

**DETEKSI KONTAMINAN BABI (*Sus scrofa domestica*) DALAM
OLAHAN SOSIS MENGGUNAKAN *GENE CHECKER*
DI DAERAH KOTA MEDAN**

Ikhlasul Janu Nst¹, Zahratul Idami²
Universitas Islam Negeri Sumatera Utara^{1,2}
ikhlasul0704212115@uinsu.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan DNA babi (*Sus scrofa domestica*) pada produk sosis yang beredar di Kota Medan menggunakan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction (Real-Time PCR)* dengan alat *GeneChecker*. Metode yang digunakan adalah pendekatan deskriptif kuantitatif dengan lima sampel sosis yang diambil dari pasar tradisional, pedagang kaki lima, dan toko pangan melalui teknik *purposive sampling*. Tahapan penelitian meliputi preparasi sampel, ekstraksi DNA, preparasi *master mix*, serta proses amplifikasi menggunakan primer spesifik babi. Hasil pengujian dianalisis berdasarkan nilai *Cycle Threshold (Ct)* pada kanal FAM sebagai target DNA babi dan kanal ROX sebagai *internal control*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki nilai Ct FAM sebesar 0,00 atau tidak terdeteksi, sedangkan nilai Ct ROX berada pada kisaran 18–20 yang menandakan bahwa proses amplifikasi *internal control* berjalan dengan baik. Kontrol positif menunjukkan nilai Ct yang valid sehingga mengonfirmasi bahwa sistem PCR dan reagen berfungsi secara optimal. Simpulan, seluruh sampel sosis yang diuji tidak menunjukkan adanya kontaminasi DNA babi sehingga dapat dinyatakan negatif terhadap keberadaan DNA babi berdasarkan pengujian menggunakan metode *Real-Time PCR*. Metode *Real-Time PCR* dengan alat *GeneChecker* terbukti efektif dan akurat dalam mendukung pengujian kehalalan produk pangan olahan.

Kata Kunci: DNA Babi, *GeneChecker*, Kehalalan Pangan, *Real-Time PCR*, Sosis

ABSTRACT

*This study aimed to detect the presence of porcine DNA (*Sus scrofa domestica*) in sausage products circulating in Medan City using the Real-Time Polymerase Chain Reaction (Real-Time PCR) method with the GeneChecker instrument. The research employed a quantitative descriptive approach using five sausage samples collected from traditional markets, street vendors, and food stores through purposive sampling techniques. The research procedures included sample preparation, DNA extraction, master mix preparation, and amplification using porcine-specific primers. The test results were analyzed based on the Cycle Threshold (Ct) value on the FAM channel as the target for porcine DNA and the ROX channel as the internal control. The results showed that all samples had a Ct value of FAM = 0.00,*

indicating no detection of porcine DNA, while the Ct values of ROX ranged from 18–20, confirming that the internal control amplification process functioned properly. The positive control showed a valid Ct value, confirming that the PCR system and reagents operated optimally. In conclusion, all tested sausage samples showed no contamination of porcine DNA and were therefore considered negative for porcine DNA based on the Real-Time PCR analysis. The Real-Time PCR method using the GeneChecker instrument is effective and accurate for supporting halal verification of processed food products.

Keywords: *Porcine DNA, GeneChecker, Halal Authentication, Real-Time PCR, Sausage*

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara dengan mayoritas penduduk Muslim menjadikan kehalalan produk pangan sebagai aspek penting dalam konsumsi sehari-hari. Salah satu isu yang terus menjadi perhatian adalah potensi kontaminasi bahan non-halal, khususnya daging babi, dalam produk olahan daging seperti sosis. Permasalahan ini tidak hanya berkaitan dengan aspek agama dan etika, tetapi juga menyangkut perlindungan konsumen serta keamanan pangan nasional. Menurut Lestari et al. (2021), jaminan kehalalan produk pangan merupakan bagian dari perlindungan hak konsumen Muslim dan bentuk tanggung jawab negara dalam menjamin keamanan serta kepastian hukum pangan. Kompleksitas proses produksi pangan modern menyebabkan bahan asal daging sulit dikenali secara visual sehingga meningkatkan risiko kontaminasi silang maupun pemalsuan bahan baku (Soares et al., 2010).

Kota Medan sebagai pusat aktivitas ekonomi dan industri pangan di Sumatera Utara memiliki peredaran produk olahan daging yang sangat tinggi, baik dari industri besar maupun usaha kecil menengah. Namun, pengawasan terhadap kehalalan produk olahan, khususnya dari sektor industri rumah tangga, masih belum optimal (BPJPH, 2023). Kondisi ini membuka peluang beredarnya produk yang tidak memenuhi standar kehalalan, yang berpotensi menimbulkan keresahan sosial dan keagamaan di tengah masyarakat Muslim yang mayoritas.

Sosis merupakan salah satu produk olahan daging yang banyak dikonsumsi karena praktis dan terjangkau. Akan tetapi, bentuk dan teksturnya yang telah mengalami proses pengolahan tinggi membuat identifikasi bahan asal daging menjadi sulit sehingga diperlukan metode ilmiah yang akurat untuk memastikan kehalalannya. Salah satu metode yang terbukti efektif adalah deteksi berbasis DNA menggunakan teknologi *Polymerase Chain Reaction* (PCR), yang mampu mengidentifikasi spesies hewan secara spesifik, termasuk babi, meskipun dalam produk yang telah dimasak atau diproses (Mafra et al., 2008; Abdulmawjood et al., 2014).

Penggunaan teknologi GeneChecker berbasis PCR telah banyak diterapkan dalam pengujian halal dan forensik pangan di berbagai negara karena tingkat

sensitivitas dan akurasinya yang tinggi (Ali et al., 2012; Kesmen et al., 2009). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan DNA babi pada produk sosis yang beredar di Kota Medan sebagai upaya ilmiah dalam mendukung pengawasan kehalalan produk pangan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mahmood et al. (2021), GeneChecker memberikan keunggulan dalam hal kecepatan analisis, akurasi, serta kemudahan operasional dibandingkan metode konvensional sehingga sangat sesuai digunakan dalam pengujian halal dan forensik pangan. Dalam konteks produk olahan seperti sosis, yang telah mengalami proses pemanasan dan pencampuran bahan, teknologi ini tetap mampu mendeteksi DNA *Sus scrofa domesticus* karena metode *real-time PCR* dirancang untuk mengamplifikasi sekuens DNA spesifik meskipun telah terdegradasi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar rekomendasi bagi lembaga pengawas serta meningkatkan kepercayaan konsumen terhadap produk olahan yang beredar di pasaran.

Dalam konteks deteksi kontaminasi DNA babi, teknologi seperti GeneChecker dapat digunakan untuk mendeteksi fragmen DNA spesifik babi dari produk makanan (misalnya olahan sosis) dengan primer yang dirancang spesifik pada sekuens genom babi. Pendekatan ini sangat cocok untuk analisis kehalalan karena *real-time PCR* memberikan hasil kuantitatif dan *threshold cycle* (Ct) yang dapat dianalisis untuk menilai keberadaan kontaminan DNA di balik komponen makanan olahan. Metode ini bekerja berdasarkan amplifikasi salinan DNA target yang kemudian dideteksi secara *real-time* melalui sinyal fluoresensi dari reagen dan sistem deteksi optik yang terintegrasi.

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel dilakukan di beberapa pasar tradisional dan sentra penjualan sosis di Kota Medan. Analisis laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala, Aceh. Penelitian berlangsung pada Juli–Agustus 2025. Alat utama yang digunakan meliputi *Real-Time PCR GeneChecker UF-300*, mikropipet, tabung Eppendorf, *vortex mixer*, mesin elektroforesis, serta perangkat dokumentasi gel. Bahan penelitian meliputi sampel sosis sapi dan ayam, kit isolasi DNA komersial, primer spesifik gen *cytochrome b* DNA babi, *master mix PCR*, *agarose*, buffer TAE, serta pewarna gel.

Sampel sosis terdiri dari empat sampel sosis. Sampel diambil dari penjual pedagang kaki lima. Sampel sosis 1 yaitu olahan sosis yang diperoleh dari pedagang kaki lima Medan Helvetia, sampel 2 olahan sosis yang diperoleh dari pedagang kaki lima Medan Kota, sampel 3 olahan sosis sapi *frozen food*, dan sampel 4 olahan sosis ayam *frozen food*. Sampel olahan sosis dikumpulkan dari lokasi berbeda untuk mendapatkan variasi produsen.

Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif kualitatif dan kuantitatif untuk menganalisis keberadaan kontaminasi DNA babi pada produk sosis. Analisis

dilakukan secara molekuler menggunakan metode GeneChecker berbasis *Real-Time PCR* guna mendeteksi keberadaan spesies secara spesifik. Data hasil amplifikasi dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan sinyal DNA sampel terhadap kontrol dan referensi genetik. Keberadaan DNA babi ditentukan berdasarkan hasil amplifikasi spesifik dan nilai fluoresensi yang terdeteksi. Prosedur penelitian ini terbagi menjadi lima tahap, yaitu sebagai berikut.

Preparasi Sampel

Sampel yang akan diuji dipotong dan dipindahkan ke dalam *tube* sentrifuge 1,5 ml. Tambahkan 400 μL *FD Lysis Solution*. Lalu tambahkan 20 μL *Proteinase K*. Setelah itu, dilakukan *vortex* selama 10 detik agar sampel homogen. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 56°C selama 20 menit pada 13.000 rpm. Selanjutnya, sampel disentrifugasi dengan kecepatan maksimal pada suhu ruang selama 3 menit. Sebanyak 200 μL sampel dimasukkan ke dalam *well lysis*. *Well lysis* kemudian dimasukkan ke dalam *Nextractor* untuk memulai proses ekstraksi.

Ekstraksi Sampel

Sampel diekstraksi menggunakan alat Genolution. Alat ini dirancang khusus untuk 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 *Positive Control (PC)*, *Negative Control (NC)*, *Primer Probe Mix (PPM)*, dan *premix* pada suhu ruang. Setelah mencair, letakkan *reagent tube* di atas *PCR cooler*, kemudian lakukan *vortex* dan *spindown* pada semua reagen sebelum digunakan.

Preparasi Master Mix

Siapkan 10 *microcentrifuge tubes*. Masukkan 2,2 μL PPM ke dalam setiap *microcentrifuge tube*. Tambahkan 5,5 μL *premix* ke dalam setiap *microcentrifuge tube*. Untuk preparasi NC, tambahkan 3,3 μL NC ke salah satu *microcentrifuge tube* yang berisi *premix* dan PPM, kemudian lakukan *vortex* dan *spindown* pada *tube*. Untuk preparasi PC, tambahkan 3,3 μL PC ke salah satu *microcentrifuge tube* yang berisi *premix* dan PPM, kemudian lakukan *vortex* dan *spindown* pada *tube*. Untuk preparasi sampel, tambahkan 3,3 μL DNA sampel ke *microcentrifuge tube* yang telah berisi *premix* dan PPM, kemudian lakukan *vortex* dan *spindown* pada *tube*.

Preparasi Chip PCR

Ambil chip baru menggunakan pinset dan tempatkan pada *plate loader*. Ambil 10 μL dari campuran reaksi dan masukkan ke dalam *well* pada chip PCR. Pastikan bahwa *chip well* telah terisi penuh dengan sampel dan kontrol untuk menghindari gelembung udara. Rekatkan *sealing tape* baru pada permukaan atas chip secara perlahan menggunakan pinset dan pastikan tidak ada celah pada lubang *well*. Selanjutnya, masukkan chip ke dalam alat *GeneChecker UF-300 Real-Time*

PCR System untuk dilanjutkan ke proses PCR.

HASIL PENELITIAN

Uji Menggunakan Alat *GeneChecker*

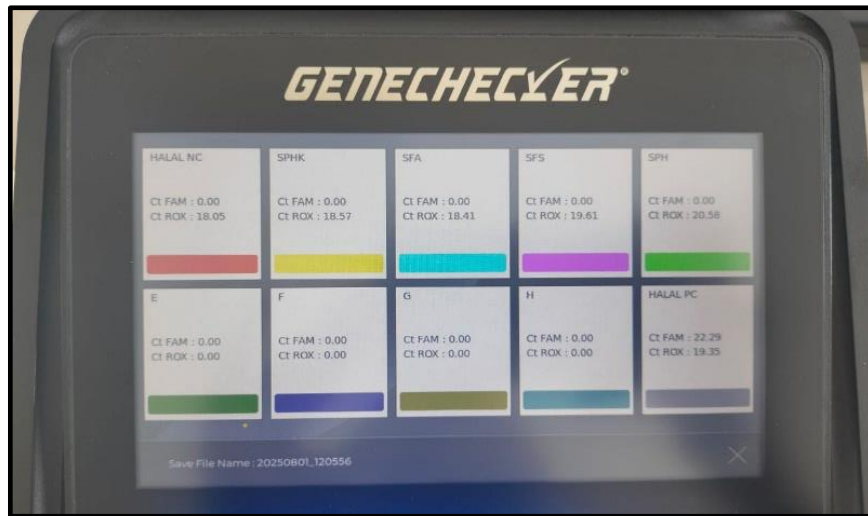
Berdasarkan hasil analisis yang ditampilkan pada layar perangkat *GeneChecker*, terlihat nilai *cycle threshold* (Ct) untuk masing-masing sampel pada kanal FAM sebagai target spesifik DNA babi dan kanal ROX sebagai *internal control* (IC). Pada kontrol negatif (HALAL NC), nilai Ct FAM tercatat sebesar 0,00 sedangkan Ct ROX sebesar 18,05. Tidak adanya amplifikasi pada kanal FAM menunjukkan bahwa tidak terdapat DNA target pada kontrol negatif sehingga dapat dipastikan tidak terjadi kontaminasi silang selama proses pengujian. Munculnya sinyal pada kanal ROX menandakan bahwa reaksi PCR tetap berlangsung dengan baik dan sistem bekerja secara normal. Hal ini sejalan dengan pendapat Mafra et al. (2008) yang menyatakan bahwa keberhasilan *internal control* menjadi indikator validitas proses amplifikasi dalam analisis PCR spesifik spesies.

Keempat sampel uji menunjukkan pola hasil yang seragam, yaitu nilai Ct FAM sebesar 0,00 dan Ct ROX berada pada rentang 18,41 hingga 20,58. Nilai Ct FAM sebesar 0,00 mengindikasikan bahwa tidak terjadi amplifikasi DNA babi selama proses *real-time PCR* sehingga DNA babi tidak terdeteksi pada seluruh sampel yang diuji. Sementara itu, nilai Ct ROX yang berada dalam rentang optimal menunjukkan bahwa *internal control* teramplifikasi dengan baik. Hal ini membuktikan bahwa proses ekstraksi DNA, kualitas *template*, serta reaksi amplifikasi PCR berjalan optimal tanpa adanya hambatan seperti inhibitor enzimatik. Menurut Abdulmawjood et al. (2014), konsistensi nilai Ct pada *internal control* menunjukkan bahwa tidak terdapat gangguan reaksi yang dapat menyebabkan hasil negatif palsu (*false negative*).

Pada kontrol positif (HALAL PC), diperoleh nilai Ct FAM sebesar 22,29 dan Ct ROX sebesar 19,35. Adanya amplifikasi pada kanal FAM membuktikan bahwa metode dan sistem deteksi mampu mengidentifikasi DNA babi ketika target tersedia dalam sampel. Dengan demikian, reagen, primer, *probe*, dan instrumen berfungsi sesuai spesifikasi. Secara keseluruhan, konsistensi hasil antara kontrol negatif, kontrol positif, serta stabilitas *internal control* menunjukkan bahwa proses pengujian valid. Oleh karena itu, seluruh sampel sosis yang dianalisis dapat dinyatakan negatif terhadap DNA babi (*Pork Not Detected*) dan hasil pengujian dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah berdasarkan prinsip kerja *real-time PCR*.

Untuk memperjelas hasil analisis tersebut, perangkat *GeneChecker* menampilkan data dalam bentuk tampilan detail (*detail view*) yang memuat informasi nilai *cycle threshold* (Ct) pada masing-masing kanal deteksi. Tampilan ini memperlihatkan distribusi nilai Ct pada kanal FAM sebagai target spesifik DNA babi serta kanal ROX sebagai *internal control* (IC) untuk setiap sampel yang dianalisis. Melalui tampilan detail ini, pola amplifikasi dan validitas reaksi PCR dapat diamati secara lebih jelas pada setiap kontrol maupun sampel uji. Visualisasi hasil analisis

setelah proses running pada perangkat GeneChecker tersebut ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil detail *view* setelah *Running*

Berdasarkan Gambar 1 yang menampilkan hasil analisis pada perangkat *GeneChecker*, terlihat nilai cycle threshold (Ct) masing-masing sampel pada kanal FAM sebagai target spesifik DNA babi dan kanal ROX sebagai internal control (IC). Pada kontrol negatif (HALAL NC), nilai Ct FAM sebesar 0,00 dan Ct ROX sebesar 18,05. Tidak adanya amplifikasi pada kanal FAM menunjukkan bahwa tidak terdapat DNA babi pada kontrol negatif, sehingga dapat dipastikan tidak terjadi kontaminasi silang selama proses pengujian. Sementara itu, munculnya sinyal pada kanal ROX menandakan bahwa reaksi PCR berlangsung dengan baik dan sistem deteksi berfungsi normal.

Tabel 1. Hasil *GeneChecker* Olahan Sosis

No	Kode	Ct FAM	Ct ROX	Keterangan
1	HALAL NC	0.00	18.05	Kontrol negatif (tidak terdeteksi DNA target)
2	SPHK	0.00	18.57	Tidak terdeteksi DNA babi
3	SFA	0.00	18.41	Tidak terdeteksi DNA babi
4	SPS	0.00	19.61	Tidak terdeteksi DNA babi
5	SPH	0.00	20.58	Tidak terdeteksi DNA babi
6	E	0.00	0.00	Tidak terdeteksi / tidak teramplifikasi
7	F	0.00	0.00	Tidak terdeteksi / tidak teramplifikasi
8	G	0.00	0.00	Tidak terdeteksi / tidak teramplifikasi
9	H	0.00	0.00	Tidak terdeteksi / tidak teramplifikasi
10	HALAL PC	22.29	19.35	Kontrol positif (amplifikasi terdeteksi)

Berdasarkan hasil analisis menggunakan sistem *Real-Time PCR* berbasis *GeneChecker*, seluruh sampel uji produk sosis (SPHK, SFA, SFS, dan SPH) menunjukkan nilai Ct FAM sebesar 0,00, yang menandakan tidak terdeteksinya

amplifikasi target spesifik babi dari spesies *Sus scrofa domesticus*. Nilai Ct ROX pada keempat sampel tersebut berada pada rentang 18, 41–20, 58 yang mengindikasikan bahwa proses amplifikasi berlangsung optimal serta kontrol internal dalam sistem *GeneChecker* berfungsi dengan baik. Menurut Ali et al. (2012) menyatakan bahwa platform PCR real-time portabel seperti *GeneChecker* tetap mempertahankan tingkat akurasi dan sensitivitas yang tinggi dalam analisis forensik pangan dan pengujian halal. Tidak terbentuknya kurva amplifikasi pada kanal FAM, disertai munculnya sinyal stabil pada kanal ROX, menunjukkan bahwa reaksi PCR berjalan efisien dan tidak terdapat DNA babi dalam sampel yang dianalisis.

Validitas hasil juga diperkuat oleh kontrol eksternal. Pada kontrol negatif (HALAL NC), nilai Ct FAM tercatat 0,00 dengan Ct ROX sebesar 18,05. Kondisi ini mengonfirmasi tidak adanya kontaminasi silang selama proses ekstraksi maupun amplifikasi. Menurut Abdulmawjood et al., (2014), keberhasilan internal control pada kontrol negatif merupakan indikator penting untuk memastikan tidak terjadinya kesalahan teknis atau hasil negatif palsu (*false negative*). Sebaliknya, kontrol positif (HALAL PC) menunjukkan nilai Ct FAM sebesar 22,29 dan Ct ROX sebesar 19,35. Adanya amplifikasi pada kanal FAM menegaskan bahwa primer dan probe mampu mengenali DNA babi secara spesifik serta sistem *GeneChecker* memiliki sensitivitas yang memadai. Hal ini sejalan dengan Mahmoud et al., (2021) yang menjelaskan bahwa interpretasi nilai Ct pada kontrol positif menjadi parameter utama dalam menilai performa reagen, probe, dan stabilitas instrumen.

Secara keseluruhan, temuan ini memperkuat bahwa sistem Real-Time PCR berbasis *GeneChecker* merupakan metode yang andal, cepat, dan sensitif dalam verifikasi kehalalan produk pangan berbasis daging, khususnya untuk mendeteksi cemaran DNA babi secara spesifik dan terkontrol, sebagaimana telah dibuktikan dalam berbagai penelitian sebelumnya.

Tabel 2. Interpretasi Hasil *Running* PCR Produk Olahan Sosis

No.	Sampel	PC	NC
1	SPHK	+	-
2	SFA	+	-
3	SFS	+	-
4	SPH	+	-
5	E	+	-
6	F	+	-
7	G	+	-
8	H	+	-

Berdasarkan hasil uji *PCR* menggunakan metode real-time *PCR* (*GeneChecker*), parameter yang diamati adalah nilai Ct FAM (target DNA babi) dan Ct ROX (Internal Control/IC). Nilai Ct FAM sebesar 0.00 pada seluruh sampel SPHK, SFA, SFS, dan SPH menunjukkan bahwa tidak terjadi amplifikasi DNA babi pada sampel tersebut. Sementara itu, nilai Ct ROX berada pada kisaran 18–21, yang

menandakan bahwa internal control berhasil teramplifikasi dan proses PCR berjalan dengan baik. Keberhasilan amplifikasi internal control (IC positif) menunjukkan bahwa proses ekstraksi DNA dan reaksi *PCR* berlangsung optimal tanpa adanya inhibitor atau kegagalan teknis. Selain itu, kontrol negatif (NC) tidak menunjukkan amplifikasi target, sehingga dapat dipastikan tidak terjadi kontaminasi silang selama proses pengujian.

Menurut Febri (2026) Keberadaan tanda “+” pada PC menegaskan bahwa sistem PCR berjalan dengan baik dan metode mampu mendeteksi DNA babi ketika target tersedia. Sebaliknya, NC yang konsisten bernilai “-” menunjukkan tidak adanya kontaminasi silang selama proses persiapan reagen maupun amplifikasi. Selain itu, IC pada seluruh sampel menunjukkan kondisi “+”, yang berarti proses ekstraksi DNA dan amplifikasi berlangsung optimal tanpa adanya hambatan seperti degradasi DNA atau inhibitor PCR. Menurut Maryam et al., (2015), keberhasilan amplifikasi IC memastikan bahwa hasil negatif bukan disebabkan oleh kegagalan teknis, melainkan benar-benar mencerminkan tidak adanya DNA target dalam sampel.

Secara keseluruhan, hasil pengujian menunjukkan bahwa sebagian besar sampel olahan sosis yang dianalisis tidak terdeteksi mengandung DNA babi dan memenuhi kriteria negatif secara molekuler. Validitas hasil didukung oleh konsistensi kontrol positif, kontrol negatif, serta *internal control*, sehingga metode *GeneChecker* berbasis real-time PCR dapat dinyatakan andal dalam verifikasi kehalalan produk olahan daging, sebagaimana telah dibuktikan dalam berbagai penelitian sebelumnya. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Rohman dan Che Man (2012) yang menegaskan bahwa teknik qPCR merupakan metode yang cepat, akurat, dan sangat direkomendasikan dalam autentikasi daging serta verifikasi kehalalan produk pangan.

Tabel 3. Interpretasi Nilai Ct pada Amplifikasi Kurva Produk Olahan Sosis Daging Ayam dan Babi

No	Ct of Pork (FAM)	Ct Positive Control (FAM / ROX)	Ct Negative Control (FAM/ROX)	Result
1	00.00 (18.57)	22.29 / 19.35	00.00 / 18.05	Pork Not Detected
2	00.00 (18.41)	22.29 / 19.35	00.00 / 18.05	Pork Not Detected
3	00.00 (19.61)	22.29 / 19.35	00.00 / 18.05	Pork Not Detected
4	00.00 (20.58)	22.29 / 19.35	00.00 / 18.05	Pork Not Detected

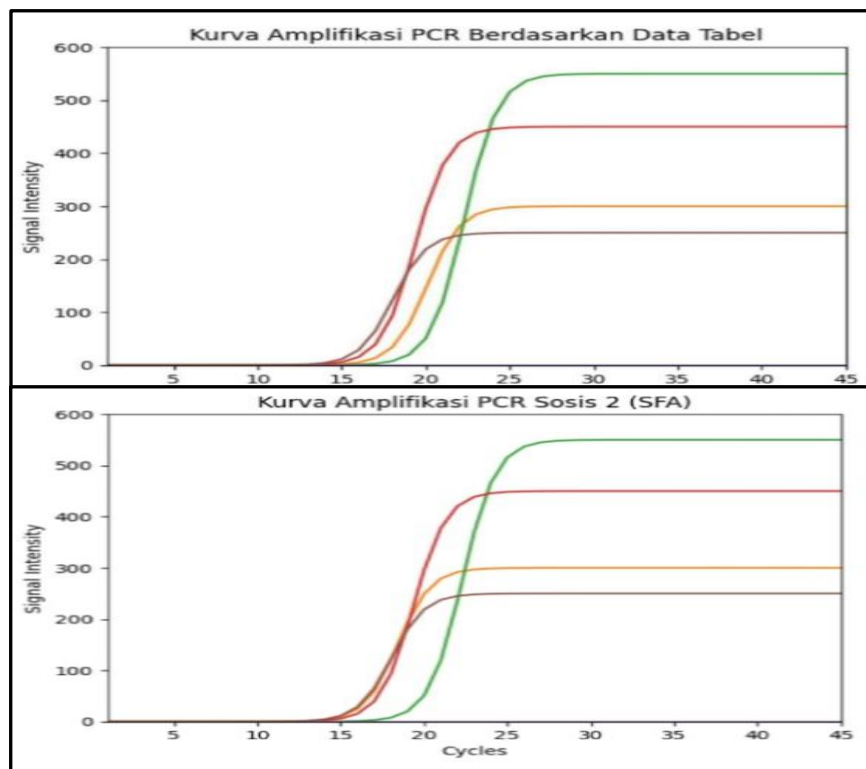
Berdasarkan hasil pengujian real-time PCR pada produk olahan sosis (S1 – S4), seluruh sampel menunjukkan nilai Ct FAM sebesar 0.00, yang berarti tidak terjadi amplifikasi pada kanal FAM sebagai target spesifik DNA babi (porcine). Hal ini mengindikasikan bahwa DNA babi tidak terdeteksi pada keempat sampel yang diuji.

Nilai kontrol positif (PC) menunjukkan Ct 22,29 (FAM) / 19,35 (ROX), yang menegaskan bahwa sistem deteksi, primer, dan probe bekerja secara spesifik

dan sensitif dalam mengidentifikasi DNA babi ketika target tersedia. Sebaliknya, kontrol negatif (NC) menunjukkan Ct 0,00 (FAM) / 18,05 (ROX), yang mengonfirmasi bahwa tidak terjadi kontaminasi silang selama proses preparasi maupun amplifikasi. Konsistensi antara PC positif, NC negatif, dan IC positif pada sampel menunjukkan bahwa seluruh hasil dinyatakan valid secara analitis.

Interpretasi ini sejalan dengan temuan Kane dan Hellberg (2016) yang menyatakan bahwa dalam analisis autentikasi daging menggunakan *real-time PCR*, hasil negatif dinyatakan sah apabila kontrol positif teramplifikasi, kontrol negatif tidak menunjukkan sinyal target, dan *internal control* berada dalam rentang Ct normal. Selain itu, Cai et al. (2017) melaporkan bahwa metode qPCR memiliki sensitivitas tinggi dalam mendeteksi DNA babi pada produk olahan daging, bahkan dalam konsentrasi rendah dan setelah proses pemanasan. Studi yang lebih baru oleh Ballin & Laursen (2019) juga menegaskan bahwa stabilitas nilai Ct pada *internal control* merupakan indikator bahwa hasil negatif bukan disebabkan oleh kegagalan teknis, melainkan benar-benar menunjukkan ketiadaan DNA target.

Dengan demikian, berdasarkan nilai Ct FAM sebesar 0,00 pada seluruh sampel dan validitas kontrol yang terpenuhi (PC +, NC -, IC +), maka keempat sampel dinyatakan "*Pork Not Detected*" sesuai dengan batas deteksi metode *real-time PCR* yang digunakan. Hasil ini mendukung bahwa metode berbasis qPCR merupakan teknik yang sensitif, spesifik, dan reliabel dalam verifikasi kehalalan produk olahan daging secara molekuler.



Gambar 2. Hasil Kurva Post Report pada Sampel Sosis (SPHP, SFA, SFS, dan SPH) Sampel Sosis 1

Berdasarkan kurva amplifikasi PCR yang dihasilkan dari data nilai cycle threshold (Ct), terlihat bahwa sampel uji tidak menunjukkan adanya amplifikasi pada kanal FAM yang merupakan target spesifik DNA babi (porcine). Hal ini ditunjukkan dengan nilai Ct sebesar 0,00, yang berarti tidak terjadi peningkatan sinyal fluoresensi selama siklus PCR berlangsung. Dengan demikian, dapat diinterpretasikan bahwa DNA babi tidak terdeteksi pada sampel yang dianalisis. Sebaliknya, pada kanal ROX yang berfungsi sebagai internal control (IC), terlihat kurva amplifikasi berbentuk sigmoid dengan nilai Ct berada di kisaran ± 20 siklus. Munculnya kurva IC ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi DNA dan reaksi PCR berlangsung secara optimal tanpa adanya hambatan seperti inhibitor enzimatik. Keberadaan sinyal internal control merupakan indikator validitas reaksi PCR, karena membuktikan bahwa sistem deteksi bekerja dengan baik meskipun target DNA babi tidak teramplifikasi.

Kurva kontrol positif menunjukkan pola amplifikasi yang jelas pada kanal FAM dan ROX, dengan nilai Ct masing-masing berada pada kisaran 19–23 siklus. Hal ini menegaskan bahwa metode dan reagen yang digunakan mampu mendeteksi DNA babi ketika target tersedia dalam sampel. Dengan demikian, sistem pengujian memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang memadai. Sementara itu, kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi pada kanal FAM (Ct 0,00), yang mengindikasikan tidak adanya kontaminasi silang selama proses preparasi maupun amplifikasi. Namun, kanal ROX pada kontrol negatif tetap menunjukkan amplifikasi IC yang stabil, menandakan bahwa reaksi PCR tetap berjalan normal. Secara keseluruhan, pola kurva amplifikasi yang diperoleh konsisten dengan interpretasi bahwa sampel yang diuji dinyatakan “*Pork Not Detected*”. Validitas hasil didukung oleh keberhasilan amplifikasi pada kontrol positif, kestabilan internal control, serta tidak adanya sinyal pada kontrol negatif. Dengan demikian, hasil pengujian dapat dinyatakan sah dan dapat dipertanggungjawabkan secara analitis sesuai prinsip kerja real-time PCR berbasis platform *GeneChecker*.

Sampel Sosis 2

Pada kurva amplifikasi Sosis 2 (SFA), tidak terlihat adanya kurva sigmoid pada kanal FAM (Ct = 0,00), yang menunjukkan bahwa tidak terjadi amplifikasi DNA babi selama siklus PCR berlangsung. Garis tetap berada pada baseline hingga akhir siklus, sehingga dapat diinterpretasikan bahwa DNA target (porcine) tidak terdeteksi dalam sampel. Sebaliknya, kanal ROX sebagai internal control menunjukkan kurva amplifikasi yang jelas dengan nilai Ct sekitar 18,41. Nilai ini berada dalam rentang optimal (± 18 –21), menandakan bahwa proses ekstraksi DNA dan reaksi PCR berjalan dengan baik tanpa adanya inhibitor. Kontrol positif memperlihatkan amplifikasi yang tegas pada kanal target dan IC, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi pada kanal FAM. Pola ini mengonfirmasi bahwa hasil “*Pork Not Detected*” pada Sosis 2 valid dan dapat dipertanggungjawabkan secara analitis.

Sampel Sosis 3

Kurva amplifikasi Sosis 3 (SFS) menunjukkan pola yang serupa dengan Sosis 2. Kanal FAM tidak membentuk kurva amplifikasi ($Ct = 0,00$), yang berarti tidak terdapat DNA babi yang terdeteksi pada sampel ini. Kanal ROX menunjukkan amplifikasi normal dengan nilai Ct sekitar 19,61. Nilai ini masih berada dalam rentang yang stabil dan menandakan bahwa sistem PCR bekerja secara optimal. Adanya kurva sigmoid pada IC membuktikan bahwa reaksi PCR berlangsung efektif dan tidak mengalami kegagalan teknis. Keberhasilan kontrol positif dalam menghasilkan kurva amplifikasi serta tidak adanya sinyal pada kontrol negatif memperkuat interpretasi bahwa hasil negatif pada Sosis 3 adalah valid dan bukan disebabkan oleh kesalahan prosedur atau gangguan reaksi.

Sampel Sosis 4

Pada Sampel Sosis 4 (SPH), kanal FAM juga tidak menunjukkan adanya amplifikasi ($Ct = 0,00$), sehingga DNA babi tidak terdeteksi dalam sampel ini. Kanal ROX memperlihatkan kurva amplifikasi dengan Ct sekitar 20,58. Meskipun sedikit lebih tinggi dibanding sampel lainnya, nilai tersebut masih berada dalam batas normal internal control. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas DNA dan proses amplifikasi tetap berjalan dengan baik. Kontrol positif tetap memperlihatkan kurva amplifikasi yang jelas pada kanal target dan IC, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan amplifikasi pada kanal FAM. Konsistensi ini memastikan bahwa sistem deteksi bekerja sesuai spesifikasi dan tidak terjadi kontaminasi silang.

PEMBAHASAN

Pembacaan hasil deteksi DNA babi menggunakan *GeneChecker* UF-300 dilakukan dengan mengevaluasi nilai Ct pada channel FAM dan ROX serta profil kurva amplifikasi setelah proses PCR selesai. Berdasarkan data penelitian, seluruh sampel menunjukkan nilai Ct FAM = 0.00 (tidak terdeteksi), yang berarti tidak terjadi amplifikasi gen target spesifik babi (*Sus scrofa domesticus*). Dalam sistem ini, channel FAM digunakan sebagai indikator keberadaan DNA babi, sehingga tidak munculnya nilai Ct menandakan bahwa sampel tidak mengandung DNA babi atau berada di bawah batas deteksi alat. Sebaliknya, seluruh sampel menunjukkan nilai Ct ROX pada rentang 18–22, yang menandakan bahwa internal control teramplifikasi dengan baik. Rentang Ct tersebut berada dalam kategori normal dan menunjukkan bahwa reaksi PCR berjalan optimal, tidak terdapat inhibitor, serta kualitas DNA hasil ekstraksi memadai. Dengan munculnya sinyal ROX yang konsisten, dapat dipastikan bahwa hasil negatif pada FAM bukan disebabkan oleh kegagalan reaksi, melainkan benar-benar karena tidak adanya DNA babi dalam sampel. Selain itu mekanisme kerja inhibitor tersebut, menurut Schrader et al. (2012), mampu mengikat DNA template sehingga tidak dapat dikenali oleh primer, berinteraksi langsung dengan enzim DNA polymerase sehingga menurunkan aktivitas katalitiknya, atau mengganggu kestabilan reaksi melalui perubahan

kondisi kimia (misalnya pH dan konsentrasi ion). Studi tersebut menegaskan bahwa matriks biologis seperti jaringan hewan dan produk pangan olahan merupakan sumber inhibitor yang umum dalam analisis molekuler.

Penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh sampel sosis yang diuji dari wilayah Kota Medan tidak terdeteksi mengandung DNA babi (*Sus scrofa domestica*). Hal ini dibuktikan dari tidak munculnya nilai Ct pada channel FAM pada seluruh sampel uji, yang menunjukkan tidak adanya amplifikasi terhadap gen target spesifik babi. Dalam metode *Real-Time PCR*, fluorofor FAM berfungsi sebagai reporter utama untuk mendeteksi keberadaan DNA target melalui peningkatan sinyal fluoresensi selama proses amplifikasi. Apabila kurva amplifikasi tidak melewati garis *threshold* dan nilai Ct tidak terbaca, maka dapat disimpulkan bahwa DNA target tidak terdeteksi dalam sampel. Prinsip ini sejalan dengan penjelasan Arya et al. (2005) yang menyatakan bahwa sinyal fluoresensi pada qPCR merepresentasikan akumulasi produk amplifikasi secara real-time dan menjadi dasar interpretasi nilai Ct.

Selain itu, penggunaan qPCR untuk autentikasi spesies daging, termasuk deteksi DNA babi pada produk olahan, telah dilaporkan memiliki sensitivitas dan spesifitas tinggi sebagaimana dijelaskan oleh Ballin (2010) dalam kajiannya mengenai metode molekuler untuk autentikasi pangan. Sebaliknya, nilai Ct pada channel ROX yang muncul pada rentang 18–22 pada seluruh sampel menunjukkan bahwa *internal control* bekerja secara optimal. ROX berfungsi sebagai *passive reference dye* yang menormalkan variasi sinyal fluoresensi dan memastikan stabilitas reaksi PCR. Munculnya nilai Ct ROX dalam rentang normal menunjukkan bahwa proses amplifikasi berjalan baik serta tidak terjadi inhibisi PCR. Pentingnya penggunaan kontrol internal dalam membedakan hasil negatif sejati dan kegagalan amplifikasi akibat inhibitor ditegaskan oleh Schrader et al. (2012), yang menjelaskan bahwa matriks pangan kompleks dapat mengandung senyawa penghambat PCR sehingga kontrol internal menjadi parameter validitas yang krusial.

Validitas pengujian juga diperkuat oleh kontrol negatif (NC) yang tidak menunjukkan amplifikasi FAM, sehingga menandakan tidak adanya kontaminasi silang, serta kontrol positif (PC) yang menunjukkan amplifikasi pada siklus yang sesuai. Konsep penggunaan kontrol positif dan negatif dalam qPCR untuk menjamin reliabilitas hasil telah direkomendasikan dalam studi autentikasi pangan oleh Kane dan Hellberg (2016). Selain itu, penggunaan sistem berbasis mikrofluida seperti *GeneChecker* UF-300 yang dikembangkan oleh Genesystem Co., Ltd. memungkinkan proses termal berlangsung cepat dan merata sehingga meningkatkan efisiensi serta sensitivitas deteksi pada sampel pangan olahan. Dengan demikian, kombinasi hasil Ct FAM yang tidak terdeteksi dan Ct ROX yang stabil dapat dinyatakan valid secara ilmiah serta mendukung kesimpulan bahwa sampel tidak terkontaminasi DNA babi.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai deteksi kontaminan babi (*Sus scrofa domestica*) pada produk olahan daging menggunakan metode Real-Time PCR dengan alat *GeneChecker* UF-300, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut. Pertama, berdasarkan hasil pengujian menggunakan metode Real-Time PCR, seluruh sampel sosis yang dianalisis tidak menunjukkan adanya amplifikasi pada channel FAM yang merupakan indikator spesifik DNA babi (*Sus scrofa domestica*). Tidak munculnya nilai Ct FAM pada seluruh sampel menandakan bahwa tidak terdeteksi DNA babi dalam produk sosis yang beredar di Kota Medan. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa sampel yang diuji tidak terkontaminasi DNA babi.

Kedua, *GeneChecker* berbasis sistem Real-Time PCR menunjukkan efektivitas yang baik dalam mendeteksi kontaminan babi. Hal ini dibuktikan dengan berfungsinya internal control (ROX) yang muncul pada rentang Ct normal ($\pm 18-22$), serta kontrol positif yang menunjukkan amplifikasi sesuai target. Tidak adanya sinyal pada kontrol negatif juga menunjukkan tidak terjadi kontaminasi silang. Sistem berbasis chip pada *GeneChecker* UF-300 yang dikembangkan oleh Genesystem Co., Ltd. memungkinkan proses amplifikasi berlangsung cepat, sensitif, dan akurat. Dengan demikian, DNA Reader terbukti efektif dan andal dalam mendeteksi keberadaan DNA babi pada produk olahan sosis.

Ketiga, hasil penelitian ini memberikan implikasi positif terhadap pengawasan regulasi pangan dan sertifikasi halal di Kota Medan. Tidak ditemukannya DNA babi pada sampel sosis menunjukkan bahwa produk yang diuji memenuhi aspek kehalalan dari sisi molekuler. Temuan ini dapat mendukung upaya penguatan sistem pengawasan berbasis laboratorium serta menjadi bukti ilmiah dalam proses verifikasi dan sertifikasi halal. Selain itu, penggunaan metode Real-Time PCR sebagai alat autentikasi spesies dapat meningkatkan kepercayaan masyarakat terhadap keamanan dan kehalalan produk pangan yang beredar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulmawjood, A., Grabowski, N. T., Fohler, S., & Klein, G. (2014). Species identification and quantification in meat and meat products using real-time PCR. *Food Analytical Methods*, 7(4), 993–1004. <https://doi.org/10.1007/s12161-013-9738-5>
- Ali, M. E., Hashim, U., Dhahi, T. S., Mustafa, S., Che Man, Y. B., & Kashif, M. (2012). Swine-specific PCR-RFLP assay targeting mitochondrial cytochrome b gene for meat authentication. *Meat Science*, 91(2), 160–165. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.017>
- Arya, M., Shergill, I. S., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., & Patel, H. R. H. (2005). Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 5(2), 209–219. <https://doi.org/10.1586/14737159.5.2.209>

- Ballin, N. Z. (2010). Authentication of meat and meat products. *Meat Science*, 86(3), 577–587. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.001>
- Ballin, N. Z., & Laursen, K. H. (2019). To target or not to target? Definitions and nomenclature for targeted versus non-targeted analytical food authentication. *Trends in Food Science and Technology*, 86, 537–543. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.025>
- BPJPH (Badan Penyelenggara Jaminan Produk Halal). (2023). *Laporan tahunan pengawasan produk halal di Indonesia*. Kementerian Agama Republik Indonesia.
- Cai, Y., Han, J., & Xue, Y. (2017). Sensitive and rapid detection of porcine DNA in processed meat products by real-time quantitative PCR. *Food Control*, 73, 1280–1286. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.004>
- Kane, D. E., & Hellberg, R. S. (2016). Rapid detection of horse and pork DNA in commercial meat products using real-time PCR. *Food Analytical Methods*, 9(3), 707–714. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0248-4>
- Kesmen, Z., Sahin, F., & Yetim, H. (2009). PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages. *Meat Science*, 82(4), 444–449.
- Lestari, D. A., Wibowo, H., & Setiawan, H. (2021). Aplikasi PCR dalam deteksi DNA daging babi pada produk olahan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 9(1), 12–19.
- Mafra, I., Ferreira, I. M. P. L. V. O., & Oliveira, M. B. P. P. (2008). Food authentication by PCR-based methods. *European Food Research and Technology*, 227(3), 649–665. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0782-x>
- Mahmoud, S. A., et al. (2021). Evaluation of seven different rapid methods for nucleic acid amplification, including *GeneChecker* UF-300 real-time PCR system. *medRxiv*.
- Maryam, S., Sismindari, Raharjo, T. J., & Sudjadi. (2015). Determination of porcine laboratory contamination in jerky using mitochondrial D-Loop686 and CYT b gene primers by real-time polymerase chain reaction. *International Journal of Food Properties*, 18(10), 2160–2172.
- Rohman, A., & Che Man, Y. B. (2012). Analysis of pig derivatives for halal authentication studies. *Food Reviews International*, 28(2), 97–112. <https://doi.org/10.1080/87559129.2011.595862>
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & Johne, R. (2012). PCR inhibitors – occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x>
- Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2010a). A PCR assay to detect porcine DNA in processed poultry meat products. *Meat Science*, 86(3), 717–720. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.015>
- Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P. P., & Mafra, I. (2010b). A SYBR Green real-time PCR assay to detect and quantify pork meat in processed food

products. *Meat Science*, 86(3), 794–800.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.003>