

OPTIMASI SUHU INKUBASI PADA EKSTRAKSI DNA BAKSO SAPI MENGGUNAKAN METODE POLYVINYLPIRROLIDONE (PVP)

Sahrul Yudiawan*, Ayuni Adawiyah, Tri Cahyanto

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati, Bandung, Indonesia

**Penulis korespondensi; sahrully1@gmail.com*

ABSTRAK

Bakso merupakan salah satu makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, namun banyak kasus yang melaporkan tentang adanya cemaran daging babi. Sekarang banyak para peneliti yang melakukan penelitian untuk mendeteksi adanya cemaran, salah satunya dengan ekstraksi DNA menggunakan metode PCR. Ekstraksi DNA merupakan faktor penting dalam identifikasi tersebut. Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan metode konvensional dan kit ekstraksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suhu inkubasi yang optimal untuk menghasilkan konsentrasi dan kemurnian DNA yang optimal. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu dan Laboratorium Integrasi Terpadu MIPA UIN Sunan Gunung Djati Bandung pada Juni 2023 sampai Agustus 2023. Sampel bakso sapi yang digunakan adalah bakso dengan komposisi 67% daging sapi. Prosedur ekstraksi konvensional mengikuti protokol dari ISO 21571. Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan spektrofotometer. Hasilnya adalah variasi suhu inkubasi mempengaruhi kadar konsentrasi dan kemurnian DNA. Suhu 65°C merupakan suhu optimum yang menghasilkan konsentrasi DNA dan nilai kemurnian yang cukup baik, dengan rata-rata nilai konsentrasi 193,57 dengan rata-rata nilai kemurnian DNA 2,33.

Kata kunci: Bakso Sapi, Ekstraksi DNA, Konsentrasi DNA, Kemurnian DNA, Suhu Inkubasi

1. PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan mayoritas penduduk beragama Islam. Maka dari itu, pemerintah harus bersikap tegas untuk menyediakan dan memastikan kehalalan makanan yang beredar di pasaran. Makanan yang belum pasti kehalalannya dapat terjadi karena makanan tersebut tercampur kontaminasi, proses pengolahannya tidak sesuai syariat Islam dan kebersihannya masih belum terjamin. Hal tersebut yang kemudian mendorong pemerintah Indonesia melalui Lembaga Pengujian Pangan, Obat-Obatan dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia (LPPOM MUI) untuk membuat Sistem Jaminan Produk Halal yang kemudian menjadi Sertifikat Halal untuk pangan, obat-obatan dan kosmetik yang beredar di pasaran sudah jelas kehalalannya (Lessy et al., 2021).

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI) bakso adalah jenis makanan yang terbuat dari daging, udang atau ikan yang dihaluskan dan dicampur bersama tepung kanji dan telur, kemudian biasanya dibentuk bulat-bulat. Bakso dibuat dengan cara mencampurkan daging dengan bahan-bahan lain seperti tepung, bahan perekat, bumbu-bumbu, dan air (Wibowo, 2009). Bakso yang sering dikonsumsi masyarakat Indonesia umumnya adalah bakso sapi. Bahan dasar bakso sapi adalah daging sapi itu sendiri. Harga daging sapi yang mahal kerap kali tidak sesuai dengan harga jual bakso itu sendiri, karenanya beberapa oknum yang tidak bertanggung jawab mengoplos daging sapi dengan daging yang lebih murah yang rasa dan fisiknya mirip dengan daging sapi seperti daging babi. Namun, jika dilihat dengan teliti daging sapi memiliki lebih banyak mioglobin

sehingga warnanya lebih merah dan dapat berubah menjadi ungu atau coklat. Mioglobin yang sudah kontak dengan oksigen akan berubah menjadi oxymyoglobin sehingga menyebabkan daging berwarna lebih gelap. Sedangkan daging babi lebih berwarna merah pucat, mempunyai serat yang lebih halus dan lemaknya berwarna putih (Rahma, 2016).

Pada tahun 2017 ada beberapa kasus yang melaporkan pengoplosan daging sapi dengan daging babi, seperti di bulan agustus ada satu kios bakso di Pekanbaru mengandung daging babi dalam olahan baksonya, di Bogor pada bulan Mei salah satu pabrik pemasok bakso dilaporkan telah mencampurkan daging babi dalam olahan bakso yang diproduksi. Salah satu produk olahan daging yang banyak diminati adalah bakso. Namun mirisnya, seringkali ada beberapa pedagang yang curang dengan mencampurkan daging babi dengan olahan baksonya, misalnya yang terjadi di Jakarta tahun 2012 didapati adanya bakso sapi yang tercampur daging babi (Wardani et al., 2015). Cemaran daging babi pada produk olahan berbahan dasar daging sapi tidak selalu mencampurkan olahan dengan daging babi tapi dapat juga terjadi jika alat produksi digunakan secara bersamaan untuk mengolah daging sapi dan daging babi. Cemaran pada penggilingan daging sapi yang digunakan bersamaan dengan daging babi (Pahlevi, 2013). Di kota Yogyakarta terdapat cemaran daging babi terhadap bakso sapi, dimana menunjukkan hasil positif pada sampel uji yang dilakukan dengan metode PCR Restriction Fragment Length Polymorphism (Erwanto et al., 2012).

Priadi et al (2016) mengungkapkan bahwa pada daging babi terdapat cemaran mikroba Coliform dan *Escherichia coli* dari fesesnya sendiri yang masuk melalui kulit. Fendriyanto et al (2015) melakukan identifikasi untuk memastikan kedapatan cacing pada daging dan beberapa organ lainnya pada babi, hasilnya pada saluran pencernaan didapatkan empat jenis cacing nematoda yaitu, *Macranchantorynchus* sp, *Strongyloides* sp, *Trichuris suis*, dan *Ascaris suum*. Selain itu, babi termasuk hewan yang paling jorok, kotor, rakus bahkan dapat memakan bangkai dan kotorannya sendiri, pemalas, suka dengan sesama jenis dan tidak pencemburu, hal ini yang ditakutkan menjadi cerminan orang yang memakannya, karena sebagian kepribadian kita adalah cerminan dari apa yang kita makan

Banyak penelitian mengenai ekstraksi DNA yang sudah dilakukan, namun masih jarang yang fokus pada variasi suhu inkubasi yang optimal untuk menghasilkan kemurnian dan konsentrasi DNA yang optimum. Adapun suhu optimal yang biasa dipakai (sesuai pedoman ISO) adalah 65°C, namun suhu tersebut belum diketahui apakah sudah optimum atau masih ada variasi suhu lain yang lebih baik.

Oleh sebab itu, penelitian ini diperlukan untuk mengetahui suhu inkubasi yang optimal untuk ekstraksi DNA pada bakso sapi dan mengetahui perbandingan konsentrasi dan kemurnian DNA. Suhu optimum dapat dilihat etelah dilakukan proses spektrofotometer.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada Juni 2023 hingga Agustus 2023. Uji laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Molekuler jurusan Biologi, dan Laboratorium Uji Halal Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian yang dilakukan terdiri dari, tabung Eppendorf (microtube), sentrifugasi suhu, pipet, mikropipet (0,5-10 μl , 10-100 μl , 100-1000 μl), rak tabung, vortex, freezer, inkubator, spektrofotometer nanodrop, *blue tips container*, *white tips container*, *yellow tips container*, botol jar, spatula, mortar dan alu, timbangan digital, autoklaf, pH meter digital, pH universal, gelas ukur, syringe filter, labu takar, *magnetic stirrer*.

Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari bakso sapi dengan kandungan daging sapi 67% yang tercantum pada kemasan, proteinase K, Polyvinylpyrrolidone (PVP powder), tris, NaCl, *extraction buffer* sesuai ISO 21571, Na₂EDTA, Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), *Ammonium Acetate Solution* sesuai ISO 21571, TE Buffer, HCl, NaOH, *Glacial Acetic Acid* (CH₃COOH), isopropanol, alkohol 70%, de ion, dan akuades.

2.3 Rancangan Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*, yaitu bakso yang dipakai harus memiliki kadar daging sapi sebesar 65%. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, menggunakan rancangan penelitian kuantitatif terhadap hasil dari ekstraksi DNA yang diuji menggunakan Spektrofotometer nanodrop untuk mengetahui konsentrasi DNA dengan satuan ng/ μl dan kemurnian DNA. Pada penelitian ini sampel diberikan 5 perlakuan variasi suhu inkubasi dengan suhu 61°C, 63°C, 65°C, 67°C, dan 69°C dan dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan.

2.4 Langkah Penelitian

2.4.1 Persiapan alat, bahan, dan pembuatan Larutan

Langkah pertama adalah menyiapkan peralatan dan bahan yang diperlukan, kemudian membuat larutan yang diperlukan untuk ekstraksi secara konvensional sesuai dengan ISO (2005) yaitu seperti membuat *extraction buffer*, *ammonium acetate solution*, NaOH, dan NaCl.

2.4.2 Preparasi Sampel

Tahap selanjutnya yang dilakukan adalah menggerus sampel bakso sampai halus menggunakan mortar dan alu, kemudian menimbang sampel yang akan diekstraksi secara konvensional dengan massa sampel seberat 100 mg untuk mengetahui nilai konsentrasi DNA yang dihasilkan dalam konsentrasi massa sampel. Kemudian setiap sampel dimasukkan ke tube berukuran 2 mL.

2.4.3 Ekstraksi DNA Secara Konvensional

Sampel seberat 100 mg yang sudah di dalam tube 2 mL ditambah 1 mL *extraction buffer*, kemudian diinkubasi selama satu jam pada variasi suhu 61°C, 63°C, 65°C, 67°C dan 69°C sambil divorteks dengan selang waktu 15 menit. Penggunaan variasi suhu ini bertujuan untuk mengetahui suhu optimal pada sampel yang diujikan. Sampel kemudian didinginkan, lalu ditambahkan 60 mg PVP powder. Sampel kemudian ditambah ammonium asetat sebanyak 0,5 dari total volumenya, lalu divorteks selama satu menit. Sampel kemudian diinkubasi pada freezer dengan suhu -20°C selama 30 menit, lalu disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 g pada suhu ruang. Setelah itu, masing-masing sampel diambil supernatannya sebanyak 700 μL dan dipindahkan ke tube baru dengan hati-hati. Supernatan yang sudah dipindahkan ke tube baru ditambahkan isopropanol sebanyak 1x volume supernatannya, kemudian divorteks selama 1 menit. Sampel lalu diinkubasi pada suhu -20°C selama 30 menit. Selanjutnya sampel disentrifugasi selama 10 menit

pada kecepatan 10.000 g pada suhu 4°C. Setelah itu, supernatan sampel dibuang dengan hati-hati dan yang tersisa hanya pellet. Pellet kemudian ditambah etanol 70% sebanyak 2x volumenya, kemudian divorteks. Setelah itu, sampel disentrifugasi pada suhu 4°C selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 g. Kemudian supernatan dibuang dengan hati-hati dan dikeringkan selama 5-10 menit. Setelah itu pellet ditambah 100 µL buffer TE lalu divorteks. Sampel hasil ekstraksi siap untuk dispektrofotometer atau disimpan pada suhu -20°C untuk kemudian siap dipakai. Selanjutnya langkah-langkah tersebut diulangi sebanyak lima kali.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Uji Kuantitatif Konsentrasi dan Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi Konvensional

Ekstraksi DNA merupakan langkah utama keberhasilan suatu percobaan sebelum dilakukan analisis molekuler. Ekstraksi DNA merupakan titik kritis pada analisis PCR, karena ekstraksi DNA berkaitan dengan jumlah konsentrasi dan kemurnian DNA yang kemudian menjadi faktor yang memengaruhi hasil amplifikasi PCR, hasil ekstraksi yang baik adalah konsentrasi yang dihasilkan lebih dari 100 ng/µL dengan kemurnian berada pada rentang 1,8-2.

Tahap pertama pada ekstraksi DNA yakni penghancuran sel dengan cara fisik yakni dengan cara menghaluskan lalu sampel ditambahkan Extraction Buffer dimana di dalamnya berisi atau terbuat dari Tris (*Hydroxymethyl-Aminomethane*), NaCl (*Natrium Chloride*), Na₂EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic Acid Disodium Salt*), dan SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*) yang akan menghancurkan dinding sel. EDTA berperan sebagai kofaktor yang berfungsi mengikat kation kovalent sehingga DNA akan terlindung dari reaksi kimia lainnya. Sedangkan SDS adalah deterjen kationik yang akan melarutkan kandungan lipid dan merusak protein yang berada di dalam membran sel. Kemudian setelah itu diinkubasi selama 60 menit pada suhu 65°C dan divorteks selang 15 menit sekali, hal ini bertujuan untuk mengoptimalkan proses reaksi kimia dan mengoptimalkan proses pelisisan membran sel (Zuraeda, 2018). Kemudian tahap selanjutnya sampel ditambahkan PVP dan ammonium asetat dimana PVP berfungsi untuk mendenaturasi protein, PVP juga digunakan sebagai pengganti atau alternatif penggunaan fenol yang cenderung bersifat bahaya korosif. Sedangkan ammonium asetat berfungsi untuk mengikat kontaminan seperti polifenol, polisakarida, protein yang masih terlarut (Nugroho et al., 2017). PVP bekerja dengan cara mendegradasi atau mencerna protein, dan ammonium asetat bekerja dengan cara menghilangkan sisa protein dan kontaminan lainnya dengan cara mempresitasikannya. Setelah itu divorteks agar dapat tercampur rata, kemudian diinkubasi pada suhu -20°C selama 10 menit, proses inkubasi ini berfungsi untuk memaksimalkan keluarnya DNA dari inti sel tanpa merusak DNA karena berada pada suhu yang rendah agar konsentrasi DNA yang diperoleh maksimal (Langga et al., 2012). Setelah itu disentrifugasi, proses sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan partikel berdasarkan berat partikel tersebut terhadap densitas layangnya (Janwarsa, 2016).

Supernatan yang sudah dipindahkan, ditambah isopropanol lalu divorteks. Penambahan isopropanol berfungsi untuk menghilangkan molekul air dalam larutan DNA sehingga membantu proses pengendapan DNA dan dapat memisahkan DNA dari garam-garam mineral sisa dari Extraction Buffer. Selanjutnya, larutan diinkubasi dan disentrifugasi kembali untuk memisahkan pellet DNA dari supernatan. Pellet kemudian dicuci menggunakan etanol, divorteks, lalu disentrifugasi lagi. Etanol digunakan untuk membersihkan isopropanol, kemudian terakhir diberi buffer TE dan divorteks yang berfungsi untuk melarutkan DNA yang dihasilkan dan menjaganya agar tidak mudah rusak.

Kontaminan seperti protein dan fenol akan menyerap sinar UV pada panjang gelombang 280 nm, sedangkan pita ganda DNA dapat menyerap sinar UV pada 260 nm. Proporsi absorbansi terhadap panjang gelombang 260 nm dan 280 nm dapat digunakan untuk menentukan kemurnian DNA. Oleh karena itu, rasio absorbansi pada kedua panjang gelombang ini akan mengungkapkan kemurnian DNA. Kemurnian DNA yang baik adalah 1,8-2,0 dan konsentrasi di atas 100 ng/ μ L (Dewanata & Mushlih, 2021). Setelah ekstraksi DNA dilakukan, kemudian dapat dilihat hasilnya menggunakan Spektrofotometer NanoDrop, seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Hasil Spektrofotometer Ulangan Pertama

No	Variasi Suhu Inkubasi (mg)	Konsentrasi DNA (ng/ul)	Panjang Gelombang			Reaksi
			A230	A260	A280	Absorbansi A260/A280
1	61°C	93.35	0.866	1.867	0.983	1.895
2	63°C	115	2.676	2.3	1.506	1.545
3	65°C	215.08	5.881	4.301	1.901	2.276
4	67°C	174.88	3.286	3.497	2.292	1.835
5	69°C	58.57	0.557	1.171	0.641	1.536

Tabel 3.1 di atas merupakan hasil ekstraksi DNA konvensional menggunakan Spektrofotometer pada ulangan pertama. Kemurnian DNA diukur dari nilai yang diserap panjang gelombang 260 nm dibagi dengan nilai yang diserap panjang gelombang 280 nm. Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa variasi suhu inkubasi yang berbeda dapat mempengaruhi konsentrasi DNA, begitupun terhadap kemurniannya yang dapat dilihat pada rasio absorbansinya. Konsentrasi DNA yang dihasilkan dari masing-masing suhu sampel bervariasi antara 58.57 ng/ μ L – 215.08 ng/ μ L. Berdasarkan hasil ekstraksi DNA ulangan pertama tersebut, konsentrasi DNA tertinggi terdapat pada sampel yang diinkubasi pada suhu 65°C yaitu sebesar 215.08 ng/ μ L, sedangkan konsentrasi DNA terendah terdapat pada sampel yang diinkubasi pada suhu 69°C yaitu sebesar 58.57 ng/ μ L. Perbedaan konsentrasi DNA tersebut terjadi karena adanya pengaruh dari variasi suhu inkubasi, sampel yang diinkubasi pada suhu 65°C menghasilkan konsentrasi DNA paling tinggi karena merupakan suhu optimum yang sering digunakan, sedangkan pada suhu 69°C menghasilkan konsentrasi DNA yang rendah yang dapat disebabkan oleh hancurnya DNA pada suhu yang tinggi.

Pada tabel 3.1 dapat dilihat kemurnian yang dihasilkan dari masing-masing sampel bervariasi antara 1,536-2.276. Jika mengacu pada tabel, suhu inkubasi yang nilai kemurniannya masuk pada rentang 1,8-2 adalah sampel pada suhu 61°C dan 67°C dengan nilai kemurnian 1,835 dan 1.895. Sedangkan sampel yang lain menghasilkan nilai kemurnian di bawah 1.8 dan di atas 2. Tetapi, menurut Zuraeda (2018) dalam penelitiannya, konsentrasi yang dihasilkan berkisar antara 8,205 ng/ μ L hingga 88,943 ng/ μ L tetap dilanjutkan ke proses lebih lanjut dan dapat diterima menggunakan real-time PCR dan tingkat kemurnian jika masih di atas 1,0 masih dapat diterima dan dilanjutkan dengan proses analitik menggunakan real-time PCR.

Tabel 3.2 Hasil Spektrofotometer Ulangan Kedua

No	Variasi Suhu Inkubasi (mg)	Konsentrasi DNA (ng/ul)	Panjang Gelombang			Reaksi
			A230	A260	A280	Absorbansi A260/A280
1	61°C	91.74	0.845	1.834	0.999	1.834
2	63°C	100.52	0.993	2.01	1.983	1.864
3	65°C	197.08	5.531	3.941	1.557	2.549
4	67°C	175.18	5.916	3.035	1.803	1.817
5	69°C	74.96	0.734	1.199	0.843	1.710

Tabel 3.2 merupakan hasil ekstraksi DNA konvensional menggunakan spektrofotometer ulangan kedua. Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa konsentrasi DNA dihasilkan dari masing-masing sampel beragam dengan rentang dari 74,96 ng/μL hingga 197,08 ng/μL dan kemurnian dari 1,71 hingga 2,549. Hasil pada ulangan kedua menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan ulangan pertama. Berdasarkan hasil ekstraksi DNA ulangan kedua tersebut, konsentrasi DNA tertinggi terdapat pada sampel yang diinkubasi pada suhu 65°C yaitu dengan konsentrasi sebesar 197.08 ng/μL, sementara sampel dengan konsentrasi DNA paling rendah didapati pada sampel yang diinkubasi pada suhu 69°C yaitu sebesar 74.96 ng/μL.

Kontaminasi RNA dapat terjadi karena pada ekstraksi DNA secara konvensional dengan metode menggunakan PVP sesuai dengan ISO tidak ditambahkan RNase, sehingga terdapat kontaminasi RNA di dalam sampel. Berubahnya pH di dalam larutan atau terlalu tinggi suhu pada saat proses inkubasi dapat menyebabkan DNA terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal (ssDNA). Pernyataan tersebut sejalan dengan Sriati (2011) yang menyatakan bahwa Perlakuan suhu dan pH dapat memisahkan atau mendenaturasi molekul DNA untai ganda, menyebabkan perubahan konformasi pada DNA untai ganda. Semakin besar suhu, semakin banyak fragmen DNA yang berubah menjadi struktur untai tunggal, dan semakin tinggi atau rendah pH dari 8, semakin banyak fragmen DNA yang berubah menjadi DNA untai tunggal (ssDNA).

Berdasarkan tabel 3.2 dilihat pula kemurnian DNA yang nilainya berada pada bagian rasio absorbansi. Setiap sampel menghasilkan kemurnian yang beragam mulai dari 1,71 hingga 2,549. Menurut tabel 3.2, sampel pada suhu 61°C menghasilkan nilai kemurnian 1,834 berada dalam kisaran 1,8 hingga 2, sampel pada suhu 63°C memiliki nilai kemurnian 1,864 dan sampel pada suhu 67°C memiliki nilai kemurnian 1,817. Nilai rasio absorbansi atau nilai kemurnian pada ulangan kedua mendapatkan hasil yang lebih baik yang dapat dilihat dari sedikitnya sampel yang masih memiliki kontaminasi yaitu pada suhu 65°C dan 69°C.

Tabel 3.3 merupakan hasil ekstraksi DNA konvensional menggunakan Spektrofotometer ulangan ketiga. Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa konsentrasi DNA dihasilkan dari masing-masing sampel beragam dengan rentang dari 75,82 ng/μL hingga 198,98 ng/μL. Dari hasil ekstraksi DNA ulangan ketiga tersebut, sampel yang memiliki konsentrasi DNA paling banyak adalah pada sampel yang diinkubasi pada suhu 65°C yaitu dengan konsentrasi sebesar 198,98 ng/μL, sementara sampel dengan konsentrasi DNA paling rendah didapati pada sampel yang diinkubasi pada suhu 69°C yaitu sebesar 75,82 ng/μL.

Tabel 3.3 Hasil Spektrofotometer Ulangan Ketiga

No	Variasi Suhu Inkubasi (mg)	Konsentrasi DNA (ng/ul)	Panjang Gelombang			Reaksi Absorbansi
			A230	A260	A280	A260/A280
1	61°C	87.24	0.861	1.744	0.925	1.889
2	63°C	115.85	4.159	2.317	1.124	2.067
3	65°C	198.98	6.344	3.979	2.328	2.315
4	67°C	173.11	5.613	3.462	1.481	2.352
5	69°C	75.82	0.712	1.516	0.851	1.811

Berdasarkan tabel 3.3 dapat dilihat pula kemurnian DNA yang nilainya berada pada bagian rasio absorbansi. Kemurniaan yang dihasilkan dari masing-masing sampel bervariasi antara 1,811 – 2,352. Jika dibandingkan dengan ulangan kedua, hasil dari ulangan ketiga tidak lebih baik dikarenakan masih banyaknya sampel yang memiliki nilai di luar batas kemurnian DNA.

Tabel 3.4 Hasil Spektrofotometer Ulangan Keempat

No	Variasi Suhu Inkubasi (mg)	Konsentrasi DNA (ng/ul)	Panjang Gelombang			Reaksi Absorbansi
			A230	A260	A280	A260/A280
1	61°C	89.26	0.843	1.785	0.915	1.956
2	63°C	138.28	3.975	2.765	0.851	1.817
3	65°C	179.92	5.553	3.598	1.561	2.315
4	67°C	174.17	5.218	3.483	1.313	2.682
5	69°C	51.07	0.258	1.021	0.329	1.499

Tabel 3.4 merupakan hasil ekstraksi DNA konvensional menggunakan spektrofotometer ulangan keempat. Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa konsentrasi DNA dihasilkan dari masing-masing sampel beragam dengan rentang dari 51,07 ng/μL hingga 179,92 ng/μL. Di ulangan keempat sampel yang diinkubasi pada suhu 65°C memiliki nilai konsentrasi terbesar yaitu dengan konsentrasi sebesar 179,92 ng/μL, sementara sampel dengan konsentrasi DNA paling rendah didapati pada sampel yang diinkubasi pada suhu 69°C yaitu sebesar 51,07 ng/μL. Nilai konsentrasi yang rendah dapat disebabkan pada saat proses membuang atau memisahkan supernatan dari pellet, dimana pellet yang berisi DNA ikut terbuang sehingga konsentrasi DNA yang didapat tidak maksimal.

Berdasarkan tabel 3.4 dapat dilihat kemurnian DNA yang nilainya berada pada bagian rasio absorbansi. Setiap sampel menghasilkan kemurniaan yang beragam mulai dari 1,499 sampai 2,682. Jika mengacu pada tabel, sampel dengan suhu 61°C dan 63°C memiliki nilai kemurnian DNA yang baik, yaitu secara berurutan dengan nilai kemurnian DNA 1,956 dan 1,817. Nilai rasio absorbansi atau nilai kemurnian pada ulangan keempat, mendapatkan hasil yang cukup baik, dimana dua sampel memiliki kemurnian DNA pada rentang 1,8-2, sedangkan tiga sampel memiliki nilai kemurnian yang tidak jauh berbeda dengan nilai rentang tersebut. Nilai kemurnian di bawah 1,8 hal tersebut dapat dipicu oleh beberapa hal seperti perubahan pH dalam larutan sampel, serta

kemungkinan masih terdapat kontaminasi protein selama prosedur pencucian oleh isopropanol (Akhmad, 2016).

Tabel 3.5 Hasil Spektrofotometer Ulangan Kelima

No	Variasi Suhu Inkubasi (mg)	Konsentrasi DNA (ng/ul)	Panjang Gelombang			Reaksi Absorbansi
			A230	A260	A280	A260/A280
1	61°C	86.53	0.833	1.73	0.946	1.844
2	63°C	148.28	3.811	2.965	1.353	2.217
3	65°C	176.79	5.367	3.535	1.623	2.195
4	67°C	166.47	4.833	3.329	2.506	1.806
5	69°C	50.64	0.23	1.012	0.306	1.332

Tabel 3.5 merupakan hasil ekstraksi DNA konvensional menggunakan Spektrofotometer ulangan kelima. Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa konsentrasi DNA yang dihasilkan dari masing-masing sampel beragam dengan rentang dari 50,64 ng/μL hingga 176,79 ng/μL. Dari hasil ekstraksi DNA ulangan kelima tersebut, sampel yang memiliki konsentrasi DNA paling banyak adalah sampel yang diinkubasi pada suhu 65°C yaitu dengan konsentrasi sebesar 176,79 ng/μL, sementara sampel dengan konsentrasi DNA paling rendah didapati pada sampel yang diinkubasi pada suhu 69°C yaitu sebesar 50,64 ng/μL.

Berdasarkan tabel 3.5 dapat dilihat pula kemurnian DNA yang nilainya berada pada bagian rasio absorbansi. Setiap sampel menghasilkan kemurniaan yang beragam mulai dari 1,332 hingga 2,217. Jika mengacu pada semua tabel, hasil pada ulangan kelima memiliki hasil yang lebih baik dimana ada 4 sampel yang memiliki nilai kemurnian DNA yang baik yaitu pada suhu 61°C, 63°C, 65°C dan 67°C. Pernyataan ini selaras dengan Suryadi (2014) yang menyatakan bahwa kemurnian DNA cenderung bersifat fluktuatif atau keadaan yang berubah-ubah dapat naik atau turun.

Berdasarkan hasil keseluruhan, suhu 65°C merupakan suhu yang optimum dan menghasilkan konsentrasi dan nilai kemurnian DNA yang paling tinggi. Hal ini sejalan dengan panduan ISO 21571 dan hasil dna yang dihasilkan dapat dikatakan baik karena nilai konsentrasinya lebih dari 100 ng/μL dengan kemurnian berada pada rentang 1,8-2. Cahyanto dkk (2020) berpendapat bahwa nilai kemurnian yang lebih rendah dari nilai yang diharapkan dapat menunjukkan metode ekstraksi yang digunakan mungkin memerlukan perbaikan dan optimasi lebih lanjut.

4 KESIMPULAN

Metode *Polyvinylpyrrolidone* merupakan salah satu metode Ekstraksi DNA konvensional yang dapat dipakai untuk mendeteksi kandungan DNA pada suatu produk makanan. Penggunaan variasi suhu inkubasi memiliki pengaruh terhadap konsentrasi DNA dan nilai kemurnian DNA. Suhu 65°C merupakan suhu optimum yang menghasilkan konsentrasi DNA dan nilai kemurnian yang cukup baik, dengan rata-rata nilai konsentrasi 193,57 dengan rata-rata nilai kemurnian DNA 2,33.

UCAPAN TERIMAKASIH

Saya sangat bersyukur dan ingin mengucapkan terimakasih kepada Allah SWT atas kelancaran penelitian saya serta orang-orang yang sudah membantu saya dalam proses penelitian ini terutama

ibu Ayuni Adawiyah dan bapak Tri Cahyanto selaku dosen pembimbing I dan II. Selain itu, saya ingin mengucapkan terimakasih kepada rekan penelitian saya yaitu Herlangga dan Anisa Fauziah yang sudah bersama-sama melakukan penelitian ekstraksi DNA dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhmad, M. A. (2016). *Pengembangan Analisis Listeria Monocytogenes untuk Jajanan Pempek dengan Real-Time PCR*. Institut Pertanian Bogor.
- Cahyanto, T., Suryani, Y., Adawiyah, A., Kulsum, Y., & Kurniawan, I. (2020, Februari 13). *Detection of Pork Contamination on Meat-Based Foods at Public Elementary School In Bandung*. <https://doi.org/10.4108/eai.1-10-2019.2291685>
- Erwanto, Y., Rohman, A., Zainal Abidin, M., & Ariyani, D. (2012). IDENTIFIKASI DAGING BABI MENGGUNAKAN METODE PCR-RFLP GEN Cytochrome b DAN PCR PRIMER SPESIFIK GEN AMELOGENIN Pork Identifi cation Using PCR-RFLP of Cytochrome b Gene and Species Specific PCR of Amelogenin Gene. Dalam *Jl. Kaliurang Km* (Vol. 32, Issue 4).
- Fendriyanto, A., Dwinata, I. M., Oka, I. B., & Agustina, K. K. (2015). Identifikasi dan Prevalensi Cacing Nematoda pada Saluran Pencernaan Anak Babi di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*. *Medicus Veterinus Indonesia*, 4(5), 465–473.
- Janwarso, G. (2016). Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Hasil Pemeriksaan Sedimen Urin pagi metode konvensional [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah.
- Langga, I. F., Restu, M., & Kuswinanti, T. (2012). OPTIMALISASI SUHU DAN LAMA INKUBASI DALAM EKSTRAKSI DNA TANAMAN BITTI (*Vitex cofassus Reinw*) SERTA ANALISIS KERAGAMAN GENETIK DENGAN TEKNIK RAPD-PCR. *Jurnal Sains & Teknologi*, 265–276.
- Lessy, N. S., Wulandari, S. W., Supriyatin, E., & Syafeti, K. D. (2021). DETEKSI MOLEKULER CEMARAN DAGING BABI. 14(2), 275–281.
- Nugroho, K., Terryana, R., & Lestari, P. (2017). METODE EKSTRAKSI DNA CABAI (*Capsicum annum L.*) MENGGUNAKAN MODIFIKASI BUFER CTAB (CETHYL TRIMETHYL AMMONIUM BROMIDE) TANPA NITROGEN CAIR. *Scripta Biologica*, 4(2), 91–94.
- Pahlevi, M. R. (2013). Deteksi Cemaran Babi dengan Porcine Detection Kits pada Penggilingan Bakso di Kota Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Priadi, I. G. D., Sriyani, N. L. P., & Lindawati, S. A. (2016). TINGKAT CEMARAN MIKROBA DAGING BABI BALI DAN DAGING BABI LANDRACE. *Jurnal Peternakan Tropika*, 4(3), 673–684.
- Rahma, N. I. (Universitas I. N. M. M. I. M. (2016). KLASIFIKASI POLA RASA DAGING SAPI DAN DAGING BABI BERBASIS ELECTRONIC TONGUE DENGAN 17 ARRAY SENSOR MENGGUNAKAN METODE PRINCIPLE COMPONENT ANALYSIS (PCA) DAN CLUSTER ANALYSIS SKRIPSI Oleh : NIZARA ISNANDA RAHMA. xvii; 77.
- Sriati, N. (2011). Analisis Cemaran DNA Mitokondria Babi pada Produk Sosis Sapi yang Beredar di Wilayah Ciputat Menggunakan Metode Real Time PCR [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Suryadi, A. D (2014). Konstruksi Pustaka Genom dan Sekuensing Genom Total Kakao (*Theobroma cacao L*) [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.

- Wardani, A. K., Puji, E., & Sari, K. (2015). DETEKSI MOLEKULER CEMARAN DAGING BABI PADA BAKSO SAPI DI PASAR TRADISIONAL KOTA MALANG MENGGUNAKAN PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) Molecular Detection of Pork Contamination in Beef Meatballs in Malang Traditional Market Using PCR Method (Polymerase Cha. 3(4), 1294–1301.
- Wibowo, S. (2009). Membuat Bakso Sehat dan Enak. PT Penebar Swadaya.
- Zuraeda, K. (2018). Analisis Cemaran Daging Babi Pada Produk Bakso Sapi Yang Beredar Di Kecamatan Ciputat Timur Menggunakan Real Time Polymerasechain Reaction (Rt-Pcr). Analisa.