



OPTIMIZATION OF DEOXYRIBONUCLEIC ACID (DNA) ISOLATION METHODS FROM SEVERAL TYPES OF COSMETIC SAMPLES FOR MOLECULAR-BASED HALAL TESTS

OPTIMASI METODE ISOLASI DEOXYRIBONUCLEIC ACID (DNA) DARI BEBERAPA JENIS SAMPEL KOSMETIK UNTUK UJI HALAL BERBASIS MOLEKULER

Received: 17/01/2023; Revised: 12/05/2023; Accepted: 07/06/2023; Published: 30/06/2023

Nafisa Arini, Afifatul Achyar*

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Corresponding author: afifatul.achyar@fmipa.unp.ac.id

ABSTRACT

For a Muslim, the halal status of a food or non-food product must be fulfilled absolutely, as well as cosmetic products. The critical point for the halal status of a cosmetic product is the possibility of using pig-derived ingredients such as gelatin, fatty acids, glycerin and collagen which are very commonly used in the manufacture of cosmetic products. This study aims to optimize the DNA isolation method on several cosmetic samples for molecular-based halal testing. The research was carried out in three stages, namely DNA extraction, rt-PCR amplification, and visualization with agarose gel electrophoresis. The optimization of DNA isolation was carried out using three methods, using the QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) commercial DNA isolation kit, isolation with phenol-chloroform GENEzol™ (Geneaid) solution, and using 10% Chelex-TE resin mixture. The results showed that colorless cosmetic products with liquid characteristics such as facial toners were suitable for isolation using all three methods. Colorless cosmetic products with gel characteristics such as exfoliator gels are suitable for isolation using the QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN). Meanwhile, colored cosmetic products such as liquid lipstick or lip stain are suitable for isolation using the QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) and Genezol™ (Geneaid) methods. The results of the rt-PCR amplification showed that the cosmetic sample contained animal DNA contamination, which could be cows, pigs or mice.

Keywords: Optimization of DNA Isolation, Halal, Cosmetics, rt-PCR

ABSTRAK

Bagi seorang muslim, status halal suatu produk pangan maupun non-pangan harus terpenuhi secara mutlak, begitu juga dengan produk kosmetik. Titik kritis status kehalalan suatu produk kosmetik adalah adanya kemungkinan penggunaan bahan dasar yang berasal dari babi seperti gelatin, asam lemak, gliserin dan kolagen yang sangat umum digunakan dalam pembuatan kosmetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengoptimasi metode isolasi DNA pada beberapa sampel kosmetik untuk uji halal berbasis molekuler. Penelitian dilakukan dalam tiga tahap, yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi dan analisis rt-PCR, dan visualisasi dengan media elektroforesis gel agarose. Optimasi isolasi DNA dilakukan dengan tiga metode yaitu menggunakan kit isolasi DNA komersial QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN), isolasi dengan larutan phenol-chloroform GENEzol™ (Geneaid), dan menggunakan campuran resin Chelex-TE 10%. Hasil menunjukkan bahwa produk kosmetik dengan karakteristik cair tidak berwarna seperti toner wajah cocok diisolasi menggunakan ketiga metode. Produk kosmetik dengan karakteristik berbentuk gel tidak berwarna seperti gel eksfoliator cocok diisolasi dengan QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN). Sedangkan produk kosmetik berwarna seperti lipstick cair atau lip stain cocok diisolasi dengan metode QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) dan Genezol™ (Geneaid). Hasil uji amplifikasi dengan rt-PCR menunjukkan bahwa di dalam sampel kosmetik tersebut terdapat kontaminasi DNA hewan yang mungkin adalah DNA sapi, babi, atau tikus.

Kata Kunci: Modal Spiritual, Pola Pikir, Perilaku

How to cite: Arini, M., and Achyar, A. 2023. Optimasi Metode Isolasi *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) Dari Beberapa Jenis Sampel Kosmetik Untuk Uji Halal Berbasis Molekuler. *Journal of Halal Product and Research*. 6(1), 1-10, <https://dx.doi.org/10.192501/jhpr.vol.6-issue.1.1-10>

PENDAHULUAN

Dewan Perwakilan Rakyat (DPR) Republik Indonesia dan Presiden Republik Indonesia telah menetapkan undang-undang tentang Jaminan Produk Halal atau yang disingkat dengan JPH bahwa produk-produk yang masuk, beredar, dan diperdagangkan di wilayah Indonesia wajib bersertifikat halal. Sertifikat Halal adalah bukti diakuinya status halal suatu produk yang diberikan oleh Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal (BPJPH) berdasarkan fatwa halal Majelis Ulama Indonesia (MUI). Dalam memproses sertifikasi halal, bukan hanya bahan-bahan yang digunakan saja yang dikaji dan diteliti, tetapi mencakup penyediaan bahan, pengolahan, penyimpanan, pengemasan, pendistribusian, penjualan dan penyajian produk (UU RI No. 33 Pasal 4, 2014).

Bagi seorang muslim, status halal suatu produk non-pangan seperti produk kosmetik maupun obat-obatan harus terpenuhi secara mutlak. Produk yang beredar di pasaran harus terbebas dari kandungan babi beserta turunannya dan bahan lain yang menyebabkan produk tersebut menjadi tidak halal. Indonesia adalah negara dengan mayoritas penduduk beragama islam dengan jumlah populasi setara dengan 86,7% dari total penduduk (Nasreddin, 2022). Gaya hidup yang mementingkan status halal dari suatu produk yang akan digunakan adalah salah satu hal yang dipengaruhi oleh tingginya jumlah penduduk beragama islam di Indonesia. Isu mengenai status halal suatu produk sudah menjadi perhatian publik, hal ini tidak terbatas untuk produk pangan saja namun juga untuk produk non-pangan seperti obat-obatan hingga kosmetika. Oleh karena itu pemerintah menerbitkan undang-undang yang dapat menjamin status halal dari suatu produk hingga produk tersebut sampai ke tangan konsumen (Widayat *et al.*, 2019).

Kosmetik terdiri dari berbagai bahan termasuk air, minyak, surfaktan, polimer, pelarut organik, pewarna, protein, vitamin, ekstrak tumbuhan, pengawet, dan antioksidan (Iwata & Shimada, 2013). Dengan campuran bahan yang kompleks dalam produk kosmetik, produsen kosmetik harus secara kritis mengevaluasi bahan dan sumber yang sesuai sebelum pengembangan dan produksi. Sumber bahan yang dimaksudkan untuk pengembangan dan pembuatan kosmetik halal memainkan peran penting dalam hasil dan kinerja produk secara keseluruhan. Produsen bertanggung jawab sebagai regulator untuk mendukung keamanan bahan produk kosmetik halal (Dent *et al.*, 2018).

Produk kosmetik yang mengandung bahan-bahan yang berasal dari hewan disebut dengan istilah *zooceuticals* (Cristiano & Guagni, 2022). Titik kritis untuk status halal suatu produk kosmetik adalah beberapa bahan yang dapat berasal dari babi seperti gelatin (Aris *et al.*, 2020), asam lemak, gliserin dan kolagen. Beberapa bahan tersebut adalah bahan yang paling umum ditemukan dalam produk kosmetik seperti *body lotion*, krim dan masker wajah (Yorgancioglu & Bayramoglu, 2013) yang sudah umum tersebar di pasaran.

Berbagai metode analisis dapat digunakan untuk mengidentifikasi unsur haram dalam produk halal. Metode seperti, *electronic nose* (e-nose), *gas chromatography* (Nurjuliana *et al.*, 2011), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Al-Rashood *et al.*, 1995; Von Bargaen *et al.*, 2014), *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) *Spectroscopy* (Siciliano *et al.*, 2013), dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Wijaya *et al.*, 2022) dapat digunakan untuk mendeteksi bahan hewani yang tersembunyi dalam produk pangan seperti lemak dan protein. Deteksi komponen tertentu dalam produk akhir bergantung pada metode analisis yang digunakan, karena berbagai komponen dapat dimodifikasi atau didegradasi dengan perlakuan termal, fisik, atau kimia selama proses produksi. DNA adalah materi yang relatif stabil jika diberikan berbagai perlakuan fisik dan kimia selama proses pembuatan makanan. Bahan baku produk pangan atau kosmetik yang berasal dari hewan atau tumbuhan umumnya tidak dimurnikan lebih lanjut karena memerlukan biayanya yang tinggi, sehingga besar kemungkinan produk akhir terkontaminasi DNA spesifik spesies (Kim *et al.*, 2018). Dalam metode untuk identifikasi unsur haram, dalam hal ini adalah bahan yang berasal dari babi juga turunannya, diperlukan metode yang dapat secara spesifik mendeteksi keberadaan bahan tersebut di dalam suatu produk.

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan variasinya adalah metode standar dan paling umum digunakan. Meskipun PCR adalah teknik molekuler dasar, berbagai metode deteksi dapat



dikembangkan darinya. PCR adalah suatu teknik yang digunakan untuk mengamplifikasi *Deoxyribonucleic acid* (DNA). Pengujian menggunakan metode PCR telah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya, seperti digunakan untuk mendeteksi bakteri patogen dalam air minum isi ulang (Achyar *et al.*, 2021; Putri *et al.*, 2021), identifikasi pemalsuan produk olahan daging (Balía *et al.*, 2014), mendeteksi kandungan babi dan sapi pada campuran gelatin (Cai *et al.*, 2012), dan juga digunakan dalam penelitian untuk mendeteksi kandungan babi pada pelarut farmasi dan produk obat-obatan (Husni *et al.*, 2017).

PCR adalah metode yang cepat, akurat, dan sangat sensitif yang dapat secara selektif mengamplifikasi sejumlah kecil DNA target yang ada dalam produk menggunakan primer spesifik spesies. Salah satu jenis metode pendeteksi komponen babi dan turunannya berbasis DNA adalah dengan menggunakan real time PCR (rt-PCR). Metode deteksi dengan *real time* PCR (rt-PCR) memberikan hasil dengan lebih cepat, lebih sensitif, lebih akurat, dan kuantitatif jika dibandingkan dengan PCR konvensional karena adanya tambahan *probe fluorescent* (Kim *et al.*, 2018).

Metode deteksi DNA babi menggunakan PCR pada pangan dan obat-obatan telah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya, sementara itu penelitian mengenai deteksi DNA babi dari produk kosmetik masih minim sehingga perlu dilakukan pengembangan analisis. Salah satu faktor penentu keberhasilan teknik PCR dalam mendeteksi adanya bahan yang berasal dari babi pada suatu produk adalah pada kualitas dan kuantitas DNA template. Kompleksitas komposisi produk dan teknik pengolahan kosmetik akan berpengaruh pada hasil DNA yang diekstraksi. Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas maka pada penelitian bertujuan untuk mengoptimasi metode isolasi DNA pada beberapa jenis sampel kosmetik untuk uji halal berbasis molekuler.

MATERIAL

Penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian deskriptif yang dilakukan di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Sampel yang digunakan adalah sampel kosmetik yang beredar dengan luas dipasaran yang dipilih secara acak. Keterangan lebih lanjut mengenai sampel kosmetik yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagaimana yang dijelaskan dalam tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Sampel Kosmetik yang digunakan

KODE SAMPEL	JENIS PRODUK	KARAKTERISTIK	MEREK
L5	<i>Make up</i> , Lip Tint/ Lipstik Cair	Merah, cair > Gel	Merek A
L6	<i>Make up</i> , Lip Tint/ Lipstik Cair	Merah, cair > Gel	Merek B
T2	<i>Skin care</i> , Toner/ Pelembab wajah	Bening, Cair	Merek C
T4	<i>Skin care</i> , Toner/ Pelembab wajah	Bening, Cair	Merek D
G2	<i>Skin care</i> , Eksfoliator Gel	Bening, Gel + bahan eksfoliator tekstur kasar	Merek E
G3	<i>Skin care</i> , Eksfoliator Gel	Bening, Gel	Merek F

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dalam tiga tahap, yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi dan analisis rt-PCR, dan tahap terakhir adalah visualisasi dengan media elektroforesis gel agarose. Optimasi isolasi DNA dilakukan dengan tiga metode yang berbeda, yaitu dengan menggunakan kit isolasi DNA QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN), isolasi dengan larutan phenol-chloroform GENEzol™ (Geneaid), dan menggunakan campuran resin Chelex-TE 10% (Satria *et al.*, 2015). Sampel ditimbang sebelum proses isolasi, untuk dua metode pertama massa sampel yang digunakan disesuaikan dengan anjuran dalam protokol resmi masing-masing reagen, dimana untuk metode isolasi dengan menggunakan QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) sampel yang di timbang adalah sebanyak ≤ 25 mg, metode isolasi dengan larutan GENEzol™ (Geneaid) sampel ditimbang sebanyak 50 mg dan 100 mg. Sementara itu, metode isolasi dengan campuran resin Chelex-TE 10%, massa sampel yang digunakan adalah 20 mg, 40 mg, dan 60 mg.



Hasil isolasi DNA yang telah didapatkan dicek konsentrasi dan kemurniannya lalu diamplifikasi dengan rt-PCR. Tahapan rt-PCR pertama dilakukan dengan master mix 2x SensiFAST™ Probe No-ROX mix (Bioline) dan menggunakan primer pair BoSusRat yang menghasilkan produk amplicon dengan ukuran 166bp dan probe Sus (Tabel 2), sedangkan untuk tahapan rt-PCR selanjutnya menggunakan master mix 2x SensiFAST™ SYBR® No-ROX mix (Bioline) dengan primer yang sama. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk memastikan apakah metode isolasi DNA yang telah disebutkan sebelumnya dapat mengisolasi DNA dari sampel kosmetik yang telah dikumpulkan. Setelah PCR, DNA yang telah diamplifikasi divisualisasikan dengan elektroforesis dengan media gel agarose 1,5%, tegangan 100 V, selama 34 menit.

Tabel 2. Primer dan Probe yang akan digunakan pada saat rt-PCR

PRIMER/PROBE	SEKUEN	REFERENSI
BoSusRat_F	5'-AGCAATAGAAGGCCCAAC-3'	(Achyar <i>et al.</i> , <i>in press</i>)
BoSusRat_R	5'-TAGTGCTGTAAATAAGGTGGT-3'	
Probe Sus	5'-GGTATTTCTACTCATCCGCTTCTACC-3'	

DISKUSI DAN PEMBAHASAN

Analisis Isolasi DNA

Hasil isolasi DNA dengan metode pertama yaitu dengan menggunakan QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan pengukuran konsentrasi DNA pada seluruh sampel didapatkan konsentrasi tertinggi sebesar 196,3 ng/µl. Namun perlu dicatat bahwa sampel L5 perlu melewati tiga tahap elusi untuk menghilangkan zat pewarna, sementara zat pewarna sampel L6, yang merupakan produk dengan jenis yang sama, tersaring sebelum tahap elusi. Pengukuran konsentrasi sampel L5 elusi pertama memiliki nilai yang tinggi dapat dikarenakan masih banyak zat pewarna yang tertinggal. Hal ini didukung dengan hasil pengukuran kemurnian DNA pada rasio absorbansi A260/A280 yang memiliki nilai kemurnian yang tidak sesuai standar kemurnian DNA yang baik. Oleh karena itu hasil isolasi DNA sampel L5 yang digunakan untuk amplifikasi adalah Elusi 2 dan 3 karena zat pewarna sudah cukup berkurang, namun masih berwarna.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian Isolat DNA Metode Isolasi QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN)

SAMPSEL		KONSENTRASI (ng/µl)	KEMURNIAN (A260/A280)
KODE	ELUSI		
L5	E1	196,3	6,25
	E2	117,25	6,61
	E3	20,65	6,45
L6	E1	1,3	3,25
	E2	1,15	2,30
T2	E1	0,1	0,33
	E2	-0,4	-8,00
T4	E1	16,75	2,58
	E2	11,3	2,22
G2	E1	4,75	3,96
	E2	5,2	2,42
G3	E1	-0,15	-0,50
	E2	1,7	1,48



Hasil isolasi DNA dengan metode selanjutnya yaitu dengan menggunakan larutan phenol-chloroform GENEzol™ (Geneaid) dapat dilihat pada tabel 4. Metode isolasi dengan larutan phenol-chloroform GENEzol™ (Geneaid) tidak berhasil mengisolasi DNA dari sampel G2 dan G3 karena di akhir tahap isolat DNA masih berbentuk gel sehingga tidak bisa diukur konsentrasi dan kemurniannya, sehingga sampel G2 dan G3 tidak dapat dilanjutkan ke tahap amplifikasi DNA. Hasil isolat dengan konsentrasi tertinggi untuk metode isolasi ini adalah isolate dari sampel T4 dengan massa sampel 50 mg yaitu dengan nilai konsentrasi 2,85 ng/μl. Kemurnian DNA terbaik juga diperoleh sampel T4 dengan massa sampel 100 mg, yaitu dengan nilai rasio absorbansi A260/A280 sebesar 2,00.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian Isolat DNA Metode Isolasi GENEzol™ (Geneaid)

KODE	SAMPEL		KONSENTRASI (ng/μl)	KEMURNIAN (A260/A280)
	MASSA (mg)			
L5	50		-0,4	-1,14
	100		0,5	0,63
L6	50		-1,75	3,50
	100		2,25	0,98
T2	50		1,25	0,93
	100		3,8	1,41
T4	50		2,85	1,27
	100		1,8	2,00

Hasil isolasi DNA dengan metode isolasi terakhir yaitu dengan menggunakan larutan Chelex-TE 10% dapat dilihat pada tabel 5. Hasil pengukuran kebanyakan isolat DNA yang diisolasi menggunakan metode ini terukur jauh lebih tinggi dibandingkan dengan dua metode sebelumnya. Namun pada metode ini sampel berwarna seperti L5 dan L6 perlu diberikan perlakuan pemurnian lanjut karena zat pewarna yang tidak hilang saat proses isolasi DNA. Selain itu, untuk sampel seperti sampel T2 perlu melewati proses pengenceran terlebih dahulu sebelum diambil data konsentrasinya karena mendapatkan peringatan maksimum absorbansi saat pertama kali pengukuran konsentrasi. Sampel T4 juga mendapatkan peringatan maksimum absorbansi namun tidak dilakukan pengenceran lebih lanjut karena nilai rasio absorbansi A260/A280 berubah menjadi 7,00. Sampel yang memiliki nilai rasio absorbansi A260/A280 yang paling mendekati standar yang baik adalah sampel T2 yaitu dengan nilai 1,78. Metode isolasi dengan Chelex-TE 10% adalah metode paling sederhana jika dibandingkan dengan dua metode sebelumnya namun isolasi dengan metode ini memerlukan beberapa perlakuan lanjutan, hal ini dikarenakan isolat DNA yang dihasilkan masih mengandung banyak zat pengotor. Zat pengotor tersebut tidak terpisahkan dari isolat DNA karena dalam metode ini sampel tidak melewati proses filtrasi maupun pencucian DNA seperti halnya pada dua metode sebelumnya.

Pengukuran konsentrasi DNA adalah bertujuan untuk mengetahui banyaknya DNA yang terkandung dalam larutan isolat DNA. Konsentrasi DNA diukur menggunakan spektrofotometer yang prinsip kerjanya adalah penyerapan sinar ultraviolet oleh nukleotida dan protein dalam larutan. Kemurnian larutan DNA dilihat dari rasio absorbansi DNA A260/A280. Standar isolat DNA yang dikatakan murni dan baik apabila mendapatkan rasio perbandingan A260 nm dan A280 nm dengan nilai 1,8 sampai dengan 2,0. Kemurnian dengan nilai dibawah 1,8 dan diatas 2,0 mengindikasikan adanya kontaminasi RNA dan protein (Mulyani et al., 2011). Namun pada beberapa kasus, nilai rasio A260/230 di bawah standar tidak mempengaruhi analisis rt-PCR, sehingga sampel dapat digunakan untuk analisis lanjutan pada dengan menggunakan rt-PCR (Widayat et al., 2019).



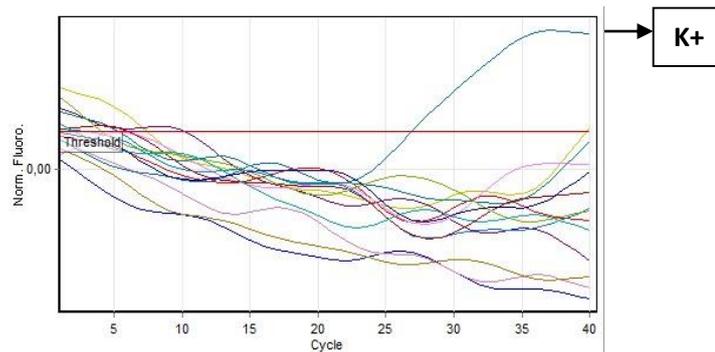
Tabel 5. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian Isolat DNA Metode Isolasi Chelex-TE 10%

KODE	SAMPSEL		KONSENTRASI (ng/μl)	KEMURNIAN (A260/A280)
	MASSA (mg)			
L5	20		1	1,67
	40		0,5	0,29
	60		2,7	1,57
L6	20		0,85	1,13
	40		1	1,67
	60		0,55	3,67
T2	20		162,4	0,75
	40		162,8	1,38
	60		171,6	1,78
T4	20		115,55	7,00
	40		7451,2	1,15
	60		7462,7	2,45
G2	20		17,6	0,91
	40		12,4	1,11
	60		16,05	1,05
G3	20		102,55	1,30
	40		25,6	0,87
	60		33,7	1,02

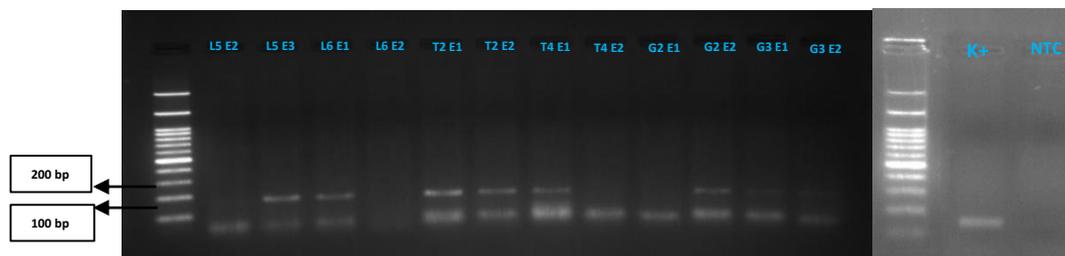
Analisis Amplifikasi DNA dengan rt-PCR dan Elektroforesis

Setelah mendapatkan isolat DNA, tahap selanjutnya adalah proses analisis amplifikasi DNA dengan menggunakan rt-PCR dan visualisasi elektroforesis dengan media gel agarose 1,5%. Kurva amplifikasi dari isolat DNA yang didapatkan dengan metode isolasi QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) dapat dilihat pada gambar 1. Tahap rt-PCR pertama ini dilakukan dengan menggunakan master mix 2x SensiFAST™ Probe No-ROX mix (Bioline) dan menggunakan primer pair BoSusRat yang dapat mengamplifikasi DNA yang berasal dari sapi, babi, dan tikus yang mana menghasilkan produk ampikon dengan ukuran 166 bp, disertai juga dengan probe Sus, yang merupakan probe spesifik DNA babi untuk mendapatkan hasil analisis yang lebih spesifik. Berdasarkan kurva amplifikasi pada gambar 1, nilai Ct kontrol positif didapatkan sebesar 26,95 lalu nilai Ct untuk sampel didapatkan rentang nilai 1,97 sampai dengan 10,06. Nilai Ct sampel yang didapatkan jauh lebih kecil dibandingkan dengan nilai Ct control positif. Hasil rt-PCR yang didapatkan divisualisasikan dengan elektroforesis yang dapat dilihat pada gambar 2, yang mana hasil visualisasi tersebut menunjukkan adanya pita-pita berukuran 166 bp yang membuktikan bahwa adanya keberadaan DNA yang teramplifikasi pada semua sampel namun pita pada sampel G3 terlihat sangat samar. Sedangkan untuk pita dengan ukuran dibawah 166bp diperkirakan adalah pita yang muncul karena adanya primer dimer.



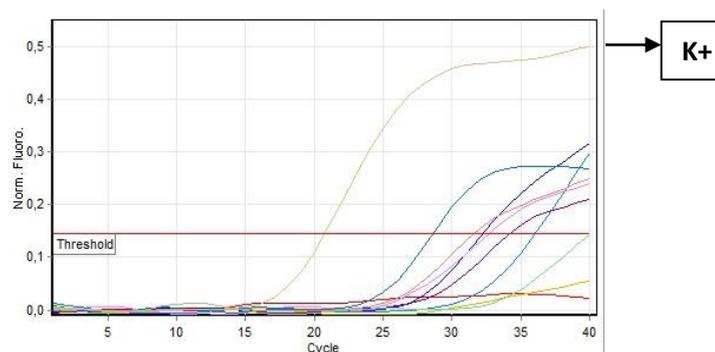


Gambar 1. Kurva Amplifikasi Isolat DNA Metode Isolasi QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN)

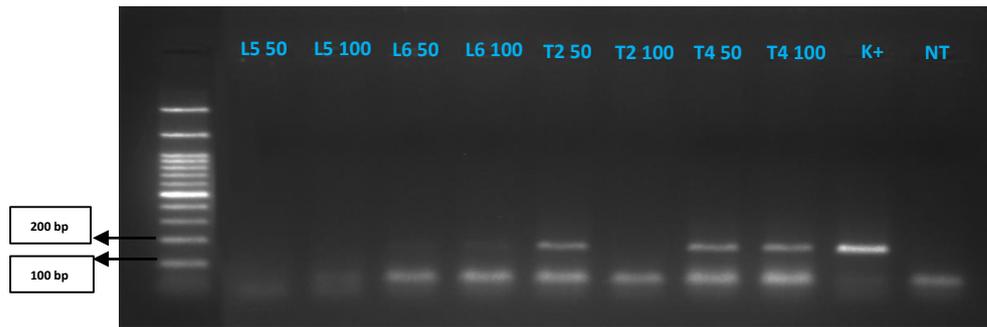


Gambar 2. Visualisasi Elektroforesis Produk PCR Isolat DNA Metode Isolasi QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN)

Tahap rt-PCR selanjutnya untuk isolat DNA metode Genezol™ (Geneaid) dilakukan dengan menggunakan master mix 2x SensiFAST™ SYBR® No-ROX mix (Bioline) dan menggunakan primer pair BoSusRat. Berdasarkan kurva amplifikasi pada gambar 3, nilai Ct kontrol positif didapatkan sebesar 20,77 lalu nilai Ct untuk sampel didapatkan rentang nilai 28,62 sampai dengan 36,07. Nilai Ct sampel yang didapatkan jauh lebih besar dibandingkan dengan nilai Ct control positif. Hasil rt-PCR yang didapatkan divisualisasikan dengan elektroforesis yang dapat dilihat pada gambar 4, yang mana hasil visualisasi tersebut menunjukkan adanya pita-pita berukuran 166 bp yang teramplifikasi pada sampel T2 dan T4.

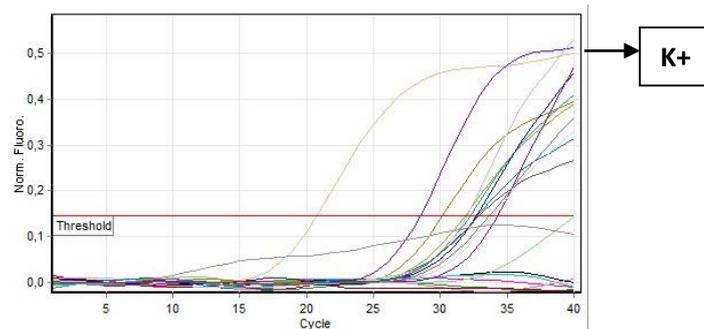


Gambar 3. Kurva Amplifikasi Isolat DNA Metode Isolasi GENEzol™ (Geneaid)

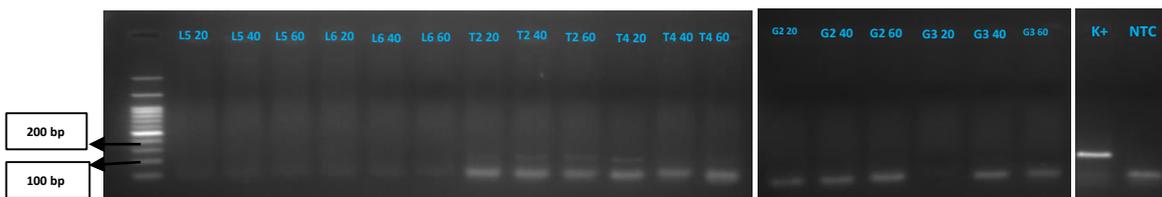


Gambar 4. Visualisasi Elektroforesis Produk PCR Isolat DNA Metode Isolasi GENEzol™ (Geneaid)

Tahap rt-PCR terakhir untuk isolat DNA metode Genezol™ (Geneaid) dilakukan dengan menggunakan master mix 2x SensiFAST™ SYBR® No-ROX mix (Bioline) dan menggunakan primer pair BoSusRat. Berdasarkan kurva amplifikasi pada gambar 5, nilai Ct kontrol positif didapatkan sebesar 20,77 lalu nilai Ct untuk sampel didapatkan rentang nilai 28,49 sampai dengan 34,27. Nilai Ct sampel yang didapatkan jauh lebih besar dibandingkan dengan nilai Ct control positif. Hasil rt-PCR yang didapatkan divisualisasikan dengan elektroforesis yang dapat dilihat pada gambar 6, yang mana hasil visualisasi tersebut menunjukkan adanya pita-pita berukuran 166 bp yang teramplifikasi pada sampel T2 dan T4 dengan pita yang samar.



Gambar 5. Kurva Amplifikasi Isolat DNA Metode Isolasi Chelex-TE 10%



Gambar 6. Visualisasi Elektroforesis Produk PCR Isolat DNA Metode Isolasi Chelex-TE 10%

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa produk kosmetik dengan karakteristik cair tidak berwarna seperti toner wajah cocok diisolasi dengan menggunakan ketiga metode. Produk kosmetik dengan karakteristik berbentuk gel tidak berwarna seperti gel eksfoliator cocok diisolasi dengan menggunakan QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN). Sedangkan produk kosmetik berwarna seperti lipstik cair atau lip stain cocok diisolasi dengan metode QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) dan Genezol™ (Geneaid). Hasil uji amplifikasi dengan rt-PCR pada sampel DNA berbagai jenis produk kosmetik menunjukkan beberapa sampel dengan nilai Ct. Hal ini menunjukkan bahwa di

dalam sampel kosmetik tersebut terdapat kontaminasi DNA hewan yang mungkin adalah DNA sapi, babi, atau tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Achyar, A., Atifah, Y., & Putri, D. H. (2021). In Silico Study of Developing a Method for Detecting Pathogenic Bacteria in Refillable Drinking Water Samples. *Journal of Physics: Conference Series*, 1940(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1940/1/012061>
- Achyar, A., Chatri, M., Putri, D. H., & Handayani, D. (n.d.). Sekuen Primer dan Probe Multiplex Real Time PCR untuk Deteksi Gen Non-Halal pada Sampel Makanan. *In Press*.
- Al-Rashood, K. A., Abdel-Moety, E. M., Abou-Shaaban, R. R., Al-Khamis, K. I., & Abdul, R. (1995). Triacylglycerols-profiling by high performance liquid chromatography: A tool for detection of pork fat (lard) in processed foods. *Journal of Liquid Chromatography*, 18(13). <https://doi.org/10.1080/10826079508009316>
- Aris, S. E., Jumiono, A., & Akil, S. (2020). Identifikasi titik kritis kehalalan gelatin. *Jurnal Pangan Halal*, 2(1), 17–22.
- Balia, R. L., Suryaningsih, L., & Putranto, W. S. (2014). Pengujian Pemalsuan Bakso dengan Daging Babi Melalui Pendekatan Ensimatis Dan Molekuler Pada UKM di Kawasan Pendidikan Jatiningor Kabupaten Sumedang. *Dharmakarya: Jurnal Aplikasi Ipteks Untuk Masyarakat*, 3(2), 70–72. <http://jurnal.unpad.ac.id/dharmakarya/article/view/8350>
- 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). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.06.008>
- Cristiano, L., & Guagni, M. (2022). Zooceuticals and Cosmetic Ingredients Derived from Animals. *Cosmetics*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/cosmetics9010013>
- Dent, M., Amaral, R. T., Da Silva, P. A., Ansell, J., Boisleve, F., Hatao, M., Hirose, A., Kasai, Y., Kern, P., Kreiling, R., Milstein, S., Montemayor, B., Oliveira, J., Richarz, A., Taalman, R., Vaillancourt, E., Verma, R., Posada, N. V. O. R. C., Weiss, C., & Kojima, H. (2018). Principles underpinning the use of new methodologies in the risk assessment of cosmetic ingredients. *Computational Toxicology*, 7(April), 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.comtox.2018.06.001>
- HUSNI, P., Putriana, N. A., & Wicaksono, I. A. (2017). Metode Deteksi Kandungan Babi dan Alkohol dalam Eksiipien Farmasi dan Produk Obat untuk Menjamin Kehalalan Sediaan Obat. *Farmasetika.Com (Online)*, 2(1). <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v2i1.12653>
- Iwata, H., & Shimada, K. (2013). Formulas, ingredients and production of cosmetics: Technology of skin- and hair-care products in Japan. In *Formulas, Ingredients and Production of Cosmetics: Technology of Skin- and Hair-Care Products in Japan* (Vol. 9784431540618). <https://doi.org/10.1007/978-4-431-54061-8>
- Kim, Y. S., Yu, H. K., Lee, B. Z., & Hong, K. W. (2018). Effect of DNA extraction methods on the detection of porcine ingredients in halal cosmetics using real-time PCR. *Applied Biological Chemistry*, 61(5), 549–555. <https://doi.org/10.1007/s13765-018-0389-x>
- Mulyani, Y., Purwanto, A., & Nurruhwati, I. (2011). Perbandingan Beberapa Metode Isolasi Dna Untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (Khv) Pada Ikan Mas (Cyprinus Carpio L.). *Jurnal Akuatika Indonesia*, 2(1).
- Nurjuliana, M., Che Man, Y. B., Mat Hashim, D., & Mohamed, A. K. S. (2011). Rapid identification of pork for halal authentication using the electronic nose and gas chromatography mass spectrometer with headspace analyzer. *Meat Science*, 88(4). <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.022>
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia. (2014). Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 33



- Tahun 2014 Tentang Jaminan Produk Halal. *Undang – Undang Republik Indonesia, 1*, 1–40.
- Putri, A. I., Achyar, A., Putri, D. H., & Ahda, Y. (2021). Primer design, in silico PCR and optimum annealing temperature for *Escherichia coli* detection in refillable drinking water samples. *Tropical Genetics, 1*(2), 52–60.
- Satria, R., Kurushima, H., Herwina, H., Yamane, S., & Eguchi, K. (2015). The trap-jaw ant genus *Odontomachus* Latreille (Hymenoptera: Formicidae) from Sumatra, with a new species description. *Zootaxa, 4048*(1), 1–36. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4048.1.1>
- Siciliano, C., Belsito, E., De Marco, R., Di Gioia, M. L., Leggio, A., & Liguori, A. (2013). Quantitative determination of fatty acid chain composition in pork meat products by high resolution 1H NMR spectroscopy. *Food Chemistry, 136*(2). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.058>
- Von Bargaen, C., Brockmeyer, J., & Humpf, H. U. (2014). Meat authentication: A new HPLC-MS/MS based method for the fast and sensitive detection of horse and pork in highly processed food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62*(39). <https://doi.org/10.1021/jf503468t>
- Widayat, W., Winarni Agustini, T., Suzery, M., Ni'matullah Al-Baarri, A., & Rahmi Putri, S. (2019). Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sebagai Alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non-Pangan. *Indonesia Journal of Halal, 2*(1), 26. <https://doi.org/10.14710/halal.v2i1.5361>
- Wijaya, N. N., Achyar, A., Putri, D. H., & Farma, S. A. (2022). Optimization of Specific PCR Conditions for Cows (*Bos taurus*) in Rendang Samples for Molecular-Based Halal Tests. *Tropical Genetics, 2*(1), 11–16. <https://ojs.genetikawan-muda.com/index.php/tg/article/view/20>
- Yorgancioglu, A., & Bayramoglu, E. E. (2013). Production of cosmetic purpose collagen containing antimicrobial emulsion with certain essential oils. *Industrial Crops and Products, 44*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.013>

