

PERKEMBANGAN PENELITIAN METODE DETEKSI KANDUNGAN BABI UNTUK MENJAMIN KEHALALAN PRODUK PANGAN OLAHAHAN

Elisa Andriyani¹, Nor Lutfi Fais², Siti Muarifah³
Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang
Email: ¹elisa.andriyani98@gmail.com, ²fais.enelf@gmail.com,
³sitimuarifah88@gmail.com

Abstract

Halal food is the most important thing to be considered by the Indonesian Muslim community. Halal food must be free from pork contents both as a basic ingredient and in the manufacturing process. Halal issues arise when there is a process of mixing meat or lard (adulteration) in halal animal meat for economic purposes. This research is a literature study that aims to examine the development of research on methods of detection of pig content in food products to ensure a food product is free from pig content and its derivatives. The method used is the study of literature in the form of journal articles, proceedings, conferences, online news and official sites that have relationships or keywords related to the method of pig content detection. The assessment results show that the detection methods that can be used are PDK (Pork Detection Kit) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) analysis methods to detect pig protein. RT-PCR (Real-Time Polymerase Chain Reaction) and digital PCR duplex droplet methods for detecting pig DNA. Gas chromatography (GC) methods, UV-Vis spectroscopy and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR spectroscopy) for analysis of lard. The digital PCR (dddPCR) duplex droplet method has a very specific ability to detect pork content in processed food products compared to other methods. The dddPCR detection and quantification system is suitable for quality control and routine analysis of meat products. This can be taken into consideration for the development of research methods to detect pork content in processed food products that are more effective and efficient in the future.

Abstrak

Makanan halal merupakan suatu hal yang sangat penting untuk diperhatikan oleh masyarakat muslim Indonesia. Makanan halal harus terbebas

dari kandungan babi baik sebagai bahan dasar maupun dalam proses pembuatannya. Permasalahan kehalalan timbul ketika terdapat proses pencampuran daging atau lemak babi (adulterasi) pada daging hewan halal untuk tujuan ekonomis. Penelitian ini merupakan studi literatur yang bertujuan untuk menelaah perkembangan penelitian mengenai metode deteksi kandungan babi pada produk makanan guna memastikan suatu produk makanan bebas dari kandungan babi dan turunannya. Metode yang digunakan adalah studi literatur berupa artikel jurnal, prosiding, konferensi, berita daring dan official sites yang memiliki hubungan atau kata kunci yang berkaitan dengan metode deteksi kandungan babi. Hasil pengkajian menunjukkan bahwa metode deteksi yang dapat digunakan yaitu metode analisis PDK (Pork Detection Kit) dan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) untuk mendeteksi protein babi. Metode RT-PCR (Real-Time Polymerase Chain Reaction) dan duplex droplet digital PCR untuk mendeteksi DNA babi. Metode gas chromatography (GC), spektroskopi UV-Vis serta spektroskopi Fourier-transform infrared (spektroskopi FTIR) untuk analisis lemak babi. Metode duplex droplet digital PCR (dddPCR) memiliki kemampuan yang sangat spesifik untuk mendeteksi kandungan babi dalam produk pangan olahan dibandingkan dengan metode yang lain. Sistem deteksi dan kuantifikasi dddPCR cocok digunakan untuk kontrol kualitas dan analisis rutin produk daging. Hal ini dapat dijadikan pertimbangan untuk pengembangan metode penelitian untuk mendeteksi kandungan babi pada produk olahan pangan yang lebih efektif dan efisien di masa yang akan datang.

Keywords: babi; halal; produk pangan olahan; studi literatur.

Pendahuluan

Makanan telah menjadi kebutuhan dasar manusia. Setiap makanan yang dikonsumsi biasanya mencerminkan gaya hidup, budaya, agama, dan kesehatan suatu kelompok masyarakat. Dalam komunitas umat muslim, keputusan untuk mengonsumsi suatu makanan bergantung pada status kehalalannya. Makanan yang dikonsumsi oleh umat muslim harus memenuhi syarat-syarat yang telah ditetapkan oleh agama islam yaitu *halalan thayiban*¹. Seiring dengan meningkatnya kesadaran umat muslim tentang pentingnya mengonsumsi

¹ Waharjani, "Makanan yang Halal Lagi Baik dan Implikasinya Terhadap Kesalahan Seseorang". *Jurnal Komunikasi dan Pendidikan Islam*. Vol. 4 No. 2. Desember 2015. Hal. 193

makanan yang terjamin kehalalannya. Maka, hal tersebut mendasari banyaknya penelitian mengenai uji kehalalan suatu produk makanan.

Halal adalah istilah Arab dan dalam Al-Quran yang artinya diizinkan, disetujui, diperbolehkan. Hal ini merujuk pada makanan atau produk-produk yang boleh dikonsumsi oleh umat muslim. Halal juga dapat diekpresikan sebagai sesuatu yang diperbolehkan untuk dikonsumsi². Istilah halal juga digunakan sehubungan dengan adanya izin untuk memakan dan mengonsumsi barang-barang yang lainnya.

Pedoman tentang halalnya suatu makanan dijelaskan oleh Allah di dalam Al-Quran Surah Al-Maidah ayat 3 yang artinya “*Terlarang bagimu (untuk memakan) bangkai, darah, daging babi, (daging hewan) yang disembelih atas nama selain Allah, ...*” Haram adalah kebalikan dari halal sedangkan syubhat berarti ragu atau kecurigaan.

Makanan dan bahan-bahan yang dianggap haram untuk dikonsumsi umat muslim dapat diklasifikasikan dalam empat jenis antara lain yaitu bangkai, babi dan turunannya, alkohol dan turunannya serta darah dan turunannya. Selain itu, makanan yang terkontaminasi dengan produk-produk yang tersebut juga haram untuk dikonsumsi³. Ketersediaan pangan yang aman, bergizi, dan sesuai dengan daya beli masyarakat serta tidak bertentangan dengan nilai-nilai agama, budaya maupun keyakinan seseorang adalah hak warga negara yang dijamin oleh Undang-Undang Dasar 1945 dan Undang-Undang Perlindungan Konsumen Nomor 8 Tahun 1999. Menurut keputusan Menteri Agama RI No. 581 Tahun 2001 definisi pangan halal adalah pangan yang tidak mengandung unsur atau bahan haram atau dilarang untuk dikonsumsi umat Islam, dan pengolahannya tidak bertentangan dengan syariat Islam⁴.

² Ahmad Robin Wahab, “Guidelines for the preparation of halal food and goods for the Muslim consumers”, diakses dari <http://www.halalrc.org/> tanggal 30 Oktober 2019 pukul 08.57 WIB

³ Siti Zulaekah dan Yuli Kusumawati, “Halal dan Haram Makanan dalam Islam”, *Jurnal SUHUF*, Vol. XVII, No. 01. Mei 2005. Hal 26.

⁴ May Lim Charity, “Jaminan produk halal di Indonesia (*Halal products guarantee in Indonesia*)”, *Jurnal Legislasi Indonesia*. Vol. 14, No. 01. Maret 2017. Hal 99-108

Seiring dengan semakin bervariasinya produk makanan yang beredar di pasaran. Baik produk dalam negeri maupun impor dari luar negeri satu sisi memberikan kebebasan bagi konsumen untuk memilih produk makanan sesuai dengan keinginan. Namun, kemajuan teknologi industri makanan semakin banyak memperkenalkan kerumitan bahan baku dan produk olahannya di pasaran. Sehingga terdapat kesulitan untuk mengidentifikasi atau melacak asal bahan suatu produk makanan. Meskipun, pembuatan produk tersebut sudah menggunakan teknologi modern, tetapi masih memungkinkan adanya pencampuran bahan baku atau bahan-bahan lain yang berasal dari sumber yang tidak halal seperti babi.

Seperti kasus bakso babi berlabel halal pada tahun 2012 merupakan contoh permasalahan yang merugikan produsen, konsumen, dan dunia usaha. Secara umum, masalah kontaminasi haram difokuskan pada produk hewani. Hal ini dilakukan oleh produsen makanan dalam rangka menekan biaya produksi dan meningkatkan keuntungan yang diperoleh⁵.

Kasus pengoplosan daging babi dengan daging sapi, daging ayam dan produk halal lainnya. Pengoplosan dapat terjadi pada produk segar daging babi dapat dibedakan dari daging sapi, ayam, kerbau dan lainnya, dimana daging babi mempunyai karakteristik serat daging yang halus, lemak di luar lapisan daging dan dagingnya berwarna merah muda. Namun, kandungan daging babi pada produk olahan seperti bakso, nugget, burger, dan sosis menjadi susah karena tidak dapat dibedakan secara makroskopis⁶.

Adanya substitusi bahan baku atau bahan tambahan lainnya sering tidak diinformasikan oleh produsen kepada konsumen. Sehingga, perlu dilakukan verifikasi terhadap produk makanan yang beredar di pasaran apakah terdapat kontaminasi babi atau tidak. Pengujian ilmiah merupakan sebuah solusi dalam menjawab permasalahan tersebut. Karena saat ini, bahan baku asal hewan halal dan non-halal

⁵ “Bakso Babi berlabel halal, PAN: MUI Kebobolan”, dalam <http://www.jaringnews.com> (31 Oktober 2019)

⁶ Sandra,H. dan Meutia, C.D.K, “Identifikasi daging babi dalam sosis melalui karakteristik protein *Myofibril*”, *Jurnal Ternak*. Vol 02, No. 01. 2011. Hal 8-15

telah benar-benar dimodifikasi sehingga sangat sulit untuk mengidentifikasi dan mengkonfirmasi apakah suatu produk makanan tersebut halal atau haram.

Terdapat beberapa metode yang telah dikembangkan untuk mengetahui adanya kontaminasi kandungan babi pada suatu produk daging olahan. Beberapa metode telah dikembangkan dengan banyak metode menggunakan protein atau DNA. Analisis dengan protein meliputi *immunoassay*, elektroforesis dan kromatografi⁷. Namun, metode ini memiliki kelemahan karena protein akan kehilangan aktivitas biologisnya setelah hewan mati. Selain itu, sifat protein yang kurang efektif setelah daging mengalami pemrosesan yang tinggi karena protein dapat terdenaturasi pada suhu tinggi, dan tekanan tinggi sehingga menghambat proses analisis⁸.

Dengan demikian tulisan ini bertujuan untuk meninjau beberapa teknologi laboratorium yang dapat digunakan untuk menyelidiki beberapa zat yang telah diketahui keharamannya maupun yang masih diragukan keharamannya. Zat-zat tersebut antara lain yaitu babi dan turunannya, gelatin, kolagen, pengemulsi (monogliserida dan digliserida), lemak dan minyak, serta DNA. Sehingga diperoleh suatu metode yang efektif dan efisien untuk memverifikasi kehalalan suatu produk pangan guna memberikan informasi halal yang tepat untuk keperluan konsumen.

Metode Deteksi Makanan Halal untuk Menghindari Pemalsuan Menggunakan Perbedaan Metode Analisis

Identifikasi dan proses verifikasi bahan dalam suatu produk olahan makanan adalah sebuah langkah yang harus dilakukan untuk menjamin hak-hak konsumen. Keaslian suatu bahan dan memastikan bahwa bahan tersebut berasal dari sumber yang halal menjadi tujuan dari metode-metode deteksi makanan halal saat ini. Pengujian

⁷ Asensio *et al.* "Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)", *Food Control*. Vol 19, No. 1. 2008. Hal 1-8.

⁸ Soares *et al.*, "Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay". *Meat Science*. Vol 85, No. 3. 2010. Hal 531-536

keaslian dan teknik analisis telah mengalami perkembangan yang sangat pesat. Masing-masing teknik dikembangkan secara spesifik dan disesuaikan untuk menangani masalah tertentu. Teknik yang paling cocok untuk sampel tertentu sering ditentukan berdasarkan sifat sampel itu sendiri, misalnya apakah itu mentah atau dimasak, makanan utuh atau bentuk padat, padat semi-padat atau cair⁹.

Adanya keharusan untuk mendapatkan sertifikasi halal bagi suatu produk makanan atau minuman memiliki tujuan untuk memastikan kualitas dan mengurangi informasi palsu pada label suatu produk. Otentikasi adalah proses dimana makanan diverifikasi sesuai dengan deskripsi labelnya. Ada banyak metode analisis yang saat ini digunakan untuk mendeteksi otentikasi makanan halal antara lain yaitu metode analisis *Pork Detection Kit (PDK)*, *EnzymLinked Immunosorbent Assay (ELISA)*, *Real-Time Polymerase Chain Reaction DNA (RT-PCR)*, *duplex droplet digital PCR (dddPCR)*, *Gas Chromatography (GC)*, *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometri (GC-MS)*, *Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FTIR)*, *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*, *Proton Nuclear Magnetic Resonance (1H NMR) Spectroscopy*.

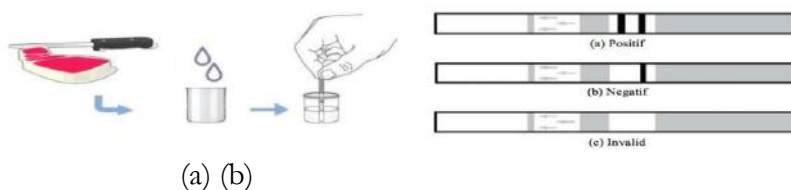
Metode dan Konsep Aplikasi

Pork Detection Kit (PDK)

Pork Detection Test/Porcine Test merupakan uji cepat immunochromatographic (lateral flow) yang digunakan untuk pengujian kualitatif atau semi-kuantitatif penentuan antigen daging babi. Pork Detection Test/Porcine Test adalah metode berbasis protein yang berdasarkan pada ikatan antibodi-antigen. Kelemahan metode berbasis protein adalah sifat protein yang tidak stabil terhadap panas dan perlakuan lain. Proses kerja dari Pork Detection Test/Porcine Test yaitu antigen dari sampel akan terikat oleh antibodi spesifik yang melekat pada warna partikel mikro selanjutnya mengalir ke garis tes dan bercampur dengan antibodi babi hingga membentuk garis berwarna

⁹ Khadijah, N. *et al.*, "Halal authenticity issue in meat and meat products". *Meat science*. Vol. 91. Hal 207-214

yang menunjukkan hasil positif 10 . Prosedur pengujian dan interpretasi hasil ditunjukkan pada gambar 1 dan gambar 2.



Gambar 1. (a) prosedur pengujian dan (b) interpretasi hasil pengujian menggunakan Pork Detection Test/ Porcine Test

Chromatography

Gas Chromatography (GC)

Gas chromatography (GC) juga dikenal sebagai *vapour phase chromatography* (VPC). Gas chromatography (GC) memberikan waktu analisis yang lebih singkat dan suhu elusi sampel lebih rendah karena laju aliran yang lebih tinggi dan berat molekul yang lebih rendah¹¹. Adanya pemalsuan makanan terutama dalam miyak, lemak dan alkohol telah menjadi masalah bagi konsumen muslim. Teknik ini mendeteksi pemalsuan dengan membandingkan waktu retensi dan daerah puncak asam lemak yang telah diderivatisasi menjadi metil asam lemak ester terhadap standar yang sesuai.

Struktur dan komposisi asam lemak dalam lemak dan minyak dapat digunakan sebagai indikator dalam penentuan sumber lipid¹². Selain itu, kromatografi gas dapat digunakan untuk melihat profil metabolik alkohol yang berasal dari berbagai sumber karena minuman beralkohol sering digunakan sebagai bahan untuk penyedap rasa dan pengawet dalam industri makanan. Seperti yang telah kita ketahu

¹⁰ “Brosur Pork Detection Kit (Porcine Test E Catalogue)”, dalam https://ekatalog.lkpp.go.id/backend/produk/download_lampiran/104274 (diakses tanggal 31 Oktober 2019)

¹¹ Steven, M.C. dan Russell, J. M. 2008. *Bioactive natural products : detection, isolation, and structural determination*. CRC Press, Boca Raton. 2008. Hal 21-25

¹² Fang, G., Goh, J.Y., Tay, M., Lau, H.F., Li, S.F.Y. 2013. Characterization of oils and fats by ¹H NMR and GC/MS fingerprinting: classification, prediction and detection of adulteration. *Food chemistry*. 138, 1461-1469.

dalam hukum islam bahwa lemak babi, babi dan alkohol dilarang untuk dikonsumsi oleh umat islam. Oleh karena itu, pengembangan teknik GC menggunakan berbagai detektor sangat diminati dalam otentikasi makanan halal untuk mengidentifikasi adanya alkohol dan sumber lipid dalam makanan. Tabel 3. menunjukkan berbagai detektor yang digunakan dalam GC untuk otentikasi produk makanan dan minuman.

Tabel 3. Analisis kegunaan GC untuk dalam otentikasi halal produk makanan

Detektor GC	Kasus	Jenis makanan	Referensi
GCMS-HS	Pencampuran	Meat & babi sausage	Nurjuliana et al. (2011)
GC x GCTOF-MS	Pencampuran	Animal fats lemak hewan	Indrasti et al. (2010)

Gas Chromatography-Mass Spectrophotometri (GC-MS)

Gas Chromatography-Mass Spectrophotometri (GC-MS) dapat digunakan untuk menganalisa kehalalan suatu produk pangan yang mengandung lemak hewani khususnya lemak babi yaitu dengan mengubah asam lemak suatu sampel menjadi derivat esternya yang selanjutnya dianalisa dengan menggunakan GC-MS¹³.

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) adalah teknik modern yang secara luas digunakan untuk pemisahan analitik dan preparative senyawa yang terkandung dalam suatu campuran¹⁴. Aplikasi untuk analisis kontaminan atau deteksi pemalsuan dalam makanan telah banyak dilakukan karena teknik ini memiliki banyak keunggulan. Salah satu keunggulannya adalah dapat memisahkan komponen sampel yang tidak mudah menguap menjadi dapat

¹³ Czarniecki, J. et al. 2003. *GC/MS Analysis for Unsaturated Fat Content in Animal Feed*. Switzerland: Nafag Company

¹⁴ Fanali, C., et al. 2015. *Chapter 24: High-performance liquid chromatography: an established separation technique in food chemistry*. In Nolle, L.M.L. and Toldra, F. (Ed.) in *Handbook of food analysis*. 3rd Edition – Volume II. CRC Press. Taylor & Francis Group, U.S.

dipisahkan dengan mudah oleh HPLC, selain itu teknik ini berlaku untuk senyawa yang sangat polar, masa molekul yang tinggi, komponen yang sangat ionik dan tidak stabil secara termal dalam sistem pangan. Keuntungan lain dari HPLC adalah bahwa derivatisasi analit tidak diperlukan se sering dalam analisis kromatografi gas¹⁵. Tabel 4 menunjukkan beberapa otentikasi halal damam produk makanan.

Tabel 4. Analisis metode HPLC untuk otentikasi halal dalam produk makanan.

Kasus	Jenis makanan	Hasil analisis	Referensi
Babi dan lemak babi (<i>pork and lard</i>) Daging babi (<i>pork</i>)	Kulit atau produk segar dari sapi, kambing, dan babi serta beberapa produk olahan makanan	Profil dari <i>triglyceride</i> babi berbeda dengan sapi atau kambing. Lemak babi memiliki <i>triglyceride</i> yang banyak dibandingkan daging yang lain.	Saeed et al. (1989)
	Produk olahan makanan dari daging babi, kambing, ayam, dan lemak kalkun	Mendeteksi lemak dari makanan olahan, pemisahan <i>triglyceride</i> dan menuji keaslian dan adanya pencampuran pada suatu produk	Rashood et al. (1995)

Spectrometry

- 1) Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS)

¹⁵ Marikkar, J.M.N., et al. 2005. Distinguishing lard from other animal fats in admixtures of some vegetable oils using liquid chromatographic data coupled with multivariate data analysis. *Food Chemistry*. 91, 5–14.

Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS) digunakan untuk identifikasi spesies dan untuk melihat profil protein. Teknik ini memiliki kelebihan yaitu handal, hemat biaya, sederhana, dan lebih cepat daripada fenotipik dan metode molekuler konvensional untuk identifikasi patogen manusia. Asal usul daging (babi, sapi, kuda, sapi dan ayam) dan gelatin (daging babi atau sapi) dapat diketahui menggunakan metode MALDI-TOFMS. Berdasarkan penelitian mereka MALDI-TOF-MS mampu mendeteksi hingga 1% gelatin dalam permen dan mendeteksi hingga 20% gelatin babi dalam gelatin daging sapi¹⁶. Hal ini, membuktikan bahwa metode ini berpotensi untuk penelusuran daging dan kolagen yang sistematis dan rutin.

2) Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FTIR)

Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FTIR) adalah teknik yang digunakan untuk memperoleh spectrum inframerah dari penyerapan, emisi, fotokonduktivitas atau raman hamburan benda padat, cair atau gas¹⁷. Analisa dengan menggunakan FTIR dapat digunakan untuk mengetahui kehalalan suatu produk makanan dengan melihat pola spektrum pada lemak hewannya. Hasil dari FTIR bisa menjelaskan kelompok fungsional produk sampel. Berbagai teknik FTIR diaplikasikan termasuk spektroskopi inframerah-dekat (14.000 hingga 4000 cm^{-1}) (NIR), spektroskopi inframerah-tengah (4000 hingga 400 cm^{-1}) (MIR) dan spektroskopi inframerah-jauh (ATR) (400 hingga 50 cm^{-1})¹⁸. Spektroskopi MIR dan NIR paling umum digunakan, sedangkan ATR digunakan sebagai analisis lanjutan untuk mendeteksi kontaminan makanan karena persiapan sampel yang lebih sedikit.

¹⁶ Flaudrops, C. et al. "Determination of the animal origin of meat and gelatin by MALDI-TOF-

MS". *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015. Vol. 41. pp. 104–112

¹⁷ Griffiths, P. dan de Hasseth, J.A. 2007. *Fourier Transform-Infrared Spectroscopy* (2 nd ed.). Wiley Blackckwell.

¹⁸ Domingo, E., Tirelli, A.A., Nunes, C.A., Guerreiro, M.C., Pinto, S.M. 2013 Melamine detection in milk using vibrational spectroscopy and chemometrics analysis: A review. *Food Research International*. 60. pp. 131-139.

Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FTIR) telah menjadi alternative yang menarik untuk metode analitik tradisional karena memerlukan sedikit persiapan sampel, penggunaan minimal pelarut berbahaya dan sensitivitas dan spesifitas tinggi sehingga dapat berfungsi dalam teknik sidik jari¹⁹. Selain itu metode FTIR dapat memberikan analisa lemak babi yang telah bercampur dengan lemak hewan lainnya secara konsisten, bahkan dengan kandungan lemak yang sangat rendah^{20,21}. Namun metode FTIR memiliki keterbatasan terutama karena tidak dapat mengidentifikasi jenis dan kandungan masing-masing sampel secara pasti. Tabel 1. menunjukkan analisis FTIR dasar dan lanjutan dalam otentikasi makanan halal.

Tabel 1. Analisis FTIR dasar dan lanjutan dalam otentikasi halal produk makanan

Teknik FTIR	Keaslian Isu	Jenis Makanan	Referensi
FTIR	Lemak babi (<i>Lard</i>)	<i>Mixed fats (chicken/ lamb/ cow)</i>	Che Man and Mirghani (2001)
	□	<i>Cod-liver oil</i>	Rohman dan Che Man (2009)
	Babi (<i>porcine</i>)	□ <i>Bovine & Porcine</i>	Hashim <i>et al.</i> (2010)
FT-MIR	Lemak babi (<i>Lard</i>)	□ <i>Virgin coconut oil</i>	Rohman and Che Man (2011)
FTIR-ATRPLS	Lemak babi (<i>Lard</i>)	□ <i>Butter</i>	Nurrulhidayah <i>et al.</i> (2015)
FTIR-ATRPCA	Daging babi (<i>porcine</i>)	□ bovine, porcine and fish gelatins	Cebi <i>et al.</i> (2016)

¹⁹ Ibid., hal. 140

²⁰ Irwandi, J., Saeed, M.E., Torla, h. and Zaki, M. "Determination of Lard in Mixture of body fats of Mutton and Cow by Fourier Transform Infrared Spectroscopy". J. Oleo Sci. 2003. Vol. 52, No.

²¹ . pp. 633-638.

d. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknologi dalam bidang biologi molekuler yang digunakan untuk memperbanyak salinan sepotong DNA di bagian tertentu sehingga menghasilkan ribuan hingga jutaan salinan dari urutan DNA tertentu²². PCR adalah teknik penggandaan atau amplifikasi sekuen DNA spesifik secara invitro dengan jalan polimerisasi secara simultan dengan primer yang komplementer dengan untai DNA target.²³ Primer adalah sekuen oligonukleotida pendek biasanya tersusun atas 20 pasang basa yang berfungsi sebagai pemula sintesis rantai DNA dalam reaksi PCR.²⁴

Teknik PCR melibatkan tiga tahap yaitu denaturasi, penempelan primer (*annealing*), dan pemanjangan (*elongation*). Pada siklus pertama, DNA cetakan dipisahkan menjadi dua untai tunggal dengan pemanasan 95⁰ C di dalam campuran yang mengandung oligonukleotida primer dengan jumlah berlebih serta keempat dNTP. Suhu ini kemudian dikurangi menjadi 55⁰ C, untuk memberi kesempatan primer menempel (*anneal*) pada sekuen target. Primer akan membentuk ikatan hidrogen dengan cetakan pada daerah sekuen yang komplementer dengan sekuen primer. Suhu penempelan tergantung pada panjang primer dan sekuen DNA targetnya. Setelah penempelan primer, suhu inkubasi dinaikkan menjadi 72⁰C untuk proses perpanjangan (*extension*) sekuen DNA target. Proses perpanjangan ini dapat terjadi karena enzim DNA polimerase. Produk pertama dari hasil amplifikasi akan berfungsi sebagai cetakan untuk siklus kedua, demikian seterusnya. Apabila siklus denaturasi, penempelan primer dan pemanjangan diulang-ulang maka DNA target akan dilipatgandakan.

²² Viljoen, G.J., Nel, L.h., Crowther, J.R. 2005. Chapter 1-Background. In: Viljoen, G.J., Nel, L.H., Crowther, J.R. (Eds.) in *Molecular diagnostic PCR handbook*. Springer, Netherlands

²³ Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta: Penerbit Andi. pp. 87-88.

²⁴ Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unity*. 9 (1): 17-29.

Produk utama yang dihasilkan adalah segmen DNA untai ganda yang panjangnya ditentukan oleh jarak antara kedua primer²⁵.

Analisis biologi molekuler khususnya DNA yang menggunakan PCR memiliki kelebihan dibandingkan dengan menggunakan protein atau molekul lain yaitu karena DNA lebih stabil. Keuntungan utama penggunaan dengan PCR adalah kemampuan teknik ini untuk memperbanyak sekuen target pada preparasi DNA kasar atau RNA, sehingga tidak perlu dilakukan pemurnian cetakan. Melalui metode ini suatu segmen DNA yang panjangnya 110 pasang basa (5×10^{-19} mol) dapat digandakan 200.000 kali setelah 20 siklus reaksi selama 20 menit, sehingga perbanyakan dapat dilakukan dengan cepat (Yuwono, 2006).²⁶

Ketika molekul DNA dipanaskan, ikatan hydrogen yang menyatukan heliks ganda terganggu dan memisahkan molekul menjadi untai tunggal.

DNA relatif stabil dan masih terdapat pada banyak produk bahkan setelah pemrosesan produk makanan²⁷. PCR menarget urutan spesifik dari suatu DNA dengan menggunakan primer tertentu. Selanjutnya spesifitas dan sensitivitas PCR dapat ditingkatkan dengan memasukkan internal probe hibridisasi (Mohamad *et al.*, 2013). Teknik PCR terbukti cepat dan spesifik dalam mendeteksi pemalsuan spesies. DNA dapat dideteksi dengan menggunakan beberapa analisis PCR sebagai berikut:

a. Multiplex PCR

Multiplex PCR adalah salah satu metode PCR yang secara bersamaan dapat memperbanyak suatu gen dalam satu kali reaksi. Proses itu memperbanyak beberapa target DNA dalam

²⁵ Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, C.A., Palladino, M.A. 2012. *Concepts of genetics*. USA: Pearson. pp. 554-557.

²⁶ Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta: Penerbit Andi. pp. 87-88.

²⁷ Grohmann, L. 2010. Chapter 7 – Detection of Genetically Modified Plants in Seeds, Food and Feed. In Frank Kempken, Christian Jung (Eds.) in *Genetic Modification of Plants: Agriculture, Horticulture and Forestry*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp 118

sampel menggunakan beberapa primer²⁸. Multiplex PCR meningkatkan efisiensi dan keandalan untuk analisis simultan berbagai spesies hewan. Selain itu, *multiplex* PCR bekerja pada target secara bersamaan yang dapat mengurangi biaya dan waktu²⁹.

Uji *multiplex* PCR menggunakan mitokondrial ND5, ATPase, dan cytochrome b (cytb) untuk deteksi lima spesies daging yang dilarang dalam Islam untuk dimakan³⁰. *Multiplex* PCR menargetkan mitokondria ND2, 16S rRNA, dan cytb adalah metode yang akurat untuk membedakan daging bebek, babi, sapi, dan domba dalam produk makanan olahan³¹. Selain itu, metode ini juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi daging anjing, kucing, dan harimau menggunakan cytb dalam produk makanan dan kosmetik.

- b. *Real-Time Polymerase Chain Reaction* DNA (RT-PCR) Real-Time Polymerase Chain Reaction DNA (RT-PCR) merupakan perkembangan dari PCR konvensional untuk mengidentifikasi DNA suatu spesies dalam sampel. RT-PCR memiliki kemampuan untuk mendeteksi dalam jumlah sampel yang sedikit, dapat meniadakan kebutuhan visualisasi menggunakan gel visualisasi, resiko kontaminasi yang sangat kecil, kemampuan proses dalam jumlah yang sangat besar. Namun, RT-PCR memiliki

²⁸ Ali, M.E., Razzak, M.A., Hamid, S.B.A., Rahman, M.M., Amin, M.A., Rashid, N.R.A., Asing. 2015. Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic food. *Food Chemistry*. 177, 214-224.

²⁹ Ali, M.E., Razzak, M.A., Hamid, S.B.A. 2014. Multiplex PCR in species authentication: Probability and prospects-A review. *Food Anal. Methods* 7, 1933-1949.

³⁰ Ali, M.E., Razzak, M.A., Hamid, S.B.A., Rahman, M.M., Amin, M.A., Rashid, N.R.A., Asing. 2015. Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic food. *Food Chemistry*. 177, 214.

³¹ He et al. "Application of quadruple multiplex PCR detection for beef, duck, mutton, and pork in mixed meal". *J. Food Nutr Res*. Vol 3, No 6. 2015. Hal 392-398.

kelemahan yaitu masih memerlukan probe dalam metode ujinya agar mendapatkan hasil yang optimal³².

c. Duplex droplet digital PCR (dddPCR)

Duplex PCR dikembangkan dengan tujuan memberikan biaya yang rendah, komprehensif, metodenya sederhana dan andal³³. Salah satu perkembangan dari *duplex* PCR adalah *duplex droplet digital* PCR (dddPCR). Sistem deteksi dengan menggunakan dddPCR pada sampel daging sapi dan daging babi tidak menunjukkan adanya *cross reaction* dengan spesies lain. Tidak adanya kesalahan dalam amplifikasi mengindikasikan bahwa kombinasi primer untuk sampel daging sapi dan babi dapat digunakan secara spesifik dan dapat dipercaya untuk mengidentifikasi material sapi dan babi dalam produk campuran daging³⁴.

Membandingkan dengan data penelitian menggunakan metode ddPCR sebelumnya, terdapat kelemahan yaitu tidak ada signifikansi terhadap spesifitas spesies seperti yang terdapat dalam metode dddPCR³⁵. Selain itu, berdasarkan perbandingan antara jumlah dan quantifikasi DNA yang digunakan dalam penelitian, dddPCR adalah metode yang sesuai untuk digunakan pada penelitian dengan sampel yang sedikit. Selain itu, dddPCR sangat spesifik, dapat mendeteksi dalam waktu yang cepat untuk mengidentifikasi komposisi daging yang kompleks dalam sampel³⁶.

³² Triayu, S. "Detection of Porcine DNA in Processed Beef Products Using Real Time-Polymerase Chain Reaction" Indonesian Journal of Halal Research. Vol 1, No. 2. Hal 31-34.

³³ Fenny, A.S., et al. "Low cost and comprehensive pork detection in processed food products with a different food matrix" Indonesian Journal of Biotechnology. Vol 23, No. 1. 2018. Hal 21-27

³⁴ Yicun, C. Detection and quantification of beef and pork materials in meat products by duplex droplet digital PCR. PLOS ONE. Vol. 12, No. 8. 2017. Hal 1-19.

³⁵ Cai Y., et al, "Quantitative analysis of pork and chicken products by droplet digital PCR". BioMed research international. 2014

³⁶ Morisset D. et al., "Quantitative analysis of food and feed samples with droplet digital PCR". PLoS One. Vol. 8, no. 5. 2013

Tabel 2 jenis PCR untuk deteksi DNA dalam permasalahan keaslian produk pangan

Jenis PCR	Kasus	Jenis makanan	Referensi
Species-specific PCR	Daging babi	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Food products (sausages and the casings, bread and biscuits)</i> 	Che Man <i>et al.</i> (2007)
		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Meat species</i> 	Karabasanavar <i>et al.</i> (2014)
Species-specific duplex PCR	Daging babi (pork)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Poultry meat</i> 	Soares <i>et al.</i> (2010)
Multiplex Real-Time PCR	Daging babi (pork)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Chinese blood curds</i> 	Cheng <i>et al.</i> (2014)
	Daging babi dan spesies daging (pork and meat species)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Meat species (dog, cat, rat, pork and monkey)</i> • <i>Commercial meat (beef, chicken, goat, lamb, buffalo, duck, pigeon and quail)</i> • <i>Expensive fish species (salmon, cod, tuna, carp, rohu and tilapia)</i> • <i>Five different halal branded meatballs</i> 	Ali <i>et al.</i> (2014) Ali <i>et al.</i> (2015)
Real-Time PCR	Daging babi (pork)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pork, chicken, beef, mutton & horseflesh in foods</i> 	Tanabe <i>et al.</i> (2007)
		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Commercial meat extracts</i> • <i>Beef meatballs</i> 	Farrokhi and Joozani (2011) Roostita <i>et al.</i> (2014)
	Babi (<i>porcine</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Processed food materials</i> • <i>Commercial capsule shell</i> 	Mohamad <i>et al.</i> (2013) Sudjadi <i>et al.</i> (2016)

e. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Uji ELISA adalah uji imunologis yang biasa digunakan untuk mengukur antibody, antigen, protein dan glikoprotein dalam sampel biologis. Tukiran *et al.* 2016 menyebutkan bahwa telah dikembangkan suatu metode untuk deteksi dengan cepat gelatin babi pada

sarang burung yang dapat dimakan menggunakan uji ELISA. Namun, uji ELISA ini memiliki kelemahan yaitu untuk menemukan antigen yang spesifik membutuhkan waktu yang cukup lama dan sulit dilakukan.

d. Proton nuclear magnetic resonance (1H NMR)

Proton nuclear magnetic resonance (1H NMR) adalah penerapan resonansi magnetic nuklir dalam spektroskopi NMR sehubungan dengan inti 1 hydrogen dalam molekul suatu zat, untuk menentukan struktur molekulnya. *Proton nuclear magnetic resonance* (1H NMR) telah digunakan secara luas dalam otentikasi minyak zaitun karena membutuhkan minimal persiapan sampel, waktu analisis yang lebih singkat, sifatnya yang tidak merusak dan baik reprodusibilitasnya apabila dibandingkan dengan metode kromatografi yang digabungkan dengan spektrometri massa³⁷.

Fang *et al.* (2013) telah melakukan penelitian untuk otentikasi 10 minyak nabati (minyak zaitun, minyak canola, minyak kelapa sawit, minyak kedelai, minyak jagung, minyak bunga matahari, minyak dedak padi, minyak kacang, dan minyak kelapa) dengan memanaskan lemak (jaringan lemak babi, daging kambing, daging sapi, dan ayam) menggunakan *Proton nuclear magnetic resonance* (1H NMR), gas chromatography/mass spectroscopy (GC-MS). Namun data NMR tidak berhasil menetapkan deteksi yang baik dalam hal sensitivitas dan spesifitas sebagai bandingan data GC/MS menggunakan analisis diskriminan kuadrat terkecil parsial (PLS-DA) dan proyeksi orthogonal untuk analisis diskriminan struktur laten (OPLS-DA) sebagai model klasifikasi. Mereka juga melaporkan bahwa model *partial least square* (PLS) berhasil dibuat untuk mendeteksi sekitar 5% lemak babi dan lemak sapi dalam minyak canola³⁸.

³⁷ Fang, G., *et al.* "Characterization of oils and fats by 1H NMR and GC/MS fingerprinting:

classification, prediction and detection of adulteration" *Food chemistry*. 138, 1468

³⁸ Fang, G., Goh, J.Y., Tay, M., Lau, H.F., Li, S.F.Y. 2013. Characterization of oils and fats by 1H NMR and GC/MS fingerprinting: classification, prediction and detection of adulteration. *Food chemistry*. 138, 1466

Kesimpulan

Metode dasar menjadi bagian yang mendasar terkait dengan keahlian dan keefektifan waktu yang diperlukan untuk suatu analisis. Teknologi yang baik memiliki kemampuan yang non-destruktif, cepat, efisien, kinerja tinggi, analisis yang lebih tepat, praktis dan andal. Penelitian dan kemajuan berkelanjutan dalam suatu metode sangat penting dalam masalah keaslian dan verifikasi produk halal suatu makanan. Verifikasi makanan halal adalah langkah penting untuk melindungi dan mengidentifikasi kasus-kasus kesalahan deskripsi produk makanan serta untuk menjaga kehalalan suatu produk pangan sesuai dengan syariat islam. Setiap metode dan peralatan yang digunakan memiliki kelebihan yang mana menunjukkan informasi spesifik untuk konfirmasi status halal suatu sampel yang diekstrak dari produk makanan. Sistem deteksi dan kuantifikasi dddPCR cocok digunakan untuk kontrol kualitas dan analisis rutin produk daging. Hal ini dapat dijadikan pertimbangan untuk pengembangan metode penelitian untuk mendeteksi kandungan babi pada produk olahan pangan yang lebih efektif dan efisien di masa yang akan datang.

Daftar Pustaka

- Ahmad Robin Wahab. *Guidelines for the preparation of halal food and goods for the Muslim consumers*. Diakses dari <http://www.halalrc.org/> tanggal 30 Oktober 2019 pukul 08.57 WIB.
- Ali, M. E., Razzak, M. A., Hamid, S.B.A. 2014. Multiplex PCR in species authentication: Probability and prospects—A Review. *Food Anal. Methods*. Vol. 7.
- Ali, M.E., Razzak, M.A., Hamid, S.B.A., Rahman, M.M., Amin, M.A., Rashid, N.R.A., Asing. 2015. Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic food. *Food Chemistry*. Vol. 177.
- Asensio L., Gonzalez. i., Garcia T., Martin, R. 2008. Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Food Control*. Vol 19, No. 1. authentication. Proceeding of the 3rd International Halal Conference.

- Cai Y, Li X, Lv R, Yang J, Li J, He Y, et al. 2014. Quantitative analysis of pork and chicken products by droplet digital PCR. *BioMed research international*.
- Cai, Y., He, Y., Lv R., Chen, H., Wang Q., dan Pan, L. 2017. Detection and quantification of beef and pork materials in meat products by duplex droplet digital PCR. *PLOS ONE*. Vol. 12, No. 8.
- Cebi, N., Durak, M. Z., Toker, O.S., Sagdic, O., Arici, M. 2016. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chemistry*. Vol. 190.
- Charity, M.L. 2017. Jaminan produk halal di Indonesia (*Halal products guarantee in Indonesia*). *Jurnal Legislasi Indonesia*. Vol. 14, No. 01.
- Che Man, Y., Aida, A., Raha, A., and Son, R. 2007. Identification of pork derivatives in food products by species-specific polymerase chain reaction (PCR) for halal verification. *Food Control*. Vol. 18, No. 7.
- Che Man, Y.B. and Mirghani, M.E.S. 2001. Detection of lard mixed with body fats of chicken, lamb, and cow by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Vol. 78, No. 7.
- Cheng, X., He, W., Huang, F., Huang, M., Zhou, G. 2014. Multiplex real-time PCR for the identification and quantification of DNA from duck, pig and chicken in Chinese blood curds. *Food Research International*.
- Czarniecki, J. et al. 2003. *GC/MS Analysis for Unsaturated Fat Content in Animal Feed*. Switzerland: Nafag Company.
- Domingo, E., Tirelli, A.A., Nunes, C.A., Guerreiro, M.C., Pinto, S.M. 2013 Melamine detection in milk using vibrational spectroscopy and chemometrics analysis: A review. *Food Research International*. Vol. 60.
- Fang, G., Goh, J.Y., Tay, M., Lau, H.F., Li, S.F.Y. 2013. Characterization of oils and fats by ¹H NMR and GC/MS fingerprinting: classification, prediction and detection of adulteration. *Food chemistry*. Vol. 138.
- Farrokhi, R. and Joozani, R. J. 2011. Identification of pork genome in commercial meat extracts for Halal authentication by SYBR

- green I realtime PCR. *International Journal of Food Science and Technology*. Vol. 46.
- Fenny, A.S., Henndi W., Ali, W., Suryani, and Desriani. 2018. "Low cost and comprehensive pork detection in processed food products with a different food matrix" *Indonesian Journal of Biotechnology*. Vol 23, No. 1.
- Flaudrops, C., Armstrong, N., Raoult, D., Chabrie`re, E. 2015. Determination of the animal origin of meat and gelatin by MALDI-TOF-MS. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol. 41.
- Griffiths, P. dan de Hasseth, J.A. 2007. *Fourier Transform-Infrared Spectroscopy* (2 nd ed.). Wiley Blackckwell.
- Grohmann, L. 2010. Chapter 7 – Detection of Genetically Modified Plants in Seeds, Food and Feed. In Frank Kempken, Christian Jung (Eds.) in *Genetic Modification of Plants: Agriculture, Horticulture and Forestry*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unity*. Vol. 9, No. 1.
- Hashim, D.M., Che Man, Y.B., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y., Syahariza, Z.A. (2010). Potential use of Fourier transforms infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chemistry*. Vol. 118.
- He, H., Hong X. Feng Y., Wang, Y., Ying J, Liu, Q., Qian, Y., Zhou. X., Wang D. 2015. Application of uadruple multiplex PCR detection for beef, duck, mutton, and pork in mixed meat. *J.Food Nutr Res*. Vol 3, No 6. pp. 392-398. in analysis of food and beverages: a short review on adulteration and halal
- Indrasti, D., Che Man, Y.B., Mustafa, S., Hashim, D.M. 2010. Lard detection based on fatty acids profile using comprehensive gas chromatography hyphenated with time-of-flight mass spectrometry. *Food Chemistry*. Vol. 122.
- Irwandi, J., Saeed, M.E., Torla, h. and Zaki, M. 2003. Determination of Lard in Mixture of body fats of Mutton and Cow by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *J. Oleo Sci*. Vol. 52, No. 12.

- Karabasanavar, N.S., Singh, S.P., Kumar, D., Shebannavar, S. N. 2014. Detection of pork adulteration by highly-specific PCR assay of mitochondrial D-loop. *Food Chemistry*. Vol. 145.
- Karim, N.A dan Muhamad, I. I. 2018. Detection methods and advancement
- Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, C.A., Palladino, M.A. 2012. *Concepts of genetics*. USA: Pearson.
- May Lim Charity, "Jaminan produk halal di Indonesia (*Halal products guarantee in Indonesia*)", *Jurnal Legislasi Indonesia*. Vol. 14, No. 01. Maret 2017.
- Mohamad, N.A., Sheikha, A.F.E., Mustafa, S., Mokhtar N.F.K. 2013. Comparison of gene nature used in real-time PCR for porcine identification and quantification: A review. *Food Research International*. Vol. 50.
- Morisset D, Stebih D, Milavec M, Gruden K, Zel J. 2013. Quantitative analysis of food and feed samples with droplet digital PCR. *PLOS One*. Vol. 8, No. 5
- Nakyinsige, K., Che Man, Y.b., Sazili, A.Q. 2012. Halal authenticity issue in meat and meat products. *Meat science*. Vol 91. 207-214
- Nurjuliana, M., Che Man, Y.B., Hashim, D.M., Mohamed, A.K.S. 2011. Rapid identification of pork for halal authentication using the electronic nose and gas chromatography mass spectrometer with headspace analyser. *Meat Science*. Vol. 88. pp. 638– 644.
- Nurrulhidayah, A.F., Che Man, Y.B., Amin, I., Arieff Salleh, R., Farawahidah, M.Y., Shuhaimi, M., Khatib, A. 2015. FTIR-ATR Spectroscopy Based Metabolite Fingerprinting as A Direct Determination of Butter Adulterated With Lard. *International Journal of Food Properties*. Vol. 18, No. 2. pp. 372-379.
- Rashood, K. A., Shaaban, R. R. A., Moety, E. M. A., & Rauf, A. 1995. Triacylglycerols profiling by high performance liquid chromatography: a tool for detection of pork fat in processed foods. *Journal of Liquid Chromatography*. Vol. 18.
- Riaz, M. N. (1996). Hailing halal. *Prepared Foods*. Vol. 165, No. 12.

- Rohman, A., and Che Man, Y. B. 2009. Analysis of cod-liver oil adulteration using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Vol. 86, No. 12. pp. 1149–1153.
- Rohman, A., and Che Man, Y. B. 2011. The use of Fourier transform mid infrared (FTMIR) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin coconut oil. *Food Chemistry*. Vol. 129, No. 2. pp. 583–588.
- Roostita, L.B., Lengkey, H.A.W., Suryaningsih, L., Rachmawan, O., Putranto, W.S., Wulandari, E., Utama, G. L. 2014. Beef Meatballs Adulteration Tests with Real Time Quantitative PCR Detection For Halal Authentication - Case Studies Sellers at Traditional Market and Small Medium Enterprises (SMEs) Merchants in Indonesia. *AgroLife Scientific Journal*. Vol. 32.
- Saeed, T., Ali, S. G., Rahman, H. A. A., & Sawaya, W. N. 1989. Detection of pork and lard as adulterants in processed meat: liquid chromatographic analysis of derivatized triglycerides. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. Vol. 72. pp. 921–925.
- Sandra, H. dan Meutia, C.D.K, "Identifikasi daging babi dalam sosis melalui karakteristik protein *Myofibril*", *Jurnal Ternak*. Vol 02, No. 01. Juni 2011.
- Septiani, T. 2019. Detection of Porcine DNA in Processed Beef Products Using Real Time-Polymerase Chain Reaction. *Indonesian Journal of Halal Research*. Vol 1, No. 2. Hal 31-34.
- Siti Zulaekah dan Yuli Kusumawati. 2005. Halal dan Haram Makanan dalam Islam. *Jurnal SUHUF*. Vol. XVII, No. 01. p. 26.
- Soares, S., Amaral, J.S., Mafra, I., and Oliveira, M.B.P.P. 2010. Quantitative detection of poultry meat adulteration with pork by a duplex PCR assay. *Meat Science*. Vol 85, No. 3. pp. 531-536
- Sudjadi, Wardani, H.S., Sepminarti, T., Rohman, A. 2015. Analysis of porcine gelatin DNA in commercial capsule shell using real-time polymerase chain reaction for halal authentication. *International Journal of Food Properties*.

- Sugiana, F.A., Widyowati, H., Warisman, M.A., Suryani, dan Desriani. 2018. Low cost and comprehensive pork detection in processed food products with a different food matrix. *Indonesian Journal of Biotechnology*. Vol 23, No. 1. 2018.
- Tanabe, S., Hase, M., Tano, T., Sato, M., Fuijimura, T., Akiyama, H. 2007. A real-time quantitative PCR detection method for pork, chicken, beef, mutton and horseflesh in foods. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* Vol. 71, No. 12.
- Viljoen, G.J., Nel, L.h., Crowther, J.R. 2005. Chapter 1-Background. In: Viljoen, G.J., Nel, L.H., Crowther, J.R. (Eds.) in *Molecular diagnostic PCR handbook*. Springer, Netherlands
- Wahab, A. R. 2004. Guidelines for the preparation of halal food and goods for the Muslim consumers. Diakses dari <http://www.su-dairy.com> tanggal 31 Oktober 2019.
- Waharjani, “Makanan yang Halal Lagi Baik dan Implikasinya Terhadap Kesalahan Seseorang”. *Jurnal Komunikasi dan Pendidikan Islam*. Vol. 4 No. 2. Desember 2015.
- Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Zulaekah, S. dan Yuli, K. 2005. Halal dan haram makanan dalam islam. *Jurnal SUHUF*. Vol XVII, No. 01.