

Optimasi metode deteksi molekuler DNA porsin menggunakan polymerase chain reaction (PCR) pada gelatin dan cangkang kapsul obat herbal = Optimization of molecular detection on porcine DNA with polymerase chain reaction (PCR) method in gelatin and herbal products capsule shell

Andrian Yanuar Senjaya, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20474844&lokasi=lokal>

Abstrak

Bahan utama dari cangkang kapsul obat dihasilkan dari gelatin. Kulit dan tulang sapi atau babi merupakan sumber utama yang paling banyak digunakan untuk pembuatan gelatin. Undang-Undang No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal mewajibkan semua produk yang beredar di Indonesia bersertifikat halal, hal ini termasuk tidak boleh mengandung fragmen babi. Keberadaan DNA di dalam gelatin cangkang kapsul hanya sekelumit sebagai akibat dari pembuatan gelatin yang menggunakan pH dan suhu yang ekstrem. Oleh karena itu diperlukan metode perolehan DNA yang optimum dan deteksi molekuler yang sensitif terhadap keberadaan DNA porsin di dalam cangkang kapsul.

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi perolehan DNA lewat ekstraksi, mengoptimasi dua metode PCR, yaitu duplex PCR dan nested PCR dan membandingkan sensitivitas kedua metode tersebut serta mendeteksi kandungan porsin pada empat sampel cangkang kapsul obat herbal. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Polymerase Chain Reaction PCR yang merupakan metode deteksi molekuler berbasis DNA. Optimasi ekstraksi dilakukan dengan mengubah jumlah replikat ekstraksi DNA yang terdiri dari jumlah sampel yang diekstraksi, modifikasi komposisi proses resuspensi dan pelisisan sel serta jumlah replikat saat tahap akhir pengisolasian DNA. Jumlah sampel yang diekstraksi memberikan hasil optimum pada 8 replikat.

Optimasi metode PCR dilakukan dengan mengoptimasi suhu annealing dan komposisi komponen PCR. Metode nested PCR mempunyai sensitivitas lebih baik dibandingkan dengan duplex PCR. Metode nested PCR masih dapat mendeteksi hingga 1 fg/ L cetakan DNA sementara duplex PCR hanya sampai 1 ng/ L. Analisis dilakukan dengan bantuan software dan pengamatan visual. Namun, dalam hal efisiensi metode duplex PCR lebih baik dibandingkan nested PCR. Ditemukan kandungan DNA porsin pada keempat sampel cangkang kapsul obat herbal menggunakan metode duplex maupun nested PCR.

.....Capsule shell is mainly composed by gelatin. Most gelatin is made by skin and bone of porcine or bovine. All products in Indonesia are obliged halal certified by Law Number 33 Year 2014 on Halal Product Assurance, included free porcine fragment. DNA in capsule shell gelatin remain in a trace amount as a result of manufacturing of gelatin with extreme pH and temperature. Therefore, optimum DNA acquisition method and sensitive molecular detection method are required for tracing DNA in capsule shell gelatin.

This study was aimed to optimize DNA acquisition method through extraction, optimize duplex and nested PCR and compare sensitivity for two PCR methods also detect porcine in four herbals capsule shell samples. Method for this study is Polymerase Chain Reaction PCR, molecular detection based on DNA. Optimization of extraction method was carried out by changing the number of DNA extraction replicate, consist of number of extracted samples, modification composition of resuspension and lysis process, and number of replicate in final stage of isolation DNA process. The number of extracted samples gave optimum result in 8

replicates.

Optimization of PCR method was carried out by optimizing the annealing temperature and composition component of PCR. Nested PCR method has better sensitivity than duplex PCR method. Nested PCR method could detect as low as 1 fg L DNA template while duplex PCR until 1 ng L DNA template only analysed with software based quantification and visual quantification. On the other hand, duplex PCR method showed better efficiency process than nested PCR method. Through two optimization of those two PCR methods, nested and duplex PCR, trace of porcine DNA in four herbals capsule shell samples was detected.