

Pengembangan Metode Identifikasi Gen Porcine, Canine, dan Murine pada Sediaan Farmasi Berbasis Quantitative Polymerase Chain Reaction-Melting Curve Analysis dengan Primer Reverse Spesifik = Utilization Of Specific Reverse Primer In The Development Of Porcine, Canine, And Murine Gene Identification In Pharmaceuticals With SYBR Green Quantitative Polymerase Chain Reaction

Hosea Imanuel, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920551771&lokasi=lokal>

Abstrak

Peningkatan kesadaran masyarakat muslim akan kehalalan produk farmasi menyebabkan kebutuhan sertifikasi halal produk farmasi terus meningkat. Metode pemeriksaan berbasis DNA telah disepakati sebagai salah satu pemeriksaan yang wajib dilakukan dalam pemeriksaan halal. qPCR berbasis SYBR Green merupakan metode pemeriksaan berbasis DNA yang memiliki kecepatan analisis yang lebih tinggi dibandingkan PCR konvensional dan lebih ekonomis dibandingkan qPCR berbasis probe. Multiplex PCR merupakan reaksi PCR yang menggabungkan beberapa primer dalam satu reaksi untuk mengamplifikasi beberapa gen secara sekaligus. Penggunaan primer universal telah dikembangkan untuk meningkatkan reproduktibilitas multiplex PCR berbasis SYBR Green, tetapi belum berhasil melakukan diskriminasi spesies hewan. Pada penelitian ini, primer forward universal yang didampingin dengan primer reverse spesifik untuk porcine, canine, dan murine berhasil dikembangkan. Selain itu, setiap primer menghasilkan amplicon dengan nilai T_m yang berbeda sehingga diskriminasi spesies hewan dapat dilakukan. Multiplex qPCR dari kombinasi primer tersebut ditemukan dapat mengamplifikasi ketiga gen secara sekaligus dengan variasi intra-assay dan variasi inter-assay sebesar 9,83% dan 11,53%. Multiplex qPCR yang dikembangkan dalam mendeteksi gen porcine dalam 6,81 pg/L DNA total, gen murine dalam 22,88 pg/L DNA total, dan gen canine dalam 88,06 pg/L DNA total. Multiplex qPCR yang dikembangkan terbukti dapat mendeteksi sisa DNA yang terdapat pada produk farmasi maupun kosmetik.

.....The rise of muslim awareness in halal pharmaceutical has caused an increase in demand for halal certified pharmaceutical. DNA based detection has been approved as a gold standard in halal examination. Intercalating dye-based qPCR is more economically available compared to available commercial kits which employs probe-based qPCR and also require less analysis time compared to conventional PCR. Multiplex qPCR could amplify more than one target by combining two primer set in one reaction. Universal primer have been developed to increase intercalating dye based Multiplex qPCR reproducibility. However, discrimination of animal species with universal primer have not been successful. In this study, universal forward primer was combined with a specific reverse primer for porcine, canine, and murine. These primers were found to be specific and were able to produce a different melting temperature, enabling animal species discrimination. Multiplex qPCR with these primers was repeatable with an intra assay variance and inter assay variance of 9,83% and 11,53%. The developed multiplex qPCR could detect porcine gene in 6,81 pg/L DNA solution, murine gene in 22,88 pg/L DNA solution, and canine gene in 88,06 pg/L DNA solution. Moreover, the developed multiplex qPCR was proven to be able to detect DNA remnant in pharmaceutical and cosmetics.