



---

# METODE RISET UJI HALAL PADA BIOMATERIAL KEDOKTERAN GIGI BERBASIS GENOMIK

---

Muhammad Alwino Bayu Firdauzy



MOOC UNIVERSITAS AIRLANGGA

# UJI HALAL PADA BIOMATERIAL KEDOKTERAN GIGI

M. Alwino Bayu Firdauzy<sup>1</sup>, Prof Anita Yulianti<sup>2</sup>, Devi Rianti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi imunologi, Sekolah Pasca Sarjana Universitas Airlangga

<sup>2</sup>Departemen Ilmu Biomaterial Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangg

## LatarBelakang

*Bone grafting* adalah prosedur bedah yang umum digunakan untuk memperbaiki kerusakan tulang. Teknik penanaman tulang pada celah kerusakan tulang ini berguna untuk merangsang pembentukan tulang baru (Elsalanty & Genecov, 2009, p.125). *Graft* tulang bukan hanya menggantikan tulang yang hilang, tetapi juga berfungsi sebagai *scaffold* untuk osteokonduksi dan sebagai sumber molekul osteogenik dan osteoinduktif selama proses pembentukan tulang baru (Oryan *et al.*, 2014, p.18).

*Bone graft* dapat berasal dari tulang pasien atau *autograft*, dari donor manusia atau *allograft* dan dari hewan atau *xenograft* (Bressan *et al.*, 2011, p.509). *Bone graft autogenous* tetap menjadi prosedur *gold standard*, karena memiliki sifat osteoinduktif, osteokonduktif dan osteogenik yang terbaik bagi pasien, dan tidak menimbulkan respon imun karena berasal dari tubuh pasien sendiri. *Allograft* dan *xenograft* memiliki sifat osteoinduktif dan osteokonduktif tetapi tidak memiliki sifat osteogenik ( Keskin *et al.*, 2007, p.299 ; Dimitrou *et al.*, 2011,p. 191).

*Autograft* mempunyai keterbatasan pada tindakan klinis disebabkan oleh morbiditas donor saat prosedur pengambilan jaringan dan keterbatasan jumlah tulang yang memungkinkan untuk diambil (Khan *et al.*, 2005; p.77), penolakan, transmisi penyakit dan biaya yang lebih besar (Tadic

& Epple., 2004, p. 987). Biomaterial *xenograft* untuk rekonstruksi jaringan telah banyak digunakan dan semakin berkembang (Zhang *et al.*, 2014, p. 357)

*Demineralized Bone Matrix* (DBM) adalah produk biomaterial yang berasal dari tulang panjang sapi, diproduksi oleh Bank Jaringan RSUD Dr Soetomo, berfungsi sebagai *graft* pada proses pembentukan baru tulang. Data dari bank jaringan menyebutkan, DBM tersebut mengandung kolagen tipe I sebesar 93%, protein *growth factor* sebesar 5% dan sisa sel osteosit sebesar 2%. Kolagen berperan sebagai *extra cellular matrix* yang mengikat *osteoblast*. Protein yang terkandung dalam DBM salah satunya adalah *Bone Morphogenetic Protein* (BMP). Protein ini memicu mineralisasi DBM sehingga terbentuk tulang baru (Katz *et al.*, 2009, p. 149; Lee *et al.*, 2005, p.218). Kolagen dalam DBM memiliki potensi menginduksi pembentukan tulang baru (Yang *et al.*, 2006, p. 265).

Bahan baku *xenograft* dapat berasal dari individu berbeda spesies misalnya yang berasal dari sapi, babi, kuda, cumi, dan koral yang terkalsifikasi (Sultana *et al.*, 2018. p.215; Monazzah *et al.*, 2017. p.1293; Utami 2015, p. 6; Dogan and Okumus 2014. p. 256; Athanasiou *et al.*, 2009, p.24 Figueiredo *et al.*, 2012. p.15). Sumber *xenograft* kebanyakan bersumber dsri hewan, perlu dilakukan uji kehalalan dari bahan tersebut.

Produk dengan permintaan sertifikasi halal semakin meningkat, sejalan dengan pertumbuhan populasi (Abdullah, 2006, p. 27), sebagian besar masalah yang berkaitan dengan halal terkait dengan keberadaan biomaterial berbasis babi. Metode analisis halal harus dikembangkan untuk memastikan autentikasi bahan baku produk, produk jadi dan pemalsuan produk (Abdullah, 2006. p. 29). Analisis dan otentikasi produk sangat dibutuhkan semakin meningkat seiring munculnya masalah kesehatan dan sensitivitas di antara konsumen (Jorfi *et al.*, 2012, p. 8162).

Syarat agar produk berbasis hewan menjadi halal, harus diperhatikan jenis hewan dan dibuktikan bahwa tidak terjadi kontaminasi dengan bahan haram selama proses produksi (Nakyinsige *et al.*, 2012, p.210). DBM banyak digunakan dalam terapi defek tulang pada manusia, karena berasal dari hewan mamalia, maka diperlukan uji halal untuk memastikan bahwa DBM bukan berasal dari babi. Metode analisis biomolekuler perlu dikembangkan untuk memenuhi tuntutan keamanan, legalitas dan kesehatan suatu produk terutama bagi umat beragama islam (Rohman and Man 2012, p.98; Doosti *et al.*, 2014, p.148)

Berdasarkan Undang Undang Republik Indonesia nomor 33 Tahun 2004 tentang Jaminan Produk Halal ( JPH ), produk yang masuk, beredar, dan diperdagangkan di wilayah Indonesia wajib bersertifikat halal ( pasal 4). Hal ini untuk memberikan kenyamanan, keamanan, keselamatan dan kepastian ketersediaan produk halal bagi masyarakat dalam mengonsumsi dan menggunakan produk (pasal 3). Produk yang dimaksud adalah barang dan/atau jasa yang terkait dengan makanan, minuman, obat, kosmetik, produk kimiawi, produk biologi, produk rekayasa genetik, serta barang gunaan yang dipakai, digunakan, atau dimanfaatkan oleh masyarakat (pasal 1 ayat 1). Pasal 53 menjelaskan bahwa masyarakat dapat berperan serta dalam penyelenggaraan JPH melalui pengawasan produk halal yang beredar berbentuk pelaporan ke Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal

Ilmu pengetahuan dan teknologi berkembang seiring dengan diversifikasi produk, maka diperlukan pemeriksaan biomolekuler untuk mendeteksi keberadaan *deoxyribonucleic acid* (DNA) babi untuk menjamin kehalalan produk DBM (Rohman and Man, 2012 p.97). *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik yang ideal digunakan untuk deteksi DNA babi dalam biomaterial karena stabilitas DNA lebih tinggi dibandingkan stabilitas protein. (Sepminarti *et al.*, 2016, p.34).

Uji DBM menggunakan pemeriksaan biomolekuler yang dirancang dengan dua macam primer untuk analisis DNA mitokondria sel osteosit. Hasil isolasi DNA pada DBM diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer spesifik penanda gen *Cytochrome B* pada mitokondria sapi sebesar 315 *basepairs* (bp) dan penanda gen *Cytochrome B* pada mitokondria babi sebesar 216 bp. (Nikzad *et al.*, 2017. p.3). *Cytochrome B* adalah protein yang terdapat pada mitokondria semua sel. *Cytochrome B* berfungsi sebagai bagian dari rantai transport elektron pada semua sel. (Siregar *et al.*, 2008, p.29)

Berdasar latar belakang di atas, akan dilakukan penetapan halal dari DBM sebagai uji awal pada pembuatan komposit *scaffold* melalui uji biomolekuler menggunakan penanda *cytochrome B* sapi dan babi. Hal ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa *Demineralized Bone Matrix* bersifat halal berdasar uji biomolekuler

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah AN, 2006. Perception and awareness among food manufacturers and marketers on halal food in the Klang Valley. *Unpublished M. Sc. thesis, Universiti Putra Malaysia, Malaysia.*
- Abbaszadegan, M.R., Velayati, A., Tavasoli, A. and Dadkhah, E., 2007. Rapid DNA extraction protocol from stool, suitable for molecular genetic diagnosis of colon cancer. *Iranian Biomedical Journal*, 11(3), pp.203-208.
- Aizat MJ and Radzi CWJWM, 2009. Theory of istilahah in Islamic and science properties: application for several food processing products. *Jurnal Syariah*, 17(1), pp.169-93.
- Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J.* 2001; 10: S96–101. PMID: 11716023
- Athanasiou VT, Papachristou DJ., Panagopoulos A, Saridis A, Scopa CD. and Megas P. 2009. Histological comparison of autograft, allograft-DBM, xenograft, and synthetic grafts in a trabecular bone defect: an experimental study in rabbits. *Medical Science Monitor*, 16(1), pp.24-31.

- Balsly CR, Cotter AT, Williams LA, Gaskins BD, Moore MA and Wolfenbarger L, 2008. Effect of low dose and moderate dose gamma irradiation on the mechanical properties of bone and soft tissue allografts. *Cell and tissue banking*, 9(4), pp.289-298.
- Bressan E, Paniz G, Lops D, Corazza B, Romeo E and Favero G, 2011. Influence of abutment material on the gingival color of implant-supported all-ceramic restorations: a prospective multicenter study. *Clinical oral implants research*, 22(6), pp.631-637.
- Butler JM, 2005. *Forensic DNA Typing: biology, technology, and genetics of STR markers*. New York, ed, 2. P. 62
- Dimitriou R, Mataliotakis GI, Angoules G, Kanakaris NK and Giannoudis PV, 2011. Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: a systematic review. *Injury*, 42, pp.S3-S15.
- Dogan E and Okumus Z., 2014. Cuttlebone used as a bone xenograft in bone healing. *Veterinari Medicina*, 59(5), pp.254-260
- Doosti A, Dehkordi PG. and Rahimi E. 2014. Molecular assay to fraud identification of meat products. *Journal of food science and technology*, 51(1), pp.148-152.
- El-Hattab AW, Scaglia F. 2013. Mitochondrial DNA depletion syndromes: review and updates of genetic basis, manifestations, and therapeutic options. *Neurotherapeutics*, 10(2), pp.186-198.
- Elsalanty ME and Genecov DG, 2009. Bone grafts in craniofacial surgery. *Craniofacial trauma & reconstruction*, 2(03), pp.125-134.
- Erwanto Y, Sugiyono S, Rohman A, Abidin MZ and Ariyani D, 2012. Identifikasi Daging Babi Menggunakan Metode PCR-RFLP Gen Cytochrome B dan PCR Primer Spesifik Gen Amelogenin. *Agritech*, 32(4), pp.370-377
- Figueiredo A, Silva O, and Cabrita S. 2012. Inflammatory reaction post implantation of bone graft materials. *Exp Pathol Health Sci*, 6(1), pp.15-8.
- Fomovskaia GN, Smith MA., Fomovsky MA and Butt NJ, Whatman Inc, 2005. Methods for the isolation of nucleic acids and for quantitative DNA extraction and detection for leukocyte evaluation in blood products. U.S. Patent 6,958,392.
- Grauer JN, Beiner JM, Kwon BK. and Vaccaro, A.R., 2003. Bone graft alternatives for spinal fusion. *BioDrugs*, 17(6), pp.391-394.
- Groeneveld EHJ, Burger EH. Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *Eur J Endocrinol*. 2000;142:9-21.
- Gruskin E, Doll BA, Futrell FW, Schmitz JP. and Hollinger JO. 2012. Demineralized bone matrix in bone repair: history and use. *Advanced drug delivery reviews*, 64(12), pp.1063-1077.

- Gurevitch O, Kurkalli BGS., Prigozhina, T., Kasir, J., Gaft, A. and Slavin, S., 2003. Reconstruction of cartilage, bone, and hematopoietic microenvironment with demineralized bone matrix and bone marrow cells. *Stem Cells*, 21(5), pp.588-597.
- Hammad al-Mawad al-Muharramahwa al-Najisah fi al-Ghiza' wa al-Dawa' bayna al-Nazariyyah wa al-Tatbiq. 2004. *Dar al-Qalam*. Syria. p. 16.
- Hartl DL, 2009. *Essential Genetics: A Genomics Perspective: A Genomics Perspective*. Jones & Bartlett Publishers.p.1-721
- Ibrahimi M and Wae-Hayee M. 2018. Halal Biomaterials in Therapeutic and Regenerative Medicine: Impact and Importance in *Products and Services*. *i-CHIPS 2018*, pp55-57
- Ijiri S, Yamamuro T, Nakamura T, Kotani S, Notoya K. 2001. Effect of sterilization on the osteoinductive capacity of demineralized bone matrix. *Clin Orthop*;388:233–239.
- Jorfi R, Mustafa S, Man YBC, Hashim DBM, Sazili AQ, Farjam AS, Nateghi L. and Kashiani P. 2012. Differentiation of pork from beef, chicken, mutton and chevon according to their primary amino acids content for halal authentication. *African Journal of Biotechnology*, 11(32), pp.8160-8166.
- Katz J, Mukherjee N, Cobb RR, Bursac P, York-Ely A. 2009. Incorporation and immunogenicity of cleaned bovine bone in a sheep model. *J Biomater Appl*. 24: 159–174. doi: 10.1177/0885328208095174 PMID: 18987022
- Keskin D, Gundogdu C, Atac AC. 2007. Experimental comparison of bovine derived xenograft, xenograftautologous bone marrow and autogenous bone graft for the treatment of bony defects in the rabbit ulna. *Med Princ Pract*. 16, pp 299–305. PMID: 17541296
- Khan SN, Cammisa FP Jr, Sandhu HS, Diwan AD, Girardi FP, Lane JM. 2005. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg*.; 13: 77–86. PMID: 15712985
- Kimball SR and Jefferson LS, 2006. New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. *The American journal of clinical nutrition*, 83(2), pp.500S-507S.
- Korbie DJ. and Mattick JS. 2008. Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nature protocols*, 3(9), p.1452-1456
- Lee KJ, Roper JG. and Wang JC. 2005. Demineralized bone matrix and spinal arthrodesis. *The Spine Journal*, 5(6), pp.S217-S223.
- Luo J, Wang J, Bu D, Li D, Wang L, Wei H, Zhou L. 2008. Development and application of a PCR approach for detection of beef, sheep, pig, and chicken derived materials in feedstuff. *Agr Sci China* 7(10), pp.1260–1266
- Man YBC, Abidin SZ and Rohman A. 2011. Discriminant analysis of selected edible fats and oils and those in biscuit formulation using FTIR spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 4(3), pp.404-409.

- Milne EL, 2007. Protecting Islam's Garden from the Wilderness: Halal Fraud Statutes and the First Amendment. *J. Food Law Policy* 2, 61-83.
- Mohammadi A, Ghorbani Alvanegh A, Khafaei M, Habibi Azarian S, Naderi M., Kiyani E, Miri A, Bahmani H, Ramezani M and Tavallaei M, 2017. A new and efficient method for DNA extraction from human skeletal remains usable in DNA typing. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 4(2), pp.609-614.
- Monazzah S, Oryan A, Bigham-Sadegh A, and Meimandi-Parizi A. 2017. Application of bovine bone versus bovine DBM graft on bone healing of radial defect in rat. *Comparative Clinical Pathology*, 26(6), pp.1293-1298.
- Moore WR, Graves SE, Bain GI. 2001. Synthetic bone graft substitute. *ANZ J Surg.* 71:354-361
- Murugaiah C, Noor ZM, Mastakim M, Bilung LM, Selamat J and Radu S, 2009. Meat species identification and Halal authentication analysis using mitochondrial DNA. *Meat science*, 83(1), pp.57-61.
- Nakyinsige K, Man YBC. and Sazili AQ. 2012. Halal authenticity issues in meat and meat products. *Meat science*, 91(3), pp.207-214.
- Nguyen V, Meyers CA, Yan N, Agarwal S, Lev, B. and James AW, 2017. BMP-2-induced bone formation and neural inflammation. *Journal of orthopaedics*, 14(2), pp.252-256.
- Nikzad J, Shahhosseini S, Tabarzad M, Nafissi-Varcheh N, and Torshabi M. 2017. Simultaneous detection of bovine and porcine DNA in pharmaceutical gelatin capsules by duplex PCR assay for Halal authentication. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(1), p.1-11
- Ong SB, Zuraini MI, Jurin WG, Cheah YK, Tunung R, Chai LC, Haryani Y, Ghazali FM, Son R. 2007. Meat molecular detection: sensitivity of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism in species differentiation of meat from animal origin. *ASEAN Food J* 14(1):pp.51-59
- Orsini G, Scarano A, Degidi M, Caputi S, Iezzi G, Piattelli A. 2007. Histological and ultrastructural evaluation of bone around Bio-Oss particles in sinus augmentation. *Oral Dis.*;13:pp.586-593.
- Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. 2014. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res* 9: 18. doi: 10.1186/1749-799X-9-18 PMID: 24628910: p.17-21
- Partis L, Croan D, Guo Z, Clark R, Coldham T, Murby J. 2000 Evaluation of a DNA fingerprinting method for determining the species origin of meats. *Meat Sci* 54:pp.369-376

- Riaz MN, Chaudry MM. 2004. *Halal Food Production*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, p.1–20.
- Rohman A, and Man YBC. 2012. Analysis of pig derivatives for halal authentication studies. *Food Rev. Int.*, 28: 97-112.
- Rohman A, Erwanto Y, Siswindari dan Jacob CM. 2011. Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. *Meat Science* 88: pp. 91-95.
- Russell JL, Block JE. 2004. Clinical utility of demineralized bone matrix for osseous defects, arthrodesis, and reconstruction: impact of processing techniques and study methodology. *Orthopedics* ;22(5):pp.524–531.
- Sandhu H, Khan S, Suh D. and Boden, S. 2001. Demineralized bone matrix, bone morphogenetic proteins, and animal models of spine fusion: an overview. *European Spine Journal*, 10(2), pp.S122-S131.
- Schwartz Z, Hyzy S, Moore MA, Hunter SA, Ronholdt CJ, Sunwoo M. and BoyanBD, 2011. Osteoinductivity of demineralized bone matrix is independent of donor bisphosphonate use. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American volume.*, 93(24), p.2278-2286
- Sepminarti,T, Sudjadi WH and Abdul Rohman S, 2016. Real-time polymerase chain reaction for halal authentication of gelatin in soft candy. *Asian Journal of Biochemistry*, 11(1), pp.34-43.
- Siregar JE, Syafruddin D, Matsuoka H, Kita K, Marzuki S. 2008. Mutation underlying resistance of Plasmodium berghei to atovaquone in the quinone binding domain 2 (Qo(2)) of the cytochrome B gene. *Parasitology International*. 57 (2): pp. 229–232.
- Somma M and Querci M, 2006. The Polymerase Chain Reaction (PCR). *Training Course on The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms, User Manuel. World Health Organization Regional Office For Europe*, pp.217-218.
- Sultana S, Ali ME. and Ahamad MNU. 2018. Overview of Gelatin And Collagen. *Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods*, p.215.
- Tadic D, Epple M. 2004. A thorough physicochemical characterisation of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterial*. 25: 987–994. PMID: 14615163
- Utami T. 2015. Efektivitas Penggunaan Demineralized Equine Cortical Bone Xenograft (Decbx) Untuk Penanganan Fraktur Tulang Femur Anjing (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
- Voytas D, 2000. Agarose gel electrophoresis. *Current Protocols in Molecular Biology*, 51(1), pp.2-5.

Yang W, Gomes RR, Brown AJ, Burdett AR, Alicknavitch M, Farach-Carson MC and Carson ADD, 2006. Chondrogenic Differentiation on Perlecan Domain I, Collagen II, and Bone Morphogenetic Protein-2–Based Matrices. *Tissue engineering*, 12(7), pp.2009-2024.

Zhang N, Zhou M, Zhang Y, Wang X, Ma S, Dong L, Yang T, Ma L. and Li B. 2014. Porcine bone grafts defatted by lipase: efficacy of defatting and assessment of cytocompatibility. *Cell and tissue banking*, 15(3), pp.357-367.

MOOC UNIVERSITAS AIRLANGGA