

## **ANALISIS DNA BABI DALAM CANGKANG KAPSUL MENGGUNAKAN PRIMER D-LOOP DNA MITOKONDRIA BABI DENGAN METODE *REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION***

### **Intisari**

Label halal yang mencantumkan asal bahan menjadi perhatian setiap konsumen terutama komunitas Muslim. Asal bahan gelatin menjadi penting karena penggunaannya yang luas dan salah satunya dimanfaatkan sebagai bahan pembuat cangkang kapsul. Meskipun cangkang kapsul yang diproduksi pabrik telah diberi label asal bahan utama namun tetap dibutuhkan suatu jaminan tidak terjadinya kontaminasi dan pemalsuan gelatin babi. Penelitian ini sangat penting dalam kaitannya dengan metode analisis yang mampu mendeteksi dan mengkuantifikasi adanya DNA babi dalam cangkang kapsul.

Kedua pasang primer yang telah dirancang dari daerah D-loop mitokondria dilakukan konfirmasi spesifitas primer terhadap sumber gelatin (babi, sapi, dan ikan lele) maupun jaringan segar (babi, sapi, kambing, ayam, dan tikus). Primer tersebut kemudian digunakan untuk pengujian sensitivitas 6 seri pengenceran (1000, 200, 100, 10, 5, dan 1 pg/ $\mu$ L) gelatin babi dan cangkang kapsul berbahan gelatin babi 100%. Amplifikasi juga dilakukan pada cangkang kapsul buatan berbahan gelatin babi dalam gelatin sapi dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, dan 100%. Uji keterulangan dilakukan dengan mengukur keterulangan hasil amplifikasi cangkang kapsul berbahan gelatin babi-sapi. Metode *real time* PCR dengan primer hasil rancangan kemudian diaplikasikan untuk analisis asal gelatin pada cangkang kapsul yang beredar di pasaran

Dua kandidat primer telah dirancang secara spesifik, meskipun demikian hanya primer D-Loop 108 saja (*forward*: 5'-CGT ATG CAA ACC AAA ACG CCA-3'; *reverse*: 5'-GCT TAT ATG CAT GGG GAC TAG C-3') yang mampu mengidentifikasi adanya DNA babi pada jaringan segar dan sumber gelatin pada suhu penempelan optimum 58,4°C. Metode *real time* PCR menggunakan primer D-Loop 108 tersebut secara spesifik mampu mengidentifikasi adanya DNA babi hingga konsentrasi 5 pg baik pada gelatin babi maupun cangkang kapsul berbahan gelatin babi-sapi. Lima cangkang kapsul komersial yang diperiksa dengan menggunakan primer D-Loop 108 secara *real time* PCR pada suhu penempelan optimum, semua tidak ada yang mengandung DNA babi.

**Kata kunci:** gelatin, DNA babi mitokondria D-Loop, *real time* PCR

## **ANALYSIS OF PORCINE DNA IN CAPSULE SHELL TARGETING MITOCHONDRIAL D-LOOP REGION BY REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION**

### **Abstract**

Halal and kosher label that lists source of material becomes attention of every consumer, especially Muslim community. The labelling of gelatin material source is important because its use are extensive, especially as material for capsule shell. Although capsule shell has been labeled by origin main ingredients, but still it needed a guarantee no contamination and adulteration porcine derivatives. This study is very important related to analytical methods that capable of detecting and quantifying the presence of porcine DNA in capsule shell.

Both pairs of primers designed from mitochondrial D-loop region are performed to confirm primer specificity in gelatin sources (pork, beef, and catfish) and fresh tissue (pig, cows, goat, chickens, and rat). Primers are then used to sensitivity test of 6 dilution series (1000, 200, 100, 10, 5, and 1 pg/ $\mu$ L) porcine gelatin and porcine capsule shell. Amplification was also performed on capsule shell from porcine-bovine mixture gelatin at 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, and 100% concentration. The repeatability test was performed by measuring amplification capsule shell from porcine-bovine gelatin mixture. Real time PCR method using primers designed was further applied to analyze capsule shell purchased from market.

From two primers have been designed specifically, only primer D-Loop 108 (forward: 5'-CGT ATG CAA ACC AAA ACG CCA-3'; reverse: 5'-GCT TAT ATG CAT GGG GAC TAG C-3') ables to identify the presence of porcine DNA in fresh tissue and gelatin sources at optimum annealing temperature 58,4°C. Sensitivity of detection porcine DNA in gelatin and capsule shell to be at 5 pg. Five commercial capsule shell were examined by using primer D-Loop 108 in real time PCR at optimum annealing temperature, while none porcine DNA was detected.

**Keywords:** gelatin, mitochondrial D-loop porcine DNA, real-time PCR