



VOLUME 1 NOMOR 1 JANUARI 2024

Diterima: 05 April 2024

Direvisi: 15 April 2024

Disetujui: 06 Mei 2024

Perbandingan Metode Isolasi DNA Konvensional (Fenol-Kloroform) dan Kit Komersil terhadap Kualitas dan Kuantitas DNA Sampel Kosmetik

Yuliana Safitri

Laboratorium Farmasi Sains dan Industri, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta
Email: 141003405@uii.ac.id

Abstract

Background: Using halal products is one of the obligations of Muslims. One of the products commonly used by the public and whose halal authentication is important to develop is collagen-based cosmetics, as their usage becomes increasingly prevalent. The possibility of contamination and mixing of collagen from non-halal sources (such as pig collagen) is quite likely, hence the need for an appropriate testing method to ensure its halal status. **Objective:** The aim of this research is to compare DNA isolation methods between conventional (phenol-chloroform) and commercial kit methods for cosmetic samples to produce abundant and high-quality DNA. **Method:** DNA from pork and beef (as positive and negative controls) as well as six cosmetic cream products were isolated using the Favorprep DNA isolation kit from Favorgen Biotech Corp and the conventional method (Phenol-Chloroform). The isolated DNA was diluted 100 times and its concentration and quality were tested using UV-Vis Spectrophotometer with absorbance readings at wavelengths of 230, 260, and 280 nm, followed by PCR amplification and visualization through gel electrophoresis. **Results:** Measurement results with UV-Vis spectrophotometer indicate that isolation using the conventional method yielded better DNA quantity and quality compared to using the kit. Furthermore, when the isolated DNA was amplified using PCR with specific primers, gel electrophoresis results showed the presence of pig DNA for raw pork samples and cosmetic creams containing pig collagen, where the fragments for DNA isolated by the conventional method were more clearly visible than those isolated by the kit method. **Conclusion:** Based on the research findings, it can be concluded that the conventional method provides DNA results with optimal concentration and quality compared to the kit used.

Keywords: Halal Authentication, DNA Isolation, Cosmetics, Collagen.

Abstrak

Latar belakang: Menggunakan produk yang halal merupakan salah satu kewajiban umat muslim. Salah satu produk yang sering digunakan masyarakat dan penting dikembangkan autentikasi halalnya adalah kosmetik berkolagen, karena produk ini semakin marak penggunaannya. Kemungkinan terjadinya kontaminasi dan pencampuran kolagen dari sumber non-halal (seperti kolagen babi) sangat bisa terjadi, untuk itu perlu sekali diperoleh metode pengujian yang tepat untuk menjamin kehalalannya. **Tujuan:** Tujuan penelitian ini yaitu untuk membandingkan metode isolasi DNA antara metode konvensional (fenol-kloroform) dan kit komersil untuk sampel kosmetik yang menghasilkan DNA dengan jumlah yang banyak dan kualitas baik. **Metode:** DNA dari daging babi dan sapi (sebagai kontrol positif dan negatif) serta enam produk krim kosmetik diisolasi menggunakan kit isolasi DNA merk Favorprep dari Favorgen Biotech Corp dan juga menggunakan metode konvensional (Fenol-Kloroform). Hasil isolasinya diencerkan 100 kali dan diuji konsentrasi dan kualitas DNANYA menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis dengan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 230, 260 dan 280 nm, diamplifikasi dengan PCR dan divisualisasi dengan elektroforesis. **Hasil:** Hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa isolasi menggunakan



metode konvensional menghasilkan kadar dan kualitas DNA lebih baik dibandingkan menggunakan kit. Apalagi ketika hasil isolasi DNA dilakukan amplifikasi dengan metode PCR dengan menggunakan primer spesifik, hasil elektroforesis menunjukkan adanya DNA babi untuk sampel daging babi mentah dan krim kosmetik yang mengandung kolagen babi dimana fragmen untuk DNA hasil isolasi metode konvensional lebih terlihat jelas dibandingkan metode kit. **Kesimpulan:** Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa metode konvensional memberikan hasil DNA dengan konsentrasi dan kualitas yang lebih optimal dibandingkan dengan kit yang digunakan.

Kata Kunci: Autentikasi Halal, Isolasi DNA, Kosmetik, Kolagen

PENDAHULUAN

Kesadaran masyarakat tentang jaminan halal untuk produk yang dikonsumsi dan digunakan mengalami peningkatan. Hal tersebut juga didukung oleh pemerintah Indonesia melalui pembentukan Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal (BPJPH) yang tertuang dalam Undang-Undang No.33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal yang bertujuan untuk memberikan keselamatan, keamanan, kenyamanan serta kepastian ketersediaan produk halal bagi masyarakat dalam mengonsumsi dan menggunakan suatu produk makanan yang dibuktikan dengan sertifikat halal. BPJPH akan mengeluarkan sertifikat halal berdasarkan fatwa halal tertulis yang dikeluarkan oleh Majelis Ulama Indonesia (MUI). Namun demikian, kemungkinan adanya cemaran produk non-halal pada produk halal masih dapat terjadi baik yang terjadi secara tidak sengaja yang mungkin terjadi selama produksi atau proses selanjutnya maupun yang secara sengaja ditambahkan untuk menurunkan biaya produksi. Oleh karena itu, pengembangan metode analisis yang mampu mendeteksi keberadaan produk non-halal pada produk halal atau pada produk yang belum berlabel halal perlu dilakukan. Universitas Islam Indonesia sebagai salah satu institusi Islam yang memiliki Laboratorium Pengujian Obat, Makanan dan Kosmetik (LPOMK) serta Pusat Halalan Thoyiban Research and Education (H-TREND) sudah seharusnya terlibat dalam terwujudnya autentikasi halal tersebut.

Kolagen memiliki peran penting dalam industri makanan, kosmetik, dan farmasi. Akan tetapi bisa menjadi masalah bagi umat muslim ketika kolagen tersebut kemungkinan dilakukan pencampuran atau terjadi kontaminasi kolagen dari sumber tidak halal (seperti kolagen babi), sehingga perlu dilakukan pengujian laboratorium untuk mengetahui kebenarannya. Identifikasi sumber bahan baku kolagen dalam kosmetik memiliki tantangan tersendiri karena bukan jaringan segar yang diuji akan tetapi sampel tersebut sudah mengalami banyak proses dan pencampuran dengan berbagai komponen dan juga penggunaan suhu tinggi yang dapat mengubah bentuk, rasa dan warna. Oleh karena itu, penggunaan metode yang sensitif, spesifik dan stabil menjadi penting untuk mencegah terjadinya hasil palsu. Metode polymerase-chain reaction (PCR) merupakan salah satu metode berbasis DNA yang sensitif dan spesifik untuk membedakan adanya cemaran spesies sehingga dapat digunakan untuk identifikasi DNA babi pada kosmetik berkolagen. Berbagai jenis PCR yang telah digunakan telah mengalami banyak kemajuan, dimulai dari PCR Konvensional menggunakan agarose, PCR-RFLP, hingga Real Time PCR (Erwanto *et al*, 2018). Metode yang telah dikembangkan oleh penulis sebelumnya di Laboratorium Universitas Islam Indonesia adalah metode Real Time PCR akan tetapi pada proses isolasinya masih mengalami hambatan dimana isolasi dilakukan dengan metode konvensional (fenol-kloroform dan metode kit) yang masih belum mendapatkan hasil isolasi maksimal yaitu DNA yang dihasilkan belum banyak dan kualitasnya belum baik (masih tercampur dengan RNA maupun protein, ditambah metode isolasi yang dilakukan baru untuk sampel daging segar dan makanan, sejauh ini belum ada penelitian terkait isolasi terhadap sampel kosmetik terutama kolagen dalam kosmetik. Sehingga penelitian ini penting sekali untuk dilakukan agar didapatkan metode isolasi yang paling optimum yang menghasilkan DNA kolagen babi dari kosmetik dengan jumlah yang banyak dan kualitas baik sehingga perlu dilakukan optimasi dengan membandingkan antara metode konvensional dan kit yang lebih efektif.



METODE PENELITIAN

1. Deskripsi Bahan dan Teknik Pengumpulan Sampel

Bahan/objek uji yang digunakan pada penelitian ini meliputi daging sapi dan babi segar sebagai kontrol positif dan negatif yang dibeli dari salah satu supermarket di Sleman, serta enam macam kosmetik berkolagen yang dibeli dari toko online. Satu produk dinyatakan mengandung kolagen babi, satu produk dinyatakan mengandung kolagen sapi, satu produk halal, sedangkan tiga lainnya tidak dicantumkan sumber kolagennya. Keenam produk tersebut meliputi Pigskin Collagen Nourising Mask, Bovine collagen, Day dan Night Cream Collagen Malaysia serta Eye Mask.

2. Penjelasan mengenai deskripsi jalannya penelitian

Penentuan Kualitas dan Kuantitas dari Hasil Isolasi DNA Kosmetik dilakukan dengan membandingkan dua metode isolasi DNA yaitu secara konvensional menggunakan metode fenol-kloroform dan menggunakan kit komersil. Hasil isolasi dikuantifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV 1780 serta diamplifikasi dengan PCR dan divisualisasi menggunakan elektroforesis dengan sinar UV.

3. Isolasi DNA

a. Isolasi DNA menggunakan metode konvensional (fenol-kloroform)

Tahap awal adalah dengan menimbang 2 gram sampel daging dan kosmetik kemudian digerus dengan mortir dan stamper hingga hancur sehingga lebih mudah dilisiskan. Buffer Lysis ditambahkan sebanyak 2-3 ml kedalam masing-masing sampel hingga sampel tidak terlalu kental, kemudian digerus kembali. Sampel yang telah hancur ditempatkan pada tabung konikal dan kemudian dicampur dengan menggunakan vortex, Proteinase K ditambahkan sebanyak 50 μ L untuk menghilangkan protein yang terdapat pada sampel, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Campuran diinkubasi pada 56°C selama dua jam menggunakan inkubator shaker untuk melisiskan membran sel hingga jaringan benar-benar lisis. Setelah inkubasi selama 2 jam, campuran sampel disentrifuge 3000 rpm selama 20 menit, kemudian supernatan yang terbentuk dimasukkan kedalam tabung konikal baru. Kloroform ditambahkan dengan perbandingan (1:1) dengan tujuan untuk melisiskan membran sel, mengendapkan komponen polisakarida yang mengkontaminasi DNA, dan memecahkan protein-protein seperti endonuklease yang bekerja untuk memotong-motong untai DNA. Campuran sampel dishake dengan alat shaker selama 15 menit dan disentrifuge 3000rpm selama 20 menit. Setelah disentrifuge, supernatan dimasukan kedalam mikrotube 1,5 mL. Selanjutnya, ditambahkan etanol absolut dengan perbandingan (1:1) untuk terjadi dehidrasi DNA sehingga terbentuknya presipitasi, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 12000 rpm selama 5 menit. Etanol absolut ditambahkan kembali dengan perbandingan (1:1) untuk mencuci benang-benangnyanya atau peletnya dan kemudian disentrifuge dengan kecepatan 12000 rpm selama 5 menit. Masing-masing mikrotube kemudian dibalik untuk mengkeringkan peletnya selama 2 jam. Buffer TE sebanyak 100 μ L ditambahkan ke dalam mikrotube untuk melarutkan DNA yang dihasilkan dan dapat menjaga DNA untuk tidak mudah rusak. Penyimpanan DNA untuk jangka panjang pada suhu -20°C.

b. Isolasi DNA dengan Kit FavorPrap

Proses isolasi DNA kontrol yaitu daging dan sampel kosmetik masing-masing dihancurkan terlebih dahulu menggunakan mortir dan stamper hingga halus kemudian ditimbang sebanyak 200 mg dan pindahkan ke dalam tabung mikrosentrifuge 2,0 mL. Tambahkan 1 mL Lysis Buffer dan homogenkan dengan bantuan micropestle. Ditambahkan 30 μ L Proteinase K dan diaduk rata dengan vortex. Diinkubasi campuran sampel pada suhu 56°C selama 2 jam menggunakan inkubator shaker. Dinginkan campuran sampel hingga suhu kamar dengan menginkubasi dalam kulkas selama 5 menit. Disentrifuge dengan kecepatan 2.500 rpm selama 5 menit. Pindahkan 700 μ L supernatan ke tabung microcentrifuge 2,0 mL. Pada beberapa makanan, campuran sampel akan membentuk tiga fase setelah sentrifugasi. 700 μ L total fase tengah dipindahkan ke tabung microcentrifuge 2,0 mL. Ditambahkan 500 μ L kloroform dan vortex selama 1 menit. Sentrifuge campuran sampel pada 14.000 rpm selama 15 menit. Dipindahkan 350 μ L lapisan atas yang

terbentuk kedalam tabung mikrosentrifuge 2,0 mL dan tambahkan 350 µL Binding Buffer, kemudian vortex selama 10 detik. Selanjutnya dipasangkan Binding Column dengan Collection Tube. Pindahkan campuran sampel ke dalam Binding Column. Sentrifugasi pada 11.000 x g selama 30 detik. Buang cairan pada Collection Tube dan pasangkan kembali Binding Column pada Collection Tube. Tambahkan 700 µL Wash Buffer (ditambahkan 4 mL etanol 96%) ke Binding Column. Sentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik. Buang cairan pada Collection Tube dan pasangkan kembali Binding Column pada Collection Tube. Sentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 3 menit untuk mengeringkan Binding Column. Pasangkan Binding Column dengan tabung microcentrifuge 1,5 mL. Tambahkan 100 µL Elution Buffer yang telah dipanaskan sebelumnya ke Binding Column. Diamkan Binding Column selama 1 menit pada suhu kamar. Sentrifuge dengan kecepatan 14.000 x g selama 1 menit untuk mengelusi DNA. DNA yang telah berhasil dielusi disimpan pada suhu -20°C.

4. Kuantifikasi dan Kemurnian DNA

Kualitas dan kuantitas DNA yang diisolai ditentukan dengan spektrofotometri UV-Vis. Pertama, kuvet dibersihkan terlebih dahulu dengan aquades serta dilakukan uji blanko menggunakan aquades. Pengenceran DNA dilakukan sebanyak 100x dengan cara sampel DNA 5µl ditambahkan dengan 495µl aquades. Pengukuran absorbansi masing-masing DNA dilakukan pada panjang gelombang 230, 260nm dan 280nm. DNA dinyatakan dalam kualitas baik jika rasio absorbansi 260/280 berada pada rentang 1,8 – 2,0 dan 260/230 2 - 2,2. DNA/RNA akan memiliki serapan pada panjang gelombang 260 nm, sementara senyawa kimia sebagai kontaminan pada panjang gelombang 230 nm dan protein memiliki serapan pada 280 nm. Konsentrasi DNA dalam tiap mL dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$Konsentrasi\ DNA\ (\mu g/mL) = A_{260} \times fp \times 50\ \mu g/mL$$

Keterangan:

A_{260} = Absorbansi pada panjang gelombang 260 nm

fp = Faktor pengenceran

50 = koefisien asam nukleat DNA tiap absorbansi pada 260 nm (µg/mL)

5. Amplifikasi DNA dengan Polymerase Chain Reaction (PCR).

DNA hasil isolasi kemudian diamplifikasi dengan PCR menggunakan kit. Komponen reaksi PCR dapat dilihat pada Tabel 1. DNA babi murni digunakan sebagai kontrol positif sedangkan DNA sapi murni digunakan sebagai kontrol negatif. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan primer spesifik babi, diprogram untuk melakukan langkah pra denaturasi 95,5°C 1 menit, denaturasi 95,5°C selama 15 detik, diikuti 35 siklus yang terdiri dari 30 detik pada 57,9 °C (annealing), 30 detik 72 °C (extention), 5 menit 72 °C (post extention) dan 4 °C untuk pemeliharaan.

Tabel 1. Komponen Reaksi PCR

No.	Komponen	Volume tiap komponen dalam 25 µL campuran PCR, (µL)
1	Powerpol 2x PCR	12,5
2	Primer Forward	0,5
3	Primer Reverse	0,5
4	DNA	3
5	WFI	8,5

6. Analisis Kualitatif DNA dengan Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan untuk visualisasi hasil PCR. Produk PCR dimasukkan dalam sumuran gel agarosa 1,5% yang dicampur dengan staining dalam buffer TBE yang dilanjutkan dengan proses elektroforesis pada tegangan konstan (100 V) selama 30 menit. DNA ladder 100 bp digunakan sebagai acuan ukuran. Gel agarosa kemudian dibaca di bawah sinar UV untuk kemudian diambil gambarnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi DNA secara konvensional dan kit

Isolasi DNA dari daging babi dan sapi yang dilakukan secara konvensional menggunakan metode fenol-kloroform dipilih karena metode ini cukup mudah dilakukan dengan bahan yang tidak terlalu banyak dan memakan waktu untuk dibuat, ditambah pada penelitian sebelumnya juga pernah dilakukan isolasi DNA dengan metode fenol-kloroform yang dilakukan untuk sampel daging dan olahannya sehingga perlu juga dioptimasi metode fenol kloroform ini untuk kolagen pada kosmetik, sedangkan Kit FavorPrap dipilih karena kit ini banyak digunakan sebagai pengujian di LPOMK UII yang akan mendukung terciptanya lembaga penjamin halal (Istikharah . Akan tetapi kit yang ada cenderung untuk sampel makanan maupun darah, kit yang secara spesifik digunakan untuk mengisolasi DNA dari kosmetik belum ada sehingga perlu dikembangkan, apalagi bahan yang ditambahkan ke dalam kosmetik berupa kolagen yang bukan merupakan komponen utama dari daging.

Masing-masing sampel diisolasi menggunakan metode konvensional dan kit isolasi DNA merk Favorprep dari Favorgen Biotech Corp. Dalam melakukan isolasi DNA, tahapan lisis merupakan salah satu bagian yang memiliki peranan penting dalam mendukung keberhasilan proses isolasi DNA (Shopian, 2022). Pada tahapan lisis ini yang sangat berperang adalah enzim proteinase K dimana enzim ini aktif bekerja pada suhu 55-70°C Beberapa penelitian menunjukkan masa inkubasi proteinase K yang bervariasi berkisar antara 30 menit sampai 3 jam (Santos *et al*, 2018). Pada penelitian ini digunakan suhu inkubasi 56°C dengan waktu inkubasi selama 2 jam. Hal ini didasarkan pada protokol dalam kit yang digunakan. Sampel DNA yang diperoleh dari proses isolasi selanjutnya dikuantifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sampel yang akan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis terlebih dulu diencerkan sebanyak 100 kali menggunakan WFI, hal ini bertujuan untuk bisa menggunakan sedikit sampel tetapi bisa memenuhi batas minimal volume yang bisa dibaca di alat. Kuantifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada rasio panjang gelombang 260/230 serta 260/280 yang menunjukkan nilai kemurnian dari hasil isolasi DNA. Menurut (Dewananta & Mushlih, 2021) kemurnian DNA yang baik berada pada rentang 1,8 sampai dengan 2,2 yaitu berada pada rentang 1,8-2 pada rasio absorbansi 260/280 serta berada pada rentang 2-2,2 pada rasio 260/230. Hasil pengukuran kemurnian DNA sampel yang telah diisolasi baik secara konvensional maupun menggunakan kit dapat di lihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kemurnian DNA

No.	Nama Sampel	Kit		Konvensional	
		A 260/230	A 260/280	A 260/230	A 260/280
1	Daging babi	2,04	1,937	2,044	1,918
2	Daging sapi	2,026	1,927	2,100	1,957
3	Kolagen Sapi	2,196	1,931	2,167	2,080
4	Masker Kolagen babi	2,054	1,885	2,032	2,065
5	Krim malam Collagen	2,306	1,804	2,124	1,879
6	Krim siang Collagen	2,581	1,820	2,026	1,927
7	Collagen Night cream	2,244	1,906	2,483	2,041
8	Collagen eye cream	2,575	1,839	2,028	2,057

Berdasarkan Tabel 2. Secara umum hasil kemurnian DNA yang diperoleh dari DNA yang diisolasi menggunakan metode konvensional maupun kit cukup baik yaitu berada pada rentang 1,8-2 untuk rasio pada panjang gelombang 280/260 dan pada rentang 2-2,2 pada rasio panjang gelombang 260/230, hanya saja untuk sampel kosmetik yang berbentuk krim masih memiliki kemurnian yang belum sesuai pada panjang gelombang 260/230, hal ini menunjukkan masih ada kontaminan dari protein dan polisakarida atau RNA (Dewananta & Mushlih, 2021). Kontaminasi ini kemungkin



disebabkan karena kit yang digunakan belum spesifik untuk mengisolasi produk kosmetik berbasis kolagen yang umumnya hadir dalam bentuk protein. Ada dugaan bahwa karena krim kosmetik adalah produk yang diproses secara intensif, seperti halnya krim tersebut hanya mengandung sejumlah kecil DNA yang sangat terdegradasi. Selain itu, sampel yang digunakan mengandung bahan kolagen dari kulit babi yang terdapat dalam bentuk struktur molekul terkecil. Protein kolagen merupakan protein struktural matriks ekstraseluler yang terdapat pada kulit, tendon, dan tulang tubuh vertebrata. Ia ada di dalam tubuh dalam struktur makromolekul yang tidak larut dan bergabung dengan proteoglikan, glikoprotein, dan lain-lain. Selain itu hal ini mungkin disebabkan oleh pemrosesan sampel yang berlebihan sehingga perlu modifikasi dari prosedur kerjanya agar diperoleh hasil kemurnian yang sesuai.

Hasil perhitungan konsentrasi DNA hasil kuantifikasi dapat dilihat pada Tabel 3.

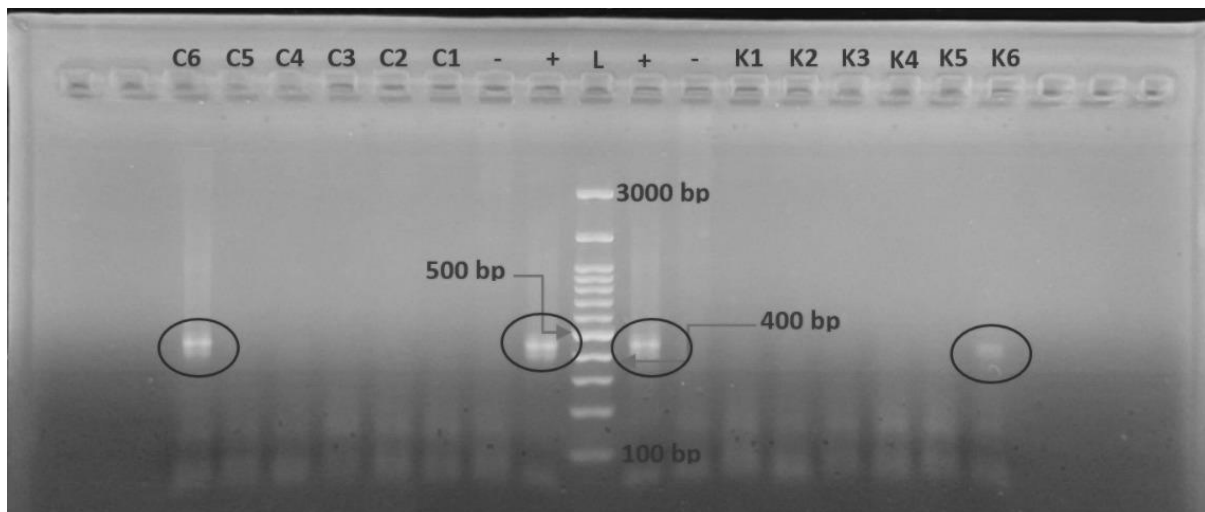
Tabel 3. Konsentrasi DNA hasil perhitungan

No.	Nama Sampel	Conc DNA (mg/mL)	
		Kit	Konvensional
1	Daging babi	765	844
2	Daging sapi	790	861
3	Kolagen Sapi	560	780
4	Masker Kolagen babi	575	640
5	Krim malam Collagen	415	545
6	Krim siang Collagen	555	790
7	Collagen Night cream	505	745
8	Collagen eye cream	515	720

Tabel 3 menunjukkan bahwa DNA yang dihasilkan keseluruhan sampel kuantitasnya sudah cukup baik dimana berdasarkan teori hasil DNA yang dikuantifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dikatakan baik bila konsentrasi DNA yang diperoleh lebih dari 100 µg/mL (Latif & Osman, 2017). Hasil perhitungan konsentrasi DNA yang diperoleh dari proses isolasi DNA menggunakan kit menghasilkan DNA dari daging segar sebanyak 765 dan 790 mg/mL sedangkan untuk sampel kosmetik berada pada kisaran 415 sampai 575 mg/mL. Hasil isolasi DNA secara konvensional (fenol-kloroform) menunjukkan hasil lebih besar yaitu untuk daging segar sebesar 844 dan 861 mg/mL serta sampel kosmetik sebesar 545 sampai dengan 780 mg/mL. Hasil isolasi menggunakan kit lebih sedikit dibandingkan dengan hasil DNA yang diisolasi menggunakan cara konvensional hal ini kemungkinan disebabkan kit yang digunakan belum spesifik untuk mengisolasi DNA dari kolagen pada kosmetik. Konsentrasi DNA dari daging babi dan sapi murni secara keseluruhan lebih tinggi dibandingkan dengan sampel kosmetik berkolagen hal ini menunjukkan pemrosesan sampel sangat berpengaruh terhadap hasil DNA yang diperoleh.

2. PCR dan Elektroforesis

DNA hasil isolasi yang diperoleh diamplifikasi menggunakan alat PCR konvensional sebagai template. Salah satu metode amplifikasi DNA yaitu PCR menggunakan prinsip dimana siklus dan pengaturan suhu dibantu oleh enzim polimerase dan primer spesifik. Hasil PCR yang diperoleh dianalisis menggunakan elektroforesis serta divisualisasikan menggunakan sinar *UV-trasiluminator*. Berdasarkan primer BLAST yang digunakan seharusnya hasil PCR ketika dielektroforesis akan menghasilkan produk dengan panjang 396 bp. Hasil elektroforesis yang sudah divisualisasi dengan lampu UV dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk PCR pada gel agarose 1.5%

Keterangan: L [ladder 100bp], + [kontrol positif], - [kontrol negatif], K1-K6 [sampel 1-6 diisolasi dengan kit], C1-C6 [sampel 1-6 diisolasi dengan cara konvensional]

Hasil elektroforesis dari penelitian ini menunjukkan kontrol positif memiliki fragmen yang hampir sejajar dengan ladder 400 bp, sedangkan kontrol negatif tidak terlihat adanya fragmen. Primer spesifik d-loop region Babi yang digunakan pada penelitian ini menghasilkan fragmen pada 496 bp, hal ini menunjukkan ada perbedaan panjang fragmen 100 bp antara hasil penelitian dengan primer-BLAST yaitu 396 bp. Hal ini bisa disebabkan karena DNA mitokondria D-loop region memiliki laju mutasi yang tinggi sehingga merubah urutan basa nukleotida yang menyebabkan perbedaan interspesies dan intraspesies (Mustafa et al (2016). Meskipun memiliki panjang yang berbeda akan tetapi primer spesifik D-loop region babi ini dapat membedakan dengan jelas antara DNA babi dan sapi. Hasil pembacaan menunjukkan bahwa dari semua sampel kosmetik yang diuji dapat diketahui bahwa produk berkolagen babi menghasilkan fragmen yang sesuai dengan kontrol positif baik ketika diisolasi secara konvensional maupun menggunakan kit, akan tetapi untuk yang diisolasi menggunakan kit memiliki fragmen yang kurang jelas dibandingkan dengan yang diisolasi menggunakan cara konvensional. Hal ini sesuai karena hasil isolasi menggunakan kit menunjukkan kadar DNA yang lebih sedikit dibandingkan cara konvensional. Tidak adanya fragmen yang muncul menunjukkan bahwa tidak terjadinya proses penempelan antara DNA *template* dengan primer, sehingga proses amplifikasi tidak bisa terjadi. Fragmen yang tidak muncul bisa juga disebabkan karena primer yang digunakan tidak cocok dengan DNA *template*, karena ditemukannya perbedaan satu pasang basa akan menyebabkan ketidaksesuaian primer dan amplifikasi tidak bisa terjadi (Hanum *et al*, 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa metode konvensional (fenol-Kloroform) memberikan hasil DNA dengan konsentrasi dan kualitas yang lebih optimal dibandingkan dengan kit yang digunakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (DPPM) UII selaku pemberi dana hibah dengan nomor kontrak 002/Dir/DPPM/70/Pen.Laboran/III/2022.

**DAFTAR PUSATAKA**

- Amin R, Helali MOH, Ibrahim M, Karim MR, Rahman MZ, Jahan I, Hilary LN, Leong MC, Sarker MMH, Al Amin M, Rahman MM, Al Masud A. Detection of Porcine DNA in Formulated Feeds by Real-Time Polymerase Chain Reaction Based on Taqman Probe. *angladesh Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 2017; 1(2): XX-XX.
- Dewanta, P.A. & Mushlih, M. (2021). Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*. Vol 5 No DOI: 10.21070/ijins.v15i.5531
- DjurkIn kušec I, Samac D, Margeta V, Radišić Z, Vincek D, and Kušec G. Efficiency of PCR-RFLP and Species-specific PCR for the Identification of Meat Origin in Dry Sausages. *Czech J. Food Sci.*, 35, 2017 (5): 386–391
- Ebeling W, Hennrich N, Klockow M, Metz H, Orth HD, Lang H. Proteinase K from *Tritirachium album* Limber. *Eur J Biochem*. 1974 Aug;47(1):91–97.
- Erwanto Y., Abidin MZ, Sugiyono, EYPM, Rohman A., 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 (AJAS)* 2014;27 (10):1487-1492.
- Erwanto, Y., Rohman, A., Arsyanti, L. and Pranoto, Y. Identification of pig DNA in food products using polymerase chain reaction (PCR) for halal authenticationa review. *International Food Research Journal* 25(4): 1322-1331 (August 2018).
- Giacomazzi, S., Lerol, F., Joffraud, J.J., 2005. Comparison of three methods of DNA extraction from cold-smoked salmon and impact of physical treatments. *Journal of Applied Microbiology*. 98, 1230–1238.
- Guan F, Jin Y, Zhao J, Xu A, and Luo Y. A PCR Method That Can Be Further Developed into PCR-RFLP Assay for Eight Animal Species Identification. *J Anal Methods Chem*. 2018; 2018: 5890140.
- Hanum, L., Windusari, Y., Setiawan, A., Adriansyah, F. and Mubarak, A.A. (2018). Comparison of CTAB Method and Wizard Genomic DNA Purification System Kit from Promega On DNA Isolation Of Local Varieties Of Rice Of South Sumatera. *Science and Technology Indonesia*, 3(1), 26-29. [https:// doi.org/10.26554/sti.2018.3.1.26-29](https://doi.org/10.26554/sti.2018.3.1.26-29)
- Ilhak, OI and Arslan A. Identification of Meat Species by Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2007; 31(3): 159-163.
- Istikharah, R., Ningrum, V.D.A., & Gemantari, B.M. (2018). Primer Design Using Polymerase Chain Reaction for SNPs Analysis in SLC22A1 rs622342 Encoding OCT1 as Metformin Main Transporter. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*. Vol 8. 52-58.
- Jimyeong Ha, Sejeong Kim, Jeeyeon Lee, Soomin Lee, Heeyoung Lee, Yukyung Choi, Hyemin Oh, and Yohan Yoon. Identification of Pork Adulteration in Processed Meat Products Using the Developed Mitochondrial DNA-Based Primers. *Korean J Food Sci Anim Resour*. 2017; 37(3): 464–468.
- Latif, A.A & Osman, G., (2017). Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize. *Journal of National Library of Medicine*. PMID: PMC5209869. 10.1186/s13007-016-0152-4
- Mane BG, Mendiratta SK, Raut AA and Tiwari AK. CR-RFLP assay for identification of species origin of meat and meat products. *Journal of Meat Science and Technology* 2014 (2): 2 Pages 31-36.
- Mustafa, H., Rachmawati, I. & Udin, Y. 2016. Genomic DNA Concentration and Purity Measurement of *Anopheles barbirostris*. *Jurnal Vektor Penyakit*, Vol. 10 No. 1, 2016: 7–10
- Nadha, Chairunnisa. 2020. Kolagen dan Gelatin dalam Produk Halal. LPPOM MUI. Jakarta



- Orbaniyah S, Widada H, Hermawan A, Sudjadi S, Rohman A. Application of real-time polymerase chain reaction using species specific primer targeting on mitochondrial cytochrome-b gene for analysis of pork in meatball products. *J Adv Vet Anim Res*. 2019 Jun; 6(2): 260–265.
- Pegels N, González I, Fernández S, García T, Martín R. Sensitive detection of porcine DNA in processed animal proteins using a TaqMan real-time PCR assay. *Food Addit Contam Part a Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2012;29(9):1402-12.
- Pemerintah Indonesia. 2014. Undang-undang Republik Indonesia Nomor 33 Tahun 2014 Tentang Jaminan Produk Halal. Sekretariat Negara, Jakarta.
- Ressman, A., Garcia, E. G., Khlan, D., Gaertner, P., Mach, R. L., Krska, R., Brunner, K., Bica, K., 2015, Fast and efficient of DNA extraction from meat and meat derived products using aqueous ionic liquid buffer system, *New J. Chem*, 39:4994.
- Santos ALF, Oliveira CQP, Arruda GNPN, Martins JK. Comparison of DNA extraction using proteinase K and extraction kit: analysis of the quality of the genetic material. *J Bras Patol e Med Lab*. 2018;54(2).
- Shopian, A. dan Yustina. 2022. Analisis Nilai Kemurnian DNA Menggunakan Nano Fotometer pada Rasio 260/230 yang Diisolasi dari Produk Nugget. *Muhammadiyah Journal of Nutrition and Food Science*. Vol 3 No. 2: 82-86
- Tanabe S, Hase M, Yano T, Sato M, Fujimura T and Akiyama H. A Real-Time Quantitative PCR Detection Method for Pork, Chicken, Beef, Mutton, And Horseflesh in Foods. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71 (12), 3131–3135, 2007.
- Werdyani, S., Wibowo, A., Suri, D. Y. I., Putri, A. A., Maharani, A. D., 2018, Identification of Pig DNA in Beef Burgers, Meatballs, and Sausage using Real-time Polymerase Chain Reaction, dipresentasikan pada International Conference on Pharmaceutical Research and Pharmacy Practice Tahun 2018 di Yogyakarta.
- Zabidi, A.R., et al. 2019. Screening porcine DNA in Collagen Cream Cosmetik Product. *Journal Food Research* 4 (Suppl.1): 151-156.