

Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis dengan Metode *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP)

DNA Extraction from Raw Meat for Analysis with the Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method

Rosy Hutami^{1a}, Hanifah Bisyr², Sukarno², Henny Nuraini^{3,4}, Raafqi Ranasasmita⁵

¹Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Ilmu Pangan Halal, Universitas Djuanda Bogor, 16720

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor

³Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

⁴*Halal Science Center*, Institut Pertanian Bogor

⁵Laboratorium Halal, Lembaga Pengkajian Pangan Obat-Obatan dan Kosmetika, Majelis Ulama Indonesia

^aKorespondensi : Rosy Hutami, E-mail: rosy.hutami@unida.ac.id

(Diterima oleh Dewan Redaksi : 15 – 10 - 2018)
(Dipublikasikan oleh Dewan Redaksi : 31 – 10-2018)

ABSTRACT

DNA extraction is needed in the analysis using the Loop-mediated isothermification (LAMP) method because this method identifies nucleic acids. Some extraction methods that can be selected including commercial kits extraction method and phenol-chloroform extraction method. The purpose of this study was to obtain the best quality DNA extract between the two extraction methods. The DNA extraction process produced DNA concentrations between 31.06 - 410.18 ng / ml for the commercial kit DNA extract and 212.60 - 1502.30 ng / ml for the phenol-choroform DNA extract. While the purity of DNA were 1.82-2.02 for commercial kit DNA extract and 1.93-2.02 for phenol-chloroform DNA extract. The concentration and purity of extracts produced from both methods meet the requirements for molecular analysis. The purity and visualization results of commercial kit DNA extract are better than those produced from extraction from the phenol-chloroform method. DNA extract obtained from the commercial kit method was chosen to be used in the amplification stage of the method (LAMP).

Keywords: phenol, chloroform, kit, concentration, purity.

ABSTRAK

Ekstraksi DNA diperlukan dalam analisis dengan metode *Loop-mediated isotherm almplication* (LAMP) karena metode ini mengidentifikasi asam nukleat. Beberapa metode ekstraksi yang dapat dipilih antara lain metode ekstraksi menggunakan kit komersial dan metode ekstraksi menggunakan fenol-kloroform. Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh ekstrak DNA dengan mutu yang paling baik di antara kedua metode ekstraksi. Proses ekstraksi DNA menghasilkan konsentrasi DNA antara 31,06 – 410,18 ng/ml dengan metode kit komersial dan 212,60 – 1502,30 ng/ml dengan metode phenol-choroform. Sedangkan kemurnian DNA yang dihasilkan berkisar antara 1,82-2,02 dengan metode kit komersial dan 1,93-2,02 dengan metode ekstraksi phenol-chloroform. Konsentrasi dan kemurnian ekstrak yang dihasilkan dari kedua metode memenuhi syarat untuk dilakukan analisis molekuler. Kemurnian dan hasil visualisasi ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi menggunakan kit komersial lebih baik daripada yang dihasilkan dari ekstraksi dari metode phenol-chloroform. Ekstrak DNA yang diperoleh dari metode kit komersial dipilih untuk digunakan dalam tahap amplifikasi pada metode (LAMP).

Kata kunci: phenol, chloroform, kit, konsentrasi, kemurnian.

PENDAHULUAN

Metode *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) merupakan salah satu metode uji molekuler berbasis identifikasi asam nukleat (Notomi *et al.*, 2000). Dalam kaitannya dengan pangan, metode ini dapat digunakan untuk menganalisis otentikasi pangan dengan cara mengidentifikasi DNA pada sampel seperti yang telah dilakukan oleh Kanchanaphum *et al.*, (2014). Untuk mendapatkan DNA yang memenuhi syarat untuk analisis molekuler, maka dilakukan ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA merupakan proses pemisahan DNA dari komponen sel lainnya seperti protein, karbohidrat, lemak dan lain-lain. Ekstraksi DNA terdiri dari tiga tahap utama yakni merusak dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari komponen lainnya serta pemurnian DNA (Corkill dan Rapley 2008). Pemecahan sel atau lisis pada proses ekstraksi sel bertujuan untuk menghancurkan membran dan dinding sel sehingga bagian dalam sel dapat keluar (Holme dan Peck, 1998). Selanjutnya tahap pemisahan DNA dari makromolekul lain seperti protein, sebagian kecil RNA, lipid dan polisakarida (Muladno (2010); Utami (2012)). Tahap terakhir ialah pemurnian DNA. Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan residu dari zat yang digunakan pada tahap lisis dan pemisahan DNA.

Metode konvensional dalam ekstraksi DNA diantaranya adalah metode ekstraksi menggunakan *phenolchloroform*. Metode ini memerlukan sejumlah tahapan penambahan bahan-bahan kimia dan membutuhkan waktu pengerjaan yang cukup lama (± 18 jam) (Sambrook *et al.*, 1989; Andreas *et al.*, 2000). Seiring dengan berkembangnya teknologi, proses ekstraksi DNA telah mengalami pengembangan dan modifikasi sehingga lebih efisien. Salah satu bentuk modifikasi proses ekstraksi DNA ialah penggunaan kit ekstraksi komersial yang telah berisi campuran bahan yang dibutuhkan untuk proses ekstraksi dengan waktu pengerjaan yang cukup singkat (± 2 jam).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan ekstrak DNA dari daging segar dengan mutu yang paling baik berdasarkan ekstraksi metode kit dan metode *phenolchloroform*. Penentuan mutu ekstrak DNA didasarkan pada konsentrasi dan kemurnian DNA yang dihasilkan.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daging babi, daging sapi, daging kambing, daging ayam, dan daging ikan, kit ekstraksi DNA (yang terdiri dari *dithiothreitol* (DTT), proteinase K, RNase A, *lysis buffer*, *binding buffer*, *wash buffer*, *elution buffer*, etanol pro analisis (pa) 100% dan etanol pa 75%), SDS, STE, larutan fenol, NaCl 5M, CIA, aquades bebas DNA, bubuk agarosa, Tris-Borat-EDTA (TBE), FlouoroSafe, *loading dye* dan DNA *ladder* 100 bp.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik (Precisa XB220A), *sentrifuse* Sorvall ST 16R (*Thermo Scientific*), spektrofotometer Genova Nano (Jenway), vortex SA8, mikropipet Eppendorf 0.1-2.5 μ L, mikropipet Eppendorf 0.5-10 μ L, mikropipet Eppendorf 100 μ L, mikropipet Eppendorf 200 μ L, mikropipet Eppendorf 1000 μ L, *microwave*, *magnetic stirrer*, alat elektroforesis (Mupid-exu), UV-Transilluminator (Alphalmager EP), kantung plastik, sarung tangan lateks serta berbagai macam alat gelas.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei s.d. September 2018 yang bertempat di Laboratorium Halal Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-Obatan dan Kosmetika, Majelis Ulama Indonesia dan Laboratorium Genetika Molekuler Ternak, Institut Pertanian Bogor.

Ekstraksi DNA dengan Kit Ekstraksi DNA

Daging segar yang digunakan sebagai sampel ialah daging babi, sapi, kambing, ikan dan ayam. Sampel daging diekstraksi dengan kit ekstraksi DNA. Proses ekstraksi diawali dengan mencampur 200 mg sampel dengan *buffer lysis* sebanyak 320 μ L, RNase A

sebanyak 16 µl, proteinase-K sebanyak 16 µl dan DTT sebanyak 3.2 µl dalam tabung 2 ml. Selanjutnya, campuran diinkubasi pada suhu 65 °C selama 60 menit. Lalu, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 16 099 G selama sebelas menit. Campuran ditambahkan dengan *binding buffer* sebanyak 320 µl, kemudian dicampur menggunakan vortex dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama sepuluh menit. Hasil inkubasi kemudian dibilas dengan 320 µl etanol pa 100%, 500 µl *wash buffer*, 500 µl etanol pa 75%. Lalu dilarutkan dengan 100 µl *elution buffer* (suhu 65 °C).

Ekstraksi DNA dengan Phenolchloroform

Proses ekstraksi DNA yang menggunakan *phenol-chloroform* ini merujuk pada (Sambrook *et al.*, 1989; Andreas *et al.*, 2010). Proses ini diawali dengan mencampur 0,1 m sampel dengan *sodium dodecyl sulfate* (SDS) sebanyak 40 µl, proteinase-K sebanyak 20 µl dan 1X *STE buffer* sebanyak 350 µl dalam tabung 1,5 ml. Selanjutnya, campuran diinkubasi pada suhu 55 °C selama 2 jam. Lalu, campuran ditambahkan dengan larutan fenol sebanyak 400 µl, *chloroform isoamyl alcohol* sebanyak 400 µl dan NaCl 5 M sebanyak 40 µl, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 60 menit. Supernatan hasil inkubasi kemudian dipindahkan ke tabung 1,5 ml baru lalu dibilas dengan 800 µl etanol pa 100%, 800 µl etanol pa 70%. Lalu dilarutkan dengan 100 µl *elution buffer*.

Evaluasi Mutu Ekstrak DNA

Evaluasi mutu ekstrak DNA dilakukan dengan mengukur konsentrasi dan kemurnian DNA serta elektroforesis ekstrak DNA. Konsentrasi dan kemurnian ekstrak DNA dapat diketahui dengan analisis spektrofotometri. Pengukuran konsentrasi dilakukan pada panjang gelombang 260 nm sementara pengukuran kemurnian ekstrak DNA dilakukan pada panjang gelombang 260/280 nm. Sebanyak 3 µl larutan *elution buffer* digunakan sebagai blanko. Elektroforesis ekstrak DNA dilakukan

dengan menganalisis ekstrak DNA sebanyak 5µl pada media gel agarosa 1.5%. Hasil elektroforesis selanjutnya dilihat di bawah cahaya UV.

Pengenceran Ekstrak DNA

Tahap pengenceran dilakukan untuk menyeragamkan konsentrasi DNA. Sehingga konsentrasi DNA yang diamplifikasi pada tahap selanjutnya seragam dan tidak terlalu pekat. Ekstrak DNA diencerkan hingga konsentrasi 10 ng/µl (Sambrook *et al.* 2001). Air bebas DNA ditambahkan sebagai pengencer ekstrak DNA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Mutu Ekstrak DNA

Evaluasi mutu ekstrak DNA dilakukan dengan mengukur konsentrasi dan kemurnian ekstrak DNA serta visualisasi ekstrak DNA pada gel agorosa 1,5%. Hasil pengukuran konsentrasi ekstrak DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan kit ekstraksi DNA komersial dan *phenol-chloroform* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi ekstrak DNA daging yang diekstraksi dengan metode kit dan metode *phenol-choroform*

| Sampel | Konsentrasi Ekstrak DNA (ng/µl) | |
|---------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Metode Kit | Metode <i>Phenol-Chloroform</i> |
| Babi | 303,10 ^a | 225,95 ^b |
| Sapi | 177,20 ^a | 547,45 ^b |
| Kambing | 109,21 ^a | 603,40 ^b |
| Ayam | 410,18 ^a | 1502,30 ^b |
| Ikan | 31,065 ^a | 212,60 ^b |

Keterangan : notasi huruf yang berbeda dalam baris yang sama pada tabel menunjukkan berbeda nyata pada taraf kepercayaan $\alpha=0,05$.

Berdasarkan hasil uji beda berpasangan nilai konsentrasi ekstrak DNA, diketahui bahwa secara umum konsentrasi ekstrak DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan *kit* berbeda nyata dengan konsentrasi DNA yang diperoleh dari

proses ekstraksi menggunakan *phenol-chloroform* ($p < 0,05$) (Tabel 1). Konsentrasi DNA yang lebih tinggi didapatkan dari proses ekstraksi menggunakan *phenol-chloroform*, kecuali pada sampel daging babi. Hal ini dapat diakibatkan oleh kuang optimalnya pengambilan ekstrak DNA babi dari tabung 1,5 ml sebelumnya ke tabung 1,5 ml yang selanjutnya setelah diinkubasi dengan larutan fenol, CIA, dan NaCl. Secara umum, dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi mempengaruhi konsentrasi ekstrak DNA dan ekstraksi menggunakan metode *phenol-chloroform* dinilai lebih maksimal dalam mengisolasi DNA dari jaringan asal dan menghasilkan kemurnian DNA yang tinggi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Hutami *et al.*, (2017).

Metode ekstraksi *phenol-chloroform* merupakan metode ekstraksi fase cair (Hutami *et al.* 2017). Metode ekstraksi *phenol-chloroform* secara umum terdiri dari tiga tahap yakni proses lisis sel, pemisahan DNA dan pemurnian DNA. Proses lisis sel dilakukan secara kimiawi dengan penambahan detergen *sodium dodecyl sulfate* (SDS) dan enzimatik dengan penambahan proteinase-K pada tahap awal ekstraksi. Penambahan SDS berfungsi untuk melarutkan lipid pada membran sel sehingga terjadi destabilisasi membran sel serta mengikat protein dan polisakarida pada membran sel sehingga membran sel terbuka (Surzycki 2000; Demeke *et al.*, 2009). Selain berperan dalam pemecahan sel, penambahan SDS juga berperan dalam mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi DNA (Ebeling *et al.*, 1974). Sementara itu enzim proteinase-K berfungsi untuk memutus gugus karboksil asam amino pada ikatan peptida yang menyusun lapisan peptidoglikan dinding sel (Surzycki 2000). Proses lisis dilakukan dalam larutan *salt tris EDTA* (STE). Tris berfungsi sebagai buffer yang mencegah kerusakan DNA dengan mempertahankan pH dalam keadaan normal, yakni pada pH 8 (Montgomery *et al.* 1990). Sementara EDTA berfungsi agen pengkelat yang dapat mengikat ion-ion

logam bermuatan positif seperti Ca^{2+} dan Mg^{2+} pada membran sel yang menyebabkan membran sel mudah terurai (Surzycki 2000).

Tahap pemisahan DNA dilakukan dengan penambahan *phenol-chloroform* dan *chloroform isoamyl alcohol* (CIA). Penambahan fenol menyebabkan protein kehilangan kelarutannya dan mengalami presipitasi sehingga selanjutnya dapat dipisahkan dari DNA melalui sentrifugasi (Karp 2008). Larutan fenol dan CIA dapat mengikat protein, sebagian kecil RNA, lipid dan polisakarida (Sambrook *et al.* 1989; Muladno 2010; Utami 2012). Menurut Bettelheim dan Landdesberg (2007), setelah disentrifugasi, campuran akan terpisah menjadi dua fase yakni fase organik pada lapisan bawah dan fase *aqueous* (air) berada pada lapisan atas. DNA dan RNA akan berada pada fase *aqueous* sementara makromolekul protein, lipid dan polisakarida akan berada pada fase organik.

Proses ekstraksi dilanjutkan dengan penambahan etanol absolut dan NaCl 5 M. Penambahan etanol dan NaCl menyebabkan penurunan kelarutan asam nukleat dalam air sehingga DNA mengalami presipitasi membentuk endapan DNA pada bagian bawah tabung (Surzycki 2000). Setelah proses presipitasi, dilakukan pencucian endapan DNA menggunakan etanol. Residu etanol selanjutnya dihilangkan dengan cara evaporasi karena etanol mudah menguap.

Prinsip kit ekstraksi yang digunakan ialah penggunaan silikon dioksida dalam sebuah *spin column* yang mampu mengabsorpsi DNA. Sama halnya dengan proses ekstraksi DNA menggunakan *phenol-chloroform*, proses ekstraksi DNA menggunakan kit dengan kolom silika juga secara umum terdiri dari tiga tahap yaitu lisis sel, pemisahan DNA dan pemurnian DNA. Metode ini termasuk dalam metode ekstraksi fase solid (Hutami *et al.* 2017).

Tahap lisis sel dalam metode ekstraksi dengan kit ekstraksi dilakukan dengan secara kimiawi dan enzimatik menggunakan *lysis buffer*, proteinase-K, RNase, dan *dithiothreitol* (DTT). DTT berfungsi untuk

mereduksi ikatan disulfida yang menyusun membran sel, karena keberadaan ikatan disulfida menyebabkan kinerja *lysis buffer* tidak efektif (Butler 2001). Tahap pemisahan DNA dilakukan berdasarkan adsorpsi DNA pada partikel silika sementara partikel makromolekul lainnya mengendap di dasar tabung. Adsorpsi DNA dapat terjadi karena tingginya afinitas muatan negatif rantai DNA terhadap partikel silika yang bermuatan positif (Boom *et al.* 1990). Setelah proses pemisahan DNA, dilakukan pemurnian DNA menggunakan etanol.

Hasil pengukuran kemurnian ekstrak DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan kit ekstraksi DNA komersial dan *phenol-chloroform* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kemurnian ekstrak DNA daging yang diekstraksi dengan metode kit dan metode *phenol-chloroform*

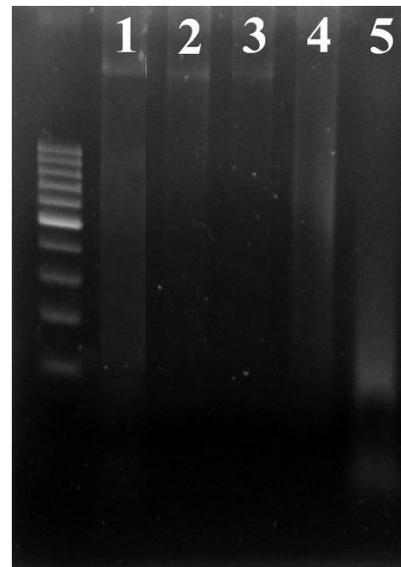
| Sampel | Kemurnian ekstrak DNA | |
|---------|-----------------------|---------------------------------|
| | Metode Kit | Metode <i>Phenol-Chloroform</i> |
| Babi | 1,98 | 2,00 |
| Sapi | 1,97 | 1,93 |
| Kambing | 1,82 | 2,02 |
| Ayam | 2,02 | 2,02 |
| Ikan | 1,82 | 1,94 |

Keterangan : notasi huruf yang berbeda dalam baris yang sama pada tabel menunjukkan berbeda nyata pada taraf kepercayaan $\alpha=0,05$.

Hasil pengukuran kemurnian ekstrak DNA menunjukkan bahwa ekstrak DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan kit dan *phenol-chloroform* memiliki nilai kemurnian yang baik dan memenuhi persyaratan yang dibutuhkan untuk analisis molekuler yakni berkisar antara 1,8-2,0 (Sambrook *et al.* 1989; Muladno 2010). Meskipun nilai kemurnian ekstrak DNA kambing dari hasil ekstraksi metode *phenol-chloroform* dan nilai kemurnian ekstrak DNA ayam dari hasil ekstraksi metode kit dan *phenol-chloroform* sedikit di atas angka 2,0, namun ekstrak DNA dengan nilai kemurnian ini masih bisa diterima untuk dilakukan analisis molekuler. Nilai kemurnian ekstrak DNA lebih dari 2,0

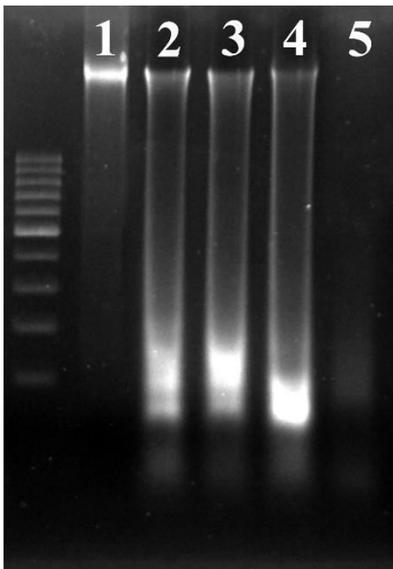
menunjukkan bahwa ekstrak DNA masih mengandung kontaminan dari senyawa protein (Sambrook *et al.*, 2001). Nilai kemurnian yang didapatkan tidak ada yang kurang dari 1,8. Menurut Sambrook *et al.*, (2001), apabila nilai kemurnian ekstrak DNA kurang dari 1,8 menandakan bahwa ekstrak DNA masih mengandung residu fenol dan kontaminan pelarut lainnya.

Evaluasi mutu ekstrak DNA dari daging segar ini diperkuat dengan visualisasi ekstrak DNA dengan metode elektroforesis gel. Hasil elektroforesis gel ekstrak DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan kit ekstraksi DNA komersial disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis ekstrak DNA babi (1), sapi (2), kambing (3), ayam (4) dan ikan (5) dengan proses ekstraksi menggunakan kit ekstraksi DNA

Hasil elektroforesis gel ekstrak DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan metode *phenol-chloroform* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil elektroforesis ekstrak DNA babi (1), sapi (2), kambing (3), ayam (4) dan ikan (5) dengan proses ekstraksi menggunakan kit ekstraksi DNA

Berdasarkan hasil visualisasi ekstrak DNA pada Gambar 1 dan Gambar 2 terlihat bahwa secara umum pita DNA ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan *phenol-chloroform* (Gambar 2) lebih tebal dari pita DNA ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan kit (Gambar 1). Pita yang tebal menunjukkan tingginya DNA total yang berhasil diekstraksi. Hal ini sejalan dengan hasil pengukuran konsentrasi DNA, bahwa konsentrasi DNA yang didapatkan dari metode ekstraksi *phenol-chloroform* lebih tinggi dari pada konsentrasi DNA yang didapatkan dari metode kit (Tabel 1).

Berdasarkan Gambar 2 juga terlihat adanya daerah terang di bagian bawah foto gel agarosa yang menunjukkan bahwa metode ekstraksi *phenol-chloroform* masih menyisakan sejumlah residu atau kontaminan pada ekstrak DNA yang dihasilkan. Hal ini sejalan dengan hasil pengujian kemurnian ekstrak DNA (Tabel 2) yang menunjukkan beberapa nilai kemurnian ekstrak DNA dari metode ekstraksi *phenol-chloroform* berada di atas 2,0. Kontaminan tersebut diduga merupakan senyawa protein (Sambrook *et al.*, 2001). Sedangkan hasil ekstraksi metode kit tidak

menunjukkan adanya daerah terang di bagian bawah foto gel agarosa yang mengartikan bahwa tidak terdapat kontaminan dari ekstrak yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil perbandingan dari dua metode ekstraksi diketahui bahwa proses ekstraksi DNA menggunakan *phenol-chloroform* menghasilkan ekstrak DNA dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan proses ekstraksi menggunakan kit. Hal ini dikarenakan metode ekstraksi *phenol-chloroform* memiliki mekanisme pemecahan sel yang lebih optimal menggunakan dua bahan kimiawi untuk proses pemecahan sel, yakni SDS dan larutan STE. Senyawa SDS menyebabkan terjadinya destabilisasi membran sel serta mengikat protein dan polisakarida pada membran sel sehingga membran sel terbuka (Surzycki 2000; Demeke *et al.* 2009). Selain itu senyawa EDTA pada larutan STE juga membantu mekanisme pemecahan sel. Senyawa EDTA mampu mengikat ion-ion positif seperti Ca^{2+} dan Mg^{2+} pada membran sel yang menyebabkan membran sel menyadi mudah terurai (Surzycki 2000). Sedangkan pada metode ekstraksi dengan kit komersial, pemecahan sel secara kimiawi hanya dilakukan oleh *dithiothreitol* (DTT), yang merusak ikatan disulfida pada membran sel,

Akan tetapi proses ekstraksi DNA menggunakan *phenolchloroform* membutuhkan waktu yang lama dan proses yang lebih rumit (Tan dan Yiap 2009). Proses ekstraksi menggunakan *phenolchloroform* membutuhkan waktu selama ± 18 jam sementara proses ekstraksi menggunakan kit hanya membutuhkan waktu selama ± 2 jam. Selain itu metode ekstraksi menggunakan silika dapat menghilangkan residu fenol dan kloroform dengan lebih baik. (Tan dan Yiap 2009; Yang *et al.* 1998). Kondisi ekstrak DNA yang murni yang bebas residu sangat penting pada tahap kerja selanjutnya, karena keberadaan residu dari proses ekstraksi DNA dapat menghambat reaksi kimia pada tahap kerja teknologi DNA selanjutnya (Yang *et al.* 1998). Sehingga untuk analisis dengan

metode *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP) yang tergolong sensitif, dipilih ekstrak DNA yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan kit untuk digunakan pada tahap amplifikasi.

KESIMPULAN

Metode ekstraksi kit dan *phenol-chloroform* mampu menghasilkan konsentrasi dan kemurnian ekstrak DNA yang dipersyaratkan untuk analisis molekuler. Akan tetapi, kemurnian ekstrak DNA yang dihasilkan dengan metode ekstraksi kit lebih baik daripada nilai kemurnian yang dihasilkan dari metode ekstraksi *phenol-chloroform*. Dengan demikian, dipilih ekstrak DNA yang dihasilkan dari proses ekstraksi kit untuk digunakan dalam analisis LAMP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi sesuai dengan Perjanjian Pendanaan Program Penelitian Tahun 2018 Nomor : 0826/K4/KM/2018. Terima kasih kepada Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-Obatan dan Kosmetika, Majelis Ulama, Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Andreas E, Sumantri C, Nuraini H, Farajallah A, Anggraeni A. 2010. Identification of GH|AluI and GHR|AluI genes polymorphisms in Indonesian buffalo. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 35: 215-221.
- Boom R, Sol CJA, Salimans MMM, Jansen CL, Wertheim-vanDillen PME, VanDerNoordaa J. 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*. 495-503.
- Butler JM. 2001. *Forensic DNA Typing: Biology and Technology behind STR Markers*. London (UK): Academic Press.
- Corkill G, Rapley R. 2008. *The Manipulation of Nucleic Acid: Basic Tools & Techniques in Molecular Biomethods Handbook*. Ed ke-2. New York (US): Humana Press.
- Demeke T, Ratnayaka I, Phan A. 2009. Effects of DNA extraction and purification methods on real-time quantitative PCR analysis of roundup ready soybean. *Journal of Association of Official Analytical Chemists International*. 92(4): 1136-1144.
- Ebeling W, Henrich N, Klockow M, Metz H, Orth HD, Lang H. 1974. Proteinase K from *Tritirachium album* limber. *European Journal of Biochemistry*. 47(1): 91-97.
- Holme DJ, Peck H. 1998. *Analytical Biochemistry*. Ed ke-3. Harlow (GB): Pearson Education Limited.
- Hutami R, Idzni N, Ranasasmita R, Suprayatmi M. 2017. *Jurnal Pertanian*. 8(2):106-112.
- Kanchanaphum P, Maneenin S, Chaiyana W. 2014. Analysis of pork meat using LAMP to confirm halal status. *International Journal of Bioscience*. 4(9):62-68.
- Montgomery GW, Sise JA. 1990. Extraction DNA from sheep white blood cell. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 33: 437-441.
- Muladno. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika*. Bogor (ID): IPB Press.
- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*. 28(12): 63.
- Sambrook J, Fritsch F, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning Laboratory Manual*. 3rd edition. New York (US): Cold Spring Harbor Laboratory Pr.

- Surzycki S. 2000. General aspects of DNA isolation and purification. *Basic Techniques in Molecular Biology*. 1-32.
- Tan SC, Yiap BC. 2009. DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 1-10.
- Utami A, Meryalita R, Prihatin NA, Ambarsari L, Kurniatin PA, Nurcholis W. 2012. Variasi metode isolasi DNA daun temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb). Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa Surabaya*; 2012; Surabaya, Indonesia. Surabaya (ID).
- Yang DY, Eng B, Wayne JS, Dudar JC, Saunders SR. 1998. Technical note: Improve DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns. *American Journal of Physical Anthropology*. 105: 539-543.