

Penggunaan Metode *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (qPCR) untuk Deteksi Fragmen DNA Babi pada Produk Olahan Daging

(Use of Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) Method for Pork DNA Fragments Detection in Processed Meat Products)

Bambang Hermawan^{1*}, Riska Dwi Nanda², Nadya Nurafifah Andriya¹, Jakaria³

(Diterima Oktober 2023/Disetujui Juli 2024)

ABSTRAK

Penggunaan bahan makanan dan atau produk olahan makanan yang tercemari babi, baik yang tidak disengaja atau yang disengaja, telah menjadi perhatian dan isu yang menguat saat ini. Kondisi ini mendorong pengembangan metode yang akurat dalam mendeteksi secara spesifik keberadaan cemaran babi. Penelitian ini menggunakan dua jenis sampel: (1) daging babi segar sebagai *in-house* positif kontrol dan (2) produk olahan daging berbahan dasar babi (abon daging, bakso, kornet, dan sosis), yang diuji dengan menggunakan marka DNA. Penggunaan sampel olahan daging babi adalah untuk menentukan pengaruh pengolahan pada fragmen DNA dan untuk menguji ketegaran (*robustness*) metode ekstraksi dalam proses deteksi yang digunakan. Kajian ini bertujuan mendeteksi fragmen DNA babi dengan menggunakan metode *quantitative polymerase chain reaction* (qPCR). Penelitian diawali dengan mengekstraksi daging babi segar dan produk olahan menggunakan kit ekstraksi RNA, kit ekstraksi DNA, dan metode ekstraksi *salt*, dilanjutkan dengan mengukur kemurnian dan konsentrasi DNA/RNA menggunakan spektrofotometer. Ekstrak RNA diubah menjadi DNA komplementer (cDNA) dan bersama dengan ekstrak DNA dianalisis menggunakan qPCR dengan primer spesifik DNA babi (*Sus scrofa*). Hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak RNA dan DNA yang diperoleh adalah 71,1–296,025 ng/uL dengan kemurnian yang beragam. Semua sampel produk olahan dan *in-house* positif kontrol teramplifikasi pada rentang Ct 23–28 ng/uL, dalam hal ini pengolahan daging tidak memengaruhi DNA produk olahan yang dianalisis sehingga fragmen DNA dapat dideteksi. qPCR DNA lebih efisien dalam waktu kerja dibandingkan qPCR cDNA karena tidak memerlukan tahapan transkripsi-balik RNA.

Kata kunci: beta aktin, *cycle threshold*, daging babi segar, DNA babi, qPCR

ABSTRACT

Using food ingredients and/or processed food products contaminated with pork, whether unintentionally or intentionally, has become a growing concern and issue. This condition encourages the development of an accurate method for specifically detecting the presence or absence of pork contamination. The research was carried out on two different samples: (1) fresh pork to provide an *in-house* positive control and (2) samples of pork-based processed meat products (floss, meatballs, corned beef, and sausages), tested using DNA markers. The use of samples originating from processed pork food is to determine the effect of the processing process on DNA fragments and the robustness of the extraction method for the detection process used. The research aimed to detect pork DNA fragments using the quantitative polymerase chain reaction (qPCR) method. The study stages were extracting fresh pork and processed products using an RNA extraction kit, DNA extraction kit, and salt extraction, as well as measuring the purity and concentration of DNA/RNA using a spectrophotometer. The RNA extract was converted into complementary DNA (cDNA), and the DNA extract was analyzed using qPCR with specific primers for pork DNA (*Sus scrofa*). The results showed that the concentration of RNA and DNA extracts was 71.1–296.025 ng/uL and of various purity. All processed meat product samples and *in-house* positive controls were amplified in the Ct range of 23–28 ng/uL. In this case, the meat processing had no effect on the DNA of the processed meat products analyzed, so DNA fragments could be detected. DNA qPCR was more time efficient than cDNA qPCR because it did not require an RNA reverse transcription step.

Keywords: beta actin, cycle threshold, fresh pork, pork DNA, qPCR

¹ Unit Laboratorium Riset Unggulan, IPB University, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

² Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

³ Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, IPB University, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

* Penulis Korespondensi: Email: bangor@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Islam merupakan agama yang banyak dianut oleh manusia di dunia dan salah satu negara dengan pemeluk terbanyak adalah Indonesia (Canggih *et al.* 2017). Dalam kehidupannya mereka menggunakan sumber hukum utama berupa kitab suci Alqur'an untuk membimbing agar dapat hidup dengan selamat dan rasa aman. Makan merupakan aktivitas yang tidak

dapat ditinggalkan. Dalam pelaksanaannya Al-Qur'an telah tegas mengatur tentang makanan yang dikonsumsi. Allah berfirman yang artinya "Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal dan *thayib* (baik) yang terdapat di bumi dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah setan. Sungguh, setan itu musuh yang nyata bagimu" (Al-Baqarah:168). Selain itu dengan tegas juga terdapat ayat-ayat tentang larangan memakan babi, yakni Al-Baqarah:173; Al-Maidah:3, dan An-Nahl:115.

Keamanan pangan secara psikologis (rohani) dapat diterima konsumen karena produk pangan yang dikonsumsi sesuai dengan sosial, budaya, gaya hidup, dan agama. Untuk masyarakat pemeluk Islam, prasyarat ini tidak dapat ditawar. Pergeseran paradigma sistem manajemen dengan semakin meningkatnya perdagangan nasional maupun internasional memunculkan isu kontaminasi yang disengaja (*intentional contamination*). Fokus penanganan sesuatu yang disengaja adalah berupa upaya pencegahan terjadinya kontaminasi (Hariyadi 2018).

Bahan makanan dan produk olahan makanan memiliki risiko tercemari daging babi secara tak-sengaja atau disengaja sehingga perlu diawasi agar terjamin halal dan *thayib*. Pemalsuan berupa pencampuran daging babi dan produk turunan dalam makanan harus diperhatikan dan diperketat aturannya sebab penting bagi umat Islam untuk pemenuhan keselamatan (halal) dan keamanan (*thayib*) pangan. Penyalahgunaan kerap terjadi karena harga daging babi lebih murah dibandingkan daging sapi sehingga menyebabkan terjadinya substitusi (Nakyinsige *et al.* 2012; Kuswandi *et al.* 2017). Oleh sebab itu, produsen penyedia bahan makanan dan produk olahan dengan sengaja menggunakannya dan tidak memberi keterangan atau label pada kemasan (Irwandi *et al.* 2020).

Untuk mengatasi masalah tersebut, telah dikembangkan beberapa metode pengujian keberadaan kandungan daging babi dengan mengidentifikasi lemak babi menggunakan metode spektrofotometri (Ardilla *et al.* 2018), atau mengidentifikasi senyawa volatil menggunakan kromatografi (Indrasti *et al.* 2022). Kelemahan identifikasi berbasis lemak, senyawa volatil, serta protein adalah sifat hilangnya aktivitas hayati setelah hewan mati. Apalagi jika ada pemrosesan lanjut seperti pemasakan dengan pemanasan pada suhu tinggi yang dapat mendenaturasi atau bahkan menghilangkan senyawa yang akan diuji sehingga menghambat proses identifikasi (Andriyani 2019). Pengujian yang dapat secara spesifik mendeteksi pada tingkat DNA menggunakan metode *real time polymerase chain reaction* (RTPCR) telah dilakukan (Orbayinah *et al.* 2019; Mariyani *et al.* 2021). *Quantitative polymerase chain reaction* (qPCR) memiliki keunggulan, yaitu mampu mengidentifikasi dengan sampel yang sedikit, tidak mengharuskan visualisasi, risiko terjadinya kontaminasi rendah, dan dapat diaplikasikan dalam

jumlah sampel yang banyak (Rahmania *et al.* 2021). Analisis cemaran daging babi menggunakan metode qPCR dilakukan sebagai upaya penjaminan bahan makanan yang beredar di masyarakat (Waluyo *et al.* 2019; Mustaqimah *et al.* 2020).

Oleh sebab itu tujuan penelitian ini adalah memverifikasi metode ekstraksi DNA yang efektif dan efisien pada daging babi dan produk olahannya. Selain itu diperlukan metode amplifikasi *sequence primer* spesifik yang dapat mendeteksi fragmen DNA babi, juga untuk mengevaluasi pengaruh pengolahan pada sampel terutama dari segi amplifikasi. Penelitian ini akan dapat memberikan informasi hasil verifikasi metode ekstraksi DNA dan pengujiannya guna mendeteksi fragmen DNA babi pada produk olahan daging.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai September 2023 di Laboratorium Sains Molekuler, Unit Laboratorium Riset Unggulan, IPB University, Bogor.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat kaca, tabung mikrosentrifus 2 mL, tabung PCR 0,2 mL, *blue tips*, *yellow tips*, *white tips*, mikropipet berbagai macam ukuran, neraca analitik, vorteks, *spin down*, mikrosentrifus, *nanophotometer* (NP80, IMPLN), RTPCR atau qPCR (StepOne™ *Real-Time PCR System*, Thermo Fisher Scientific), dan *freezer* -20°C.

Bahan utama yang digunakan ialah sampel daging babi dan empat produk olahan berbahan dasar daging babi: abon, bakso, kornet, dan sosis. Bahan yang digunakan meliputi kit ekstraksi DNA, kit ekstraksi RNA, kit transkripsi RNA, bufer lisis (10 mM Tris-HCL; 2 mM EDTA, pH 8,0; 0,4 M NaCl), SDS (*sodium dodecyl sulfate*) (Vivantis Ltd.), proteinase K, NaCl, isopropanol, bufer TE (Tris 10 mM; 1 mM EDTA pH 7,5), SYBR Hi-ROX kit, air bebas-nuklease (NFW), primer spesifik babi (*Sus scrofa*) 97 bp beta-actin gene DQ452569 (Cai *et al.* 2014).

Ekstraksi DNA

DNA diekstraksi sesuai dengan protokol yang diberikan oleh perusahaan pembuat kit menggunakan gSYNC DNA Extraction kit (GeneAid), rSYNC RNA Isolation Kit (GeneAid), dan ekstraksi menggunakan metode *SALT* (Cawthorn *et al.* 2011).

Ekstraksi diawali dengan melarutkan sampel dalam 400 µL bufer lisis (10 mM Tris-HCl, pH-8,0; 2 mM EDTA, pH 8,0; 0,4 M NaCl) bersama 40 µL SDS 20% (w/v) kemudian divorteks. Proteinase K (20 mg/mL, 2 µL) ditambahkan dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 65°C, ditambahkan 300 µL NaCl 6 M, divorteks selama 30 detik, dan disentrifugasi 30 menit pada kecepatan 10.000 g. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus baru,

kemudian ditambahkan isopropanol sebanyak jumlah supernatan yang didapat, lalu divorteks, dan dilanjutkan dengan *spin down*. Setelah itu, contoh diinkubasi pada suhu -20°C selama 20 menit, disentrifugasi 20 menit pada 16.000 g. Supernatan dibuang dan pelet dikeringkan. Pelet dilarutkan dalam 100 μL bufer TE.

Kuantifikasi dan Kemurnian DNA dan RNA

Kemurnian ekstrak RNA dan ekstrak DNA ditentukan menggunakan metode pengukuran *nanophotometer* (IMPLEN, NP80) pada panjang gelombang 280 nm dan 260 nm.

Menyiapkan (c)DNA-komplementer dari RNA

ReverTra Ace™ qPCR RT *Master Mix with* gDNA Remover (Toyobo) digunakan untuk menyiapkan *copy-DNA* dari RNA hasil ekstraksi. Pertama-tama, RNA dipisahkan dari DNA dengan menggunakan DNase dengan sebelumnya memanaskan pada suhu 65°C selama 5 menit kemudian dipindahkan ke kotak berisi es. Sebanyak 0,5 ug templat RNA ditambahkan ke dalam campuran gDNA *remover* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit. Sebanyak 8 uL RNA murni ditambahi 2 uL *reverse transcriptase* (RT) *mastermix* untuk menghasilkan cDNA. Transkripsi-balik dilakukan pada 37°C selama 15 menit dan dilanjutkan selama 5 menit pada 98°C , kemudian hasil reaksi disimpan pada suhu -20°C .

Deteksi Sekuens DNA Menggunakan RTPCR

Volume yang digunakan pada campuran reaksi akhir adalah 20 μL dan dilakukan pada tabung khusus untuk qPCR. Sebagai penanda terjadinya proses amplifikasi DNA, digunakan SensiFAST SYBR Hi-ROX. PCR dijalankan sesuai dengan kondisi pada Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan Metode Pengujian

Metode yang digunakan untuk mengekstraksi dari daging babi segar mampu mengekstraksi DNA dengan kemurnian yang tinggi pada konsentrasi 271,35 ng/uL (Tabel 2). Walaupun metode ini berdampak pada

ekstraksi, metode *salt* lebih efisien karena mudah dan tidak mahal. Selain itu, metode ini *ecofriendly* dibandingkan metode CTAB yang biasa digunakan sehingga dapat digunakan sebagai alternatif *in-house method* untuk ekstraksi DNA dari daging (Cawthorn *et al.* 2011; Stefanova *et al.* 2013; Yalçinkaya *et al.* 2017). Oleh sebab itu, dalam langkah selanjutnya digunakan metode ekstraksi *salt* untuk sampel yang diuji.

RNA dari daging babi segar diekstraksi dan diubah menjadi cDNA dan dibandingkan dengan DNA, guna mengevaluasi ekspresi gen yang ada di spesies *Sus scrofa* sebagai kontrol positif (Nygard *et al.* 2007). Konsentrasi dan kemurnian RNA hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2. Kesulitan mendapatkan RNA dalam konsentrasi tinggi dapat disebabkan oleh RNase yang terdapat di lingkungan juga di dalam sel dan sulit dihilangkan sehingga dapat dengan cepat mendegradasi RNA (Dastgheib *et al.* 2014; Lam *et al.* 2021; Pagani *et al.* 2023).

Ekspresi gen merupakan produk sintesis gen fungsional yang ada, sedangkan RNA adalah hasil salinan sintesis dari DNA melalui proses transkripsi yang merupakan bagian dari proses ekspresi gen (Singh *et al.* 2018). Kurva amplifikasi DNA dan cDNA pada Gambar 1 mengindikasikan kenaikan yang membentuk sigmoid untuk DNA dan cDNA sehingga dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan memiliki spesifikasi untuk target.

Deteksi pada Produk Olahan

Konsentrasi DNA dari hasil ekstraksi metode *salt* menghasilkan nilai yang berbeda-beda dengan kemurnian yang hampir sama (Tabel 3). Konsentrasi DNA yang tinggi dapat disebabkan oleh jenis asam nukleat selain berunting rangkap (*double stranded*) seperti berunting tunggal (*single stranded*) dan RNA juga mampu terserap pada λ 260 nm (Dayanti *et al.* 2019).

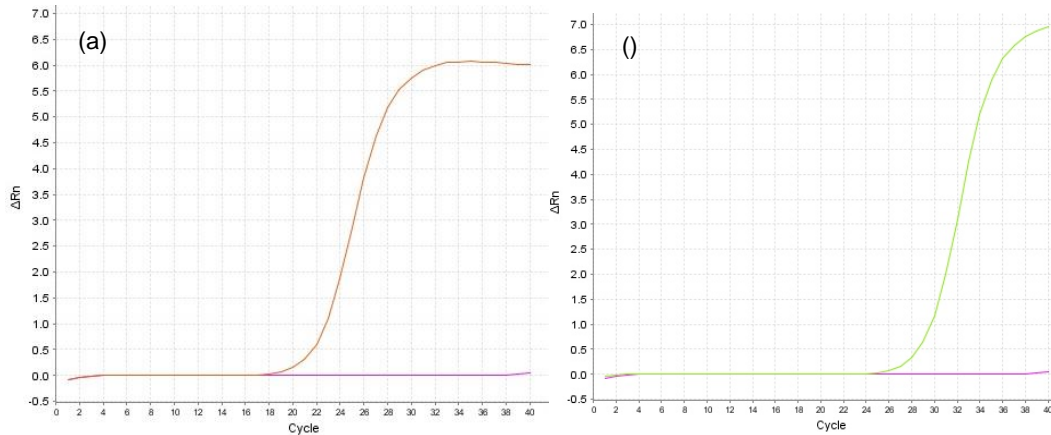
Kemurnian DNA dapat dilihat dari ada atau tidaknya kontaminan dalam sampel karena kontaminan berupa protein dan fenol akan menyerap secara maksimal pada λ 260 nm. Sampel dengan kemurnian di atas 2,00 disebabkan oleh terbawanya reagen seperti fenol, alkohol, dan kloroform pada saat proses ekstraksi DNA (Widayat *et al.* 2019).

Tabel 1 Kondisi *running* PCR

Tahap	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Waktu (menit)	Jumlah Siklus
<i>Polymerase activation</i>	95°C	2 menit	1
Denaturasi	95°C	15 detik	
<i>Anneling</i>	60°C	10 detik	40
<i>Elongation</i>	72°C	20 detik	

Tabel 2 Perbandingan konsentrasi dan kemurnian ekstrak DNA daging babi

Jenis metode	Konsentrasi (ng/uL)	Kemurnian
Kit ekstraksi DNA	38,60	2,00
<i>Salt</i>	271,35	2,00
Kit isolasi RNA	6,76	2,00



Gambar 1 Kurva qDNA. a) Amplifikasi DNA dan b) Amplifikasi cDNA.

Tabel 3 Perbandingan konsentrasi dan kemurnian ekstrak DNA daging babi

Jenis contoh	Konsentrasi (ng/uL)	Kemurnian
Daging babi	271,35	2,00
Abon babi	110,82	2,00
Bakso babi	296,02	2,00
Kornet babi	71,10	2,00
Sosis babi	266,27	1,90

Dua tahap pengolahan pada abon, yaitu direbus dan digoreng (Fitrianiingsih *et al.* 2022), ternyata mengakibatkan penurunan konsentrasi ekstrak DNA. Pati yang biasa ditambahkan pada pembuatan kornet (Panglipur & Sulandari 2014) juga salah satu penyebab turunnya konsentrasi ekstrak DNA, karena dibutuhkan proses tertentu untuk menghancurkan dinding sel tanaman yang ada di tanaman.

Marka molekuler beta-aktin yang bersifat salinan gen tunggal direkomendasikan karena akurasi yang tinggi dalam uji yang bersifat kuantitatif untuk identifikasi spesies (ISO 2020). Penggunaan beta-aktin sebagai marka molekuler telah diadopsi oleh organisasi standar nasional (SNI 2022). Beberapa laporan mengungkap penggunaan primer spesifik pada babi (*Sus scrofa*) 97 bp *beta-Actin gene* DQ452569 dengan susunan basa -F-5'-CGTAGGTGCACAGTAGGTCTGAC-3 dan -R-5'-GGCCAGACTGGGGACATG-3' (Cai *et al.* 2014; Safarrida *et al.* 2023).

Pada Tabel 4 dapat dilihat nilai *cycle threshold* (Ct) pada sampel uji dan *in-house* sebagai kontrol positif. Produk olahan daging yang diuji menggunakan qPCR dengan *sequence porcine* 97 bp menunjukkan hasil yang positif dengan munculnya kurva nilai Ct. Oleh karena semua sampel uji adalah berupa olahan daging babi maka nilai Ct harus muncul, walaupun memunculkan nilai yang beragam pada rentang Ct 18,84–28,71.

Kurva amplifikasi untuk daging babi dan produk olahannya menunjukkan kenaikan membentuk sigmoid (Gambar 2). Penilaian secara kuantitatif pada qPCR didapatkan dengan melihat nilai Ct, yaitu nilai pada RTPCR dengan sinyal amplifikasi target spesifik mulai terdeteksi (Coyle *et al.* 2022). Nilai Ct yang rendah menyatakan bahwa DNA target teramplifikasi lebih

cepat karena konsentrasi DNA target lebih tinggi, begitupun sebaliknya (Kesmen *et al.* 2009). Pada pengujian ini hasil amplifikasi DNA pada mesin RTPCR menjadi bukti adanya DNA babi pada sampel, dan dalam kaitannya dengan halal maka tidak boleh ada nilai Ct pada rentang seluruh siklus amplifikasi.

KESIMPULAN

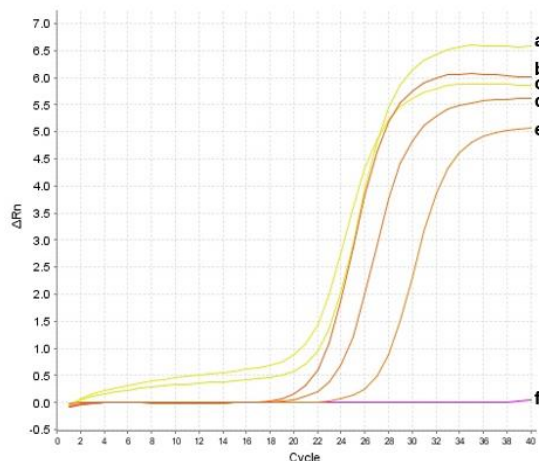
Metode ekstraksi DNA yang digunakan, yaitu metode *salt*, efektif dalam ekstraksi daging babi segar termasuk juga produk olahan berbahan daging babi berupa abon, bakso, kornet, dan sosis. Selain itu, metode ekstraksi ini efisien karena murah dan *ecofriendly*. qPCR memunculkan kurva amplifikasi dan memberikan nilai Ct pada *in-house* kontrol positif karena primer *Porcine* 97bp yang digunakan spesifik terhadap DNA babi. Munculnya kurva dan nilai Ct pada empat sampel produk olahan daging babi menunjukkan bahwa pengolahan daging tidak memengaruhi DNA produk olahan daging sehingga fragmen DNA babi dapat dideteksi. Penggunaan qPCR dapat menjadi metode yang akurat dan spesifik untuk pendeteksian fragmen DNA babi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Sumber Daya Manusia, Institut Pertanian Bogor, atas pendanaan melalui Hibah Kompetisi Pranata Laboratorium Pendidikan (Hibkom-PLP) tahun 2023 Nomor 07/K/HK/IPB/2023, dan kepada Laboratorium Riset Unggulan, IPB, untuk penggunaan sarana penelitian.

Tabel 4 Nilai Ct DNA Babi dengan *sequence porcine* 97bp

Primer	Jenis contoh uji	Cycle Threshold (Ct)
<i>Porcine</i> 97bp	Sosis babi	18,84
	Kontrol positif	23,15
	Bakso babi	24,04



Gambar 2 Kurva amplifikasi daging babi dan produk olahannya, a) sosis, b) kontrol positif, c) bakso, d) abon, e) kornet, dan f) nfw.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriyani E, Fais NL, 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>
- Ardilla D, Taufik M, Tarigan DM, Thamrin M, Razali M, Siregar HS. 2018. Analisis lemak babi pada produk pangan olahan menggunakan spektroskopi UV-Vis. *Jurnal Teknologi Pangan & Hasil Pertanian*. 1(2): 111–116. <https://doi.org/10.30596/agrintech.v1i2.2011>
- Cai Y, Li X, Lv R, Yang J, Li J, He Y, Pan L. 2014. Quantitative analysis of pork and chicken products by droplet digital PCR. *BioMed Research International*. 2014(2014): 810209. <https://doi.org/10.1155/2014/810209>
- Canggih C, Fikriyah K, Yasin A. 2017. Inklusi pembayaran zakat di Indonesia. *Jurnal Ekonomi dan Bisnis Islam*. 3(1): 1–11. <https://doi.org/10.20473/jebis.v3i1.3164>
- Cawthorn DM, Steinman HA, Witthuhn RC. 2011. Comparative study of different methods for the extraction of DNA from fish. *Food Control*. 22(2): 231–244. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.07.003>
- Coyle PV, Al Molawi NH, Kacem MABH, El Kahlout RA, Al Kuwari E, Al Khal A, Gillani I, Jeremijenko A, Saeb H, Al Thani M, Bertollini R, Rahim HFA, Chemaitelly H, Tang P, Latif AN, Al Kaabi S, Al Maslaman MARS, Morris BD, Al-Ansari N, Kaleeckal AH, Raddad LJA. 2022. Reporting of RTPCR cycle threshold (Ct) values during the first wave of COVID-19 in Qatar improved result interpretation in clinical and public health settings. *Journal of Medical Microbiology*. 71(5): 1–6. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001499>
- Dastgheib S, Irajie C, Assaei R, Koohepeima F, Mokarram P. 2014. Optimization of RNA extraction from rat pancreatic tissue. *Iranian Journal of Medical Science*. 39(3): 282–288.
- Dayanti FG, Djuminar A, Dermawan A, Tanta A. 2019. Perbandingan nilai pengukuran kuantitatif hasil ekstraksi DNA *Salmonella typhi* menggunakan metode *boiling*, NaOH, kit komersial. *Jurnal Riset Kesehatan*. 11(1): 350–357.
- Hariyadi P. 2018. Keamanan Pangan: Tantangan Ganda Bagi Pembangunan Kesehatan Masyarakat dalam *Prosiding Seminar Nasional & Diseminasi Hasil Pengabdian kepada Masyarakat Berbasis Riset*.
- Indrasti D, Mukhlisin MF, Darmawan N, Yuliana ND. 2022. Profil komponen volatil beberapa jenis sate menggunakan kromatografi gas. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 27(2): 199–215. <https://doi.org/10.18343/jipi.27.2.199>
- Irwandi, Wardi ES, Dova S. 2020. Deteksi cemaran gen babi pada produk bakso sapi kemasan di kota Padang menggunakan metode PCR (polymerase chain reaction). *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*. 5(2): 10–21.

- ISO. 2020. Molecular biomarker analysis—Detection of animal-derived materials in foodstuffs and feedstuffs by real-time PCR — Part 3: Porcine DNA detection method. ISO/TS 20224-3:2020.
- Fitrianingsih, Tasse AM, Astuti F, Rahayu N, Sani LOA, Sutopo D, Abad M. 2022. Teknologi pembuatan abon daging sapi untuk meningkatkan pendapatan hasil ternak pasca-Covid-19 di Desa Kiaea Kabupaten Konawe Selatan. Dalam: *Prossiding Seminar Nasional Inovasi dan Teknologi Peternakan II: Optimasi Integrated Farming System Berbasis Teknologi Peternakan dalam Menunjang Pemenuhan Protein Hewani di Era New Normal*. Kendari, 19 November 2022.
- Kesmen Z, Gulluce A, Sahin F, Yetim H. 2009. Identification of meat species by TaqMan-based real-time PCR assay. *Meat Science*. 82: 444–449. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.02.019>
- Kuswandi B, Gani AA, Ahmad M. 2017. Immuno strip test for detection of pork adulteration in cooked meatballs. *Food Bioscience*. 19: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.05.001>
- Lam S, Kommadath A, Campos ÓL, Prieto N, Aalhus J, Juárez M, Dugan MER, Vahmani P. 2021. Evaluation of RNA quality and functional transcriptome of beef longissimus thoracis over time post-mortem. *PLoS ONE*. 16(5): 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251868>
- Mariyani, Sismindari, Rumiati. 2021. Validasi metode *real-time polymerase chain reaction* untuk deteksi DNA babi (*Sus scrofa domestica*) dan celeng (*Sus barbatus*) pada sosis sapi. *Jurnal Ilmiah Indonesia*. 6(8): 3925–2940
- Mustaqimah DN, Septiani T, Roswien AP. 2020. Deteksi DNA babi pada produk sosis menggunakan *real time-polymerase chain reaction* (RT-PCR). 3(2): 106–111.
- Nakyinsige K, Che Man Y, Sazili AQ. 2012. Halal authenticity issues in meat and meat products. *Meat Science*. 91(3): 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.015>
- Nygard AB, Jørgensen CB, Cirera S, Fredholm M. 2007. Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR. *BMC Molecular Biology*. 8: 67. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-8-67>
- Orbayinah S, Hari W, Adam H, Sismindari S, Abdul R. 2019. Application of real-time polymerase chain reaction using species specific primer targeting on mitochondrial cytochrome-b gene for analysis of pork in meatball products. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 6(2): 260–265. <https://doi.org/10.5455/javar.2019.f342>
- Pagani S, Maglio M, Sicuro L, Fini M, Giavaresi G, Brogini S. 2023. RNA extraction from cartilage: issues, methods, tips. *International Journal of Molecular Sciences*. 24: 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms24032120>
- Panglipur PE, Sulandari L. 2014. Pengaruh jumlah salad oil dan CMC (*carboxymethyl cellulose*) terhadap sifat organoleptik kornet daging sapi. *E-Journal Boga*. 3(1): 160–165.
- Rahmania YL, Widayat, Agustini TW, Suzery M, Albaari AN. 2021. Pengukuran kandungan DNA babi dalam berbagai produk pangan dengan metode *real time polymerase chain reaction* (RT-PCR). *Indonesia Journal of Halal*. 3(2): 129–133.
- Safarrida A, Dewantoro A, Rahmasari D, Nuraeni U, Susmiarni RD, Apriori D, Damacena R, Amin MM. 2023. Verifikasi metode deteksi porcine berdasarkan SNI ISO/TS20224-3:2020 pada matriks gelatin. *Jurnal Standardisasi*. 25(2): 79–88. <https://doi.org/10.31153/js.v25i2.993>
- SNI. 2022. Analisis biomarker molekuler-deteksi bahan turunan hewan pada bahan pangan dan bahan pakan menggunakan real-time PCR-Bagian 3: Metode deteksi DNA babi. SNI-ISO/TS 20224-3:2020.
- Stefanova P, Taseva M, Georgieva T, Gotcheva V, Angelov A. 2013. A modified CTAB method for DNA extraction from soybean and meat products. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 27(3): 3803–3810. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2013.0026>
- Waluyo S, Malau J, Raekiansyah M, Yulian E, Hardiman I. 2019. In silico analysis of actin gene as a candidate for DNA non-halal detection base on real-time PCR. *Indonesian Journal of Halal Research*. 3(2): 70–74.
- Widayat, Agustini TW, Suzery M, Al-Baarri AN, Putri SR, 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. <https://doi.org/10.14710/halal.v2i1.5361>
- Yalçinkaya B, Yumbul E, Mozioğlu E, Akgoz M. 2017. Comparison of DNA extraction methods for meat analysis. *Food Chemistry*. 221: 1253–1257. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.032>