

Aplikasi dan Evaluasi Metode Identifikasi Gen Porcine, Canine, dan Murine Berbasis Quantitative Polymerase Chain Reaction dengan Primer Reverse Spesifik pada Sediaan Farmasi Komersial = Application and Evaluation of Identification Method of Porcine, Canine, and Murine Genes Based on Quantitative Polymerase Chain Reaction Using Specific Reverse Primers on Commercial Pharmaceutical Dosage Forms

Amirah Vonna Riski, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920566915&lokasi=lokal>

Abstrak

Produk farmasi memiliki standar kualitas mutu tertentu yang harus dipenuhi sebelum dapat diedarkan secara luas, salah satunya yaitu jaminan kehalalan produk sebagaimana yang tertera di dalam UU Nomor 33 Tahun 2014. Namun, salah satu tantangan utama dalam menjamin kehalalan produk farmasi adalah deteksi bahan baku yang berasal dari sumber yang diharamkan, seperti babi (porcine), anjing (canine), dan tikus (murine). Penelitian ini berfokus pada aplikasi serta evaluasi metode quantitative polymerase chain reaction (qPCR) yang sudah dikembangkan untuk mengidentifikasi gen porcine, canine, dan murine yang dilakukan pada berbagai sampel sediaan farmasi, suplemen, dan kosmetik meliputi krim, serum pencerah yang mengandung ekstrak plasenta babi, dan puyer herbal, dan sejumlah sediaan farmasi lainnya. Konfirmasi stok DNA kontrol positif dengan set primer GAPDH menunjukkan bahwa ampikon porcine, canine, dan murine memiliki panjang berturut-turut 72 bp, 90 bp, dan 101 bp yang mengindikasikan bahwa stok DNA kontrol positif dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya. Metode multiplex yang sudah dikembangkan memiliki repeatability yang dapat diterima melalui nilai koefisien variasi (CV) Cq yang didapatkan untuk masing-masing kontrol positif porcine, canine dan murine sebesar 0,61; 0,74; 0,66%. Hasil analisis multiplex terhadap DNA template campuran (mix) dilakukan dengan menilai pergeseran nilai Tm untuk masing-masing gen melalui nilai CV yang didapatkan. Adapun nilai CV intra assay yang didapatkan untuk peak murine, porcine, dan canine berturut-turut yaitu 0,0093%; 0,12%; 0,03%. Hasil ekstraksi dengan menggunakan kit Easyfast Extraction Kit for Pharmaceuticals I belum berhasil menghilangkan inhibitor PCR.Pharmaceutical products must meet certain quality standards before being widely distributed such as ensuring the halal status of the products as mandated by Law No. 33 of 2014. However, a major challenge in guaranteeing the halal status of pharmaceutical products lies in detecting raw materials derived from sharia-prohibited sources, such as porcine (pig), canine (dog), and murine (rat). This study focuses on the application and evaluation of the quantitative polymerase chain reaction (qPCR) method that has been developed to identify porcine, canine, and murine genes in various pharmaceutical products, supplements, and cosmetics. The results of positive control confirmation using GAPDH primer sets showed that the amplicons for porcine, canine, and murine genes had lengths of 72 bp, 90 bp, and 101 bp, respectively, indicating that the positive control DNA stock could be used for the next runs. The developed multiplex method demonstrated acceptable repeatability, as shown by the coefficient of variation (CV) values of Cq obtained for the porcine, canine, and murine positive controls, which were 0.61%, 0.74%, and 0.66%, respectively. Multiplex analysis results for mixed DNA templates were assessed by evaluating the shift in Tm values for each gene through the obtained CV values. The intra-assay CV values for murine, porcine, and canine peaks were 0.0093%, 0.12%, and 0.03%, respectively. However, the extraction using the

Easyfast Extraction Kit for Pharmaceuticals I was unsuccessful in removing PCR inhibitors.