

Optimasi metode deteksi molekuler porsin pada cangkang kapsul gelatin dengan polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) = Optimization of molecular detection of porcine in gelatin capsule shell by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

Viktoria Mardhika Estepane, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20458975&lokasi=lokal>

Abstrak

Gelatin merupakan bahan utama penyusun cangkang kapsul. Salah satu cara untuk mengetahui adanya kandungan gelatin porsin dalam campuran gelatin adalah dengan deteksi molekuler terhadap sekuens sitokrom b cyt b pada DNA dari gelatin. Penelitian ini dilakukan untuk mengoptimasi kondisi metode PCR-RFLP dalam mendeteksi kandungan porsin dan bovin dari cangkang kapsul dalam campurannya sehingga diperoleh metode yang sensitif dan efisien, karena rendahnya jumlah DNA trace setelah proses pembentukan gelatin dan pengolahannya menjadi kapsul. Optimasi dilakukan pada ekstraksi DNA, kondisi PCR, dan sensitivitas metode PCR-RFLP. Ekstraksi dioptimasi agar diperoleh jumlah DNA yang cukup dan dapat teramati pada gel agarosa. Kondisi optimum untuk PCR DNA reference dan kapsul diperoleh dengan pemilihan DNA polimerase yang memberikan hasil terbaik. Hasil amplifikasi DNA reference campuran bovin-porsin didigesti menggunakan enzim restriksi BsaJI. Enzim restriksi BsaJI memotong gen sitokrom b porsin menjadi dua fragmen, yaitu 228 bp dan 131 bp. Optimasi sensitivitas metode PCR-RFLP menunjukkan metode mampu mendeteksi hingga konsentrasi 0,01 porsin dalam campurannya dengan bovin, dianalisis dengan kuantifikasi berbasis software dan pengamatan visual. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode PCR-RFLP dapat digunakan sebagai metode deteksi awal dan sensitif dalam mendeteksi porsin dengan konsentrasi rendah dalam campuran gelatin.

<hr>

Detection of porcine, as one of gelatin sources, can be done by molecular detection of cytochrome b sequence in DNA. This study was aimed to optimize the PCR RFLP method in detecting porcine in capsule shell and porcine in mixtures with bovine in gelatin to obtain a sensitive and efficient method. Optimization was carried out for DNA extraction, PCR conditions, and the sensitivity of PCR RFLP method. Due to very low DNA trace in gelatin after various manufacturing process, the extraction was optimized to obtain sufficient DNA yield which was visible on the agarose gel. The optimum condition for DNA amplification was obtained by selecting the most suitable DNA polymerase. Amplified various concentrations of porcine bovine DNA mixtures and capsule shell DNA were digested using BsaJI restriction enzyme. BsaJI restriction enzyme was able to cleave porcine cytochrome b gene into two fragments of 228 bp and 131 bp. The optimization of the sensitivity of PCR RFLP method showed that method is able to detect up to 0.01 porcine in mixtures with bovine analyzed using software based quantification and visual observation. Result demonstrated that the PCR RFLP method is sensitive and suitable for early detection of porcine DNA in gelatin mixtures.