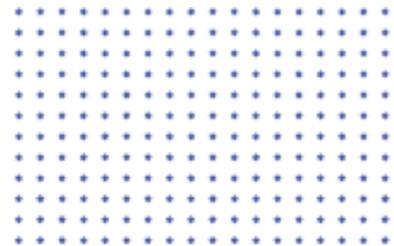


PROTOKOL UJI HALAL

PT. Elo Karsa Utama | UIN Sunan Gunung Djati Bandung

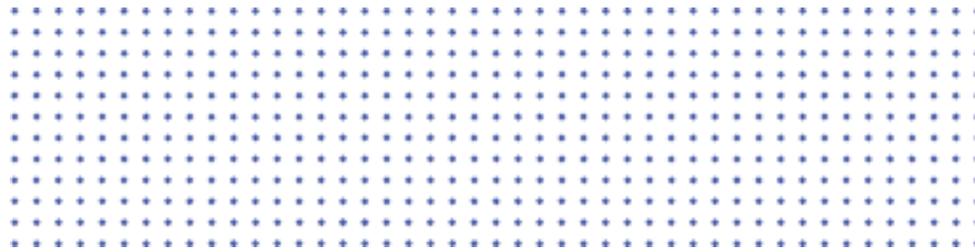


RUNDOWN



WORKSHOP PENGUJIAN PRODUK HALAL
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI GUNUNG JATI
27-28 FEBRUARI 2023

Senin, 27 Februari 2023		
Waktu	Acara	PIC
08.00-08.30	Registrasi	Panitia
08.30-08.45	Pembukaan	Rektor UIN Gunung Jati
08.45-09.00	Pembacaan Doa	Panita
09.00-10.00	Regulasi Kebijakan Halal	Dr. Tri Cahyanto S.Pd., M.Si
10.00-10.15	Coffee Break	
10.15-11.15	Metode Pengujian Halal	Dr. Nurhayati, M.Si
11.15-12.00	Diskusi	Moderator
12.00-13.00	Ishoma	
13.00-14.00	Metode assay qPCR, Preparasi dan Penggunaan kit uji Produk Halal	Andry Darminto
14.00-15.00	Interpretasi data, dan challenge/ troubleshooting dalam penggunaan RT-PCR	Yustine M.Si
15.00-16.00	Diskusi dan Penutupan	Panitia
Selasa, 28 Februari 2023		
08.30-09.00	Registrasi & Pembagian Kelompok	Panita
09.00-11.00	Hands on Ekstraksi DNA	Subhan, Kania, Niza
11.00-11.30	Hands on purity check DNA Target	Subhan & Kania
11.30-12.00	Diskusi	Wahono & Andry
12.00-13.00	Isoma	
13.00-14.00	Hands on Preparasi Sample PCR	Subhan & Kania
14.00-15.30	Hands on PCR & GLP	Subhan & Kania
15.30-16.00	Ishoma	
16.00-17.00	Diskusi	Yustine & Niza
17.00-selesai	Penutupan	

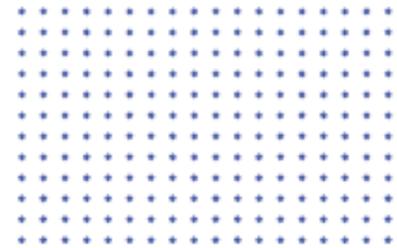


DAFTAR PUSTAKA

Contents

<i>RUNDOWN</i>	2
<i>DAFTAR PUSTAKA</i>	3
<i>PENDAHULUAN</i>	4
<i>METODE</i>	7
<i>Hasil dan Diskusi</i>	17
<i>Katalog produk</i>	21

PENDAHULUAN



Uji halal merupakan suatu proses verifikasi kehalalan produk atau bahan makanan yang dilakukan oleh Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal (BPJPH) yang dibentuk oleh pemerintah Indonesia. Prosedur halal ini dilakukan di Indonesia karena mayoritas penduduk Indonesia beragama Islam. Kepercayaan dan keyakinan sebagai penganut agama islam menjadikan produk halal sebagai pilihan utama dalam pemilihan produk konsumsi sehari-hari. Itulah sebabnya, Indonesia menjadi salah satu negara dengan nilai konsumsi dari produk halal tergolong besar di pasar global mencapai 10 persen dari US\$2 triliun produk halal global.

Daya tarik produk halal memberikan kenyamanan, keamanan, dan keselamatan masyarakat Indonesia dalam menggunakan produk yang digunakan sehari-hari dalam menghindari bahan yang dilarang oleh Islam (Haram) seperti terdapat kandungan babi pada suatu produk. Selain itu, produk halal juga mampu meningkatkan daya saing produk Indonesia di pasar global bagi negara yang membutuhkan produk halal. Sebagai bukti konkrit pemerintah mengesahkan UU Nomor 33 Tahun 2014 pasal 5 tentang jaminan produk halal dengan didukung dorongan untuk sertifikasi halal oleh Peraturan Menteri Agama Republik Indonesia (PMA RI) No. 26 Tahun 2019 tentang Penyelenggaraan Jaminan Produk Halal. Hal ini tentu mendorong reformasi dari ekosistem usaha Indonesia, mengingat Indonesia juga memiliki industri produk konsumsi yang sangat besar. Pengujian halal ini akan mendorong industri untuk memastikan keseluruhan produksi terjamin halal, baik dari bahan baku hingga produk akhir. Beberapa produk yang perlu diperhatikan dan memiliki sertifikasi halal antara lain :

Produk Jadi:

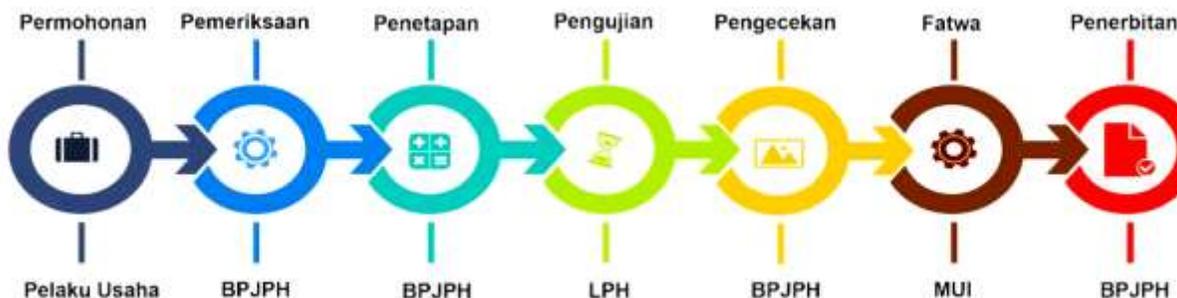
1. Makanan dan minuman;
2. Farmasi;
3. Kosmetik;
4. Produk kimia;
5. Produk yang dimodifikasi secara genetik; dan
6. Produk biologi;

Penyedia Jasa:

1. Pengolahan;
2. Penyembelihan hewan;
3. Penyimpanan;
4. Kemasan;
5. Distribusi; dan
6. Penjualan.

Skema dalam pengajuan uji halal dilakukan oleh pemohon untuk melakukan pemeriksaan produk. Pemeriksaan dilakukan oleh Badan Penyelenggara Produk Halal (BPJPH) kemudian dilakukan pengujian oleh Badan Penyelenggara Produk Halal (LPH). Pengujian uji halal yang dilakukan oleh LPH merupakan tes pada suatu produk untuk mendeteksi ada atau tidaknya suatu bahan atau produk pangan dari bahan haram (non-Halal), seperti babi (lemak dan gelatin).

Metode uji halal yang efektif dan efisien serta mampu menghasilkan deteksi dalam waktu singkat sangatlah dibutuhkan.



Dengan demikian, urgensi uji halal di Indonesia sangatlah penting untuk memastikan bahwa produk yang beredar di pasaran sesuai dengan standar kehalalan yang ditetapkan dan memberikan perlindungan serta kenyamanan bagi konsumen muslim di Indonesia maupun di luar negeri.

Pengujian Halal di Laboratorium

Pengujian halal ini memiliki beragam metode untuk mengidentifikasi spesies daging pada produk berdasarkan pengukuran protein atau DNA. Metode berbasis protein seperti elektroforesis dan teknik imunologi dinilai tidak cocok untuk membedakan spesies yang berkerabat dekat. Sebagian besar metode ini telah digantikan oleh metode deteksi yang lebih akurat dan sensitif, seperti teknik berbasis DNA melalui metode Real-Time PCR. Metode Real-Time PCR (RT-PCR) dianggap metode yang efektif dan efisien untuk mendeteksi kemungkinan adanya cemaran babi pada produk. Beberapa proses yang perlu dilakukan untuk mendapatkan informasi menggunakan RT-PCR, yaitu preparasi sampel, ekstraksi, kontrol kualitas ekstraksi, dan proses RT-PCR. Proses tersebut membutuhkan setidaknya 6-7 jam dalam mendapatkan hasil deteksi RT-PCR.

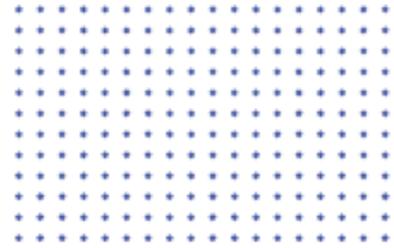
BIOTECON Diagnostic memberikan solusi dalam pengerjaan deteksi produk dari cemaran babi dengan menyediakan reagen kit *direct* RT-PCR melalui *foodproof® StarPrep Five Kit* sebagai kit ekstraksi dan *foodproof® Porcine Detection LyoKit* sebagai kit RT-PCR. Kit pada *BIOTECON Diagnostic* mampu mempersingkat pengerjaan setidaknya menjadi 2-3 jam dengan meminimalisir waktu dan resiko error pada saat pengerjaannya. *Foodproof® Porcine Detection LyoKit* dikembangkan untuk mendeteksi DNA spesies babi secara andal dalam bahan mentah, makanan, pakan, dan beberapa produk farmasi dan kosmetik dengan instrumen PCR real-time. *Foodproof® Deteksi Porcine LyoKit* memungkinkan analisis yang sangat sensitif dengan menggunakan amplifikasi target multi salinan dengan porcine primer dan probe tertentu. Batas deteksinya adalah 0,0001 % atau 1 ppm daging babi pada produk

daging. Karena sensitivitas tes yang tinggi, kit ini cocok untuk menganalisis produk seperti agar-agar, manisan, atau olahan tinggi lainnya produk.

Pada Workshop “PENGUJIAN RT-PCR SEBAGAI AUTENTIKASI PANGAN HALAL” merupakan kolaborasi antara Laboratorium Terpadu UIN Sunan Gunung Djati dan PT. Elo Karsa Utama dalam mendukung program pemerintah dalam pengujian produk halal. Kegiatan Workshop Pengujian RT-PCR sebagai Autentikasi Pangan Halal bertujuan untuk membangun kerja sama di antara berbagai pihak terutama dalam proses pendirian Laboratorium Pengujian Halal di Indonesia. Selain itu, kegiatan ini juga diselenggarakan sebagai sarana diskusi dengan PT. Elo Karsa Utama dalam penentuan metode, instrumen, dan sumber daya yang unggul dalam proses pengujian. Harapan besar dari Laboratorium Terpadu UIN Sunan Gunung Djati Bandung adalah untuk secara konsisten menyelenggarakan kegiatan positif dalam membantu proses akselerasi sertifikasi halal, menjadi Lembaga referensi dalam kegiatan pengujian halal, dan ikut serta mendorong berbagai Lembaga untuk memaksimalkan potensinya dalam pendirian Laboratorium Pengujian Halal di Indonesia.



METODE



Alur Kerja Metode

Preparasi Sampel

foodproof® StarPrep Five Kit

Ekstraksi menggunakan centrifuge dan heating unit.

Sampel untuk pelatihan Uji Halal:

- K. B. 200mg
- K. S. 200mg
- K. A. 200mg
- K. S:B 100:100 mg
- K. A:B 100:100 mg
- K. B 100 mg
- K. S:B 190:10 mg
- K. A:B 190:10 mg
- K. B. 50 mg
- K. S:B:A 90:20:90 mg

MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit

Ekstraksi menggunakan centrifuge dan heating unit.

Sampel untuk pelatihan Uji Halal:

- K. B. 200mg
- K. S. 200mg
- K. A. 200mg
- K. S:B 100:100 mg
- K. A:B 100:100 mg
- K. B 100 mg
- K. S:B 190:10 mg
- K. A:B 190:10 mg
- K. B. 50 mg
- K. S:B:A 90:20:90 mg

Note: Singkatan dari sampel Kernet (K.), Ayam (A.), Babi (B.), Sapi (S.).

Ekstraksi DNA

Manual Extraction

Ekstraksi menggunakan centrifuge dan heating unit.



Automated Extraction

Ekstraksi secara otomatis menggunakan KingFisher FLEX



QC DNA

QC DNA Extraction

Melihat kualitas hasil ekstraksi DNA dari segi *purity* dan konsentrasi



RT-PCR

foodproof® Porcine Detection LyoKit

Real-Time PCR

Amplifikasi hasil ekstraksi sampel dan analisis hasil



Alat dan Bahan

Bagian ini memberikan semua informasi untuk ekstraksi DNA hingga proses RT-PCR yang menggunakan kit *BIOTECON Diagnostic* dengan andal mendeteksi DNA spesies babi dalam bahan mentah, makanan, pakan, dan beberapa produk farmasi dan kosmetik dengan instrumen RT-PCR. Sebagian besar peralatan dan reagen yang dibutuhkan tersedia melalui PT. Elo Karsa Utama. Silahkan hubungi kami untuk informasi lebih lanjut.

Untuk melakukan pemesanan, silakan hubungi **+62-21-739 2856** atau kirim email ke salesbdg@elokarsa.com.

Alat yang dibutuhkan

- Centrifuge dengan gaya sentrifugal 8.000 × g
Contoh : MPW 260 (OT MPW-10260/2-56)
- 2x heating unit untuk tabung 2 ml
Contoh : Digital Cooling Drybath; Cooling and Heating include Block microtube 1.5 ml (TH 88880030-0130)
- Vortex mixer atau multi plate shaker
Contoh : Digital Vortex Mixer (TH 88882010)
- Pipettes
Contoh : Thermo Scientific™ Finnpiquette GLP F2 kit 2 (FI 4700880)
- Vortex centrifuge Multispin MSC-6000 untuk PCR-strips
Contoh : Thermo Scientific mySPIN 12 Mini Centrifuge (TH 75004081)
- AriaMx Real-time PCR System - Agilent (G8830A) dengan *optical cartridge* FAM (G8830A-67001) dan HEX (G8830A-67003) untuk RT-PCR
- Nano/mikroDrop untuk QC hasil ekstraksi sampel DNA
Contoh : Multiskan SkyHigh with uDrop Plate (MI A51119700DPC)
- KingFisher Flex (MI 5400630) untuk ekstraksi DNA secara otomatis

Bahan yang dibutuhkan

- *foodproof® StarPrep Five Kit* (R60243), berisi :
 - Buffer Lisis (30 ml)
 - 2x Buffer M (2x 25 ml)
 - Proteinase K (100 mg)
 - Panduan singkat
- *Foodproof® Porcine Detection LyoKit* (S40021),
- Ultra-pure akuades
- Sterile Reservoir 25 ml (FI 95128093-PK) dan 100 ml (FI 95128085)
- Pipet Tips tipe ART
 - Tips ART 10 µL (MBP 2140-05)
 - Tips ART 200 µL (MBP 2069-05)
 - Tips ART 1000 µL (MBP 2179-05-HR)

Persiapan sebelum uji Halal

Ikuti semua tindakan pencegahan keselamatan universal yang mengatur pekerjaan dengan bahan biohazardous, misal gunakan jas lab dan sarung tangan setiap saat. Buang semua bahan yang terkontaminasi dengan benar, dekontaminasi permukaan kerja, dan gunakan kabinet biosafety dalam pengerjaannya.

- ✓ Selalu gunakan peralatan laboratorium bebas nuklease (mis., pipet, tube reaksi, ART-tip filter) untuk menghindari kontaminasi silang.
- ✓ Hangatkan satu unit pemanas hingga 72 °C, unit pemanas lainnya hingga 95 hingga 100 °C.
- ✓ Siapkan Proteinase K sebelum digunakan pertama kali: larutkan Proteinase K dalam 5 ml air suling ganda, larutan alikuot. Simpan alikuot pada -15 hingga -25 °C, stabil selama 12 bulan
- ✓ Untuk menghindari kontaminasi yang terbawa, pindahkan larutan yang diperlukan untuk satu percobaan ke dalam tabung baru, daripada langsung memipet dari larutan stok.

Jauhkan **Foodproof® Porcine Detection LyoKit PCR Mix** dari cahaya dan kelembapan.

Deskripsi Ringkas mengenai Foodproof® Porcine Detection LyoKit PCR Mix

Bahan sampel

Gunakan bahan sampel apa pun yang cocok untuk PCR dalam hal kemurnian, konsentrasi, dan tidak adanya inhibitor. Untuk persiapan DNA dari bahan baku makanan asal hewan atau produk farmasi, lihat sisipan paket produk yang sesuai dari kit persiapan sampel yang sesuai (lihat “deskripsi manual untuk lebih lengkapnya”).

Ekstraksi DNA

Diagnostik Biotecon menyediakan kit persiapan sampel yang cocok untuk semua jenis bahan baku dan sampel makanan. Untuk informasi produk lebih lanjut, silakan hubungi product spesialis kami (andry.darminto@elokarsa.com).

Kontrol positif

Selalu jalankan kontrol positif dengan sampel. Untuk menyiapkan kontrol positif, ganti DNA templat dengan DNA kontrol yang disediakan [Foodproof® Porcine Detection Lyokit Control Template (Vial 2, Purple Cap)] atau dengan kontrol persiapan sampel yang positif.

Kontrol negatif

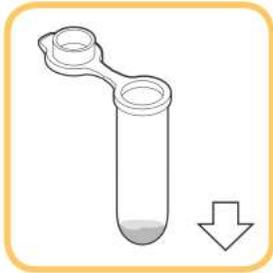
Selalu jalankan kontrol negatif dengan sampel. Untuk menyiapkan kontrol negatif, ganti DNA template dengan H2O PCR-grade (vial 3, cap tidak berwarna). Termasuk kontrol negatif selama persiapan sampel untuk memantau kemurnian reaksi dan kontaminasi silang. Kontrol ekstraksi ini dapat digunakan sebagai reaksi kontrol negatif tambahan.

Metode

Pada bagian metode terbagi menjadi 2 jenis, ekstraksi menggunakan metode centrifuge (*foodproof® StarPrep Five Kit*) dan ekstraksi otomatis menggunakan metode *magnetic beads (MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit)*. Pengerjaan metode ekstraksi disesuaikan dengan alat dan bahan yang tersedia. Pada tahapan selanjutnya dilakukan proses *Quality Control* dari hasil ekstraksi DNA. Kemudian hasil dari QC ekstraksi DNA tersebut digunakan untuk amplifikasi dan analisis kandungan babi pada sampel menggunakan Real-Time PCR.

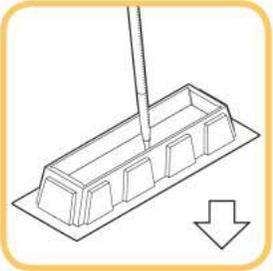
1. Prosedur Ekstraksi *foodproof® StarPrep Five Kit*

Protokol ini menjelaskan isolasi DNA dari 200 mg makanan, pakan atau produk farmasi.



1. TAMBAHKAN SAMPEL

Timbang 200 mg sampel dan pindahkan sampel ke dalam tabung reaksi 2 ml.

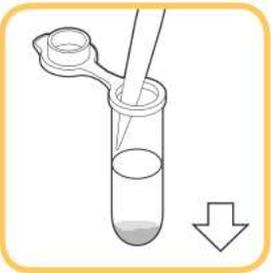


2. SIAPKAN PREMIX UNTUK REAKSI N+1

Transfer $(n+1) \times 300 \mu\text{l}$ StarPrep Five Lysis Buffer,

$(n+1) \times 500 \mu\text{l}$ Buffer M dan $(n+1) \times 45 \mu\text{l}$ Proteinase K ke reservoir steril. Di mana n = jumlah sampel, ditambah satu volume tambahan untuk menyesuaikan kesalahan pipetasi. (Misalnya, campurkan $1.800 \mu\text{l}$ StarPrep Five Lysis Buffer dengan $3.000 \mu\text{l}$ Buffer M dan $270 \mu\text{l}$ Proteinase K untuk lima preparat DNA)

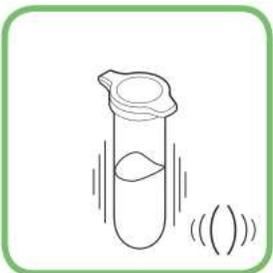
Catatan: Kocok buffer lisis sebelum digunakan



3. TAMBAHKAN PREMIX KE SAMPEL

Pindahkan $845 \mu\text{l}$ premix (langkah 2) ke tabung reaksi sampel 2 ml (langkah 1).

Catatan: Hati-hati, buffer itu tercampur di reservoir dengan memipet ke atas dan ke bawah sesaat sebelum pipetasi ke sampel.



4. CAMPUR

Vortex selama 5 detik atau kocok pada Digital Vortex Mixer (TH 88882010) pada 2.800 rpm selama 15 detik.



5. INKUBASI PADA 72 °C

15 menit pada 72 °C di unit pemanas.

Catatan: Gelatin dalam sampel harus benar-benar larut: campur dengan membalik tabung setelah inkubasi 60 detik pada suhu 72 °C, kemudian mulai inkubasi selama 15 menit.



6. INKUBASI PADA 95 °C

15 menit pada 95 °C di unit pemanas.

Keluarkan tabung reaksi dengan hati-hati dari unit pemanas dan biarkan tabung selama 1 menit pada suhu 15 hingga 25 °C.

Catatan: Jika hanya satu unit pemanas yang digunakan, pastikan suhu telah mencapai 95 °C.



7. CENTRIFUGE

5 min at 13,000 x g.

SUPERNATAN UNTUK DETEKSI

Gunakan 3 µl ekstrak untuk foodproof® PCR LyoKits.

Catatan: Hindari dengan ketat pemindahan fraksi sedimen ke reaksi PCR, karena ini dapat menyebabkan penghambatan PCR.

Untuk analisis nanti, simpan DNA pada -15 hingga -25 °C.

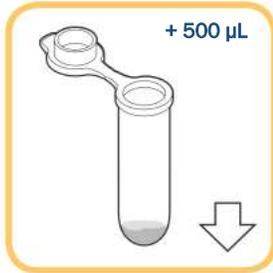
Setelah dicairkan, campur sebentar dengan vortexing dan centrifuge pada 13.000 × g selama 4 menit.



2. Prosedur Ekstraksi (MagMAX™ DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit)

Protokol ini menjelaskan metode ekstraksi DNA dengan menggunakan ≤20 mg sampel. Pada pengerjaannya terbagi menjadi 2 proses yaitu preparasi sampel dan DNA purifikasi menggunakan KingFisher Flex (96 *deep-well format*). Untuk pengerjaan metode ini dilakukan secara otomatis sehingga membutuhkan instrument KingFisher Flex dan kit ekstraksi. Untuk aplikasi lebih dalam dapat merujuk langsung pada manual dari *Thermo Scientific* atau berdiskusi dengan Product Specialist kami.

Preparasi Sampel



1. TAMBAHKAN BUFFER EKSTRAKSI

Tambahkan 500 µL Buffer Ekstraksi ke tabung baru sesuai indikasi.



2. TAMBAHKAN JARINGAN SAMPEL

Masukkan 0–20 mg jaringan sampel jaringan ke dalam tabung yang berisi Buffer Ekstraksi.



3. HOMOGENISASI

Homogenkan jaringan menggunakan homogenizer mekanis 10 kecepatan, seperti polytron, yang diatur pada kecepatan 3 atau 4 selama 10-20 detik atau sampai jaringan tidak terlihat lagi.

PENTING! Hindari homogenisasi pada kecepatan tinggi, yang dapat menyebabkan percikan dan buih.



4. PINDAHKAN SAMPEL

Pindahkan 500 µL setiap lisat ke sumur yang sesuai di pelat sumur dalam (Baris Sampel/Pelat Sampel).

(Opsional) Simpan lisat pada suhu –20 °C untuk digunakan nanti

DNA Purifikasi menggunakan KingFisher Flex (96 deep-well format)

- 1** Siapkan instrumen
- A. Pastikan instrumen disiapkan untuk diproses dengan kepala magnetik yang tepat (sumur dalam 96) untuk aplikasi Anda.
- B. Pastikan blok panas yang tepat (sumur dalam 96, bukan standar) dipasang untuk aplikasi Anda.
- C. Pastikan program yang sesuai (MMX_Ultra2_Cell_Tissue_96_Flex) telah diunduh dari halaman produk dan dimuat ke instrumen.

- 2** Siapkan pelat pemrosesan
- Atur Pelat Cuci, Elusi, dan Sisir Tip di luar instrumen sesuai dengan tabel berikut.

Plate ID	Plate position	Plate type	Reagent	Volume per well
≤20 mg of tissue input				
Wash I Solution Plate	2	Deep Well	Wash I Solution	1,000 µL
Wash II Solution Plate 1	3	Deep Well	Wash II Solution	1,000 µL
Wash II Solution Plate 2	4	Deep Well	Wash II Solution	500 µL
Elution Plate	5	Deep Well	Elution Solution	200 µL
Tip Comb	6	Place a 96 Deep-well Tip Comb in a Standard Plate		

Catatan: Muatkan pelat pada instrumen segera setelah Pelat Sampel disiapkan.

- 3** Siapkan Campuran Manik Pengikat DNA
- Persiapkan Campuran Manik Pengikat DNA sesuai dengan tabel berikut.

Component	Volume per well
Binding Solution	400 µL
DNA Binding Beads	40 µL
Total DNA Binding Bead Mix	440 µL

- 4** Siapkan Plat Sampel
- A. Jika perlu, pindahkan 500 µL dari setiap lisat ke sumur yang sesuai dari pelat sumur dalam (Pelat Sampel).
- B. (Disarankan) Tambahkan 10 µL RNase A ke setiap sampel, tutup pelat dengan film perekat lalu campur menggunakan pengocok pelat yang disetel dengan kecepatan sedang selama minimal 5 menit pada suhu kamar.
- Sebagai alternatif, jika pengocok piring tidak tersedia, pipet dan aduk 10 kali, lalu inkubasi selama minimal 5 menit pada suhu kamar.
- C. Balikkan tabung DNA Binding Bead Mix beberapa kali untuk melarutkan kembali manik-manik, lalu tambahkan 440 µL DNA Binding Bead Mix ke setiap sampel.
- Catatan:

- Remix DNA Binding Bead diaduk hingga homogen untuk memastikan bahwa manik-manik didistribusikan secara merata di antara sampel.
- Campurannya kental. Pipet perlahan untuk memastikan bahwa jumlah yang benar ditambahkan ke setiap sampel.

D. Segera lanjutkan untuk memproses sampel pada instrumen (bagian selanjutnya).

- 5** **Memproses sampel pada instrumen**
- A. Pilih program MMX_Ultra2_Cell_Tissue_96_Flex pada instrumen.
 - B. Masukkan pelat yang telah disiapkan ke posisinya saat diminta oleh instrumen.
 - C. Di akhir proses, segera lepaskan pelat dari instrumen, lalu pindahkan eluat ke tabung atau pelat untuk disimpan.
- Simpan DNA murni di atas es untuk segera digunakan, pada suhu -20°C hingga 1 bulan, atau suhu -80°C untuk penyimpanan jangka panjang.
-

3. QC Hasil Ekstraksi DNA

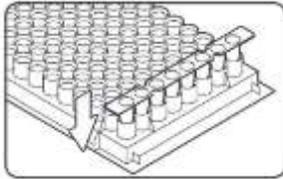
- 1** **Siapkan instrument dan plate pembacaan**
- A. Pastikan instrumen MultiSkan SkyHigh disiapkan dan telah terkoneksi dengan PC melalui software SkanIt.
 - B. Pastikan pembacaan yang digunakan untuk plate μ Drop plate dan telah disetting untuk QC DNA (dsDNA quantification with μ Drop plate and Multiskan SkyHigh.).
 - C. Pastikan plate dalam kondisi bersih dan siap untuk digunakan
-
- 2** **Preparasi Sampel**
- A. Buka penutup yang menutupi area sampel bertitik.
 - B. Pipet sampel sebanyak 4 μ L ke dalam sumur kecil. Anda dapat secara bersamaan mengukur maksimal 16 atau 32 sampel saat menggunakan μ Drop atau μ Drop Duo Plate.
 - C. Tutup penutupnya dengan hati-hati.
 - D. Periksa apakah setiap sumur berisi sampel yang terdistribusi secara merata dan tidak ada gelembung udara yang terlihat atau partikel berlebihan hadir.
 - E. Miringkan Pelat Duo μ Drop dan μ Drop ke atas untuk menghilangkan kemungkinan gelembung udara yang tersisa.
-
- 3** **Pembacaan Purity dan Konsentrasi dengan software SkanIt**
- A. Keluarkan *plate carrier* pada MultiSkan SkyHigh menggunakan software SkanIt
 - B. Letakkan μ Drop atau μ Drop Duo Plate kedalam *plate carrier*. Tutup *plate carrier*.
 - C. Klik Start untuk melakukan pengujian, hasil pengujian bisa dilihat pada bagian purity dan konsentrasi.
-

4. Prosedur RT-PCR

Prosedur RT-PCR dioptimalkan untuk instrumen real-time PCR dengan FAM (untuk hewan babi) dan deteksi menggunakan HEX/VIC (untuk Kontrol Internal). Lakukan setting pada program instrumen PCR sebelum menyiapkan sampel PCR. Gunakan protokol PCR real-time berikut untuk foodproof® Deteksi Porcine LyoKit.

Program for food, feed, cosmetic or pharmaceutical samples:	
<u>Pre-inkubasi</u>	1 siklus
Tahap 1	37 °C untuk 4 menit
Tahap 2	95 °C untuk 10 menit
<u>Amplifikasi</u>	35 siklus
Tahap 1	95 °C untuk 5 detik
Tahap 2	60°C untuk 60 detik (pembacaan)

Apabila setting program pada instrument RT-PCR telah dilakukan, dapat melanjutkan ke tahap preparasi sampel sebagai berikut.

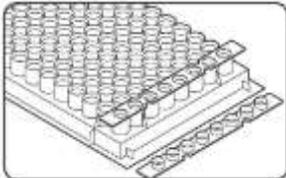


1. TEMPATKAN STRIPS DI RAK

Keluarkan sejumlah strip tabung PCR yang diperlukan dari kantong aluminium.

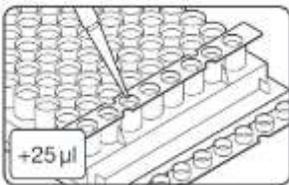
Penting: tutup rapat tas setelahnya. Tempatkan strip di rak tabung PCR yang sesuai.

Jika perlu, ketuk tabung dengan lembut untuk memindahkan pelet terliofilisasi ke bagian bawah semua tabung.



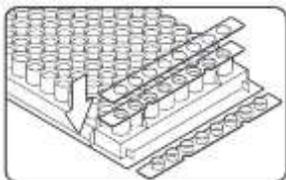
2. DECAP

Buka strip dengan hati-hati langsung sebelum mengisi dan buang tutupnya. Jangan biarkan terbuka lebih lama dari yang diperlukan.



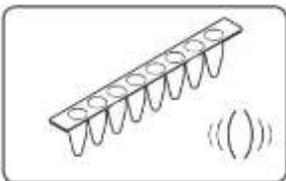
3. TAMBAHKAN SAMPEL DAN KONTROL

Pipet 3 µl sampel DNA+22 µl PCR-grade Water, kontrol negatif (tutup tidak berwarna) atau template Kontrol (tutup ungu) ke dalam sumur masing-masing.



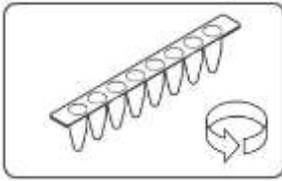
4. SEGEL

Tutup tabung dengan 8-Cap Strips yang disediakan secara akurat.



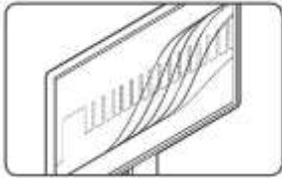
5. CAMPUR

Menangguhkan kembali pelet setelah disegel dengan mencampur secara menyeluruh. Sebagai alternatif, resuspensi pelet dengan memipet ke atas dan ke bawah beberapa kali pada langkah 3.



6. SENTRIFUGE

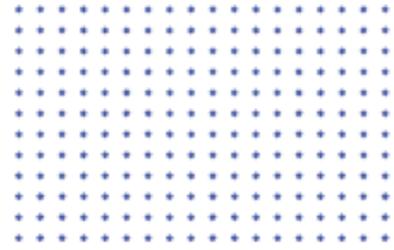
Putar strip secara singkat, mis. 5 detik pada 500 - 1000 xg, dalam vortex centrifuge Multispin MSC-6000.



7. MULAI RUN Real Time-PCR

Siklus sampel seperti yang dijelaskan di atas. Tempatkan tabung dalam urutan vertikal dan seimbang ke dalam cycler, mis. dua strip dapat ditempatkan di kolom pertama dan terakhir

HASIL DAN DISKUSI



Pengujian tes halal menggunakan kit PCR Bioteccon dengan dua kit ekstraksi yaitu MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0 dan StarPrep five kit telah berhasil dilakukan. Hasil ekstraksi dari sample daging mentah babi, sapi, dan ayam menunjukkan bahwa DNA dari sample telah berhasil diekstraksi. PCR mastermix berisikan air, mastermix powder, DNA template dari masing-masing hasil ekstraksi dibuat dan diujikan menggunakan mesin AriaMx QPCR dari Agilent. Dalam QPCR kali ini, FAM menjadi target gene yang akan menentukan apakah dalam sample mengandung babi atau tidak, sedangkan HEX akan menjadi reference gene yang bertugas untuk menentukan apakah assay tersebut dapat dikatakan baik. Secara sistematis, system deteksi yang digunakan adalah primer probe dimana DNA akan didenaturasi dan primer yang sudah terkonjugasi oleh fluorescent akan mengikat DNA, jika ssDNA sudah menjadi dsDNA maka fluorescent tersebut akan berpendar dan dapat dideteksi oleh QPCR instrument sebagai ct atau cq. Sebelum dilakukan ekstraksi, daging ayam, sapi, dan babi dipisahkan, untuk sample uji cba maka campuran antara daging ayam dan babi, daging sapi dan babi, maupun campuran daging ayam, sapi, dan babi dibuat dengan berbagai komposisi berat untuk menirukan kondisi sample yang akan muncul di lapangan nanti.

Kelompok pertama menggunakan Straprep 5 dari Bioteccon untuk ekstraksi DNA dari sample daging dan kit PCR Bioteccon untuk QPCR. Pada QPCR kali ini, FAM digunakan sebagai target gene dye dan HEX digunakan sebagai contro dye. Maka untuk hasil positif dikatakan bila sinyal FAM terdeteksi dan HEX terdeteksi atau tidak terdeteksi, hasil negatif bila sinyal FAM dan HEX tidak terdeteksi. Dari hasil tabel di bawah menunjukkan bahwa sampel yang mengandung babi mengalami sinyal positif untuk FAM. Dalam beberapa sampel yang mengandung konsentrasi babi sangat tinggi, maka sinyal HEX tidak ada dikarenakan semua intercalating dye sudah mengikat dengan FAM. Hasil tersebut masih bisa dikatakan positif saat FAM terdeteksi dan HEX tidak terdeteksi. Data yang diperoleh juga menunjukkan adanya kontaminasi pada beberapa sample, contohnya pada sample sapi tanpa babi dan ayam tanpa babi, sinyal FAM dan HEX terdeteksi. Masalah seperti ini dapat disebabkan beberapa hal seperti user variability, alat yang digunakan tercampur atau tidak dipisahkan antara yang mengandung babi dan tidak, kontaminasi saat preparasi untuk QPCR atau saat DNA ekstraksi, dan masih ada beberapa kemungkinan lain yang bisa menyebabkan kontaminasi. Kontrol positif dan negatif dari kelompok pertama terlihat bagus karena pada kontrol negatif target gene yaitu FAM tidak terdeteksi, sedangkan pada kontrol positif keduanya terdeteksi.

K26 100 Babi	FAM	FAM	33.66	+
K26 100 Babi	HEX	HEX	26.64	+
K27 10 Sapi 10 Babi	FAM	FAM	30.44	+
K27 10 Sapi 10 Babi	HEX	HEX	25.73	+
K2810 Ayam 10 Babi	FAM	FAM	33.56	+
K2810 Ayam 10 Babi	HEX	HEX	26.06	+
K28B 190 Ayam 10 Babi	FAM	FAM	33.16	+
K28B 190 Ayam 10 Babi	HEX	HEX	25.99	+
K29 50 Babi	FAM	FAM	32.67	+
K29 50 Babi	HEX	HEX	25.74	+

Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa pengujian halal yang dilakukan dengan sample daging mentah dari ayam, sapi, dan babi berhasil dilakukan. Terjadi kontaminasi pada sample yang dikerjakan oleh kelompok satu yang ditandai dengan terdeteksinya sinyal FAM pada sample yang tidak mengandung babi. Sedangkan pada kelompok dua, hasil yang diperoleh sangat memuaskan mulai dari kontrol positif, negatif, hingga dengan sample yang sinyal dari FAM dan HEX sesuai dengan ekspektasi hasil.

KATALOG PRODUK

