



DETEKSI KONTAMINAN FRAGMEN DNA PENGKODE *cyt b* BABI PADA SAMPEL *SOFTGELLCANDY* TAK BERLABEL HALAL

Yuanita Rachmawati^{1*)}, Saiku Rokhim¹, Misbakhul Munir², Eva Agustina²

¹Program Studi Biologi, UIN Sunan Ampel Surabaya

²Halal Center University, UIN Sunan Ampel Surabaya
Jl. Ahmad Yani No. 117 Surabaya, 60237, (031) 8410298

*Penulis korespondensi: yuanitarhartono@gmail.com

Abstrak

Softgellcandy adalah permen bertekstur lunak yang diproses dengan penambahan komponen hidrokoloid seperti agar, gum, pektin, pati, kaegenan, gelatin dan lain-lain yang digunakan untuk modifikasi tekstur sehingga menghasilkan produk yang kenyal. Proses distribusi Softgellcandy di pasaran seringkali terlepas dari pengawasan lembaga berwenang. Banyak ditemukan bermacam merk Softgellcandy yang tidak berBPOM maupun tidak berlabel Halal. Gelatin menjadi titik kritis kehalalan Softgellcandy. Penelitian ini menguji 15 sampel Softgellcandy tak berlabel halal yang dijual bebas di Surabaya dengan primer pengkode fragmen DNA cytochrome b Babi. Metode yang digunakan adalah konvensional PCR pada suhu 98°C-2 menit; 95°C-30 detik; 61°C-30 detik; 72°C-40 detik; dan 72°C-3 menit, selama 30 siklus. Visualisasi hasil PCR menggunakan elektroforesis 2% gel agarosa menunjukkan dari 15 sampel, 8 sampel terindikasi kontaminan DNA babi ditandai dengan pita DNA sebesar ±149bp. Pemerintah perlu melakukan monitoring lebih ketat terkait peredaran produk makanan tak berlabel halal yang dijual bebas di pasaran, mengingat Halal menjadi issue yang sangat sensitif di negara dengan mayoritas penduduk muslim terbesar di dunia ini. Karena halal adalah suatu keharusan.

Kata kunci: *softgellcandy, cyt-b Babi, PCR*

Abstract

Contaminant Detection of DNA Fragments Coding *cyt b* Pig in Samples of Halal Unlabeled Softgellcandy. *Softgellcandy is soft textured candy which is processed by adding hydrocolloid components such as agar, chewing gum, pectin, starch, carrageenan, gelatin and others which are used for texture modification to produce a chewy product. Unfortunately, Softgellcandy's distribution in the market is often released from the supervision of authorized institutions. Many Softgellcandy brands are found that do not have a BPOM or are not labelled halal. Gelatin is Softgellcandy's halal critical point. This study tested 15 non-labelled Softgellcandy samples that were sold freely in Surabaya with the main coding for cytochrome b pig DNA fragments. The method used is a conventional PCR at 98°C-2 minutes; 95°C-30 seconds; 61°C-30 seconds; 72°C-40 seconds; and 72°C-3 minutes, for 30 cycles. Visualization of PCR results using 2% agarose gel electrophoresis showed from 15 samples, 8 samples showed that pig DNA contaminants were marked with DNA band ± 149bp. The government needs to closely monitor the circulation of halal non-labelled food products that are sold freely on the market, given that Halal is a very sensitive issue in a country with the largest Muslim population in the world. Because halal is a must.*

Kata kunci: *softgellcandy*, *cyt-b of pig*, *PCR*

PENDAHULUAN

Barang dan/atau jasa yang terkait dengan makanan, minuman, obat, kosmetik, produk kimiawi, produk biologi, produk rekayasa genetik, serta barang gunaan yang dipakai, digunakan, atau dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya muslim, yang masuk, beredar, dan diperdagangkan di Indonesia haruslah berlabel Halal. Hal ini dijamin oleh Undang-Undang RI No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal yang tertuang dalam pasal 4. Peredaran makanan dan minuman di pasaran seringkali terlepas dari pengawasan pemerintah. Banyak makanan dan minuman yang beredar banyak dijumpai tanpa label halal, baik makanan yang diimpor berasal dari luar negeri (ML: Makanan Luar dari BPOM) ataupun dari produsen dalam negeri.

Softgellcandy adalah permen bertekstur lunak yang diproses dengan penambahan komponen hidrokoloid seperti agar, gum, pektin, pati, kaegenan, gelatin dan lain-lain yang digunakan untuk modifikasi tekstur sehingga menghasilkan produk yang kenyal (SNI 3547-2-2008, BSN 2008). Proses distribusi *Softgellcandy* di pasaran seringkali terlepas dari pengawasan lembaga berwenang. Banyak ditemukan bermacam merk *Softgellcandy* yang tidak berBPOM maupun tidak berlabel Halal. Gelatin menjadi titik kritis kehalalan *Softgellcandy*. Gelatin tidak hanya dapat dibuat dari bahan halal, namun juga yang diharamkan Allah SWT, seperti babi. Gelatin yang beredar di pasaran didapatkan dari bahan baku mamalia seperti kulit babi sebanyak 46% dari produksi gelatin dunia, diikuti dengan kulit sapi sebanyak 29,4%, dari tulang sapi sebanyak 23,1%, dan dari sumber lain sebanyak 1,5% yang berasal dari produk perikanan (Karim & Bath, 2009).

Gelatin merupakan protein yang berasal dari hidrolisis kolagen jaringan ikat dan tulang dengan perlakuan asam dan basa. Gelatin memiliki sifat sebagai gelling agent, thickening agent, zat penstabil, dan emulsifier. Oleh karena itu helatin digunakan dalam produk makanan seperti marshmallow, permen gummy, daging olahan, dan es krim. Selain itu gelatin juga digunakan dalam industri farmasi sebagai bahan untuk membuat kapsul keras dan kapsul lunak, tablet, salep untuk mukosa membran mulut, dan suplemen gummy (Hui, 2011). Gelatin terdiri dari dua tipe ditinjau dari proses pembuatannya, yaitu tipe A dan tipe B. Gelatin tipe A merupakan gelatin yang diproduksi melalui proses asam sedangkan gelatin tipe B diperoleh dari proses alkalin. Perbedaan proses produksi yang digunakan ini bergantung pada sumber gelatin yang digunakan. Tipe A untuk gelatin dari babi dan gelatin tipe B untuk gelatin dari sapi (Wardani *et al.*, 2012).

Allah SWT mengharamkan daging babi (dan termasuk jenisnya, celeng) untuk dijadikan sebagai

makanan yang dengan jelas termaktub dalam firmanNya, kitab suci Al-Qur'an dalam banyak surat dan ayat. 6:145 berarti "Katakanlah: Aku tidak menjumpai dalam yang telah diwahyukan kepadaku yang diharamkan untuk semua orang yang akan memakannya kecuali yang mati atau darah yang mengalir keluar atau daging babi karena sungguh, masing-masing adalah kotoran atau ketidakpatuhan dalam bentuk penyembelihan untuk selain Allah. Kecuali siapa saja dalam keadaan terpaksa bukan karena menginginkannya dan bukan pula karena melanggar (batasnya), maka sungguh, Tuhanmu adalah Maha Pengampun, Maha Penyayang)". Surat Al An'am ayat 145 ini menerangkan dengan sangat jelas bahwa daging babi diharamkan oleh Allah untuk dijadikan sebagai makanan karena termasuk sesuatu yang kotor.

Teknologi Molekular dapat digunakan sebagai solusi alternatif yang akurat untuk mengotentikasi/memastikan apakah suatu sampel makanan mengandung kontaminan daging babi, dilihat dari kandungan DNA. Teknologi ini sangat mungkin untuk memastikan apakah suatu sampel makanan mengandung kontaminan babi, walaupun dalam jumlah sedikit. Hal ini disebabkan daging babi atau celeng biasanya dijual dengan dicampur daging sapi atau daging halal lain, sebagai makanan olahan seperti bakso, sosis, nugget menggunakan mesin penggilingan di pasar. Teknologi molekular yang dapat digunakan sebagai metode identifikasi kontaminan daging babi/celeng pada daging dan makanan olahan secara cepat / rapid test adalah teknik PCR. Baik konvensional PCR, Multiplex PCR, maupun yang terbaru adalah Real Time PCR.

Tanabe, *et al.*, 2007, menggunakan teknologi PCR untuk mengamplifikasi DNA babi menggunakan primer yang spesifik DNA babi, pada uji kontaminan alergen makanan olahan di Jepang. Alaraidh (2008) menggunakan teknologi PCR untuk mengamplifikasi DNA babi menggunakan primer yang spesifik DNA babi, pada uji kontaminan daging impor di pasar Saudi Arabia. Murugaiah, *et al.*, 2009, dengan penelitian berjudul menggunakan DNA Mitokondria spesifik untuk identifikasi makanan olahan terkontaminasi daging babi. Erwanto, *et al.* pada tahun 2014 menganalisis makanan olahan daging berupa bakso yang ada di pasar tradisional di Indonesia. Teknologi molekular untuk mendeteksi adanya kontaminan DNA babi/celeng pada daging dan makanan olahan daging terkini adalah menggunakan teknologi Real Time PCR (Rachmawati, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji adanya kandungan DNA babi pada sampel permen lunak menggunakan primer spesifik pengkode gen sitokrom

b (*cyt b*) babi menggunakan teknologi konvensional Polymerase Chain Reaction (PCR).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan selama bulan Juni-Juli 2018. Eksperimen laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Terintegrasi, Lab *Genetics and Tissue Culture*, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya (UINSA).

Penentuan Sampel

Lima belas sampel diambil secara *purposive sampling*. Kriteria sampel penelitian adalah permen lunak tidak berlabel halal, memiliki komposisi gelatin, dan beredar di wilayah Surabaya dan sekitarnya.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan: 15 sampel *softgellcandy*, daging babi sebagai kontrol positif, daging sapi sebagai kontrol negatif, *Go Taq Green Master Mix*®, *KIT Promega*®, etanol 70%, buffer TAE, *DNA ladder*, *loading dye*, pewarna DNA *Diamond nuclease-free water*, primer babi, agarosa, tissue. Alat utama yang digunakan: spektrofotometer *Biochrom Biodrop-DUO*, Thermocycler *Labnet MultiGene Optimax*, microcentrifuge *Thermo Scientific Heraeus Fresco21*, elektroforesis *Mupid2Plus*, Transiluminator *Enduro GDS-1302*, waterbath *Clifton CLR-465-020B*.

PCR dan Visualisasi

Isolasi DNA dilaksanakan sesuai protokol dari kit universal *Wizard KIT Promega*®. Hasil diuji kemurnian dan konsentrasinya menggunakan spektrofotometer *Biochrom Biodrop-DUO*.

Penelitian ini menguji 15 sampel *Softgellcandy* tak berlabel halal yang dijual bebas di Surabaya dengan primer pengkode fragmen DNA sitokrom *b/cytochrome b (cyt b)* babi. Primer yang digunakan merujuk pada Dooley (2004), Pork-F: ATGAAACATTGGAGTAGTCCTACTATTACA dan Pork-R: CTACGAGGTCTGTTCCGATATAAGG. Primer Pork F / Pork R digunakan untuk memperkuat fragmen internal ±149 bp. Konvensional PCR berjalan pada suhu 98°C-2 menit; 95°C-30 detik; 61°C-30 detik; 72°C-40 detik; dan 72°C-3 menit, selama 30 siklus. Visualisasi pada 2% gel agarosa di *running* 50V selama 65 menit, kemudian dilihat dalam Transiluminator *Enduro GDS-1302*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gelatin merupakan *gelling agent* karena kemampuannya membentuk gel, memadat, dan menstabilkan. Gelatin juga umum digunakan sebagai agen pengikat dan pelapis pada bermacam-macam produk pangan seperti *marshmallows*, *gummies*, daging, dan lain-lain (Cai *et al.*, 2012). Distribusi *Softgellcandy* di pasaran seringkali terlepas dari pengawasan lembaga berwenang. Banyak ditemukan bermacam merk *Softgellcandy* yang tidak berBPOM maupun tidak berlabel Halal. Hal ini perlu menjadi perhatian khusus mengingat gelatin adalah titik kritis kehalalan *Softgellcandy*. Gelatin tidak hanya dapat dibuat dari bahan halal, namun juga yang diharamkan Allah SWT. Wardani *et al.* (2012) menjelaskan bahwa ditinjau dari proses pembuatan gelatin, ada tipe A yang diproduksi melalui proses asam sedangkan gelatin tipe B diperoleh dari proses alkalin dimana perbedaan proses produksi yang digunakan ini bergantung pada sumber gelatin yang digunakan. Tipe A untuk gelatin dari babi dan gelatin tipe B untuk gelatin dari sapi.

Daging babi termaktub jelas hukum syar'i dalam Al-Qur'an bahwa dagingnya haram untuk dikonsumsi. Sementara hewan lain tidak disebut seperti Allah SWT menyebut dengan jelas keharaman babi untuk dikonsumsi dalam Al-Qur'an. Alasan babi diharamkan juga dibuktikan secara ilmiah bahwa babi diketahui sebagai inang dari banyak macam parasit dan penyakit berbahaya. Ayat-ayat lain dalam Al-Quran yang menerangkan keharaman daging babi adalah 2:173, 5:3, dan 6:115. Al Baqarah (2):173 berarti "Dia hanya telah melarang bagimu binatang yang mati, darah, daging babi, dan yang telah dipersembahkan untuk selain Allah. ...". Surat 5 ayat 3 berarti "Dibuat haram bagimu binatang-binatang mati, darah, daging babi, dan yang dipersembahkan kepada selain Allah, dan yang dibunuh dengan cara dicekik, atau dengan suatu pukulan keras atau dengan menjatuhkan kepalanya lebih dahulu atau dengan melukainya dengan tanduk, dan yang dimakan oleh binatang liar kecuali yang kamu sembelih (sebelum kematiannya), dan bahwa yang dikurbankan di atas meja batu, dan yang kamu mencari pembagian dengan anak panah-anak panah ramalan, itu adalah ketidaktaatan yang serius. ...".

Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel. Sampel kemudian diisolasi DNA dan diukur absorbansi pada $\lambda 230$, $\lambda 260$, dan $\lambda 280$ nm guna menentukan kemurnian dan konsentrasi DNA *genome* yang ada di dalam sampel. DNA dibawah angka kemurnian 1,8-2,0 berpotensi untuk mengganggu proses jalannya PCR. Faktor penyebabnya antara lain kontaminasi debris, fenol, metabolit sekunder dari hasil isolasi DNA yang tidak optimal. Misal pada tahap penghancuran sel atau jaringan memiliki beberapa cara yakni dengan cara fisik seperti menggerus sampel. Penghancuran dengan menggunakan kimiawi seperti penggunaan detergen

yang dapat melarutkan lipid pada membran sel hingga terjadi destabilisasi membran sel (Rachmawati *et al.*, 2011). Kemudian pemberian larutan buffer. Untuk mengoptimalkan fungsi larutan buffer, dibutuhkan konsentrasi, pH, kekuatan ion, dan penambahan inhibitor DNAase dan detergen (Wuqi *et al.*, 2015). Apabila serangkaian proses isolasi DNA tidak optimal, maka proses-proses selanjutnya pun akan terganggu. Polifenol yang tersisa akan mengurangi hasil ekstraksi DNA serta mengurangi tingkat kemurnian DNA (Syamsyuri, 2013). Hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer tersaji pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Konsentrasi dan Rasio Kemurnian Isolat DNA

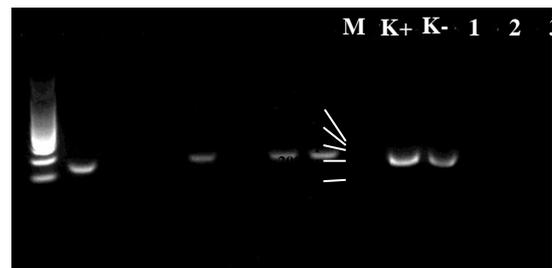
No	Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	Rasio
	K+	10,86	1,777
	K-	19,89	1,835
1.	Sampel merk 1	1,579	1,700
2.	Sampel merk 2	0,887	1,821
3.	Sampel merk 3	0,770	1,840
4.	Sampel merk 4	0,611	1,964
5.	Sampel merk 5	2,097	1,808
6.	Sampel merk 6	3,480	1,910
7.	Sampel merk 7	1,101	2,045
8.	Sampel merk 8	2,185	1,930
9.	Sampel merk 9	1,686	2,020
10.	Sampel merk 10	2,425	1,977
11.	Sampel merk 11	3,688	1,950
12.	Sampel merk 12	0,930	2,117
13.	Sampel merk 13	2,675	1,879
14.	Sampel merk 14	0,939	1,851
15.	Sampel merk 15	1,278	2,025

Ket: K+: Kontrol positif (sampel daging babi);
K-: Kontrol negatif (sampel daging sapi)

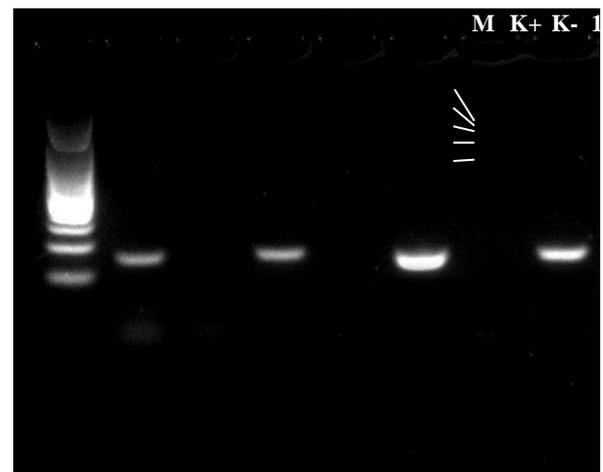
Konsentrasi sampel pada penelitian ini memiliki kisaran rasio kemurnian yang tinggi. Molekul DNA dikatakan murni jika memiliki nilai rasio perbandingan absorbansi pada $\lambda 260/\lambda 280$ nm berkisar antara 1,8-2,0. DNA dengan kisaran angka tersebut telah memenuhi persyaratan yang dibutuhkan dalam analisis molekular (Sambrook & Russel 2001). Hasil konsentrasi DNA tertinggi terdapat pada sampel kontrol negatif disusul dengan sampel kontrol positif. Hal ini disebabkan sampel yang diisolasi adalah murni daging, bukan sampel olahan seperti *Softgell candy* yang memiliki banyak campuran. Daging babi digunakan sebagai penanda kontrol positif, sementara daging sapi sebagai kontrol negatif, karena 2 bahan ini yang sering digunakan sebagai bahan pembuat gelatin.

Proses selanjutnya adalah PCR. Penelitian ini menggunakan primer *Pork-F* dan *Pork-R* yang digunakan untuk memperkuat fragmen internal ± 149 bp gen sitokrom b mitokondria (*cyt b*). Penelitian Dooley (2004) menunjukkan primer yang dipilih tidak menghasilkan dimerisasi primer dan spesifisitas tinggi, ditunjukkan oleh pencarian kesamaan urutan

pada database NCBI dan tidak ada reaktivitas silang dengan DNA dari spesies lain. Gen *cyt b* dapat digunakan sebagai penanda material yang berasal dari jenis hewan yang berbeda (Primasari, 2011). Visualisasi hasil PCR menggunakan elektroforesis 2% gel agarosa menunjukkan dari 15 sampel, 8 sampel terindikasi mengandung/kontaminan DNA babi ditandai dengan pita DNA sebesar ± 149 bp. Hasil tersaji pada gambar 1 dan 2 berikut.



Gambar 1. Hasil Visualisasi PCR gel 1
Ket Gambar 1: M: Marker/Ladder 100 Bench Top;
K+: Kontrol positif (sampel daging babi);
K-: Kontrol negatif (sampel daging sapi); 1-10: Sampel 1-10



Gambar 2. Hasil Visualisasi PCR gel 2
Ket Gambar 2: M: Marker/Ladder 100 Bench Top;
K+: Kontrol positif (sampel daging babi);
K-: Kontrol negatif (sampel daging sapi); 11-15: Sampel 11-15

Dari hasil elektroforesis tampak *band/pita* DNA yang jelas dengan ketebalan bervariasi dengan panjang *basepairs* ± 149 bp. Namun ketebalan ini tidak cukup membuktikan banyak tidaknya jumlah DNA yang terkandung karena elektroforesis adalah analisis secara kualitatif. Perlu dilakukan uji dengan *Real Time* PCR (qPCR) untuk memastikan jumlah DNA yang teramplifikasi, dan dengan sequencing untuk memastikan kebenaran panjang/besar DNA. Gen DNA mitokondria umum digunakan sebagai target untuk berbagai tes PCR dalam deteksi spesiasi hewan, tumbuhan, dan sel mikroba. DNA mitokondria memiliki jumlah *copy* yang tinggi dalam sel. Oleh karena itu, memanfaatkan DNA mitokondria sebagai

target akan meningkatkan kesempatan untuk mendapatkan hasil DNA yang cukup untuk tes PCR berikutnya terutama ketika menggunakan produk yang diproses dengan pemanasan, yang dapat menyebabkan degradasi/denaturasi DNA genom.

KESIMPULAN

Dari 15 sampel penelitian, 8 sampel terindikasi kandungan DNA babi ditandai dengan pita DNA sebesar ± 149 bp. Daging babi digunakan sebagai penanda kontrol positif, sementara daging sapi sebagai kontrol negatif. Pemerintah perlu melakukan monitoring lebih ketat terkait peredaran produk makanan tak berlabel halal yang dijual bebas di pasaran. Mengingat Halal menjadi *issue* yang sangat sensitif di negara dengan mayoritas penduduk muslim terbesar di dunia ini, dan mengingat gelatin adalah titik kritis kehalalan *Softgellcandy*, dan karena halal adalah suatu keharusan

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih tim peneliti sampaikan kepada mahasiswa Biologi 2016 UIN Sunan Ampel Surabaya atas hasil temuan praktikum Biologi Molekular yang menunjang dilakukan penelitian lanjut ini. Selanjutnya tidak lupa kami sampaikan kepada UIN Sunan Ampel yang telah memberikan bantuan pendanaan dalam publikasi

DAFTAR PUSTAKA

Alaridh, I.A., (2008), Improved DNA Extraction Method for Porcine Contaminants, Detection in Imported Meat to The Saudi Market, *Saudi Journal of Biological Sciences*, Vol.15 No.(2), pp: 225-229.

BSN, Badan Standardisasi Nasional, (2008), SNI (Standar Nasional Indonesia), Jakarta.

Cai, H., Gu, X., Scnalan, M.S, Ramatlapeng, D.H, & Lively., C.R., (2012), Real Time PCR Assays for Detection and Quantitation of Porcine and Bovine DNA in Gelatin Mixtures in Gelatin Capsule, *Journal of food composition an analysis*, Vol. 25, pp: 83-87.

Dooley, J.J., Kelly,E.P., Stephen, D.G., Helen, M.B., (2004), Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays. *Meat Science*, Vol. 68, pp: 431-438.

Erwanto, Y., Abidin, M.Z., Muslim, E.Y., Sugiyono, & Rohman, A., (2014), Identification of Pork Contamination in Meatballs of Indonesia Local Market Using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) Analysis, *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, Vol.. 27 No.10, pp: 1487-1492.

Hui, Y.H., (2011), *Handbook of Food Science Technology and Engineering*, 3th Volume, Crc Pr I Llc, China.

Karim, A.A., & Bhat, R., (2009), Fish Gelatin: Properties, Challenges, and Prospects as an Alternative to Mammalian Gelatins, *Food Hydrocolloid*, Vol. 23, pp: 563-576.

Murugaiah, C., Noor, Z.M., Mastakim, M., Bilung, L.M., Selamat, J., Radu, S., (2009), Meat Species Identification and Halal Authentication Analysis using Mitochondrial DNA, *Meat Science*, Vol. 83, pp: 57-61.

Primasari, A., (2011). Sensitivitas Gen Sitokrom b (cyt b) sebagai Marka Spesifik pada Genus Rattus dan Mus untuk Menjamin Keamanan Pangan Produk Asal Daging, *Tesis*, Prodi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan IPB, Bogor.

Rachmawati, Y., (2014), Karakter Fenotip dan Molekular Melon (Cucumis melo L. "Tacapa") pada Media Tanam Tanah Karst, *Tesis Universitas Gadjah Mada Yogyakarta*.

Rahmawati, A., Bambang, K., & Yuni. A.P., (2011), Deteksi Gelatin Babi pada Sampel Permen Lunak Jelly Menggunakan Metode Fourier Transform InfraRed (FTIR) dan Kemometrik, *Jurnal Molekuler dan Kesehatan*, Vol. 3(2), pp: 278-295.

Sambrook, J., & Russel, D.W., (2001), *Molecular Cloning, A Laboratory Manual 3rd Edition*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

Syamsyuri, A.W., (2013), Studi Antibodi Poliklonal Anti-Gelatin Babi Dengan Dot Blot dan Potensinya Sebagai Perangkat Deteksi Gelatin Babi, *Jurnal Pangan dan Molekuler*, Vol. 1(1), pp: 36-45.

Tanabe, S., Miyauchi, E., Muneshige, A., Mio, K., Sato, C., & Sato, M., (2007), PCR Method of Detecting Pork in Foods for Verifying Allergen Labeling and for Identifying Hidden Pork Ingredients in Processed Foods. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol.71 No.7, pp: 1663-1667.

Tanabe, S., Hase, M., Yano, T., Sato, M., Fujimura, 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, pp: 3131-3135.

Wardani, D.P., Suharyadi, E., & Abaraha, K., (2012), Kajian Awal Identifikasi Perbedaan Gelatin Sapi dan Gelatin Babi, *Prosiding Pertemuan Ilmiah XXVI HFI Jateng dan DIY*, pp: 153-157.

Wuqi, M.C., Manuel B., Robert P.F. & Surzycky, S.M.N., (2015), A Simple Rapid Methods for Isolation of High Quality Genomic DNA from Animal Tissue,

Nucleic Acid Research Journal Molecular, Vol. 23(4), pp: 335-348.