

INTISARI

Kerupuk rambak merupakan makanan ringan yang berasal dari kulit, biasanya kulit sapi atau kerbau. Jaminan kehalalan kerupuk rambak diperlukan khususnya bagi masyarakat yang beragama Islam karena dikhawatirkan berasal dari kulit babi. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode untuk mengidentifikasi adanya kulit babi pada kerupuk rambak. Identifikasi babi pada tingkat *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) dapat dilakukan dengan metode *real-time Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan menggunakan primer mitokondria *Displacement Loop* (D-loop) 22. Primer mitokondria D-loop 22 diharapkan mampu mengamplifikasi fragmen DNA babi secara spesifik pada kerupuk rambak.

Pada identifikasi DNA pertama-tama dilakukan isolasi DNA dari daging sapi dan babi serta kerupuk rambak sapi dan babi. Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis gel agarosa dan spektrofotometri UV (ultraviolet). Analisis selanjutnya dilakukan dengan cara amplifikasi DNA babi menggunakan metode *real-time* PCR dengan primer yang didesain berdasarkan daerah mitokondria D-loop babi dengan ampikon 176 pb (pasang basa). Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan suhu *annealing* 59°C selama 30 siklus. Deteksi hasil amplifikasi DNA metode *real-time* PCR dilakukan menggunakan EvaGreen®.

Hasil analisis menunjukkan bahwa DNA sapi dan babi dapat diperoleh dari isolasi kerupuk rambak. Primer mitokondria secara spesifik mampu mengamplifikasi isolat DNA babi baik pada daging maupun pada kerupuk rambak. Batas deteksi primer mitokondria D-loop 22 dengan metode *real-time* PCR pada kerupuk rambak babi 100% adalah 0,78 ng/μL dengan nilai efisiensi amplifikasi sebesar 110,60% dan nilai R^2 sebesar 0,951 sedangkan pada kerupuk rambak campuran antara sapi dengan babi adalah 0,5% dengan nilai efisiensi amplifikasi sebesar 42,20% dan nilai R^2 sebesar 0,921. Nilai koefisien variasi (CV) rata-rata pada uji keterulangan dengan amplifikasi isolat DNA dari kerupuk rambak babi 100% dan kerupuk rambak campuran sapi dan babi masing-masing adalah 0,74% dan 0,44%.

Kata kunci : isolasi DNA, kerupuk rambak, *real-time* PCR, primer mitokondria D-loop 22

ABSTRACT

“Rambak” crackers is a snack which made from cattle skin, commonly buffalo and cow skin. Halal assurance is needed, especially for Moslems to assure that the product is not made from pig skin. Therefore, it takes a method to identify whereas the “rambak” containing pig skin. Identification of pig presence at the level of Deoxyribose Nucleic Acid (DNA) can be performed by real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) method with using Displacement Loop (D-loop) 22 mitochondrial primers. Mitochondrial D-loop 22 primers is expected to amplify pig DNA fragments, specifically in “rambak”.

In DNA identification, the first step was isolating DNA of beef and pork as well as cow and pig “rambak”. DNA concentration and purity measurements were performed by using agarose gel electrophoresis and spectrophotometry UV (ultraviolet). The analysis was followed by pig's-DNA amplification using real-time PCR with primers which was designed based on the pig's mitochondrial D-loop region with the amplicon of 176 bp (base pairs). Amplification was done by using annealing temperature of 59°C for 30 cycles. The result detection of DNA amplification with real-time PCR method was performed by EvaGreen®.

The analysis results showed that cow and pig DNA can be obtained from “rambak” isolation. Mitochondrial primers can amplified pig's DNA specifically in meat and “rambak” crackers. Detection limit of mitochondrial D-loop 22 primers using real-time PCR method in 100% pig “rambak” is 0,78 ng/μL with amplification efficiency score of 110,60% and R^2 score of 0,951 whereas in mixed cow and pig “rambak” crackers was 0,5% with amplification efficiency score of 42,20% and R^2 score of 0,921. The average coefficient of variation (CV) on the repeatability test using DNA amplification of 100% pig and mixed cow pig “rambak” were respectively 0,74% and 0,44%.

Keywords: DNA isolation, “rambak” crackers, real-time PCR, mitochondrial D-loop 22 primers