

ANALISIS DNA GELATIN SAPI DALAM CANGKANG KAPSUL DENGAN METODE *QUANTITATIVE POLYMERASE CHAIN REACTIONS* MELALUI PERANCANGAN PRIMER SPESIFIK GEN D-LOOP *BOVINE*

Intisari

Berbagai metode identifikasi DNA babi di berbagai produk, seperti gelatin, telah banyak dilakukan untuk tujuan penjaminan halal. Ketidakberadaan DNA babi dalam suatu produk yang diuji untuk penjaminan halal masih menyisakan kekhawatiran dan keraguan dalam benak konsumen, apakah hasil negatif benar-benar disebabkan oleh ketidakberadaan DNA babi dalam suatu produk, atau dikarenakan kegagalan ekstraksi DNA babi dari produk. Oleh karena itu hasil negatif dari identifikasi DNA babi dalam suatu produk masih perlu dikonfirmasi menggunakan primer spesifik terhadap DNA sapi untuk membuktikan bahwa ketidakberadaan DNA babi menunjukkan DNA sapi benar-benar terdapat dalam produk tersebut. Sehingga diperlukan metode konfirmasi untuk memastikan apakah DNA sapi terdapat dalam suatu produk untuk tujuan penjaminan halal. Penelitian ini bertujuan untuk merancang metode konfirmasi yang spesifik terhadap DNA sapi dengan menggunakan metode *qPCR* dengan primer yang dirancang spesifik terhadap gen D-loop sapi dan memvalidasi metode tersebut. Primer yang dihasilkan kemudian diuji spesifitasnya terhadap 6 isolat DNA jaringan segar (babi, celeng, tikus, ayam, kambing, dan sapi) dan isolat DNA gelatin (gelatin sapi dan gelatin babi). Kemudian dilakukan uji sensitivitas terhadap 8 seri pengenceran isolat DNA gelatin sapi (1000, 500, 200, 150, 100, 10, 5, dan 1 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$) dan terhadap isolat DNA cangkang kapsul pembanding yang mengandung campuran gelatin babi dan sapi dengan persentase gelatin sapi 0, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100% b/b. Uji keterulangan dilakukan sebanyak 4 pengulangan terhadap isolat DNA gelatin sapi konsentrasi 100 pg dan terhadap isolat DNA cangkang kapsul pembanding 100% gelatin sapi. Nilai koefisien variasi yang diperoleh adalah 0,83% dan 1,73%. Metode *qPCR* dengan primer hasil perancangan digunakan untuk analisis terapan terhadap sampel cangkang kapsul dipasaran. Dari dua pasang primer yang dirancang, dipilih primer D-loop 93 (*forward*: ACACAGAATTTGCACCCTAA, *reverse*: GTACATTACCCCTTGCGTAG) sebagai primer terbaik karena spesifik terhadap DNA sapi dengan suhu penempelan primer 51,4°C. Batas deteksi metode *qPCR* dengan primer D-loop 93 ini adalah 5 pg. Semua cangkang kapsul pasaran yang diuji menggunakan primer D-loop 93 mengandung DNA sapi.

Kata kunci : PCR, gelatin sapi, konfirmasi, cangkang kapsul

Confirmation of Bovine Gelatine in Commercial Capsule Shell Using Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

¹Dian Pratiwi, ^{1,2}Sudjadi, and ^{1,2}Abdul Rohman

¹Faculty of Pharmacy, Gajah Mada University, Yogyakarta, 55281, Indonesia

²Research Center of Halal Products, Gajah Mada University, Yogyakarta, 55281, Indonesia

ABSTRACT

Several methods to identify porcine DNA in various products, such as gelatine have been reported for halal authentication. On the other hand, negative results of a specific determination toward porcine DNA remained hesitant and anxious for consumers, whether negative results were caused no porcine DNA in product or due to the failure of DNA extraction. Therefore, it's necessary to identify bovine DNA using specific determination too. This study is intended to confirm the negative results using specific primer from bovine D-loop. Designed primers were performed in order to confirm the primer specificity in fresh tissue (cows, pig, goat, rat, chickens, and wild boar) and gelatine sources (porcine and bovine). Then, primers were used to perform a sensitivity test of 8 dilution series (1000, 500, 200, 150, 100, 10, 5, and 1 pg μL^{-1}) of bovine gelatine. Amplification was also performed on prepared capshells containing the mixture of bovine-porcine gelatine at 0, 50, 60, 70, 80, 90, and 100% (w/w). Repeatability test was performed quadruplicate on one dilution series of bovine gelatine 100% (i.e. 100 pg μL^{-1}) and prepared capshells 100% bovine gelatine, and the result of CV sequentially 0,83% and 1,73%. RT-PCR method using primer designed was further applied to analyze commercial capshells. From two pair of primers have been designed specifically, only primer D-loop 93 (F : ACACAGAATTTGCACCCTAA, R : GTACATTACCCCTTGCGTAG) had the capability to identify the presence of bovine DNA either in fresh tissue or gelatine sources at 51.4°C as the optimum temperature for annealing step. The Limit of Detection of DNA in gelatine for this method is 5 pg. All commercial capshellss were executed by using primer D-loop 93 in RT-PCR at optimum annealing temperature, and the results showed that all commercial capshellss were able to amplify.

Key words: Polymerase chain reaction, confirmation, bovine gelatine, capshells