

**DETEKSI GEN BABI PADA ROTI YANG BEREDAR DI KOTA PADANG
MENGUNAKAN METODE PCR**

Natasya Octaviani, Martinus, Epi Supri Wardi

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang

ABSTRAK

Roti merupakan salah satu jenis makanan yang menggunakan bahan tambahan makanan yang sangat kompleks, sehingga ada beberapa titik kritis peluang masuknya bahan haram kedalam produk *bakery*, seperti tepung terigu, bahan pengembang, kuas bulu babi, *rhum*, daging dan produk olahannya, *emulsifier*, *ovalet*, *shortening*, margarin, ragi, keju, *creamer*, gelatin, TBM, dan coklat. Proses pengujian sampel tersebut dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang spesifik terhadap DNA suatu organisme. *Primer* yang digunakan adalah *primer pork*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil dari sampel roti A, B, dan C positif mengandung DNA *cytb* (cytochrome b) babi. Hal tersebut diketahui dari munculnya pita DNA pada daerah 130 bp. Dari hasil sequencing sampel roti B, hasilnya roti B menunjukkan kemiripan 100% dengan *Sus scrofa isolate RC mitochondrion, complete genom*.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan mayoritas pemeluk agama Islam, Indonesia memiliki jumlah penduduk yang beragama muslim sebesar 209,28 juta jiwa, sekitar 88,10 persen dari jumlah penduduk di Indonesia. Salah satu konsep halal dalam Islam adalah makanan harus tidak mengandung sedikitpun kandungan babi. Kehadiran komponen kandungan babi ini, meskipun persentasenya kecil dalam bahan pangan, akan membawa makanan tersebut menjadi haram untuk dikonsumsi (Mudhafier dan Fadhlán, 2004).

Semakin berkembangnya produsen makanan di Indonesia, keamanan pangan menjadi salah satu isu yang menyita perhatian beberapa organisasi kesehatan di dunia. Badan Kesehatan Dunia (WHO) dan *Food and Agriculture Organization* (FAO) saat ini memberikan penekanan bagi seluruh negara agar memperkuat sistem keamanan pangan. Negara-negara diminta untuk meningkatkan kewaspadaan terhadap para produsen dan penjual yang terlibat dalam industri pangan. Salah satu kejadian yang terkait isu keamanan pangan baru-baru ini, seperti temuan lemak babi pada produk makanan dan minuman (Mayasari dan Nur, 2007).

Bagian babi yang banyak digunakan adalah lemak (lard atau pork tallow). Lemak ini digunakan untuk pembuatan kue atau cake yang dipanggang yang dikenal dengan shortening. Shortening adalah lemak padat yang mempunyai sifat plastis dan kestabilan tertentu, biasanya berwarna putih yang disebut margarine

putih. Shortening berfungsi untuk memperbaiki tekstur, cita rasa, struktur, keempukan dan memperbesar volume kue atau roti (Yoga, 2009)

Penelitian ilmiah modern di dua negara yaitu Cina dan Swedia menyatakan bahwa daging babi merupakan penyebab utama kanker anus dan kolon. Babi banyak mengandung parasit, bakteri, bahkan virus yang berbahaya sehingga dikatakan sebagai Reservoir Penyakit (Yoga, 2009).

Ilmu kedokteran mengetahui bahwa ada resiko besar atas banyak macam penyakit. Babi diketahui sebagai inang dari banyak macam parasit dan penyakit berbahaya. Sangat penting untuk diperhatikan bahwa sistem *biochemistry* babi mengeluarkan hanya 2% dari seluruh kandungan *uric acid* nya, sedangkan 98% sisanya tersimpan dalam tubuhnya (Mul Khan dkk, 2004)

Reaksi Polimerase Berantai atau dikenal sebagai *Polymerase Chain Reaction* (PCR), merupakan suatu proses sintesis enzimatik untuk melipatgandakan suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro*. Metode ini dikembangkan pertama kali oleh Kary B. Mullis pada tahun 1985. Metode ini sekarang telah banyak digunakan untuk berbagai macam manipulasi dan analisis genetik. Pada awal perkembangannya metode ini hanya digunakan untuk melipatgandakan molekul DNA, tetapi kemudian dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat digunakan pula untuk melipatgandakan dan melakukan kuantitas molekul mRNA (Mahmudin, 2010).

Penelitian Fibriana dkk. (2012) yang dilakukan di kota Salatiga, memperoleh hasil bahwa 1 sampel bakso positif mengandung babi dan 12 sampel bakso negatif babi. Metode yang digunakan adalah PCR, dengan primer yang digunakan adalah

primer P14. Primer ini dapat mengamplifikasi lokus PRE-1 pada genom babi pada panjang basa 481 bp. Penelitian Tanabe dkk (2007) dilakukan untuk mendeteksi ada tidaknya DNA babi pada 25 daging dan makanan olahan. Metode yang digunakan adalah PCR, dengan primer *pork* yang dapat mengamplifikasi mitokondria DNA babi pada panjang basa 130 bp. Hasil yang diperoleh terdapat 21 sampel positif mengandung DNA babi, sedangkan 4 sampel negatif mengandung DNA babi.

Berdasarkan uraian diatas maka, peneliti ingin melakukan pemeriksaan cemaran babi pada roti di kota Padang dengan metoda PCR dengan menggunakan primer *pork*.

1.2 Perumusan Masalah

Apakah terdapat kandungan babi pada roti yang beredar dikota Padang yang dideteksi dengan menggunakan primer *pork*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi adanya gen babi pada roti yang beredar di Kota Padang dengan menggunakan primer *pork*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang roti yang beredar berasal dari gen babi yang dijual di daerah Pondok Kota Padang dengan melakukan pendeteksian DNA gen babi pada sampel dengan menggunakan primer *pork*.

-
2. Hasil penelitian ini diharapkan bisa memberikan informasi kepada masyarakat mengenai roti yang mengandung gen babi agar masyarakat dapat memilih makanan yang benar-benar halal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum

2.1.1. Roti

Roti adalah makanan yang terbuat dari tepung terigu, air, dan ragi yang pembuatannya melalui tahap pengulenan, fermentasi (pengembangan), dan pemanggangan dalam oven. Bahan dan proses yang dilaluinya membuat roti memiliki tekstur yang khas. Dilihat dari cara pengolahan akhirnya, roti dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu roti yang dikukus, dipanggang, dan yang digoreng. Bakpao dan mantao adalah contoh roti yang dikukus. Donat dan panada merupakan roti yang digoreng. Sedangkan aneka roti tawar, roti manis, pita *bread*, dan *baquette* adalah roti yang dipanggang (Sufi, 1999).

Roti merupakan salah satu pangan olahan yang terbentuk dari fermentasi terigu dengan menggunakan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) atau bahan pengembang lainnya kemudian dipanggang (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

Menurut Gaman dan Sherington (1992) komposisi roti tawar dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Komposisi Kimia Roti Tawar dalam 100 g Bahan

Komposisi	Jumlah
Protein (g)	8.0
Karbohidrat (g)	50.0
Lemak (g)	1.5
Air (g)	39.0
Vitamin dan mineral (g)	1.5

Sumber : Gaman dan Sherington (1992)

Proses pembuatan roti tawar tersebut pada dasarnya sama saja. Perbedaannya, roti ditambahkan *essens* yang dilakukan pada saat pencampuran adonan. Banyaknya penambahan *essens* untuk satu kg adonan sekitar seperempat sendok teh. Sementara perbedaan roti dengan atau tanpa kulit adalah proses yang dilakukan setelah roti matang (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

2.1.2. Bahan-bahan Pembuatan Roti

2.1.2.1. Tepung Terigu

Tepung terigu diperoleh dari pengolahan biji gandum yang sehat dan telah dibersihkan. Tepung terigu hasil penggilingan harus bersifat mudah tercurah, kering, tidak mudah menggumpal jika ditekan, berwarna putih, bebas dari kulit, tidak berbau asing seperti busuk, tidak berjamur atau tengik, juga bebas dari serangga, tikus, kotoran, dan kontaminasi benda-benda asing lainnya. Yang harus dipertimbangkan adalah terutama kadar protein tepung terigu dan kadar abunya. Kadar protein mempunyai korelasi yang erat dengan kadar glutein, sedangkan kadar abu erat hubungannya dengan tingkat dan kualitas adonan (Sunaryo, 1985).

Tepung merupakan bahan baku utama roti. Tepung yang biasa digunakan untuk roti adalah tepung gandum, jagung, *haver mouth*, dsb. Untuk roti yang memerlukan pemuai, lebih baik digunakan tepung gandum, karena beberapa jenis protein yang terdapat pada gandum jika dicampur dengan air akan menghasilkan glutein. Glutein inilah yang dapat membuat roti mengembang selama proses pembuatan. Jaringan sel-sel ini juga cukup kuat untuk menahan

gas yang dibuat oleh ragi sehingga adonan tidak mengempis kembali (Sufi, 1999).

Tepung terigu yang digunakan sebaiknya yang mengandung gluten 8-12%. Terigu ini tergolong *medium hard flour* di pasaran dikenal dengan merek Segitiga Biru atau Gunung Bromo. Gluten adalah protein yang terdapat pada terigu. Gluten bersifat elastis sehingga akan mempengaruhi sifat elastisitas dan tekstur roti yang dihasilkan (Widyaningsih dan Murtini, 2006).

Tabel 2. Komposisi kimia tepung terigu

Komposisi	Jumlah
Kalori (kal)	365
Protein (g)	8.9
Lemak (g)	1,3
Karbohidrat (g)	77.3
Kalsium (mg)	16
Fosfor (mg)	106
Besi (mg)	1.2
Vit A (SI)	0
Vit B1 (mg)	0.12
Vit C (mg)	0
Air (g)	12.0
Bdd (%)	100

Sumber : Departemen Kesehatan RI (1996)

2.1.2.2. Tepung Jagung

Proses pembuatan tepung jagung melalui tahap-tahap penggilingan kasar hingga diperoleh beras jagung, pemisahan kulit dan lembaga, penggilingan halus dan pengayakan (Rukmana, 1997).

Jagung mengandung karbohidrat sekitar 71 - 73% yang terutama terdiri dari pati, sebagian kecil gula dan serat. Jagung mengandung sekitar 10 persen protein. Kandungan lemak sekitar 5%. Jagung hanya mengandung sedikit kalsium,

kemudian fosfor dan zat besi terdapat dalam jumlah yang sedikit banyak (Syarief dan Irawati, 1988).

Komposisi kimia tepung jagung dalam 100 g bahan menurut Departemen Kesehatan RI ditampilkan pada Tabel 3:

Tabel 3. Komposisi Kimia Tepung Jagung dalam 100 g Bahan

Komposisi	Jumlah
Kalori (kal)	355
Protein (g)	9.2
Lemak (g)	3.9
Karbohidrat (g)	73.7
Kalsium (mg)	10
Fosfor (mg)	256
Besi (mg)	2,4
Vit A (SI)	510
Vit B1 (mg)	0.38
Vit C (mg)	0
Air (g)	12.0
Bdd (%)	100

Sumber : Departemen Kesehatan RI, (1996)

2.1.2.3. Air

Dalam pembuatan roti, air berfungsi sebagai penyebab terbentuknya gluten serta pengontrol kepadatan dan suhu adonan. Selain itu, air berperan sebagai pelarut garam, penyebar dan pelarut bahan-bahan bukan tepung secara seragam dan memungkinkan adanya aktivitas enzim (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

Air berfungsi sebagai media glutein dengan karbohidrat, larutan garam dan membentuk sifat kenyal glutein. Air yang digunakan sebaiknya memiliki pH 6 – 9.makin tinggi pH air maka roti yang dihasilkan baik karena absorpsi air meningkat dengan meningkatnya pH. Selain pH, air yang digunakan harus air yang memenuhi persyaratan sebagai air minum, diantaranya tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak berasa (Astawan, 2006).

2.1.2.4. Garam Dapur

Pengolahan bahan makanan yang dilakukan dengan pemberian garam NaCl atau gula pada konsentrasi tinggi, dapat mencegah kerusakan bahan pangan. Pada konsentrasi NaCl sebesar 2 - 5% yang dikombinasikan pada suhu rendah, cukup untuk mencegah pertumbuhan mikroba *psikrofilik* (Supardi dan Sukanto, 1999).

Garam juga mempengaruhi aktivitas air (*aw*) dari bahan, jadi mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme dengan suatu metoda yang bebas dari pengaruh racunnya. Garam ditambahkan terutama sebagai bahan flavor tetapi juga untuk memperbaiki tekstur sosis dan daya awet (Buckle *et al*, 1987)

Fungsi garam dalam pembuatan roti adalah penambah rasa gurih, pembangkit rasa bahan-bahan lainnya, pengontrol waktu fermentasi dari adonan beragi, penambahan kekuatan gluten. Syarat garam yang baik dalam pembuatan roti adalah harus seratus persen larut dalam air, jernih, bebas dari gumpalan-gumpalan dan bebas dari rasa pahit (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

2.1.2.5. Gula

Gula ditambahkan pada jenis roti tertentu untuk melengkapi karbohidrat yang ada untuk proses fermentasi dan untuk memberikan rasa manis pada roti. Akan tetapi gula lebih banyak dipakai dalam pembuatan biskuit dan kue, dimana selain memberikan rasa manis gula juga mempengaruhi tekstur (Buckle *et al*, 1987).

Gula sangat penting peranannya dalam pembuatan roti, diantaranya sebagai makanan ragi, memberi rasa, mengatur fermentasi, memperpanjang umur roti, menambah kandungan gizi, membuat tekstur roti menjadi lebih empuk,

memberikan daya pempasahan pada roti dan memberikan warna cokelat yang menarik pada roti (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

2.1.2.6. Ragi Roti

Penggunaan khamir untuk meragi atau membuat adonan mengembang dalam pembuatan roti telah tercatat dalam sejarah jaman dahulu diantara bangsa Yahudi, Mesir, Yunani, dan Romawi. Pada masa itu roti yang diragi dibuat dengan cara mencampurkan sisa adonan roti sebelumnya (yang mengandung khamir) dengan adonan roti baru. Kebiasaan lain yang telah digunakan sejak abad pertengahan ialah menggunakan kelebihan khamir dari pembuatan bird an anggur. Tetapi karena produk - produk semacam itu mempunyai mutu yang beragam, maka kebiasaan itu tidak memuaskan untuk dipakai dalam produksi komersial secara besar - besaran (Pelezar dan Chan, 2013).

Saccharomyces cerevisiae dapat diperoleh dari ragi roti. Ragi roti mengandung *Saccharomyces cerevisiae* yang telah mengalami seleksi, mutasi, atau hibridasi untuk meningkatkan kemampuannya dalam memfermentasi gula dengan baik dalam adonan dan mampu tumbuh dengan cepat (Pelezar dan Chan, 2013).

Saccharomyces cerevisiae dalam bentuk ragi dapat langsung digunakan sebagai inokulum pada produksi etanol sehingga tidak diperlukan penyiapan inokulum secara khusus (Salasabila, 2015).

Untuk pembuatan roti, sebagian besar ragi berasal dari mikroba jenis *Saccharomyces cerevisiae*. Agar mikroba dapat beraktivitas optimal maka beberapa persyaratan harus dipenuhi diantaranya sebagai berikut :

- 1) Adanya keseimbangan gula, garam, terigu dan air.
- 2) Agar mikroba tumbuh baik maka pH diatur berkisar 2,0 - 4,5, oksigen cukup tersedia karena mikroba yang hidup bersifat aerob dan suhu pengolahan sekitar 30°C (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

2.1.2.7. Mentega

Shortening adalah lemak padat yang memiliki sifat plastis dan kestabilan tertentu, umumnya berwarna putih sehingga sering disebut mentega putih. Bahan ini diperoleh dari pencampuran dua atau lebih lemak, atau dengan cara hidrogenase. Mentega putih ini banyak digunakan dalam bahan pangan terutama dalam pembuatan *cake* dan kue yang dipanggang. Fungsinya adalah untuk memperbaiki citarasa, struktur, tekstur, keempukan, dan memperbesar volume roti atau kue (Winarno, 1997).

Mentega dapat dibuat dari lemak susu yang manis atau yang asam. Mentega dari lemak yang asam memiliki citarasa yang kuat. Lemak susu dapat dibiarkan menjadi asam secara spontan atau dapat dimasamkan dengan penambahan pupuk murni bakteri asam laktat pada lemak susu yang manis yang telah dipasteurisasikan, sehingga memungkinkan terjadinya fermentasi (Winarno, 1997).

2.1.2.8. Susu

Pada pembuatan roti, untuk tepung jenis lunak (*soft*) atau berprotein rendah, penambahan susu lebih banyak dibandingkan tepung jenis keras (*hard*) atau berprotein tinggi. Penambahan susu sebaiknya berupa susu padat. Alasannya, susu padat menambah penyerapan (absorpsi) air dan memperkuat adonan. Bahan padat

bukan lemak (BPBL) pada susu padat tersebut berfungsi sebagai bahan penyegar protein tepung sehingga volume roti bertambah (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

2.1.2.9. Telur

Roti yang lunak dapat diperoleh dengan penggunaan kuning telur yang lebih banyak. Kuning telur banyak mengandung lesitin (*emulsifier*). Bentuknya padat, tetapi kadar air sekitar 50 %. Sementara putih telur kadar airnya 86 %. Putih telur memiliki daya *creaming* yang lebih baik dibandingkan kuning telur (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

Telur adalah sumber makanan zat protein hewani yang bernilai zat gizi tinggi. Untuk dunia kuliner telur sangat penting peranannya, karena telur banyak kegunaannya di dalam masak-memasak. Fungsi telur dalam penyelenggaraan gizi kuliner sebagai pengental, perekat atau pengikat (Tarwotjo, 1998)

Komposisi kimia telur ayam dalam 100 g bahan ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Kimia Telur Ayam dalam 100 g Bahan

Komposisi	Jumlah
Kalori (kal)	162
Protein (g)	12.8
Lemak (g)	11.5
Karbohidrat (g)	0.7
Kalsium (mg)	54
Fosfor (mg)	180
Besi (mg)	2.7
Vit A (SI)	900
Vit B1 (mg)	0.10
Vit C (mg)	0
Air (g)	74.0
Bdd (%)	90.0

Sumber : Departemen Kesehatan RI (1996)

2.1.2.10. Natrium Propionat

Asam propionat ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$) yang memiliki struktur yang terdiri dari tiga atom karbon tidak dapat dimetabolisasi oleh mikroba. Hewan tingkat tinggi dan manusia dapat memetabolisasi asam propionat ini seperti asam lemak biasa. Propionat biasa digunakan dalam bentuk garam Na dan Ca. Propionat efektif terhadap beberapa kapang dan khamir pada pH diatas 5 (Winarno, 1997).

2.1.3. DNA (Deoxyribonucleic Acid)

Deoxyribonucleic Acid (DNA) atau Asam Deoxyribonukleat (ADN) adalah materi genetik dari sebagian besar organisme yang menyimpan informasi. Sebagai contoh, pada DNA manusia menyimpan informasi tentang warna kulit, warna dan bentuk rambut, pupil mata, bentuk hidung, wajah, dan telinga (Brookers, 2005).

2.1.3.1. Struktur DNA

Bentuk molekul DNA sangat unik yaitu dua untai yang berpilin menyerupai tangga spiral atau dikenal dengan Heliks Ganda atau Double Helix dan berputar ke kanan sesuai dengan arah jarum jam. DNA dari satu sel tubuh manusia mengandung kira-kira 3.000 juta basa nitrogen dan apabila DNA dari semua sel tubuh manusia direntangkan dari ujung ke ujung, panjangnya sama dengan jarak bumi ke bulan bolak-balik atau lebih dari 700.000 kilometer (Brookers, 2005). Meskipun sangat panjang, sebenarnya DNA merupakan molekul yang sederhana, hanya terdiri dari 4 macam nukleotida yang ditandai oleh huruf A untuk Adenin, G untuk Guanin, C untuk Sitosin, dan T untuk Timin. Dalam struktur DNA, rantai DNA tersusun secara bervariasi oleh ke-4 macam

basa nitrogen tersebut. Selain itu, ke-4 macam basa ini selalu berpasangan, yaitu A-T dan C-G sehingga jumlah A selalu sama dengan jumlah T dan jumlah G selalu sama dengan jumlah C. Maka, ketika terdapat suatu sekuens DNA maka dapat diketahui pasangan sekuens DNA tersebut berdasarkan jenis basa nukleotidanya.

2.1.4. Babi

Babi termasuk ke dalam family suidae yaitu ternak non ruminansia dan dalam genus *Sus* (babi liar). Babi yang ada pada saat ini diperkirakan merupakan keturunan dari *Sus scrofa* dan *Sus vitatus*. *Sus scrofa* memiliki tubuh besar, kepala runcing dan taring yang panjang. Pada sebagian leher terdapat bulu panjang dan kasar, kaki depan dan belakangnya besar. *Sus vitatus* tubuhnya lebih kecil dengan bulu halus dan kaki depan serta belakangnya lebih kecil. Pada dasarnya bangsa babi yang ada di Indonesia merupakan bangsa babi yang berasal dari tetua *Sus vitatus* yang saat ini masih banyak terdapat pada hutan-hutan di daerah Indonesia, namun karena perbedaan iklim, daerah lingkungan, pakan dan sebagainya sehingga muncul bangsa-bangsa babi jinak yang ada (Sihombing, 1997).

Analisis kimia dari darah babi menunjukkan adanya kandungan yang tinggi dari uric acid (asam urat), suatu senyawa kimia yang bisa berbahaya bagi kesehatan manusia. Dalam tubuh manusia, senyawa ini dikeluarkan sebagai kotoran, dan dalam kenyataannya 98% dari uric acid dalam tubuh, dikeluarkan dari dalam darah oleh ginjal, dan dibuang keluar tubuh melalui air seni. Jika organ-organ, misalnya jantung, hati, atau otak dirusak, hewan tersebut dapat mati seketika dan darahnya akan menggumpal dalam urat-uratnya dan akhirnya

mencemari daging. Hal tersebut mengakibatkan daging hewan akan tercemar oleh uric acid, sehingga menjadikannya beracun; hanya pada masa kini lah, para ahli makanan baru menyadari akan hal ini (Yoga,2009).

Penelitian ilmiah modern di dua negara yaitu Cina dan Swedia menyatakan bahwa daging babi merupakan penyebab utama kanker anus dan kolon. Babi banyak mengandung parasit, bakteri, bahkan virus yang berbahaya sehingga dikatakan sebagai Reservoir Penyakit (Yoga, 2009).

Babi mengandung banyak macam parasit dan bisa menyebabkan penyakit cacangan. Pemanfaatan babi sangat luas seperti pada industri pangan, farmasi, kosmetik, dan sebagainya. Bahkan lebih banyak digunakan dan dipilih oleh produsen karena nilai ekonomisnya. Jika ditinjau lebih jauh, sebenarnya dibalik pengharaman babi terdapat banyak manfaat untuk manusia. Beberapa surat dalam Al-Quran menyebutkan bahwa daging babi termasuk makanan haram. Penyebutan daging babi dikarenakan pada hewan babi, pemanfaatan paling banyak adalah dagingnya. Namun pengharaman tersebut tidak hanya pada dagingnya, namun keseluruhan dari babi termasuk kulitnya, rambutnya, tulangnya, lemaknya, maupun anggota tubuh lainnya (Ali, 2016).

Jika diamati dari pola hidupnya, babi termasuk hewan yang biasa mengonsumsi kotorannya sendiri dan benda-benda najis lainnya. Konsumsi babi dalam bentuk apapun, baik itu pork chops, bacon, atau ham memiliki efek yang berbahaya bagi tubuh. Babi menjadi inang dari banyak macam parasit dan penyakit berbahaya bagi manusia. Babi hanya mengeluarkan 2% dari seluruh kandungan asam uratnya dan 98% masih tersimpan dalam tubuh. Beberapa

cacing yang terdapat pada babi antara lain *Taenia solium* yang dapat masuk ke peredaran darah dan menyebabkan penyakit Taeniasis yaitu adanya gangguan pada otak, hati, saraf tulang, dan paru-paru, *Trichinella spiralis* dapat menginfeksi otot-otot, gangguan pernafasan, gangguan menelan, pembesaran kelenjar limfe, radang otak (ensefalitis) dan radang selaput otak (meningitis). Fasciolopsis buski dapat menyebabkan gangguan pencernaan, diare, dan pembengkakan pada tubuh, serta *Clonorchis sinensis* merupakan trematoda pada hati yang menyebabkan penyakit klonorkiasis (Yulianto *et al*, 2015).

Kemudian penelitian lain juga menyebutkan terdapatnya empat jenis cacing nematoda yang menyerang organ usus halus pada babi di Papua yaitu, *Strongyloides ransomi*, *Ascaris suum*, *Macracanthorhynchus hirudinaceus* dan *Globocephalus urosubulatus*. Pada babi juga ditemukan adanya virus Classical Swine Fever atau Hog Cholera yang menyebabkan radang kulit manusia yang memperlihatkan warna merah dan suhu tubuh tinggi (Crompton *et al*, 1985).

2.2. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Reaksi berantai polymerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) adalah suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro*. PCR ini pertama kali dikembangkan pada tahun 1985 oleh Kary B. Mullis. Amplifikasi DNA pada PCR dapat dicapai bila menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Primer DNA suatu sekuens oligonukleotida pendek yang berfungsi mengawali sintesis rantai DNA. PCR memungkinkan dilakukannya pelipatgandaan suatu fragmen DNA. Umumnya primer yang digunakan pada PCR terdiri dari 20-30 nukleotida. DNA template (cetakan) yaitu fragmen DNA yang

akan dilipatgandakan dan berasal dari patogen yang terdapat dalam spesimen klinik. Enzim DNA polimerase merupakan enzim termostabil Taq dari bakteri termofilik *Thermus aquaticus*. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) menempel pada ujung 3' primer ketika proses pemanjangan dan ion magnesium menstimulasi aktivasi polimerase (Mahardika, 2005)

2.2.1. Komponen Utama PCR

Menurut (Muladno, 2002) Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama adalah :

- a. DNA cetakan, yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan. DNA cetakan yang digunakan sebaiknya berkisar antara 10^5 - 10^6 molekul. Dua hal penting tentang cetakan adalah kemurnian dan kuantitas.
- b. Oligonukleotida primer, yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (18 - 28 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis rantai DNA. Dan mempunyai kandungan G + C sebesar 50 - 60%.
- c. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP. dNTP mengikat ion Mg^{2+} sehingga dapat mengubah konsentrasi efektif ion. Ini yang diperlukan untuk reaksi polimerasi.
- d. Enzim DNA Polimerase, yaitu enzim yang melakukan katalisis reaksi sintesis rantai DNA. Enzim ini diperoleh dari *Eubacterium* yang disebut *Thermus aquaticus*, spesies ini diisolasi dari taman *Yellowstone* pada tahun 1969. Enzim polimerase taq tahan terhadap pemanasan berulang-ulang yang akan membantu melepaskan ikatan primer yang tidak tepat dan meluruskan wilayah yang mempunyai struktur sekunder.

- e. Komponen pendukung lain adalah senyawa buffer. Larutan buffer PCR umumnya mengandung 10 - 50 mM Tris-HCl pH 8,3 - 8,8 (suhu 20°C); 50 mM KCl; 0,1% gelatin atau BSA (Bovine Serum Albumin); Tween 20 sebanyak 0,01% atau dapat diganti dengan Triton X-100 sebanyak 0,1%; disamping itu perlu ditambahkan 1,5 mM MgCl₂.

Pada proses PCR menggunakan menggunakan alat termosiklus. Sebuah mesin yang memiliki kemampuan untuk memanaskan sekaligus mendinginkan tabung reaksi dan mengatur temperatur untuk tiap tahapan reaksi.

2.2.2. Cara Kerja

Menurut (Yuwono dan Tribowo, 2006) ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30 - 40 siklus dan berlangsung dengan cepat :

- a. Denaturasi

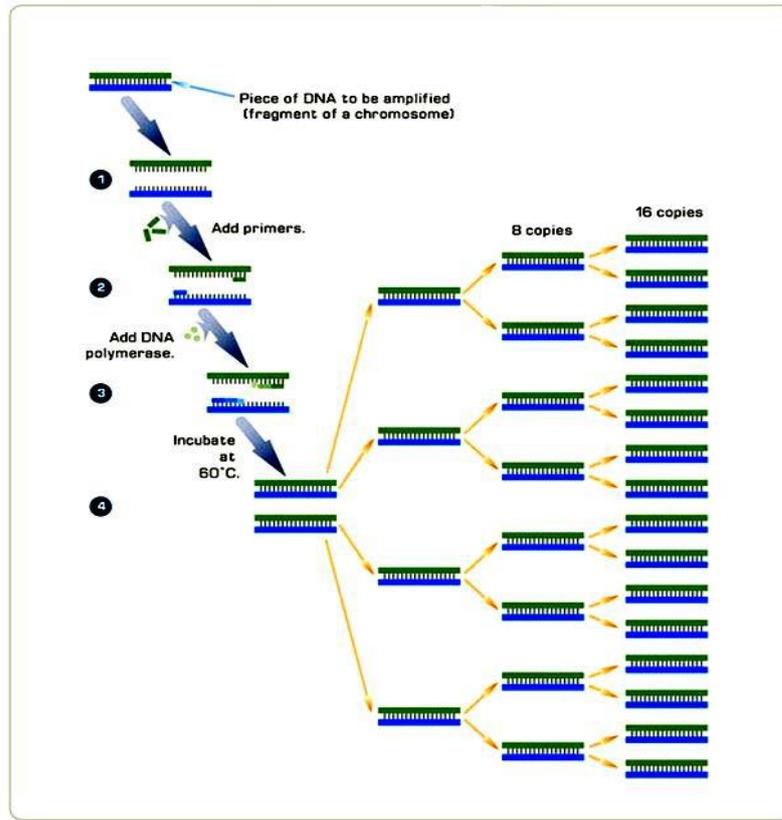
Di dalam proses PCR, denaturasi awal dilakukan sebelum enzim taq polimerase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Denaturasi DNA merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Ini biasanya berlangsung sekitar 3 menit, untuk meyakinkan bahwa molekul DNA terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal. Denaturasi yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat, dan ini mengakibatkan gagalnya proses PCR. Adapun waktu denaturasi yang terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim Taq polymerase. Aktifitas enzim tersebut mempunyai waktu paruh lebih dari 2 jam, 40 menit, 5 menit masing-masing pada suhu 92,5; 95 dan 97,5°C.

b. Annealing (penempelan primer)

Kriteria yang umum digunakan untuk merancang primer yang baik adalah bahwa primer sebaiknya berukuran 18 - 25 basa, mengandung 50 - 60 % G+C dan untuk kedua primer tersebut sebaiknya sama. Sekuens DNA dalam masing-masing primer itu sendiri juga sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena hal ini akan mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer tersebut dan mengurangi efisiensi PCR. Waktu annealing yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30 - 45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50°C - 60°C.

c. Pemanjangan Primer (Extention)

Selama tahap ini Taq polymerase memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'.Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72°C diperkirakan 35 - 100 nukleotida/detik, bergantung pada buffer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Dengan demikian untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap perpanjangan primer ini. Biasanya di akhir siklus PCR waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit sehingga seluruh produk PCR diharapkan terbentuk DNA untai ganda.



Gambar 1. Siklus PCR (Sumber : Mordechai, 1999)

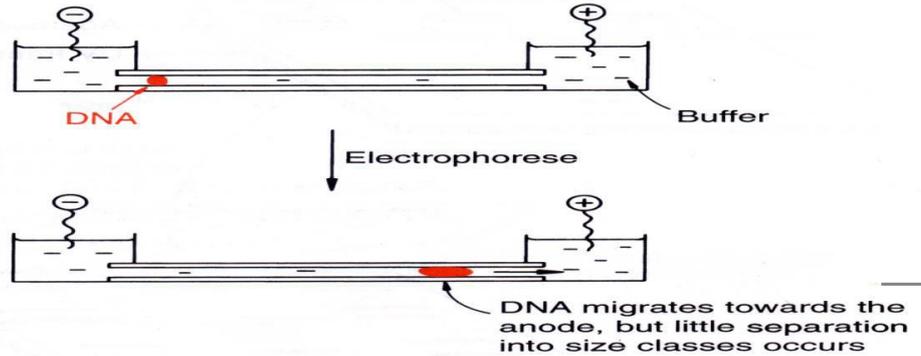
- 1) Denaturasi pada suhu 90°C - 95°C ;
- 2) Annealing pada suhu 37°C - 65°C ;
- 3) Ekstension pada suhu 72°C ;
- 4) Siklus pertama selesai

Reaksi-reaksi tersebut di atas diulangi lagi dari 20 - 40 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan diperoleh molekul-molekul DNA rantai ganda yang baru yang merupakan hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan. Banyaknya siklus amplifikasi tergantung pada konsentrasi DNA target dalam campuran reaksi.

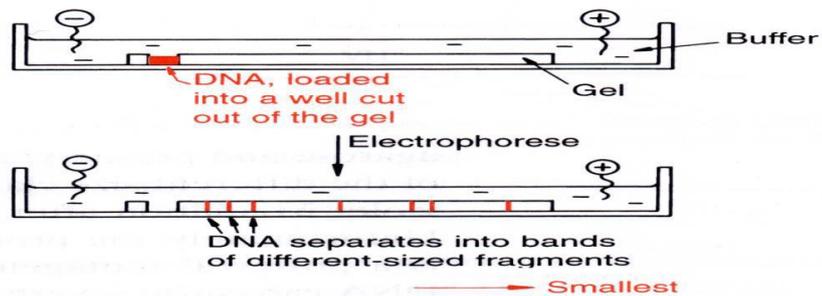
Produk PCR dapat diidentifikasi melalui ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Metode ini terdiri atas menginjeksi DNA ke dalam gel

agarosa dan menyatukan gel tersebut dengan listrik. Hasilnya untai DNA kecil pindah dengan cepat dan untai yang besar diantara gel menunjukkan hasil positif.

(a) Standard electrophoresis



(b) Gel electrophoresis



Gambar 2. Metode Elektroforesis (Sumber : Mordechai, 1999)

Keunggulan PCR dikatakan sangat tinggi. Hal ini didasarkan atas spesifitas, efisiensi dan keakuratannya. Spesifitas PCR terletak pada kemampuannya mengamplifikasi sehingga menghasilkan produk melalui sejumlah siklus. Keakuratan yang tinggi karena DNA polimerase mampu menghindari kesalahan pada amplifikasi produk. Masalah yang berkenaan dengan PCR yaitu biaya PCR yang masih tergolong tinggi.

Selain itu kelebihan lain metode PCR dapat diperoleh pelipatgandaan suatu fragmen DNA (110 bp, 5×10^{-9} mol) sebesar 200.00 kali setelah dilakukan 20 siklus reaksi selama 220 menit. Reaksi ini dilakukan dengan menggunakan

komponen dalam jumlah sangat sedikit, DNA cetakan yang diperlukan hanya sekitar 5 ug oligonukleotida yang diperlukan hanya sekitar 1 mM dari reaksi ini biasa dilakukan dalam volume 50 - 100 ul. DNA cetakan yang digunakan juga tidak perlu dimurnikan terlebih dahulu sehingga metode PCR dapat digunakan untuk melipatgandakan suatu sekuen DNA dalam genom bakteri hanya dengan mencampurkan kultur bakteri di dalam tabung PCR .

2.2.3. Jenis PCR

Menurut (Habibah, 2009) teknik PCR dapat dimodifikasi ke dalam beberapa jenis diantaranya:

1. *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*; metode ini digunakan untuk membedakan organisme berdasarkan analisis model derivat dari perbedaan DNA.
2. *Inverse-PCR*, metode ini digunakan ketika hanya satu sekuen internal yang diketahui. Template didigesti dengan enzim restriksi yang memotong bagian luar daerah yang akan diamplifikasi, fragmen restriksi yang dihasilkan ditempelkan dengan ligasi dan diamplifikasi dengan menggunakan sekuen primer yang memiliki titik ujung yang memiliki jarak yang jauh satu sama lain dengan segmen eksternal yang telah tergabung. Metode ini khusus digunakan untuk mengidentifikasi "sekuen antara" dari beragam gen.
3. *Nested-PCR*, proses ini memungkinkan untuk mengurangi kontaminasi pada produk selama amplifikasi dari penyatuan primer yang tidak diperlukan. Dua set primer digunakan untuk mendukung metode ini, set kedua mengamplifikasi target kedua selama proses pertama berlangsung. Sekuens

DNA target dari satu set primer yang disebut *primer inner* disimpan di antara sekuens target set kedua dari primer yang disebut sebagai *outer primer*. Pada prakteknya, reaksi pertama dari PCR menggunakan *outer primer*, lalu reaksi PCR kedua dilakukan dengan *inner primer* atau *nested primer* menggunakan hasil dari produk reaksi yang pertama sebagai target amplifikasi. *Nested primer* akan menyatu dengan produk PCR yang pertama dan menghasilkan produk yang lebih pendek daripada produk yang pertama.

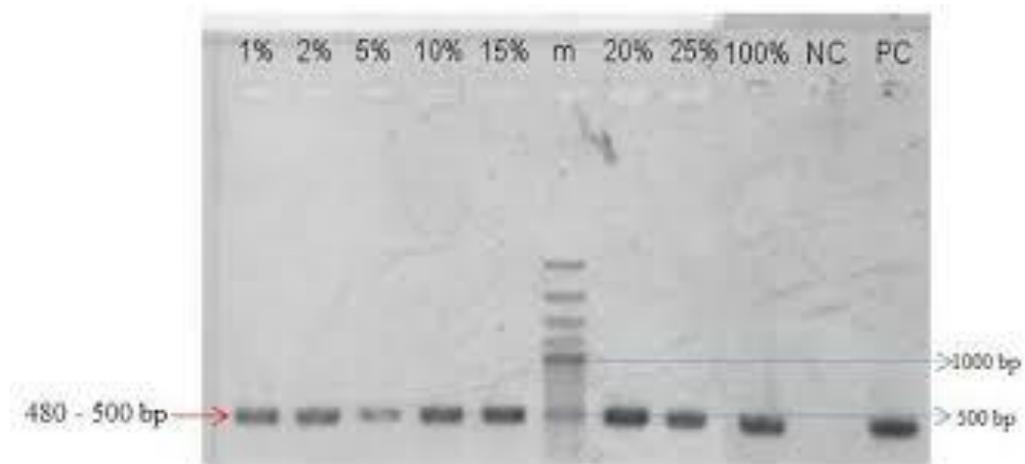
4. *Quantitative-PCR*; digunakan untuk pengukuran berulang dari hasil produk PCR. Metode ini secara tidak langsung digunakan untuk mengukur kuantitas, dimulai dari jumlah DNA, cDNA, atau RNA. Hasil dari metode ini juga menampilkan copy dari sampel
5. *Reverse Transcriptase (RT-PCR)*; metode ini digunakan untuk amplifikasi, isolasi atau identifikasi sekuen dari sel atau jaringan RNA. Metode ini dibantu oleh *reverse transcriptase* (mengubah RNA menjadi cDNA), mencakup pemetaan, menggambarkan kapan dan dimana gen diekspresikan.
6. *Random Amplified Polymorphic DNA (RAP)* bertujuan untuk mendeteksi polimorfisme pada tingkat DNA. Metode ini dikembangkan oleh Welsh and Mc Clelland (1990) dengan cara mengkombinasikan teknik PCR menggunakan primer-primer dengan sequens acak untuk keperluan amplifikasi lokus acak dari genom.

2.3. Primer P14 dan Pork

2.3.1. Primer P14

Primer standar dalam identifikasi kandungan DNA babi suatu produk adalah primer P14 yang memiliki panjang nukleotida 481 bp. Primer ini merupakan salah satu dari ke-13 lokus PRE-1 (*Porcine Repetitive Element*) yang terdapat pada genom babi (Fibriana dkk, 2012). Lokus PRE-1 merupakan sekuen *Short Interspersed Nucleotide Element* (SINE) genom babi yang pertama kali ditemukan oleh Singer dkk. (1987). Ciri khas lokus PRE-1 adalah memiliki *split* promotor RNA polymerase III dan kaya akan poly (A) pada ujung 3'. Sekuen PRE-1 terletak pada bagian sentromer dari kromosom di dalam genom babi (Nuraini, 2004).

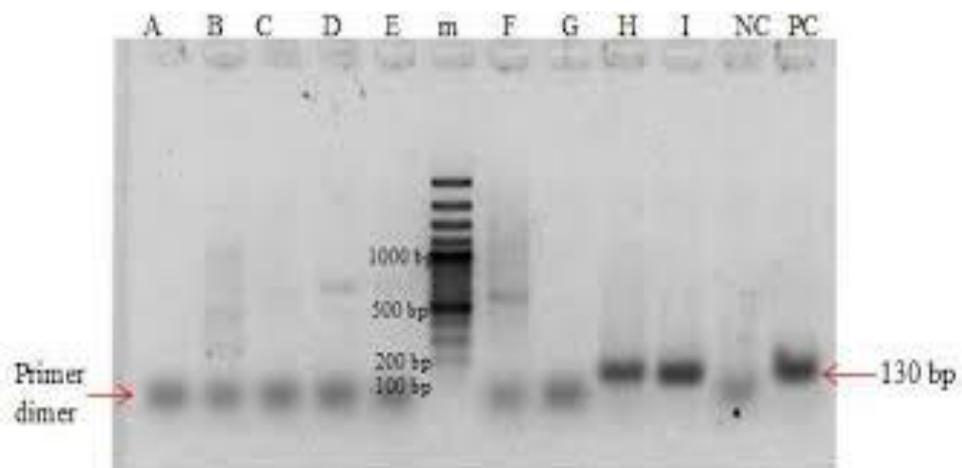
Menurut Fibriana dkk. (2012) primer P14 adalah primer yang dapat mengamplifikasi lokus PRE-1 yang ada pada genom babi. Hasil produk PCR lokus PRE-1 yang diamplifikasi oleh primer P14 menghasilkan panjang basa 481 bp. Berdasarkan metode PCR dengan primer P14, sampel 1% sampai 100%, kontrol negatif, dan kontrol positif diperoleh hasil seperti Gambar 3.



Gambar 3. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer P14 Fibriana *et al*, (2012)

2.3.2. Primer Pork

Primer pork Menurut Tanabe *et al*, (2007), primer pork merupakan primer spesifik mengamplifikasi DNA babi pada cyt b babi sebagai sekuen target. Ukuran produk PCR yang diharapkan adalah 130 bp. Berdasarkan metode PCR dengan primer PPA 6, sampel A sampai I, kontrol negatif, dan kontrol positif diperoleh hasil seperti Gambar 4.



Gambar 4. Hasil visualisasi produk PCR kontrol positif dan sampel dengan primer pork Tanabe *et al*, (2007)

2.4. Elektroforesis

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan molekul bermuatan melalui medium larutan atau *gel* dalam pengaruh medan listrik. Molekul yang bermuatan jika diletakkan di medan listrik maka molekul tersebut akan bergerak ke medan elektroda yang berlawanan, molekul asam nukleat bermuatan negatif sehingga akan bergerak menuju ke kutub positif (anoda). *Gel* memiliki jaringan pori-pori yang kompleks, kecepatan gerak molekul asam nukleat ditentukan oleh kemampuan molekul menembus jaring-jaring *gel*. Ukuran jarak efektif *gel* ditentukan oleh komposisinya. *Gel* agarosa digunakan untuk memisahkan asam nukleat yang lebih besar dari beberapa ratus pasangan basa, mengurangi konsentrasi agarosa untuk pemisahan fragmen besar dan meningkatkannya untuk fragmen kecil (Dale & Schantz, 2003).

Menurut Dale dan Schantz (2003), elektroforesis *gel* agarosa dapat digunakan untuk menganalisis kualitas *sample* asam nukleat, terutama menentukan ukuran fragmen DNA hasil restriksi dan juga produk PCR, untuk itu kalibrasi *gel* perlu dilakukan dengan cara *running* standar *marker* yang telah diketahui ukurannya. Standar *marker* yang digunakan merupakan hasil pemotongan DNA bakteriofage lambda oleh enzim restriksi *hin* dIII. Hasil *running* standar *marker* menunjukkan ukuran fragmen DNA. Terdapat hubungan linier antara logaritma dari ukuran fragmen DNA dan jarak pergerakannya, dengan melakukan kalibrasi grafik estimasi ukuran fragmen DNA bias diketahui (Dale & Schantz, 2003).

Sebelum proses elektroforesis, dilakukan pencampuran antara DNA dengan *loading dye*. *Loading dye* terdiri dari *glycerol*, *bromphenol blue*, dan *xylene*

cyanol FF. *Glycerol* berfungsi sebagai pemberat sehingga DNA berada di bawah sumuran, sedangkan *bromphenol blue* dan *xylene cyanol FF* berfungsi sebagai visualisasi pada gel sehingga proses migrasi DNA pada saat berlangsungnya elektroforesis tidak melebihi batas gel (Carson, 2006).

Larutan DNA yang bermuatan negatif dimasukkan ke dalam sumur-sumur yang terdapat dalam gel agarosa dan diletakkan di kutub negatif, apabila dialiri arus listrik dengan menggunakan larutan *buffer* yang sesuai maka DNA akan bergerak ke kutub positif. Laju migrasi DNA dalam medan listrik berbanding terbalik dengan massa DNA. Migrasi DNA terutama ditentukan oleh ukuran panjang dan bentuk DNA. Fragmen DNA yang berukuran kecil akan bermigrasi lebih cepat dibanding yang berukuran besar, sehingga elektroforesis mampu memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukuran panjangnya.

Kecepatan migrasi DNA ditentukan oleh beberapa faktor di antaranya (Muladno, 2010):

a. Ukuran molekul DNA

Migrasi molekul DNA berukuran besar lebih lambat daripada migrasi molekul berukuran kecil.

b. Konsentrasi agarosa

Migrasi molekul DNA pada gel berkonsentrasi lebih rendah lebih cepat daripada migrasi molekul DNA yang sama pada gel berkonsentrasi tinggi. Oleh karena itu, penentuan konsentrasi agarosa dalam membuat gel harus memperhatikan ukuran molekul DNA yang akan dianalisis.

c. Konformasi DNA

Konformasi atau bentuk rangkaian molekul DNA berukuran sama akan bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda.

d. Voltase yang digunakan

Dalam voltase, kecepatan migrasi DNA sebanding dengan tingginya voltase yang digunakan. Akan tetapi apabila penggunaan voltase dinaikkan, mobilitas molekul DNA meningkat secara tajam. Ini mengakibatkan pemisahan, molekul DNA di dalam gel menurun dengan meningkatnya voltase yang digunakan. Penggunaan voltase yang ideal untuk mendapatkan separasi molekul DNA berukuran lebih besar 2 kb adalah tidak lebih dari 5 Volt per cm.

e. Keberadaan etidium bromida di dalam gel

Hal ini mengakibatkan pengurangan tingkat kecepatan migrasi molekul DNA linear sebesar 15%.

f. Komposisi larutan *buffer*

Apabila tidak ada kekuatan ion di dalam larutan, maka aliran listrik akan sangat minimal dan migrasi DNA sangat lambat. Sementara larutan *buffer* berkekuatan ion tinggi akan meningkatkan panas, sehingga aliran listrik menjadi sangat maksimal. Ada kemungkinan gel akan meleleh dan DNA dapat mengalami denaturasi. Untuk visualisasi maka ditambahkan larutan etidium bromida yang akan masuk di antara ikatan hidrogen pada DNA, sehingga pita fragmen DNA akan terlihat di bawah lampu UV (Gaffar, 2007).

Larutan etidium bromida sangat berbahaya dan bersifat karsinogen. Semua larutan yang mengandung etidium bromide harus didekontaminasi sebelum dibuang (Muladno, 2010).

Untuk menghindari bahaya yang ditimbulkan oleh etidium bromida, maka dapat menggunakan larutan SYBR *safe* sebagai penggantinya. Menurut Sambrook dan Russel (2001) pewarna SYBR *safe* membuat DNA berpendar di bawah sinar UV. Pita DNA yang berpendar pada gel agarosa menunjukkan hasil positif bahwa terdapat DNA pada setiap lajur.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan Desember 2018 sampai bulan Januari 2019 di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau steril [Vidrex], pipet mikro 0,1-2 μL , 2-20 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL [Nichipet EX], tips 10 μL , 100 μL , 1000 μL , tabung sentrifugasi 1,5 m, tabung mikro sentrifugasi 200 μL [Axygen], rak tabung, mesin *micro centrifuge* [TOMY MX-301], timbangan analitik [ADAM[®]], *ice maker* [HOSHIZAKI], vortex [Heidolph], *magnetic stirrer*, inkubator [Mettler], spatula, kulkas [Toshiba], *autoclave, freezer -20°C* [Angelantoni Scientifica], lemari pendingin 4°C [Iberma], *microwave* [National], satu set elektroforesis [Mupid[®] -2 Plus], *gel documentation*, Spektrofotometer Nano Drop [ND-1000], dan *Insulated Isothermal PCR*. Alat gelas yang digunakan adalah gelas ukur 100 ml, Labu Erlenmeyer 250 ml, gelas Beaker [Pyrex], kaca arloji, dan batang pengaduk.

3.2.2. Bahan

Sampel berupa roti yang dijual di daerah sekitar Pondok dan Lubuk Buaya di Kota Padang. Bahan lainnya seperti *cell lysis buffer* (Tris-EDTA pH 8 dan SDS 1% v/v), proteinase K, RNase A, NaCl 5M, fenol, kloroform, isoamilalkohol,

etanol 70%, etanol absolut, Na asetat, agarosa, *buffer* TAE, *loading dye* 6x, *Sybr Safe*, *free nuclease water*, Go Taq Green Master Mix[®], primer babi (forward dan reverse) primer *pork*, probe babi, dNTP, KAPPA 2G Robust.

3.3. Prosedur dan Cara Kerja

3.3.1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan membeli roti pada 3 tempat penjual roti yang ada di sekitar daerah Pondok Kota Padang. 3 roti yang dijadikan sampel 2 diantaranya diambil di sekitar daerah Pondok dan 1 sampel diambil di salah satu swayalan di sekitar daerah Lubuk Buaya Kota Padang. Roti yang dijadikan sampel berupa 2 roti basah yang memiliki tekstur yang sama dengan roti tawar dan 1 roti berupa roti kukus.

3.3.2. Isolasi Kontrol Positif dan DNA dari Sampel Roti

Proses isolasi DNA adalah sebagai berikut:

Roti yang telah dibeli dari 3 toko yang berbeda di sekitar daerah Pondok dan Lubuk Buaya, Kota Padang. Ekstraksi dan purifikasi DNA mengikuti prosedur Sambrook *et al.* (1989) yang dimodifikasi oleh Sulan dan Zein (2003). Sebanyak 100 mg roti digerus dengan mortar, dimasukkan buffer invitrogen *Genomic Digestion Buffer*, kemudian gerus sampai homogen, masukkan kedalam tabung tube dengan menggunakan pipet mikro.

Kemudian tambahkan proteinase sebanyak 40 µl kedalam tube yang berisi larutan sampel tersebut kemudian inkubasi selama 1 jam dengan suhu 56°C. setelah diinkubasi sentrifugasi 13.000 rpm selama 3 menit. Buang pellet, ambil supernatannya memakai pipet mikro, supernatant dimasukkan kedalam tube baru.

Lalu tambahkan RNase 20 µl dengan menggunakan pipet mikro, vortex 30 detik dan diamkan 1 menit kemudian tambahkan 400 µl *Purelink® Genon Lisis/binding buffer*, vortex dan inkubasi dengan suhu 56 °C selama 10 menit. Lalu tambahkan etanol 500 µl, vortex.

Pindahkan kedalam spine column sebanyak 650 µl, sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 g selama 1 menit. Buang supernatan dan ambil pellet nya kemudian tambahkan 500 µl *Genomic Wash Buffer I*, sentrifugasi 10.000 g selama 1 menit. Kemudian tambahkan *Genomic Wash Buffer II* sebanyak 500 µl, sentrifugasi 10.000 g selama 1 menit. Lalu tambahkan elution buffer sebanyak 30 µl, diamkan selama 1 menit, sentrifugasi 18.000 rpm selama 1 menit. Cek template DNA yang didapat menggunakan nanodrop.

3.3.3. Proses Amplikasi Menggunakan Metode PCR

Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah primer p14 dan primer *Pork* yang menjadi standar analisis makanan mengandung babi. Urutan basa dan ukuran primer p14 dan primer *Pork* disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Primer yang digunakan dalam Penelitian

	Kode	Sequence	Keterangan
	P14 Forward	5'-CCCCGTCTCCTTCCTCCGGT GGTTGATG-3'	Primer spesifik babi pada fragmen lokus PRE-1.
	P14 reverse	5'-CTGCGACACATGATGCCTT TATGTCCCAGC-3'	
	Pork Forward	5'-ATCTTGCAATCCTAACAGG CCTG-3'	Primer spesifik babi pada fragmen cytochrome b.
	Pork Reverse	5'-CGTTTGCATGTAGATAGC GAATAAC-3'	

Setiap tabung PCR diberi label, kemudian sebanyak 5 µl sampel DNA, 12,5 µl Go taq Green Master Mix, 7,5 µl nuclease free water, 1 µl primer forward, 1 µl primer reverse, vortex.

Tabung ditempatkan kedalam mesin PCR, denaturasi awal pada suhu 95°C selama 3 menit, diikuti 35 siklus terdiri atas denaturasi 93°C selama 30 detik, *annealing* 62°C selama 30 detik, dan ekstensi 72°C selama 30 detik, diakhiri ekstensi 72°C selama 5 menit. Proses PCR berlangsung selama 1 jam 30 menit.

Hasil PCR dicampur dengan 1x larutan *loading dye* kemudian dimasukkan kedalam 1,5% gel agarose yang mengandung Ethidium Bromide (EtBr) untuk selanjutnya dilakukan elektroforesis selama 30 menit pada 120 Volt. Gel divisualisasi diatas UV *transilluminator* dan kemudian didokumentasikan menggunakan kamera digital.

Genom sapi lebih tebal dan sedikit *smear*, sedangkan pita DNA genom babi lebih tipis dan banyak *smear* dibandingkan pita DNA genom sapi. *Smear* diasumsikan sebagai DNA yang terfragmentasi karena proses perlakuan mekanis, sehingga fragmen DNA yang berat molekulnya lebih kecil bergerak lebih cepat menjauhi sumur (Sulandari & Zein, 2003).

3.3.4. Proses Elektroforensis

Elektroforesis diawali dengan pembuatan gel agarose 1,5 %. Sebanyak 1,5 g agarose dilarutkan dalam 100 ml TBE, kemudian dipanaskan dalam *microwave* sampai semua agarose larut dan berwarna jernih. Larutan agarose di diamkan supaya dingin pada suhu ruang, kemudian 5 µl sampel tambahkan 5 µl gel red

kemudian larutan dituang kedalam *tray* dan dipasang sisir pembentuk sumur, gel dibiarkan sampai mengeras dan sisir dilepas.

Tray yang berisi gel agarose diletakkan pada tank elektroforesis kemudian buffer TAE 1x ditambahkan hingga gel agarose terendam hingga sekitar 1 mm diatas permukaan gel. Sebanyak 5 μ l DNA hasil isolasi dicampur dengan 1 μ l *loading dye* tambah 3 μ l leader kemudian tambahkan 15 μ l gel red kemudian larutan tersebut dimasukkan kedalam sumur gel agarose (tiap sumur satu larutan DNA). Setelah semua sampel DNA dimasukkan dalam sumur, tank elektroforesis ditutup, dihubungkan dengan *power supply* dengan tegangan 120 Volt selama 30 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, arus listrik dimatikan dan *tray* diambil dengan menggunakan sarung tangan. Gel diletakkan di atas UV *transiluminator* dan jika pita DNA terlihat terang maka diambil dokumentasi dengan kamera digital.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Masing-masing sampel, daging babi (kontrol positif), diisolasi menggunakan Kit isolasi invitrogen[®] dengan tiga kali pengulangan. Maka didapatkan *template* DNA.
2. Hasil deteksi gen babi pada tiga sampel roti yang dijual di toko roti disekitar daerah Pondok dan di salah satu swalayan di Lubuk Buaya di Kota Padang dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*), dilanjutkan dengan elektroforesis maka hasilnya didapatkan adanya gen babi pada ketiga sampel yaitu sampel A, B dan C dilihat dari pita DNA sampel yang sama dengan pita DNA kontrol positif dengan ukuran 130 bp (Lampiran 4, Gambar 8).
3. Kemudian dilakukan sequencing pada sampel Roti B, dari hasil sequencing yang didapatkan menunjukkan bahwa sampel roti B hasilnya positif mengandung gen babi yang menunjukkan kemiripan 100% dengan *Sus scrofa isolate RC mitochondrion, complete genome* (Lampiran 12, Gambar 16).

4.2. Pembahasan

Roti adalah makanan yang terbuat dari tepung terigu, air, dan ragi yang pembuatannya melalui tahap pengulenan, fermentasi (pembangunan), dan pemanggangan dalam oven. Bahan dan proses yang dilaluinya membuat roti

memiliki tekstur yang khas. Dilihat dari cara pengolahan akhirnya, roti dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu roti yang dikukus, dipanggang, dan yang digoreng. Bakpao dan mantao adalah contoh roti yang dikukus. Donat dan panada merupakan roti yang digoreng. Sedangkan aneka roti tawar, roti manis, pita *bread*, dan *baquette* adalah roti yang dipanggang (Sufi, 1999).

Polymerase Chain Reaction adalah teknik biologi molekuler untuk mengamplifikasi sekuen DNA spesifik menjadi ribuan sampai jutaan kopi sekuen DNA. Teknik ini menggunakan metode enzimatik yang diperantarai primer. Prinsip dasar PCR adalah sekuen DNA spesifik diamplifikasi menjadi dua kopi selanjutnya menjadi empat kopi dan seterusnya (Yuwono 2006).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tiga sampel roti yang dijual di toko roti sekitar daerah Pondok dan di salah satu swalayan di Lubuk Buaya di Kota Padang yang diduga mengandung gen babi, kontrol positif dipakai DNA babi hasil isolasi dari daging babi yang berfungsi untuk mengetahui ada atau tidak adanya gen babi dalam sampel yang akan dideteksi dengan membandingkan pita DNA pada kontrol positif dengan sampel yang digunakan. Prosedur pertama yang dilakukan yaitu isolasi DNA sampel dan kontrol positif. Isolasi DNA adalah upaya untuk membebaskan materi genetik (DNA) dari dinding sel dan ikatan protein dengan mengupayakan tingkat kerusakan baik mekanis maupun fisis seminimal mungkin terhadap materi genetik tersebut (Jamsari,2007). Isolasi DNA merupakan teknik yang pertama sekali dilakukan sebelum melakukan analisis molekuler menggunakan teknik PCR atau *Real Time PCR*.

Isolasi DNA dilakukan pada kontrol positif (daging babi) dan sampel roti sebanyak tiga kali pengulangan. Kontrol positif yang digunakan adalah daging babi segar. Metode isolasi DNA yang digunakan untuk sampel roti dan kontrol positif menggunakan kit invitrogen[®] dengan cara kerja sesuai protokol kit (PureLink, 2007). Kit isolasi DNA ini terdiri dari PureLink[®] *genomic digestion buffer*, *proteinase K*, *RNAse solution*, PureLink[®] *genomic lysis*, *wash buffer I*, *wash buffer II*, *elution buffer* (PureLink, 2007). Isolasi diawali dengan pemecahan masing-masing sampel, kontrol negatif dan kontrol positif dengan alat homogeneizer hal ini bertujuan untuk memecahkan jaringan secara mekanik sehingga membebaskan sel-sel yang terdapat pada sampel, setelah proses pemecahan jaringan secara mekanik, maka dilakukan proses lisis pada jaringan secara kimia dengan penambahan larutan PureLink[®] *genomic digestion buffer* kemudian dilakukan proses deproteinisasi dengan menggunakan enzim *proteinase K* yang bertujuan mendegradasi protein-protein yang mengikat benang-benang DNA pada kromosom (Jamsari, 2007) dan menginaktivasi enzim *DNAse*. Inaktivasi enzim *DNAse* sangat penting pada proses pembebasan sel dari jaringan karena pada proses pembebasan sel dari sampel, dan kontrol positif menyebabkan aktivitas enzim *DNAse* bekerja secara efektif untuk menguraikan molekul-molekul DNA, sehingga DNA yang dihasilkan tidak utuh lagi, oleh karena itu sangat perlu dilakukan inaktivasi enzim *DNAse*. Untuk menghilangkan RNA pada sampel, dan kontrol positif yang diisolasi, maka dilakukan dengan penambahan larutan *RNAse solution*. Larutan PureLink[®] *genomic lysis* berfungsi untuk mengikat DNA, kemudian larutan *wash buffer* yang berfungsi untuk mencuci

DNA agar terhindar dari pengotor yang menempel pada DNA, selanjutnya ditambahkan larutan *elution buffer* berfungsi untuk melarutkan DNA hasil isolasi.

Setelah diperoleh template DNA hasil isolasi, maka tindakan yang harus dilakukan adalah melakukan pengecekan terhadap kualitas DNA yang diperoleh dengan di nanodrop caranya, ambil 1 μL sampel dan di nanodrop maka hasilnya akan terlihat dilayar monitor nanodrop.

Hasil nanodrop yang didapatkan untuk sampel A kemurniannya 1,53 dan kuantitasnya 210,8 $\text{ng}/\mu\text{L}$, untuk sampel B pada percobaan pertama didapatkan kemurnian 4,25 dan kuantitasnya 7,7 $\text{ng}/\mu\text{L}$, pada percobaan kedua didapat kemurnian 0,41 dan kuantitasnya 1,1 $\text{ng}/\mu\text{L}$ sedangkan untuk sampel C pada percobaan pertama didapatkan kemurnian 76,98 dan kuantitasnya 5,7 $\text{ng}/\mu\text{L}$, pada percobaan kedua didapat kemurnian 224,14 dan kuantitasnya 6,2 $\text{ng}/\mu\text{L}$ (Lampiran 13, 14, 15, Gambar 17,18, 19).

Jika dilihat dari hasil kemurnian yang didapatkan adalah bagus karena berada diantara range 1,7 – 2 dan bias dilanjutkan ketahap PCR. Selanjutnya *template* DNA sampel dan kontrol positif dicampur dengan komponen PCR berupa reagen *go taq mastermix* 12,5 μL , *primer forward* 1 μL , *primer reverse* 1 μL , dan *nuclease free water* 7,5 μL . dimana template DNA sampel, dan kontrol positif sebanyak 1 μL yang dimasukkan kedalam tube PCR terakhir agar tidak terkontaminasi, hingga didapat volume total 25 μL lalu dihomogenkan dengan vortex dan di spindal, kemudian tube PCR tersebut dimasukkan ke dalam alat *thermal cycler*.

Program PCR kemudian diatur dengan suhu *initial* denaturasi adalah 95°C selama 3 menit berfungsi untuk memutuskan ikatan hydrogen diantara basa-basa yang komplemen, denaturasi 95°C selama 30 detik, annealing 62°C selama 30 detik berfungsi untuk penempelan ikatan hidrogen yang terbentuk antara primer dengan urutan komplemen pada *template* DNA, ekstension 72°C selama 30 detik berfungsi untuk perpanjangan primer yang telah menempel, ekstension 72°C selama 5 menit dan pendinginan pada suhu 12°C selama 10 menit dimana proses PCR berlangsung selama 1 jam 22 menit (Lampiran 6, Gambar 10).

Setelah melalui proses PCR, DNA telah mengalami perlipatgandaan yang disebut dengan ampikon. Ampikon dilihat dengan menggunakan elektroforesis gel. Teknik elektroforesis ini bertujuan untuk memisahkan molekul dengan menggunakan arus listrik berdasarkan perbedaan berat (besar molekul). Pada kontrol positif terdapat hasil berupa pita-pita DNA pada 130 bp. Sedangkan pada sampel roti A, B, dan C terlihat pita DNA yang sama terhadap kontrol positif yaitu daging babi dapat dilihat dari adanya pita DNA babi pada sampel roti A, B dan C pada 130 bp (Lampiran 4, Gambar 8)

Untuk lebih meyakinkan hasil yang didapat adalah pita DNA babi, data hasil sequencing yang didapat selanjutnya *ditriming* dan *diassembling* dengan program BioEdit. Dikonversi dalam Format FASTA. Hasil sequencing DNA dalam bentuk Format FASTA, di BLAST untuk melihat homologi secara *online* di pusat data base DNA NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Maka didapatkan hasil di ncbi bahwa sampel roti memiliki kemiripan dengan *Sus scrofa isolate RC*

mitochondrion, complete genome (100%), hasil yang didapatkan bagus (Lampiran 12, Gambar 16).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa pada hasil isolasi DNA dari 3 sampel roti yang dijual di toko roti disekitar daerah Pondok dan di salah satu swalayan didaerah Lubuk Buaya di Kota Padang yang dideteksi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, pada ketiga sampel, yaitu sampel A, B dan C positif mengandung gen babi yang dapat dilihat dari hasil elektroforesis yang dilihat menggunakan nanodrop adanya pita DNA pada daerah 130 bp. Dari hasil sequencing dari sampel hasilnya roti B menunjukkan kemiripan 100% dengan *Sus scrofa isolate RC mitochondrion, complete genom*.

5.2. Saran

Untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk mendeteksi gen babi pada produk roti dengan merk lain dengan menggunakan metoda PCR.

DAFTAR PUSTAKA

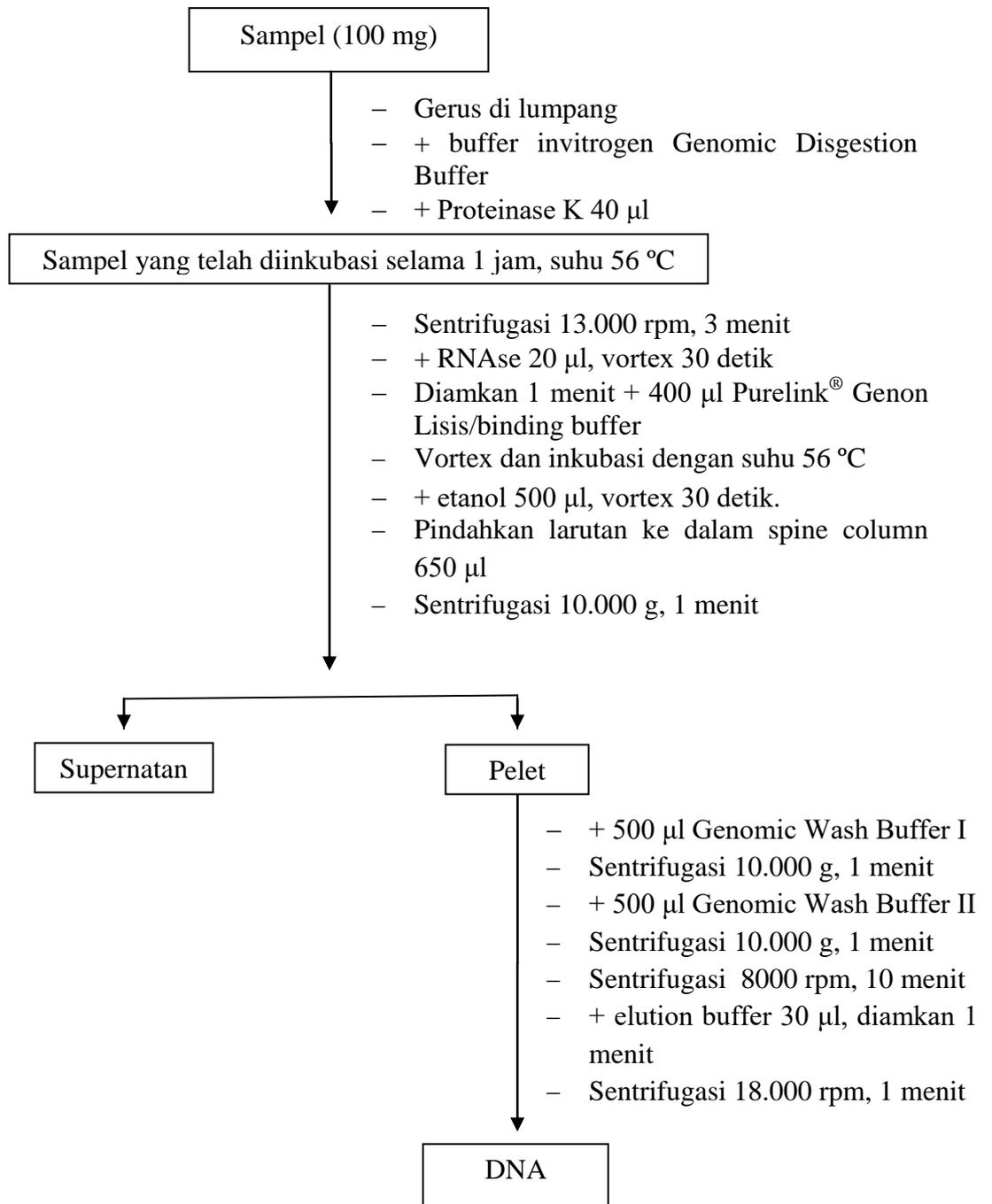
- Ali M. 2016. Konsep Makanan Halal Dalam Tinjauan Syariah Dan Tanggung Jawab Produsen Industri Halal. *AHKAM J. Ilmu Syariah*. 16: 291-306.
- Alvi Jauharotus Syukriya dan Hayyun Durrotul Faridah. 2019. Kajian Ilmiah Dan Teknologi Sebab Larangan Suatu Makanan Dalam Syariat Islam. *Journal of Halal Product and Research* 2 (01).
- Ari Nugroho dan Fredy Kurniawan. 2015. Deteksi Gelatin Babi Menggunakan Sensor Emas Termodifikasi NiO nanopartikel pada Quartz Crystal Microbalance. *Jurnal Sains dan Seni ITS* 4 (2): 32-34
- Astawan, M. 2006. *Membuat Mie Dan Bihun*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- BPOM. 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan* Vol 9 No 2. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Brookes, M. 2005. *Bengkel Genetika*. Erlangga: Jakarta.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet and M. Wootton. 1987. *Ilmu Pangan*. Penerjemah H. Purnomo dan Adiono. UI-Press, Jakarta.
- Carson, S. 2006. *Manipulation and Expression of Recombinant DNA A Laboratory Manual*, Second Edition. Elsevier Academic Press. Burlington, USA.
- Crompton DWT, Crompton DWT, Nickol BB. 1985. *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge, University Press.
- Dale, J. W. dan Von Schantz, M. 2002. *From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology*. John Wiley and Sons, Inggris. 31-34.
- Deni Antra Pusuma, Yhulia Praptiningsih, dan Miftahul Choiron. 2018. Karakteristik Roti Tawar Kaya Serat Yang Disubstitusi Menggunakan Tepung Ampas Kelapa. *Jurnal Agroteknologi* 12 (1).
- Departemen Kesehatan RI., 1996. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Bhratara, Jakarta.
- Desrosier. 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan*. UI-Press, Jakarta.

- Fibriana, F., Widiarti, T., Retnoningsih, A., dan Susanti. 2012. Deteksi Daging Babi Pada Produk Bakso di Pusat Kota Salatiga Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction. *Biosantifika* 4 (2): 106-112
- Furia, T.E. 1968. *Hand Book of Food Additives*. The Chemical Rubber co., Crandwood Parkway. Cleveland, Ohio.
- Gaffar, S. 2007. *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. Universitas Padjajaran : Bandung
- Gaman, P.M. dan Sherington. 1992. *Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi* (Edisi Kedua). UGM-Press, Yogyakarta.
- Habibah, N. 2009. *Beberapa Tipe Teknik PCR*. FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.
- Harris, R.S and E. Karmas. 1989. *Evaluasi Gizi pada Pengolahan Bahan Pangan*. ITB-Press, Bandung.
- Jamsari. 2007. *Bioteknologi Pemula: Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisa Molekuler*. Riau: Universitas Riau press.
- Lelya Hilda. 2013. Pandangan Sains Terhadap Haramnya Lemak Babi. *Jurnal Logaritma* 1 (01).
- Mahardika, I.G. Ngurah K. 2005. Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Veteriner* 4 (1).
- Mayasari dan Nura, 2007. *Memilih Makanan Halal*. Qultum Media: Jakarta.
- Mordechai, E. 1999. *Application of PCR The Methodologies in Molecular Diagnostic*. Burlington Country, USA.
- Mudhafier, Fadhlán. 2004. *Menguak Keharaman Makanan*. Zakia Press: Jakarta.
- Mudjajanto, E.S dan Yulianti, LN. 2004. *Membuat Aneka Roti*. Penebar Swadaya, Bogor.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Pustaka Wirausaha Muda. Bogor.
- Muladno. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika Edisi Kedua*. IPB, Bogor.
- Mulkhan, A.M., Muladno dan Z. Abidin. 2004. *Rantai Sistematis Flora, Fauna, dan Manusia*. Yogyakarta: IAIN Sunan Kalijaga.

- Nuraini, H. 2004. *Pengembangan Sekuen PRE-1 Sebagai Penanda Molekuler untuk Mendeteksi Material Babi pada Produk Daging Olahan*. IPB, Bogor.
- Pelezar, Michael J. dan Chan, E.C.S. 2013. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*. UI Press, Jakarta.
- Rukmana, H.R. 1997. *Usaha Tani Jagung*. Kanisius, Jakarta.
- Salasabila, U., D. Mardiana dan E. Indahyanti. 2013. Kinetika Reaksi Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Pati Biji Durian Menjadi Etanol. *Student Journal*. 2 (1): 331-336
- Schrieber, R., dan Gareis, H. 2007. *Gelatin Handbook*. Wiley-VCH GmbH & Co., Weinheim.
- Sediaoetama, A.D. 1993. *Ilmu Gizi*. Dian Rakyat, Jakarta.
- Sihombing, D.T.H. 1997. *Ilmu Ternak Babi*. Fakultas Peternakan IPB, Bogor.
- Sufi, S. Y. 1999. *Kreasi Roti*. Gramedia Pustaka Umum, Jakarta.
- Sunaryo, E. 1985. *Pengolahan Produk Sereal dan Biji-bijian*. Fateta IPB, Bogor.
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Alumni, Bandung.
- Syarief, R. dan A. Irawati. 1988. *Pengetahuan bahan untuk Industri Pertanian*. Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.
- Tanabe, S., Miyauchi, E., Muneshinge, A., Mio, K., Sato, C., dan Sato, M. 2007. PCR Method of Detecting Pork in Foods for Verifying Allergen Labeling and for Identifying Hidden Pork Ingredients in Processed Foods. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 71 (7): 1663-1667
- Tarwotjo, C.C. 1998. *Dasar-Dasar Gizi Kuliner*. Grasindo Gramedia Widiasarana, Jakarta.
- Wheat Associates US. 1983. *Pedoman Pembuatan Roti dan Kue*. Djambatan, Jakarta.
- Widyaningsih, T.D. dan E.S. Murtini. 2006. *Alternatif Pengganti Formalin Pada Produk Pangan*. Trubus Agrisarana, Surabaya.
- Wijaya, Yoga Permana. 2009. *Fakta Ilmiah tentang Keharaman Babi*. Bandung.

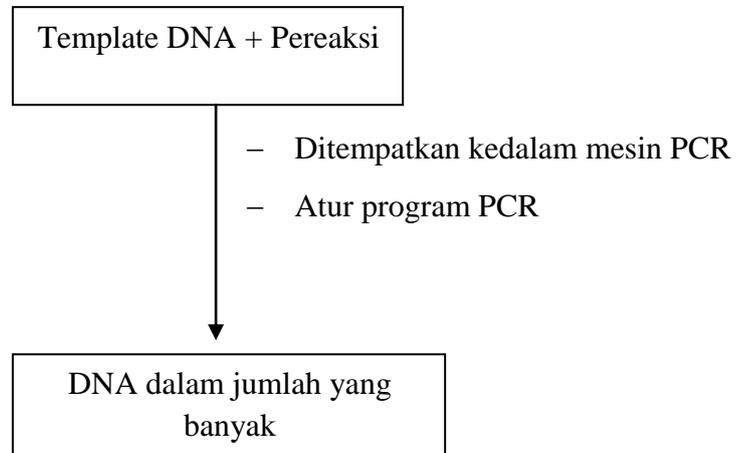
- Winarno, F.G. 1993. *Pangan, Gizi, Teknologi, dan Konsumen*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarno, F.G. 1995. *Enzim Pangan*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Gizi dan pangan*. Gramedia Karya Aksara, Jakarta.
- Yulianto H, Satrija F, Lukman DW, Sudarwanto M. 2015. Seroprevalensi Positif Sistiserkosis pada Babi Hutan di Kabupaten Way Kanan Provinsi Lampung. *J. Vet.* 16: 187-195
- Yuwono T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta (Indonesia): Penerbit Andi.
- Yuwono dan Tribowo. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction, Panduan Eksperimen PCR untuk Memecahkan Masalah Biologi Terkini*, Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Zuhriana, K. Yusuf. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Saintek* 5 (6): 1-6

Lampiran 1. Isolasi DNA pada Babi



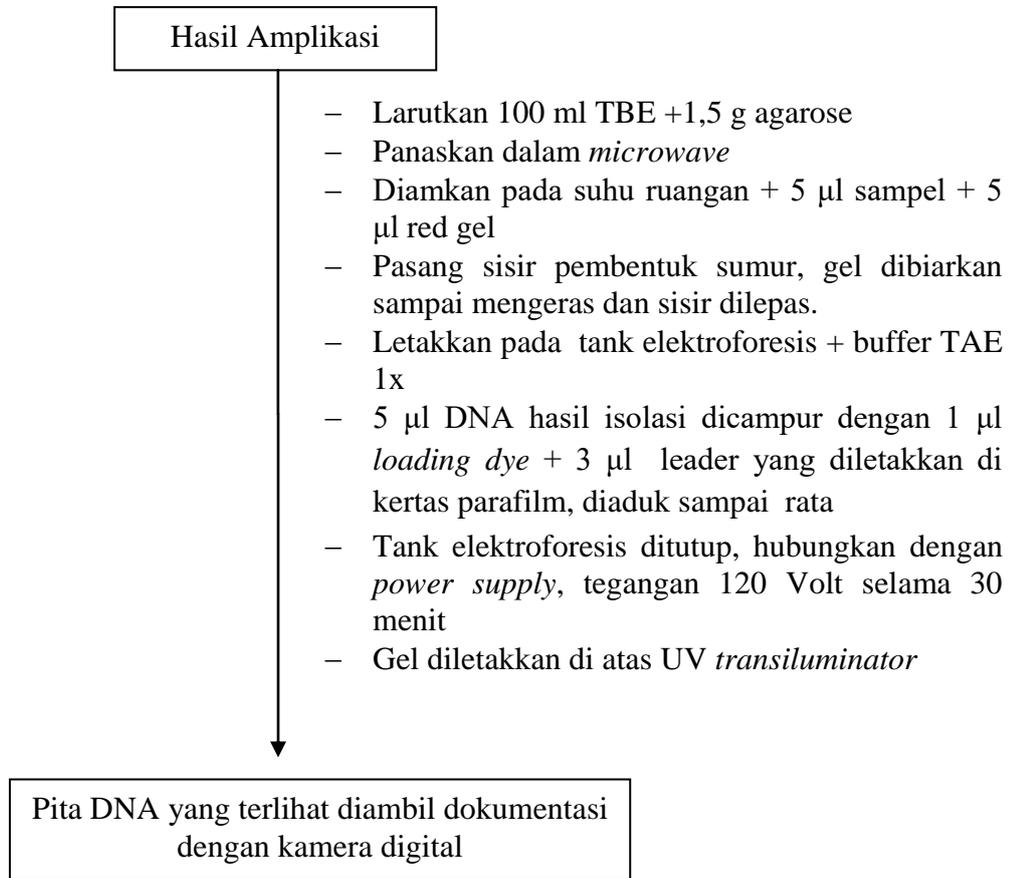
Gambar 5. Isolasi DNA pada Babi

Lampiran 2. Skema Kerja PCR (Polimerase Chain Reaction)



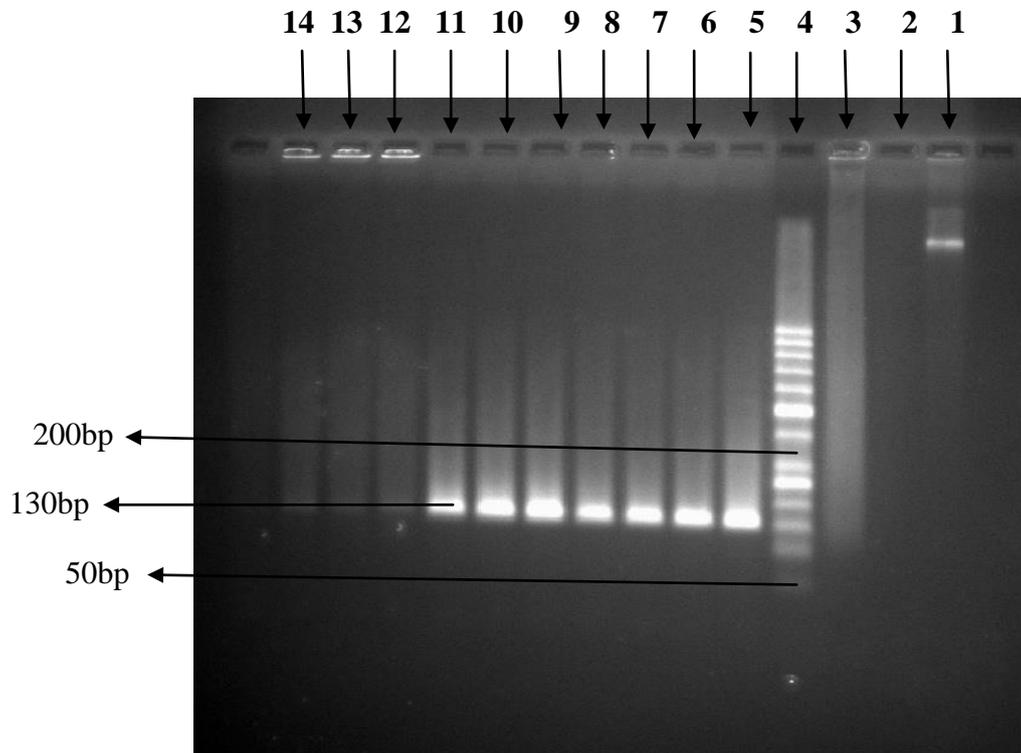
Gambar 6. Skema Kerja PCR (Polimerase Chain Reaction)

Lampiran 3. Skema kerja Elektroforesis



Gambar 7. Skema kerja Elektroforesis

Lampiran 4. Elektroferogram Hasil PCR Menggunakan Primer Pork



Keterangan :

- (1) = DNA (2) = DNA (3) = DNA (4) = Marker (5) = Kontrol Positif
(daging babi) (6, 7, 8) = Roti A (9, 10, 11) = Roti B
(12, 13, 14) = Roti C

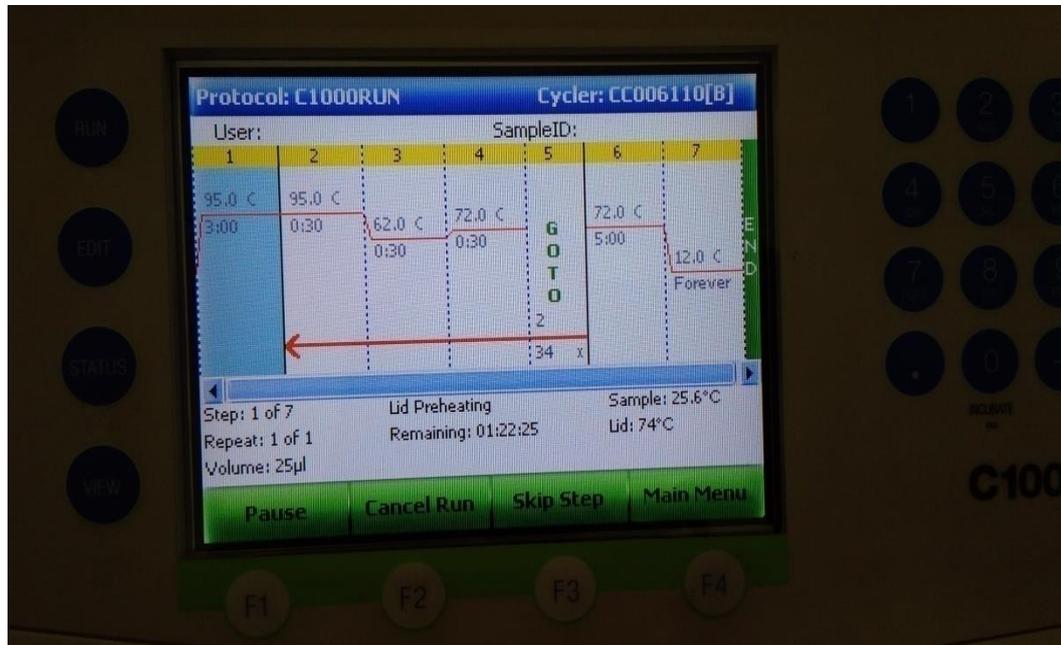
Gambar 8. Elektroferogram Hasil PCR Menggunakan Primer Pork

Lampiran 5. Spine Column dimasukkan kedalam tabung PCR



Gambar 9. Spine Column dimasukkan kedalam tabung PCR

Lampiran 6. Proses PCR



Gambar 10. Proses PCR

Lampiran 7. Sampel Roti A



Gambar 11. Sampel Roti A

Lampiran 8. Sampel Roti B



Gambar 12. Sampel Roti B

Lampiran 9. Sampel Roti C



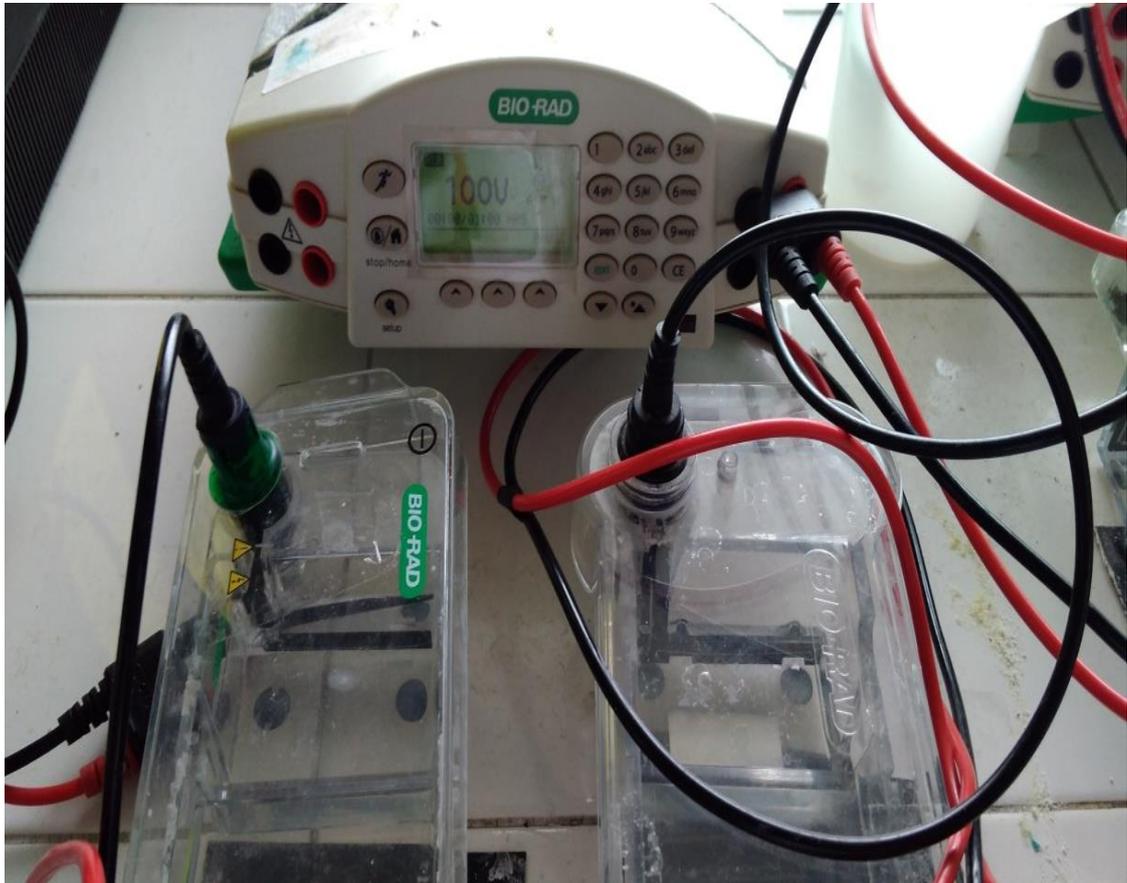
Gambar 13. Sampel Roti C

Lampiran 10. Proses Pembuatan Gel Agarose



Gambar 14. Proses Pembuatan Gel Agarose

Lampiran 11. Proses Elektroforesis Gel



Gambar 15. Proses Elektroforesis Gel

Lampiran 12. NCBI sampel roti yang memiliki kemiripan dengan *Sus scrofa* isolate RC mitochondrion, complete genom

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

Alignments [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Sus scrofa isolate RC mitochondrion, complete genom	100	100	100%	2e-18	100.00%	MG837550.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate TP mitochondrion, complete genom	100	100	100%	2e-18	100.00%	MG837549.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P10 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880279.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P9 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880278.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P8 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880277.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P7 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880276.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P6 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880275.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P5 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880274.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P4 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880273.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P3 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880272.1
<input type="checkbox"/> Sus scrofa isolate P2 cytochrome b (cytb) gene, partial cds: mitochondrial	100	100	100%	2e-18	100.00%	MH880271.1

Gambar 16. NCBI sampel roti yang memiliki kemiripan dengan *Sus scrofa* isolate RC mitochondrion, complete genom

**Lampiran 13. Hasil Nanodrop Untuk Melihat Kemurnian dan Kuantitas
Sampel Roti A**

	D	E	F	G	H	I
20	02/01/2019 16:32:13	210.8 ng/ul		4.216	2.763	1.53
21	02/01/2019 16:33:24	158 ng/ul		3.159	2.099	1.51
22	02/01/2019 16:33:53	14.3 ng/ul		0.285	-0.005	-61.36
23	02/01/2019 16:34:26	178.5 ng/ul		3.569	1.926	1.85
24	02/01/2019 16:35:08	-0.3 ng/ul		-0.006	-0.018	0.33
25	02/01/2019 16:35:55	-0.1 ng/ul		-0.002	-0.003	0.72
26	21/01/2019 11:36:08	0.5 ng/ul		0.01	-0.008	-1.33
27	21/01/2019 11:37:41	0 ng/ul		0	-0.009	0.04
28	21/01/2019 11:38:22	51.2 ng/ul		1.023	0.466	2.2
29	21/01/2019 11:39:03	26.2 ng/ul		0.525	0.213	2.46
30	21/01/2019 11:39:47	19.6 ng/ul		0.393	0.113	3.48
31	21/01/2019 11:40:19	-0.9 ng/ul		-0.018	-0.025	0.72
32	21/01/2019 11:40:48	-0.6 ng/ul		-0.011	-0.01	1.15
33	21/01/2019 11:41:21	0.6 ng/ul		0.013	0.016	0.79
34	21/01/2019 11:41:54	0.2 ng/ul		0.004	0.002	2.03
35	21/01/2019 11:42:40	-1.3 ng/ul		-0.026	-0.075	0.35
36	21/01/2019 11:43:04	-1.3 ng/ul		-0.026	-0.078	0.33
37	21/01/2019 11:43:27	-1.2 ng/ul		-0.024	-0.071	0.34
38	21/01/2019 11:44:00	49.3 ng/ul		0.987	0.617	1.6
39	21/01/2019 11:44:28	48 ng/ul		0.959	0.607	1.58

Keterangan :

I = Kemurnian Sampel

E = Kuantitas Sampel

**Gambar 17. Hasil Nanodrop Untuk Melihat Kemurnian dan Kuantitas
Sampel Roti A**

Lampiran 14. Hasil Nanodrop Untuk Melihat Kemurnian dan Kuantitas Sampel Roti B

	D	E	F	G	H	I
39	21/01/2019 11:44:28	48 ng/µl		0.959	0.607	1.58
40	21/01/2019 11:44:59	46.8 ng/µl		0.936	0.527	1.77
41	21/01/2019 11:45:29	61.2 ng/µl		1.224	0.61	2.01
42	21/01/2019 11:45:55	56.2 ng/µl		1.124	0.576	1.95
43	21/01/2019 11:46:26	5.7 ng/µl		0.114	0.001	76.98
44	21/01/2019 11:46:51	6.2 ng/µl		0.124	0.001	224.14
45	21/01/2019 11:47:17	3.8 ng/µl		0.076	-0.024	-3.21
46	21/01/2019 11:47:42	3.9 ng/µl		0.077	-0.026	-2.99
47	21/01/2019 11:48:22	-1.5 ng/µl		-0.03	-0.079	0.38
48	21/01/2019 11:48:55	11.2 ng/µl		0.224	0.083	2.69
49	21/01/2019 11:49:21	-1.6 ng/µl		-0.032	-0.084	0.38
50	21/01/2019 11:49:45	-0.8 ng/µl		-0.016	-0.077	0.21
51	21/01/2019 11:50:36	7.7 ng/µl		0.155	0.036	4.25
52	21/01/2019 11:51:08	1.1 ng/µl		0.022	-0.054	-0.41
53	21/01/2019 11:51:49	21.4 ng/µl		0.428	0.713	0.6
54	21/01/2019 11:52:19	32.4 ng/µl		0.648	0.899	0.72
55	21/01/2019 11:52:55	48.7 ng/µl		0.974	1.251	0.78
56	21/01/2019 11:53:19	0.6 ng/µl		0.012	-0.002	-6.32
57	21/01/2019 11:53:52	0 ng/µl		-0.001	-0.004	0.2

Keterangan :

I = Kemurnian Sampel

E = Kuantitas Sampel

Gambar 18. Hasil Nanodrop Untuk Melihat Kemurnian dan Kuantitas Sampel Roti B

Lampiran 15. Hasil Nanodrop Untuk Melihat Kemurnian dan Kuantitas Sampel Roti C

	D	E	F	G	H	I
30	21/01/2019 11:39:47	19.6 ng/µl		0.393	0.113	3.48
31	21/01/2019 11:40:19	-0.9 ng/µl		-0.018	-0.025	0.72
32	21/01/2019 11:40:48	-0.6 ng/µl		-0.011	-0.01	1.15
33	21/01/2019 11:41:21	0.6 ng/µl		0.013	0.016	0.79
34	21/01/2019 11:41:54	0.2 ng/µl		0.004	0.002	2.03
35	21/01/2019 11:42:40	-1.3 ng/µl		-0.026	-0.075	0.35
36	21/01/2019 11:43:04	-1.3 ng/µl		-0.026	-0.078	0.33
37	21/01/2019 11:43:27	-1.2 ng/µl		-0.024	-0.071	0.34
38	21/01/2019 11:44:00	49.3 ng/µl		0.987	0.617	1.6
39	21/01/2019 11:44:28	48 ng/µl		0.959	0.607	1.58
40	21/01/2019 11:44:59	46.8 ng/µl		0.936	0.527	1.77
41	21/01/2019 11:45:29	61.2 ng/µl		1.224	0.61	2.01
42	21/01/2019 11:45:55	56.2 ng/µl		1.124	0.576	1.95
43	21/01/2019 11:46:26	5.7 ng/µl		0.114	0.001	76.98
44	21/01/2019 11:46:51	6.2 ng/µl		0.124	0.001	224.14
45	21/01/2019 11:47:17	3.8 ng/µl		0.076	-0.024	-3.21
46	21/01/2019 11:47:42	3.9 ng/µl		0.077	-0.026	-2.99
47	21/01/2019 11:48:22	-1.5 ng/µl		-0.03	-0.079	0.38
48	21/01/2019 11:48:55	11.2 ng/µl		0.224	0.083	2.69
49	21/01/2019 11:49:21	-1.6 ng/µl		-0.032	-0.084	0.38

Keterangan :

I = Kemurnian Sampel

E = Kuantitas Sampel

Gambar 19. Hasil Nanodrop Untuk Melihat Kemurnian dan Kuantitas Sampel Roti C