



DETEKSI SUPLEMEN BEBAS KANDUNGAN DNA BABI YANG TERSEDIA DI RUMAH SAKIT KRAKATAU MEDIKA CILEGON DENGAN METODE REAL TIME PCR

Alfi Hardian¹, Firman Rezaldi², Hadi Susilo^{3*}, Sumarlin US⁴

^{1,2}Program Studi Farmasi dan Biologi Fakultas Sains Farmasi Kesehatan Universitas Math'laul Anwar Banten

^{3,4}Rumah Sakit Alinda Husada Panimbang Banten

*)Koresponden Penulis : hadisusilo1973@gmail.com

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara yang mayoritas penduduknya adalah muslim, sehingga kehalalan suatu produk merupakan hal yang sangat penting. Suplemen merupakan salah satu produk yang banyak beredar di Indonesia sehingga harus memberikan jaminan halal dari produk tersebut yang dibuktikan dengan label halal. Dalam peredarannya, masih diketemukan suplemen tanpa label halal, dan diperlukan autentifikasi untuk membuktikan kehalalan produk tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan kehalalan produk suplemen tanpa label halal dengan mengambil lima sampel secara acak dari instalasi Farmasi Rumah Sakit Krakatau Medika yang dianalisis dengan metode Real Time PCR. DNA kelima sampel diisolasi dengan menggunakan kit komersial dan DNA hasil isolasi diamplifikasikan dengan Real Time PCR sebanyak 30 siklus. Dari hasil analisis Real Time PCR dihasilkan bahwa tidak diketemukan kontaminan DNA babi pada kelima sampel suplemen yang dianalisis.

Kata kunci: *Suplemen, Realtime PCR, DNA Babi, Halal*

ABSTRACT

Indonesia is a country where the majority of the population is seasonal, so the halalness of a product is very important. Supplements are one of the products that are widely circulated in Indonesia, so they must provide halal guarantees for these products as evidenced by the existence of a halal label. In its circulation, supplements are still found without a halal label, so an authentication is needed to prove the halalness of the product. This study was conducted to prove the halalness of supplement products without halal labels by taking five samples randomly from the Pharmacy Installation of Krakatau Medika Hospital which were analyzed by the Real Time PCR method. The DNA of the five supplement samples was isolated using a Commercial Kit and the isolated DNA was amplified by Real Time PCR for 30 cycles. From the results of the Real Time PCR analysis, it was found that no pork DNA contaminants were found in the five supplement samples analyzed

Keywords: *Supplement, Realtime PCR, Pig DNA, Halal*

doi: 10.33474/e-jbst.v8i1.468

Diterima tanggal 17 Januari 2022– Diterbitkan Tanggal 9 Agustus 2022

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



Pendahuluan

Kehalalan suatu produk menjadi kebutuhan wajib bagi setiap konsumen, terutama konsumen muslim. Baik itu produk berupa makanan, obat-obatan maupun barang-barang konsumsi lainnya. Seiring besarnya kuantitas konsumen muslim di Indonesia yang jumlahnya mencapai 204,8 juta jiwa penduduk Indonesia, dengan sendirinya pasar Indonesia menjadi pasar konsumen muslim yang sangat besar. Sistem perdagangan internasional sudah lama mengenal ketentuan halal dalam CODEX yang didukung oleh organisasi internasional berpengaruh antara lain WHO, FAO, dan WTO. Bahkan gaya hidup halal saat ini sedang melanda dunia. Tidak hanya menggejala pada negara-negara yang mayoritas penduduknya muslim, tetapi juga negara berpenduduk mayoritas non muslim [1].

Barang maupun jasa yang berhubungan dengan produk makanan, minuman, obat, kosmetik, produk kimiawi, produk biologi, produk rekayasa genetik, serta barang gunaan yang dipakai, digunakan, atau dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya muslim, yang masuk, beredar, dan diperdagangkan di Indonesia haruslah berlabel Halal. Hal ini dijamin oleh Undang-Undang RI No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal yang tertuang dalam pasal 4. Peredaran makanan dan minuman di pasaran seringkali terlepas dari pengawasan pemerintah. Banyak makanan dan minuman yang beredar banyak dijumpai tanpa label halal, baik makanan yang diimpor berasal dari luar negeri (ML: Makanan Luar dari BPOM) ataupun dari produsen dalam negeri [2].

Obat dan suplemen merupakan produk yang banyak dikonsumsi masyarakat. Namun, mengingat produk tersebut menggunakan bahan baku yang sebagian besar masih impor, maka perlu dicermati kehalalannya. Suplemen kesehatan telah menjadi tren gaya hidup. Dengan iklan yang sangat massif dan diklaim mampu meningkatkan stamina dan menjaga kesehatan tubuh, suplemen kesehatan kini menjadi konsumsi harian bagi siapa saja yang menghendaki kesehatan dan kebugaran. Harus dicermati, tak semua suplemen kesehatan telah bersertifikat halal [3].

Pada bulan Januari 2018 ditemukannya kasus obat-obatan yang mengandung DNA babi yaitu Viostin DS dan Enzyplex oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) yang dapat memicu berbagai kontroversi dan keresahan di kalangan masyarakat. Viostin DS yang diproduksi oleh PT Pharos Indonesia sudah beredar di pasaran cukup lama, yang artinya lembaga yang berwenang mengurus masalah obat-obatan dan makanan (BPOM) telah memberikan surat izin edar. Viostin DS mendapat nomor izin edar oleh BPOM dengan Nomor Edar/NIE POM SD.051523771, Bets BN C6K994H setelah mengajukan sampel ke Laboratorium BPOM dan telah lolos uji oleh Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-obatan, Makanan dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia (LPPOM MUI) [4].

Rumah Sakit Krakatau Media menyediakan berbagai suplemen yang memiliki sertifikat halal dan ada juga yang tidak bersertifikat halal. Untuk itu perlunya otentifikasi suplemen yang belum tersertifikasi halal demi menjamin keamanan dan kehalalan produk tersebut. Syarat utama pangan dan produk farmasi yang beredar, khususnya bagi mayoritas masyarakat Islam di Indonesia, supaya produk tersebut dapat dikonsumsi adalah pangan yang halal yang diatur dalam PP No. 69/1999. Kehalalan produk pangan dan farmasi harus terjamin mulai dari bahan baku, bahan tambahan, proses, hingga produk akhir dan beredar kepada konsumen. Oleh karena itu, untuk mengetahui kehalalan suatu produk farmasi dan pangan dapat dilakukan dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) [5]. Aplikasi dengan teknik PCR dapat mendeteksi kehalalan suatu produk daging segar maupun produk olahan dengan tingkat akurasi yang tinggi [6].

Pengembangan metode dari PCR konvensional yang akurat adalah *Real Time PCR*. *Real-Time PCR* juga dikenal sebagai *quantitative real time polymerase chain reaction (Q-PCR/qPCR)* atau *kinetic polymerase chain reaction*. *Real-Time PCR* adalah suatu metoda analisis yang dikembangkan dari reaksi PCR. RT-PCR adalah suatu teknik pengerjaan PCR di laboratorium untuk mengamplifikasi sekaligus mengkuantifikasi jumlah target molekul DNA hasil amplifikasi tersebut, yang bersifat sensitif, spesifik, dan reproduksibel untuk asam nukleat [7].

Pada PCR konvensional, pengamatan hasil amplifikasi DNA dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarosa pada end-point amplifikasi DNA tersebut. Sedangkan analisis menggunakan RealTime PCR memungkinkan untuk dilakukan pengamatan pada saat reaksi berlangsung. Keberadaan



DNA hasil amplifikasi dapat diamati pada grafik yang muncul sebagai hasil akumulasi fluoresensi dari probe (penanda). Pada Real-Time PCR pengamatan hasil tidak lagi membutuhkan tahap elektroforesis[8].

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan jGelatin Babi [Sigma-Aldrich], sorbitol, pewarna tartrazine, 5 sampel suplemen dengan produsen yang berbeda, reagen *sybergreen*.

Alat yang digunakan antara lain adalah sebagai berikut: Microtube, spin coloumn collection tube, Blender atau Stomacher, timbangan, gunting, centrifuge, pipet tetes, mikropipet dan mesin Realtime PCR.

1. Pengumpulan Sampel

Sampel dikumpulkan dari Rumah Sakit Krakatau Medika. Kemudian lima produk suplemen yang berasal dari produsen yang berbeda tersebut dipilih suplemen yang berbentuk padat. Masing-masing sampel diberi identitas seperti yang terlihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Identitas Sampel yang berasal dari Produsen yang Berbeda.

No.	Sampel	Identitas
1	OA Forte	A
2	Osfit	B
3	Ossovit	C
4	Seloxoy AA	D
5	Rillus	E

2. Identifikasi Sampel

Sebanyak 200 mg sampel suplemen ditimbang dan ditambahkan air hangat sebanyak 200 μ l dan dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifugasi. Kemudian ke dalam tube tersebut ditambahkan 250 μ l Tissue Lysis Buffer dan 50 μ l larutan Proteinase K. Masing-masing campuran tersebut divortex selama 1 menit dan diinkubasi pada suhu 57⁰C selama 21 jam dalam waterbath. Selanjutnya khusus pada larutan sampel, dilakukan sentrifugasi 10.000 rpm selama 30 menit karena terbentuk endapan putih. Selanjutnya larutan preparasi tersebut siap untuk proses ekstraksi dan isolasi DNA [9].

3. Isolasi DNA

Larutan preparasi daging, gelatin, kapsul simulasi, dan kapsul sampel yang didapatkan kemudian ditambahkan sebanyak 200 μ l untuk larutan preparasi daging dan sebanyak 230 μ l larutan Binding Buffer. Campuran tersebut divortex segera selama 20 detik dan diinkubasi pada suhu 700C selama 10 menit dalam waterbath. Kemudian ke dalam tube tersebut ditambahkan 150 μ l isopropanol dan dihomogenkan dengan vortex selama 20 detik. Campuran dipipet dan dimasukkan ke dalam Filter Tube yang telah dipasangkan *Collecting Tube*. Kemudian tube ditutup dan disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. Filter Tube dilepaskan dari Collection Tube dan cairan yang melewati filter dibuang bersama dengan *Collection Tube*. Filter Tube dipasangkan kembali dengan Collection Tube yang baru. Kemudian 500 μ l Inhibitor Removal Buffer ditambahkan melalui penyangga atas Filter Tube dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit.

Filter Tube dipasangkan kembali dengan *Collection Tube* yang baru. Kemudian 500 μ l Washing Buffer ditambahkan dan disentrifugasi dengan kecepatan 8000rpm selama 1 menit. Pencucian dengan Washing Buffer dilakukan 2 kali. Selanjutnya, *Filter Tube* dilepaskan dari *Collection Tube* dan cairan yang melewati filter dibuang. *Filter Tube* dipasangkan kembali dengan Collection Tube dan disentrifugasi kembali selama 10 detik dengan kecepatan 12000 rpm agar semua Washing Buffer terbuang dengan sempurna.



Setelah disentrifugasi, *Collection Tube* dipisahkan dengan *Filter Tube* dan dibuang. Kemudian *Filter Tube* dipasangkan dengan tabung mikrosentrifugasi steril. Ke dalam filter yang berisi DNA daging sapi, daging babi, sampel, masing-masing ditambahkan 150 μ l Elution Buffer hangat (70°C). *Filter Tube* dan tabung mikrosentrifugasi yang telah ditambahkan Elution Buffer disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. *Filter Tube* dilepaskan dari tabung sentrifugasi yang telah berisi isolat DNA. Tabung mikrosentrifugasi tersebut disimpan pada suhu 4°C untuk dianalisis selanjutnya[10].

4. Amplifikasi DNA Menggunakan *Real-Time PCR*

Larutan primer dan probe disiapkan dengan konsentrasi 10 μ M dari larutan induk dengan konsentrasi 100 μ M dan disimpan dalam sebuah tube. Selanjutnya dalam tube berukuran 1,5 ml, sebanyak 15 μ l PCR Mix disiapkan dengan cara mencampurkan larutan yang terdiri atas: 1,4 μ l aquabidest; 1,6 μ l primer forward 10 μ M; 1,6 μ l primer reverse 10 μ M; 0,4 μ l probe 10 μ M; dan 10 μ l LightCycler® 480 Probe Master (enzim Taq DNA Polymerase, dNTP mix, dapar, dan 6.4 mM MgCl₂). Campuran dihomogenkan menggunakan micropipette dengan cara up and down. Kemudian, sebanyak 5 μ l isolat DNA yang akan diuji dipipet ke dalam multiwell plate pada well yang diinginkan dan ditambahkan sebanyak 15 μ l PCR Mix yang telah dibuat. Multiwell plate yang berisi campuran DNA yang akan diuji dan PCR Mix tersebut ditutup dengan sealing foil yang akan mengeliminasi penguapan pada suhu tinggi, kemudian diletakkan pada alat Real-Time PCR. Semua proses pencampuran sampai pemipetan ke dalam *multiwell plate* dilakukan pada tempat yang gelap.

Tahap tersebut dilakukan untuk masing-masing DNA daging babi, , gelatin babi dan sampel yang akan diamplifikasi.

5. Analisa Data

Analisis kandungan babi dan kandungan sapi pada suplemen dilakukan dengan melihat hasil amplifikasi DNA pada Real-Time PCR. Jika DNA pada sampel tertentu dengan primer babi dapat teramplifikasi, maka dapat disimpulkan bahwa gelatin pada suplemen tersebut berasal dari babi. Begitu juga sebaliknya, jika DNA pada sampel tertentu dengan primer sapi dapat teramplifikasi, maka dapat disimpulkan bahwa gelatin pada suplemen tersebut berasal dari sapi.

Kurva amplifikasi dihasilkan dengan memplotkan jumlah siklus secara horizontal dan nilai fluoresensi secara vertikal. Kurva ini dihasilkan secara otomatis oleh Real-Time PCR. Dari kurva tersebut, kemudian dilihat nilai Cp (Crossing Point) dari setiap isolat DNA yang diuji. Adanya nilai Cp menunjukkan bahwa isolat DNA tersebut dapat teramplifikasi. Cp adalah fraksi jumlah siklus dimana tingkat amplifikasi yang tercermin dari adanya fluoresensi mencapai threshold (ambang). Tingkat ambang fluoresensi diatur pada posisi yang sama untuk semua reaksi yang sedang diamati[12].

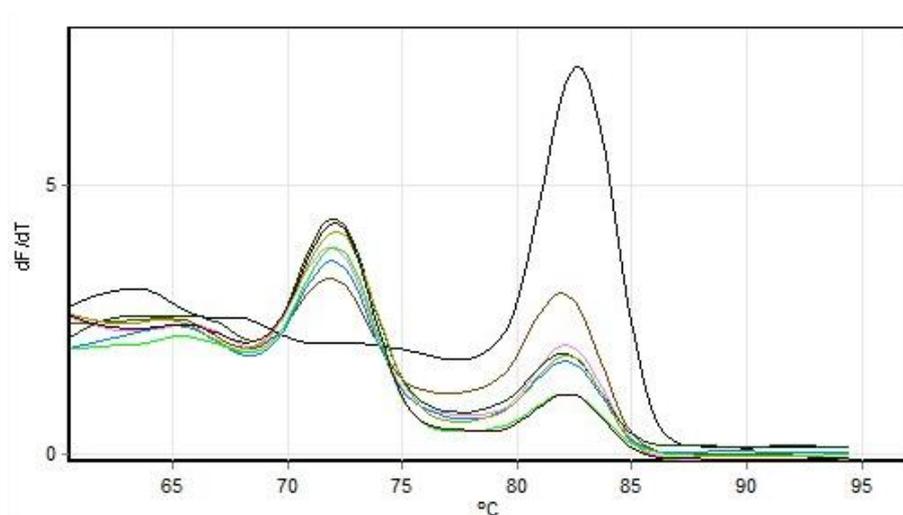
Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

DNA hasil amplifikasi (perbanyak) pada suplemen dengan metode Realtime PCR dapat dilihat pada tabel 2. Dan juga terlihat pada Gambar 1 yang menunjukkan kurva hasil amplifikasi DNA pada suplemen dengan hasil negatif.

Tabel 2. Hasil sampel suplemen menggunakan metode Realtime PCR

No.	Sampel	Identitas	Nilai CT	Hasil
1	OA Forte	A	27,8	Negatif
2	Osfit	B	29,67	Negatif
3	Ossovit	C	28,92	Negatif
4	Seloxoy AA	D	28,70	Negatif
5	Rillus	E	28,92	Negatif
6	Kontrol Positif		16,42	
7	Kontrol Negatif		28,89	



Gambar 1. Kurva dengan hasil negatif.

Pada tabel menunjukkan bahwa nilai CT pada semua sampel Suplemen yang ada diambil dari Instalasi Farmasi RS Krakatau Medika mendekati nilai CT kontrol negatif (28,89) dan sangat jauh dengan nilai kontrol positif (16,42). Hal ini membuktikan bahwa tidak ditemukan kontaminan DNA babi pada semua sampel suplemen yang dianalisa.

Hasil negatif ini juga diperlihatkan pada gambar 1. Dalam gambar tersebut dapat dilihat kurva sampel yang terbentuk pada suhu melting babi (80-85°C) tidak satupun yang memiliki kemiripan dengan kurva kontrol positif. Ada satu sampel (OA Forte) menunjukkan kenaikan puncak kurva yang signifikan, tetapi masih jauh lebih rendah dari kontrol puncak kurva kontrol positif, bahkan cenderung mendekati nilai puncak kontrol negatif.

Sampel suplemen yang tidak mengandung DNA babi menunjukkan kehalalan suatu produk, salah satu metode bioteknologi yang dapat terungkap secara genotype dalam melacak suatu kandungan DNA dari berbagai produk makanan maupun obat-obatan adalah teknik Biologi Molekuler berupa Real time PCR. Kelebihan dari metode ini diantaranya adalah dapat digunakan untuk melacak kandungan DNA babi pada suatu produk makanan maupun obat-obatan yang belum layak memiliki kategori halal. Hal tersebut sejalan dengan dengan penelitian yang dilakukan oleh Widayat DKK; 2009 yang menyatakan bahwa terdapat persentase cemaran DNA babi sebesar 3,15-124,83 % pada produk makanan yang dideteksi dengan metode Real time PCR [12].



RT-PCR, memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dibandingkan dengan metode lainnya. Pengujian menggunakan RT-PCR telah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya mengidentifikasi pemalsuan bakso dengan daging babi dengan metode RT-PCR [13]. mendeteksi dan menghitung jumlah kandungan babi dan gelatin sapi pada campuran gelatin menggunakan metode RT-PCR [14] Mengidentifikasi DNA babi dalam gelatin yang mengandung makanan olahan [15]. Mendeteksi kandungan babi dan alkohol dalam eksipien farmasi dan produk obat [16].

Kesimpulan

Sampel uji berupa suplemen yang telah dideteksi melalui Realtime PCR sebanyak 5 sampel tidak mengandung DNA babi sama sekali. Sampel uji berupa suplemen yang telah dideteksi melalui Realtime PCR sebanyak 5 sampel merupakan suplemen yang layak dikonsumsi atau dipertahankan di Rumah Sakit Krakatau Medika Cilegon.

Ucapan Terima Kasih

Kepala dan Staff Laboratorium Balai Pelayanan dan Pengujian Venteriner (BPPV) Serang dan Kepala dan Staff Pusat Kajian Produk Halal Universitas Mathla'ul Anwar Banten.

Daftar Pustaka

- [1]Charity, M.L. 2017.JaminanProduk Halal Di Indonesia.Jurnal Legitasi Indonesia. 14(1): 99-108.
- [2]Rachmawati, Saiku Rokhim, MisbakhulMunir & Eva Agustina.2018.Deteksi Kontaminan Fragmen Dna PengkodeCyt B Babi Pada Sampel Softgellcandy Tak Berlabel Halal.Indonesia Journal of Halal.1(1): 1-10.
- [3]LPPOM MUI. 2020. Mencermati Kehalalan Suplemen dan Obat.<http://www.halalmui.org/>. Diakses pada tanggal 11 Februari 2020.
- [4]Wulansari, H. 2018. Perlindungan Konsumen Terhadap Ketiadaan Label Halal Pada Produk Farmasi Menurut Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014 Tentang Jaminan Produk Halal.Jurnal Hukum Adigama. 1(1): 1-24.
- [5]Erwanto, Y., Sugiyono, Rohman, A., Abidin, M, Z., & Ariyani, D. 2012. Identifikasi Daging Babi menggunakan Metode PCR-RFLP Gen Cytochrome b dan PCR Primer Spesifik Gen Amelogenin. *Agritech* 32 (4): 370-377.
- [6]Wardani, A, K., & Sari, E, P, K. 2015. Deteksi Molekuler Cemar Daging Babi Pada Bakso Sapi di Pasar Tradisional Kota Malang menggunakan PCR (Polymerase Chain Reaction). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3 (4): 1294- 1301.
- [7]Arya .2005. *Basic Principles of Real-Time Quantitative PCR*. London: Food Drug Ltd. Vol 5(2) : 209–219.
- [8]Pranawaty, Rina Novita, Ibnu Dwi Buwono, & Evi Liviawaty. 2012. Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR) konvensional dan Real-Time PCR untuk Deteksi White Spot Syndrome Virus pada Kepiting. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* Vol. 3 (4) : 61 – 74.



- [9] Sambrook e. 2009. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual Edisi 3*. Cold Spring Harbour Lab. Press. New York.
- [10] Kulkarni, Shashikant & John Pfeifer. 2015. *Clinical Genomics: A Guide to Clinical Next Generation Sequencing*. Academic Press. USA.
- [11] Vaerman, J.L., P. Saussoy, I. Ingargiola. 2004. *Evaluation of Real-Time PCR Data*. Cliniques Saint Luc, Bruxelles. Belgium.
- [12] Widayat, Tri Winarni Agustini, Meiny Suzery, Ahmad Ni'matullah Al-Baarri Sylvania Rahmi Putri & Kurdianto. 2019. Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sebagai Alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non-Pangan. *Indonesia of Halal*. 2(1): 26-33.
- [13] Balia, R.L., Suryaningsih, L., dan Putranto, W.S., 2014, Pengujian pemalsuan bakso dengan daging babi melalui pendekatan ensimatis dan molekuler pada UKM di kawasan pendidikan Jatinangor Kabupaten Sumedang. *Dharmakarya : Jurnal Aplikasi Ipteks untuk Masyarakat*, Vol. 3 No. 2, pp. 70-72.
- [14] Cai, H., Gung, X., Scnalan, M.S., Ramatlapeng, D.H., dan Lively C.R., 2012) Real Time-PCR Assays for Detection and Quantitation of Porcine and Bovine DNA in Gelatin Mixtures in Gelatin Capsule. *Journal of food composition an analysis*, 25: 83-87.
- [15] Amqizal, H.I.A., Al-Kahtani, H.A., Ismail E.A., Hayat, K., dan Jaswir, I., 2017, Identification and verification of porcine DNA in comercial gelatin and gelatin containing processed foods, Elsevier : *Food control* Vol 78 : 297- 303.
- [16] Husni, P., Putriana, N.A., Wicaksono, I.A., (2017), Metode Deteksi Kandungan Babi dan Alkohol dalam Eksiipien Farmasi dan Produk Obat untuk Menjamin Kehalalan Sediaan Obat, *Majalah Farmasetika*, Vol. 2 No. 1.