



**Artikel**

**Deteksi Kandungan DNA Babi dalam Produk Olahan Daging dengan Metode *Real Time-Polymerase Chain Reaction***

*Detection the DNA Content of Pig in Processed Meat Products using the Real Time-Polymerase Chain Reaction Method*

**Kay Almira Aditia<sup>1\*</sup>, Athiefah Fauziyyah<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Terbuka, Tangerang Selatan, Indonesia

**INFORMASI ARTIKEL**

**Genesis artikel:**

Diterima :  
12-Juni-2023  
Disetujui :  
26-Juni- 2023

**Keywords:**

*Food Safety*  
*Halal Food*  
*Meat products*  
*Porcine*  
*RT-PCR*

**Kata Kunci:**

DNA Babi  
Halal  
Keamanan Pangan  
Olahan Daging  
RT-PCR

**ABSTRACT**

*Changes in the community's paradigm regarding food security, lifestyle, and consumption patterns healthy, and meeting the needs of animal protein triggering the provision of processed meat products that are safe, healthy, whole and halal. Related problems food safety and halal in processed meat products, namely the addition of substitution of pork and other ingredients containing pork components. This matter creates a sense of insecurity and public concern regarding religious beliefs, culture, and health problems. The research aims to determine the content of DNA pork in processed meat products, namely shredded, meatballs, beef burgers, and sausages with detecting the content of pig DNA and its derivative components, as well as knowing the performance of the kit reagent (mastermix) using the RT-PCR method or specific DNA amplification techniques species because it has fast analysis time, sensitivity, specificity, and accuracy tall. The processed meat product samples analyzed had an average concentration of DNA between 6.20 ng/μl–126.47 ng/μl and the average DNA purity value (A260/280) between 1.754–1.891. The results of pig DNA detection by RT-PCR method showed that in samples of processed meat products did not detect pig DNA content supported by performance kit (mastermix) that works optimally. The increase in the curve only occurs in the positive control of extracted pork with a Ct value of 18.30 and a positive control from the kit with Ct value of 29.95. According to the research findings, it can guarantee health, food safety, halal certification, alleviate concerns, and provide peace of mind to the community.*

**ABSTRAK**

Perubahan paradigma masyarakat tentang keamanan pangan, gaya hidup, pola konsumsi yang sehat, dan pemenuhan kebutuhan protein hewani memicu penyediaan produk olahan daging yang aman, sehat, utuh dan halal. Permasalahan terkait keamanan dan kehalalan pangan pada produk olahan daging, yaitu penambahan atau substitusi daging babi dan bahan lain yang mengandung komponen babi. Hal ini menimbulkan rasa tidak aman dan kekhawatiran masyarakat terkait keyakinan agama, budaya, dan gangguan kesehatan. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kandungan DNA babi dalam produk olahan daging, yaitu bakso, sosis, beef burger, dan abon dengan mendeteksi kandungan DNA babi beserta komponen turunannya, serta mengetahui kinerja kit pereaksi (mastermix) menggunakan metode RT-PCR atau teknik amplifikasi DNA spesifik spesies karena mempunyai waktu analisis cepat, sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi yang tinggi. Hasil analisis menunjukkan sampel produk olahan daging yang dianalisis mempunyai rata-rata konsentrasi DNA antara 6,20 ng/μl – 126,47 ng/μl dan rata-rata nilai kemurnian DNA (A260/280) antara 1,754 – 1,891. Hasil deteksi DNA babi dengan metode RT-PCR menunjukkan bahwa pada sampel produk olahan daging tidak terdeteksi kandungan DNA babi dengan didukung kinerja kit (mastermix) yang bekerja optimal. Kenaikan kurva hanya terjadi pada kontrol positif dari daging babi hasil ekstraksi dengan nilai Ct sebesar 18,30 dan kontrol positif dari kit dengan nilai Ct sebesar 29,95. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat menjamin kesehatan, keamanan pangan, kehalalan, mengurangi rasa kekhawatiran, dan memberikan ketenangan batin pada masyarakat.

\*Penulis Korespondensi :  
Email: [athiefah.fauziyyah@ecampus.ut.ac.id](mailto:athiefah.fauziyyah@ecampus.ut.ac.id)  
doi: 10.30812/jtmp.v2i1.3068

Hak Cipta © 2022. Penulis, Dipublikasi oleh Jurnal Teknologi dan Mutu Pangan  
Ini adalah artikel akses terbuka di bawah lisensi CC BY-NC-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)  
Cara Sitasi: Aditya, K.A., R. & Fauziyyah, A. (2023). Deteksi Kandungan DNA Babi dalam Produk Olahan Daging dengan Metode Real Time-Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Teknologi Dan Mutu Pangan*, 2(1), 1-14.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.30812/jtmp.v2i1.3068>

## 1. PENDAHULUAN

Daging dan produk olahan daging yang berasal dari hewan ternak dapat memenuhi kebutuhan protein hewani sehingga meningkatkan kualitas sumber daya manusia dan membuat generasi penerus bangsa menjadi cerdas (Indriati, 2021). Daging mempunyai kandungan gizi yang tinggi, mempunyai rasa yang lezat, sifat yang mudah disajikan dalam berbagai bentuk olahan dengan harga yang terjangkau oleh masyarakat, dan ketersediaan yang memenuhi pasar sehingga masyarakat tetap dapat mengonsumsi daging beserta olahannya (Patriani & Mirwandhono, 2020). Daging merupakan urat daging (otot) yang melekat pada kerangka hewan yang sehat dan cukup umur saat dipotong, kecuali urat daging bagian bibir, hidung, telinga, serta bagian-bagian dari tulang urat, urat syaraf, dan pembuluh-pembuluh darah. Daging yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, yaitu daging sapi (Muchtadi, 2019). Daging adalah semua jaringan hewan dan produk hasil jaringan-jaringan hewan yang dapat dimakan dan tidak mengganggu kesehatan (Koeswardhani, et al., 2020). Daging mengandung protein hewani dengan asam-asam amino esensial yang lengkap dan seimbang, serta mudah dicerna. Asam lemak dalam daging untuk merangsang sekresi kelenjar perut yang melancarkan pencernaan manusia. Daging mengandung zat besi yang dapat mencegah anemia dalam tubuh. Tiap 100 gram daging dapat memenuhi kebutuhan gizi orang dewasa tiap hari sekitar 10% kalori, 50% protein, 35% zat besi dan 25-60% vitamin B kompleks (Muhami, et al., 2019).

Pengolahan daging yang didukung sumber daya alam pertanian dari bahan hewani, kemajuan ilmu pengetahuan, teknologi, dan pengembangan industri pengolahan pangan di Indonesia dilakukan dengan berbagai metode dan teknik untuk mengubah bahan pangan asal hewani/ternak pasca panen menjadi bahan makanan dalam bentuk lain sehingga dapat dikonsumsi manusia yang didukung oleh teknologi pengolahan daging untuk memperoleh kemanfaatan yang dapat meningkatkan nilai tambah dari pangan asal hewani/ternak tersebut. Produk olahan daging diproduksi untuk membuat aneka ragam hasil produksi daging, memperpanjang daya simpan (mengawetkan), dan meningkatkan nilai ekonomis. Produk-produk pangan yang berasal dari olahan daging, seperti bakso, sosis, beef burger, dan abon telah banyak beredar di pasaran (Patriani & Mirwandhono, 2020).

Perubahan paradigma masyarakat mengenai keamanan pangan, gaya hidup, dan pola konsumsi yang sehat telah menjadi perhatian pemerintah yang diwujudkan dengan merealisasikan penyediaan daging dan produk olahan daging dengan prinsip ASUH (Aman, Sehat, Utuh, dan Halal) (Cahyaningsari et al., 2019). Pemerintah telah melakukan berbagai upaya dan membuat peraturan yang terkait untuk melindungi kesehatan konsumen dengan mengonsumsi pangan yang aman. Peraturan Pemerintah No. 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan menyatakan bahwa keamanan pangan merupakan kondisi dan upaya yang dilakukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan adanya cemaran biologis, kimia, fisik dan bahan lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga dapat dikonsumsi dengan aman. Sebagian besar masyarakat Indonesia adalah muslim sehingga diperlukan upaya pemerintah untuk menjamin produk pangan, seperti olahan daging dapat dikonsumsi masyarakat secara halal (Wijaya, et al., 2021). Peraturan Pemerintah No. 31 Tahun 2019 tentang Peraturan Pelaksanaan Undang-Undang No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal menyatakan bahwa produk yang beredar di wilayah Indonesia wajib mempunyai sertifikat halal, kecuali produk yang berasal dari bahan yang diharamkan. Produk yang berasal dari bahan yang diharamkan wajib diberikan keterangan tidak halal dan pelaku usaha wajib mencantumkan keterangan tidak halal pada produk.

Permasalahan yang banyak muncul berkaitan dengan keamanan dan kehalalan pangan pada produk olahan daging yang dikonsumsi oleh masyarakat, seperti penambahan daging babi atau substitusi daging sapi menjadi daging babi yang terjadi di masyarakat. Secara umum produk olahan daging mempunyai bahan baku berupa daging sapi. Penambahan,

pencampuran, atau substitusi daging, seperti daging babi sebagai bahan baku dan bahan-bahan pelengkap lain yang mengandung komponen babi beserta turunannya yang tidak dihalalkan dalam pengolahan produk olahan daging menimbulkan rasa tidak aman dan kekhawatiran pada masyarakat untuk mengkonsumsi produk-produk tersebut karena produk pangan olahan daging yang telah melalui proses penghancuran dan pencampuran dengan bahan-bahan lain sehingga sulit dibedakan dengan mata telanjang atau kasat mata (Mustaqimah et al., 2021). Hal tersebut berkaitan dengan bahan pangan olahan daging yang telah banyak beredar tanpa diketahui asal-usulnya dan tidak diperbolehkan untuk dikonsumsi yang berkaitan dengan hal keyakinan agama dan budaya (Indriati, 2021). Selain itu, permasalahan tersebut dapat menimbulkan gangguan kesehatan, reaksi alergi, dan foodborne disease karena babi dapat menularkan penyakit zoonis apabila tidak memperoleh pengawasan dari instansi terkait di bidang kesehatan hewan dan kesehatan masyarakat veteriner (Cahyaningsari et al., 2019). Penambahan, pencampuran, atau substitusi daging seperti daging babi celeng atau daging babi hutan sebagai bahan baku dilakukan para produsen karena ketersediaan daging sapi yang langka sehingga menyebabkan harga daging sapi menjadi tinggi serta untuk memperoleh keuntungan yang besar. Selain itu, saat proses distribusi, penyimpanan, serta proses produksi dapat terjadi kontaminasi silang antara bahan yang halal dan tidak dihalalkan (haram) (Mardiah, Amalia & Trimelati, 2021).

Upaya dalam mengatasi masalah-masalah tersebut dapat dilakukan dengan pengawasan melalui deteksi DNA babi dalam produk olahan daging yang beredar di masyarakat. DNA (Deoxyribo Nucleic Acid) merupakan material genetik baik pada eukariot maupun prokariot yang berstruktur ganda dan berpilin dengan dua rantai polinukleotida panjang yang berpasangan antara basa pada rantai pertama dengan rantai lainnya untuk mengikat kedua utas DNA yang diikat oleh ikatan hidrogen, serta mempertahankan jarak antara dua basa (dua utas) (Syah & Nurjanah, 2019). Pada hasil penelitian sebelumnya, telah dilakukan beberapa usaha untuk mendeteksi keberadaan spesies babi pada beberapa produk berbasis daging. Adapun penelitian yang melakukan Analisis Kehalalan Daging Sapi menggunakan Metode Pork Detection Kit (Pdk) berbasis protein (Mardiah, Amalia & Trimelati, 2021). Metode tersebut mempunyai kelemahan karena sifat protein yang tidak stabil terhadap pemanasan dan perlakuan lain (Andriyani et al., 2019). Kemudian dikembangkan beberapa metode analisa cepat seperti metode Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), pada produk berbahan dasar daging menjelaskan bahwa metode ini hanya mampu mendeteksi keberadaan spesies babi apabila berada pada konsentrasi 0.25%, Selain itu, metode ELISA merupakan uji berbasis protein yang kurang tahan terhadap pemanasan. Selain itu dikembangkan beberapa metode analisis lain berbasis DNA yang memiliki tingkat akurasi, spesifikasi, efisiensi, dan batas sensitivitas yang lebih tinggi lebih baik dibandingkan metode sebelumnya. Polimerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu Teknik yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan suatu DNA tertentu pada suatu sampel segar maupun produk turunannya. Metode ini mampu digunakan untuk mendeteksi keberadaan DNA babi pada produk olahan. Tiga tahap dalam teknik PCR yaitu denaturasi, penempelan (annealing), dan pemanjangan (elongation). Siklus pertama akan memisahkan DNA cetakan menjadi dua untai tunggal menggunakan pemanasan pada suhu 95°C dalam campuran yang telah mengandung oligonukleotida primer dengan jumlah berlebih dan keempat dNTP. Suhu tersebut dikurangi menjadi 55°C sehingga primer menempel (anneal) pada sekuen target. Primer membentuk ikatan hidrogen dengan cetakan dalam daerah sekuen yang komplementer dengan sekuen primer. Suhu penempelan berdasarkan panjang primer dan sekuen DNA target. Suhu inkubasi dinaikkan menjadi 72°C setelah penempelan primer yang bertujuan untuk proses perpanjangan (extension) sekuen DNA target karena terdapat enzim DNA polimerase. Produk pertama hasil amplifikasi digunakan sebagai cetakan untuk siklus kedua dan seterusnya. Apabila siklus denaturasi, penempelan primer, dan pemanjangan dilakukan secara berulang mengakibatkan terjadinya DNA target yang berlipat ganda dengan produk utama berupa segmen DNA untai ganda yang mempunyai panjang berdasarkan jarak antara kedua primer (Andriyani et al., 2019). Peningkatan DNA menunjukkan peningkatan intensitas fluorescent yang dihasilkan dengan digambarkan

melalui kurva amplifikasi yang mempunyai tiga fase, yaitu fase awal, fase eksponensial dan fase (Harisah, 2017). DNA mitokondria mempunyai karakteristik yang mendukung dalam analisis biologi molekuler karena mempunyai copy number yang tinggi sekitar 1.000-10.000 dan terletak dalam sel (Zuraeda, 2018). Gen sitokrom b (cyt b) merupakan DNA asal mitokondria dengan jumlah lebih banyak dibandingkan DNA nukleus yang digunakan untuk membedakan material asal dari jenis hewan yang berbeda (penanda jenis hewan). Penggunaan cyt b untuk mendukung keberhasilan amplifikasi PCR sehingga DNA babi dapat terdeteksi karena telah tersedia DNA yang jumlahnya berkali-kali lipat dan hasil ekstraksi yang mencukupi untuk melakukan deteksi terutama pada sampel dalam jumlah sedikit dan sampel yang terdegradasi karena telah mengalami proses pengolahan (Indriati, 2021).

Metode PCR telah banyak digunakan untuk mendeteksi keberadaan daging babi pada produk makanan. Pada hasil penelitian sebelumnya tentang identifikasi daging babi menggunakan metode Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polimorfism (PCR-RFLP) gen Cytochrome b dan PCR primer spesifik gen amelogenin untuk mendeteksi keberadaan daging babi dalam campuran dengan daging lain, tetapi mempunyai keterbatasan karena memerlukan waktu yang lama dengan dua tahap analisis, yaitu analisis PCR dan pemotongan DNA hasil PCR dengan enzim restriksi (Erwanto et al., 2012). Pada hasil penelitian sebelumnya tentang metode identifikasi daging babi menggunakan sedangkan metode RT-PCR mampu menganalisis pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu sekitar 0.125%. dibandingkan dengan metode RT-PCR yang melakukan analisis DNA atau genetik yang lebih stabil pada pemanasan sehingga mampu melakukan deteksi daging babi maupun olahannya (Cahyaningsari et al., 2019). Oleh karena itu, penggunaan Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yang merupakan salah satu metode atau teknik amplifikasi asam nukleat (DNA) secara in vitro melalui proses polimerisasi secara simultan dengan primer yang komplementer dan untai DNA target untuk melakukan deteksi DNA babi (komponen babi) beserta turunannya diperlukan untuk mengatasi kekurangan-kekurangan yang dimiliki oleh metode-metode sebelumnya (Mustaqimah et al., 2021). Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) adalah metode perkembangan dari PCR konvensional yang merupakan teknologi biologi molekuler untuk memperbanyak salinan sepotong DNA di bagian tertentu dan menghasilkan ribuan hingga jutaan salinan dari urutan DNA tertentu sehingga dapat mengidentifikasi DNA suatu spesies dalam sampel. RT-PCR dapat melakukan deteksi dalam jumlah sampel sedikit, meniadakan kebutuhan visualisasi dengan gel visualization, mengurangi risiko kontaminasi, dan mempunyai kemampuan proses untuk jumlah yang sangat besar (Septiani, 2019). Metode RT-PCR mempunyai tingkat sensitivitas, spesifisitas dan akurasi yang tinggi, serta waktu analisis yang cepat (Widayat, et al., 2019). RT-PCR mampu melakukan deteksi konsentrasi DNA hingga pikogram karena mempunyai sensitivitas dye yang sangat tinggi. Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk menggandakan jumlah molekul DNA target tertentu melalui analisis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target menggunakan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu thermocycle (Widayat, et al., 2019). Pada penelitian sebelumnya tentang “Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sebagai Alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non-Pangan” menjelaskan bahwa metode RT-PCR dapat mendeteksi DNA babi pada produk non-pangan, seperti kapsul, kuas roti, day cream dan sabun kecantikan. Adapun penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mendeteksi kandungan DNA babi beserta komponen turunannya dalam produk olahan daging dengan metode RT-PCR dan mengetahui keberhasilan kinerja kit pereaksi (mastermix) dalam proses amplifikasi menggunakan RT-PCR. Hal ini akan menjamin kesehatan, keamanan pangan, kehalalan, mengurangi rasa kekhawatiran, dan memberikan ketenangan batin pada masyarakat. Selain itu, membantu dalam pengawasan agar menjamin produk-produk olahan daging tetap aman, sehat, utuh dan halal, serta berdaya saing ketika beredar di masyarakat.

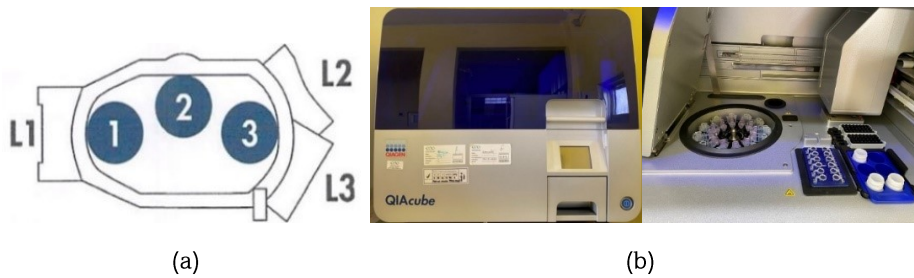
## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan, yaitu timbangan analitik 'Radwag', gotri, alat penghancur sampel 'Tomy', microtube 2,0 ml, microtube 1,5 ml, micropipette 'Eppendorf' (1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L dan 0,1-10  $\mu$ L), filter tips (1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L dan 0,1-10  $\mu$ L), tube 15 mL, rak tube (15 mL dan 2,0 mL), centrifuge 'Eppendorf', vortex 'Biosan', spin down 'Tomy', mesin ekstraksi otomatis 'Qiacube', nanophotometer 'Implen NP80' (spektrofotometer UV), tube PCR 0,2 mL, dan Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 'Rotor-Gene Q'. Bahan yang digunakan, yaitu Bakso berasal dari warung bakso di Kota Palangka Raya (B1), Bakso pedagang keliling di Kota Palangka Raya (B2), Sosis Mawar dari toko frozen food Kota Palangka Raya (S1), Sosis Umami dari toko frozen food Kota Palangka Raya (S2), Beef burger Abby's dari toko frozen food Kota Palangka Raya (BB), Abon hypermart Kota Palangka Raya (A1) dan Abon Grandvilleabon (A2), food lysis buffer 'Qiagen', proteinase K 'Qiagen', buffer AW2 'Qiagen', buffer EB 'Qiagen', buffer PB 'Qiagen', mastermix 'Mericon Pig Kit', daging sapi hasil ekstraksi, dan daging babi hasil ekstraksi. abon, bakso, beef burger, dan sosis. Sampel diperoleh secara acak dari warung bakso, toko swalayan, dan toko frozen food di Kota Palangka Raya.

### 2.2. Isolasi dan Ekstraksi DNA

Isolasi dan ekstraksi DNA adalah proses pemisahan DNA dari protein, lemak, karbohidrat, dan komponen lain (Hutami *et al.*, 2018). Prinsip isolasi dan ekstraksi DNA, yaitu lisis sel (penghancuran dinding sel), pemisahan DNA dari komponen-komponen lain (degradasi RNA dan presipitasi protein), serta pemurnian (purifikasi) DNA (Zilhadia *et al.*, 2020). Isolasi dan ekstraksi DNA pada sampel akan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Sampel yang telah dipotong kecil-kecil ditimbang sebanyak 200 mg dan dimasukkan ke dalam *microtube* 2,0 mL, lalu ditambahkan secara bertahap sebanyak 500  $\mu$ L dan 500  $\mu$ L *food lysis buffer* dan kemudian dihancurkan menggunakan alat penghancur sampel. Kemudian ditambahkan dengan 10  $\mu$ L proteinase K ke dalam sampel, lalu dilakukan *vortex*. Sampel diinkubasi dalam *shaker* dalam mesin ekstraksi otomatis pada suhu 60°C selama 45 menit, lalu sampel didinginkan pada suhu ruang terlebih dahulu dan dilanjutkan dengan dimasukkan ke dalam *freezer* untuk mengurangi presipitasi. Kemudian sampel dilakukan *centrifuge* selama 5 menit dengan kecepatan 2.500 xg. Kloroform sebanyak 500  $\mu$ L dimasukkan ke dalam *microtube* 2,0 mL yang baru. Lapisan bening pada sampel hasil *centrifuge* diambil dan dimasukkan ke dalam *microtube* 2,0 mL yang telah berisi 500  $\mu$ L kloroform. Kemudian dilakukan *vortex* selama 15 detik dan dilakukan *centrifuge* selama 15 menit dengan kecepatan 14.000 xg. Lapisan bening yang terbentuk dari hasil sentrifuge diambil sebanyak 500  $\mu$ L dan dilakukan *vortex* selama 15 menit. Kemudian sampel dalam *microtube* 2,0 mL diletakkan pada *shaker* dan diekstraksi menggunakan mesin ekstraksi otomatis 'Qiacube'. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan buffer AW2, buffer EB dan Buffer PB yang diletakkan dalam botol reagen dan disimpan dalam rak botol, serta rotor adaptor yang diisi oleh spin column (L1) dan *microtube* 1,5 mL (L3) yang disimpan pada *centrifuge* yang ada di dalam mesin ekstraksi otomatis. *Elution volume* sebesar 70  $\mu$ L. Sampel DNA yang telah diekstraksi dapat langsung diuji dengan RT-PCR atau dapat disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C (Qiagen, Germany). Skema rotor adaptor dan alat mesin ekstraksi otomatis 'Qiacube' dapat dilihat pada Gambar 1 sebagai berikut.



**Gambar 1.** (a) Skema Rotor Adaptor dan (b) Mesin Ekstraksi Otomatis 'Qiacube'

### 2.3. Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Pengukuran pada DNA hasil isolasi dan ekstraksi dilakukan untuk mengetahui kuantitas DNA berupa konsentrasi dan kualitas DNA berupa kemurnian. Sampel DNA hasil ekstraksi dan blanko (buffer EB) yang akan digunakan dalam pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dilakukan vortex dan spin down terlebih dahulu. Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA pada sampel beserta blanko (buffer EB) menggunakan spektrofotometer UV (nanophotometer) (Mustaqimah *et al.*, 2021). Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dilakukan dengan pengukuran blanko terlebih dahulu menggunakan buffer EB yang diletakkan di atas sample port sebanyak 1  $\mu\text{L}$  menggunakan micropipette, lalu dilanjutkan dengan pengukuran sampel yang diletakkan di atas sample port sebanyak 1  $\mu\text{L}$  menggunakan micropipette (Harisah, 2017). Pengukuran konsentrasi dilakukan pada panjang gelombang 260 nm. Pengukuran kemurnian dilakukan pada panjang gelombang 260/280 nm (Hutami *et al.*, 2018). Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA berupa tabel. Alat nanophotometer dapat dilihat pada Gambar 2 sebagai berikut.



**Gambar 2.** Nanophotometer 'Implen NP80'

### 2.4. Deteksi DNA menggunakan metode RT-PCR

Dalam melakukan deteksi DNA Babi dengan metode RT-PCR menggunakan kontrol positif berupa pereaksi kit kontrol positif (babi) dari mericon pig kit dan daging babi hasil ekstraksi, sedangkan kontrol negatif, yaitu NTC, kontrol ekstraksi blanko, serta daging sapi hasil ekstraksi. Template DNA yang digunakan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  dimasukkan ke tube PCR 0,2 mL yang berisi 10  $\mu\text{L}$  *mastermix* dari mericon pig kit dan 10  $\mu\text{L}$  sampel DNA, yaitu sampel DNA hasil ekstraksi, kontrol positif, dan kontrol negatif. Amplifikasi DNA menggunakan *thermal cycler* Rotor-Gene Q. Program amplifikasi dengan metode RT-PCR, yaitu denaturasi awal (*hold*) pada suhu 95°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 95°C selama 15 detik, annealing pada suhu 60°C selama 15 detik dan *extension* pada suhu 72°C selama 10 detik. Siklus yang digunakan

sebanyak 45 kali. Deteksi DNA target menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* FAM dengan *channel Green*. Deteksi *internal control* menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* VIC dengan *channel Yellow*. Hasil dinyatakan terdeteksi apabila sampel DNA teramplifikasi pada *detection system* dengan nilai *cycle threshold* (Ct) dibawah 35. Hasil dinyatakan tidak terdeteksi apabila sampel DNA tidak teramplifikasi pada *detection system*. Apabila hasil menunjukkan nilai Ct antara 35 – 45 maka dilakukan pengujian ulang (Cahyaningsari *et al.*, 2019). Alat *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dapat dilihat pada Gambar 3 sebagai berikut.



**Gambar 3.** Real Time- Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 'Rotor-Gene Q'

### 2.5. Metode Analisis Data

Metode analisis data yang digunakan pada penelitian, yaitu uji analisis ragam/analysis of variance (ANOVA). Uji ANOVA digunakan untuk memberikan kesimpulan ada atau tidak adanya perbedaan pada subkelompok perlakuan terhadap variabel respon. Uji ANOVA tidak dapat melakukan deteksi terhadap perlakuan mana yang memberikan pengaruh berbeda. Hasil Uji ANOVA berupa tabel ANOVA. Oleh karena itu, diperlukan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh berbeda yang dapat mengukur perbedaan spesifik diantara banyak rata-rata. Hasil uji lanjut Duncan merupakan serangkaian kelompok (subset) rata-rata. Apabila rata-rata berada di dalam kelompok yang sama berarti tidak berbeda signifikan, sedangkan apabila berada pada tabel yang berbeda berarti berbeda signifikan. Taraf signifikansi yang digunakan pada uji ini yaitu  $\alpha = 0,05$  (Hunaefi, Shafira, Purnomo, Nurtama, & Indriani, 2020).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Analisis Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Isolasi DNA dari protein dan sel debris hasil pelisisan sel dapat dilakukan dengan sentrifugasi untuk mengabsorpsi DNA pada *silica membrane*. Reagen yang digunakan dalam proses isolasi dan ekstraksi DNA, yaitu *lysis buffer* untuk melakukan lisis pada membran sel, proteinase K yang berfungsi sebagai enzim untuk memecah makromolekul protein hingga molekul menjadi lebih kecil, buffer PB digunakan untuk membersihkan DNA dari zat pengotor sebagai inhibitor yang mengganggu proses PCR, *binding buffer* sebagai *chaotropic agent* sehingga terjadi pengikatan dan absorpsi yang kuat pada DNA pada *silica membrane*, *washing buffer* (buffer AW2) digunakan untuk mencuci garam *chaotropic* dan zat pengotor lainnya, serta *elution buffer* (buffer EB) digunakan untuk melakukan elusi DNA pada *silica membrane*. Isolat DNA yang dihasilkan selanjutnya dilakukan analisis menggunakan spektrofotometri UV untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian dari isolat DNA (Zilhadia *et al.*, 2017). Kualitas dan kuantitas DNA dalam organisme dapat diketahui

menggunakan spektrofotometer. Kuantitas DNA berupa konsentrasi DNA berupa hasil isolasi DNA total dan kualitas DNA berupa kemurnian DNA. Prinsip kerja spektrofotometer untuk mengetahui kualitas dan kuantitas DNA, yaitu iradiasi dari sinar ultraviolet yang diserap oleh nukleotida secara maksimal dapat dicapai pada panjang gelombang 260 nm dan iradiasi sinar ultraviolet maksimal oleh protein dicapai pada panjang gelombang 280 nm dalam larutan (Indriati, 2021). Hasil analisis konsentrasi DNA yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut.

**Tabel 1.** Hasil Analisis Konsentrasi DNA

Sampel Produk Olahan Daging	Rata-rata Konsentrasi DNA (ng/ $\mu$ l)
A1	6,20 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>
A2	10,83 $\pm$ 0,28 <sup>ab</sup>
B1	47,37 $\pm$ 3,11 <sup>c</sup>
B2	126,47 $\pm$ 7,61 <sup>d</sup>
BB	101,30 $\pm$ 2,80 <sup>e</sup>
S1	104,02 $\pm$ 9,62 <sup>ef</sup>
S2	68,37 $\pm$ 1,54 <sup>g</sup>

**Keterangan:** Rerata pada kolom yang sama dengan huruf berbeda menandakan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) menurut uji Lanjut Duncan. Data dinyatakan sebagai rata-rata  $\pm$  Standar Deviasi dari pengulangan sebanyak 3 kali.

Daging sapi dan daging babi yang murni digunakan sebagai kontrol karena mempunyai jaringan daging tanpa campuran bahan lain dan mempunyai jumlah sel yang banyak sehingga diperoleh konsentrasi yang besar. Konsentrasi DNA dalam daging sapi sebesar 313,50 ng/ $\mu$ l dan daging babi sebesar 183,50 ng/ $\mu$ l. Pada Tabel 1 menunjukkan rata-rata nilai konsentrasi DNA yang diperoleh dari sampel produk olahan daging mempunyai rentang antara 6,20 ng/ $\mu$ l – 126,47 ng/ $\mu$ l. Konsentrasi DNA yang kecil terdapat pada sampel abon (A1 dan A2) sebesar 6,20 ng/ $\mu$ l dan 10,83 ng/ $\mu$ l. Hasil konsentrasi DNA yang kecil disebabkan oleh sampel olahan daging terdegradasi karena proses pengolahan sehingga DNA terfragmentasi, serta terdapat campuran bahan-bahan lain yang tidak mengandung DNA seperti tepung, rempah, dan lain-lain yang terkandung di dalam sampel yang diekstraksi. Beberapa perlakuan dalam pembuatan produk olahan daging menyebabkan kesulitan dalam melakukan isolasi dan ekstraksi DNA. Kesulitan dalam proses isolasi dan ekstraksi DNA dipengaruhi oleh beberapa tahapan penting, yaitu a) proses pengolahan produk olahan daging secara mekanik, seperti pencacahan dan penggilingan daging sehingga merubah ukuran partikel, bentuk, serta komposisi protein penyusun daging yang dapat mempengaruhi keadaan sel yang mengandung DNA, b) perlakuan pemanasan pada proses pengolahan menggunakan suhu dan tekanan tinggi, seperti perebusan dan penggorengan yang menyebabkan terjadi denaturasi protein dan mempengaruhi stabilitas DNA, dan c) bahan tambahan yang dicampurkan dalam produk olahan daging, seperti tepung dan bumbu-bumbu lain pada proses pengolahan (Indriati, 2021).

Berdasarkan analisis uji ANOVA nilai konsentrasi DNA memperoleh nilai Sig. sebesar  $< 0,001$  lebih kecil dari taraf signifikansi ( $\alpha$ ) 0,05 sehingga sampel olahan daging mempunyai nilai konsentrasi DNA yang berbeda nyata (Hunaefi, Shafira, Purnomo, Nurtama, & Indriani, 2020). Analisis lanjut dilakukan dengan uji lanjut Duncan pada taraf signifikansi ( $\alpha$ ) 0,05 yang diperoleh hasil ketiga sampel, yaitu sampel B1, S2, dan B2 berbeda nyata. Sampel A1 dan A2 tidak berbeda nyata, tetapi berbeda nyata dengan sampel B1, B2, BB, S1, dan S2. Sampel BB dan S1 tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan sampel A1, A2, B1, B2, dan S2. Hal ini disebabkan oleh jenis produk olahan daging yang diuji berbeda, konsentrasi bahan baku daging dalam setiap produk olahan daging berbeda, dan setiap jenis produk olahan daging telah mengalami proses pengolahan berbeda yang dapat menyebabkan DNA terfragmentasi (Indriati, 2021). Selain itu, faktor



penimbangan di awal dengan mengambil bagian cuplikan yang berbeda pada sampel produk olahan daging karena sampel mempunyai campuran bahan lain seperti tepung, rempah, dan bumbu lain yang tidak mengandung DNA. Selain menggunakan analisis konsentrasi DNA, untuk mengetahui kualitas atau mutu DNA dapat dilihat dari kemurnian DNA. Adapun hasil analisis kemurnian DNA yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut.

**Tabel 2.** Hasil Analisis Kemurnian DNA

Sampel Produk Olahan Daging	Rata-rata Kemurnian DNA
A1	1,754 ± 0,049 <sup>a</sup>
A2	1,836 ± 0,053 <sup>b</sup>
B1	1,810 ± 0,008 <sup>bc</sup>
B2	1,883 ± 0,019 <sup>c</sup>
BB	1,883 ± 0,005 <sup>c</sup>
S1	1,881 ± 0,027 <sup>c</sup>
S2	1,891 ± 0,008 <sup>c</sup>

**Keterangan:** Rerata pada kolom yang sama dengan huruf berbeda menandakan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) menurut uji Lanjut Duncan. Data dinyatakan sebagai rata-rata ± Standar Deviasi dari pengulangan sebanyak 3 kali.

Kemurnian DNA merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan kualitas DNA hasil isolasi dan mengetahui sumber kontaminan dari DNA hasil isolasi (Sophian & Yustina, 2022). Apabila standar nilai rasio absorbansi dari isolat DNA pada panjang gelombang 260 nm terhadap absorbansi dari isolat DNA pada panjang gelombang 280 nm ( $A_{260}/280$ ) antara 1,8 sampai 2,0 menandakan DNA yang murni terhadap protein (Widayat, *et al.*, 2019). Pada Tabel 3 menunjukkan rata-rata nilai kemurnian DNA pada sampel produk olahan daging diperoleh antara 1,754 – 1,891. Nilai kemurnian DNA dalam daging sapi sebesar 1,876 dan daging babi sebesar 1,948 yang digunakan sebagai kontrol. Sampel produk olahan daging abon (A1) mempunyai rata-rata kemurnian DNA sebesar 1,754 yang lebih kecil dari standar nilai rasio absorbansi dari isolat DNA  $A_{260}/280$  antara 1,8 – 2,0. Hal ini dapat disebabkan pada proses isolasi dan ekstraksi DNA yang kurang optimal (Mustaqimah *et al.*, 2021). Nilai kemurnian DNA dibawah 1,8 menandakan di dalam DNA terdapat kontaminan seperti protein dan polisakarida, sedangkan nilai kemurnian DNA diatas 2,0 menandakan di dalam DNA terdapat kontaminan, seperti fenol yang mempunyai serapan maksimal pada panjang gelombang 260 nm. Apabila diperoleh kemurnian DNA dari sampel daging yang lebih tinggi dibandingkan DNA dari produk olahan dapat terjadi karena kontaminasi protein dan bahan campuran lain yang digunakan dalam produk olahan (Indriati, 2021).

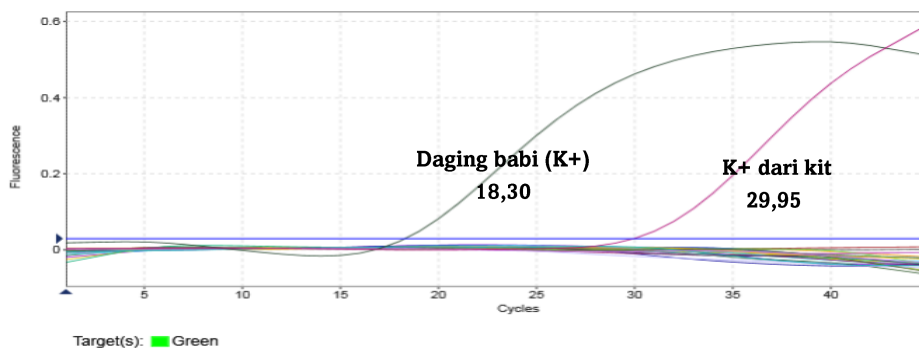
Hasil analisis uji ANOVA nilai kemurnian DNA memperoleh nilai Sig. sebesar  $< 0,001$  lebih kecil dari taraf signifikansi ( $\alpha$ ) 0,05 sehingga sampel olahan daging mempunyai nilai kemurnian DNA yang berbeda nyata (Hunaefi, Shafira, Purnomo, Nurtama, & Indriani, 2020). Analisis lanjut dilakukan dengan uji lanjut Duncan pada taraf signifikansi ( $\alpha$ ) 0,05 dengan diperoleh hasil sampel A1 berbeda nyata dengan keenam sampel produk olahan daging lainnya, sedangkan sampel A2, B1, B2, BB, S1 dan S2 tidak berbeda nyata. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya proses isolasi dan ekstraksi yang tidak berjalan baik sehingga mempengaruhi kualitas kemurnian DNA. Nilai kemurnian DNA yang tidak berada dalam rentang standar nilai rasio absorbansi dari isolat DNA  $A_{260}/280$  antara 1,8 – 2,0 karena terdapat reagen seperti fenol, alkohol, dan kloroform yang digunakan pada proses ekstraksi yang terbawa ke dalam larutan DNA, serta dapat disebabkan oleh keberadaan protein, RNA, dan pengotor lainnya yang berasal dari sampel dalam larutan DNA setelah proses isolasi dan ekstraksi DNA (Indriati, 2021). Nilai kemurnian DNA yang tidak memenuhi standar nilai rasio absorbansi dari isolat DNA  $A_{260}/280$  antara 1,8 – 2,0 tetap dapat dilanjutkan ke tahap deteksi menggunakan metode

RT-PCR karena metode tersebut mempunyai efisiensi dan sensitivitas yang tinggi dalam melakukan deteksi secara akurat (Wahyuni *et al.*, 2019). Hal-hal tersebut yang didasarkan pada hasil analisis konsentrasi dan kemurnian DNA menunjukkan semua sampel produk olahan daging dapat dilanjutkan ke tahap deteksi DNA dengan metode RT-PCR.

### 3.2. Deteksi DNA dengan metode RT-PCR

Deteksi DNA babi dalam produk olahan daging bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan DNA babi dalam sampel dengan metode *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan mericon pig kit dengan 2 *fluorescence reporter dye*, yaitu FAM dan VIC yang digunakan untuk melihat kurva amplifikasi yang dihasilkan (Mustaqimah *et al.*, 2021). Deteksi DNA target menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* FAM dengan *channel Green*. Deteksi *internal control* menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* VIC dengan *channel Yellow* (Cahyaningsari *et al.*, 2019). Deteksi DNA dengan metode RT-PCR pada semua sampel produk olahan daging dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

Hasil deteksi DNA target menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* FAM dengan *channel Green* pada metode RT-PCR yang diperoleh dapat dilihat melalui kurva amplifikasi pada Gambar 4 sebagai berikut.



**Gambar 4.** Kurva Amplifikasi Hasil Deteksi DNA Target Menggunakan *Fluorescence Reporter Dye* atau *Fluorophore* FAM dengan *Channel Green*

*Fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* FAM dengan *channel Green* untuk mengetahui ada atau tidak kurva amplifikasi dari DNA babi dalam sampel dan kontrol positif yang telah teramplifikasi ditandai dengan kenaikan kurva dan nilai Ct (*cycle threshold*) (Mustaqimah *et al.*, 2021). Nilai Ct merupakan jumlah dari siklus sampel yang mulai dapat terbaca sebagai permulaan fase pertumbuhan eksponensial (Zilhada, Izzah, & Betha, 2017). Hasil dinyatakan terdeteksi apabila sampel DNA teramplifikasi pada *detection system* dengan nilai *cycle threshold* (Ct) dibawah 35. Hasil dinyatakan tidak terdeteksi apabila sampel DNA tidak teramplifikasi pada *detection system* (Cahyaningsari *et al.*, 2019). Berdasarkan Gambar 4 hasil deteksi DNA menunjukkan kenaikan kurva hanya terjadi pada kontrol positif (K+) dari daging babi hasil ekstraksi dan kontrol positif (K+) dari kit. Pada kontrol positif dari daging babi hasil ekstraksi menunjukkan nilai Ct sebesar 18,30 dan kontrol positif dari kit menunjukkan nilai Ct sebesar 29,95. Berdasarkan kurva diatas, kontrol positif (K+) dari daging babi hasil ekstraksi dan kontrol positif (K+) dari kit mengalami kenaikan kurva yang menandakan DNA teramplifikasi dan mempunyai nilai Ct dibawah 35 sehingga terdeteksi adanya DNA Babi. Kurva amplifikasi kontrol positif (K+) dari daging babi hasil ekstraksi telah teramplifikasi lebih dahulu dibandingkan kurva amplifikasi kontrol positif

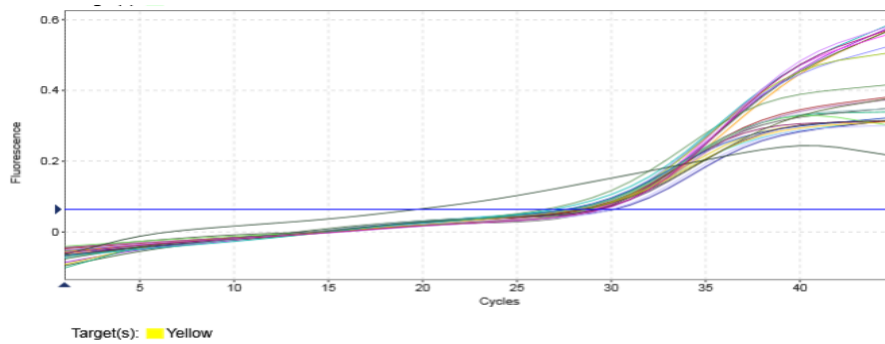
(K+) dari kit. Nilai Ct yang semakin rendah menunjukkan jumlah DNA target atau konsentrasi DNA yang semakin tinggi, sedangkan nilai Ct yang semakin tinggi menunjukkan jumlah DNA target atau konsentrasi DNA yang semakin rendah (Zilhadia *et al.*, 2017). Berdasarkan nilai Ct yang diperoleh kontrol positif dari daging babi hasil ekstraksi mempunyai nilai Ct lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif (K+) dari kit yang menunjukkan jumlah DNA target atau konsentrasi DNA yang teramplifikasi dari hasil *running* RT-PCR yang dimiliki oleh kontrol positif dari daging babi hasil ekstraksi lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif (K+) dari kit. Berdasarkan Gambar 4 hasil deteksi DNA menunjukkan bahwa kontrol negatif, yaitu NTC, kontrol ekstraksi blanko, dan daging sapi hasil ekstraksi, serta sampel produk olahan daging tidak menunjukkan terjadi adanya kenaikan kurva dan tidak terdapat nilai Ct yang muncul. Hal ini menunjukkan bahwa pada sampel produk olahan daging tidak terdeteksi kandungan DNA babi. Nilai Ct yang diperoleh dari hasil deteksi *internal control* yang teramplifikasi menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* VIC dengan *channel yellow* dapat dilihat pada Tabel 5 sebagai berikut.

**Tabel 3.** Nilai Ct hasil deteksi *internal control* menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* VIC

Sampel	Nilai Ct		
	1	2	3
A1	28,64	28,74	29,13
A2	29,02	27,92	27,86
B1	27,93	30,16	27,92
B2	27,71	28,28	29,40
BB	28,62	27,59	28,76
S1	26,47	29,49	29,29
S2	28,31	28,08	30,04
Daging Sapi		28,47	
KEB		26,91	
NTC		29,60	
Daging Babi		19,69	
K+ dari Kit		29,40	

**Keterangan:** K+ dari kit = Kontrol Positif Babi dari Mericon Pig Kit

Keberhasilan pada proses RT-PCR dilihat dari *internal control* dalam *detection system* dengan nilai *cycle threshold* (Ct) dibawah 35 (Cahyaningsari *et al.*, 2019). Hasil deteksi *internal control* menggunakan *fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* VIC dengan *channel Yellow* pada metode RT-PCR yang diperoleh menunjukkan adanya kenaikan kurva pada sampel olahan daging, kontrol positif, dan kontrol negatif. Hal ini dapat dilihat melalui kurva amplifikasi pada Gambar 5. Berdasarkan kurva hasil deteksi *internal control* diperoleh nilai Ct dibawah 35 dan terjadi kenaikan kurva amplifikasi yang menunjukkan bahwa kinerja kit pereaksi (*mastermix*) sebagai *internal control* dalam proses amplifikasi menggunakan RT-PCR telah berhasil berjalan optimal. *Fluorescence reporter dye* atau *fluorophore* VIC digunakan untuk menunjukkan keberhasilan dalam proses RT-PCR dengan melihat *internal control* yang ditandai dengan kenaikan kurva dan nilai Ct (Mustaqimah *et al.*, 2021).



**Gambar 5.** Kurva Amplifikasi Hasil Deteksi *Internal Control* Menggunakan *Fluorescence Reporter Dye* atau *Fluorophore* VIC dengan *Channel Yellow*

#### 4. KESIMPULAN

Produk olahan daging yang beredar di masyarakat perlu dilakukan pengawasan melalui deteksi DNA babi (komponen babi) beserta turunannya menggunakan metode RT-PCR. Hasil deteksi DNA babi dengan metode RT-PCR menunjukkan bahwa pada sampel produk olahan daging, yaitu bakso, sosis, beef burger, dan abon tidak terdeteksi kandungan DNA babi beserta komponen turunannya. Kinerja kit pereaksi (*mastermix*) sebagai *internal control* dalam proses amplifikasi bekerja dengan optimal yang ditandai dengan kenaikan kurva amplifikasi dan nilai Ct yang muncul pada sampel olahan daging, kontrol positif, dan kontrol negatif. Hal tersebut menjamin kesehatan, keamanan pangan, kehalalan, mengurangi rasa kekhawatiran, dan memberikan ketenangan batin pada masyarakat.

#### 5. UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia yang telah memberikan beasiswa dan dana penelitian. Selain itu, kami mengucapkan terimakasih kepada Kepala Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan di Palangka Raya dan staf atas bantuan dan fasilitas laboratorium selama melaksanakan penelitian.

#### 6. DEKLARASI

##### Taksonomi peran kontributor

**Kay Almira** : Penulisan-draft asli, semua penulis menulis naskah dan menyetujui versi finalnya. **Athiefah Fauziyyah**: Menulis- draf asli. Semua penulis menuliskan naskah dan menyetujui versi finalnya.

##### Pernyataan pendanaan

Penelitian ini dilakukan dengan adanya dukungan dana berupa anggaran dari Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.

#### DAFTAR PUSTAKA

Adhiyanto, C., Hendarmin, L., & Puspitaningrum, R. (2020). *Pengenalan dasar teknik bio-molekuler*. Deepublish.

- Andriyani, E., Fais, N. L., & Muarifah, S. (2019). Perkembangan Penelitian Metode Deteksi Kandungan Babi untuk Menjamin Kehalalan Produk Pangan Olahan. *Journal of Islamic Studies and Humanities*, 4 (1), 104–126. <https://doi.org/10.21580/jish.41.4888>
- Cahyaningsari, D., Latif, H. & Sudarnika, E.(2019). Identifikasi Penambahan Daging Babi pada Pangan Berbahan Dasar Daging Sapi Menggunakan ELISA dan qPCR (Identification of Pork and Wild Boar Meat Alduteration in Beef and Beef Product Using ELISA and qPCR). *ACTA VETERINARIA INDONESIA*, 7(2), 17–25. <http://www.journal.ipb.ac.id/indeks.php/actavetindones>
- Erwanto, Y., Rohman, A., Zainal Abidin, M., & Ariyani, D. (2012). Identifikasi Daging Babi Menggunakan Metode Pcr-Rflp Gen Cytochrome B Dan Pcr Primer Spesifik Gen Amelogenin Pork Identifi Cation Using Pcr-Rflp Of Cytochrome B Gene And Species Specific Pcr Of Amelogenin Gene. *AGRITECH*, 32(4)
- Harisah, S. U. (2017). *Analisis cemaran daging babi pada sosis sapi yang beredar di Pasar Parung menggunakan metode Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)* Skripsi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta]. Institutional Repositori UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Hunaefi, D., Shafira, N. A., Purnomo, I., Nurtama, B., & Indriani, S. (2020). *Rancangan percobaan untuk teknologi pangan*. Penerbitan Universitas Terbuka
- Hutami, R., Bisryi, H., Nuraini, H., Ranasasmita, R., Teknologi Pangan dan Gizi, J., & Ilmu Pangan Halal, F. (2018). *Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis dengan Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) DNA Extraction from Raw Meat for Analysis with the Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method* (Vol. 4).
- Indriati, M. (2021). Deteksi Kandungan Babi Pada Produk Olahan Daging Menggunakan Metode Multiplex PCR Di Kabupaten Pandeglang. *Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, 16(1).
- Koeswardhani, M. M. Amar, A., Muhami, Rosandari, T., Dharmawita, A.A.A., & Saragih, R. (2020). *Pengantar teknologi pangan*. Penerbitan Universitas Terbuka.
- Mardiah, Amalia, L., & Trimelati, D. A. (2021). *Analisis Kehalalan Daging Sapi Dengan Metode Pork Detection Kit (Pdk) dan Analisis Tingkat Kepedulian Konsumen dalam Mengonsumsi Daging Sapi Halal di Kota Bekasi Analysis of Halal Beef using The Pork Detection Kit (PDK) Methods and Analysis of The Level Of Consumers' Concern in Consuming Halal Beef in Bekasi City* (Vol. 7, Issue 2).
- Maulani, T. R., Susilo, H., Indriati, M., & Suhaemi, A. (2020). Deteksi cemaran DNA babi Dengan RT-PCR pada sosis tanpa logo halal di Kabupaten Pandeglang. *Gorontalo Agriculture Techology Journal*, 3 (2), 72-80. doi:10.32662/gatj.v3i2.1171.
- Muchtadi, T. R. (2019). *Pengetahuan bahan pangan*. Penerbitan Universitas Terbuka.
- Muhami, Koeswardhani, M., Rosandari, T., Rasyid, R., Saragih, R., Surono, I. S., Tampubolon, E. S., Dharmawati, A. A. A., Sukotjo, S., & Syahril. (2019). *Teknologi pengolahan pangan*. Penerbitan Universitas Terbuka.
- Mustaqimah, D. N., Septiani, T., & Roswiem, A. P. (2021). *Deteksi DNA Babi pada Produk Sosis Menggunakan Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*. *Indonesian Journal of Halal*, 3 (2), 106-111. doi:10.14710/halal.v3i2.10130.
- Patriani, P., Hafid, H., Mirwandhono, R. E., & Wahyuni, T. H. (2020). *Teknologi pengolahan daging*. Anugerah Pangeran Jaya Press.
- Peraturan Pemerintah No. 31 Tahun 2019 tentang Peraturan Pelaksanaan Undang-Undang No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal. <https://peraturan.bpk.go.id/Home/Details/161941/pp-no-31-tahun-2019>
- Peraturan Pemerintah No. 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan. <https://peraturan.bpk.go.id/Home/Details/129230/pp-no-86-tahun-2019>
- Septiani, T. (2019). Detection of Porcine DNA in Processed Beef Products Using Real Time-Polymerase Chain Reaction. *Indonesian Journal of Halal Research*, 1(2), 31–34. <https://doi.org/10.5575/ijhar.v1i2.5601>
- Sophian, A., & Yustina, Y. (2023). Analisis Nilai Kemurnian DNA Menggunakan Nano Fotometer pada Rasio 260/230 yang Diisolasi dari Produk Nugget. *Muhammadiyah Journal of Nutrition and Food Science (MJNF)*, 3(2), 82. <https://doi.org/10.24853/mjnf.3.2.82-86>
- Syah, D. & Nurjanah, N. (2019). *Biokimia pangan*. Penerbitan Universitas Terbuka.

- Wijaya, C. H., Kristanto, A., Rana, B., Indriastanti, F., Bowo, A., & Rachman, Z. A. (2021). *Regulasi pangan*. Penerbitan Universitas Terbuka.
- Widayat, Agustini, T. W., Suzery, M., Al-Baarri, A. N., Putri, S. R., & Kurdianto (2019). *Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sebagai Alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non-Pangan*. *Indonesian Journal of Halal*, 2 (1), 26-33. doi:10.14710/halal.v2i1.5361.
- Wahyuni, S., Maryam, S., & Aminah, A. (2019). Validasi Metode Analisis Cemaran DNA Babi pada Bakso Sapi Menggunakan Primer Mitokondria D-Loop22 dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy (e-Journal))*, 5(1), 65–72. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12035>
- Zilhadia, Z., Adhiyanto, C., Gustida, A., & Khairunnisa, N. (2020). Analisis Cemaran Daging Babi pada Bakso Sapi yang Dijual di Tanjung Priok menggunakan Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(1), 83. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.1.83-91.2020>
- Zilhadia, Z., Izzah, A. N., & Betha, O. S. (2017). Perbandingan Metode SYBR Green dan Hydrolysis Probe dalam Analisis DNA Gelatin Sapi dan Gelatin Babi Menggunakan Real Time Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.4.1.194>
- Zuraeda, K. (2018). *Analisis cemaran daging babi pada produk bakso sapi yang beredar di Kecamatan Ciputat Timur menggunakan Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)* [Skripsi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta]. Institutional Repositori UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.