e-ISSN 2685-8894; p-ISSN 2460-9773
Jurnal Vitek Bidang Kedokteran Hewan Vol.11 No.2, November 2021

Identifikasi Kandungan Komponen Babi pada Daging Curah dan Produk Olahan Daging Menggunakan Metode ELISA *Sandwich* di Balai Besar Veteriner Wates

Shafina Meilinia[1*], Agung Budianto Achmad[2], Diyantoro[2], Dony Chrismanto[2]
[1*]Student of Veterinary Paramedic, Faculty of Vocational Studies Universitas Airlangga,
[2]Department of Health, Faculty of Vocational studies, Universitas Airlangga
*Email: shafina.meilinia-2918@vokasi.unair.ac.id

ABSTRACT

Background: Indonesians have relatively high dietary requirements. Meat and processed items are frequently counterfeited in today's world. Pork is a low-cost protein provider that is cheap and readily available. As a result, some traders began substituting the whole meat and processed products with pork. In protecting the community, BBVet Wates conducted ELISA Sandwich testing. Purpose: To find out the addition of pork content in meat and processed products and the effectiveness of ELISA for species tests. Method: ELISA type sandwich. Result: In 2019, there were 45 positive samples and 113 negative samples, while in 2020, there were 23 positive samples and 59 negative samples. Conclusion: In 2020, there will be a decrease in cases of pork addition by 0.45% from 2019. The Elisa method species test has high accuracy and sensitivity.

Keywords*: Species Test, ELISA, Meat, Processed Products.*

PENDAHULUAN

Kebutuhan pangan masyarakat Indonesia sangatlah tinggi, hal ini dikarenakan populasi manusia terus mengalami pertambahan yang cukup signifikan terutama bahan pangan asal hewan seperti daging (Rusdiana & Maesya, 2017). Daging mengandung protein tinggi yang memiliki peran penting dalam pertumbuhan manusia. Di zaman modern ini banyak terjadi pemalsuan terhadap produk olahan daging karena daging babi penghasil protein dengan harga yang paling murah serta mudah diperoleh dipasaran (Rompis & Komansilan, 2014) sehingga beberapa pedagang mengganti sebagian atau seluruh daging sapi atau produk olahannya dengan daging babi (Nafiasari & Handayani, 2018). Peredaran produk olahan ini sangat membahayakan kesehatan manusia karena tidak terjamin dari segi kualitas dan keamanan pangan. Menurut (LPPOM MUI, 2019) salah satu syarat mendapatkan sertifikat halal adalah produk olahan daging tidak boleh sedikit pun mengandung babi dan turunannya. *Line* produksi dan peralatan yang digunakan tidak boleh dipergunakan bergantian antara produk halal dan produk yang mangandung daging babi.

Aktivitas kesehatan masyarakat veteriner dilakukan melalui penjaminan *hygiene* dan sanitasi pada rantai produksi produk hewan, penjaminan produk hewan dalam hal kehalalan bagi yang dipersyaratkan. Upaya untuk melindungi masyarakat dari kegiatan pemalsuan daging dan produk olahannya maka BBVET Wates melakukan pengujian secara acak di beberapa wilayah kerjanya. Salah satu pengujian yang memiliki sensitivitas dan keakuratan tinggi adalah uji spesies menggunakan metode Enzyme Link Immuno Sorbent Assay (Cahyaningsari et al., 2019). ELISA atau *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* merupakan metode imunologi dengan

melibatkan kerja enzim (*alkaline phosphate*) guna mendeteksi antibodi (Ab) atau antigen (Ag) dalam sampel (Chen et al., 2007). ELISA termasuk alat diagnostik yang dapatdigunakan pada lingkupkedokteran, patologi tanaman hingga control kualitas pangan dalam dunia industri. Menurut (Lequin, 2005). Metode *type sandwich* ini menggunakan biokits *Cooked Species Identification* dan pembacaan hasil melalui ELISA *reader* sehingga akan diketahui berapa banyak kandungan daging babi pada daging dan produk olahannya. Uji spesies menggunakan metode ELISA *type sandwich*, mampu mengukur Ag dengan dua lapis Ab yaitu Ab penangkap dan Ab deteksi. Ag harus mengandung dua epitopantigenik yang memiliki kemampuan mengikat Ab baik yang berifat *monoclonal* atau *policlonal*. Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukannya uji spesies menggunakan metode ELISA *type sandwich* terhadap daging dan produk olahannya yang dicurigai mengandung daging babi.

MATERIAL DAN METODE

Sampel didapatkan dengan 2 cara, pertama sampel aktif didapatkan dari kunjungan pihak balai ke peternak untuk pengambilan sampel. Kedua, sampel pasif didapatkan dari dinas atau perorangan atau peternak mandiri mengirimkan sampel ke pihak balai. Data yang diambil untuk dilakukan pengkajian mulai dari tahun 2019 sampai 2020.

1. *Waterbath* digunakan dengan suhu 95℃ selama 15 menit untuk memasak sampel
2. Plastik *duplo* untuk mempertahankan berat dan kualitas sampel
3. *Aquadest* ditambahkan untuk membantu proses pencampuran sehingga sampel dan *aquadest* homogen
4. *Glassware* wadah yang digunakan untuk proses penyaringan sampel
5. Pinset *steril* digunakan untuk mengambil contoh sampel ke dalam plastik
6. Tatakan kayu dan pisau untuk membantu dalam proses pemotongan contoh sampel
7. *Biokit cooked species identification* dari neogen untuk preparasi sampel
8. Mikropipet berfungsi sebagai alat untuk mengambil sampel, reagen, dan kontrol
9. *Wash solution*, material yang tidak berhasil berikatan maka akan hilang saat pencucian. Perbandingan pembuatan *wash solution :aquadest* (9:1) campur hingga homogeny dengan memastikan tidak ada buih
10. ELISA *reader* alat yang digunakan untuk membaca hasil uji spesies.

Pengambilan contoh sampel berpedoman pada (Teknik, 2015) guna memonitoring keamanan pangan. Setiap contoh sampel dimasukkan ke kantong plastik putih berlapis ganda, hal ini untuk mempertahankan berat dan menjaga kualitas sampel. Contoh sampel diambil sebanyak 12,5 gram lalu dimasukkan ke kantong plastik dengan mencantumkan kode sampel. Pengambilan contoh sampel tidak menggunakan bagian yang terdapat lemak, hal ini bertujuan untuk memberikan warna yang jelas dan spesifik saat dilakukannya pengujian. Ekstraksi sampel dilakukan dengan menambahkan 50 ml *aquadest* kedalam kantong sampel lalu dicampur hingga homogen, kemudian sampel tersebut dipanaskan menggunakan *waterbath* dengan suhu 95℃ selama 15 menit. Setelah sampel dingin, hasil ekstraksi disaring ke dalam *glassware*.

Sampel, kontrol positif dan negative sebanyak $100\mu l$ dimasukkan pada tiap *well* lalu dicampur hingga homogen kemudian diinkubasi selama 45 menit, setelah itu dilakukan penambahan anti spesies *biotinylated* sebanyak $50\mu l$ dan untuk bahan yang tidak terikat akan dibersihkan dengan *wash solution*. Langkah berikutya, ditambahkan avidin *peroxidase conjugate* sebanyak$50\mu l$ ke tiap-tiap *well*. Avidin *peroxidase conjugate* bekerja sebagai *enzyme* dan jika ditambahkan dengan

$100\mu l$ substrat *tetramethyl benzidine* maka *enzyme* akan tertaut dan menghasilkan warna biru. Langkah terakhir, tutup reaksi dengan menambahkan *stop solution* yang berfungsi sebagai penghenti asam atau *acid* sehingga nantinya warna akan berubah menjadi kuning bila sampel dinyatakan positif mengandung daging babi.

Pembacaan hasil dilakukan dengan menggunakan ELISA *reader,* sampel akan dinyatakan hasil positif mengandung daging babi apabila tingkat absorpsi melebihi atau sama dengan nilai *cut off,* sedangkan sampel dinyatakan negatif mengandung daging babi bila tingkat absorpsi kurang dari nilai *cut off*.

Positif EQN (>)	: NC*2.5
Negatif EQN (< =)	: NC*2.5

*NC adalah nilai absorban negatif kontrol.
Sumber: BBVet Wates.

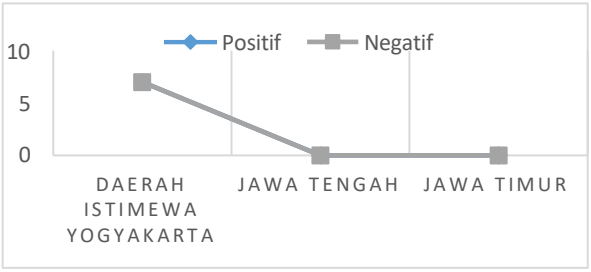


Gambar 1. Intrepretasi Visual Hasil Uji Spesies Metode ELISA. Sumber: BBVet Wates

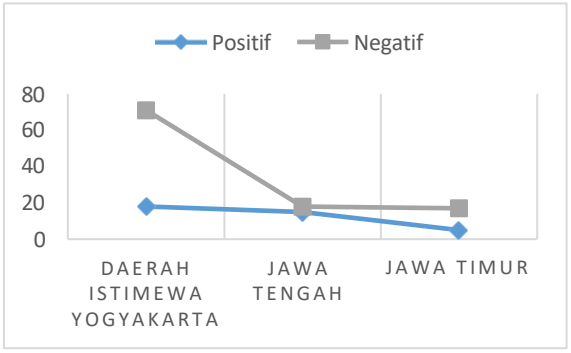
Salah satu cara pembacaan hasil dapat dilakukan dengan cara visual, seperti Gambar 1. A1 merupakan kontrol positif sedangkan A2 dan A3 kontrol negatif. Sampel dikatakan positif bila terlihat ada perubahan warna dari kuning menjadi hijau. Sampel dikatakan negatif bila tidak ada perubahan warna yang signifikan. Melakukan inkubasi *kit box* pada suhu ruang(18℃ – 22℃) sebelum digunakan mampu membuat kontrol negatif hampir tidak terlihat perubahan warnanya, hal ini dapat terjadi bila pembacaan hasil dilakukan secara visual sehingga kontrol positif akan menjadi kuning sedang. Kontrol negatif mengalami perubahan warna yang signifikan karena adanya kontaminasi larutan substrat atau percikan dari *conjugate peroxidase* serta factor dari pencucian dengan teknik yang tidaksesuai.

HASIL

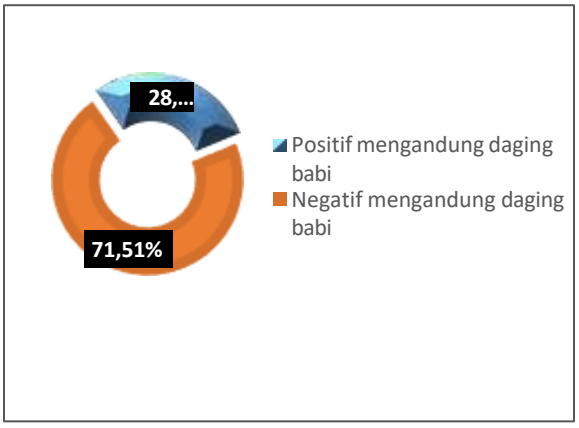
Kasus penambahan kandungan babi pada daging tahun 2019 terdapat di Daerah Istimewa Yogyakarta dengan total 14 sampel, 7 sampel diantaranya positif mengandung daging babi. Wilayah Jawa Tengah dan Jawa Timur tidak terdapat kasus penambahan kandungan babi pada daging atau *zero* sampel positif. Hasil dapat dilihat pada Gambar 2. Sedangkan kasus tertinggi penambahan dagingbabi pada produk olahan daging terjadi di Daerah Istimewa Yogyakarta dari 103 sampel yang diuji, 18 sampel diantaranya positif mengandung daging babi. Kasus terendah terjadi pada Provinsi Jawa Timur yakni dari 22 sampel yang diuji 5 diantaranya positif mengandung daging babi. Total sampel daging dan produk olahan yang diuji pada tahun 201 9adalah 158 sampel. Hasil dapat dilihat pada Gambar 3. Presentase Kasus penambahan kandungan babi pada daging dan produk olahan daging tahun 2019 sebesar 28,49%, sedangkan 71,51% dinyatakan negatif. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 2. Hasil Uji Spesies Metode ELISA pada Daging Tahun 2019. Sumber : BBVet wates



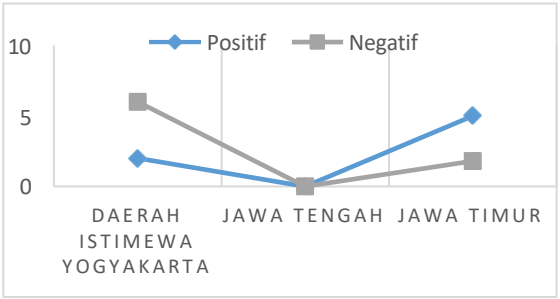
Gambar 3. Hasil Uji Spesies Metode ELISA Produk Olahan Tahun 2019. Sumber: BBVet Wates.



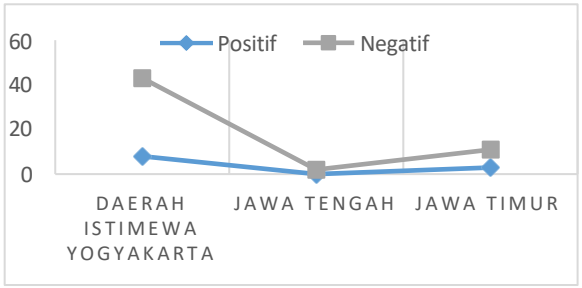
Gambar 4. Persentase Uji SpesiesMetode ELISA Tahun 2019. Sumber: BBVet Wates.

Kasus penambahan kandungan babi pada daging tahun 2020 terdapat Daerah Istimewa Yogyakarta mengalami penurunan dalam kasus penambahan daging babi pada daging cincang atau daging giling dari tahun sebelumnya yaitu dari 8 sampel yang diuji 2 diantaranya positif mengandung daging babi. Provinsi Jawa Timur merupakan kasus tertinggi dalam penambahan daging babi pada daging giling atau daging cincang yakni dari 7 sampel 5 diantaranya positif mengandung babi sedangkan Provinsi Jawa Tengah pada tahun 2020 bebas dari penambahan daging babi. Hasil dapat dilihat pada Gambar 5. Sedangkan kasus tertinggi penambahan daging babi pada produk olahan daging terjadi di Daerah Istimewa Yogyakarta yaitu dari 51 sampel yang diuji 8 diantaranya positif mengandung daging babi.

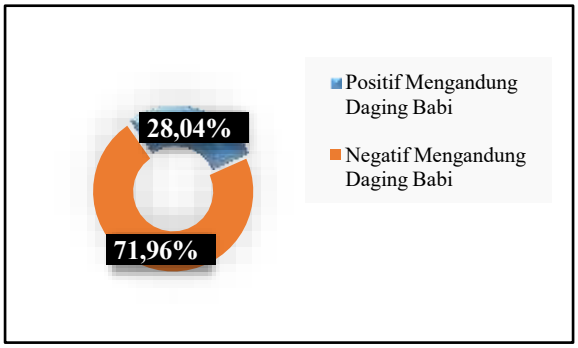
Pada Provinsi Jawa Timur, 8 sampel dinyatakan positif mengandung daging babi. Provinsi Jawa Tengah pada tahun 2020 dinyatakan bebas mengandung daging babi pada produk olahan daging. Total sampel daging dan produk olahan yang diuji pada tahun 2020 sebanyak 82 sampel, hal ini mengalami penurunan dari tahun sebelumnya dimana selisih sampel yang diuji hingga 81 sampel. Hasil dapat dilihat pada Gambar 6. Presentase kasus penambahan kandungan daging babi pada daging dan produk olahannya mengalami penurunan kasus dari tahun sebelumnya yaitu sebesar 0,45%. Kejadian penambahan daging babi pada produk olahan daging pada tahun 2020 didapatkan hasil 28,04% positif mengandung daging babi dan 71,96% dinyatakan negatif mengandung daging babi



Gambar 5. Hasil Uji Spesies Metode ELISA Sumber: BBVet Wates.



Gambar 6. Hasil Uji Spesies Metode ELISA Produk Olahan Tahun 2020. Sumber: BBVet Wates



Gambar 7. Persentase Uji Spesies Metode ELISA Tahun 2020

PEMBAHASAN

Banyak pedagang melakukan pemalsuan dengan mencampur oalahan daging sapi atau ayam dengan daging babi, produk olahan daging yang rentah untuk dicampur yaitu abon, *nugget* dan bakso. Selain produk olahan daging para pedagang juga mencampur sebagian atau seluruhnya daging cincang atau daging giling dengan daging babi. Tujuan dari pencampuran ini menghasilkan produk olahan daging dengan kualitas tinggi dengan menekan biaya produksi.

Biokits yang digunakan pada uji ini adalah *Cooked Species Identification* dari Neogen, ini dirancang untuk pencegahan pergantian daging konsumsi manusia dengan daging dari spesies yang tidak cocok (dilarang) atau lebih rendah nilai gizinya. Biokits ini menggunakan prinsip *Enzyme Immunoassay* didasarkan pada spesies protein spesifik yang tahan panas serta pengujiannya pun memiliki tingkat sensitivitas tinggi. Uji spesies menggunakan metode ELISA atau *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* merupakan metode imunologi dengan melibatkan kerja enzim guna mendeteksi antibody atau antigen dalam sampel (Rohima, 2018). *The Cooked Species Identification test kit* bekerja berdasarkan ikatan antara biotin dan avidin yang merupakanprinsipdari ELISA *type sandwich*. ELISA *Sandwich* memiliki kelemahan, hanya dapat diaplikasikan dalam mendeteksi Ag *multivalent* dan sulit untuk mencari dua jenis Ab yang dapat berinteraksi dengan Ag yang sama pada sisi antigenic yang berbeda. Kelebihan yang dimiliki antara lain, tingkat sensitivitas tinggi dan mengikat Ag target secara selektif.

Prinsip metode ELISA *type sandwich* protein pada ekstrak sampel yaitu diikat oleh antibodispesifik yang telah di *coating* pada *microwell*. Semakin banyak spesies spesifik protein maka semakin banyak pula ikatan yang terjadi pada *well*, material yang tidak berikatan akan hilang saat pencucian. Anti spesies *biotinylate* memiliki kegunaan untuk mendeteksi Ab yang sudah terbiotinilasi (proses biotin dengan protein serta asam nukleat melekat secara kovalen). Penambahan avidin *peroxidase conjugate* dapat mengubah berbagai substrat sehingga bias dideteksi. *tetramethyl benzidine* (TMB) substrat merupakan substrat bersifat kromagenik yang paling sensitif serta mampu memghasilkan perubahan warna dengan cepat, ketika *tetramethyl benzidine* substrat bereaksi dengan avidin *peroxidase conjugate* maka dapat menghasilkan warna biru, warna ini muncul akibat oksidasi radikal O_2.Warna biru tersebut akan berubah menjadi kuning dengan tingkat absorpsi maksimal 450nm karena penambahan *phosphoric acid stop solution*. Perubahan warna hijau ini terjadi akibat konversi parsial antara zat warna kuning dan zat warna biru. Pembersihan menggunakan *wash solution* berfungsi untuk memastikan hanya peristiwa pengikatan tertentu dengan avinitas tinggi yang dipertahankan sehingga menyebabkan *signal* pada reaksi akhir.

Pada dasarnya untuk kehidupan manusia, mengonsumsi pangan asal hewan merupakan hal yang penting karena mampu membantu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan sel-sel otak. Daging mengandung banyak protein yang didalamnya terdapat asam amino yang mudah dicerna. Meskipun protein hewani sangat penting bagi kehidupan manusia namun juga mampu menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan jika tidak terjamin keamanannya (Bahri et al., 2006). Keamanan pangan

termasuk salah satu tolak ukur dalam menilai suatu kelayakan pada produk pangan yang beredar di lingkungan masyarakat, produk pangan yang paling rentan perihal keamanannya adalah produk olahan daging. Makanan yang dikonsumsi manusia harus mengandung unsur ASUH (Aman, Sehat, Utuh dan Halal). Menurut (Paula, 2008) dalam penelitiannya dari 21.000 sampel daging babi mentah dan produknya terdeteksi bakteri *Salmonella sp.* sebesar 2,1%. *Salmonella sp.* Merupakan bakteri yang bersifat pathogen bagi tubuh manusia dan dapat menyebabkan *foodborne disease* dengan cara menyerang usus manusia (Syamsiar et al., 2020). Menurut (Anditiarina et al., 2020) *foodborne disease* bias terjadi karena bakteri, jamur, parasit dan virus ikut masuk bersamaan dengan seseorang yang memakan makanan terkontaminasi. Kontaminasi ini terjadi karena penjamahan tangan manusia pada saat proses pembuatan dan tidak bersih atau kurangnya *hygiene* pada dapur tempat pembuatan makanan.

KESIMPULAN

Pengujian menggunakan biokits *Cooked Species Identification* metode ELISA *type Sandwich* memiliki keakuratan dan sensitivitas yang tinggi dalam mendeteksi adanya kandungan daging babi pada daging curah dan produk olahan daging. Jumlah kasus penambahan daging babi pada daging curah dan produk olahan daging tahun 2020 mengalami penurunan sebesar 0,45% disbanding tahun 2019.

REFERENSI

Anditiarina, D., Wahyuningsih, S., Afian, F., & Mulyawan, W. (2020). Pencegahan Foodborne Disease Selama Penerbangan Dengan Penerapan Prinsip Keamanan Pangan (Food Safety) Oleh Awak Kabin Dalam Pesawat. *Jurnal Kedokteran*, *Vol. 6(1)*(1), Pp 68.

Cahyaningsari, D., Latif, H., & Sudarnika, E. (2019). Identifikasi Penambahan Daging Babi pada Pangan Berbahan Dasar Daging Sapi Menggunakan ELISA dan qPCR. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, *Vol 7(2)*(2), Pp 17-25.

Chen, S. P., Ellis, T. M., Lee, M. C., Cheng, I. C., Yang, P. C., Lin, Y. L., Jong, M. H., Robertson, I. D., & Edwards, J. R. (2007). Comparison of sensitivity and specificity in three commercial foot-and-mouth disease virus non-structural protein ELISA kits with swine sera in Taiwan. *Veterinary Microbiology*, *Vol. 119(2*(2–4), Pp 164-172.

Lequin, R. M. (2005). Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clinical Chemistry*, *Vol. 51(12*(12), Pp 2415-2418.

LPPOM MUI. (2019). *Pendaftaran Sertifikat Halal*. LPPOM MUI. https://www.halalmui.org/mui14/main/page/faq-sertifikasi-halal

Nafiasari, N. A., & Handayani, A. M. (2018). Penganalisis Kesegaran Daging Sapi Dan Daging Babi Mentah Berdasarkan Klasifikasi Warna Dan Kelembaban. *Jurnal Teknosains*, *Vol 8(1)*(1), Pp 66.

Paula, D. (2008). A Review of the Pork Food Chain. In *safefood*. https://www.safefood.net/research-reports/consumer-review-pork-supply-chain

Rohima, I. E. (2018). Identifikasi Protein Hewani Pada Produk Bumbu Instan Impor dengan Metode ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). *Pasundan Food Technology Journal*, *Vol. 5(3)*(3), Pp 167.

Rompis, J. E. ., & Komansilan, S. (2014). Efektivitas Cara Pemasakan Terhadap Karakteristik Fisik Masakan Daging Babi Hutan. *Zootec Journal*, *Vol. 34(2)*(2), Pp 65.

Rusdiana, S., & Maesya, A. (2017). Pertumbuhan Ekonomi Dan Kebutuhan Pangan Di Indonesia. *Agriekonomika*, *Vol. 6(1)*(1), Pp 12-25.

Sjamsul Bahri, Y. S. dan I. B. (2006). Beberapa Faktor yang Mempengaruhi Keamanan Pangan Asal Ternak di Indonesia. *Wartazoa*, *Vol. 16(1)*(1), Pp 1-13.

Syamsiar, B. I., Santoso, K. P., Yudaniayati, I. S., & Diyantoro, D. (2020). Detection of

Salmonella sp. on Layer Chicken Eggs Sold at The Vegetable Market of Magetan Regency. *Journal of Applied Veterinary Science And Technology*, *Vol. 1(2)*(2), Pp 34.

Teknik, balai besar bahan barang. (2015). *Sertifikasi Personil PROFIL B4T-PC*. https://www.pubinfo.id/informasi-1769-sertifikasi--b4t-»-personil.html