

Optimasi metode deteksi molekuler DNA porsin menggunakan polymerase chain reaction (PCR) pada gelatin dan cangkang kapsul produk suplemen = Optimization of molecular detection on porcine's DNA with polymerase chain reaction (PCR) method in gelatin and supplements' capsule shell

Astrid Karunia Putri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20474770&lokasi=lokal>

Abstrak

Momentum disahkannya UU no. 33 tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal menjadi acuan awal pengembangan metode deteksi molekuler DNA porsin terhadap kehalalan produk. Undang-undang ini mewajibkan seluruh produk yang masuk dan beredar di Indonesia tersertifikasi halal, termasuk tidak boleh mengandung fragmen babi. Deteksi dilakukan pada jumlah sekelumit jejak DNA yang masih tersisa di dalam gelatin cangkang kapsul setelah melalui proses pembuatan yang panjang dengan pH dan suhu ekstrim. Untuk itu, optimasi metode ekstraksi sangat berperan penting agar mendapatkan jumlah DNA yang memadai.

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan metode optimal perolehan DNA dan menentukan kondisi optimal metode deteksi molekuler DNA porsin menggunakan metode Polymerase Chain Reaction yang sensitif. Metode PCR yang digunakan adalah PCR duplex dan PCR nested dengan target sekuens DNA ATP8 dan Cytb. Optimasi dilakukan pada metode ekstraksi DNA dengan mengubah jumlah replikat sampel, modifikasi komposisi proses resuspensi dan pelisisan sel, jumlah campuran saat tahap awal isolasi DNA, serta pemekatan pada tahap akhir pengisolasian DNA.

Hasil optimasi menunjukkan jumlah replikat gelatin optimum adalah delapan sampel ekstraksi. Optimasi PCR dilakukan dengan membandingkan metode PCR duplex dan PCR nested pada uji sensitivitas, serta optimasi kondisi masing-masing PCR tersebut. Hasil positif mengandung DNA porsin dinyatakan dengan terbentuknya dua amplikon 212bp dan 398bp pada PCR duplex atau satu amplikon 387bp pada PCR nested. Dari enam titik konsentrasi DNA yang diujikan pada uji sensitivitas, PCR nested dapat mendeteksi konsentrasi DNA hingga 1 fg/ ??l sedangkan PCR duplex yang hanya dapat mendeteksi hingga 1 ng/ ??l. Deteksi terhadap sampel kapsul suplemen menunjukkan bahwa terdeteksi DNA porsin dalam sampel dengan metode PCR nested dan PCR duplex. Metode duplex dan nested PCR dapat diterapkan sebagai metode deteksi awal secara kualitatif namun tidak kuantitatif.

.....Halal product assurance regulation, which was established under Law no. 33 year 2014, gave a major impact for the development of molecular detection method of porcines DNA in a product. This law obliges all products in Indonesia to have halal status, included no pigs fragment at all. Traces amount of DNA from gelatin and capsule shell which was still remaining after long manufacturing process under extreme pH and temperature, were detected and amplified. Thus, optimization of DNA extraction method is important to get the sufficient amount of DNA.

The aims of this study are to obtain an optimum DNA collection method and to determine optimum condition of sensitive molecular detection method of porcines DNA using PCR. The sequence DNA targets ATP8 and Cytb were amplified using duplex and nested PCR methods. The optimization on number of sample replication, on composition mix in resuspension and cell lysis process, on the amount of the solution

used when starting the DNA isolation process, and the final concentration of DNA isolation process have done.

Result showed that the optimum numbers of replication for gelatin are eight times. Optimization of PCR was done by comparing nested PCR and duplex PCR for sensitivity test, also for both PCR conditions. Two amplicon of 212bp and 398bp in duplex PCR or one amplicon of 387bp in nested PCR were obtained only in sample that positive contains porcines DNA. Six different concentrations of template DNA that has been carried out for sensitivity test in both methods showed that nested PCR can detect as low as 1fg l DNA while duplex PCR can only detect 1ng l DNA concentration as the lowest. Porcines DNA has been detected in all capsule shell samples. Optimized duplex and nested PCR method could be applied as early qualitative detection.