

Optimasi metode deteksi molekuler DNA porsin menggunakan polymerase chain reaction (PCR) pada gelatin dan cangkang kapsul obat antibiotik = Optimization of molecular detection of porcine DNA by using polymerase chain reaction (PCR) on gelatin and antibiotics capsule shell

Andini Ika Saskia, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20475077&lokasi=lokal>

Abstrak

Disahkannya UU NO. 33 tahun 2104 tentang jaminan Produk Halal menjadi latar belakang dilakukannya pengembangan metode deteksi molekuler terhadap DNA porsin untuk penentuan kehalalan produk. DNA yang diamplifikasi adalah sekelumit DNA yang masih terkandung dalam gelatin asal porsin setelah melalui proses pembuatan dengan melibatkan suhu dan pH ekstrem. Oleh karena itu, optimasi metode ekstraksi adalah tahapan terpenting untuk memperoleh jumlah DNA yang memadai.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode optimal untuk memperoleh DNA, menentukan metode deteksi molekuler DNA porsin menggunakan metode Polymerase Chain Reaction PCR yang sensitif, serta untuk mendeteksi fragmen DNA porsin yang terdapat pada sampel sediaan obat antibiotik.

Jenis metode PCR yang digunakan adalah PCR duplex dan PCR nested yang merupakan metode deteksi molekuler berbasis DNA dengan dua target sekuens DNA, yaitu DNA cyt b dan ATP8. Optimasi perolehan DNA dilakukan dengan mengubah beberapa parameter yang terdiri dari jumlah replikat sampel yang akan diekstraksi, modifikasi komposisi proses resuspensi dan pelisisan sel, jumlah campuran saat tahap awal isolasi DNA, serta tingkat kepekatan dalam pengisolasian DNA tahap akhir. Jumlah replikat gelatin optimum untuk mendapatkan DNA yang memadai adalah sebanyak delapan sampel ekstraksi.

Pada penelitian ini dilakukan optimasi kondisi dua jenis PCR yaitu PCR duplex dan PCR nested, serta membandingkan sensitivitas antara kedua metode PCR tersebut. Hasil dikatakan positif mengandung DNA porsin jika terbentuk dua pita hasil amplifikasi 212bp dan 398bp untuk PCR duplex dan satu pita 387bp untuk PCR nested.

Hasil uji sensitivitas yang dilakukan di enam titik konsentrasi menunjukkan bahwa PCR nested mampu mendeteksi hingga 1 fg/ L sedangkan PCR duplex hanya mampu mendeteksi hingga 1 ng/ L. Hal ini disebabkan oleh PCR nested melalui dua tahapan sedangkan PCR duplex hanya melalui satu tahapan PCR. Deteksi yang dilakukan terhadap sampel antibiotik menunjukkan bahwa DNA porsin tidak mampu terdeteksi menggunakan PCR duplex namun mampu terdeteksi menggunakan PCR nested, sehingga PCR nested lebih efektif untuk diterapkan sebagai metode deteksi awal secara kualitatif namun tidak kuantitatif.

.....The establishment of Law No. 33 years 2104 on the guarantee of halal products became the background of the development of molecular detection methods of DNA porsin for the determination of halal products. The amplified DNA is a trace of DNA still contained in the porcine gelatin after going through a manufacturing process involving extreme temperature and pH. Therefore, the optimization of the extraction method is the most important step to obtain adequate amount of DNA.

The aim of this study was to obtain the optimal method of obtaining DNA, to determine the method of detecting molecular DNA of porcine using sensitive Polymerase Chain Reaction PCR method, and to detect porcine DNA fragments found in the sample of antibiotics.

The type of PCR method used is duplex PCR and nested PCR which is a DNA based molecular detection method with two DNA sequence targets, DNA cyt b and ATP8. Optimization of DNA acquisition was done by changing some parameters consisting of the number of replicate samples to be extracted, the modification of the resuspension and cellular composition, the amount of mixture at the initial stage of DNA isolation, and the level of concentration in final stage of DNA isolation. The optimum amount of gelatin replicates to obtain sufficient DNA is eight extraction samples.

This research conclude optimization of two PCR conditions, PCR duplex and PCR nested, and also comparing the sensitivity between the two PCR methods. The results are said to positively contain porcine DNA if two amplified bands 212bp and 398bp are formed for duplex PCR and one band 387bp for nested PCR.

Sensitivity test results performed at six points of concentration showed that nested PCR was able to detect up to 1 fg L while the duplex PCR was only capable of detecting up to 1 ng L. This is caused by PCR nested through two stages while PCR is nested only through one PCR stage. Detection of antibiotic samples showed that porcine DNA could not be detected using duplex PCR but was able to be detected using PCR nested, so that nested PCR was more effective to be applied as a qualitative, but not quantitative, method of early detection.