

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEKS

Judul Penelitian

**ANALISA KEHALALAN FOOD SUPPLEMENT
BERTEKSTUR KENYAL DENGAN MENGGUNAKAN
TEKNIK PCR-RFLP**

Jenis Penelitian : **PENELITIAN PENGEMBANGAN
IPTEK (PPI)**

Ketua Peneliti : Dra. Fitriani, M.Si.

Link Profil Simakip : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/show/687>

Fakultas : **Fakultas Farmasi dan Sains**

Anggota Peneliti : Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed.

Link Profil Simakip : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/show/1008>

Waktu Penelitian : 6 bulan

Biaya Penelitian yang Disetujui : 15.000.000,-

Luaran Penelitian

Luaran Wajib : Jurnal Elkawnie- SINTA akreditasi 2 (S2)

Status Luaran Wajib : *Submitted*

Luaran Tambahan : Presentasi Oral dan Prosiding

Status Luaran Tambahan : Presentasi Oral (terlaksana), Prosiding (accepted dan proses penerbitan online)

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Jakarta, 20 April 2020
Ketua Peneliti

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

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



Menyetujui,
**Dekan Fakultas Farmasi dan
Sains**

Ketua Lemlitbang UHAMKA

(Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.)
.NIDN : 0325067201

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

SURAT KONTRAK PENELITIAN



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 : 756 / F.03.07 / 2019
Tanggal : 20 November 2019

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Rabu, tanggal Dua Puluh, bulan November, tahun Dua Ribu Sembilan 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

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **ANALISA KEHALALAN FOOD SUPPLEMENT BERTEKSTUR KENYAL DENGAN MENGGUNAKAN TEKNIK PCR-RFLP** dengan luaran wajib dan luaran tambahan sesuai data usulan penelitian Batch 1 Tahun 2019 melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 2

Bukti luaran penelitian wajib dan tambahan harus sesuai sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1. Luaran penelitian yang dimaksud dilampirkan pada saat Monitoring Evaluasi dan laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 20 November 2019 dan selesai pada tanggal 20 April 2020.

Pasal 4

PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.15.000.000,- (Terbilang : Lima Belas Juta) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari Penelitian dan Pengembangan 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;

10.500.000
(1) Termin I 70 % : Sebesar 10.500.000 (Terbilang: Sepuluh Juta Seratus Ribu Rupiah) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

29.500.000
(2) Termin II 30 % : Sebesar 29.500.000 (Terbilang: Empat Juta Sembilan Ratus Ribu Rupiah) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut 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, 20 November 2019

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. ZAMAH SARI M.Ag.

ABSTRAK

Identifikasi halal telah menjadi prosedur yang harus dipenuhi oleh produk-produk yang dikonsumsi, seperti makanan dan Kesehatan. Salah satu produk Kesehatan yang sangat digemari oleh konsumen, khususnya anak-anak, adalah suplemen kenyal. Penggunaan elatin pada produk kenyal tersebut menjadi titik kritis bagi konsumen muslim, sehingga proses produksinya sesuai dengan petunjuk kehalalan yang telah diberlakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi suplemen kenyal yang dijual di Jakarta Timur, Indonesia berdasarkan polimorfisme gen sitokrom b. Penelitian ini diawali dengan ekstraksi genom dari produk tersebut kemudian dilanjutkan Amplifikasi dengan PCR dan restriksi dengan enzim Bsa I. Ukuran produk PCR yang diperoleh adalah sebesar 359 pb dan hasil restriksi memperlihatkan adanya perbedaan pola polimorfisme produk suplemen kenyal dan gelatin babi sebagai kontrol positif. Produk suplemen kenyal yang digunakan dapat dikatakan berstatus halal.

Kata kunci: Suplemen Kenyal, PCR-RFLP, Halal

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT KONTRAK PENELITIAN	iii
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB 3. METODE PENELITIAN	6
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	10
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	13
BAB 6. LUARAN YANG DICAPAI	14
BAB 7. RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI	15
DAFTAR PUSTAKA	16
LAMPIRAN	18
• Sertifikat Presentasi Oral Sebagai Luaran Tambahan	
• <i>Letter of Acceptance</i> Draft Publikasi pada Prosiding	
• Hasil Monitoring dan Evaluasi	
• Status Jurnal	
• Draft Jurnal	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Roadmap Peneliti	5
Gambar 2. Alur Penelitian	6
Gambar 3. Roadmap Penelitian	9
Gambar 4. Hasil Elektroforesis Produk PCR	10
Gambar 5. Hasil Elektroforesis RFLP	10

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Presentasi Oral Sebagai Luaran Tambahan	18
Lampiran 2. <i>Letter of Acceptance</i> Draft Publikasi pada Prosiding	19
Lampiran 3. Hasil Monitoring dan Evaluasi	20
Lampiran 4. Status Jurnal.....	22
Lampiran 5. Draft Jurnal	23

BAB 1. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Food supplement atau makanan tambahan pada aneka produk kesehatan yang mengandung satu atau lebih zat bersifat nutrisi dan obat. Nutrisi yang terkandung dalam *food supplement* meliputi vitamin, mineral dan asam amino, sedangkan *food supplement* yang bersifat obat umumnya diambil dari tanaman atau jaringan tubuh hewan yang berkhasiat sebagai obat (Sultana, Ali, & Ahamad, 2018). Dalam pemenuhan nutrisi bagi anak-anak terutama pada pemberian vitamin, maka industri farmasi mulai memproduksi sediaan vitamin dalam bentuk *gummy*. Sediaan *gummy* mudah dikunyah, sehingga anak-anak lebih menyukai *gummy* dari pada bentuk tablet. Bahan-bahan untuk membuat *gummy* diantaranya adalah sukrosa, laktosa, gomarab, manitol, dan gelatin (Karim & Bhat, 2008).

Gelatin pada sediaan *gummy* digunakan sebagai pengikat dan pelapis (Cai, Gu, Scanlan, Ramatlapeng, & Lively, 2012). Gelatin merupakan protein yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen, yaitu komponen protein utama pada kulit, tulang, kulit jangat, dan jaringan penghubung dari tubuh binatang. Gelatin diturunkan sebagai turunan protein, karena didapat dari proses hidrolisis dan tidak terdapat di alam (Domb, Kost, Sheva, & Wiseman, 1997). Gelatin yang beredar dipasar didapatkan dari bahan baku mamalia seperti kulit babi 46% dari produksi gelatin dunia, diikuti dengan kulit sapi 29,4%, dari tulang sapi 23,1%, dan dari sumber lain sebesar 1,5% yang berasal dari produk perikanan (Karim & Bhat, 2008).

Penggunaan gelatin yang berasal dari babi sebagai bahan baku dan banyaknya produk *gummy* tanpa label halal serta kurangnya implementasi undang-undang (UU) No 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal (JPH), menimbulkan kekhawatiran terhadap penduduk Indonesia yang mayoritas beragama Islam (Presiden, 2014). Bagi umat Islam, produk halal merupakan aspek yang sangat penting dalam menjalankan perintah agama. Oleh karena itu, perlu

dilakukan analisis untuk mendeteksi kehalalan penggunaan gelatin babi pada produk *gummy* di pasaran.

Telah banyak metode yang digunakan untuk mendeteksi kehalalan misalnya dengan *Mass Spectrometry* (Zhang et al., 2009), *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Spectroscopic (Al-Saidi, Al-Alawi, Rahman, & Guizani, 2012), dan *Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) yang dikombinasikan dengan PCA (Nur Azira, Amin, & Che Man, 2012). Kekurangan dari metode-metode tersebut adalah analisisnya yang masih didasarkan pada protein, dimana protein bersifat tidak stabil terhadap pemanasan dan pH yang ekstrem. Teknik molekuler telah berkembang pada duadekade terakhir yang memungkinkan pengembangan metode yang memudahkan dalam pembuktian keberadaan kandungan babi (Girish et al., 2005).

Salah satu teknik pendeteksian secara molekuler yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Teknik PCR merupakan metode berbasis amplifikasi DNA secara *in vitro* yang memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan metode lain (Green & Sambrook, 2019). Pada pendeteksian halal, teknik PCR sering dikombinasikan dengan pemotongan fragment DNA yang diperoleh dari proses PCR. Teknik penggabungan ini dikenal dengan teknik PCR Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) (Bieliková, Pangallo, & Tur, 2010). Teknik ini telah digunakan pada penelitian Fadlurahman dan Erwanto dengan hasil yang dapat membedakan fragment DNA antara produk mengandung babi dengan yang bebas babi.

B. Rumusan Masalah

Pentingnya pemberian *food supplement* khususnya pada anak-anak menyebabkan berbagai perusahaan obat bersaing dalam inovasi produk *food supplement* tersebut, salah satunya mengembangkan tekstur kenyal. Salah satu masalah yang muncul adalah adanya titik kritis kehalalan produk tersebut yang terletak pada gelatin yang digunakan dalam proses pembuatan produk. Oleh karena itu perlu diketahui halal tidaknya produk *food supplement* dengan tekstur kenyal yang beredar dipasaran dengan menggunakan teknik PCR-RFLP.

C. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi DNA babi pada berbagai jenis *gummy* yang telah beredar di pasaran melalui amplifikasi DNA menggunakan PCR-RFLP

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberi informasi dalam mendeteksi DNA babi menggunakan teknik molekuler yaitu PCR-RFLP, sehingga dapat dijadikan dasar penelitian kehalalan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

1. Gelatin

Gelatin merupakan senyawa turunan protein yang tersusun atas asam-asam amino. Molekul-molekul gelatin mengandung tiga kelompok asam amino yang tinggi, yaitu sekitar sepertiganya terdiri dari residu asam amino glisin atau alanin, hampir seperempatnya terdiri atas asam amino basa atau asam, seperempatnya lagi yang tinggi, yaitu sekitar sepertiganya terdiri dari residu asam amino glisin atau alanin, hampir seperempatnya terdiri atas asam amino basa atau asam, seperempatnya lagi merupakan asam amino prolin dan hidroksiprolin, dan sisanya asam amino lain. Proporsi yang tinggi dari residu polar ini membuat molekul gelatin mempunyai afinitas yang sangat tinggi terhadap air. Oleh karena itu proporsi yang tinggi dari residu prolin dan hidroksiprolin, molekul-molekul gelatin tidak mampu melilit membentuk coil helix seperti halnya pada kebanyakan molekul protein. Sebaliknya molekul-molekul gelatin ini membentuk molekul yang panjang dan tipis, suatu sifat yang sangat menguntungkan dalam proses pembentukan gel (GMIA, 2012).

Gelatin tersusun dari 18 asam amino yang saling terikat, terdiri dari asam aspartat, asam glutamat, serin, valin, tirosin, lisin, treonin, arginin, glisin, histidin, hidroksiprolin, isoleusin, leusin, hidroksilin, fenilalanin, prolin, alanin dan metionin. Susunan asam amino gelatin berupa triplet peptida, yaitu Glisin-X-Y, dimana X umumnya adalah asam amino prolin dan Y umumnya adalah asam amino hidroksiprolin (Suryani, Sulistiawati, Fajriani, Farmasi, & Kesehatan, 2009).

Aplikasi gelatin dalam makanan maupun produk farmasi digunakan untuk memproduksi permen berbasis gelatin seperti gummy, emulsifier, thickener, dan aplikasi dalam farmasi seperti cangkang hard capsule dan soft capsule, mikroenkapsulasi dan lain sebagainya (Karim & Bhat, 2008).

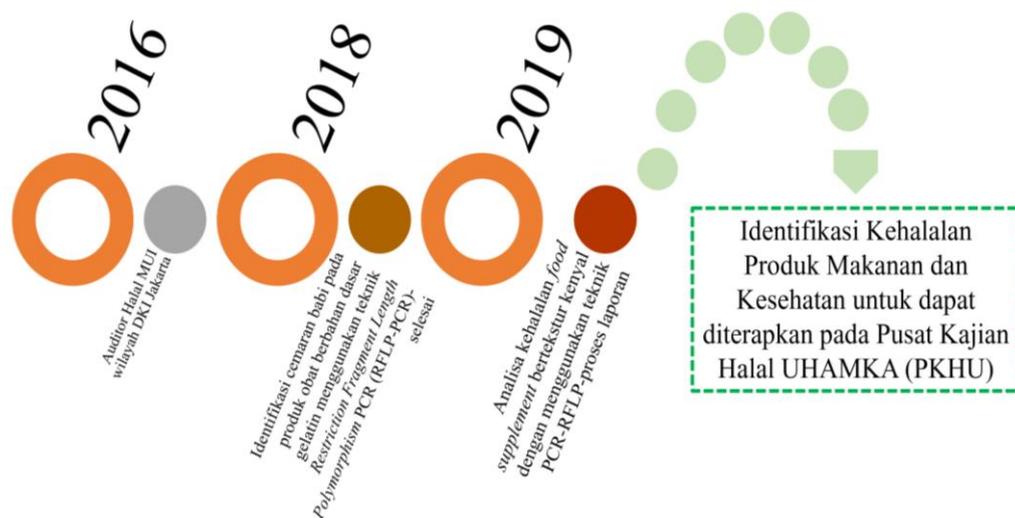
2. Aturan halal di Indonesia

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 sangatlah penting untuk mengidentifikasi cemaran babi pada semua produk olahan baik makanan maupun obat-obatan

3. PCR-RFLP

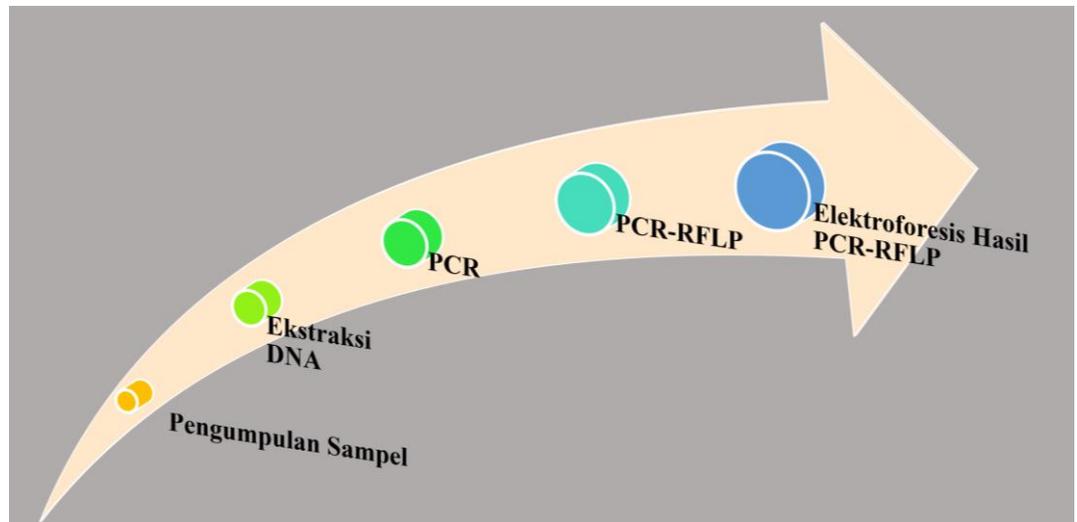
Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR (RFLP-PCR) merupakan suatu metode penggandaan DNA secara *in vitro* dan pengidentifikasian variasi genetik antar spesies melalui restriksi pada DNA tersebut. Metode ini diawali dengan penggandaan DNA menggunakan teknik PCR dan dilanjutkan dengan pemotongan 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, 2018).



Gambar 1. Roadmap Peneliti

BAB 3. METODE PENELITIAN

a. Alur / Langkah Penelitian,



Gambar 2. Alur Penelitian

b. Lokasi Penelitian,

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, FFS-UHAMKA

c. Konsep Metode Penelitian Yang Digunakan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode deteksi kehalalan berbasis DNA

d. Desain Penelitian

Desain yang digunakan adalah desain eksperimental secara Kualitatif

e. Sampel Penelitian

Produk *food supplement* bertekstur kenyal

f. Cara Pengumpulan Data,

i. Ekstraksi DNA dari Sampel Multivitamin Bertekstur Kenyal

Sebanyak 250 mg sampel maupun kontrol yang telah dihancurkan (berasal dari 2 gr material) ditambahkan 1 ml *Food Lysis* dan 20 μ l proteinase. 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 μ l lapisan supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam microtube 1,5 ml dan ditambahkan 500 μ l kloroform dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 14000xg selama 15 menit. Sebanyak 350 μ l arutan supernatan hasil sentrifugasi dipindahkan ke dalam tabung baru lalu ditambah buffe PB sebanyak 350 μ l 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 μ l 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 selam 3 menit. Membran dipindahkan ke microtube 1,5 ml lalu ditambahkan 60 μ l buffer EB dan didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang kemudian disentrofugasi 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 dan sesuai dengan yang digunakan oleh Murugaiah etal. (2009), Proses amplifikasi dengan teknik PCR dilakukan berdasarkan protokol Go Taq® Green Master Mix. Sebanyak 12.5 μ l Go Taq Green Master Mix dimasukkan ke dalam tube 0.5ml, tambahkan primer 27F 2.5 μ l dan primer 1492R 2.5 μ l. Kemudian ditambahkan Nuclease-free water 4.5 μ l, lalu dihomogenkan. Tambahkan DNA Template 3 μ l, dilakukan pipeting agar tercampur sempurna lalu dimasukkan 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.

iii. Restriction Fragment Length Polymorphism

Untuk melanjutkan pada metode RFLP, hasil amplifikasi PCR sebanyak 10 µl kemudian diberikan penambahan enzim restriksi BsaI sebanyak 2 unit/ µl dan larutan pemecah sebanyak 20 µl yang mengandung 1 x reaction buffer. 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 aqua bidessteril, 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. 10 µL sampel DNA ditambahkan 2 µl *Loading dyes* dan dipipeting agar homogen. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam kolom yang tersedia secara hati-hati.

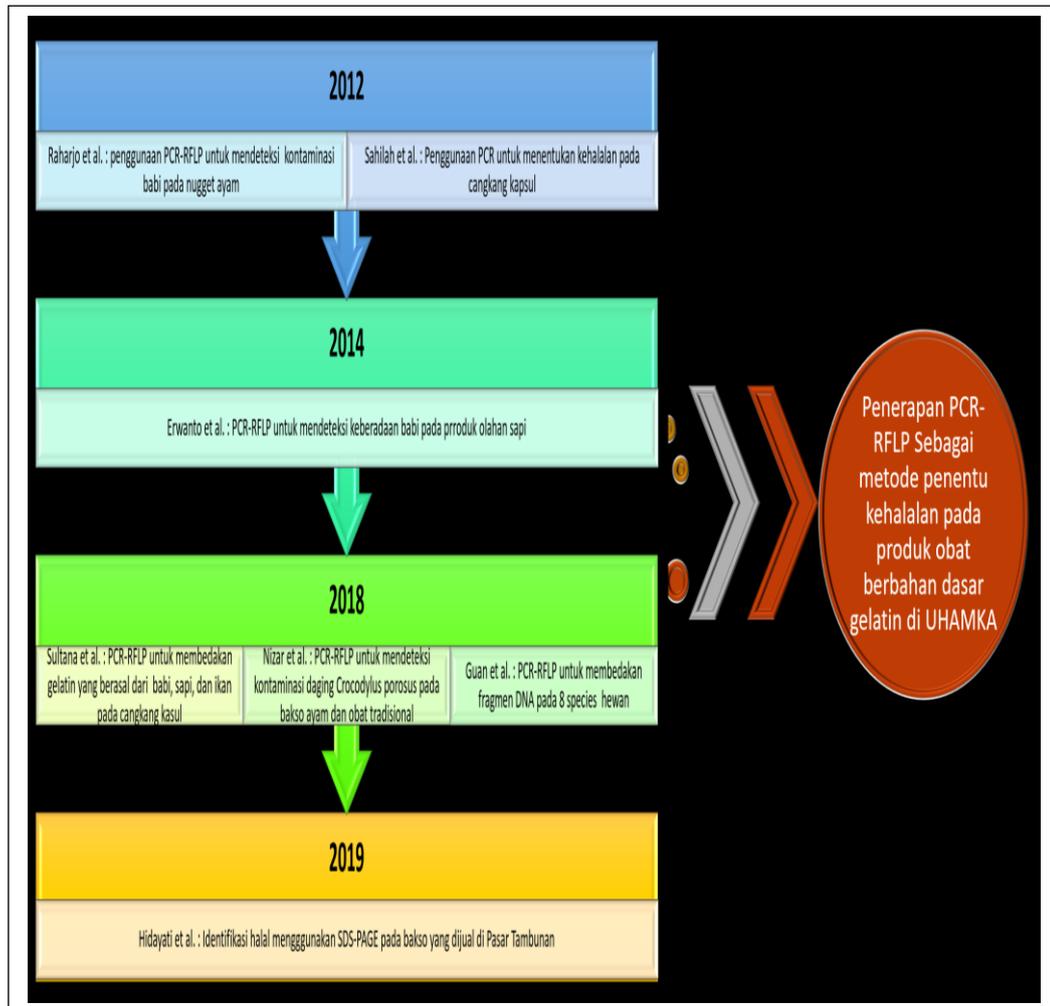
g. Instrumen Yg Digunakan, Manajemen Analisis Data,

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

h. Indikator Capaian Hasil Penelitian

Ketidakhadiran 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

i. Fishbond Penelitian

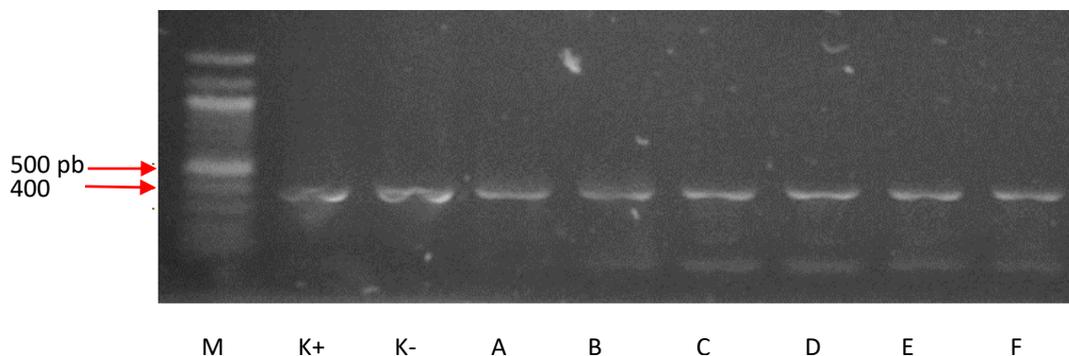


Gambar 3. Roadmap Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

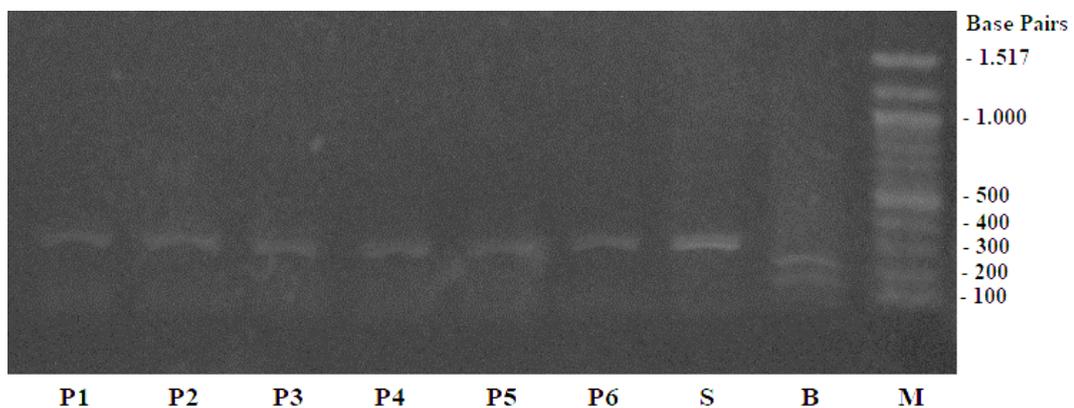
a. Hasil penelitian

Pada penelitian ini, hasil PCR dari keenam sampel *food supplement* dapat teramplifikasi dengan tepat pada fragmensitokrom b dengan ukuran sebesar 359 bp. Hal ini juga seripa dengan hasil amplifikasi gen sitokrom b pada gelatin babi murni dan gelatin sapi murni (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil Elektroforesis Produk PCR. M: DNA *ladder* 1 kb, K+: Kontrol Positif (Gelatin Babi), K-: Kontrol Negatif (Gelatin Sapi), A-F : Produk Suplemen Kesehatan Bertekstur Kenyal

Produk PCR digunakan untuk reaksi selanjutnya yaitu restriksi menggunakan enzim restriksi BsaJ 1. Hasil restriksi menunjukkan tidak adanya perbedaan pola pemotongan DNA pada keenam sampel dan gelatin sapi murni (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil Elektroforesis RFLP. M: DNA *ladder* 1 kb, B: Kontrol Positif (Gelatin Babi), S: Kontrol Negatif (Gelatin Sapi), P1-P6 : Produk *Gummy*

b. Pembahasan hasil penelitian

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu reaksi *in-vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA cetakan dengan bantuan enzim DNA polimerase dan primer dalam suatu *thermocycler* (James, 2010). Ada beberapa komponen bahan yang dibutuhkan seperti DNA *template* (cetakan), primer, dan PCR *premix*. Komponen-komponen yang terdapat dalam PCR *premix* adalah *Top DNA Polymerase*, dNTPs, *Tris-HCl*, *KCl*, *MgCl₂*, *stabilizer* dan *tracking dye*. Keuntungan menggunakan PCR *premix* adalah menghemat waktu pengerjaan karena dapat langsung digunakan dan mengurangi kesalahan volume pada saat pipet.

Dalam proses amplifikasi pada PCR reaksi diawali dengan predenaturasi 94°C selama 2 menit, Denaturasi pada suhu 94°C bertujuan untuk memisahkan DNA heliks ganda menjadi 2 untai tunggal DNA. *Annealing* pada suhu 51°C bertujuan untuk memberikan waktu kepada primer untuk menempel pada daerah yang menjadi target DNA. *Extension* pada suhu 72°C bertujuan untuk memperpanjang ikatan DNA yang telah ditempel oleh primer. Proses ini dilakukan sebanyak 35 siklus untuk mendapatkan DNA dalam jumlah banyak. Proses PCR diakhiri dengan *final extension* 72°C pada waktu 3 menit untuk menyempurnakan pemanjangan DNA.

Hasil PCR dianalisis dengan menggunakan teknik elektroforesis DNA. Hasil visualisasi elektroforesis ampikon pada (Gambar 2) menunjukkan bahwa keenam sampel dan kontrol gelatin babi serta gelatin sapi yang di amplifikasi menggunakan primer *cyt b* mampu mengamplifikasi *initial region* gen *cytochrome b*, terbukti dengan terbentuknya fragmen DNA yaitu pada ukuran 359 bp. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Aida (2005); Erwanto (2012); Kocher et al. (1989).

Pada kontrol gelatin babi dan kontrol gelatin sapi terbentuk fragmen DNA dengan ukuran yang sama yaitu 359 bp. Terbentuknya ukuran fragmen DNA yang sama antara kontrol gelatin babi dan kontrol gelatin sapi dari hasil amplifikasi menggunakan primer cyt b disebabkan karena primer cyt b merupakan primer universal mamalia sehingga dapat mengamplifikasi DNA yang memiliki kesamaan homologi dengan DNA babi seperti sapi (Kocher et al., 1989)..

Dalam meningkatkan spesifisitas keberadaan kandungan DNA babi pada sampel dan kontrol, maka produk PCR digunakan pada proses selanjutnya, yaitu metode RFLP. RFLP merupakan tindak lanjut dari hasil amplifikasi yang didigesti menggunakan enzim restriksi, perbedaan antara spesies hewan dapat dibedakan melalui digesti amplicon dengan enzim restriksi yang akan menghasilkan fragmen dari berbagai ukuran yang unik untuk setiap jenis hewan (Rasmussen, 2010).

Pada gambar 3 terlihat bahwa pola pemotongan DNA pada gelatin babi murni berbeda dengan sampel dan gelatin sapi murni. Pada gelatin babi murni yang berperan sebagai kontrol positif, produk PCR terpotong menjadi dua fragmen DNA dengan ukuran 228 bp dan 131 bp. Aida et al (2005) melaporkan bahwa pemotongan gen sitokrom b dengan enzim restriksi BsaJ 1 pada DNA babi menghasilkan dua fragmen DNA dengan ukuran 228 pb dan 131 pb. Berdasarkan hal tersebut, maka semua sampel yang digunakan pada penelitian ini tidak teridentifikasi adanya kontaminasi babi Dalam produk tersebut.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Metode RFLP dapat digunakan untuk mengidentifikasi kehalalan suatu produk suplemen Kesehatan Dalam bentuk kenyal yang menggunakan gelatin sebagai salah satu komposisinya. Produk suplemen kesehatan yang digunakan pada penelitian ini tidak mengandung komponen babi yang diketahui adanya kesamaan ukuran fragmen DNA, pada semua sampel dengan gelatin sapi yang digunakan sebagai kontrol positif, sebagai hasil dari proses RFLP yang dilakukan pada penelitian ini.

Saran

Metode RFLP yang digunakan pada penelitian ini dapat dimodifikasi dengan menggunakan enzim restriksi lainnya yang secara spesifik dapat memotong pada gen sitokrom b dan mampu memotong gen sitokrom b pada gelatin babi menjadi lebih dari satu fragmen DNA.

BAB 6 LUARAN YANG DICAPAI

Luaran yang dicapai berisi identitas luaran penelitian yang dicapai oleh peneliti sesuai dengan skema penelitian yang dipilih.

Jurnal

IDENTITAS JURNAL

1	Nama Jurnal	Jurnal Elkawnie
2	Website Jurnal	https://jurnal.ar-raniry.ac.id/index.php/elkawnie
3	Status Makalah	Draft
4	Jenis Jurnal	Jurnal Nasional
4	Tanggal Submit	
5	Bukti Screenshot submit	

Pemakalah di seminar

IDENTITAS SEMINAR

1	Nama Jurnal	Prosiding Seminar Nasional dan Kolokium Doktor dalam rangkai wisuda UHAMKA 2019
2	Website Jurnal	Belum ada
3	Status Makalah	Submitted
4	Jenis Prosiding	Prosiding Nasional
4	Tanggal Submit	Desember 2019
5	Bukti Screenshot submit	

Pemakalah di seminar

IDENTITAS HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL

1	Nama Karya	
2	Jenis HKI	
3	Status HKI	
4	No Pendaftaran	

BAB VII RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

Minimal mencakup 2 hal ini.

Hasil Penelitian	Penelitian ini merupakan penelitian yang dilakukan dalam rangka memperoleh metode identifikasi yang mudah dan dapat diaplikasikan pada Pusat Kajian Halal UHAMKA
Rencana Tindak Lanjut	Berdasarkan hasil yang telah dicapai, penelitian ini dapat menunjukkan bahwa metode PCR-RFLP dapat digunakan untuk identifikasi halal produk kesehatan. Penelitian ini dapat ditindaklanjuti dengan penggunaan enzim restriksi lain yang dapat menghasilkan fragmen DNA yang sangat jelas memperlihatkan perbedaan antara DNA babi dan sapi sehingga dapat diterapkan di Pusat Kajian Halal UHAMKA.

DAFTAR PUSTAKA

- Aida, A. A., Man, Y. B. C., Wong, C., Raha, A., & Son, R. (2005). MEAT Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Sciene*, 69, 47–52. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.020>
- Al-Saidi, G. S., Al-Alawi, A., Rahman, M. S., & Guizani, N. (2012). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of extracted gelatin from shaari (*Lithrinus microdon*) skin: Effects of extraction conditions. *International Food Research Journal*, 19(3), 1167–1173.
- Bieliková, M., Pangallo, D., & Tur, J. Á. N. (2010). Polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) as a molecular discrimination tool for raw and heat-treated game and domestic animal meats, 49(3), 134–139.
- Cai, H., Gu, X., Scanlan, M. S., Ramatlapeng, D. H., & Lively, C. R. (2012). Real-time PCR assays for detection and quantitation of porcine and bovine DNA in gelatin mixtures and gelatin capsules. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(1), 83–87. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.06.008>
- Domb, A. J., Kost, J., Sheva, B., & Wiseman, D. M. (1997). *Edited by*. <http://doi.org/10.1097/00000433-198206000-00020>
- Erwanto, Y. (2018). Molecular Based Method Using PCR Technology on Porcine Porcine Derivative Derivative Detection Detection for for Halal Halal Authentication Authentication. In *Genotyping* (pp. 65–84). InTechOpen. <http://doi.org/10.5772/intechopen.76071>
- Erwanto, Y., Abidin, M. Z., Sismindari, X., & Rohman, A. (2012). Pig species identification in meatballs using polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism for Halal authentication. *International Food Research Journal*, 19(3), 901–906.
- Girish, P. S., Anjaneyulu, A. S. R., Viswas, K. N., Shivakumar, B. M., Anand, M., Patel, M., & Sharma, B. (2005). Meat species identification by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) of mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Science*, 70(1), 107–112. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.12.004>
- GMIA. (2012). *Gelatin Handbook*. *Gelatin Handbook*. Retrieved from http://gelatin-gmia.com/images/GMIA_Gelatin_Manual_2012.pdf
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2019(6), 436–456. <http://doi.org/10.1101/pdb.top095109>
- James, G. (2010). *PCR basics*. *PCR for Clinical Microbiology: An Australian and International Perspective*. http://doi.org/10.1007/978-90-481-9039-3_1

- Karim, A. A., & Bhat, R. (2008). Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science and Technology*, 19(12), 644–656. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.08.001>
- Kocher, T., Thomas, W., Meyer, A., Edwards, S., Paabo, S., Villablanca, F., & Wilson, A. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(August), 6196–6200.
- Murugaiah, C., Noor, Z. M., Mastakim, M., Bilung, L. M., Selamat, J., & Radu, S. (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), 57–61. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.03.015>
- Nur Azira, T., Amin, I., & Che Man, Y. (2012). Differentiation of bovine and porcine gelatins in processed products via Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) and principal component analysis (PCA) techniques. *International Food Research Journal*, 19(3), 1175–1180.
- Presiden. (2014). Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 33 Tahun 2014 Tentang Jaminan Produk Halal. *Igarss 2014*. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Rasmussen, H. B. (2010). Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis – valuable tool for genotyping and genetic fingerprinting. *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*, 315–334. Retrieved from <http://cdn.intechopen.com/pdfs/35104.pdf>
- Sultana, S., Ali, M. E., & Ahamad, M. N. U. (2018). *Gelatine, collagen, and single cell proteins as a natural and newly emerging food ingredients. Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods*. Elsevier Ltd. <http://doi.org/10.1016/b978-0-08-101892-7.00011-0>
- Suryani, N., Sulistiawati, F., Fajriani, A., Farmasi, P. S., & Kesehatan, I. (2009). Kekuatan Gel Gelatin Tipe B Dalam Formulasi Granul Terhadap Kemampuan Mukoadhesif. *Makara, Kesehatan*, 13(1), 1–4.
- Zhang, G., Liu, T., Wang, Q., Chen, L., Lei, J., Luo, J., ... Su, Z. (2009). Mass spectrometric detection of marker peptides in tryptic digests of gelatin: A new method to differentiate between bovine and porcine gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 2001–2007. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.010>

Lampiran 1. Sertifikat Presentasi Oral Sebagai Luaran Tambahan



Lampiran 2. *Letter of Acceptance* Draft Publikasi pada Prosiding



PANTIA SEMINAR NASIONAL & KOLOKSIUM DOKTOR 2019
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR. HAMKA
Jl. Raya Bogor Km.23 No.99, Ciracas, RT.4/RW.5, Kp. Rambutan, Jakarta Timur
Email : lemlit@uhamka.ac.id Official Website: simakip.uhamka.ac.id

Letter of Acceptance

Kepada Yth,
Bapak/Ibu **Wahyu Hidayati, M.Biomed**
Di
Tempat

Dengan hormat,

Kami sampaikan bahwa artikel yang berjudul “**Amplikasi Gen CyTB pada Gelatin Dalam Cangkang Kapsul Obat Herbal dan Obat Bertekstur Kenyal**” untuk dipresentasikan pada Seminar Nasional dan Kolokium Doktor dalam rangka wisuda UHAMKA 2019 telah kami terima.

Seminar ini akan mencakup pemaparan dari pembicara utama, presentasi pararel dari peserta terkait dengan tema seminar: Penguatan Riset dan Luaran Sebagai Budaya Akademik Di Perguruan Tinggi Memasuki Era Society 5.0.

Adapun full-paper artikel Bapak/Ibu telah kami terima dan akan dimuat dalam prosiding Seminar Nasional dan Kolokium Doktor dalam rangka wisuda UHAMKA 2019. Untuk informasi lebih lanjut dapat menghubungi panitia seminar melalui emai lemlit@uhamka.ac.id dan Offfical Website simakip.uhamka.ac.id

Panitia Seminar Nasional UHAMKA 2019

Ketua,

Prof. Dr. Suswandari, M.Pd

Lampiran 3. Hasil Monitoring dan Evaluasi

BORANG MONITORING DAN EVALUASI LAPANGAN PENELITIAN BERBASIS KOMPETENSI

Luaran Penelitian

Judul Penelitian :	ANALISA KEHALALAN FOOD SUPPLEMENT BERTEKSTUR KENYAL DENGAN MENGGUNAKAN TEKNIK PCR-RFLP
Ketua Peneliti :	
Nama :	Dra FITRIANI M.Si
NIDN :	0027026401
Jabatan Fungsional :	Pangkat Penata, III/c
Program Studi :	S1 Farmasi
Anggota Peneliti :	1 Orang
Lama Penelitian :	0 Hari
Biaya yang Disetujui :	Rp. 15.000.000

Kriteria Penilaian

No	Komponen Penilaian	Keterangan	Bobot(%)	Skor	Nilai	
1	Publikasi Ilmiah	Internasional	30	9	2	
		Nasional				Draft
		Nasional ber-ISSN				
2	Buku		20	8	1	
3	Pembicara Pada Pertemuan Ilmiah	Ilmiah	15	12	1	
		Internasional				
		Nasional				Telah Diikuti
4	Sebagai Invited Speaker	Internasional	10	6	0	
		Nasional				Tidak ada
		Regional				
5	Undangan Sebagai Visiting Scientist	Internasional	10	6	0	
		Nasional				Tidak ada



SIMAKIP

Sistem Informasi Manajemen & Kinerja Penelitian

Lembaga Penelitian dan Pengembangan - Universitas Muhammadiyah Prof DR. HAMKA
Tlp. 021-8416624, 87781809; Fax. 021-87781809; Email : lemlit@uhamka.ac.id

No	Komponen Penilaian	Keterangan	Bobot(%)	Skor	Nilai	
6	Capaian Luaran Lainnya	HKI	Tidak ada	15	8	0
		Tak Tepat Guna				
		Rekayasa Sosial				
		Jejaring Kerjasama				
		Penghargaan				
		Luaran Lainnya				
Total			100%	49	4	

Keterangan:

1. Hasil penelitian yang dituliskan kurang mewakili karena sudah ada hasil penelitian yang dipresentasikan pada seminar nasional pada bulan Desember 2019.
2. Penulisan daftar pustaka belum sesuai dengan template yang diberikan oleh Lemlitbang Uhamka.
3. Luaran wajib berupa draft artikel yang akan dipublish pada jurnal terakreditasi Sinta 2
4. Luaran tambahan, presentasi hasil penelitian pada seminar nasional yang diselenggarakan oleh Lemlitbang Uhamka

Progress luaran baik, Lanjut pada draf artikel untuk di kirim ke jurnal

Lampiran 4. Status Jurnal

The screenshot displays the Elkawnie journal submission portal. The main content area is titled "Active Submissions" and features a table with the following data:

ID	MR-ID	SUBMIT	SEC	AUTHORS	TITLE	STATUS
6817	04-20	ART	Hidayati	IDENTIFIKASI KEPERAWATAN SIKAP KEPERAWATAN BERBASIS MASALAH...	Awaiting assignment	

Below the table, there is a section for "Refbacks" with a table that is currently empty, indicating "There are currently no refbacks." The sidebar on the right contains various PDF management tools such as "Export PDF", "Create PDF", "Edit PDF", "Comment", "Combine Files", "Organize Pages", "Redact", "Protect", "Compress PDF", and "Fill & Sign". The user is logged in as "wahyuhidayati82".

Lampiran 5. Draft Jurnal

IDENTIFIKASI KEHALALAN SUPLEMEN KESEHATAN BERBAHAN DASAR GELATIN BERDASARKAN POLIMORFISME GEN SITOKROM B

Fitriani, Wahyu Hidayati

*Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta, Indonesia,
Email korespondensi:wahyu_hidayati@uhamka.ac.id*

Diterima :

Disetujui:

Diterbitkan:

Abstract: Halal identification has been become a common procedure must be met by consumable products, both dietary and health. Chewable health supplement is one of favorite health consumable products especially for children. The usage of gelatin in gummy production become a critical point for halal consumers, therefore, this product must follow the halal guidelines for production process. Here, we did a halal authentication for gummy supplement which marketed in East Jakarta, Indonesia based on the polymorphism of Cytochrome B gene. To conduct the research we did a DNA genome extraction which then be amplified using PCR technique. The cytochrome b gene from amplification process then digested with Bsa JI restriction enzyme. The size of cytochrome B gene obtained by PCR technique was approximately 359 bp. The restriction process result was all the samples had different polymorphism pattern with porcine sample as positive control. This study shows that all the products used in this study were porcine-free products and able to be consumed by moslem customers.

Keywords:Halal, Chewable, RFLP

Abstrak: Identifikasi halal telah menjadi prosedur yang harus dipenuhi oleh produk-produk yang dikonsumsi, seperti makanan dan Kesehatan. Salah satu produk Kesehatan yang sangat digemari oleh konsumen, khususnya anak-anak, adalah suplemenkenyal. Penggunaan elatin pada produk kenyal tersebut menjadi titik kritis bagi konsumen muslim, sehingga proses produksiharus sesuai dengan petunjuk kehalalan yang telah diberlakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi suplemen kenyal yang dijual di Jakarta Timur, Indonesia berdasarkan polimorfisme gen sitokrom b. Penelitian ini diawali dengan ekstraksi genom dari produk tersebut kemudian dilanjutkan Amplifikasi dengan PCR dan restriksi dengan enzimBsa JI. Ukuran produk PCR yang diperoleh adalah sebesar 359 pb dan hasil restriksimemperlihatkan adanya perbedaan pola polimorfisme produk suplemen kenyal dan gelatin babi sebagai kontrol positif. Produk suplemen kenyal yang digunakan dapat dikatakan berstatus halal.

Katakunci:Halal, Kenyal, RFLP

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 & Leveux, 2005). Hal ini disebabkan oleh karakteristik yang dimiliki oleh gelatin, seperti bentuk yang kuat, seragam, jernih, dan fleksibel, serta dapat mengembang dan menyerap air (Domb, Kost, Sheva, & Wiseman, 1997). Salah satu produk farmasi yang sekarang banyak dikonsumsi oleh masyarakat dan diproduksi oleh industri farmasi adalah obat dalam bentuk kenyal, salah satunya suplemen makanan. Produk farmasi dengan tekstur kenyal diproduksi dengan menggunakan gelatine sebagai salah satu komposisinya. 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 Hidayati 2019((Abdullah Amqizal, Al-Kahtani, Ismail, Hayat, & Jaswir, 2017; Fadhlurrahman, Wardani, & Widyastuti, 2015; Farouk et al., 2006; Kwon et al., 2016; Mutalib et al., 2015; Venien & Leveux, 2005). Salah satu *region* DNA yang dapat digunakan untuk menentukan kehalalan adalah sitokrom b (Y Erwanto, 2018). Penelitian ini melakukan analisis polimorfisme pada sitokrom b untuk mengetahui kehalalan produk suplemen makanan bertekstur kenyal yang beredar di Jakarta Timur. Selain itu, analisa dilakukan dengan menggunakan gelatin babi dan gelatin sapi sebagai pembanding pola polimorfisme.

Metode Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan produk suplemen kesehatan yang memiliki tekstur kenyal yang berada di wilayah Jakarta Timur. Penelitian ini terdiri atas empat tahapan, yaitu isolasi DNA genom pada sampel dan pembanding (gelatin babi dan gelatin sapi), amplifikasi gen sitokrom b, restriksi dengan menggunakan enzim restriksi Bsa I, dan pengamatan pola polimorfisme pada jel agarose. Isolasi DNA genom dilakukan dengan menggunakan prosedur yang terdapat pada Dneasy Mericon Food Kit (Qiagen, USA). Genom yang diperoleh kemudian digunakan sebagai cetakan DNA pada amplifikasi gen sitokrom b dengan teknik PCR. Proses amplifikasi dilakukan dengan menambahkan bahan-bahan untuk amplifikasi DNA ke dalam AccuPower® PCR PreMix (Bioneer). Bahan-bahan yang digunakan untuk amplifikasi adalah DNA

genom sebanyak 2 μ L, 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') masing-masing 1 μ L, dan ditambahkan DNase free water sebanyak 16 μ L. Proses amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus untuk tiga tahapan, yaitu denaturasi (94°C, 36 detik), *annealing* (51°C, 73 detik), dan elongasi (72°C, 84 detik). Tahapan denaturasi diawali dengan pre-denaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, dan setelah elongasi dilakukan *post-elongation* selama 3 menit pada suhu 72°C. Amplikon yang diperoleh dipotong dengan enzim restriksi BsaJI. Adapun formulasi tahapan restriksi terdapat pada tabel 1. Proses restriksi dilakukan pada suhu 37°C selama 16 jam. Analisa polimorfisme dilakukan dengan elektroforesis agarosa yang divisualisasi pada UV-transilluminator.

Hasil dan Pembahasan

A. Ekstraksi DNA genom

Proses isolasi DNA merupakan tahap awal sebelum dilakukannya analisis sumber DNA pada sediaan gummy dan gelatin. Isolasi DNA bertujuan untuk mendapatkan DNA genom dari gelatin babi, gelatin sapi dan sediaan gummy. Prinsip dasar isolasi DNA adalah dengan menghancurkan dinding dan memberan sel lalu mengeluarkan DNA tanpa menyebabkan kerusakan pada DNA tersebut. Secara umum, proses isolasi DNA terdiri dari beberapa tahap yaitu, perusakandinding sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan lain dan pemurnian DNA (Burden, 2012).

Pada penelitian ini, DNA hasil ekstraksi DNA sulit dideteksi dengan menggunakan elektroforesis DNA, sehingga pengukuran konsentrasi dan tingkat kemurnian DNA dengan menggunakan spektrofotometer DNA yang dilakukan pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Adapun rentang angka kemurnian isolat DNA adalah 1,8-2,0 (The Biotechnology Education Company ®, 2018). Berdasarkan pengukuran yang telah dilakukan sebagaimana terdapat pada tabel 1, terlihat bahwa hasil isolasi DNA menggunakan Dneasy ® Mericon Food Kit memperoleh kemurnian yang baik karena terdapat dalam rentang 1,8-2,0. Hal ini dikarenakan adanya pengikatan DNA dan silikase hingga pencampuran dengan bahan lain dapat diminimalisir.

B. Amplifikasi Gen Sitokrom B

DNA yang berhasil diisolasi kemudian diamplifikasi dengan menggunakan alat PCR. Proses amplifikasi membutuhkan sepasang primer yang spesifik pada DNA babi dan DNA sapi yaitu dengan menggunakan primer reverse (CYT b2) dan primer forward (CYT b1) (Kocher, 1989). Kedua primer tersebut merupakan primer yang lazim digunakan untuk identifikasi berbagai jenis produk komersial di berbagai negara dan dapat mengamplifikasi initial region gen cytochrome b. Cytochrome b dipakai karena ini merupakan gen mitokondria yang terlindung oleh membran, diturunkan dari pihak maternal dan selalu ada di dalam sel (Yuny Erwanto, Abidin, Muslim, Sugiyono, & Rohman, 2014; Jahura, Munira, Bhuiyan, Hoque, & Bhuiyan, 2016).

Hasil PCR dianalisis dengan menggunakan teknik elektroforesis DNA. Hasil visualisasi elektroforesis amplikon pada (Gambar 2) menunjukkan

bahwa keenam sampel dan kontrol gelatin babi sertagelatin sapi yang diamplifikasi menggunakan primer cyt b mampu mengamplifikasi initial region gen cytochrome b, terbukti dengan terbentuknya fragmen DNA yaitu pada ukuran 359 bp, hal ini sesuai dengan Aida dkk (2005), Kocher dkk (1989) dan Erwantodkk (2011).

Pada kontrol gelatin babi dan kontrol gelatin sapi terbentuk fragmen DNA dengan ukuran yang sama yaitu 359 bp. Terbentuknya ukuran fragmen DNA yang sama antara kontrol gelatin babi dan kontrol gelatin sapi dari hasil amplifikasi menggunakan primer cyt b disebabkan karena primer cyt b merupakan primer universal mamalia sehingga dapat mengamplifikasi DNA yang memiliki kesamaan homologi dengan DNA babi seperti sapi (Kocher et al., 1989; Parson, Pegoraro, Niederstätter, Föger, & Steinlechner, 2000).

Adanya kesamaan ukuran fragmen DNA kontrol gelatin babi dan kontrol gelatin sapi menyebabkan amplifikasi DNA kontrol gelatin babi menggunakan primer cyt b belum spesifik, sehingga keenam sampel belum bisa disimpulkan mengandung DNA babi atau tidak. Untuk meningkatkan spesifisitas DNA babi dari hasil PCR dibutuhkan metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP).

C. Polimorfisme Gen Sitokrom B

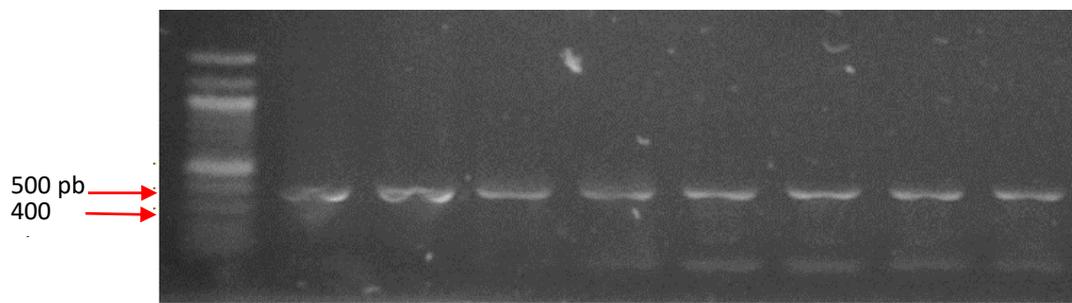
Molekul DNA tersusun atas nukleotida-nukleotida yang terangkai dalam dua pilinan pita yang saling terkait membentuk suatu bentuk yang dikenal dengan istilah *double helix*. Adanya nukleotida sebagai penyusun molekul DNA menyebabkan DNA memiliki pola tertentu yang khas antar tiap spesies. Pola-pola tersebut (polimorfisme) dimanfaatkan oleh para peneliti untuk berbagai kepentingan, diantaranya adalah penentuan kehalalan suatu produk makanan maupun obat. Salah satu metode deteksi halal yang telah dikembangkan dengan memanfaatkan polimorfisme DNA antara lain adalah *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) (Fajardo et al., 2006).

Teknik PCR-RFLP memungkinkan diketahui diferensiasi spesies meskipun spesies yang dianalisa memiliki kekerabatan yang relative cukup dekat. Hal ini dikarenakan adanya pemotongan fragmen DNA dengan menggunakan enzim restriksi tertentu. Pada Penelitian ini, enzim restriksi yang digunakan adalah BsaI yang secara spesifik akan mengenali region CCNNGG pada gen sitokrom b. Keenam sampel yang dianalisa pada Penelitian ini dapat dikatakan halal karena terdapat pola polimorfisme DNA yang berbeda dengan kontrol positif yang merupakan gen sitokrom b yang berasal dari gelatin babi. Gen sitokrom b yang berasal dari gelatin babi terpotong menjadi 2 fragmen dengan ukuran sekitar 131 pb dan 228 pb setelah dilakukan pemotongan dengan enzim BsaI. Sementara itu, hasil restriksi gen sitokrom b dari keenam sampel multivitamin kenyal dan gelatin sapi hanya menghasilkan satu fragmen DNA dengan ukuran sekitar 359 pb.

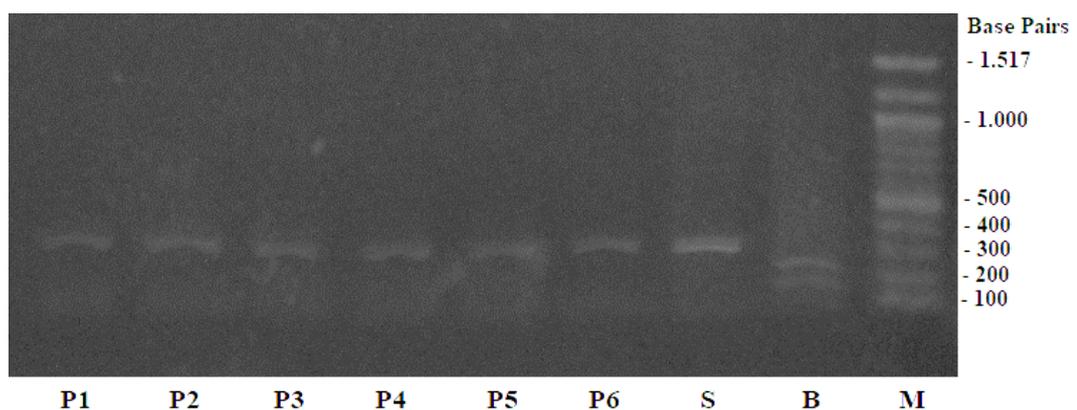
Adiningsih (2018) melakukan penelitian identifikasi daging untuk mengetahui pola perbedaan pita DNA antara babi hutan sumatera (*Sus scrota*

vittatus), babi (*Sus scrofa domestica*), dan sapi (*Bos taurus*) dengan menggunakan enam macam enzim restriksi, salah satunya adalah BsaJ I. Pada Penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa pemotongan dengan BsaJ I terhadap daging *Sus scrota vittatus* dan *S. scrofa domestica* menghasilkan 2 fragmen dengan ukuran sebesar 131 pb dan 228 pb, namun hanya muncul satu fragmen berukuran sekitar 359 pb pada sampel daging *B. taurus*. Hal yang sama juga diperoleh pada Penelitian yang dilakukan Aida (2005) yang melakukan Penelitian identifikasi halal pada daging mentah dan lemak yang berasal dari babi, ayam, domba, dan sapi.

Gambar



Gambar 1. Hasil Elektroforesis Produk PCR. M: DNA *ladder* 1 kb, K+: Kontrol Positif (Gelatin Babi), K-: Kontrol Negatif (Gelatin Sapi), A-F : Produk Suplemen Kesehatan Bertekstur Kenyal



Gambar 2. Hasil Elektroforesis RFLP. M: DNA *ladder* 1 kb, B: Kontrol Positif (Gelatin Babi), S: Kontrol Negatif (Gelatin Sapi), P1-P6 : Produk *Gummy*

Kesimpulan

Metode RFLP dapat digunakan untuk mengidentifikasi kehalalan suatu produk suplemen Kesehatan Dalam bentuk kenyal yang menggunakan gelatin sebagai salah satu komposisinya. Produk suplemen kesehatan yang digunakan pada penelitian ini tidak mengandung komponen babi yang diketahui dari adanya kesamaan ukuran fragmen DNA, pada semua sampel dengan gelatin sapi yang digunakan sebagai kontrol positif, sebagai hasil dari proses RFLP yang dilakukan pada penelitian ini

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini terlaksana berkat pendanaan penelitian yang diberikan oleh Lembaga Penelitian Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka dengan nomor surat kontrak 756/F.03.07/2019

Daftar Kepustakaan

- Abdullah Amqizal, H. I., Al-Kahtani, H. A., Ismail, E. A., Hayat, K., & Jaswir, I. (2017). Identification and verification of porcine DNA in commercial gelatin and gelatin containing processed foods. *Food Control*, 78, 297–303. <http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.024>
- Adiningsih, M. W., Soejoedono, R. D., Purnawarman, T., Latif, H., Poetri, O. N., & Putri, D. D. (2018). Authentication of Sumateran Wild Boar (*Sus scrofa vittatus*) Meat Contamination by Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Technique of Cytochrome b Gene, (December), 157–164.
- Aida, A. A., Man, Y. B. C., Wong, C., Raha, A., & Son, R. (2005). MEAT Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Sciene*, 69, 47–52. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.020>
- Burden, D. (2012). Guide to the Disruption of Biological Samples. *Random Primers*, 25(12), 1–25.
- Domb, A. J., Kost, J., Sheva, B., & Wiseman, D. M. (1997). *Edited by*. <http://doi.org/10.1097/00000433-198206000-00020>
- Erwanto, Y. (2018). Molecular Based Method Using PCR Technology on Porcine Porcine Derivative Derivative Detection Detection for for Halal Halal Authentication Authentication. In *Genotyping* (pp. 65–84). InTechOpen. <http://doi.org/10.5772/intechopen.76071>
- Erwanto, Y., Abidin, M. Z., Muslim, E. Y. P., Sugiyono, S., & Rohman, A. (2014). Identification of pork contamination in meatballs of Indonesia local market using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis. *Asian-Australasian Journal of Animal*

Sciences, 27(10), 1487–1492. <http://doi.org/10.5713/ajas.2014.14014>

- Fadhlurrahman, Wardani, A. K., & Widyastuti, E. (2015). DETEKSI GELATIN BABI PADA SOFT CANDY MENGGUNAKAN METODE PCR-RFLP SEBAGAI SALAH SATU PEMBUKTIAN Detection of Porcine Gelatin on Soft Candy Using PCR-RFLP Method as One of Halal Authentication. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 16(2), 81–88.
- Fajardo, V., González, I., López-Calleja, I., Martín, I., Hernández, P. E., García, T., & Martín, R. (2006). PCR-RFLP authentication of meats from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), roe deer (*Capreolus capreolus*), cattle (*Bos taurus*), sheep (*Ovis aries*), and goat (*Capra hircus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1144–1150. <http://doi.org/10.1021/jf051766r>
- Farouk, A. E., Batcha, M. F., Greiner, R., Salleh, H. M., Salleh, M. R., & Sirajudin, A. R. (2006). The use of a molecular technique for the detection of porcine ingredients in the Malaysian food market. *Saudi Medical Journal*, 27(9), 1397–1400.
- Jahura, F., Munira, S., Bhuiyan, A., Hoque, M., & Bhuiyan, M. (2016). Molecular detection of goat and sheep meat origin using mitochondrial cytochrome b gene. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 45(2), 41–45. <http://doi.org/10.3329/bjas.v45i2.29809>
- Kocher, T., Thomas, W., Meyer, A., Edwards, S., Paabo, S., Villablanca, F., & Wilson, A. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(August), 6196–6200.
- Kwon, K., Kang, T. S., Kim, M.-R., Jung, Y.-K., Lee, J.-H., & Jo, C.-H. (2016). Specific PCR assays to determine bovine, porcine, fish and plant origin of gelatin capsules of dietary supplements. *Food Chemistry*, 211, 253–259. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.060>
- Mutalib, S. A., Maskat, M. Y., Hassan, O., Abdullah, A., Abdullah Sani, N., Muin, N. M., & Wan Mustapha, W. A. (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), 714–719. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.006>
- Parson, W., Pegoraro, K., Niederstätter, H., Föger, M., & Steinlechner, M. (2000). Species identification by means of the cytochrome b gene. *International Journal of Legal Medicine*, 114(1–2), 23–28. <http://doi.org/10.1007/s004140000134>
- Sahilah, A. M., Fadly, M. L., Norrakiah, A. S., Aminah, A., Wan Aida, W., Ma'aruf, A. G., & Khan, M. A. (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), 371–375.

The Biotechnology Education Company ®. (2018). Principles and Practice of Agarose Gel Electrophoresis EXPERIMENT OBJECTIVE, 26. Retrieved from www.edvotek.com

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), 418–424. <http://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.04.013>