

**LAPORAN PENELITIAN
PENELITIAN KOLABORASI DOSEN DAN MAHASISWA**

**IDENTIFIKASI CEMARAN BABI PADA PRODUK OBAT BERBAHAN
DASAR GELATIN MENGGUNAKAN TEKNIK *RESTRICTION
FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM-PCR* (RFLP-PCR)**



Tim Peneliti

Dra. Fitriani, M.Si. (0027026401)

Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed (0308108202)

Nomor Surat Kontrak : 460/F.07/2018

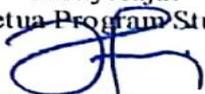
Biaya yang dsetujui : Rp 10.000.000,-

**PROGRAM STUDI S1-FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
TAHUN 2019**

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN KOLABORATIF DOSEN DAN MAHASISWA**

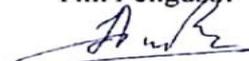
Judul Penelitian	: IDENTIFIKASI CEMARAN BABI PADA PRODUK OBAT BERBAHAN DASAR GELATIN MENGGUNAKAN TEKNIK <i>RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM-PCR</i> (RFLP-PCR)
Ketua Peneliti:	
a. Nama Lengkap	: Dra. Fitriani, M.Si.
b. NPD/NIDN	: 0027026401
c. Jabatan Fungsional	: Lektor
d. Fakultas/Program Studi	: Farmasi/ S1-Farmasi
e. HP/Telepon	: 08119889945
f. Email	: fitriani_ffs@uhamka.ac.id
Anggota Peneliti (1)	
Nama Lengkap	: Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed
NPD/NIDN	: 0308108202
Fakultas/Program Studi	: Farmasi/D4-Analis Kesehatan
Lama Penelitian	: 10 bulan
Luaran Penelitian	: 1. Draft Skripsi Mahasiswa S1 Farmasi 2. Jurnal Nasional Terakreditasi
Biaya Penelitian Disetujui	: Rp 10.00.000,-

Menyetujui
Ketua Program Studi



(Kori Yati, M.Farm., Apt.)
NIDN: 0324067802

Tim Pengusul



(Dra. Fitriani, M.Si.)
NIDN: 0027026401

Disyahkan Oleh

Ka. Lemlitbang



(Prof. Dr. Suswandari, M.Pd)
NIP/NIK 0020116601





UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK KERJA PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA**

Nomor : **460**/F.03.07/2018
Tanggal : 11 Agustus 2018

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Sabtu, tanggal sebelas, bulan Agustus, tahun dua ribu delapan belas, yang bertanda tangan di bawah ini **Prof. Dr. Hj. Suswandari, M.Pd**, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**; **Dra FITRIANI M.Si**, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didanai oleh RAPB Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA 2017 - 2018.

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **IDENTIFIKASI CEMARAN BABI PADA PRODUK OBAT BERBAHAN DASAR GELATIN MENGGUNAKAN TEKNIK RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM-PCR (RFLP-PCR)** dengan luaran wajib sesuai data usulan penelitian Bacth 1 Tahun 2018 melalui simakip.uhamka.ac.id dan luaran tambahan (bila ada).

Pasal 2

Bukti luaran hasil penelitian sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1 wajib dilampirkan dalam laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 11 Agustus 2018 dan selesai pada tanggal 11 Februari 2019.

Pasal 4

PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.10.000.000,- (Terbilang : *Sepuluh Juta*) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari Penelitian Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA melalui Lembaga Penelitian dan Pengembangan.

Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut:
(1) Termin I 70 % : sebesar Rp.7.000.000,- (Terbilang : *Tujuh Juta Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut pada Pasal 1.

(2) Termin II 30 %: sebesar Rp.3.000.000,- (Terbilang : *Tiga Juta Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan laporan akhir berikut luaran yang telah dijanjikan dalam kegiatan penelitian tersebut dalam Pasal 1.

Pasal 6

- (1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3.
- (2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1.
- (3) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5% (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.
- (4) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) pada poin honor peneliti sebesar 5% (lima persen).

Jakarta, 11 Agustus 2018

PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Ketua



Prof. Dr. Hj. Suswandari, M.Pd

PIHAK KEDUA
Peneliti,



Dra FITRIANI M.Si

Mengetahui
Wakil Rektor II UHAMKA

Dr. H. Muchdie, MS.

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara dengan mayoritas penduduk beragama Islam. Saat ini masyarakat muslim Indonesia mulai menyadari pentingnya mengkonsumsi olahan sapi yang sudah pasti tingkat kehalalannya. Produk sapi yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia tidak hanya dalam bentuk makanan namun juga suplemen makanan, di mana suplemen makanan ini dikategorikan sebagai obat. Penggunaan gelatin sebagai bahan dasar obat semakin tinggi dikarenakan produk tersebut digemari oleh semua kalangan khususnya anak-anak. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi ada tidaknya cemaran babi pada obat berbahan dasar gelatin. Metode yang digunakan adalah Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR (RFLP-PCR) di mana pertama dilakukan ekstraksi DNA dari sampel obat kemudian dilakukan PCR menggunakan DNA hasil ekstraksi. Hasil amplifikasi dilanjutkan dengan restriksi menggunakan enzim restriksi. Pola pita DNA yang diperoleh dianalisa menggunakan elektroforesis agarose. Hasil penelitian ini telah *submit* pada jurnal Nasional terakreditasi SINTA peringkat S3 (Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi) sehingga dapat menjadi tambahan informasi mengenai metode penentuan kehalalan produk obat berbahan dasar gelatin. Selain itu, penelitian ini ke depannya dapat digunakan sebagai sumber acuan untuk penelitian kehalalan di UHAMKA.

Keywords : Halal, Obat, Gelatin, RFLP, DNA, PCR

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT KONTRAK PENELITIAN	iii
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
a. Latar Belakang Masalah	
b. Masalah Penelitian	
c. Tujuan Penelitian	
d. Urgensi Penelitian	
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
a) State of the art (nilai kebaruannya) wajib	
b) Konsep konsep sesuai kebutuhan.	
c) Konsep sesuai kebutuhan	
d) Roadmap penelitian (WAJIB)	
BAB 3. METODE PENELITIAN	6
a. Alur / Langkah Penelitian,	
b. Lokasi Penelitian,	
c. Desain Penelitian Yang Digunakan,	
d. Bahan Penelitian,	
e. Cara Pengumpulan Data,	
f. Instrumen Yg Digunakan, Manajemen Analisis Data,	
g. Indikator Capain Hasil Penelitian	
h. Fishbond Penelitian	
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	11
a. Ekstraksi Protein	
b. Pengukuran Kadar Protein menggunakan Metode Spektrofotometer UV-Visible	
c. Analisa Pita Protein dengan Menggunakan Metode SDS-PAGE.	
BAB 5. KESIMPULAN	14
BAB 6 LUARAN YANG DICAPAI (terlampir)	
DAFTAR PUSTAKA	15
LAMPIRAN (bukti luaran yang didapatkan)	16

BAB 1. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Saat ini dunia perdagangan telah memasuki era bebas yang mengakibatkan banyaknya produk yang keluar masuk wilayah Indonesia dapat berasal dari negara non-muslim. Efek negatif dari globalisasi tersebut adalah adanya produk-produk makanan dan obat yang tidak terjamin kehalalannya (Farouk et al. 2006). . Salah satu produk yang diragukan kehalalannya adalah produk obat dan makanan berbahan dasar gelatin. Gelatin merupakan suatu bahan yang sering digunakan untuk meningkatkan kualitas produk baik pada industri makanan maupun obat (Sahilah et al. 2012; Venien & Levieux 2005).

Pada industri farmasi, gelatin digunakan untuk menjaga obat terhadap cahaya dan oksigen. Oleh karena itu penggunaan gelatin pada industri farmasi digunakan sebagai kapsul lunak dan keras, pil dengan salut gula (*sugar-coated pills*), tablet, substitusi serum, dan untuk enkapsulasi vitamin. Selain itu, sekarang gelatin juga digunakan pada industri farmasi sebagai bahan yang dapat membuat obat bertekstur kenyal sehingga menarik minat masyarakat untuk mengkonsumsi obat-obatan tersebut. Semakin maraknya penggunaan gelatin maka semakin besar pula peluang bagi Muslim terekspos gelatin non-halal (Sahilah dan Aminah 2010 *dalam* (Sahilah et al. 2012)

Indonesia sebagai negara dengan mayoritas penduduk beragama Islam menyebabkan pentingnya penentuan kehalalan produk-produk obat dan makanan guna melindungi konsumen muslim mengkonsumsi makanan dan obat haram. Pemerintah telah mengatur kehalalan produk melalui Undang-Undang Republik Indonesia No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal (JPH) yang diterbitkan oleh Kementrian Hukum dan HAM pada tahun 2014 (Presiden 2014). Selain itu, salah satu lembaga otoritas Islam, Majelis Ulama Indonesia (MUI) melalui LPPOM MUI selalu melakukan sertifikasi terhadap semua produk makanan dan obat yang diproduksi dan diperjualbelikan di Indonesia (LPPOM 2012).

Semakin banyaknya produk-produk obat yang menggunakan gelatin beredar di Indonesia, menyebabkan LPPOM MUI tidak dapat berdiri sendiri untuk menentukan kehalalan produk-produk tersebut. Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka (UHAMKA) sebagai salah satu universitas Islam di Indonesia harus dapat berperan serta dalam melakukan verifikasi kehalalan produk-produk berbahan dasar gelatin baik obat dan makanan yang beredar di Indonesia. Fasilitas laboratorium yang tersedia di Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA memberikan peluang yang cukup besar untuk menjadikan UHAMKA sebagai salah satu institusi penentu kehalalan produk makanan dan obat.

Berbagai metode yang dapat digunakan untuk menentukan kehalalan produk obat telah

banyak dilaporkan oleh penelitian-penelitian sebelumnya. Metode-metode yang dilaporkan tersebut menggunakan beragam parameter, antara lain DNA, protein dan menerapkan metode imunologi ((Lee et al. 2016; Abdullah Amqizal et al. 2017; Mutalib et al. 2015; Venien & Levieux 2005; Farouk et al. 2006; Fadhlurrahman et al. 2015). Salah satu metode yang akan digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan parameter DNA yang akan dianalisa dengan menggunakan teknik *Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR* (RFLP-PCR). Pada teknik ini akan diketahui kehalalan produk obat dengan melihat pola pita DNA yang telah dipotong dengan enzim restriksi.

B. Perumusan Masalah

Penggunaan gelatin sebagai bahan dasar obat dapat memberikan perubahan terstruktur pada obat tersebut menjadi bentuk kenyal yang sangat digemari oleh konsumen, khususnya anak-anak. Adapun permasalahan yang muncul adalah sumber asal gelatin diperoleh, karena hingga saat ini gelatin yang digunakan berasal dari sapi dan babi. Sebagai salah satu universitas Islam di Indonesia maka penting kiranya untuk melakukan identifikasi kehalalan pada obat-obat berbahan dasar gelatin yang beredar di apotik-apotik.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah obat-obat berbahan dasar gelatin yang beredar di apotik tidak menggunakan gelatin yang berasal dari babi.

D. Urgensi Penelitian

Penelitian ini sangat penting dilakukan sebagai titik awal penelitian kehalalan di UHAMKA yang menggunakan pola pita DNA sebagai metode penentuan kehalalan produk obat berbahan dasar gelatin dan dapat digunakan sebagai metode acuan untuk identifikasi halal dengan sampel obat berbahan dasar gelatin.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

A. Aturan Halal di Indonesia

Sebagai negara dengan mayoritas penduduk beragama Islam dan semakin banyaknya produk makanan dan farmasi yang masuk ke Indonesia maka suatu sistem telah ditetapkan guna melindungi konsumen muslim di Indonesia. Aturan utama yang diberlakukan adalah bersumber dari Al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 168 yang berisi tentang perintah mengkonsumsi makanan secara halal. Aturan tersebut dikembangkan menjadi beberapa peraturan seperti anjuran mendapatkan sertifikat halal dari Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-Obatan, dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia (LPPOM-MUI) dan dikeluarkannya melalui Undang-Undang Republik Indonesia No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal (JPH) oleh Pemerintah Indonesia (Presiden 2014).. Oleh karena itu sngatlah penting untuk mengidentifikasi cemaran babi pada semua produk olahan baik makanan maupun obat-obatan.

B. Gelatin

Gelatin merupakan protein yang breasal dari kolagen yang terdapat pada kulit dan tulang hewan. Gelatin memiliki semua karakteristik yang dibutuhkan oleh industri kapsul untuk keperluan farmasi. Karakteristik tersebut antara lain meliputi solubilitas dan viskositas (Jones). Gelatin memiliki karakteristik khas yaitu berbentuk granula pada suhu dingin dan akan menjadi cairan jika berada pada suhu hangat. Karakteristik ini dipengaruhi oleh suhu, pH, kandungan ash, matode produksi dan konsentrasi (GMIA 2012). Selain itu, gelatin juga dapat diproduksi dalam bentuk film yang kuat, jernih dan fleksibel (Jones. Chapter 2. Gelatin Manufacture and Physco-chemical properties. Dalam Pharmaceutical Capsules ed Fridrun Podzeck dan Brian E Jones.) Selain itu gelatin juga tidak beraroma dan tidak memiliki rasa (GMIA 2012).

Pada industri farmasi, gelatin digunakan sejak awal abad 19 dan saat ini gelatin sering dijumpai dalam bentuk cangkang keras, cangkang lunak, tablet, obat salut, granula, enkapsulasi, dan mikroenkapsulasi. Sediaan obat lain yang juga menggunakan gelatin antara lain GelFoam, film gelatin yang mudah diabsorpsi tubuh, pastilles dan troches. Namun saat ini banyak diproduksi obat-obatan khususnya suplemen makanan dalam bentuk *jelly gum* di mana bentuk ini menggunakan gelatin dalam jumlah yang besar (GMIA 2012) .

C. Isolasi DNA

Isolasi DNA merupakan tahap pertama dari berbagai teknologi analisis DNA. Tahapan ini penting dilakukan dalam melakukan identifikasi karena dibutuhkan DNA murni, yang terbebas dari bakteri lainnya yang dapat mengganggu dalam analisa molekuler (Yuwono 2005). Tahapan ini terdiri atas beberapa proses yang meliputi pengeluaran DNA dari tempatnya

berada (ekstraksi/lisis) biasanya dilakukan dengan homogenasi, penambahan buffer ekstraksi atau buffer lisis untuk mencegah DNA rusak. Proses selanjutnya adalah pemisahan DNA dari komponen sel yang lain atau kontaminan yang tidak diinginkan (Sambrook & Russel 2001). Molekul DNA yang sering digunakan dalam identifikasi molekular adalah DNA plasmid dan DNA genom yang berasal dari sel bakteri (Radji, 2011). Isolasi DNA genom dari sel bakteri, terdiri dari beberapa tahap yaitu kultivasi sel dalam medium yang sesuai, pemecahan dinding sel, ekstraksi DNA genom, purifikasi DNA (Agrawal 2008).

Proses pengeluaran DNA dari sel, dilakukan dengan cara diekstraksi atau dilisiskan dengan penambahan *buffer* ekstraksi atau *buffer* lisis untuk mencegah kerusakan pada DNA. *Buffer* ekstraksi mengandung 10 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA, 10 µg/mL *lysozym*. Proses selanjutnya adalah pemisahan DNA dari komponen sel yang lain atau kontaminan yang tidak diinginkan, DNA perlu ditambahkan Rnase untuk membersihkan DNA dari RNA. alkohol untuk membersihkan DNA dari komponen sel yang tidak diinginkan termasuk debris sel, dilakukan dengan cara sentrifugasi (Fatchiyah *et al* 2011).

D. Polymerase Chain Reaction (PCR)

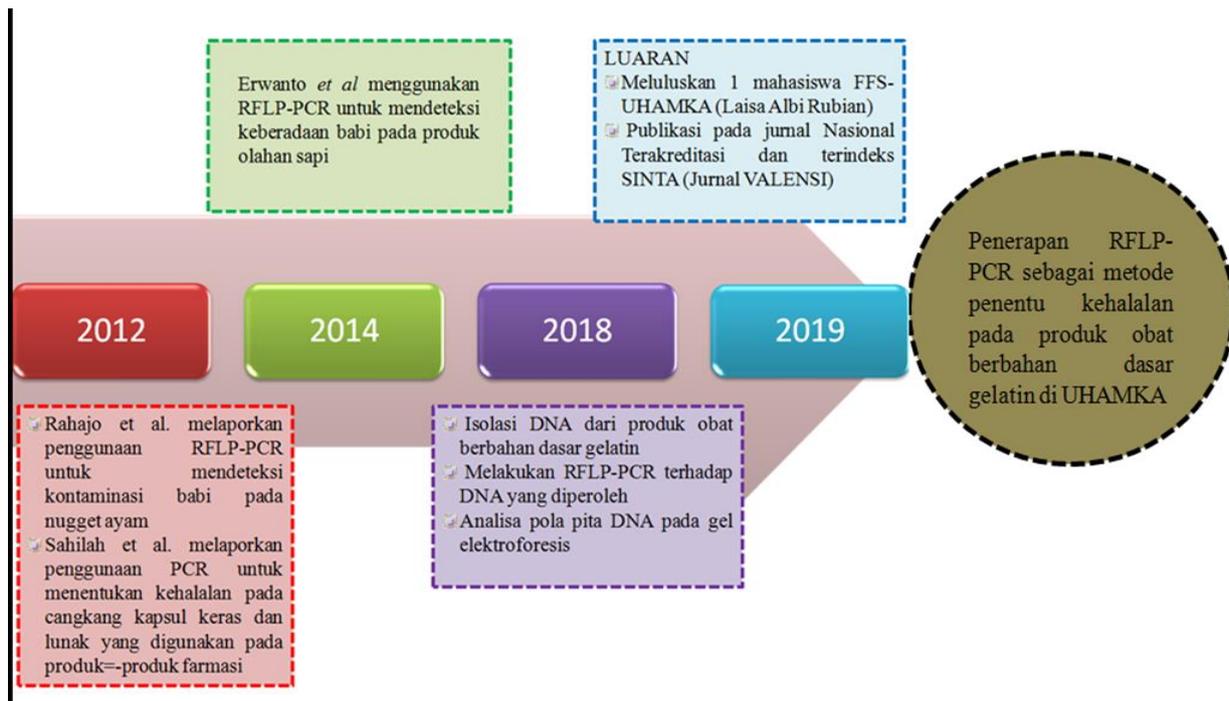
PCR merupakan suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut melalui bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu thermocycler. PCR ditemukan pertama kali oleh Dr. Kary Mullis pada tahun 1985. PCR dibuat dengan tujuan agar pengujian sampel dengan DNA dalam jumlah sedikit atau dalam keadaan rusak menjadi mungkin. PCR merupakan proses siklus yang berulang, dan memiliki tiga tahap meliputi denaturasi, *annealing*, dan ekstensi oleh enzim DNA *polymerase* (Joshi & Deshpande, 2010).

Siklus PCR ada 30-35 siklus, ada tiga tahap penting tersebut yaitu : 1) Tahap denaturasi, tahap ini merupakan proses pemisahan rantai untai ganda DNA menjadi rantai tunggal dengan pemanasan pada suhu tinggi. Suhu pada tahap denaturasi adalah pada kisaran 90- 98°C, selama 1 menit. 2) Penempelan primer (*Annealing*), tahap penempelan suatu primer terhadap DNA template. Primer akan menuju daerah yang spesifik, dimana daerah tersebut memiliki komplemen dengan primernya. Amplifikasi akan lebih efisien apabila suhu *annealing* 37°C-65°C selama 60 detik. 3) Tahap pemanjangan Primer (*Extention*), tahap pemanjangan primer menjadi suatu untai DNA baru, yang komplementer terhadap masing-masing DNA cetakan untai tunggal oleh enzim DNA *polymerase* pada suhu 72°C selama 2-5 menit (Joshi & Deshpande, 2010).

E. Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR (RFLP-PCR)

Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR (RFLP-PCR) merupakan suatu metode penggandaan DNA secara *in vitro* dan pengidentifikasian variasi genetik antar spesies melalui restriksi pada DNA tersebut. Metode ini diawali dengan penggandaan DNA menggunakan teknik PCR dan dilanjutkan dengan pemotongan DNA hasil amplifikasi menggunakan enzim restriksi yang spesifik mengenali DNA. Metode ini telah digunakan untuk melihat variasi genetik pada DNA mitokondria, 16S rDNA. Penelitian yang dilakukan oleh Ling-Sun dan Chich-Seng pada tahun 2003 dan Girish et al pada tahun 2005 melaporkan bahwa metode RFLP-PCR dapat digunakan untuk mengidentifikasi daging babi dan sapi (Erwanto et al., 2001). Pada tahun 2015, Fadhlurrahman *et al* melaporkan bahwa metode RFLP-PCR dapat digunakan untuk menentukan kehalalan produk makanan berbahan dasar gelatin, yaitu *soft candy*.

Road Map



BAB 3. METODE PENELITIAN

a. Alur / Langkah Penelitian,

Penelitian ini meliputi beberapa tahapan yaitu (i) pengumpulan sampel, (ii) isolasi DNA, (iii) amplifikasi dengan teknik PCR, (iv) restriksi dengan enzim restriksi, (v) elektroforesis agarosa dan (vi) analisa pita pita DNA pada jel agarose di atas sinar UV.

b. Lokasi Penelitian,

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka

c. Desain Penelitian Yg Digunakan,

Desain yang digunakan adalah desain eksperimental secara Kualitatif

d. Sampel Penelitian

adalah produk obat yang menggunakan gelatin sebagai bahan dasar formulasi, gelatin babi dan sapi, sepasang primer, PCR Mater Mix, DNA Ladder, Loading Dye, Ethidium Bromida, Agarose, Genomic Isolation Kit, Enzim restriksi BseDI..

e. Cara Kerja

i. Isolasi DNA dari sampel dan gelatin

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan kit ekstraksi DNA yaitu Dneasy Mericon Food Kit (Qiagen, USA). Sebanyak 250 mg sampel maupun kontrol yang telah dihancurkan (berasal dari 2 gr material) ditambahkan 1 ml *Food Lysis* dan 20 µl proteinase K kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex selama 15 detik. Setelah homogen dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 65° C selama 1 jam dengan kecepatan 100 rpm pada *shaker incubator* kemudian diinkubasi selama 30 detik pada suhu ruang dan 10 menit pada suhu -20° C. Tahap selanjutnya adalah sentrifugasi pada suhu 4° C selama 10 menit pada kecepatan 2500xg. Sebanyak 600 µl lapisan supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam microtube 1,5 ml dan ditambahkan 500 µl kloroform dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 14000xg selama 15 menit. Sebanyak 350 µl arutan supernatan hasil sentrifugasi dipindahkan ke dalam tabung baru lalu ditambah buffe PB sebanyak 350 µl dan divortex selama 15 detik kemudian dipindahkan ke dalam *Qiaquick spin column* dan disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 17700xg.. Larutan yang tertampung pada *collection tube* dibuang dan tahap tersebut diulang kembali sebanyak 1x. Setelah pengulangan senrifugasi, dilakukan penambahan buffer AW2 dengan volume 500 µl dan disentrifugasi kembali dengan waktu dan kecepatan yang sama seperti pada tahap sebelumnya. Larutan yang terdapat pada *collection tube*

kembali dibuang dan dilakukan sentrifugasi ulang. Setelah itu dilakukan *dry ing membrane* dengan melakukan sentrifugasi pada kecepatan 17700xg selama 3 menit. Membran dipindahkan ke microtube 1,5 ml lalu ditambahkan 60 µl buffer EB dan didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang kemudian disentrifugasi pada kecepatan 17700xg selama 2 menit. Sampel hasil isolasi terdapat pada larutan yang terdapat pada micrtube tersebut dan disimpan pada suhu -20° C hingga akan digunakan.

ii. Amplifikasi menggunakan PCR

Proses dilakukan dengan menggunakan primer CYTb1 (5'-CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3') and CYTb2 (5'-GCC CCT CAG AAT GAT ATT TGT CCT CA-3') sesuai dengan yang digunakan oleh Murugaiah et al. (2009), Proses amplifikasi dengan teknik PCR dilakukan berdasarkan protokol Go Taq® Green Master Mix. Masukkan Go Taq Green Master Mix sebanyak 12.5 µl kedalam tube 0.5ml, tambahkan primer 27F 2.5 µl dan primer 1492R 2.5µl. Kemudian tambahkan Nuclease-free water 4.5 µl, lalu dihomogenkan. Tambahkan DNA Template 3 µl, lakukan pipeting agar tercampur sempurna. Kemudian masukkan ke dalam mesin PCR. Kondisi PCR diatur sebagai berikut:

iii. Restriction Fragment Lenght Polymorphism

Untuk melanjutkan pada metode RFLP, hasil amplifikasi PCR sebanyak 10 µl kemudian diberikan penambahan enzim restriksi BseD1 sebanyak 2 unit/ µl dan larutan pemecah sebanyak 20 µl yang mengandung 1 x reaction buffer (10 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 1 mM EDTA, 0.2 mg/ml BSA, 1 mM DTT dan 50% glycerol). Campuran sampel dengan bahan lainnya diinkubasi pada suhu 55 °C selama 3 jam. Konfirmasi hasil RFLP menggunakan metode elektroforesis

iv. Elektroforesis

Hasil RFLP diamati dengan elektroforesis gel agarosa 1%. Untuk membuat agarosa dengan konsentrasi 1%, yaitu ditimbang agarosa sebanyak 1 gram dalam 100 ml akuabides steril, dan dididihkan hingga larut. Setelah agak dingin, larutan tersebut dituang pada cetakan gel, sisir dipasang, dan didiamkan hingga membeku. Sisir diangkat dan terbentuk kolom kecil didalam gel. Nampan yang berisi gel dipindahkan ke wadah elektroforesis. Wadah tersebut diberi buffer TAE 1x hingga menggenangi permukaan gel agarosa. 10µL sampel DNA ditambahkan 2 µl *Loading dyes* dan dipipeting agar homogen. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam kolom yang tersedia secara hati-hati.

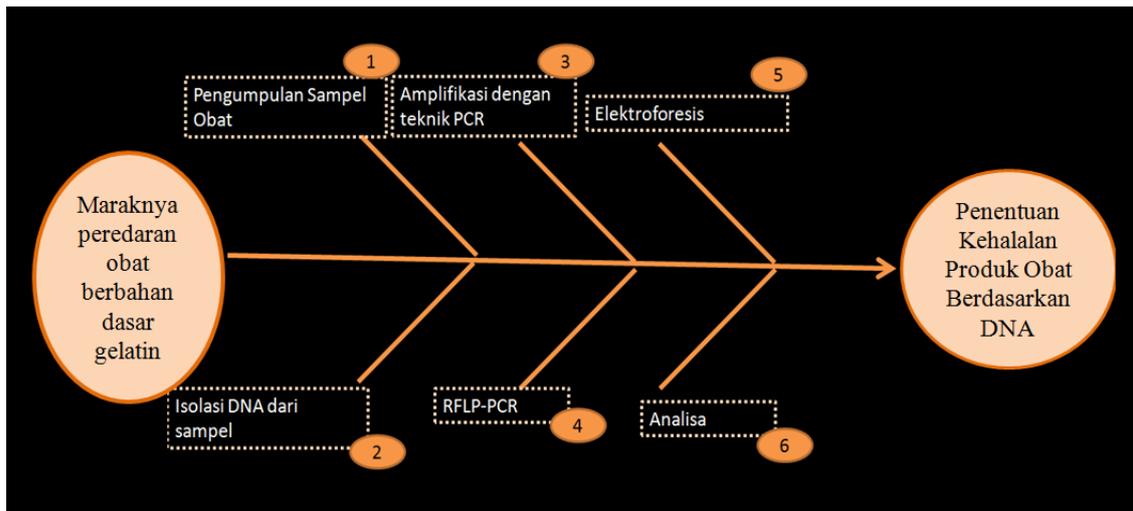
v. Analisa

Analisa dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan data yang terlihat pada gel elektroforesis

f. Indikator Pencapaian Hasil Penelitian

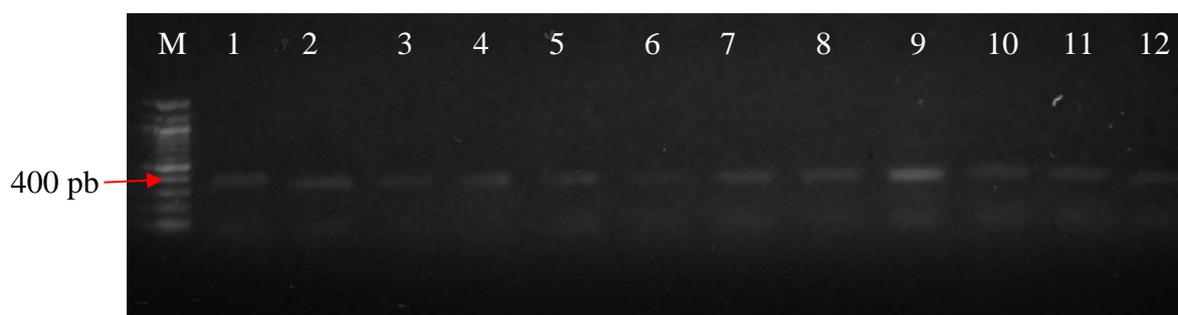
Ketidakhallalan sampel yang digunakan diketahui dengan melihat bobot pita DNA sampel hasil RFLP dengan bobot pita DNA pada kontrol positif yang merupakan gelatin babi murni. Sebaliknya, sampel yang digunakan akan dikatakan halal jika bobot pita DNA sampel sama dengan bobot pita DNA gelatin sapi murni sebagai kontrol negatif.

g. Fishbond Penelitian



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Saat ini pendeteksian kehalalan baik makanan maupun obat menjadi perhatian utama di dunia, khususnya Indonesia. Berbagai penelitian dan pengembangan metode untuk mengidentifikasi adanya cemaran babi terus dilakukan dan dilaporkan. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah RFLP-PCR. Metode deteksi kehalalan dengan RFLP-PCR merupakan salah satu metode identifikasi halal berbasis DNA. Secara global, identifikasi kehalaln dapat dilakukan dengan menggunakan protein maupun DNA akan tetapi penggunaan DNA sering dijadikan sebagai target pendeteksian. Hal ini dikarenakan DNA lebih stabil dibandingkan dengan protein (Amaral et al. 2016). Amaral et al. (2016) juga menyatakan bahwa pendeteksian kehalalan dengan DNA menggunakan prinsip dasar PCR sebagai teknik utama dikarenakan spesifisitas, sensitivitas, kemudahan dan kecepatan mendapatkan hasil. Pada teknik RFLP-PCR, DNA hasil amplifikasi PCR dipotong menggunakan suatu enzim restriksi yang spesifik mengenali daerah tertentu yang akan memudahkan identifikasi spesies berdasarkan perbedaan pola DNA yang muncul (Ballin *et al.*, 2009 *dalam* Amaral et al. 2016).



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk PCR dengan menggunakan seasang primer yang spesifik terhadap daerah *cyt b*. M : DNA marker 100 pb, 1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol negatif, 3-12: sampel cangkang kapsul

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah cangkang kapsul dari berbagai produk obat yang dijual di pasaran. Sebelum dilakukan ekstraksi DNA, cangkang kapsul harus dipisahkan dari serbuk maupun cairan yang terdapat di dalamnya dengan melakukan *swab* menggunakan *cotton bud*. Hal ini harus dilakukan untuk menghindari terjadinya *cross contamination* dengan sampel obat yang disimpan pada cangkang tersebut. Molekul DNA yang terdapat pada sampel cangkang kapsul diekstraksi dengan menggunakan Dneasy Mericon Food Kit (Qiagen, USA). Kit tersebut dapat memisahkan DNA dengan komponen lainnya

seperti protein dan molekul lain yang digunakan untuk memproduksi cangkang tersebut sehingga molekul DNA yang berhasil diperoleh dapat langsung digunakan untuk proses amplifikasi menggunakan teknik PCR (QIAGEN 2014).

Amplifikasi merupakan suatu metode untuk mendapatkan molekul DNA spesifik yang terdapat pada genom suatu organisme. Pada amplifikasi digunakan sepasang primer yang spesifik terhadap suatu gen dalam genom. Pada penelitian ini digunakan sepasang primer yang spesifik terhadap daerah sitokrom b (*cyt b*) pada genom babi dan sapi. Daerah *cyt b* merupakan suatu daerah *conserved* pada DNA mitokondria. Primer tersebut didesain oleh Kocher et al. (1989) dan dilaporkan dapat digunakan untuk semua vertebrata (Aida et al. 2005). Primer tersebut akan menghasilkan molekul DNA dengan bobot molekul sekitar 359 pb (Aida et al. 2005; Erwanto et al. 2011; Erwanto et al. 2014). Hasil amplifikasi pada penelitian ini berhasil mendapatkan produk PCR dengan bobot sebesar 359 pb (gbr 1). Selain itu, hasil PCR ini menunjukkan bahwa DNA berhasil diekstraksi dari cangkang kapsul.



Gambar 2. Hasil elektroforesis hasil pemotongan produk PCR menggunakan enzim *BseDI*. M : DNA marker 100 pb, 1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol negatif, 3-12: sampel cangkang kapsul

Proses restriksi dilakukan sebagai kelanjutan dari teknik RFLP-PCR. Beberapa riset melaporkan bahwa teknik RFLP-PCR dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam enzim restriksi. Erwanto et al. (2014, 2011) melaporkan bahwa dengan menggunakan pasangan primer *cyt b* dapat direstriksi dengan enzim *BseDI* dengan hasil restriksi berupa dua pita DNA dengan ukuran 228 pb dan 121 pb pada sampel 100% babi. Penelitian lain yang dilakukan oleh (Girish et al. 2005) menyatakan bahwa enzim *AluI* dapat memotong produk PCR dari sampel sapi dengan hasil restriksi berupa dua buah pita DNA berukuran 97 dan 359 pb. Pada penelitian ini, proses restriksi belum mendapatkan hasil sesuai dengan referensi dikarenakan besaran pita DNA yang diperoleh masih berkisar pada 359 pb dan hanya terdiri atas satu pita. Selain itu besaran tersebut sama terhadap semua sampel dan kontrol. Hal ini

dapat dilihat pada gambar 2. Ada beberapa hal yang dapat menyebabkan terjadinya kegagalan proses restriksi antara lain produk PCR masih mengandung senyawa yang terlibat dalam reaksi PCR dan kurangnya waktu inkubasi. Oleh karena itu maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan optimalisasi proses RFLP-PCR dengan menggunakan pasangan primer yang sama.

BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Penelitian ini berhasil mendapatkan molekul DNA sebagaimana terlihat pada produk PCR dengan bobot sekitar 359 pb, akan tetapi belum berhasil mengidentifikasi cemaran babi pada cangkang kapsul setelah dilakukan restriksi dengan enzim *BseDI*.

B. Saran

Perlu dilakukan pemurnian produk PCR dan optimalisasi waktu inkubasi restriksi.

BAB 6. LUARAN YANG DICAPAI

Nama Jurnal	Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi
Website Jurnal	https://ejournal.undip.ac.id/
Status Jurnal	SUBMITTED
Akreditasi Jurnal	Nasional Terakreditasi SINTA S3
Tanggal Submit	15 februari 2019

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah Amqizal, H.I. et al., 2017. Identification and verification of porcine DNA in commercial gelatin and gelatin containing processed foods. *Food Control*, 78, pp.297–303.
- Aida, A.A. et al., 2005. MEAT Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Sciene*, 69, pp.47–52.
- Amaral, J. et al., 2016. *Advances in Food Authenticity Testing* G. Downey, ed., Amsterdam: Woodhead Publishing.
- Erwanto, Y. et al., 2014. Identification of Pork Contamination in Meatballs of Indonesia Local Market Using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Analysis. , 27(10), pp.1487–1492.
- Erwanto, Y. et al., 2011. PCR-RFLP Using BseDI Enzyme for Pork Authentication in Sausage and Nugget Products. *Media Peternakan*, 34(1), pp.14–18. Available at: <http://medpet.journal.ipb.ac.id/index.php/mediapeternakan/article/view/3162>.
- Fadhlorrahman, Wardani, A.K. & Widyastuti, E., 2015. DETEKSI GELATIN BABI PADA SOFT CANDY MENGGUNAKAN METODE PCR-RFLP SEBAGAI SALAH SATU PEMBUKTIAN KEHALALAN PANGAN. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 16(2), pp.81–88.
- Farouk, A.E. et al., 2006. The use of a molecular technique for the detection of porcine ingredients in the Malaysian food market. *Saudi Medical Journal*, 27(9), pp.1397–1400.
- Girish, P.S. et al., 2005. Meat species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) of mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Science*, 70, pp.107–112.
- GMIA, 2012. *Gelatin handbook*, Available at: http://gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf.
- Kocher, T. et al., 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals : Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(August), pp.6196–6200.
- Lee, J.H. et al., 2016. Specific PCR assays to determine bovine, porcine, fish and plant origin of gelatin capsules of dietary supplements. *Food Chemistry*, 211, pp.253–259. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.060>.
- Murugaiah, C. et al., 2009. Meat species identification and Halal authentication analysis using

- mitochondrial DNA Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA. *Meat Science*, 83(1), pp.57–61. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.03.015>.
- Mutalib, S.A. et al., 2015. Sensitivity of polymerase chain reaction (PCR)-southern hybridization and conventional PCR analysis for Halal authentication of gelatin capsules. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), pp.714–719. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.006>.
- Presiden, 2014. Undang-Undang Republik Indonesia Tentang Jaminan Produk Halal.
- QIAGEN, 2014. *DNAeasy meicon Food Handbook*, Available at: <https://www.qiagen.com/mx/resources/resourcedetail?id=d0e372d7-6f6a-415e-9d72-297a53d95854&lang=en>.
- Sahilah, A.M. et al., 2012. Halal market surveillance of soft and hard gel capsules in pharmaceutical products using PCR and southern-hybridization on the biochip analysis. *International Food Research Journal*, 19(1), pp.371–375.
- Venien, A. & Levieux, D., 2005. Differentiation of bovine from porcine gelatines using polyclonal anti-peptide antibodies in indirect and competitive indirect ELISA. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39(3–4), pp.418–424.

Halal Authentication on Capsule Shells Using PCR-RFLP Technique

Wahyu Hidayati, Sovi Aggara, Laisa Albi Rubian, Fitriani

Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof Dr. Hamka, Jakarta-Indonesia

wahyu_hidayati@uhamka.ac.id

Abstract. Halal identification of food and pharmaceutical products currently needed for Moslem safety. Moslems have to obey the Islamic rules that stated in the holly Qur'an including consume halal food and medicines. Several methods already reported could be used for halal authentication, especially PCR-RFLP. This study aimed to identify the capsule shells using PCR-RFLP technique. Tjis research conducted using *BseDI* restriction enzyme to cut the amplified product. The result shows that the PCR that targeted the *cytb* region done successfully, nevertheless, the restriction activity was failed.

Keywords: Halal, DNA, RFLP, *BseDI*, capsule

1. Pendahuluan

Saat ini dunia perdagangan telah memasuki era bebas yang mengakibatkan banyaknya produk yang keluar masuk wilayah Indonesia dapat berasal dari negara non-muslim. Efek negatif dari globalisasi tersebut adalah adanya produk-produk makanan dan obat yang tidak terjamin kehalalannya (Farouk et al. 2006). . Salah satu produk yang diragukan kehalalannya adalah produk obat dan makanan berbahan dasar gelatin. Gelatin merupakan suatu bahan yang sering digunakan untuk meningkatkan kualitas produk baik pada industri makanan maupun obat (Sahilah et al. 2012; Venien & Levieux 2005).

Pada industri farmasi, gelatin digunakan untuk menjaga obat terhadap cahaya dan oksigen sehingga penggunaan gelatin lazim digunakan pada industry farmasi, di antaranya cangkang kapsul. Semakin maraknya penggunaan gelatin maka semakin besar pula peluang bagi Muslim terekspos gelatin non-halal (Sahilah dan Aminah 2010 *dalam* (Sahilah et al. 2012)

Berbagai metode yang dapat digunakan untuk menentukan kehalalan produk obat telah banyak dilaporkan oleh penelitian-penelitian sebelumnya. Metode-metode yang dilaporkan tersebut menggunakan beragam parameter, antara lain DNA, protein dan menerapkan metode imunologi ((Lee et al. 2016; Abdullah Amqizal et al. 2017; Mutalib et al. 2015; Venien & Levieux 2005; Farouk et al. 2006; Fadhlurrahman et al. 2015). Penelitian ini menggunakan salah satu metode yang akan digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan parameter DNA yang akan dianalisa dengan menggunakan teknik *PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP). Pada teknik ini akan diketahui kehalalan cangkang kapsul dengan melihat pola pita DNA yang telah dipotong dengan enzim restriksi.

2. Metode Penelitian

Isolasi DNA dari cangkang kapsul dan gelatin murni

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan kit ekstraksi DNA yaitu Dneasy Mericon Food Kit (Qiagen, USA). Sebanyak 250 mg sampel maupun kontrol yang telah dihancurkan (berasal dari 2 gr material) ditambahkan 1 ml *Food Lysis* dan 20 µl proteinase K kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex selama 15 detik. Setelah homogen dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 65° C selama 1 jam dengan kecepatan 100 rpm pada *shaker incubator* kemudian diinkubasi selama 30 detik pada suhu ruang dan 10 menit pada suhu -20° C. Tahap selanjutnya adalah sentrifusi pada suhu 4° C

selama 10 menit pada kecepatan 2500xg. Sebanyak 600 µl lapisan supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam microtube 1,5 ml dan ditambahkan 500 µl kloroform dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 14000xg selama 15 menit. Sebanyak 350 µl arutan supernatan hasil sentrifugasi dipindahkan ke dalam tabung baru lalu ditambah buffe PB sebanyak 350 µl dan divortex selama 15 detik kemudian dipindahkan ke dalam *Qiaquick spin column* dan disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 17700xg.. Larutan yang tertampung pada *collection tube* dibuang dan tahap tersebut diulang kembali sebanyak 1x. Setelah pengulangan senrifugasi, dilakukan penambahan buffer AW2 dengan volume 500 µl dan disentrifugasi kembali dengan waktu dan kecepatan yang sama seperti pada tahap sebelumnya. Larutan yang terdapat pada *collection tube* kembali dibuang dan dilakukan sentrifugasi ulang. Setelah itu dilakukan *dry ing membrane* dengan melakukan sentrifigasi pada kecepatan 17700xg selam 3 menit. Membran dipindahkan ke microtube 1,5 ml lalu ditambahkan 60 µl buffer EB dan didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang kemudian disentofugasi pada kecepatan 17700xg selama 2 menit. Sampel hasil isolasi terdapat pada larutan yang terdapat pada micrtube tersebut dan disimpan pada suhu -20° C hingga akan digunakan.

Amplifikasi menggunakan PCR

Proses dilakukan dengan menggunakan primer CYTb1 (5'-CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3') and CYTb2 (5'-GCC CCT CAG AAT GAT ATT TGT CCT CA-3') sesuai dengan yang digunakan oleh Murugaiah et al. (2009), Proses amplifikasi dengan teknik PCR dilakukan berdasarkan protokol Go Taq® Green Master Mix (Promega, USA). Masukkan Go Taq Green Master Mix sebanyak 12.5 µl kedalam tube 0.5ml, tambahkan primer CYTb1 2.5 µl dan primer CYTb2 2.5µl. Kemudian tambahkan Nuclease-free water 4.5 µl, lalu dihomogenkan. Tambahkan DNA template 3 µl, lakukan pipeting agar tercampur sempurna lalu masukkan ke dalam mesin PCR. Kondisi PCR diatur sebagai berikut:

Pre-denaturasi : 94° C, 2 menit

Denaturasi : 94° C, 36 detik

Annealing : 51° C, 73 detik

Ekstensi : 72° C, 3 menit

Tahap denaturasi hingga ekstensi dilakukan sebanyak 35 siklus.

Restriction Fragment Length Polymorphism

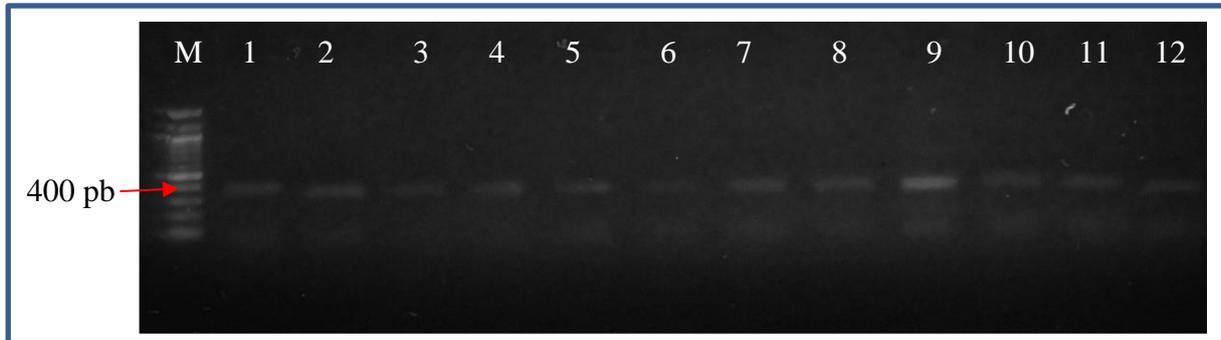
Untuk melanjutkan pada metode RFLP, hasil amplifikasi PCR sebanyak 10 µl kemudian diberikan penambahan enzim restriksi *BseDI*(Thermo Scientific) sebanyak 2 unit/ µl dan larutan pemecah sebanyak 20 µl yang mengandung 10xTango buffer. Campuran sampel dengan bahan lainnya diinkubasi pada suhu 55 °C selama 3 jam. Konfirmasi hasil RFLP menggunakan metode elektroforesis

3. Hasil dan Pembahasan

Saat ini pendeteksian kehalalan baik makanan maupun obat menjadi perhatian utama di dunia, khususnya Indonesia. Berbagai penelitian dan pengembangan metode untuk mengidentifikasi adanya cemaran babi terus dilakukan dan dilaporkan. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah RFLP-PCR. Metode deteksi kehalalan dengan RFLP-PCR merupakan salah satu metode identifikasi halal berbasis DNA. Secara global, identifikasi kehalaln dapat dilakukan dengan menggunakan protein maupun DNA akan tetapi penggunaan DNA sering dijadikan sebagai target pendeteksian. Hal ini dikarenakan DNA lebih stabil dibandingkan dengan protein (Amaral et al. 2016). Amaral et al. (2016) juga menyatakan bahwa pendeteksian kehalalan dengan DNA menggunakan prinsip dasar PCR sebagai teknik utama dikarenakan spesifisitas, sensitivitas, kemudahan dan kecepatan mendapatkan hasil. Pada teknik RFLP-PCR, DNA hasil amplifikasi PCR dipotong menggunakan suatu enzim restriksi yang spesifik mengenali daerah tertentu yang akan memudahkan identifikasi spesies berdasarkan perbedaan pola DNA yang muncul (Ballin *et al.*, 2009 dalam Amaral et al. 2016).

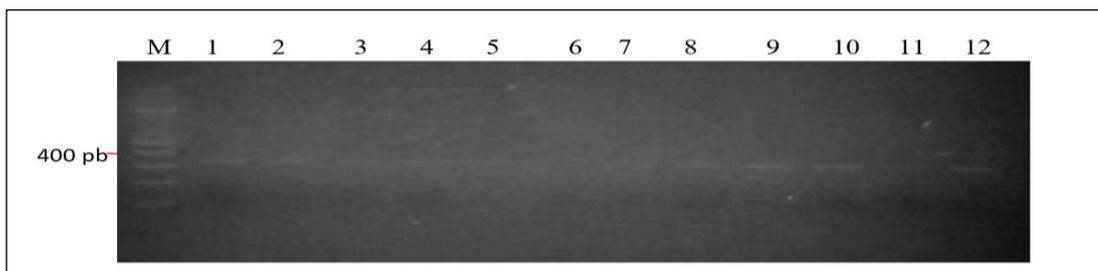
Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah cangkang kapsul dari berbagai produk obat yang dijual di pasaran. Sebelum dilakukan ekstraksi DNA, cangkang kapsul harus dipisahkan dari serbuk maupun cairan yang terdapat di dalamnya dengan melakukan *swab* menggunakan *cotton bud*. Hal ini harus dilakukan untuk menghindari terjadinya *cross*

contamination dengan sampel obat yang disimpan pada cangkang tersebut. Molekul DNA yang terdapat pada sampel cangkang kapsul diekstraksi dengan menggunakan Dneasy Mericon Food Kit (Qiagen, USA). Kit tersebut dapat memisahkan DNA dengan komponen lainnya seperti protein dan molekul lain yang digunakan untuk memproduksi cangkang tersebut sehingga molekul DNA yang berhasil diperoleh dapat langsung digunakan untuk proses amplifikasi menggunakan teknik PCR (QIAGEN 2014).



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk PCR dengan menggunakan seasang primer yang spesifik terhadap daerah *cyt b*. M : DNA marker 100 pb, 1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol negatif, 3-12: sampel cangkang kapsul

Amplifikasi merupakan suatu metode untuk mendapatkan molekul DNA spesifik yang terdapat pada genom suatu organisme. Pada amplifikasi digunakan sepasang primer yang spesifik terhadap suatu gen dalam genom. Pada penelitian ini digunakan sepasang primer yang spesifik terhadap daerah sitokrom b (*cyt b*) pada genom babi dan sapi. Daerah *cyt b* merupakan suatu daerah *conserved* pada DNA mitokondria. Primer tersebut didesain oleh Kocher et al. (1989) dan dilaporkan dapat digunakan untuk semua vertebrata (Aida et al. 2005). Primer tersebut akan menghasilkan molekul DNA dengan bobot molekul sekitar 359 pb (Aida et al. 2005; Erwanto et al. 2011; Erwanto et al. 2014). Hasil amplifikasi ada penelitian ini berhasil mendapatkan produk PCR dengan bobot sebesar 359 pb (gbr 1). Selain itu, hasil PCR ini menunjukkan bahwa DNA berhasil diekstraksi dari cangkang kapsul.



Gambar 2. Hasil elektroforesis hasil pemotongan produk PCR menggunakan enzim *BseDI*. M : DNA marker 100 pb, 1 : Kontrol positif, 2 : Kontrol negatif, 3-12: sampel cangkang kapsul

Proses restriksi dilakukan sebagai kelanjutan dari teknik RFLP-PCR. Beberapa riset melaporkan bahwa teknik RFLP-PCR dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam enzim restriksi. Erwanto et al. (2014, 2011) melaporkan bahwa dengan menggunakan pasangan primer *cyt b* dapat direstriksi dengan enzim *BseDI* dengan hasil restriksi berupa dua

pita DNA dengan ukuran 228 pb dan 121 pb pada sampel 100% babi. Penelitian lain yang dilakukan oleh (Girish et al. 2005) menyatakan bahwa enzim *AluI* dapat memotong produk PCR dari sampel sapi dengan hasil restriksi berupa dua buah pita DNA berukuran 97 dan 359 pb. Pada penelitian ini, proses restriksi belum mendapatkan hasil sesuai dengan referensi dikarenakan besaran pita DNA yang diperoleh masih berkisar pada 359 pb dan hanya terdiri atas satu pita. Selain itu besaran tersebut sama terhadap semua sampel dan kontrol. Hal ini dapat dilihat pada gambar 2. Ada beberapa hal yang dapat menyebabkan terjadinya kegagalan proses restriksi antara lain produk PCR masih mengandung senyawa yang terlibat dalam reaksi PCR dan kurangnya waktu inkubasi. Oleh karena itu maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan optimalisasi proses RFLP-PCR dengan menggunakan pasangan primer yang sama.

Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mendapatkan molekul DNA sebagaimana terlihat pada produk PCR dengan bobot sekitar 359 pb, akan tetapi belum berhasil mengidentifikasi cemaran babi pada cangkang kapsul setelah dilakukan restriksi dengan enzim *BseDI*

Daftar Pustaka

- Abdullah Amqizal, H.I. et al., 2017. Identification and verification of porcine DNA in commercial gelatin and gelatin containing processed foods. *Food Control*, 78, pp.297–303.
- Aida, A.A. et al., 2005. MEAT Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Science*, 69, pp.47–52.
- Amaral, J. et al., 2016. *Advances in Food Authenticity Testing* G. Downey, ed., Amsterdam: Woodhead Publishing.
- Erwanto, Y. et al., 2014. Identification of Pork Contamination in Meatballs of Indonesia Local Market Using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Analysis. , 27(10), pp.1487–1492.
- Erwanto, Y. et al., 2011. PCR-RFLP Using BseDI Enzyme for Pork Authentication in Sausage and Nugget Products. *Media Peternakan*, 34(1), pp.14–18. Available at: <http://medpet.journal.ipb.ac.id/index.php/mediapeternakan/article/view/3162>.
- Fadhurrahman, Wardani, A.K. & Widyastuti, E., 2015. DETEKSI GELATIN BABI PADA SOFT CANDY MENGGUNAKAN METODE PCR-RFLP SEBAGAI SALAH SATU PEMBUKTIAN KEHALALAN PANGAN. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 16(2), pp.81–88.
- Farouk, A.E. et al., 2006. The use of a molecular technique for the detection of porcine ingredients in the Malaysian food market. *Saudi Medical Journal*, 27(9), pp.1397–1400.
- Girish, P.S. et al., 2005. Meat species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) of mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Science*, 70, pp.107–112.
- GMIA, 2012. *Gelatin handbook*, Available at: http://gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf.
- Kocher, T. et al., 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals : Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(August), pp.6196–6200.
- Lee, J.H. et al., 2016. Specific PCR assays to determine bovine, porcine, fish and plant origin of gelatin capsules of dietary supplements. *Food Chemistry*, 211, pp.253–259. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.060>.
- Murugaiah, C. et al., 2009. Meat species identification and Halal authentication analysis using

- mitochondrial DNA Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA. *Meat Science*, 83(1), pp.57–61. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.03.015>.
- Mutalib, S.A. et al., 2015. Sensitivity of polymerase chain reaction (PCR)-southern hybridization and conventional PCR analysis for Halal authentication of gelatin capsules. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), pp.714–719. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.006>.
- Presiden, 2014. Undang-Undang Republik Indonesia Tentang Jaminan Produk Halal.
- QIAGEN, 2014. *DNAeasy meicon Food Handbook*, Available at: <https://www.qiagen.com/mx/resources/resourcedetail?id=d0e372d7-6f6a-415e-9d72-297a53d95854&lang=en>.
- Sahilah, A.M. et al., 2012. Halal market surveillance of soft and hard gel capsules in pharmaceutical products using PCR and southern-hybridization on the biochip analysis. *International Food Research Journal*, 19(1), pp.371–375.
- Venien, A. & Levieux, D., 2005. Differentiation of bovine from porcine gelatines using polyclonal anti-peptide antibodies in indirect and competitive indirect ELISA. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39(3–4), pp.418–424.

Lampiran 2. Status *Submission*

The screenshot displays the author's active submissions page on the Jurnal Kimia Sains & Aplikasi website. The page features a navigation menu at the top with options like HOME, ABOUT, PEOPLE, ISSUE, SUBMISSIONS, and ANNOUNCEMENTS. The main content area is titled "Active Submissions" and shows a table with one submission entry. The submission ID is 22086, submitted on 15-02-2019, by author RA Hidayati. The title is "Halal Authentication on Capsule Shells Using PCR-RFLP..." and the status is "Awaiting assignment". Below the table, there are buttons for "Publish", "Ignore", "Delete", and "Select All". To the right of the submission table, there is a section for "Accreditation Certificate" showing a "SERTIFIKAT" from the Indonesian Ministry of Research, Technology and Higher Education, and a "Conference Partner" section for "The 13th Joint Conference on Chemistry".

Jurnal Kimia Sains & Aplikasi
Journal of Scientific & Applied Chemistry

ISSN: 1410-8917
e-ISSN: 2597-9914

Accredited by the Ministries of Research, Technology and Higher Education
No: 21/E/KPT/2018

HOME ABOUT PEOPLE ISSUE SUBMISSIONS ANNOUNCEMENTS NEW SUBMISSION WAHYUHIDAYATI82

Home / User / Author / Active Submissions

Active Submissions

Active (1) | Archive (0) | New Submission

ID	MM-DD Submit	Sec	Authors	Title	Status
22086	15-02-2019	RA	Hidayati	Halal Authentication on Capsule Shells Using PCR-RFLP...	Awaiting assignment

1 - 1 of 1 Items

Refbacs

All | New | Published | Ignored

Date Added	Hits	URL	Article	Title	Status	Action
There are currently no refbacs.						

Publish Ignore Delete Select All

Accreditation Certificate

SERTIFIKAT

TERAKREDITASI PERINGKAT II

Conference Partner

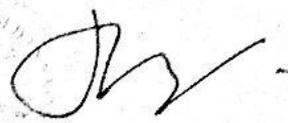
The 13th Joint Conference on Chemistry

Journal Content

https://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa/author/submission/22086

5:24 AM 2/15/2019

Lampiran 3. Surat Keterangan Pembimbing Skripsi

	UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA FAKULTAS FARMASI DAN SAINS Islamic Center, Jl. Delima II/IV Klender, Jakarta Timur 13460 Telp. (021) 8611070, Fax. (021) 85603233 www.uhamka.ac.id, www.ffa.uhamka.ac.id, Email: ffs@uhamka.ac.id	
Nomor	: /B.03.04/2018	15 Ramadhan, 1439 H
Lampiran	:	31 Mei 2018 M
Perihal	: <i>Surat Keterangan sebagai Pembimbing</i>	
<p>Yang terhormat, Kepala Lemlitbang Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Di tempat</p> <p><i>Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,</i></p> <p>Dengan hormat, bersama ini kami sampaikan bahwa:</p> <p>Nama Mahasiswa : Laisa Albi Rubian NIM : 1404015187</p> <p>Adalah mahasiswa Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Program Sarjana Strata Satu (S-1) yang melakukan penelitian dengan bimbingan dari Ibu Dra. Fitriani, M.Si dan Ibu Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed.</p> <p>Demikian surat keterangan ini disampaikan atas perhatian dan kerjasamatya kami ucapkan terima kasih.</p> <p><i>Wabillahittaufiq walhidayah,</i> <i>Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh</i></p> <p>Dekan,</p> <p> Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt.</p>		
Tembusan Yth.:		
1. Wakil Dekan I		
2. Mahasiswa yang bersangkutan		
Fakultas Farmasi dan Sains - UHAMKA		

Lampiran 4. Surat Keterangan Status Aktif Mahasiswa



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS

Islamic Center, Jl. Delima II/IV Klender, Jakarta Timur 13460 Telp. (021) 8611070, Fax. (021) 86603233
www.uhamka.ac.id, www.ffa.uhamka.ac.id, Email: ffs@uhamka.ac.id

SURAT KETERANGAN
Nomor : 402 /J.02.03/2018

Pimpinan Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, menerangkan bahwa:

Nama : Laisa Albi Rubian
Tempat, tgl lahir : Jakarta, 25 Januari 1997
Alamat : Jl. Tanah Seratus Rt. 003 Rw. 02 No. 38, Ciledug, Tangerang.

Benar nama tersebut di atas adalah Mahasiswa Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka Jakarta .

N I M : 1404015187
Program Studi : Farmasi
Jenjang Program : S1 Farmasi
Semester : Akhir
Tahun Akademik : 2017/2018

Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya dan kepada yang berkepentingan harap menjadi maklum.

Jakarta, 31 Mei 2018

Wakil Dekan I

Drs. Indling Gosmayadi, M.Si., Apt.

