

## ANALISIS DNA SAPI DENGAN PRIMER rRNA-12S MITOKONDRIA DAN APLIKASINYA DALAM DETEKSI DNA SAPI PADA CANGKANG KAPSUL GELATIN MENGGUNAKAN *REAL-TIME* PCR (*POLYMERASE CHAIN REACTION*)

### INTISARI

Analisis DNA sapi dalam cangkang kapsul diperlukan dalam rangka autentikasi kehalalan cangkang kapsul yang beredar, yang mana cangkang kapsul dapat terbuat dari gelatin sapi maupun gelatin babi. Identifikasi suatu spesies secara kuantitatif dalam produk olahan berkembang dengan adanya metode *real-time* PCR yang memungkinkan deteksi secara cepat, spesifik, dan sensitif.

Primer rRNA-12S mitokondria (*forward*: 5'-CCC AAG CTA ACA GGA GTA CG-3' dan *reverse*: 5'-TAG TGC GTC GGC TAT TGT AG-3') dirancang menggunakan fasilitas Primer-BLAST pada laman NCBI dan ditujukan untuk spesifik hanya terhadap DNA sapi. Penentuan suhu penempelan optimum primer dilakukan melalui evaluasi plot amplifikasi dan puncak denaturasi pada rentang suhu 51,1-58,7°C sebanyak 5 titik dan didapatkan suhu penempelan optimum sebesar 55,8°C. Uji spesifitas dilakukan terhadap DNA ayam, babi, celeng, kambing, dan sapi. Dari uji spesifitas diketahui primer rRNA-12S mitokondria tidak sepenuhnya spesifik terhadap DNA sapi, yang mana primer ini juga mengamplifikasi DNA ayam dan kambing pada akhir siklus. Namun pada uji spesifitas terhadap gelatin, primer ini spesifik terhadap DNA gelatin sapi, dan negatif terhadap DNA gelatin babi. Primer juga mampu mengamplifikasi secara spesifik DNA sapi yang diisolasi dari cangkang kapsul campuran gelatin sapi-babi.

Pengujian sensitifitas menghasilkan nilai batas deteksi sebesar 0,48 ng untuk DNA gelatin sapi, dan 1,2 ng untuk DNA cangkang kapsul gelatin sapi. Primer rRNA-12S mitokondria juga mampu mengamplifikasi DNA sapi pada cangkang kapsul yang terbuat dari 5% gelatin sapi. Uji keterulangan menunjukkan hasil yang cukup memuaskan dengan nilai CV berkisar antara 0,56-0,78%. Terakhir, metode *real-time* PCR menggunakan primer rRNA-12S mitokondria diaplikasikan untuk analisis DNA sapi pada cangkang kapsul yang beredar di pasaran.

**Kata kunci:** DNA sapi, primer rRNA-12S mitokondria, kapsul gelatin, *real-time* PCR

## **ANALYSIS OF BOVINE DNA USING MITOCHONDRIAL rRNA-12S PRIMERS AND ITS APPLICATION TO DETECT BOVINE DNA IN GELATIN CAPSULES USING REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

### **ABSTRACT**

Analysis of bovine DNA in capsules is required in order to confirm commercial capsule's halal state which matters, considering their constituent. The major constituent of a gelatin capsule could be porcine or bovine gelatin or both mixture. Real-time PCR offers a rapid, sensitive, and specific species identification which has been widely used in processed product analysis.

A couple of mitochondrial rRNA-12S primers (forward: 5'-CCC AAG CTA ACA GGA GTA CG-3' and reverse: 5'-TAG TGC GTC GGC TAT TGT AG-3') were designed using Primer-BLAST feature on NCBI site and aimed to be specific toward bovine DNA. Primer optimum annealing temperature was determined by evaluation of amplification plot and denaturation peak of five points annealing temperature in range 51,1-58,7°C. Optimum annealing temperature was showed at 55,8°C. Primer specificity was tested on three kinds of sample: fresh tissue of 5 species (chicken, pork, wild boar, lamb, and beef), bovine and porcine gelatin, also capsule shells made of porcine and bovine gelatin mixture with various concentration. Specificity test showed that primers were not fully specific toward DNA extracted from beef as they also amplify chicken and lamb DNA however at very late cycle. Nevertheless, specificity test on gelatin showed primer pair were specific toward DNA extracted from bovine gelatin and negative toward DNA extracted from porcine gelatin. Primers also showed high specificity toward capsule shells made of bovine-porcine gelatin mixture, with least amount of 5% of bovine gelatin.

Sensitivity test showed that mitochondrial rRNA-12S primers were capable to amplify up to 0,48 ng of DNA extracted from bovine gelatin, and 1,2 ng of DNA extracted from bovine gelatin capsule. Repeatability test showed satisfying result with CV value 0,56-0,78%. Finally, mitochondrial rRNA-12S primers were applied to identify the presence of bovine DNA in commercial gelatin capsules.

**Keywords:** bovine DNA, mitochondrial rRNA-12S primers, gelatin capsule, real-time PCR