

Analysis of Pork DNA (*Sus scrofa domesticus*) Contamination in Processed Beef and Chicken Meatball Products in Tuntungan, North Sumatra

Analisis Kontaminasi DNA Babi (*Sus scrofa domesticus*) Pada Produk Olahan Bakso Sapi Dan Ayam di Tuntungan, Sumatera Utara

Febri Sandika ^a, Zahratul Idami ^{a*} Muhammad Idris ^a

^a Program Studi Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: zahratulidami@uinsu.ac.id

Abstract

Background: Meatballs are a popular processed meat product in Indonesia. High consumption of meatballs is accompanied by increasing public concern, especially among Muslims, regarding the halal aspect of the product. The potential contamination of pork DNA (*Sus scrofa domesticus*) in beef and chicken meatballs is a critical issue, whether due to unintentional cross-contamination or adulteration. Tuntungan area, North Sumatra, with its diverse demographic and trading characteristics, is an important location to assess the level of contamination. **Objective:** This study aimed to detect the presence of pork DNA (*Sus scrofa domesticus*) contamination in processed beef and chicken meatball products traded in the Tuntungan area, North Sumatra. **Methods:** Four meatball samples (three chicken meatballs and one beef meatball) were collected from street vendors and meatball stalls at different locations. DNA detection was performed molecularly using the *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) method with the *Genechecker UF-300* instrument. The procedure began with sample preparation, DNA extraction using the *Genolution* tool, *master mix* preparation, and analysis using the *PCR Gen Checker chip*. Result validation was based on the *Cycle threshold* (Ct) value in the target channel (FAM for pork DNA) and the internal control channel (ROX). **Results:** The analysis results of all four samples showed a FAM Ct value of 0 (not detected), indicating no amplification of specific pork target DNA. Meanwhile, the ROX Ct value (internal control) in all samples was detected in the range of 19.41–20.50, proving that the DNA extraction and amplification process ran optimally without inhibition. The positive control showed valid amplification signals, and the negative control showed no contamination. **Conclusion:** Based on the molecular detection results, it can be concluded that all tested beef and chicken meatball samples from the Tuntungan area were not contaminated with pork DNA (*Sus scrofa domesticus*). This finding indicates that traders in the area have applied good processing practices and separated raw materials, so the meatballs sold meet the halal aspect in terms of ingredient authenticity.

Keywords: Meatball, Contamination, Pork DNA.

Abstrak

Latar Belakang: Bakso merupakan produk olahan daging yang populer di Indonesia. Tingginya konsumsi bakso diiringi dengan meningkatnya perhatian masyarakat, terutama umat Muslim, terhadap aspek kehalalan produk. Potensi kontaminasi DNA babi (*Sus scrofa domesticus*) pada bakso sapi dan ayam menjadi isu kritis, baik akibat ketidaksengajaan (kontaminasi silang) maupun pemalsuan. Wilayah Tuntungan, Sumatera Utara, dengan karakteristik demografi dan perdagangan yang beragam, menjadi lokasi yang penting untuk dikaji tingkat kontaminasinya. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan kontaminasi DNA babi (*Sus scrofa domesticus*) pada produk bakso sapi dan ayam yang diperdagangkan di wilayah Tuntungan, Sumatera Utara. **Metode:** Sebanyak empat sampel bakso (tiga bakso ayam dan satu bakso sapi) diambil dari pedagang kaki lima dan warung bakso di lokasi berbeda. Deteksi DNA dilakukan secara molekuler dengan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) menggunakan alat *Genechecker UF-

300*. Prosedur diawali dengan preparasi sampel, ekstraksi DNA dengan alat *Genolution*, preparasi *master mix*, dan analisis menggunakan *chip PCR Gen Checker*. Validasi hasil didasarkan pada nilai *Cycle threshold* (Ct) pada kanal target (FAM untuk DNA babi) dan kanal kontrol internal (ROX). **Hasil:** Hasil analisis keempat sampel menunjukkan nilai Ct FAM sebesar 0 (tidak terdeteksi), yang mengindikasikan tidak adanya amplifikasi DNA target spesifik babi. Sementara itu, nilai Ct ROX (kontrol internal) pada semua sampel terdeteksi dalam rentang 19,41–20,50, membuktikan bahwa proses ekstraksi dan amplifikasi DNA berjalan optimal tanpa hambatan. Kontrol positif memberikan sinyal amplifikasi yang valid, dan kontrol negatif tidak menunjukkan kontaminasi. **Kesimpulan:** Berdasarkan hasil deteksi molekuler, dapat disimpulkan bahwa semua sampel bakso sapi dan ayam yang diuji dari wilayah Tuntungan tidak terkontaminasi oleh DNA babi (*Sus scrofa domesticus*). Temuan ini menunjukkan bahwa pedagang di wilayah tersebut telah menerapkan praktik pengolahan yang baik, memisahkan bahan baku, sehingga produk bakso yang dijual memenuhi aspek kehalalan dari sisi autentifikasi bahan.

Kata Kunci: Bakso, Kontaminasi, DNA Babi.

Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i1.1374>

Article History:

Received: 20/11/2025,
Revised: 01/14/2026,
Accepted: 15/01/2026,
Available Online: 15/01/2026,

QR access this Article



Pendahuluan

Kehalalan produk pangan merupakan aspek fundamental dalam kehidupan masyarakat Indonesia yang mayoritas beragama Islam, dan telah menjadi jaminan yang diatur dalam peraturan perundang-undangan [1]. Fenomena pemalsuan dan kontaminasi bahan pangan, khususnya pada produk olahan daging seperti bakso, menjadi isu kritis yang mengancam aspek keamanan, kehalalan, serta kepercayaan konsumen. Bakso sebagai produk yang dikonsumsi secara luas berpotensi mengalami pencampuran atau kontaminasi silang dengan daging babi (*Sus scrofa domesticus*), baik disengaja untuk menekan biaya maupun akibat praktik pengolahan yang tidak memadai [2, 3]. Pelanggaran terhadap prinsip halal ini bukan hanya melanggar norma agama dan hukum, tetapi juga dapat memicu keresahan sosial serta melemahkan sistem keamanan pangan nasional [1].

Deteksi keaslian bahan pada produk pangan olahan tidak dapat mengandalkan metode konvensional seperti pengamatan organoleptik atau uji kimiawi, karena sifat fisik dan kimia bahan telah mengalami perubahan signifikan selama pemrosesan [4]. Perkembangan teknik analisis berbasis biologi molekuler menawarkan solusi yang lebih andal. Deoxyribonucleic Acid (DNA) merupakan penanda genetik yang ideal karena memiliki sekuens basa nitrogen yang unik dan stabil untuk setiap spesies, sehingga dapat diidentifikasi bahkan dalam sampel yang telah terdegradasi atau diolah [5]. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), khususnya dalam format *Real-Time* atau *Quantitative PCR* (qPCR), telah menjadi standar utama dalam autentifikasi spesies dan analisis keamanan pangan akibat sensitivitas, spesifitas, dan kemampuan kuantifikasinya yang tinggi [6, 7]. Inovasi alat seperti *Genechecker UF-300 Real-Time PCR System* merepresentasikan kemajuan teknologi dengan menggabungkan prinsip PCR cepat dalam platform *microfluidic chip*, yang memungkinkan analisis tinggi dengan waktu turn-around singkat dan minimalisasi risiko kontaminasi [8]. Fleksibilitas alat ini juga terbukti dengan penerapannya di bidang diagnostik klinis, yang mengindikasikan tingkat reliabilitas yang tinggi [8].

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan temuan kontaminasi babi pada produk daging olahan di Indonesia [2, 5, 9], peta data mengenai autentisitas produk bakso di tingkat lokal, khususnya di daerah

dengan karakteristik demografi dan pola perdagangan yang spesifik, masih sangat terbatas. Wilayah Tuntungan di Sumatera Utara merupakan contoh lokasi dengan keragaman penduduk dan aktivitas perdagangan bahan pangan, termasuk produk berbasis babi, yang berpotensi menciptakan titik rawan kontaminasi silang dalam rantai pasok produk halal [10]. Dominasi usaha bakso skala mikro dan pedagang kaki lima di daerah ini, yang sering kali kurang memiliki sistem kendali mutu dan pelabelan yang memadai, memperbesar risiko tersebut [3, 4]. Ketiadaan data empiris yang memadai mengenai kondisi riil di lapangan menghambat upaya pengawasan, pembinaan produsen, serta perlindungan konsumen yang efektif. Oleh karena itu, penelitian yang melakukan pengujian langsung terhadap sampel dari titik penjualan menjadi kebutuhan mendesak.

Berdasarkan pertimbangan tersebut, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendeteksi keberadaan kontaminasi DNA babi (*Sus scrofa domesticus*) pada produk olahan bakso sapi dan ayam yang diperdagangkan di wilayah Tuntungan, Sumatera Utara, dengan memanfaatkan metode *Real-Time PCR* pada alat Genechecker UF-300. Temuan dari penelitian ini diharapkan dapat menyediakan data dasar ilmiah mengenai status kehalalan produk bakso lokal serta mendukung penguatan sistem jaminan halal dan keamanan pangan di tingkat daerah.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel bakso dari 4 tempat pedagang di tuntungan, Sumatera Utara. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kit ekstraksi DNA, buffer lisis, proteinase K, wash buffer, elution buffer, DNA kontrol positif babi dan kontrol negatif.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat Genechecker (unit PCR cepat beserta perangkat lunak pengendaali). Cartridge / mikrofluidic chip, komputer atau laptop, biological safety cabinet, mikropipet volume variabel ((0.5–10 μ L, 2–20 μ L, 20–200 μ L, 200–1000 μ L). vortex mixer, alat pemotong steril untuk pembagi sampel, centrifuge.

Pengambilan Sampel

Sampel bakso terdiri dari 3 sampel bakso ayam dan 1 sampel bakso sapi. Sampel diambil dari penjual warung bakso dan pedagang kaki lima. Sampel bakso 1 yaitu bakso ayam diperoleh dari penjual warung bakso, sampel bakso 2 yaitu bakso ayam diperoleh dari pedagang kaki lima, sampel bakso 3 yaitu bakso ayam diperoleh dari pedagang kaki lima, dan sampel bakso 4 yaitu bakso sapi diperoleh dari penjual warung bakso. Sampel bakso dikumpulkan dari lokasi yang berbeda untuk mendapatkan variasi produsen.

Preparasi Sampel

Sampel yang akan diuji dipotong dan dipindahkan ke dalam tube sentrifuge 1.5 ml. Tambahkan 400 μ L FD Lysis solution. Lalu tambahkan 20 μ L Proteinase K. Setelah itu di vortex selama 10 detik agar sampel homogen. Inkubasi pada suhu 56°C selama 20 menit 13.000 rpm. Kemudian di sentrifuse dengan kecepatan maksimal pada suhu ruang selama 3 menit. Masukkan 200 μ L sampel ke dalam *well lysis*. Masukkan *well plate* ke dalam *Nextractor* untuk memulai proses ekstraksi.

Ekstraksi Sampel

Sampel di ekstraksi dengan menggunakan alat yaitu Genolution. Alat ini dirancang khusus menyediakan ekstraksi DNA dan RNA secara otomatis menggunakan teknologi *magnetic bead-based extraction*. Alat ini sering digunakan untuk uji biologis salah satunya deteksi halal pada sampel makanan.

Preparasi Reagen dan Sampel DNA

Setelah proses ekstraksi sampel selesai, kemudian dilanjutkan dengan preparasi reagen dan sampel DNA. Cairkan Positif Control (PC), Negatif Control (NC), Primer Probe Mix (PPM), dan Premix pada suhu ruang. Setelah mencair, letakkan *reagen tube* di atas PCR *Cooler*. Vortex dan spindown semua reagen sebelum digunakan.

Preparasi Master Mix

Siapkan 10 microcentrifuge tubes. Masukkan 2.2 μ L PPM ke dalam setiap microcentrifuge tubes. Tambahkan 5.5 μ L premix ke dalam setiap microcentrifuge tubes. Untuk preparasi NC, tambahkan 3.3 μ L NC ke salah satu microcentrifuges tubes yang berisi premix dan PPM. Kemudian vortex dan spindown tube. Untuk preparasi PC, tambahkan 3.3 μ L PC ke salah satu microcentrifuges tubes yang berisi premix dan PPM. Kemudian vortex dan spindown tube. Untuk preparasi sampel, tambahkan 3.3 μ L DNA sampel ke microcentrifuge tubes untuk sampel yang sudah berisi premix dan PPM. Kemudian vortex dan spindown tube.

Preparasi Chip PCR

Ambil chip baru menggunakan pinset dan tempatkan pada plate loader. Ambil 10 μ L dari campuran reaksi dan masukan ke dalam well pada chip PCR. Pastikan bahwa chip well sudah terisi penuh dengan sampel dan kontrol, untuk menghindari gelembung udara. Rekatkan sealing tape yang baru pada permukaan atas chip secara perlahan menggunakan pinset dan pastikan tidak ada celah lubang well yang tidak tertutup. Masukkan chip ke dalam alat Genechecker UF-300 Real-Time PCR System untuk dilanjutkan ke proses PCR.

Analisis data

Analisis data berfokus pada keberhasilan amplifikasi deteksi DNA target menggunakan alat Genechecker UF-300 Real-Time PCR System dengan melibatkan beberapa tahapan penting. Penyajian data dalam bentuk tabel Cycle threshold Value (Ct. Value).

Hasil Dan Pembahasan

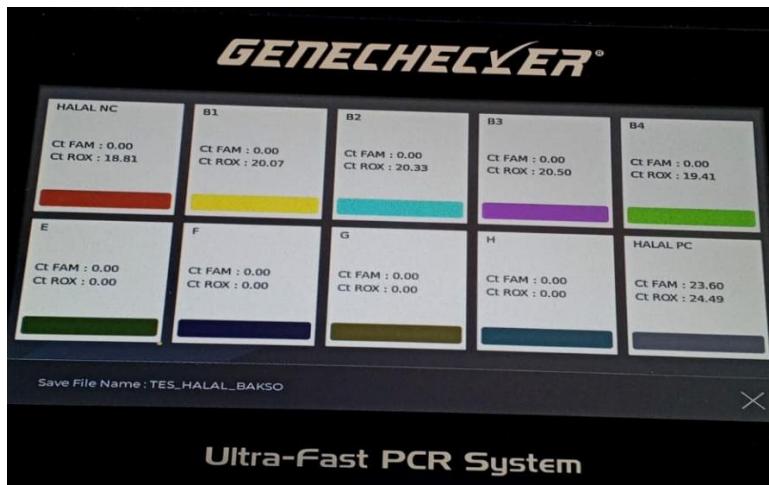
Uji Menggunakan Alat Genechecker

Pengujian ini merupakan tahap akhir yang akan menentukan ada atau tidaknya DNA target didalam sampel. Tahap ini dilakukan dengan menggunakan alat yang bernama Genechecker UF-300 Real-Time PCR System. Keunggulan dari alat ini yaitu mampu melakukan *running* hingga 8 sampel sekaligus, sehingga kita bisa langsung mengetahui hasil semua sampel dalam sekali cek. Setelah *running* sudah selesai, kemudian akan muncul *popup* notifikasi hasil pada layar. Lalu *close* pada bagian *notifikasi* kemudian grafik hasil reaksi PCR akan ditampilkan. Kita bisa mengetahui dari layar selagi proses *running* sedang berjalan [8].

Analisis Hasil Akhir

Pembacaan hasil deteksi DNA babi menggunakan perangkat Genechecker UF-300 dilakukan melalui evaluasi nilai Ct dan profil amplifikasi yang dihasilkan setelah proses PCR selesai. Validitas analisis terlebih dahulu ditentukan melalui pemeriksaan kontrol, di mana kontrol positif wajib menunjukkan amplifikasi dengan nilai Ct yang berada dalam kisaran yang direkomendasikan kit, sehingga mengonfirmasi keberhasilan reaksi PCR sesuai prinsip validasi metode deteksi DNA spesies. Rentang nilai pada pemeriksaan target Porcine DNA dengan nilai Ct \leq 35 dikategorikan sebagai amplifikasi yang valid dan spesifik, sehingga apabila sampel menunjukkan Ct dalam rentang tersebut maka sampel dinyatakan positif mengandung DNA babi. Sementara itu, Positive Control (PC) harus teramplifikasi dengan Ct \leq 45 sebagai indikator bahwa seluruh komponen reaksi PCR, termasuk enzim, primer, dan sistem deteksi, berfungsi dengan optimal. Negative Control (NC) menjadi parameter utama dalam penentuan kontaminasi; kontrol ini tidak boleh menunjukkan amplifikasi sama sekali. Kemunculan sinyal pada Negative Control (NC), bahkan pada Ct tinggi mendekati batas deteksi, mengindikasikan adanya kontaminasi silang atau amplifikasi non-spesifik sehingga seluruh rangkaian pengujian dinyatakan tidak valid [10]. Internal Control (IC) yang harus terdeteksi pada Ct \leq 45 berfungsi memastikan bahwa DNA sampel dapat diamplifikasi dengan baik dan tidak mengalami hambatan reaksi. Jika kontrol tidak memenuhi kriteria atau sampel menunjukkan nilai Ct yang berada di zona ambigu mendekati batas deteksi, maka pengujian perlu diulang untuk memastikan akurasi dan reliabilitas hasil [11]. Dengan demikian, rentang nilai Ct tersebut berperan dalam memastikan bahwa hasil yang diperoleh bebas dari kontaminasi dan dapat diinterpretasikan secara ilmiah sesuai prosedur standar analisis PCR. Dengan demikian, rentang nilai Ct serta hasil kontrol-kontrol tersebut tidak hanya menunjukkan ada atau tidaknya target (DNA babi), tetapi juga berfungsi sebagai indikator bahwa prosedur PCR berjalan dengan baik, bebas dari kontaminasi.

Hasil akhir dari uji halal menggunakan alat Genechecker akan berbentuk nilai Cycle threshold Value (Ct. Value). Hasil ini memudahkan untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya DNA babi (*Sus scrofa domesticus*) yang terdapat dalam sampel. Hasil proses dapat langsung dilihat pada layar yaitu berupa tampilan detail view Seperti pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Hasil detail view setelah Running

Pada gambar 1. menunjukkan hasil detail view jumlah copy saat kurva datar dihasilkan. Ct FAM pada well sampel akan menunjukkan nilai Ct untuk mendeteksi keberadaan gen target. Pada sampel 1 keberadaan Ct. FAM tidak terbaca hal itu menandakan bahwa sampel tersebut tidak terkontaminasi DNA babi. Begitu juga pada sampel 2, 3, dan sampel 4. Hasil keempat sampel tidak mengandung DNA babi dilihat dari nilai Ct. FAM yaitu 0. Ct. ROX pada well sampel menunjukkan nilai internal control (IC) untuk sampel. Ct. ROX pada sampel 1 = 20.07, pada sampel 2 = 20.33, sampel 3 = 20.50, dan sampel 4 = 19.41. Nilai Ct. ROX pada keempat sampel menandakan hasil amplifikasi berjalan dengan baik. Untuk nilai NC dan PC dapat dilihat bahwa nilai Ct. FAM pada NC 0, dan Ct ROX 18.81 menandakan tidak adanya DNA babi. Pada PC nilai Ct. FAM yaitu 23.60 dan nilai Ct. ROX yaitu 24.49, ini berarti didalam PC terdapat DNA babi. Penggunaan Genechecker UF-300 Real-Time PCR System sebagai platform ultrafast PCR disesuaikan dengan panduan pabrikan termasuk pemakaian kanal FAM sebagai detektor target spesifik dan ROX sebagai kontrol internal reaksi [8].

Tabel 1. Consolidated Test Report pada produk olahan bakso sapi dan ayam

<u>CONSOLIDATED TEST REPORT</u>			
Instrument Serial Number :	UF3002004010048	System S/W Version :	1.8.4.5 20240627
Operator :	GBM	Date of Test(YYYY:MM:DD:HH:MM:SS) :	2025:07:31:15:20:01
Kit Lot No :	FR05_2307A	Test Code :	HALAL
Test Validity :	Valid	Protocol Name :	HALAL
Ct of Positive Control (HALAL/IC) :	23.60 / 24.49	Ct of Negative Control (HALAL/IC) :	00.00 / 18.81
Sample Name	Ct of Pork	Ct of IC	Result
B1	0.00	20.07	Not Detected
B2	0.00	20.33	Not Detected
B3	0.00	20.50	Not Detected
B4	0.00	19.41	Not Detected
E	0.00	0.00	Test invalid. Retest required.
F	0.00	0.00	Test invalid. Retest required.
G	0.00	0.00	Test invalid. Retest required.
H	0.00	0.00	Test invalid. Retest required.

END OF REPORT.

Setelah proses PCR selesai dijalankan, hasil pengujian ditampilkan dalam bentuk Consolidated Test Report sebagaimana terlihat pada tabel 1. Laporan ini memuat informasi berupa nilai Ct dari kontrol positif, kontrol negatif, internal kontrol. Nilai Ct of Pork (FAM) menunjukkan keberadaan atau ketiadaan DNA babi, sedangkan Ct of IC (ROX) digunakan sebagai indikator keberhasilan proses amplifikasi. Pada laporan tersebut, sampel B1 hingga B4 memiliki nilai Ct of Pork sebesar 00.00 dan nilai Ct of IC berada pada rentang 19–21, sehingga dinyatakan “Not Detected”. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ditemukan DNA babi dalam keempat sampel tersebut dan proses amplifikasi berjalan normal. Sementara itu, beberapa sampel lain seperti E, F, G, dan H tidak menunjukkan nilai Ct IC (00.00), sehingga hasilnya dinyatakan “Test invalid” dan memerlukan pengujian ulang. Laporan ini berfungsi sebagai bukti objektif bahwa analisis PCR telah dilakukan sesuai prosedur dan memungkinkan peneliti menilai keandalan hasil setiap sampel sejalan dengan prinsip evaluasi kualitas qPCR yang menekankan pentingnya kontrol internal untuk menentukan validitas hasil [12].

Tabel 2. Interpretasi Hasil *Running PCR* produk olahan bakso sapi dan ayam.

No.	Sampel	PC	NC	IC	Interpretasi
1.	-	+	-	+	Negatif
2.	-	+	-	+	Negatif
3.	-	+	-	+	Negatif
4.	-	+	-	+	Negatif

Kriteria interpretasi hasil running PCR dapat dikategorikan positif apabila Positive Control (PC) menunjukkan sinyal positif, Negative Control (NC) negatif, dan sampel menghasilkan amplifikasi target. Sampel dikategorikan negatif apabila Positive Control (PC) positif, Negative Control (NC) negatif, namun sampel tidak menunjukkan amplifikasi target meskipun Internal Control (IC) terdeteksi. Apabila Positive Control (PC) tidak teramplifikasi, Negative Control (NC) menunjukkan sinyal positif, atau Internal Control (IC) tidak teramplifikasi pada kondisi yang seharusnya, maka hasil dinyatakan invalid dan uji harus diulang. Dengan demikian, interpretasi akhir mengacu pada konsistensi hasil kontrol serta keberhasilan amplifikasi target pada sampel uji.

Interpretasi hasil pengujian yang ditampilkan pada tabel 2. menunjukkan seluruh sampel memberikan tanda “–” pada kolom hasil, yang mengindikasikan tidak adanya sinyal amplifikasi gen target yang spesifik terhadap DNA babi. Kondisi ini menandakan bahwa tidak terdapat fragmen DNA babi yang terdeteksi di dalam bahan baku maupun produk akhir yang diuji sesuai prinsip bahwa amplifikasi hanya terjadi apabila sekuens target benar-benar hadir dalam sampel [11]. Keberadaan tanda “+” pada PC menegaskan bahwa reaksi PCR berjalan dengan baik dan metode mampu mendeteksi DNA babi yang memang ada pada PC. Sebaliknya, NC yang konsisten bernilai “–” menunjukkan bahwa tidak terjadi kontaminasi silang selama persiapan reagen maupun proses amplifikasi. Selain itu, IC pada seluruh sampel berada pada kondisi “+”, yang berarti proses ekstraksi DNA dan amplifikasi PCR berlangsung optimal tanpa adanya hambatan seperti degradasi DNA, keberadaan inhibitor PCR, ataupun kegagalan reaksi. IC yang positif memastikan bahwa hasil negatif bukan disebabkan oleh kesalahan teknis, melainkan benar-benar menunjukkan tidak adanya DNA babi pada sampel tersebut. Dengan terpenuhinya seluruh parameter kontrol (PC +, NC –, IC +), maka interpretasi akhir dapat dinyatakan valid secara analitis. Konsistensi hasil negatif pada seluruh sampel memperkuat kesimpulan bahwa produk bakso yang diuji tidak mengandung kontaminasi DNA babi dan memenuhi aspek kehalalan dari sisi deteksi molekuler, sejalan dengan laporan penelitian mengenai validitas qPCR dalam identifikasi spesies babi pada produk pangan olahan [18].

Hasil Amplifikasi Kurva (Grafik Fluoresensi)

Sampel dikategorikan positif apabila menghasilkan kurva amplifikasi dengan nilai Ct yang berada di bawah batas deteksi metode. Nilai Ct digunakan sebagai indikator kuantitatif untuk menentukan ada atau tidaknya materi genetik target spesifik babi. Grafik yang mengalami kenaikan kurva adalah NC-IC (Negative Control-Internal Control), Sampel-IC (sampel – Internal Control), PC-Halal (Positive Control), dan PC-IC (Positive Control-Internal Control). Kenaikan kurva pada grafik-grafik tersebut menunjukkan bahwa reagen/kit bekerja dengan baik, mesin berfungsi normal, serta proses PCR berlangsung dengan optimal sehingga hasil pengujian dapat dinyatakan valid dan dapat dipercaya. Sebaliknya, sampel tanpa kurva amplifikasi atau menunjukkan Ct di luar rentang valid diklasifikasikan sebagai negatif. Kontrol negatif tidak

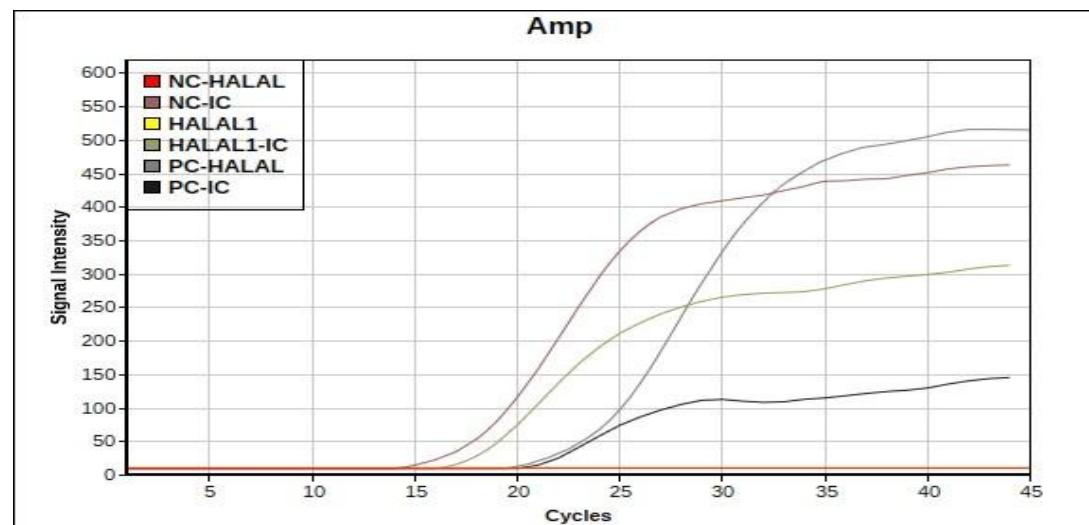
boleh menunjukkan sinyal amplifikasi, kemunculan kurva pada kontrol negatif mengindikasikan kontaminasi atau reaksi non-spesifik, kondisi yang menurut Rahayu et al. [13] harus menyebabkan seluruh pengujian dinyatakan tidak valid dan perlu dilakukan pengulangan. Setelah kontrol dinyatakan valid, penentuan hasil sampel dilakukan dengan menilai keberadaan amplifikasi pada kanal target spesifik DNA babi.

Tabel 3. Interpretasi nilai Ct. pada amplifikasi kurva produk olahan bakso sapi dan ayam.

Sample Name	Ct of Pork (IC)	Ct Positive Control (Pork/IC)	Ct Negative Control (Pork/IC)	Result
B1	00.00 (20.07)	23.60 / 24.49	00.00 / 18.81	Pork Not Detected
B2	00.00 (20.33)	23.60 / 24.49	00.00 / 18.81	Pork Not Detected
B3	00.00 (20.50)	23.60 / 24.49	00.00 / 18.81	Pork Not Detected
B4	00.00 (19.41)	23.60 / 24.49	00.00 / 18.81	Pork Not Detected

Berdasarkan hasil analisis nilai cycle threshold (Ct) pada tabel 3. seluruh sampel bakso (B1–B4) menunjukkan nilai Ct sebesar 00.00 untuk target DNA babi (pork), yang mengindikasikan tidak adanya amplifikasi gen spesifik babi selama proses real-time PCR berlangsung. Kondisi ini menegaskan bahwa DNA babi tidak terdeteksi pada keempat sampel yang diuji. Nilai Ct untuk internal control (IC) berada dalam rentang 19.41–20.50, menunjukkan bahwa proses amplifikasi berjalan optimal dan tidak terdapat inhibisi PCR. Stabilitas nilai IC pada semua sampel mengindikasikan bahwa kualitas DNA yang diekstraksi memadai dan reaksi PCR berfungsi sebagaimana mestinya. Selain itu, keberhasilan amplifikasi pada kontrol positif (Ct pork 23.60, Ct IC 24.49) memastikan bahwa metode mampu mendeteksi DNA babi ketika hadir, sementara kontrol negatif yang tidak menunjukkan amplifikasi DNA babi (Ct 00.00) mengonfirmasi tidak adanya kontaminasi silang. Temuan ini konsisten dengan laporan studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa metode real-time PCR merupakan teknik yang sensitif dan spesifik untuk autentikasi produk daging, termasuk dalam deteksi kontaminasi silang pada produk olahan [14].

Sampel Bakso 1

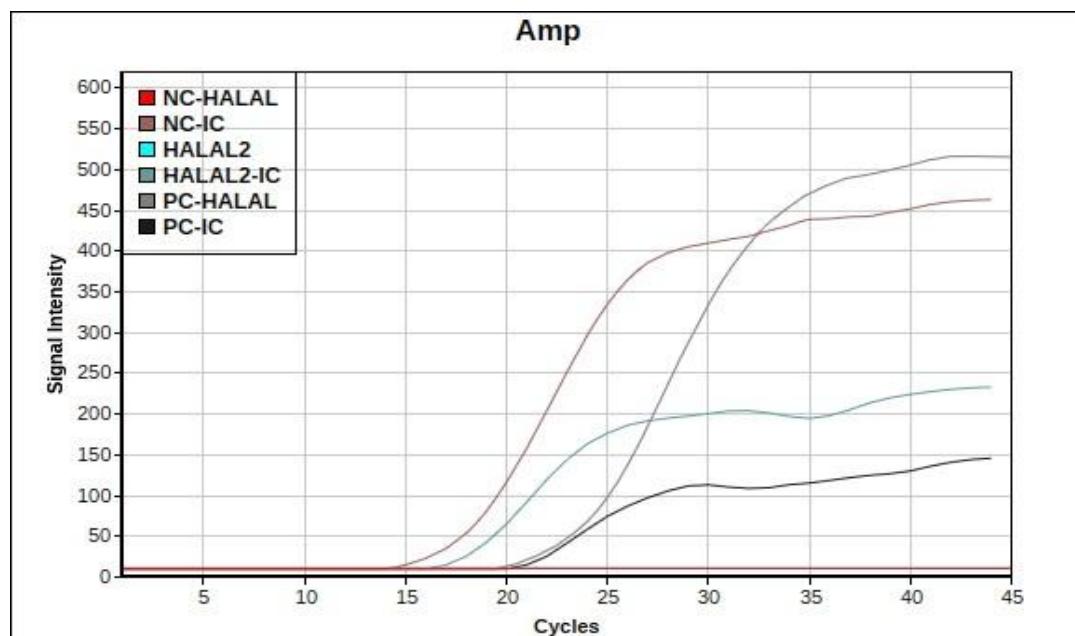


Gambar 2. Hasil Kurva Test Report pada sampel bakso 1.

Kurva amplifikasi pada gambar 2. menunjukkan bahwa reaksi PCR berjalan valid, ditandai oleh munculnya sinyal pada internal control (IC) dan kontrol positif, sementara kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi pada kanal target. Validitas ini sejalan dengan prinsip dasar qPCR yang dijelaskan oleh Kubista et al. [15], bahwa keberadaan amplifikasi kontrol internal merupakan indikator bahwa reaksi PCR berlangsung optimal dan bebas hambatan teknis. Pada sampel B1, tidak terlihat kurva amplifikasi pada kanal FAM yang merupakan detektor spesifik untuk DNA babi, sehingga nilai Ct tercatat 0,00. Namun, kanal ROX yang berfungsi sebagai internal control menunjukkan amplifikasi yang konsisten pada Ct sekitar 20,07. Kehadiran amplifikasi IC ini menegaskan bahwa proses amplifikasi berlangsung normal tanpa adanya hambatan reaksi seperti inhibitor enzimatis. Kurva kontrol positif memperlihatkan amplifikasi jelas pada dua

kanal (Pork dan IC) dengan Ct masing-masing berada di kisaran 23–24, yang memastikan bahwa reagen dan instrumen berfungsi sesuai spesifikasi. Sementara itu, kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi pada kanal target Pork, tetapi tetap menunjukkan sinyal IC yang stabil, menandakan bebas kontaminasi. Secara keseluruhan, pola kurva dan nilai Ct tersebut mendukung interpretasi bahwa DNA babi tidak terdeteksi dalam sampel B1, dan kesimpulan “Pork Not Detected” dapat dinyatakan valid secara analitis sesuai standar evaluasi PCR cepat berbasis platform Genechecker sebagaimana dijelaskan dalam [8].

Sampel Bakso 2



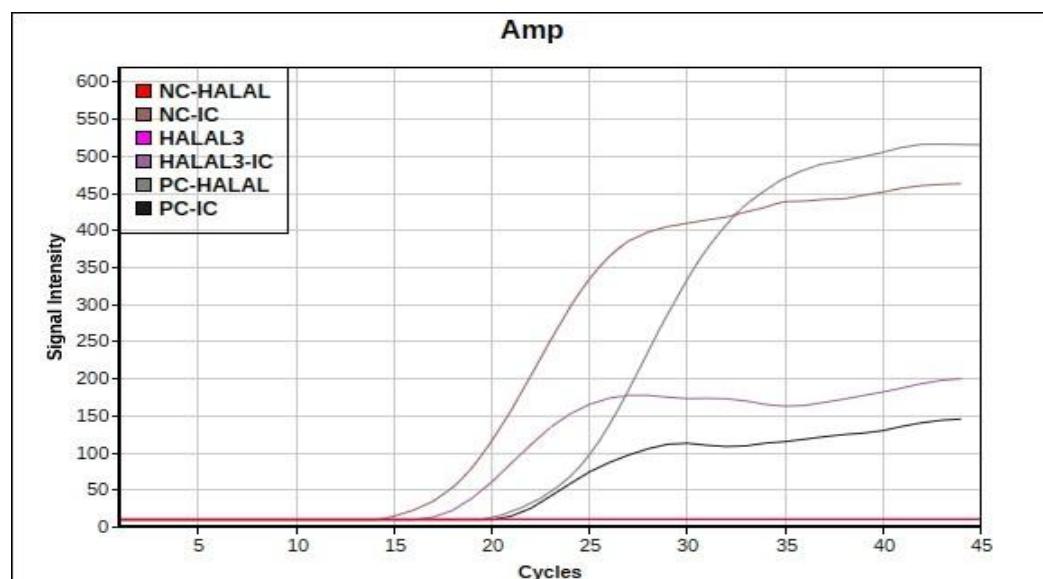
Gambar 3. Hasil Kurva Test Report pada sampel bakso 2.

Kurva amplifikasi pada gambar 3. menunjukkan bahwa reaksi PCR berlangsung dengan baik dan memenuhi seluruh parameter validitas internal. Kanal FAM, yang merupakan kanal deteksi spesifik untuk DNA babi, tidak menampilkan kurva amplifikasi hingga akhir siklus sehingga nilai Ct tercatat 0,00. Ketiadaan sinyal pada kanal target ini menunjukkan bahwa tidak terdapat materi genetik babi yang terdeteksi dalam sampel B2. Sebaliknya, kanal ROX yang berfungsi sebagai internal control memperlihatkan amplifikasi stabil dengan nilai Ct sekitar 20,33, yang mengonfirmasi bahwa proses ekstraksi, efisiensi enzim polimerase, serta kondisi reaksi berada dalam keadaan optimal tanpa pengaruh inhibitor yang merupakan standar verifikasi kualitas reaksi menurut pedoman qPCR internasional [16]. Kurva ini memastikan bahwa proses ekstraksi DNA, performa polimerase, serta kondisi kimia reaksi berada dalam keadaan optimal tanpa adanya inhibitor yang mengganggu amplifikasi. Kontrol positif memberikan kurva yang khas dan konsisten pada kedua kanal target dan IC, dengan Ct masing-masing sekitar 23,60 dan 24,49, yang menegaskan keandalan reagen serta kinerja instrumen. Kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi pada kanal FAM, namun tetap menghasilkan sinyal IC (Ct 18,81), sehingga memastikan bahwa tidak terjadi kontaminasi silang selama proses preparasi. Secara keseluruhan, profil kurva ini mendukung kesimpulan analitis bahwa sampel B2 bebas dari DNA babi, dan hasil “Pork Not Detected” dapat dianggap valid serta dapat dipertanggungjawabkan secara teknis, sejalan dengan prinsip autentikasi spesies berbasis real-time PCR dalam analisis pangan [17].

Sampel Bakso 3

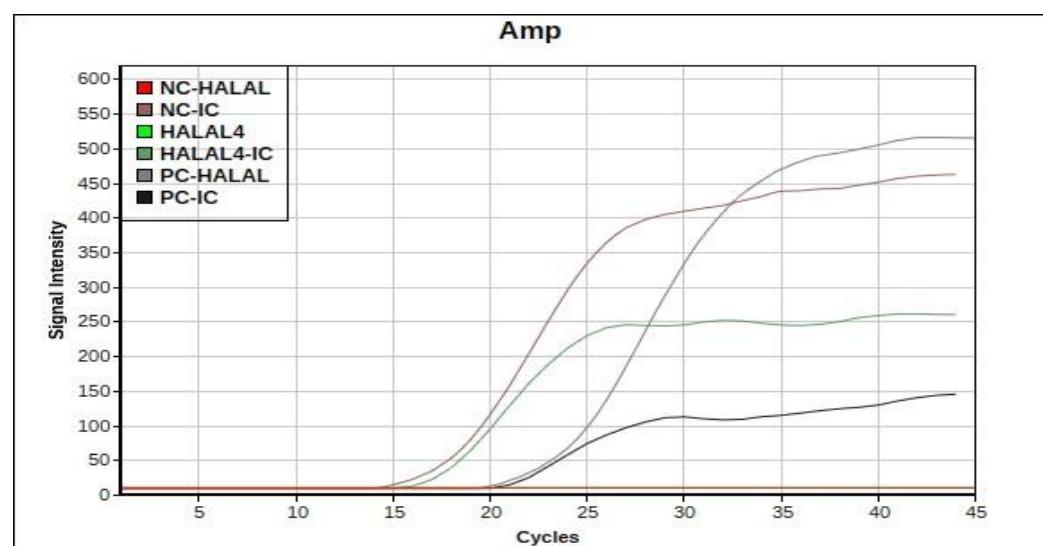
Kurva amplifikasi pada gambar 4. menunjukkan bahwa target spesifik DNA babi tidak mengalami peningkatan fluoresensi yang membentuk pola eksponensial selama 45 siklus, sebagaimana ditunjukkan oleh nilai Ct target babi yang tercatat 0,00. Ketiadaan kurva ini menandakan bahwa tidak ada molekul DNA babi yang terdeteksi pada sampel, atau konsentrasinya berada di bawah batas deteksi metode qPCR, yang memang hanya menghasilkan sinyal eksponensial apabila jumlah template berada pada kisaran terdeteksi [19]. Sebaliknya, kontrol internal (IC) pada sampel B3 memperlihatkan amplifikasi yang konsisten, dengan nilai Ct berada di kisaran 20,50, mengindikasikan bahwa proses ekstraksi DNA, efisiensi enzim polimerase, serta

kestabilan sistem deteksi berada dalam kondisi optimal. Kurva amplifikasi pada kontrol positif muncul dengan Ct 23.60–24.49, yang memastikan bahwa reagen, mesin, dan parameter reaksi bekerja sebagaimana mestinya dan tanpa hambatan. Sementara itu, kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi target, menandakan tidak adanya kontaminasi silang selama prosedur pengujian. Secara keseluruhan, pola kurva B3 memberikan dasar analitis yang kuat bahwa sampel tidak mengandung DNA babi, sehingga kesimpulan “pork not detected” dapat dinyatakan valid berdasarkan prinsip dan dinamika reaksi PCR real-time dan berdasarkan parameter analitis qPCR modern yang banyak digunakan dalam halal authentication [20].



Gambar 4. Hasil Kurva Test Report pada sampel bakso 3.

Sampel Bakso 4



Gambar 5. Hasil Kurva Test Report pada sampel bakso 4.

Hasil pembacaan kurva amplifikasi PCR pada gambar 5. menunjukkan bahwa seluruh parameter kontrol berada dalam kondisi yang valid sehingga interpretasi hasil dapat dinyatakan reliabel. Kurva kontrol positif memperlihatkan pola amplifikasi sigmoid yang jelas pada kanal FAM dengan nilai Ct sekitar 23, yang menandakan keberadaan target spesifik terdeteksi dengan efisiensi reaksi yang memadai sesuai dengan hasil penelitian metode qPCR untuk deteksi DNA babi dalam makanan olahan [21]. Sebaliknya, kontrol negatif tidak menunjukkan kenaikan sinyal pada kanal FAM, sehingga mengonfirmasi tidak adanya kontaminasi silang dalam proses amplifikasi [19]. Pada seluruh sampel uji, tidak ditemukan sinyal amplifikasi pada kanal FAM, yang tercermin dari nilai Ct nol, sementara kontrol internal (kanal ROX) memperlihatkan amplifikasi

konsisten pada rentang Ct sekitar 19–20. Hal ini menegaskan bahwa reaksi PCR pada sampel berjalan normal dan tidak terhambat oleh inhibitor maupun kesalahan teknis sejalan dengan temuan dari studi tentang pemblokiran inhibitor dan pentingnya kontrol internal dalam qPCR [22]. Dengan terpenuhinya seluruh kriteria kontrol kualitas tersebut, kurva amplifikasi dapat diinterpretasikan secara sahih sebagai hasil negatif terhadap deteksi DNA babi, sehingga target tidak terdeteksi dalam sampel pada tingkat sensitivitas yang dimiliki metode uji ini.

Penelitian ini menunjukkan bahwa hasil seluruh sampel bakso sapi dan ayam yang diuji dari wilayah Tuntungan, Sumatera Utara, tidak terdeteksi mengandung DNA babi (*Sus scrofa domesticus*). Hal ini dibuktikan dari nilai Ct FAM pada keempat sampel yang tidak muncul sama sekali, menandakan tidak adanya amplifikasi terhadap gen target spesifik babi. Dalam uji PCR, fluorofor FAM digunakan sebagai indikator keberadaan DNA babi sehingga apabila nilai Ct tidak terbaca, dapat disimpulkan bahwa sampel benar-benar tidak mengandung DNA babi. Sensitivitas FAM sebagai reporter telah banyak digunakan dalam deteksi spesies berbasis qPCR karena stabilitas fluoresensinya yang tinggi dan kemampuan mendeteksi konsentrasi DNA sangat rendah [23]. Sebaliknya, nilai Ct ROX yang muncul pada rentang 19–21 pada semua sampel menunjukkan bahwa internal control bekerja dengan baik. Fungsi ROX sebagai passive reference dye penting untuk menilai konsistensi reaksi, mendeteksi keberadaan inhibitor, serta memastikan bahwa kegagalan amplifikasi bukan disebabkan oleh kualitas DNA yang buruk, sebagaimana dijelaskan dalam penelitian Mustaqimah, Septiani, & Roswiem [24]. Keberhasilan internal control ini membuktikan bahwa proses amplifikasi berjalan normal, reagen berfungsi baik, dan DNA sampel berkualitas sehingga hasil negatif bukan disebabkan oleh kegagalan alat ataupun reaksi PCR. Validitas hasil juga didukung oleh kontrol negatif (NC) dan kontrol positif (PC). Pada kontrol negatif tidak terdapat sinyal FAM, sedangkan pada kontrol positif muncul Ct FAM yang jelas, menandakan bahwa alat dan sistem deteksi bekerja sesuai tujuan. Keberhasilan deteksi ini juga tidak lepas dari tahapan preparasi sampel, ekstraksi DNA, penyusunan master mix, serta penggunaan alat Genechecker UF-300 yang dikenal cepat dan sensitif dalam mendeteksi DNA meski sampel telah mengalami proses pengolahan seperti perebusan dan pencampuran bahan baku. Temuan bahwa seluruh sampel tidak terkontaminasi DNA babi memiliki arti penting bagi masyarakat Tuntungan yang mayoritas penduduknya non muslim. Hasil ini memberikan kepastian bahwa bakso yang diuji aman dari bahan non-halal dan masih sesuai dengan standar kehalalan pangan. Di tengah meningkatnya isu pemalsuan bahan baku pada produk daging olahan, terutama pencampuran daging babi pada bakso, hasil penelitian ini mampu meningkatkan rasa percaya masyarakat terhadap produk pangan yang beredar di daerah tersebut [23].

Kesimpulan

Hasil penelitian mengonfirmasi bahwa keempat sampel bakso sapi dan ayam yang diambil dari pedagang di wilayah Tuntungan, Sumatera Utara, tidak menunjukkan adanya kontaminasi DNA babi (*Sus scrofa domesticus*). Hasil analisis Real-Time PCR mencatat nilai cycle threshold (Ct) pada kanal target (FAM) sebesar nol, sementara kontrol internal (ROX) memberikan amplifikasi yang valid. Temuan ini mengindikasikan bahwa dalam lingkup sampel yang diuji, proses produksi bakso telah menerapkan pemisahan bahan baku yang sesuai dengan standar kehalalan. Interpretasi hasil penelitian ini perlu mempertimbangkan keterbatasan pada jumlah sampel yang relatif terbatas (n=4) serta lingkup geografis pengambilan sampel yang belum mencakup variasi lokasi secara menyeluruh. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan melakukan ekspansi skala sampling, pelacakan kontaminasi hingga ke bahan baku mentah, serta pengintegrasian aspek sosio-teknis melalui survei praktik penanganan bahan oleh pedagang. Pendekatan tersebut diharapkan dapat memberikan peta kontaminasi yang lebih komprehensif dan mendukung penguatan sistem jaminan halal produk olahan daging di tingkat lokal.

Conflict of Interest

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan finansial maupun non-finansial dalam pelaksanaan dan pelaporan penelitian ini. Seluruh proses penelitian dilakukan secara independen tanpa adanya intervensi atau pengaruh dari pihak eksternal manapun.

Acknowledgment

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala dan staf di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala, Provinsi Aceh. Serta semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Referensi

- [1] Natsir M. Etika Bisnis dalam Perspektif Islam. Bandung: Pustaka Setia; 2020.
- [2] Andriyani, Fais, Muarifah. Perkembangan penelitian metode deteksi kandungan babi untuk menjamin kehalalan produk pangan olahan. *J Islam Stud Humanit.* 2022;41.
- [3] Halid SA, Gobel M, Loulembah F. Mutu Bakso Daging Sapi Ditinjau Dari Kadar Protein, Kadar Lemak, Kadar Air, Total Mikroba, Kandungan Boraks, Dan Formalin Yang Dijual Di Depot-Depot Bakso Daging Sapi Di Kota Palu. *J Pengolah Pangan.* 2023;8(1):60–5.
- [4] Yualiana, Sari. [Judul lengkap artikel tidak tersedia dalam data yang diberikan]. 2021.
- [5] Syafrizayanti S, Safni S, Nurhayati. Detection and Absolute Quantification Porcine DNA in Sausages Using Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) Method. *J Kim Unand.* 2022;11(2):5–13.
- [6] Kuswandi B. Halal authenticity analysis of meat products. *J Food Anal Authent.* 2020;3(2):45–56.
- [7] Nugroho AP, et al. Application of molecular detection methods for food authentication in Indonesia. *Indones J Biotechnol.* 2022;27(1):12–20.
- [8] Biosewoom Inc. Genechecker UF-300 User Manual. Korea: Biosewoom; 2020.
- [9] Kurniawan K, Heny DKN. Edukasi Warga Desa Cibiyuk Dalam Pemeriksaan Keamanan Pangan Secara Biokimia. *Glob Abdimas J Pengabdi Masy.* 2024;4(1):44–53.
- [10] Zakaria SN, Mohamad NA, Abdullah S, Ismail A. Quality control parameters in real-time PCR for halal authentication: The role of negative control and inhibition assessment. *Food Control.* 2023;145:109415.
- [11] Rodríguez A, López CM, García MA. The consolidated report as an essential tool for validating qPCR results in food analysis. *J Food Sci Technol.* 2021;58(5):1897–905.
- [12] Rahayu WP, Hidayat SH, Kusumaningrum HD. Critical points and validation of real-time PCR methods for detection of pork contamination in meat products. *Indones J Food Sci.* 2020;12(1):45–60.
- [13] Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, Forootan A, Jonák J, Lind K, et al. The real-time polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med.* 2006;27(2–3):95–125.
- [14] Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem.* 2009;55(4):611–22.
- [15] Ali ME, Razzak MA, Hamid SBA. Species authentication methods in foods and feeds: the present, past, and future of halal forensics. *Food Anal Methods.* 2012;5(5):935–55.
- [16] Fauziah R, Syarif A, et al. Detection of Porcine DNA on Commercially Processed Meat Products Using Real-Time PCR. *J Hum Anim Res.* 2022.
- [17] Noh E, Lee S, Kim Y, Kim HY. Real-time PCR assay for species identification in meat products. *Food Chem.* 2019;277:39–45.
- [18] Khairuddin NS, et al. Development of species-specific qPCR assays for halal authentication of meat products. *LWT – Food Sci Technol.* 2022;153:112515.
- [19] Mufliah A, Hardianto A, Kusumaningtyas P, Prabowo S, Hartati YW. DNA-based detection of pork content in food. *Heliyon.* 2023;9(3):e14418.
- [20] Sidstedt M, Rådström P, Hedman J. PCR inhibition in qPCR, dPCR and MPS – mechanisms and solutions. *Anal Bioanal Chem.* 2020;412(9):2009–2023.
- [21] Waluyo S, Priyanto AD, Santoso TJ. Application of FAM-ROX duplex real-time PCR for highly sensitive detection of porcine DNA in processed meat products. *J Adv Biotechnol.* 2023;15(2):112–25.
- [22] Mustaqimah I, Septiani D, Roswiem AP. The role of passive reference dye (ROX) in normalizing fluorescence signal and detecting PCR inhibitors in real-time PCR assays. *J Mol Diagn.* 2021;9(3):145–55.
- [23] Kesmen Z, Yetim H, Sahin F. Identifikasi spesies daging dengan uji PCR waktu nyata berbasis TaqMan. *Meat Sci.* 2009;82(4):444–9.
- [24] Abriana A, Indrawati E, Rahman R, Mahmud H. Produk olahan ikan bandeng (bandeng cabut duri, abon ikan bandeng dan bakso ikan bandeng) di desa borimasunggu kabupaten maros. *J Din Pengabdi.* 2021;6(2):273–83.