemungkinan terjadi saat proses produksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alikord, M. (2017). Species Identification and Animal Authentication in Meat Products: A Review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12: 145-155.
- Brunelle, J. L., & Green, R. (2014). *Coomassie blue staining. Methods in Enzymology* (1st ed., Vol. 541). Elsevier Inc.
- Demirhan, Y., Ulca, P., & Senyuva, H. Z. (2012). Detection of porcine DNA in Gelatine and Gelatine-containing Processed Food Products-Halal/Kosher Authentication. *Meat Science*, 90(3), 686-689.
- Hafiz, A. (2005). *Principles and Reactions of protein Extraction, Purification, and Characterization*. Maryland, US: CRC Press.
- Hermanto, S., Saputra, F. R., & Zilhadia. (2014). Aplikasi Metode Sds-Page (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) Untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin Pada Kapsul Keras. *UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*, 1(1), 1-59.
- Hermanto, S., Sumarlin, L. O., & Fatimah, W. (2013). Differentiation of Bovine and Porcine Gelatin Based on Spectroscopic and Electrophoretic Analysis. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 1(3), 68-73.
- Husni,-P., Putriana, N. A., & Wicaksono, I. A. (2017). Metode Deteksi Kandungan Babi dan Alkohol dalam Eksipien Farmasi dan Produk Obat untuk Menjamin Kehalalan Sediaan Obat. *Majalah Farmasetika*, 2(1), 1-7.
- Masiri, J., Benoit, L., Barrios-Lopez, B., Thienes, C., Meshgi, M., Agapov, A., Samadpour, M. (2016). Development and Validation of A Rapid Test System for Detection of Pork Meat and Collagen Residues. *Meat Science*, 121, 397-402.
- Montowska, M., & Pospiech, E. (2011). Authenticity Determination of Meat and Meat Products on The Protein and DNA Basis. *Food Reviews International*, 27(1), 84-100.
- Nakyinsige, K., Man, Y. B. C., & Sazili, A. Q. (2012). Halal Authenticity Issues in Meat and Meat Products. *Meat Science*, 91(3), 207-214.
- Rahmati, S., Julkapli, N. M., Yehye, W. A., & Basirun, W. J. (2016). Identification of Meat Origin in Food Products—A Review. *Food Control*, 68:379-390.
- Sandra Hermanto, C. D. K. M. (2009). Perbedaan Profil Protein Produk Olahan (Sosis) Daging Babi dan Sapi Hasil Analisa SDS-PAGE, 181-186.
- Skarpeid, H., Kvaal, K., & Hildrum, K. I. (1998). Identification of Animal Species in Ground Meat Mixtures by Multivariate Analysis of Isoelectric Focusing Protein Profiles. *Electrophoresis*, 19, 3103-3109.
- Ulca, P., Balta, H., Çağın, I., & Senyuva, H. Z. (2013). Meat Species Identification and Halal Authentication Using pcr Analysis of Raw and Cooked Traditional Turkish Foods. *Meat Science*, 94(3), 280-284.
- Walker, J. M. (1996). *The Protein Protocols Handbook*. Humana Press. Hatfield, UK.

- Zilhadia, Betha, O. S., & Umami, C. (2014). Protein Profiles of Beef (*Bos indicus*), Pork (*Sus domesticus*), and Sausages By Using SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) Method. *J.Food Pharm.Sci*, 2: 46-51.

