

IDENTIFIKASI PROTEIN HEWANI PADA PRODUK BUMBU INSTAN DENGAN METODE ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

Ira Endah Rohima
Ina Siti Nurminabari

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan, Jl. Dr.Setiabudi No 93, Bandung, 40153,
Indonesia

E-mail : iraendahrohima@unpas.ac.id

Abstak

Produk pangan yang beredar saat ini tidak memberikan informasi yang cukup mengenai komposisi pada produknya. Metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) merupakan salah satu cara untuk mengidentifikasi Protein Hewani. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan protein lebih spesifik dari beberapa sumber protein seperti kandungan sapi, kambing, ayam, dan babi. Penelitian ini dilakukan untuk pemantauan produk yang beredar saat ini yang mengindikasikan tidak sesuai dengan label produk. Sampel yang dianalisis untuk diidentifikasi berjumlah 6 produk bumbu instan impor. Pengujian dengan menggunakan metode ELISA dapat diperoleh data berupa kualitas dan semi kuantitas. Hasil pengujian menunjukkan bahwa dihasilkan sampel A positif mengandung sapi tetapi negative dari kandungan babi, unggas, dan kambing. Pada sampel B, C, D, E dan F diperoleh hasil yang negatif dari kandungan sapi, babi, unggas, dan kambing.

Abstract

The food products was current in market do not clearly provide enough information about the composition of it. The ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) method is one way to identify the animal protein. This study aims was determined the more specific protein content in cow, goat, chicken, and pork. This research was conducted for monitoring of currently circulating products in the market that indicate not suitable with product label. The samples were analyzed amounted to 6 import instant spices paste products. Testing by using ELISA method was obtained data of quality and semi quantity. The results showed that A positive samples were produce containing cows but negative from the contents of pigs, poultry, and goats; in samples B, C, D, E, dan F obtained negative results from the content of cows, pigs, poultry, and goats.

Keyword : ELISA, identify, product, protein

1. Pendahuluan

Pemantauan produk yang beredar di pasar oleh pihak terkait (produsen dan pemerintah) tidak memberikan informasi yang cukup terutama pada produk impor maupun produk dari industri rumahan yang terindikasi tidak sesuai dengan label yang tercantum. Hal ini akan memberikan rasa ketidakpuasan konsumen untuk membeli produk tersebut berkaitan dengan keamanan produk yang beredar di masyarakat.

Analisis untuk mengetahui komposisi suatu produk sangat beragam. Salah satu penentuan komposisi pangan hewani dapat menggunakan teknik Elisa. Teknik Elisa dapat digunakan untuk menguji kandungan sapi, kambing, ayam, dan babi pada suatu bahan secara kualitatif dan kuantitatif. ELISA (*enzyme*

linked immunosorbent assay) melibatkan enzim (suatu protein yang mengkatalisis reaksi biokimia).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan protein lebih spesifik dari beberapa sumber protein seperti kandungan sapi, kambing, ayam, dan babi. Penelitian ini dilakukan untuk pemantauan produk yang beredar saat ini yang mengindikasikan tidak sesuai dengan label produk.

2. Metode Penelitian

2.1. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Kit ELISA, polystyren 96 *well microtiter plate* (*Microplate*), *Micropipet* (100-200 μ L) dan tips, *microplate shaker*, *microtube* (1-1,5 mL), *microplate washer*, *baker glass*, *ELISA reader*, dan kertas *whatman* no.4.

Bahan yang digunakan adalah sampel produk olahan yang diduga mengandung daging (babi, sapi, ayam) berjumlah 6 sampel bumbu instan import. Pengambilan sampel diperoleh dari beberapa supermarket di Bandung, *micro assay plate*, *control negative*, *control positif*, cairan pencuci (PBS-tween 20 + *preservative proclin 300* 0,005%), larutan konjugat (*Avidin Peroxidase Conjugate*), Substrat : *tetramethyle-benizidine* dengan *citrate-phosphite-buffer* (TMB Substrate), *coating buffer*, PBS-T casein 1%, *stopping solution*, dan aquadest.

2.2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Bahan Pangan, Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan dimulai pada bulan Januari 2017 sampai dengan Desember 2017.

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dan semi kuantitatif berdasarkan studi kasus di masyarakat mengenai identifikasi produk hewani yang perlu untuk diidentifikasi pada produk bumbu instan impor. Prosedur pengujian yang dilakukan dengan menggunakan prosedur Biochrom EZ Read 400, diantaranya :

A. Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan persiapan bahan sebelum dilakukan pengujian sebagai berikut :

1. Timbang sampel sebanyak 25 gram kemudian tambahkan 100 ml aquades atau larutan garam 0,9% homogenisasi sampel selama 15 menit dan didiamkan selama 10-15 menit.
2. Aduk kembali sampel selama 15 menit dan didiamkan lagi selama 10-15 menit sampai terbentuk fasa cair dan endapan.

3. Saring fasa cair dari sampel menggunakan kertas *whatman* no.4 (untuk mendapatkan ekstrak yang lebih baik dapat dilakukan proses sentrifugasi sebelum disaring) sampai didapatkan ekstrak sampel.

B. Pengujian sampel

Setelah dilakukan preparasi pada sampel, maka dilakukan pengujian sampel sebagai berikut :

1. Pipet 100 μ L ekstrak sampel atau control positif pada *wells* uji
2. Inkubasi pada suhu ruang selama 45 menit
3. Cuci *wells* uji dengan cairan pencuci sebanyak 3 kali
4. Tambahkan 50 μ L species biotin pada *wells* uji
5. Inkubasi pada suhu ruang selama 45 menit
6. Cuci *wells* uji dengan cairan pencuci sebanyak 3 kali.
7. Tambahkan 50 μ L larutan konjugat (*Avidin Peroxidase Conjugate*) ke dalam *wells* uji
8. Inkubasi pada suhu ruang selama 15 menit
9. Cuci *wells* uji dengan cairan pencuci sebanyak 5 kali
10. Tambahkan 100 μ L TMB substrat pada *wells* uji
11. Inkubasi pada suhu ruang selama 45 menit tanpa pengocokan
12. Tambahkan 50 μ L stop solution pada *wells* uji
13. Campur selama 10 detik untuk menghentikan perubahan warna dan meratakan stop solution. Perubahan warna terjadi dari biru ke kuning
14. Ukur absorbansinya menggunakan ELISA reader pada λ 450 nm. Kontrol negative menggunakan aquades.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Penelitian

Tabel 1. Analisis protein Bumbu Instan Import dengan metode ELISA

No.	Kode Sampel	Nilai serapan pada analisis protein				Kategori Hasil			
		sapi	babi	Ungags	Kambing	Sapi	babi	unggas	kambing
1	A	0,137	0,064	0,158	0,131	+	-	-	-
2	B	0,062	0,069	0,105	0,107	-	-	-	-
3	C	0,056	0,092	0,113	0,133	-	-	-	-
4	D	0,062	0,064	0,094	0,086	-	-	-	-
5	E	0,064	0,057	0,082	0,087	-	-	-	-
6	F	0,064	0,052	0,107	0,073	-	-	-	-
7	Kontrol negative	0,053	0,050	0,071	0,076				
8	Kontrol positif	0,129	0,127	0,175	0,258				
9	Cut-off	0,132	0,125	0,178	0,190				

Keterangan: A= BS, B= FRM, C= TYP, D= SMPT, E= PSIS, dan F= B

3.2. Pembahasan

Pangan hewani (daging, ikan, unggas, telur, dan susu) termasuk makanan yang mudah rusak jika tidak ditangani dengan cepat dan tepat. Hal ini akan berdampak pada penurunan kualitas yang pada akhirnya berdampak pada kuantitas. Pengolahan pangan hewani dimaksudkan untuk penganeka ragam pangan, meningkatkan nilai gizi, nilai ekonomi, daya guna, memperbaiki mutu bahan pangan, dan mempermudah pemasaran, dan pengangkutan (Anjarsari, 2010).

Produk yang beredar di pasaran tidak semua sesuai dengan komposisi pada label dibandingkan komposisi nyata yang terkandung di dalam produk. Pencampuran bahan baku daging yang tidak sesuai dengan yang ditulis. Salah satu metode yang digunakan untuk mengujinya dengan metode ELISA.

Penelitian serupa telah dilakukan oleh Silva, et al. (2000) yang melakukan investigasi kualitas pada hamburger di Brazil dengan menggunakan metode ELISA hasilnya dapat diterima baik oleh organisasi maupun industri.

Metode ELISA didasarkan pada kerja imunologi yang dikombinasi dengan reaksi enzimatis, reaksi imunologi dalam sistem ELISA adalah adanya ikatan antigen-antibodi atau sebaliknya. Reaksi enzimatis antara enzim dan reaktan digunakan untuk menandakan adanya reaksi yang kemudian dapat diukur secara kualitatif berdasarkan pada perubahan warna dalam sistem. Keunggulan metode ini adalah reaksinya yang cepat dan relatif murah jika dibandingkan dengan metode molekuler lainnya. Berdasarkan sistem kerja dalam reaksinya ELISA terbagi menjadi tiga kelompok yaitu Direct Elisa, Indirect ELISA dan Sandwich ELISA. Pengelompokan tersebut didasarkan pada kompetisi atau inhibisi dari ELISA. Direct ELISA adalah salah satu jenis ELISA yang paling sederhana dalam reaksinya. Jenis ELISA ini hanya membutuhkan antigen, antibodi, enzim dan substrat (Sirois, 2016).

Tahapan pengujian ELISA menurut Crowther (2001) di antaranya adsorpsi antigen atau antibodi pada fase padat, penambahan sampel dan reagen, inkubasi, pemisahan dengan reaktan, penambahan reagen enzim, penambahan enzim pendeteksi, dan pembacaan hasil.

Dalam penelitian dengan metode ELISA didasarkan oleh nilai absorbansi. Penggunaan metode ELISA lebih sensitif dan akurat sehingga dapat

digunakan lebih mudah dan cepat untuk penelitian walaupun memiliki kandungan protein yang rendah (Alamdari *et al.*, 2005).

Penelitian sampel saus bumbu impor dihasilkan sampel A positif mengandung sapi tetapi negative dari kandungan babi, unggas, dan kambing. Pada sampel B,C, D, E dan F diperoleh hasil yang negatif dari kandungan sapi, babi, unggas, dan kambing. Hal ini berdasarkan nilai serapan sampel kurang dari nilai cut off seperti pada Tabel 1.

ELISA baik digunakan untuk menentukan keaslian makanan secara sensitif dan spesifik juga cepat dan murah. Meskipun demikian ELISA memiliki keterbatasan pada pengujian makanan yang dimodifikasi secara genetik (Asensio, *et al.*, 2007).

4. KESIMPULAN

Penelitian sampel saus bumbu impor dihasilkan sampel A positif mengandung sapi tetapi negative dari kandungan babi, unggas, dan kambing. Pada sampel B,C, D, E dan F diperoleh hasil yang negatif dari kandungan sapi, babi, unggas, dan kambing.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamdari, DH., Kostidou, E., Paletas, K., Sarigianni, M. Konstas, AGP., Karapiperidou, A., Koliakos, G. High Sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method for measuring protein carbonyl in samples with low amounts of protein. *Free Radical Biology and Medicine Journal*, 2005; 39 : 1362-1367.
- Anjarsari, B. 2010, *Pangan Hewani Fisiologi Pasca Mortem dan Teknologi*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Asensio, L., Gonzalez, I., Garcia, T., Martin R. Determination of Food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Food Control Journal*, 2007;19 : 1-8.
- Crowther, J.R. 2001. *The ELISA Guidebook*. Humana Press Inc. New Jersey.
- Silva, A.M., Barbosa, Alkmin, MGA., Shimokomaki, M., Filho, A.T. Hamburger Meat Identification by dot-ELISA. *Meat Science Journal*, 2000; 56 : 189-192
- Sirois, M. 2016. *Elsevier's Veterinary Assisting Textbook*, Elsevier, Asworth College, Georgia.