



## **Autentikasi Produk Pangan Halal Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

**Andre Wijaya<sup>\*</sup>), Dzifiar Yasykuri Akbar, Afifah Khairunnisa**

Fakultas Teknologi Pertanian, Program Studi Magister Ilmu Pangan  
Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Kabupaten Bogor 16680 Jawa Barat

<sup>\*</sup>Corresponding author: [andrewijaya@apps.ipb.ac.id](mailto:andrewijaya@apps.ipb.ac.id)

**(Received: December 4, 2023; Accepted: April 24, 2024)**

### **Abstrak**

Artikel ini merupakan sebuah tinjauan mengenai autentifikasi produk pangan halal menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Konsep halal merupakan simbol dalam perdagangan pangan dan sebagai penjamin kualitas terhadap produk pangan. Pada beberapa tahun ini, Indonesia menunjukkan komitmen terhadap prinsip halal dengan Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal bekerja sama dengan berbagai lembaga untuk penegakan yang efektif. Artikel ini bertujuan untuk mengevaluasi dan memberikan pengetahuan lebih lanjut tentang penggunaan metode PCR untuk memastikan produk makanan halal sebagai metode yang efektif. Metode penulisan artikel ini didasarkan pada analisis DNA target melalui PCR, yang memungkinkan deteksi DNA gen spesifik dari hewan non-halal dalam produk pangan. Artikel ini mencakup latar belakang mengenai tren pangan halal di Indonesia, perkembangan perdagangan internasional, serta studi-studi terkait aplikasi PCR dalam autentifikasi halal dari tahun 2013 hingga 2023. Namun, artikel ini juga mengidentifikasi beberapa kelemahan yang perlu ditangani melalui penelitian lanjutan. Dalam kesimpulannya, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan praktik dan keandalan teknologi autentikasi halal, mengatur pasar pangan halal dan menjaga kepercayaan konsumen.

**Kata Kunci:** jaminan produk halal, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), produk pangan

### **Abstract**

***AUTHENTICATION OF HALAL FOOD PRODUCTS USING THE PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) METHOD.*** This article is a review of halal food product authentication using the *Polymerase Chain Reaction* (PCR) method. The concept of halal serves as a symbol in the food trade and as a guarantee of quality for food products. In recent years, Indonesia has shown commitment to halal principles through collaboration between the Halal Product Assurance Organizing Agency and various institutions for effective enforcement. This article aims to evaluate and provide further knowledge about the use of the PCR method to ensure halal food products as an effective method. The writing methodology of this article is based on the analysis of target DNA through PCR, enabling the detection of specific gene DNA from non-halal animals in food products. The article covers background information on the halal food trends in Indonesia, developments in international trade, and studies related to PCR applications in halal

*authentication from 2013 to 2023. However, the article also identifies some weaknesses that need to be addressed through further research. In conclusion, further research is needed to improve the practices and reliability of halal authentication technology, regulate the halal food market, and maintain consumer trust.*

**Keywords:** *halal product guarantee, Polymerase Chain Reaction (PCR), food product*

**How to Cite This Article:** Wijaya, A., Akbar, D. Y., Khairunnisa, A. (2024). Autentikasi Produk Pangan Halal Menggunakan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction). *Indonesian Journal of Halal*, 7(1), 70-80, DOI: <https://doi.org/10.14710/halal.v7i1.21131>

## PENDAHULUAN

Halal merupakan istilah dalam Bahasa Arab yang memiliki arti secara harfiah diizinkan atau diperbolehkan. Pada konteks hukum Islam, istilah halal memiliki konsep yang luas karena mencakup gaya hidup Muslim yang diatur oleh hukum syariah yang harus diikuti dan dipatuhi. Menurut Alfarajat (2022), halal saat ini tidak hanya dipandang sebagai konsep agama, melainkan digunakan sebagai simbol global untuk perdagangan pangan internasional serta jaminan kualitas produk pangan halal. Pada produk pangan, tidak jarang produk pangan yang dikonsumsi oleh konsumen jauh dari kehalalannya. Menurut Maulana et al. (2022), terdapat beberapa contoh kasus penipuan yang dilakukan oleh pelaku usaha terhadap produk makanan olahan yang merugikan konsumen, seperti kasus penemuan bakso olahan yang menggunakan campuran daging babi, ayam tiren (ayam yang mati sebelum dipotong), dan daging tikus Hal ini tentu menjadi sesuatu yang bertentangan dengan konstitusi dalam UU No. 8 Tahun 1999 terkait perlindungan konsumen.

Berdasarkan konstitusi dalam UU No 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal (JPH) mengatur dalam pemberian keamanan, kenyamanan, keselamatan dan ketersediaan produk halal khususnya bagi masyarakat Indonesia yang beragama islam. Menurut Faridah (2019), keberadaan Undang Undang Jaminan Produk Halal (UU JPH) mengikat dan mewajibkan semua produk yang diimpor maupun yang beredar di Indonesia diharuskan memiliki sertifikat halal. Menurut Suparto et al. (2016), diterbitkannya UU JPH membawa perubahan terutama terkait kelembagaan penyelenggara sertifikasi halal. Pada pelaksanaannya, BPJH melakukan kerja sama

dengan Lembaga Pemeriksa Halal (LPH) untuk melakukan audit terhadap produk. Menurut Vinci et al. (2012), autentifikasi produk pangan merupakan prosedur untuk memverifikasi produk tersebut cocok dan sesuai dengan pernyataan pada label yang telah ditetapkan oleh peraturan.

Menurut Mortas et al. (2022), metode analisis atau prosedur autentifikasi halal dapat dilakukan dengan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, *Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA)*, *mass spectrometry*, *chromatography*, *electronic nose* dan *spectroscopy*. Identifikasi dan autentifikasi halal pada produk pangan penting untuk dikaji dan menjadi perhatian utama bagi konsumen yang menginginkan kehalalan pada produk pangan. Metode PCR merupakan salah satu metode autentifikasi halal dan teknik molekuler yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies dalam produk pangan. Penentuan spesies hewan dalam daging atau bahan pangan, pengujian saat ini didasarkan pada analisis *biomarker lipid*, protein, dan asam nukleat. Metode ini memiliki keterbatasan seperti terdapat perubahan posisi asam lemak TAG (*triacylglycerol*) dan MAG (*monoacylglycerol*) selama proses pemasakan pada pengujian berbasis lipid dan terjadinya denaturasi protein terlarut akibat perlakuan termal yang mampu mengurangi potensi pendekatan berbasis protein (Ali et al., 2012; Rahman et al., 2019).

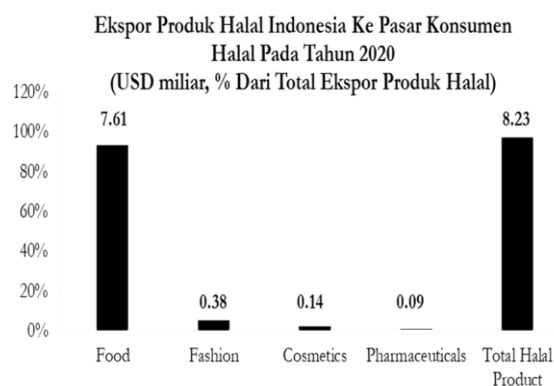
Dalam mengatasi keterbatasan tersebut, uji berbasis DNA dapat dilakukan pada pangan olahan maupun pangan mentah dalam autentifikasi. Menurut Aida et al. (2007), uji PCR telah ditunjukkan dalam literatur untuk memberikan hasil yang sangat baik dalam mendeteksi pemalsuan daging (produk haram)

dalam makanan dan merupakan teknik yang berpotensi dapat diandalkan untuk autentikasi halal. *Review* artikel ini bertujuan untuk mengevaluasi dan memberikan pemahaman terkait penggunaan metode PCR dalam autentifikasi produk pangan halal sebagai alat yang efektif dalam memastikan kehalalan melalui studi kasus atau penelitian terdahulu, sehingga dapat memberikan contoh konkret dalam penerapannya.

### TREN PANGAN HALAL

Tren pangan halal di Indonesia saat ini menjadi fokus utama, baik dari perspektif konsumen maupun industri. Tumbuhnya kesadaran masyarakat akan pentingnya mengonsumsi produk yang memenuhi standar kehalalan Islam menjadi faktor pendukung peningkatan produk pangan halal. Menurut Schmidt (2021), tercatat 90% dari 250 juta penduduk Indonesia adalah Muslim. Hal ini menjadi peluang besar dalam meningkatkan perkembangan produk serta layanan jasa yang berfokus pada aspek kehalalan. Menurut Qoni'ah, R. (2022), Indonesia pada tahun 2020 tercatat mengalami kenaikan neraca perdagangan hingga USD 21,74 miliar. Menurut Poylema et al. (2022), hal ini disebabkan adanya kegiatan ekspor lebih besar dibandingkan dengan kegiatan impor.

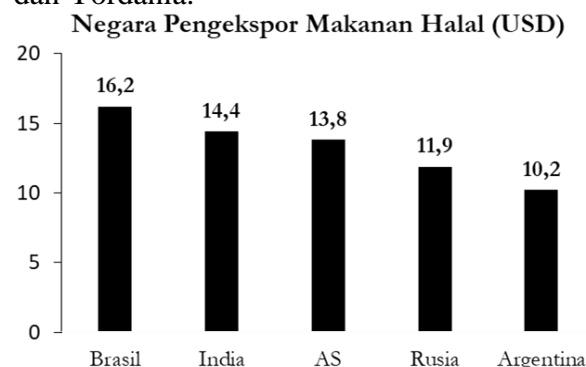
Kegiatan ekspor produk halal Indonesia pada tahun 2020 tercatat sebesar USD 8,23 miliar yang didapatkan dari 57 negara Organisasi Kerja Islam (OKI) dan 10 negara non-OKI yang ditunjukkan pada Gambar 1. Sektor pangan telah mencatatkan kontribusi terbesar dalam pendapatan ekspor produk halal Indonesia menuju negara-negara anggota OKI, dengan mencapai 93% dari total nilai ekspor sebesar USD 7,61 miliar. Hal ini tentu menjadi potensi bagi Indonesia untuk pengembangan produk pangan halal yang memiliki daya saing terhadap negara lain.



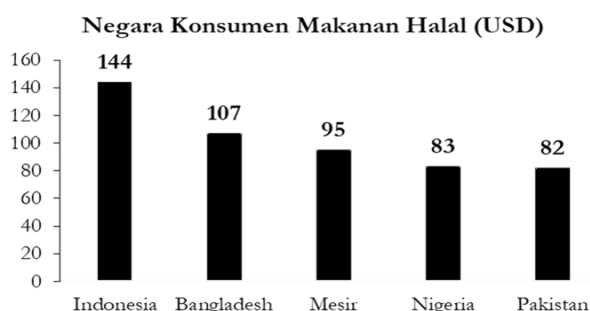
\*Pasar Konsumen Halal Mencakup 57 Negara OKI dan 10 Negara Non OKI

**Gambar 1.** Ekspor produk halal Indonesia ke pasar konsumen halal pada tahun 2020 (IHATEC, 2022) (data diolah)

Berdasarkan data *State of Global Islamic Economy Report 2020-2021* dalam Dinar Standard, terdapat negara-negara importir pangan halal yang dapat dilihat pada Gambar 2 antara lain, Brazil, Bangladesh, Mesir, Nigeria, dan Pakistan. Negara Brazil menjadi negara tertinggi dalam tingkat ekspor produk pangan halal ke Indonesia, hal ini menunjukkan pasar industri halal masih dikuasai oleh negara non-Muslim (Purnama & Auwalin, 2019). Selain Indonesia, terdapat negara-negara tujuan eksportir pangan halal seperti Bangladesh, Mesir, Nigeria, dan Pakistan (Gambar 3). Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan bahwa Indonesia menjadi penyuplai impor senilai USD 144 juta, di mana nilai tersebut tidak berbeda jauh dengan negara Bangladesh yang menempati posisi kedua yaitu USD 107 juta. Hal ini dipengaruhi oleh jumlah penduduk Muslim di masing-masing negara. Kegiatan ekspor pangan halal juga dilakukan oleh Indonesia ke negara lain, seperti Malaysia, Arab Saudi, Nigeria, UEA, dan Yordania.

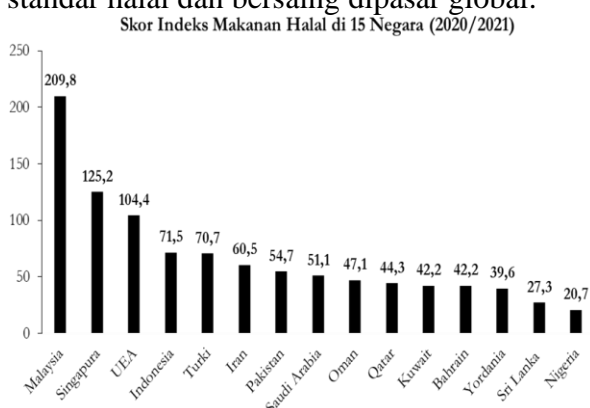


**Gambar 2.** Negara pengekspor makanan halal (Dinar Standar, 2020) (data diolah)



**Gambar 3.** Negara konsumen makanan halal (Dinar Standar, 2020) (data diolah)

Berdasarkan laporan *State of the Global Islamic Economy Report* tahun 2022/2021 dalam Dinar Standard tercatat indeks makanan halal pada Gambar 4 Indonesia menduduki peringkat ke-4 dari 15 negara dengan skor 71,5 poin. Menurut Adinugraha et al. (2022), saat ini negara-negara berupaya untuk memastikan produk yang diimpor agar memenuhi standar kehalalan dan menjadikan sertifikat halal sebagai prasyarat. Skor indeks makanan halal menunjukkan penilaian terhadap sejauh mana suatu negara mematuhi standar makanan halal dalam produksi dan distribusi produknya mencakup aspek seperti kepatuhan terhadap proses halal, label halal pada kemasan, serta ketersediaan produk halal di pasar. Semakin tinggi skor indeks makanan halal suatu negara, maka produk halal negara tersebut diminati oleh negara konsumen halal di dunia. Hal ini menjadi tantangan besar Indonesia dalam upaya meningkatkan produk pangan yang dihasilkan agar dapat memenuhi standar halal dan bersaing dipasar global.



**Gambar 4.** Skor indeks makanan halal di 15 negara pada periode 2020/2021 (Rizaty, 2021) (data diolah)

### METODE AUTENTIKASI HALAL PCR

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan salah satu teknik biologi molekuler yang banyak digunakan dalam autentikasi halal. Analisis dilakukan pada DNA target melalui deteksi adanya DNA gen spesifik dari hewan-hewan non-halal. Kandungan DNA spesifik spesies masih dapat dideteksi meskipun produknya telah mengalami proses pengolahan yang kompleks karena sifat DNA yang tahan panas. Metode PCR banyak digunakan untuk amplifikasi daerah tertentu dari suatu untai DNA (DNA target) dan mendeteksi DNA spesifik spesies tertentu seperti spesifik *porcine* (hewan babi), *bovine* (hewan sapi), *ovine* (hewan domba) atau bahkan spesifik manusia.

#### Primer

Primer merupakan sekumpulan oligonukleotida berukuran 10-20 nukleotida yang didesain komplementer dengan DNA template yang berfungsi untuk menentukan batas sekuen DNA yang akan diamplifikasi. Pembuatan primer dilakukan menggunakan DNA *synthesizer*. Pada teknik PCR digunakan sepasang primer yang disebut *primer forward* dan *primer reverse* yang menentukan spesifitas DNA yang akan diamplifikasi. Menurut Rohman et al. (2022), desain primer yang baik adalah kedua primer (*forward* dan *reverse*) tidak saling berikatan satu sama lain untuk membentuk dimer dan primer yang digunakan harus memiliki suhu leleh yang sama. Menurut Pradyaniti et al. (2013), primer yang terlalu pendek dapat mengurangi tingkat spesifisitas primer, sebaliknya ukuran primer yang terlalu panjang tidak banyak mempengaruhi spesifisitas target.

Secara umum, primer yang baik memiliki 18-24 pasang basa dengan tingkat kesesuaian GC sebesar 50-60% (Rohman et al., 2022). Komposisi basa GC akan berpengaruh pada suhu *annealing* dan spesifisitas primer. Menurut Kaur dan Kumar (2014), jumlah basa GC yang terlalu tinggi dapat meningkatkan suhu *annealing*. Desain primer yang kurang baik dapat memberikan hasil amplifikasi yang tidak spesifik bahkan dapat terbentuk primer dimer (Yustinadewi et al., 2018). Berdasarkan penelitian Rohman et al. (2022) menjelaskan bahwa di antara primer yang dirancang pada

Tabel 1, pasangan primer MITB\_3 yang menargetkan pada mitokondria D-loop *Bos taurus* merupakan kandidat yang ideal karena

memenuhi persyaratan primer yang dibutuhkan.

**Tabel 1.** Kandidat primer yang menargetkan mitokondria D-loop dari *Bos taurus*

Primers	Sequence 5'-3'	Tm (°C)	%GC	Amplicon
MITB_1	F: 5'-TCT TCA GGG CCA TCT CAT CTA-3'	62	47,6	115
	R: 5'-CCA AAT GTA TGA CAG CAC AGT TAT G-3'	62	40	
MITB_2	F: 5'-ATC TCG ATG GAC TAA TGG CTA ATC-3'	62	41,7	134
	R: 5'-CAA TAG ATG CTC CGG GTC AG-3'	62	55	
MITB_3	F: 5'-GGA TGC TTG GAC TCA GCT ATG-3.	62	52,4	114
	R: 5'-TGA CTG TAA TGT CCA CGC TTA TC-3'	62	43,5	

(Rohman et al., 2022)

### Prosedur Pelaksanaan PCR

Prosedur pengujian dengan PCR dapat dilakukan dengan langkah langkah sebagai berikut:

#### 1. Desain Primer Spesifik

Desain primer spesifik bertujuan untuk mendapatkan primer yang memiliki spesifisitas tinggi dan efisiensi amplifikasi yang baik. Sepasang primer (*forward* dan *reverse*) diperlukan pada PCR untuk membatasi daerah yang ingin diamplifikasi. Desain primer dapat dilakukan dengan *software NCBI-primer BLAST* dengan memasukkan kriteria yang diinginkan.

#### 2. Isolasi DNA

Sampel biologis seberat sekitar 200 mg digerus dalam mortar dan kemudian dimasukkan ke dalam *microtube*. Sebanyak 700 µL buffer lisis ditambahkan ke dalam *microtube* yang berisi sampel yang sudah digerus, diikuti dengan penambahan 10 µL proteinase-K. Larutan fenol-KIAA dalam perbandingan 1:1 ditambahkan ke dalam *microtube*. Supernatan (lapisan atas) dikumpulkan dan dikombinasikan dengan 2-propanol dalam perbandingan 1:1. Campuran ini diinkubasi dalam *freezer* untuk memungkinkan DNA mengendap selama 15 jam. Setelah proses inkubasi, sampel kembali disentrifugasi. DNA yang terendap akan terlihat sebagai pelet pada dasar *microtube*. Supernatan (lapisan atas) dibuang. Sejumlah 500 µL etanol 70% ditambahkan ke pelet DNA yang terendap. Setelah itu, sampel disentrifugasi kembali untuk membersihkan

DNA. Pelet DNA diisolasi dan dilarutkan dalam 100 µL buffer TE untuk menghasilkan larutan DNA yang dapat disimpan.

#### 3. Pengujian DNA Template

DNA diekstraksi dan kemudian diuji menggunakan spektrofotometer. Sebanyak 3 µL sampel DNA dicampur dengan 597 µL air destilasi untuk menghasilkan sampel DNA yang sudah diencerkan. Sebanyak 3 µL larutan TE diencerkan dengan cara yang sama seperti sampel DNA dan digunakan sebagai blanko. Sampel DNA dan blanko dimasukkan ke spektrofotometer untuk pengujian. Panjang gelombang cahaya ultraviolet (UV) yang digunakan adalah 260 nm dan 280 nm. Pengujian DNA dilakukan dengan mengukur rasio absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Rasio ideal A260/A280 untuk larutan DNA murni adalah 1,8-2,0. Hal ini sejalan dengan Fatchiyah et al. (2011), di mana molekul DNA dikatakan murni jika rasio perbandingan A260/A280 sama dengan 1,8-2,0. Konsentrasi DNA dihitung dengan mengalikan nilai absorbansi pada 260 nm dengan konstanta (50 µg/mL) dan faktor pengenceran. Konsentrasi DNA yang diperoleh akan digunakan dalam kegiatan PCR. Menurut Nugroho et al. (2017), konsentrasi DNA template yang dibutuhkan untuk PCR berkisar antara 10-100 µg/mL.

#### 4. Amplifikasi Fragmen DNA Spesifik

Amplifikasi fragmen DNA spesifik mengacu pada penelitian Indriati dan Yuniarsih (2019), di mana amplifikasi segmen *gen cyt b* dilakukan dengan metode PCR

multipleks. Sebanyak 2  $\mu\text{L}$  sampel DNA dimasukkan ke dalam tabung PCR 0,2 mL. Kemudian dilanjutkan dengan penambahan komponen PCR. Proses amplifikasi dilakukan pada *thermocycler*, diatur pada suhu-suhu tertentu dalam serangkaian siklus. Siklus amplifikasi: 30 siklus yang terdiri dari: denaturasi, penempelan, dan elongasi. Denaturasi: pemanasan hingga 94°C selama 30 detik untuk memisahkan untai ganda DNA. *Annealing*: penurunan suhu ke 60°C selama 45 detik untuk primer mengikat ke DNA target. Elongasi: pemanasan hingga 72°C selama 1 menit agar Taq *polymerase* memperpanjang DNA dari primer. Setelah proses amplifikasi selesai, tabung PCR diambil dan disimpan pada suhu kamar atau pada suhu 4°C hingga siap untuk analisis lebih lanjut.

#### 5. Elektroforesis dan Visualisasi Produk PCR

Elektroforesis dan visualisasi produk PCR mengacu pada penelitian Indriati dan Yuniarsih (2019), di mana produk PCR divisualisasikan dalam gel agarosa 1,5% yang digunakan teknik elektroforesis. Gel dibuat dari 0,6 gram agarose dan 30 mL larutan buffer yang dipanaskan ( $0,5 \times \text{TBE}$ ). Larutan agarose dibiarkan agak dingin sambil diaduk dengan pengaduk, kemudian ditambahkan 2,5  $\mu\text{L}$  pewarna *ethidium bromide* (EtBr). 5  $\mu\text{L}$  produk PCR dilarutkan dalam 1  $\mu\text{L}$  *loading dye*. Elektroforesis dilakukan selama 40 menit pada tegangan konstan 100 volt atau hingga pewarna *bromtimol blue* mencapai dasar gel. Setelah elektroforesis selesai, gel diambil untuk fotografi UV.

### PENELITIAN AUTENTIKASI HALAL METODE PCR

Tabel 2 menunjukkan perkembangan penelitian terdahulu sejak tahun 2013 hingga 2023 mengarah pada pengujian PCR dalam

mendeteksi gen target pada bahan pangan. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa saat ini penggunaan metode PCR dalam autentikasi halal lebih didominasi oleh *Multiplex* PCR dan RT-PCR. Menurut Indriati dan Yuniarsih (2019), kelebihan dari teknik multiplex PCR yaitu dapat menghemat waktu dan biaya analisis karena untuk mendeteksi sampel dengan sumber DNA yang berbeda dapat dilakukan dalam satu kali reaksi. Menurut Azad et al. (2023), *real time* PCR sangat akurat dan tidak terlalu membutuhkan banyak tenaga kerja dibandingkan dengan metode PCR kualitatif. Hal ini tentu bersesuaian dengan tren analisis autentikasi halal, yaitu kesederhanaan dalam analisis dan murah. Hal ini menjadi *gap* analisis metode PCR dalam autentikasi halal, di mana perkembangan penelitian akan mengarah pada *Multiplex* PCR dan RT PCR.

Berdasarkan kajian penelitian terdahulu, terdapat perbedaan sensitivitas pada metode yang digunakan dalam mendeteksi spesies dalam bahan pangan. Batas deteksi relatif terendah yang diketahui pada Tabel 2 adalah 0,01% b/b gelatin babi di dalam gelatin sapi dan gelatin babi pada produk *confectionery*. Hal dapat dikarenakan perbedaan primer dan gen target yang digunakan dalam amplifikasi DNA dengan PCR. Namun sisi lain terkait kemurnian DNA *template* saat isolasi DNA juga dapat mempengaruhi sensitivitas metode PCR yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa metode PCR sangat menentukan sensitivitas PCR, di mana akan mempengaruhi ada tidaknya spesies haram dalam bahan pangan. Hal ini tentu akan mendorong penelitian selanjutnya untuk menemukan metode terbaik yang dapat mendeteksi gen target spesies dalam kompleksitas bahan pangan.

**Tabel 2.** Kajian Penelitian Terdahulu Metode PCR dalam autentikasi halal

Metode PCR	Target Gen	Hasil Penelitian	LOD	Penulis
RT-PCR dengan <i>species-specific</i>	<i>cytochrome b</i> ( <i>cyt b</i> )	Semua sampel dapat terdeteksi dengan baik, di mana metode <i>real-time</i> PCR dengan primer Tanabe mampu mendeteksi gelatin	Gelatin babi di dalam campuran gelatin sapi: 0,01% b/b.	Hibaturrahman et al. (2023)

Metode PCR	Target Gen	Hasil Penelitian	LOD	Penulis
<i>primer</i> (SSP)		babi pada campuran gelatin sapi dan produk <i>confectionery</i> dengan sensitivitas yang tinggi.	Gelatin babi di dalam produk <i>confectionery</i> : 0,1-0,01% b/b	
RT-PCR dengan <i>species-specific primer</i> (SSP)	mitokondria sitokrom c oksidase subunit 1 (CO1)	Penelitian menunjukkan primer dapat mengamplifikasi target DNA secara spesifik pada suhu <i>annealing</i> yang dioptimalkan yaitu 56,6°C. Standar deviasi relatif (RSD) berada dalam kisaran yang dapat diterima (RSD <25%)	5 ng DNA, setara dengan 2,5% daging anjing dalam bakso	Rohman et al. (2021)
RT-PCR dengan <i>species-specific primer</i> (SSP)	mitokondria D-loop	Hasil amplifikasi dengan suhu <i>annealing</i> 53,1°C menunjukkan adanya intensitas fluoresensi DNA yang diekstrak dari daging sapi. Metode yang dikembangkan cukup presisi seperti yang ditunjukkan oleh nilai RSD yang rendah, yaitu 0,77%.	100 ng DNA daging sapi	Rohman et al. (2022)
<i>Multiplex</i> PCR	gen babi, gen sapi, dan 18SrRNA	Formulasi primer PCR <i>multiplex</i> yang digunakan semuanya bekerja pada suhu <i>annealing</i> 45°C dalam satu tabung. Metode yang dikembangkan pada penelitian ini menunjukkan sebagai metode yang kuat yang dapat mendeteksi target DNA dari sumber matriks pangan yang berbeda.	0,851 ng DNA daging sapi dan 0,851 ng DNA daging babi.	Desriani et al. (2020)
RT-PCR dengan <i>species-specific primer</i> (SSP)	<i>cytochrome b</i> ( <i>cyt b</i> )	Metode PCR mampu mengidentifikasi spesies dengan tepat pada daging yang dimasak maupun mentah. Metode ini mampu mengidentifikasi 42 produk daging olahan Turki, di mana 4 sampel positif mengandung babi, dan 2 sampel terkait adulterasi pada <i>labeling</i> bahan pangan.	0,1% b/b daging babi dalam sampel campuran daging.	Pelin et al. (2013)
<i>Multiplex</i> PCR	<i>cytochrome b</i> ( <i>cyt b</i> )	<i>Gen cyt b</i> terbukti berhasil mengamplifikasi DNA dari hewan sapi dan babi dalam DNA <i>mix</i> . Bakso yang diuji	-	Indriati dan Yuniarsih (2019)

Metode PCR	Target Gen	Hasil Penelitian	LOD	Penulis
		kandungan DNA-nya 100% positif mengandung sapi, sedangkan produk sosis terdapat satu produk sosis yang menunjukkan hasil positif mengandung babi.		

## KELEBIHAN AUTENTIKASI HALAL METODE PCR

### Hemat Waktu dalam Analisis

Teknik multipleks PCR dapat menghemat waktu dalam analisis karena untuk mendeteksi sampel dengan sumber DNA yang berbeda dapat dilakukan dalam satu kali reaksi sehingga metode ini dapat lebih efisien. Mengacu pada penelitian Indriati dan Yuniarsih (2019), visualisasi hasil amplifikasi DNA *cyt b* sampel sosis campuran daging sapi dan babi menghasilkan dua fragmen yang berbeda yaitu fragmen DNA daging sapi dan fragmen DNA daging babi dalam satu visualisasi elektroforesis pada gel agarosa 1.5%.

### Memiliki Sensitivitas yang Tinggi

Sensitivitas yang tinggi pada metode PCR dapat digunakan dalam mendeteksi indikasi pelabelan palsu pada produk pangan. Berdasarkan penelitian Hibaturrahman et al. (2023) menunjukkan nilai LOD gelatin babi di dalam produk *confectionery* berada pada kisaran 0,1-0,01% b/b. Adanya substansi babi di bawah 0,1% pada produk dapat dipertimbangkan sebagai kontaminasi silang pada jalur produksi dari pada adulterasi.

### Spesifisitas terhadap DNA Target

Spesifisitas pada autentikasi halal dengan instrumen PCR bergantung pada primer yang digunakan dalam pengujian sampel. Berdasarkan penelitian Rohman et al. (2022), uji spesifisitas primer pada PCR dilakukan dengan mengamplifikasi isolat DNA daging mentah babi, ayam, sapi, dan domba dengan menggunakan suhu *annealing* 53,1°C. Hasil penelitian menunjukkan amplifikasi keberadaan intensitas fluoresensi DNA yang diekstrak dari daging sapi, sedangkan untuk DNA yang diekstrak dari daging babi, ayam, dan domba tidak menunjukkan adanya fluoresensi.

## KELEMAHAN AUTENTIKASI HALAL METODE PCR

### Terdapat Komposisi Bahan Pangan yang Menghambat Ekstraksi DNA

Komposisi bahan pangan memiliki pengaruh terhadap ekstraksi DNA pada bahan pangan yang akan dilakukan autentikasi kehalalannya. Berdasarkan penelitian Rosman et al. (2016), hasil penelitian menunjukkan bahwa bubuk kakao memiliki efek penghambatan dalam ekstraksi DNA lemak babi dari coklat yang dipalsukan dengan lemak babi. Hal ini sejalan dengan pernyataan Ramirez et al. (2018) bahwa kakao mengandung polifenol tingkat tinggi, yang dapat mengganggu ekstraksi DNA.

### Persiapan Sampel yang Rumit

*Template* DNA hasil ekstraksi DNA akan diamplifikasi menggunakan PCR serta dianalisis secara kuantitatif untuk menentukan kemurnian dan konsentrasi *template* DNA berdasarkan pengukuran absorbansi UV pada 260 nm (A260) dan 280 nm (A280). menurut Nugroho et al. (2017), konsentrasi DNA *template* yang dibutuhkan untuk kegiatan PCR berkisar antara 10-100 µg/mL. Berdasarkan paparan tersebut menunjukkan bahwa persiapan sampel dalam analisis autentikasi dengan instrumen PCR rumit dikarenakan keberadaan kriteria khusus pada *template* DNA.

### Fragmentasi DNA Akibat Proses Pemanasan

Pemanasan dapat menyebabkan DNA mengalami fragmentasi yang dapat mempengaruhi hasil analisis *real-time* PCR (Mano et al., 2017). Hal ini sesuai dengan pernyataan Bitskinashvili et al. (2019) bahwa salah satu faktor kritis yang mempengaruhi analisis *real time* PCR dalam identifikasi ingredien pangan adalah waktu kontak pemanasan.



## KESIMPULAN

Metode PCR menawarkan keunggulan tertentu dalam autentikasi produk pangan halal, perlu ada perhatian khusus terhadap tantangan dan kendala yang mungkin timbul. Penelitian lanjutan diharapkan untuk terus mengembangkan metode ini, mengatasi kelemahan yang ada, dan menjaga relevansinya dalam memastikan kehalalan produk pangan. Pentingnya pengembangan teknologi autentikasi halal yang tidak hanya sensitif dan spesifik tetapi juga praktis dan dapat diandalkan dalam konteks industri pangan.

## REFERENSI

- Adinugraha, H. H., Andrean, R., Ikhrom, W. A., Setyani, R. A. G., Sibyani, H., Mukarromah, F., & Ikhlas, S. (2022). *Perkembangan Industri Halal di Indonesia*. Sicientist Publishing
- Aida, A. A., Che Man, Y. B., Raha, A. R., & Son, R. (2007). Detection of pig derivatives in food products for halal authentication by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(4), 567–572.
- Alfarajat, L. (2022). Halal Food and Medical Tourism: Muslim Patients Experiences and Satisfaction in South Korea. *Journal of religion and health*, 1-20
- Ali, M. E., Hashim, U., Dhahi, T. S., Mustafa, S., Man, Y. B., & Latif, M. A. (2012). Analysis of pork adulteration in commercial burgers targeting porcine-specific mitochondrial cytochrome B gene by TaqMan probe real-time polymerase chain reaction. *Food Analytical Methods*, 5(4), 784-94.
- Azad, M. A. K., Dey, M., Khanam, F., Biswas, B., & Akhter, S. (2023). Authentication of meat and meat products using molecular assays: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12(2023), 100586
- Bitskinashvili, K., Gabriadze, I., Kutateladze, T., Vishnepolsky, B., Mikeladze, D., Datukishvili, N. (2019). Influence of heat processing on DNA degradation and PCR-based detection of wild type and transgenic maize. *Journal of Food Quality*, 2019, 5657640
- Desriani., Sugiana, F. A., Widyowati, H., Suryani., Sukma, A., Wulandari, A., & Warisman, M. A. (2020). Triplex PCR for halal authentication of processed food: Development and Characterization. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 439, 012047
- Faridah, H. D. (2019). Sertifikasi Halal di Indonesia: Sejarah, Perkembangan, dan Implementasi. *Journal of Halal Product and Research*, 2(2), 68-78.
- Fatchiyah, Arumingtyas, E. L., Widyarti, S., & Rahayu, S. (2011). *Molecular Biology-Basic Principles of Analysis*. Erlangga.
- Hibaturrahman, S. N., Kusnandar, F., Yuliana. N. D., & Heryani. (2023). Sensitivitas Real-Time Polymerase Chain Reaction dengan Primer Tanabe dalam Mendeteksi Gelatin Babi pada Confectionery. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 34(1), 119-126.
- IHATEC (Indonesia Halal Training dan Education). Produk Halal Indonesia di Pasar Global. *Ihatec.com*. Diakses pada 26 Oktober 2023 dari <https://ihatec.com/produk-halal-indonesia-di-pasar-global/>
- Indriati M., & Yuniarsih, E. (2019). Multiplex PCR Method of Detecting Pork to Guarantee Halal Status in Meat Processed Products. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 7(3), 96-101
- Kaur, P., & Kumar, S. (2014). Quality of dried coriander leaves as affected by pretreatment and method of drying. *Eur Food Res Technol*, 223(1), 189-194.

- Mano, J., Nishitsuji, Y., Kikuchi, Y., Fukudome, S., Hayashida, T., Kawakami, H., Kurimoto, Y., Noguchi, A., Kondo, K., Teshima, R., Takabatake, R., & Kitta, K. (2017). Quantification of DNA fragmentation in processed foods using real-time PCR. *Food Chemistry*, 226, 149-155.
- Maulana, D. F., Makhrus., & Hasanah, H. (2022). The Urgency of MUI Halal Fatwa about Food, Beverage, Medicine and Cosmetic Products for the Consumer Protection. *Volkgeist: Jurnal Ilmu Hukum dan Konstitusi*, 5(2), 199-214.
- Mortas, M., Awad, N., & Ayvaz, H. (2022). Adulteration detection technologies used for halal/kosher food products: an overview. *Discover Food*, 2, 15.
- Nugroho, K., Terryana, R. T., & Lestari, P. (2017). Metode Ekstraksi DNA Cabai (*Capsicum annum* L.) Menggunakan Buffer CTAB (Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide) Modifikasi Tanpa Nitrogen Cair. *Scripta Biologi*, 4(2), 91-94
- Pelin, U., Handan, B., Yiknur, C., & Hamid, S. (2013). Meat Species Identification and Halal Athentication using PPCR analysisi of raw and cooked traditional Turkish foods. *Journal Meat Science*, 94, 280-284.
- Poylema, F. R., & Pasulu, M. (2022). Pembangunan Ekonomi melalui Perdagangan Internasional Indonesia dalam Ekspor dan Impor (2017–2021). *YUME: Journal of Management*, 5(1), 719-724.
- Pradyaniti, D. G., Wirajana, I. N., & Yowani, S. C. (2013). Desain primer secara silico untuk amplifikasi fragmen Gen rpoB Mycobacterium tuberculosis dengan Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Farmasi Udayana*, 1(1), 124-130.
- Purnama, W. A., & Auwalin, I. (2019). Pengaruh Ekspor Produk Halal terhadap Current Account Balance di Indonesia. *Jurnal Ekonomi Syariah Teori dan Terapan*, 6(6), 1242-1258
- Qoni'ah, R. (2022). Tantangan dan strategi peningkatan ekspor produk halal Indonesia di pasar global. *Halal Research Journal*, 2(1), 52-63
- Rahman, M. M., Razimi, M. S. A., Nor, A. M., & Hussain, N. M. (2019). Application of DNA Based Molecular Assays for Halal Meat Products Authentication-An overview. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 7(7), 294-298
- Ramirez, A. M. H., Duque, H. J. S., & Trujillo, A. I. U. (2018). Quality of cocoa (*Theobroma cacao* L.) DNA from foliar tissue at different stages of development. *Acta Agronomica*, 67(2), 311-318
- Rizaty MA. (2021). Skor Indeks Makanan Halal di 15 Negara (2020/2021). [Databooks.katadata.co.id](https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2021/skor-indeks-makanan-halal-indonesia-peringkat-4-di-dunia). Diakses pada 26 Oktober 2023 dari <https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2021/skor-indeks-makanan-halal-indonesia-peringkat-4-di-dunia>
- Rohman, A., Orbayinah, S., Hermawan, A., Sudjadi, S., Windarsih, A., & Handayani S. (2022). The development of real-time polymerase chain reaction for identification of beef meatball. *Applied Food Research*, 2, 100148
- Rohman, A., Rahayu, W. S., Sudjadi., & Martono, S. (2021). The Use of Real-Time Polymerase Chain Reaction Combined with Specific-Species Primer for Analysis of Dog Meat DNA in Meatball. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(1), 225-233.
- Rosman, N. N., Mokhtar, N. F. K., Ali, M. E., & Mustafa, S. (2016). Inhibitory Effect of Chocolate Components Toward Lard Detection in Chocolate Using Real Time PCR. *International Journal of Food Properties*, 19(11), 2587-2595
- Schmidt, L. (2021). Aesthetics of authority: 'Islam Nusantara' and Islamic

'radicalism' in Indonesian film and social media. *Religion*, 51(2), 237-258

Standard, D. (2020). State of the global islamic economy report 2020/2021. Shariaknowledgecentre.id. Diakses pada 26 Oktober 2023 dari <https://www.shariaknowledgecentre.id/research-publication/dinarstandard-2020-state-of-the-global-islamic-economy-report.pdf>

Sudjadi, S., & Rohman, A. (2016). *Analisis Derivat Babi*. Gadjah Mada University Press

Suparto, S., Djanurdi., Yuanitasari, D., & Suwandono, A. (2016). Harmonisasi dan Sinkronisasi Pengaturan Kelembagaan Sertifikasi Halal terkait Perlindungan Konsumen Muslim Indonesia. *Mimbar Hukum*, 28(3), 427-438.

Vinci, G., Preti, R., Tieri, A., & Vieri, S. (2012). Authenticity and quality of animal origin food investigated by stable-isotope ratio analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3), 439-448

Yustinadewi, P. D., Yustiantara, P. S., & Narayani, I. (2018). Mdr-1 Gene 1199 Variant Primer Design Techniques in Pediatric Patient Buffy Coat Samples With Lla. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 5(1), 105.