

# Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



A. *BEGONIA ARCEUTHA* (ciri khas buah buni tdk berbulu)



B. *BEGONIA FLACCIDA* (khas batang menjalar)



C. *B. HISPIDA* (ciri khas daun berwarna hijau kebiruan)



D. *B. WATSUWILANA* (ciri khas pada perbungaan memiliki sekitar 30 buah tiap perbungaan)



E. *B. ARCEUTHA VAR. HIRTA* (ciri khas perawakan, bung dan buah berbulu)



F. *B. MEKONGGAENSIS* (ciri khas bunga jantan dan betina terpisah pada dua individu berbeda)

Diterbitkan oleh  
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

**B**erita **Biologi** merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

### **Surat Keputusan Ketua LIPI**

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

### **Dewan Pengurus**

#### **Pemimpin Redaksi**

B Paul Naiola

#### **Anggota Redaksi**

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Tukirin Partomihardjo

#### **Redaksi Pelaksana**

Marlina Ardiyani

#### **Desain dan Komputerisasi**

Muhamad Ruslan, Yosman

#### **Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum**

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jin Raya Jakarta-Bogor Km 46,

Cibinong 16911, Bogor - Indonesia

Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: [berita.biologi@mail.lipi.go.id](mailto:berita.biologi@mail.lipi.go.id)

[ksama\\_p2biologi@yahoo.com](mailto:ksama_p2biologi@yahoo.com)

[herbogor@indo.net.id](mailto:herbogor@indo.net.id)

Keterangan foto cover depan: *Keanekaragaman Begonia Kawasan G. Watuwila dan G. Mekongga, Sulawesi Tenggara*, sesuai makalah di halaman 33. Deden Girmansyah-Koleksi Pusat Penelitian Biologi-LIPI.



**ISSN 0126-1754**

Volume 10, Nomor 1, April 2010

# **Biologi**

**Jurnal Ilmu-ilmu Hayati**

**Diterbitkan oleh  
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

*In Memoriam*  
**Dr Anggoro Hadi Prasetyo**



**Dr Anggoro Hadi Prasetyo** yang merupakan staf pegawai Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, telah menghadap Yang Maha Kuasa pada hari Sabtu tanggal 20 Pebruari 2010, setelah dirawat selama 4 hari di RS PMI Bogor dan RS Ciptomangunkusumo, Jakarta, karena Leukaemia Akut yang dideritanya. Almarhum adalah seorang ahli taksonomi rayap yang mendapatkan gelar PhD dari Queen Mary University of London. Almarhum meninggalkan seorang istri Dr Marlina Ardiyani, yang bekerja di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, dan dua orang anak laki laki (M Ammar Zaky dan M Zuhdi Ali) dan dua anak perempuan (Anisa Zahra dan Aisyah Zafrina Aini).

### Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
  - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
  - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
  - *Aspek/pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.  
*Abstrak* dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. Hasil dipisahkan dari Pembahasan.
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
  - a. Jurnal  
**Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992.** Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43, 1559-1576.
  - b. Buku  
**Kramer PJ. 1983.** *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
  - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:  
**Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995.** Pengamatan beberapa aspek biologi sotong buluh (*Septoteuthis lessoniana*) di sekitar perairan pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
  - d. Makalah sebagai bagian dari buku  
**Leegood RC and DA Walker. 1993.** Chloroplast and Protoplast. In: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Chapman and Hall. London.
10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: [berita.biologi@mail.lipi.go.id](mailto:berita.biologi@mail.lipi.go.id) dan di-Cc-kan kepada: [ksama\\_p2biologi@yahoo.com](mailto:ksama_p2biologi@yahoo.com), [herbogor@indo.net.id](mailto:herbogor@indo.net.id)
11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

## Anggota Referee / Mitra Bestari

### **Mikrobiologi**

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)  
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)  
Dr Joko Sulistyono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)  
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

### **Mikologi**

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptari*)  
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### **Genetika**

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Warid AH Qosim (*Universitas Padjadjaran*)  
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### **Taksonomi**

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Prof (Ris) Dr Johanis P Mogeia (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### **Biologi Molekuler**

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)  
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)  
Dr Hendig Winarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)  
Dr I Made Suidiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)  
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

### **Bioteknologi**

Dr Endang Tri Margawati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)  
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)  
Dr Satya Nugroho (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)

### **Veteriner**

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

### **Biologi Peternakan**

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

### **Ekologi**

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)  
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)  
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)  
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)  
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### **Biokimia**

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)  
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)  
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)  
Dr Hertu Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)  
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

### **Fisiologi**

Prof Dr Bambang Spto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)  
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### **Biostatistik**

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

### **Biologi Perairan Darat/Limnologi**

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)  
Dr Fauzan AH (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)  
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

### **Biologi Tanah**

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

### **Biodiversitas dan Iklim**

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

### **Biologi Kelautan**

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)  
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)  
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)  
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih  
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini  
10(1)-April 2010

- Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*  
Dr. Didik Widyatmoko - *Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor*  
Dr. Heddy Julistiono - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*  
Dr. Herman Daryono - *Pusat Penelitian Hutan Badan Litbang Kehutanan*  
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*  
Dr. Kusumadewi Sri Yulita - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*  
Dr. Marlina Ardiyani - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*  
Dr. Sarjiya Antonius - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*  
Dr. Tukirin Partomihardjo - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*  
Dr. Yuyu Suryasari Poerba - *Pusat Penelitian Biologi - LIPI*

#### Referee/ Mitra Bestari Undangan

- Prof. Dr. Cece Sumantri- *Institut Pertanian Bogor*  
Dr. Satya Nugraha - *Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI*  
Dr. Subowo - *Balai Besar Sumber Daya Lahan Pertanian*  
Dr. Tatiek Chikmawati - *Institut Pertanian Bogor*

## DAFTAR ISI

### MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

<p><b>UJI AKTIFITAS ENZIM SELULASE DAN LIGNINASE DARI BEBERAPA JAMUR DAN POTENSINYA SEBAGAI PENDUKUNG PERTUMBUHAN TANAMAN TERONG (<i>Solarium melongena</i>)</b>  <b>[The Test of Cellulase and Ligninase Enzymes from Some Fungi as Plant Growth Promoter for Eggplant]</b>  <b>YB Subawo.....</b></p>	<p><b>1</b></p>
<p><b>PENGARUH PEMBERIAN JERAMI PADITERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN PADI (<i>Oryza Sativa</i>) DITANAH SULFAT MASAM</b>  <b>[The Effect of Rice Straw Application on The Growth of Rice (<i>Oryza Sativa</i>) in Acid Sulphate Soils]</b>  <b>Arifin Fahmi.....</b></p>	<p><b>7</b></p>
<p><b>PERUBAHAN KADAR KOLESTEROL SERUM PADA TIKUS SETELAH MENGONSUMSI MALTOOLIGOSAKARIDA YANG DISINTESIS SECARA ENZIMATIK MENGGUNAKAN AMILASE <i>Bacillus licheniformis</i> BL1</b>  <b>[The Change of Serum Cholesterol Level in Rats after Consuming Maltooligosaccharide Synthesized by Enzimatic Reaction of <i>Bacillus licheniformis</i> BL1 Amylase]</b>  <b>Achmad Dinoto, Rita Dwi Rahayu dan Aryani S. Satyaningtjas.....</b></p>	<p><b>15</b></p>
<p><b>KERAGAMAN GENETIK, HERITABILITAS DAN KORELASI BEBERAPA KARAKTER AGRONOMI PADA GALUR F2 HASIL PERSILANGAN KACANG HIJAU (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek)</b>  <b>[Genetic Variability, Heritability and Correlation of some Agronomic Characters in the F2 of Varietal crosses of Mungbean (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek)]</b>  <b>Lukman Hakim.....</b></p>	<p><b>23</b></p>
<p><b>KEANEKARAGAMAN <i>Begonia</i> (BEGONIACEAE) DARI KAWASAN GUNUNG WATUWILA DAN MEKONGGA, SULAWESI TENGGARA</b>  <b>[Diversity of <i>Begonia</i> (Begoniaceae) from Mt. Mekongga and Mt. Watuwila Area, South East Sulawesi]</b>  <b>Deden Girmansyah.....</b></p>	<p><b>33</b></p>
<p><b>NITROGEN REMOVAL BY AN ACTIVATED SLUDGE PROCESS WITH CROSS-FLOW FILTRATION</b>  <b>[Perombakan Nitrogen Menggunakan Proses Lumpur Aktif Yang Dilengkapi Dengan Filtrasi]</b>  <b>Dwi Agustiyani dan Takao Yamagishi.....</b></p>	<p><b>43</b></p>
<p><b>STRUKTUR DAN KOMPOSISI JENIS TUMBUHAN HERBA DAN SEMAI PADA HABITAT SATWA HERBIVOR DI SUAKA MARGA SATWA CIKEPUH, SUKABUMI, JAWA BARAT</b>  <b>[Structure and Composition of Herbaceous and Seedling Communities on the Herbivore Habitat within Cikepuh Wildlife Sanctuary, Sukabumi, West Java]</b>  <b>AsepSadili.....</b></p>	<p><b>51</b></p>
<p><b>PEWARISAN GEN PENANDA <i>HPT</i> (<i>HYGROMYCINE PHOSPHOTRANSFERASE</i>) BERDASARKAN ANALISIS PCR DAN EKSPRESINYA PADA POPULASI PADI TRANSFORMAN MENGOVEREKSPRESIKAN GEN HD ZIP <i>OSHOX-6</i></b>  <b>[Segregation of <i>hpt</i> gene by PCR analysis and its expression in transgenic rice population overexpressing HD-Zip <i>oshox6</i> gene]</b>  <b>EnungSriMulyaningsih, HajrialAswidinnoor, Didy Sopandie, Pieter B.F.Ouwerkerk, Inez Hortense Slamet Loedin.....</b></p>	<p><b>59</b></p>



<b>PENGETAHUAN LOKAL DAN PEMANFAATAN TUMBUHAN OLEH MASYARAKAT LOKAL PULAU KABAENA - SULAWESI TENGGARA</b> [Local Knowledge and Plant Utilization By Local People Of Kabaena Island - Southeast Celebes] <i>Mulyati Rahayu dan Rugayah</i> .....	67
<b>ESTIMASI MATERNAL HETEROSIS UNTUK BOBOT BADAN PADA POPULASI DOMBA SINTETIK</b> [Estimates of Maternal Heterosis for Body Weights in the Synthetic Population of Sheep] <i>Benny Gunawan</i> .....	77
<b>KINETIKA BIOTRANSFORMASI SUKSINONITRIL OLEH <i>Pseudomonas</i> sp</b> [Succinic acid Biotransformation Kinetic by <i>Pseudomonas</i> sp] <i>Nunik Sulistinah dan Bambang Sunarko</i> .....	85
<b>PENGUJIAN PENCEMARAN DAGING BABI PADA BEBERAPA PRODUK BAKSO DENGAN TEKNOLOGI PCR: PENCARIAN SISTEM PENGUJIAN EFEKTIF</b> [Analysis of Porcine Contamination by Using PCR Technology in Several Meat Ball Products: To Find an Effective Assessment System] <i>Endang Tri Margawati dan Muhamad Ridwan</i> .....	93
<b>KAJIAN SUPERPARASIT DAN PREFERENSI INANG BENALU <i>Viscum articulatum</i> Burm. f. (Viscaceae) DIKEBUN RAYA PURWODADI DAN CIBODAS</b> [Study on superparasite and host preference of the mistletoe <i>Viscum articulatum</i> Burm. f. ( <i>Viscaceae</i> ) in Purwodadi and Cibodas Botanic Gardens, Java] <i>Sunaryo</i> .....	99
<b>FLOWERING PHENOLOGY AND FLORAL BEHAVIOR OF <i>Scutellaria discolor</i> Colebr. AND <i>S. slametensis</i> Sudarmono &amp; B.J. Conn (<i>Lamiaceae</i>)</b> [Fenologi dan Perilaku Pembungaan pada <i>Scutellaria discolor</i> Colebr. dan <i>S. Slametensis</i> Sudarmono & B.J. Conn ( <i>Lamiaceae</i> )] <i>Sudarmono</i> .....	105
<b>KAJIAN ETNOBOTANI PANDAN SAMAK (<i>Pandanus tectorius</i> Sol.) DI KABUPATEN TASIKMALAYA, JAWA BARAT</b> [Ethnobotany Study of pandan samak ( <i>Pandanus tectorius</i> Sol.) in Tasikmalaya Regency, West Java] <i>Siti Susiarti &amp; Mulyati Rahayu</i> .....	113
<b>PENGARUH RADIASI DAN LOKASI TUMBUH TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PENYAKIT HAWAR DAUN TALAS "KETAN"</b> [The Effect of Irradiation and Growing Locations on The Growth and Leaf BLIGHT Disease of Taro "Ketan"] <i>L. Agus Sukanto dan Saefudin</i> .....	123
<b>AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANALISIS KIMIA EKSTRAK DAUN JUNGRAHAB (<i>Baeckea frutescens</i> L.)</b> [Antioxidant Activity and Chemical Analysis of Extract of Jungrahab ( <i>Baeckea frutescens</i> L.) Leaves] <i>Tri Murningsih</i> .....	129

**PENGUJIAN PENCEMARAN DAGING BABI PADA BEBERAPA PRODUK BAKSO  
DENGAN TEKNOLOGI PCR: PENCARIAN SISTEM PENGUJIAN EFEKTIF<sup>1</sup>  
[Analysis of Porcine Contamination by Using PCR Technology in Several Meat Ball  
Products: To Find an Effective Assessment System]**

**Endang Tri Margawati<sup>2,3\*</sup> dan Muhamad Ridwan**

Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI

Jin Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911. Telp/Fax: 021 -8759300/8754588

\*e-mail: [etmargawati@cbn.net.id](mailto:etmargawati@cbn.net.id)

**ABSTRACT**

Entering globalization market, Indonesian government could not reject any import of food products from overseas. To anticipate the possibility of porcine contaminants into processed meat products of imported food such as meat or chicken ball, sausage, tin meat etc., it is important to apply laboratory research on such particular matter in regard to ethical and certain religious concern. This study was intended to identify the possibility of porcine contaminants into either processed meat products or fresh meat. A technique of polymerase chain reaction (PCR) was applied and PCR optimizing was conducted in advanced to obtain the right annealing temperature. Positive control of fresh pork meat was amplified to get porcine Leptin size which is 152bp fragment. Five samples of 4 meat balls and one fresh beef meat were individually collected for their DNA by either from minced or mashed after liquid nitrogen exposure then followed with a series of DNA extraction steps. PCR was assigned by using a specific primer of Leptin gene for porcine identification. Visualization of Leptin fragment was applied either on 1%, 2% of agarose gel or 10-20% gradient acrylamide gel. The result showed that all sample applied were not identified for containing porcine contaminants while positive control was on the right size of 152bp of Leptin gene. Specific primer used in this study was proved that there was not identified porcine Leptin gene on the negative control (fresh beef meat). This study suggests that a method of PCR is a simple analytical method for identification of porcine contaminants and visualization on 2% agarose gel is a cheaper and quicker method while by gradient acrylamide gel showing more clear band however this method is time consuming and expensive.

Kata kunci: Leptin babi, PCR, daging olahan, produk makanan, pencemaran daging babi

**PENDAHULUAN**

Memasuki era perdagangan global, dimungkinkan pemasukan barang atau bahan makanan dalam bentuk olahan atau mentah dengan mudah dari satu negara ke negara lain tanpa melalui pengujian. Hal ini penting terutama bagi golongan masyarakat tertentu yang tidak makan daging (*vegetarian*) atau untuk agama tertentu. Dalam hal makanan olahan (*processed food*) belum ada yang mengontrol akan keaslian dari bahan komposisinya atau tercampur dengan bahan lain bukan bahan aslinya. Pada produk makanan olahan tertentu terbuat dari daging, akhir-akhir ini tidak jarang ditayangkan di media masa elektronik akan adanya campuran produk makanan olahan untuk konsumsi manusia yang tercampur dengan daging dari jenis (*spesies*) lain selain bahan utamanya berupa daging sapi misalnya. Campuran tersebut dapat berupa daging tikus, babi hutan maupun babi budidaya, daging kuda atau campuran jenis lain. Pencampuran dengan bahan dari spesies lain selain bahan aslinya dimaksudkan untuk menghasilkan

produk akhir dengan harga yang relatif lebih murah dibandingkan kalau makan olahan tersebut tersusun murni dengan bahan aslinya (daging sapi, misalnya). Semakin mengkhawatirkan kalau pencampuran dengan bahan lain tersebut dilarang menurut Agama tertentu, misalnya tercampurnya daging babi di dalam makanan olahan produk bakso daging sapi atau ayam. Akhir-akhir ini juga tersebar berita bahwa daging di pasaran (pasar tradisional) juga tercampur dengan babi hutan atau celeng.

Saat ini sudah waktunya dari segi ilmiah perlu adanya analisis yang menguji terhadap pencampuran tersebut. Dengan demikian secara ilmiah dapat dibuktikan atau dipertanggung jawabkan akan adanya pencampuran tersebut. Sayangnya hingga saat ini belum ada prosedur baku yang dapat digunakan sebagai acuan dalam pengujian adanya pencampuran dengan bahan lain di luar bahan aslinya.

Kemajuan teknologi akhir-akhir ini yang pesat di bidang biologi molekuler dapat diaplikasikan dan mempermudah dalam pengujian atau pendeteksian akan

adanya kontaminasi bahan lain diluar bahan aslinya. Sebagai contoh kontaminasi daging babi dapat dideteksi dengan amplifikasi PCR dari RNA ribosomal 18S inti dengan adanya hormon pertumbuhan (*growth hormone*) atau kromosom Y (Meyer *et al.*, 1995; Meyer *et al.*, 1994). Metode lain menggunakan elektroforesis kapiler sensor fluorescence dapat diidentifikasi jenis cetak jari (*fingerprint*) spesifik DNA dari daging babi, kambing atau sapi yang didapatkan dengan pemotongan enzim restriksi menggunakan hasil amplifikasi *fluorescence-labeling PCR* (Al-Rashood *et al.*, 1995). Peneliti lain jugamelaporkanpendeteksian daging sapi dan babi olahan dengan pemanasan tinggi 134°C yang dapat mendeteksi kontaminasi sampai 0,1% (Fumiere *et al.*, 2006). Sistem *TaqMan real-time PCR* dengan probe *minor groove binding* (MGB) juga pernah digunakan pada pendeteksian kuantifikasi DNA sapi, babi, domba, ayam, kalkun dan burung onta pada sampel yang kompleks (Lopez-Anndreo *et al.*, 2005).

Leptin adalah suatu protein yang disekresikan oleh jaringan lemak atau adipocyte (Frederich *et al.*, 1995). Awalnya leptin diidentifikasi menurut pemetakan fisik (*physical mapping*) gen terdapat pada kegemukan mencit dengan anotasi *ob/ob* mice (Zhang *et al.*, 1994). Gen leptin banyak digunakan untuk determinasi jenis ternak tertentu karena mempunyai ukuran potongan (*fragment*) berbeda satu jenis dengan jenis lainnya. Identifikasi pencemaran daging babi diantaranya dapat diketahui dari adanya potongan DNA spesifik untuk gen leptin babi yang mempunyai ukuran 152pb (Farouk *et al.*, 2006). Metode *dot-blot* awalnya digunakan untuk determinasi jenis ternak tertentu (Ebbehøj dan Thomsen, 1991; Wintero *et al.*, 1990). Namun sekarang, *polymerase chain reaction* (PCR) adalah pilihan teknik yang digunakan untuk identifikasi jenis ternak tertentu (Ce"spedes *et al.*, 1999). Metodologi berbasis PCR merupakan teknik yang berhasil dalam pengidentifikasian kontaminasi babi (Farouk *et al.*, 2006; Wolf *et al.*, 1999; Stratil *et al.*, 1997 dan Wintero *et al.*, 1990).

Penelitian awal ini dimaksudkan untuk mencari model pengujian dengan metode berbasis PCR pada 5 sampel produk daging olahan yang diperoleh di pasar swalayan dan penjaja sayur di perumahan. Sebagai kontrol positif adalah daging babi segar yang dikoleksi

DNA-nya. Sementara kelima sampel adalah bakso sapi dan bakso ayam sebanyak 4 sampel dan satu daging sapi segar sebagai kontrol negatif atau untuk pengujian spesifik leptin babi, semuanya dikoleksi langsung DNA nya. Spesifik primer oligonukleotida gen Leptin yang digunakan dalam PCR mengikuti referensi dari Meyer *et al.* (1995); Farouk *et al.* (2006) yang terakhir juga sudah dibuktikan spesifikasinya untuk leptin babi oleh Alaraidh(2008).

## MATERIDANMETODA

### Penyiapan Sampel

Sampel berupa daging babi segar dari usaha perorangan, digunakan sebagai kontrol positif. Sebanyak 4 sampel produk daging olahan terdiri dari 3 sampel bakso sapi dan 1 bakso ayam, dan 1 sampel daging sapi segar sebagai kontrol negatif. Sampel bakso dan daging sapi tersebut diperoleh dari toko swalayan, penjaja sayur dan pasar tradisional. Semua sampel disimpan dalam suhu rendah ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) sebelum diproses.

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan secara terpisah baik berasal dari daging segar maupun produk daging olahan (bakso). Metode ekstraksi DNA mengikuti prosedur Koh *et al.* (1998) dan Ilhak dan Arslan (2007) dengan sedikit modifikasi. Masing-masing sampel disiapkan 2 gram, dicincang (*minced*) atau direndam dengan nitrogen ( $\text{N}_2$ ) cair kemudian digerus (*mashed*) sebelum proses ekstraksi DNA. DNA yang terkoleksi disimpan pada  $-20^{\circ}\text{C}$  sebelum digunakan.

### Primer Oligonukleotida

Primer yang digunakan adalah spesifik untuk gen Leptin babi sesuai referensi (Meyer *et al.*, 1995; Farouk *et al.*, 2006, Alaraidh, 2008). Runutan basa spesifik primer tersebut yaitu, forward: 5'-TGCAGTCTCT CCTCCAAA-3' dan reverse: 5'-CGATAATTG-GATCACATTCTG-3'.

### Polymerase Chain Reaction (PCR)

Sebelum dilakukan PCR, sebelumnya dilakukan optimasi PCR untuk memperoleh suhu annealing yang tepat. Optimasi PCR menggunakan mesin PCR Gradient

(Biometra) dengan suhu annealing yang dicobakan yaitu 50,6,51,9,53,3,54,8,56,2,57,2 dan 57,6°C. Optimasi PCR dilakukan terhadap sampel positif kontrol, untuk mendapatkan suhu annealing yang tepat gen Leptin babi.

PCR dilakukan menggunakan reaksi master mix KOD Hot Start (Novagen) dengan volume akhir 50 $\mu$ l terdiri dari 10 x Buffer (1  $\mu$ l), dNTP 2.5mM (1  $\mu$ l), MgSO<sub>4</sub> 25mM (2 $\mu$ l), Primer F 20pmol (2 $\mu$ l), Primer R 20pmol (2 $\mu$ l), Taq polymerase 2,5units (1  $\mu$ l), cetakan DNA 50ng/ $\mu$ l (2  $\mu$ l) dan dH<sub>2</sub>O (29 $\mu$ l). Program PCR terdiri dari pemanasan awal 94°C selama 3 menit, diikuti denaturasi 94°C selama 1 menit, annealing (gradient untuk optimasi: 50,6, 51,9,53,3,54,8,56,2, 57,2 dan 57,6°C) selama 1 menit, extension 72°C selama 1 menit, menggunakan 35 siklus dan extension akhir pada 72°C selama 7 menit.

#### Gel Elektroforesis dan Visualisasi

DNA gen Leptin babi yang teramplifikasi dideterminasi pada gel agarose 1% atau 2% dengan aliran listrik 100 Volt selama 1 jam atau pada 10-20% gradient acrylamide gel (Coligan *et al.*, 1997) dengan aliran listrik 4 jam pada 10mA. Hasil elektroforesis di staining dengan 5  $\mu$ l ethidium bromide (1 Omg/ml) dan divisualisasi dengan transiluminator, gambar diambil dengan film polaroid.

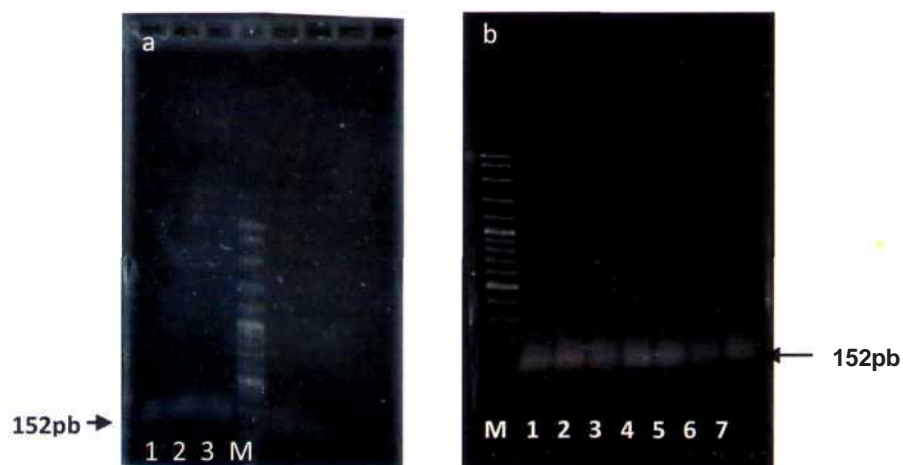
## HASIL

### Optimasi PCR Kontrol Positif

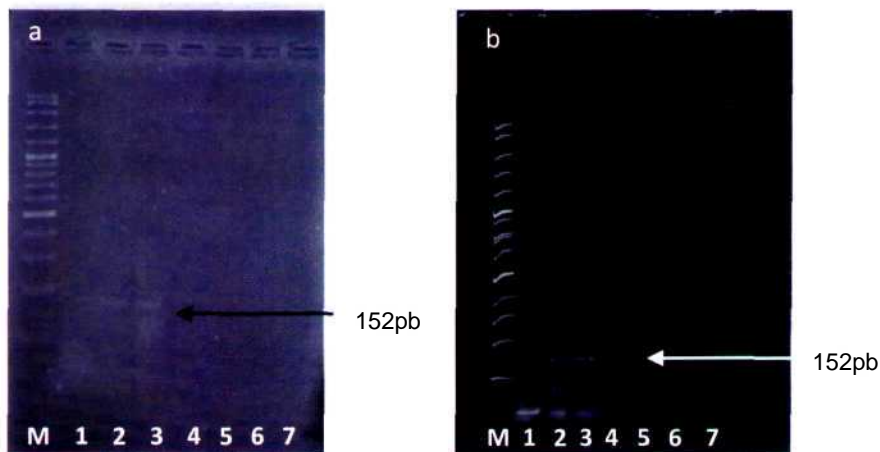
Sampel kontrol positif (daging babi) yang dikoleksi DNA-nya tanpa optimasi PCR dan langsung dilakukan PCR, hasil amplifikasinya divisualisasikan seperti pada Gambar 1 a. Setelah dilakukan optimasi PCR dengan 7 seri suhu annealing, hasilnya dapat dilihat seperti pada Gambar 1b. Keduanya (Gambar 1a dan b) divisualisasi pada gel agarose 1% dan menunjukkan spesifik gen Leptin babi dengan ukuran 152 pb. Visualisasi hasil optimasi PCR menunjukkan pita yang lebihjelas (Gambar 1b).

### Identifikasi Gen Leptin Babi pada Sampel

Dua Sampel kontrol positif berasal dari penyiapan sampel dengan dicincang dan direndam dengan N<sub>2</sub> cair digunakan dalam srudi ini dan lima sampel (produk daging olahan: 3 bakso sapi, 1 bakso ayam dan 1 sampel daging sapi) yang telah teramplifikasi divisualisasi dengan dua metode yaitu pada 2% gel agarose dan pada 10-20% gel akrilamid gradient. Semua sampel terdiri dari 2 kontrol positif (daging babi), 4 sampel bakso dan 1 sampel daging sapi segar sebagai negatif kontrol diamplifikasi dengan suhu annealing 55°C sebagai hasil optimasi PCR. Hasil visualisasi ke 7 sampel tersebut ditampilkan pada Gambar 2 (a. pada agarose 2%; b. Pada 10-20% gel akrilamid gradient).



**Gambar 1.** Hasil eletroporesis gen Leptin babi: (a) tanpa optimasi PCR (M= Marker 1 OOpb; 1,2,3= daging babi) dan (b) hasil optimasi PCR (M= Marker 1 OOpb; no 1 s/d no 7 berturut-turut adalah suhu annealing pada 50,6; 51,9; 53,3; 54,8; 56,2; 57,2 dan 57,6°C)



**Gambar 2.** Visualisasi gen Leptin babi (a) pada 2% gel agarose dan (b) pada 10-20% gel akrilamid gradient (M= Marker 100pb; 1= sampel bakso sapi; 2 dan 3=positif kontrol daging babi; 4, 5, 6 dan 7 = sampel bakso sapi, 5= sampel bakso ayam, 6= sampel bakso sapi, 7= sampel daging sapi)

## PEMBAHASAN

### Koleksi DNA

Semua sampel bakso (4) dan daging sapi segar (1) serta kontrol positif daging segar babi (2) dikoleksi dengan metoda yang digunakan oleh Koh *et al.* (1998) dan Ilhak and Arslan (2007) dengan sedikit modifikasi. Penyiapan sampel untuk metode ini menggunakan sampel jaringan dan daging olahan dengan dicincang dan direndam dengan  $N_2$  cair khusus untuk sampel kontrol positif sebelum proses ekstraksi DNA, sementara pada sampel yang diuji hanya direndam dengan  $N_2$  cair. Semua sampel diekstraksi secara terpisah.

Terdapat berbagai metode ekstraksi DNA dengan sampel dari daging atau produk daging olahan. Diantaranya menggunakan produk *commercial kit* seperti ASL buffer kit (Qiagen) yang diikuti dengan inkubasi untuk memperoleh DNA (Alaraidh, 2008). Secara manual, DNA babi atau daging lain tercampur dengan daging babi juga pernah dicoba dengan sedikit proses agak panjang namun lebih murah (Koh *et al.*, 1998) yang kemudian dirujuk dengan sedikit modifikasi oleh Ilhak and Arslan (2007) seperti yang dilakukan pada studi ini. Metode koleksi DNA dari daging juga dapat dirujuk dari Sambrook *et al.* (1989) yang intinya hampir sama dengan dua metode tersebut di atas yang dilakukan dalam penelitian ini. Namun pada metode Sambrook *et al.* (1989) menggunakan enzim pankreas untuk pemecahan dinding sel sehingga dapat

memperpendek proses ekstraksi DNA. Penyiapan sampel dalam bentuk DNA untuk pengujian pencemaran daging babi ini dianggap lebih efisien waktu dalam identifikasi gen target dari pada penyiapan sampel dalam bentuk RNA nya. Penyiapan sampel dalam bentuk RNA perlu waktu yang ketat, begitu dapat RNA harus segera dilakukan RT-PCR mengingat sifat RNA yang tidak stabil.

### Optimasi PCR

Optimasi PCR dilakukan hanya pada kontrol positif dimaksudkan untuk memperoleh suhu annealing yang tepat untuk PCR sehingga didapatkan produk PCR yang tepat dan jelas pitanya. Seperti ditunjukkan pada Gambar 1a, tiga (3) sampel kontrol positif hasil PCR menunjukkan pita yang tidak jelas (*blur*) sebelum dilakukan optimasi PCR. Sementara setelah dilakukan optimasi PCR dengan 7 seri suhu annealing menggunakan mesin PCR gradient, terlihat hasil visualisasi gen Leptin babi lebih tegas yaitu pada ukuran 152pb terutama pada suhu antara 54,8 dan 56,2°C (Gambar 1 b: sumur no. 4-5). Suhu annealing hasil optimasi PCR ini selanjutnya digunakan untuk PCR pada pengujian ini, dengan rata-rata suhu annealing adalah 55°C. Suhu annealing 55°C dengan waktu 1 menit, ini sama seperti yang digunakan pada penelitian sebelumnya dalam pencemaran daging babi dengan siklus PCR 35 (Alaraidh, 2008). Sementara Calvo *et al.* (2001) menggunakan suhu annealing primer 50°C

selama 30 detik dan Ilhak and Arslan (2007) menggunakan suhu annealing 58°C selama 45 detik.

Visualisasi pada optimasi PCR ini menggunakan konsentrasi 1% agarose gel, mungkin perlu ditingkatkan kepekatannya karena ukuran Leptin babi yang kecil 152pb. Beberapa peneliti sebelumnya menggunakan konsentrasi agarose gel lebih tinggi dari 1% untuk visualisasi ukuran leptin yang kecil, yaitu 1,5% (Ilhak and Arslan, 2007), 1,7% (Alaraidh, 2008) dan 2% (Calvo *et al.*, 2001). Pada penelitian ini seterusnya digunakan konsentrasi 2% agarose gel dalam elektroforesis untuk memperjelas tampilan pita yang lebih tegas.

### Identifikasi Leptin

Berdasarkan hasil analisis uji keberadaan Leptin babi dengan teknik PCR pada produk daging (bakso sapi dan ayam) dan daging segar sapi yang berjumlah 5 sampel, tidak terdeteksi adanya campuran daging babi. Hasil identifikasi ini divisualisasikan pada 2 metoda gel, yaitu 2% gel agarose (Gambar 2a) dan 10-20% gradient gel akrilamid (Gambar 2b). Hal ini kemungkinan sampel produk daging yang digunakan adalah produk dalam negeri bukan produk *import*. Selain itu juga belum banyak sampel yang digunakan dalam uji penelitian ini. Namun demikian prosedur yang dicoba dalam identifikasi ini sudah dapat digunakan dalam pengujian campuran produk makanan daging.

Visualisasi dengan akrilamid gradient (Gambar 2b) menghasilkan tampilan pita yang lebih jelas, namun preparasinya memerlukan peralatan yang lebih kompleks dan perlu persiapan yang lebih rumit dengan demikian memerlukan waktu lebih lama (*time consuming*). Sementara visualisasi Leptin babi pada konsentrasi 2% agarose gel dengan peralatan yang sederhana, menunjukkan hasil yang cukup baik dengan ukuran yang tepat 152pb (Gambar 2a).

Prosedur atau sistem yang digunakan dalam penelitian ini dianggap efisien dengan peralatan yang tidak terlalu maju (*advanced equipments*) meskipun masih menggunakan *commercial kits* untuk reaksi PCR-nya. Pengujian atau metode analisis kontaminasi daging babi lainnya dapat dilakukan dengan identifikasi protein dengan teknik elektroforesis (Kim dan Shelif, 1986; Skarpeid *et al.*, 1998), liquid chromatography

(Ashoor *et al.*, 1998) dan immunoassays (Jones and Paterson, 1985; Hsieh *et al.*, 1998). Namun demikian protein akan kehilangan aktivitas biologinya setelah hewan mati, selain itu kebanyakan protein bersifat labil dalam kondisi panas. Oleh karena itu, pada hasil penelitian ini, teknik PCR sepertinya lebih akurat dan tepat untuk metoda analisis kontaminasi produk daging dengan daging babi.

Spesifikasi primer yang digunakan dalam amplifikasi penelitian ini telah dikonfirmasi dengan sekuen cDNA Leptin babi yang didasarkan pada analisis BLAST dari Genbank oleh Ramsay *et al.* (1998). Hasil konfirmasi ini menunjukkan bahwa potongan (*fragment*) gen Leptin babi 152pb yang didapatkan dalam penelitian ini mempunyai kesamaan sekuen (*similarity*) 98% pada sekuen hasil BLAST Ramsay *et al.* (1998). Spesifikasi primer gen Leptin babi yang digunakan dalam penelitian ini juga dibuktikan dengan digunakannya daging sapi segar sebagai kontrol negatif, lihat Gambar 2 (sumur no. 7), pada kedua visualisasi (gel agarose dan akrilamid gradient) tidak menunjukkan adanya pita ukuran 152pb.

### KESIMPULAN

Metode analisis pencemaran daging babi pada produk makanan bakso dan sampel daging telah dilakukan dengan analisis molekuler menggunakan teknik PCR. Identifikasi keberadaan campuran daging babi dapat dilakukan terhadap keberadaan gen Leptin berukuran 152pb. Berdasarkan hasil uji analisis pada 5 sampel yang digunakan, tidak teridentifikasi adanya campuran daging babi pada produk bakso daging sapi, bakso ayam maupun daging sapi segar. Terbukti produk olahan dalam negeri yang diuji masih sesuai dengan bahan asal yang digunakan tanpa kontaminasi daging lainnya. Direkomendasikan dengan teknik PCR dapat digunakan untuk analisis uji pada kemungkinan adanya pencampuran daging lain (babi) pada produk daging sapi atau ayam.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alaraidh IA. 2008. Improved DNA extraction method for porcine contaminants, detection in imported meat to the Saudi market. *Saudi J Biol Sci.* 15(2), 225-229.
- Al-Rashood KA, EM Abdel-Moety, A Rauf, RR Abou-Shaban and KI Al-Khamis. 1995. Triacylglycerols

- profiling by high performance liquid chromatography: A tool for detection of pork fat (lard) in processed food. *J Liq Chromatogr.* **18**, 2661-2672.
- Ashoor SH, WC Monte and PG Stiles. 1998.** Liquid chromatographic identification of meats. *J Assoc Off Anal Chem.* **71**, 397-403.
- Calvo JH, P Zaragona and R Osta. 2001.** Technical note: A quick and more sensitive method to identify pork in processed and unprocessed food by PCR amplification of a new specific DNA fragment. *J Anim Sci.* **79**, 2108-2112
- Coligan JE, BM Dunn, HL Ploegh, DW Speicher and PT Wingfield. 1997.** *Current Protocols in Protein Science Volume 1.* John Wiley & Sons, Inc. New York, USA.
- Clspedes A, T Garcia, E Cerrera, I Gonzales, A Fernández, PE Hernández and R Martin. 1999.** Identification of sole (*Solea solca*) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) by PCR amplification of the 5S rDNA gene. *J Agric Food Chem.* **47**, 1046-1050.
- Ebbeboj KF and PD Thomsen, 1991.** Differentiation of closely related species by DNA hybridation. *Meat Sci.* **30**, 359-366.
- Farouk A, MF Batcha, R Griner, HM Salleh, MR Salleh and AR Sirajudin. 2006.** The use of a molecular technique for the detection of porcine ingredients in the Malaysian food market. *Saudi Med J.* **27**, 447-450.
- Frederich RC, B Lollmann, A Hamann, A Napolitano-Rosen, BB Kahn, BB Lowell and JS Flier. 1995.** Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of Nutrition and Obesity. *J Cli Invest.* **96**, 1658-1663.
- Fumiere O, M Dubois, V Baeten, C von Hohst and G Berden. 2006.** Effective PCR detection of animal species in highly processed animal byproducts and compound feeds. *Anal Bioanal Chem.* **385(6)**, 1045-1054.
- Hsieh YH, SC Sheu and RC Bridgman. 1998.** Development of a monoclonal antibody specific to cooked mammalian meats. *J Food Prot.* **61**, 476-481.
- Ilhak OI and A Arslan. 2007.** Identification of meat species by polymerase chain reaction (PCR) technique. *Turk J Vet Anim Sci.* **31(3)**, 159-163.
- Jones SI and RLS Paterson. 1985.** Double antibody ELISA for detection of trace amounts of pig meat in raw meat mixtures. *Meat Sci.* **15**, 1-13.
- Kim H and LA Shelef. 1986.** Characterization and identification of raw beef, pork, chicken and turkey meats by electrophoretic patterns of their sarcoplasmis protein. *J Food Sci.* **51**, 731-741.
- Koh MC, CH Lim, SB Cbua, ST Chew and STW Phang. 1998.** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints for identification of red meat animal species. *Meat Sci.* **48**, 275-285.
- Lopez-Anndreo M, L Lugo, A Gamido-Pertierra, MI Prieto and A Puyet. 2005.** Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by real-time polymerase chain reaction. *Anal Biochem.* **339(1)**, 73-82.
- Meyer R, U Candrian and J Luthy. 1994.** Detection of pork in heated meat products by the polymerase chain reaction. *J assoc Anal Chem.* **77**, 617-622.
- Meyer R, C Hofelein, J Luthy and II Candrian. 1995.** Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis: A simple method for specific identification of in food. *J Assoc Anal Chem.* **78**, 1542-1551.
- Ramsey TG, X Yan and C Morrison. 1998.** The obesity gene in swine: Sequence and expression of porcine leptin. *J Anim Sci.* **76**, 484 - 490.
- Sambrook J, EF Fritsch and T Maniatis. 1989.** *Molecular cloning.* Cold Spring Harbor Laboratory. New York.
- Skarpeid HJ, K Kvaal and KI Hildrum. 1998.** Identification of animal species in ground meat mixtures by multivariate analysis of isoelectricfocusing protein profiles. *Electrophoresis.* **19**, 3103-3109.
- Stratil A, IJ Peelman, M Van Poucke and S Cepica. 1997.** A HinfI PCR-RFLP at the porcine leptin (LEP) gene. *Anim Genet.* **28**, 371-372.
- Wintero AK, PD Thomsen and WA Davies. 1990.** A comparison of immunoelectrophoresis and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork to beef. *Meat Sci.* **27**, 75-85.
- Wolf C, J Rentach and P Heubner. 1999.** PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA: A reliable method for species identification. *J Agric Food Chem.* **47**, 1350-1355.
- Zhang Y, R Proenca, M Maffei, M Barone, L Leopold and JM Friedman. 1994.** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature (Lond.).* **372**, 425-432.