DUKUNGAN METROLOGI UNTUK METODE DETEKSI TERKINI KANDUNGAN DAGING BABI DALAM RANGKA JAMINAN PRODUK HALAL

Metrological Support For Advanced Detection Methods Of Porcine In Halal Product Assurance

Widia Citra Anggundari¹, Auraga Dewantoro², Umi Nuraeni³, Bambang Prasetya⁴, dan Yopi⁵

^{1,2,3,4,5}Badan Standardisasi Nasional
Kompleks PUSPIPTEK Gedung 420-430, Kota Tangerang Selatan, Banten 15314
E-mail: widiacitra@bsn.go.id

Abstrak

Kewajiban mengonsumsi makanan halal bagi umat muslim telah didukung dengan adanya Undang-Undang No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal. Dalam UU tersebut menjelaskan bahwa semua produk yang masuk, beredar dan diperdagangkan di Indonesia harus tersertifikasi halal. Adanya UU tersebut diharapkan dapat menjamin produk makanan dari pencampuran menggunakan daging babi. Berbagai metode analisis kandungan daging babi dalam pangan telah banyak dikembangkan diantaranya adalah PCR, FTIR, LC-MS dan GC. Penggunaan metode tersebut disesuaikan dengan komponen yang akan dianalisis. Metode analisis yang banyak digunakan dalam analisis kandungan daging babi dalam pangan adalah PCR dan metode PCR yang potensial digunakan sebagai analisis rutin dimasa yang akan datang adalah ddPCR. Penggunaan ddPCR dapat langsung dikaitkan dengan copy number dari DNANYa sehingga hasil analisis yang diperoleh dapat lebih akurat, dan memiliki sensitivitas serta spesifisitas yang tinggi. Ketertelusuran dan hasil analisis yang baik dari metode tersebut didukung oleh peran dari metrologi. Metrologi memberikan dukungan terkait dengan kemampuan alat, konfirmasi metode dan penggunaan bahan acuan. Kemampuan alat yang baik, metode yang sesuai dan penggunaan bahan acuan yang tertelusur akan memberikan jaminan hasil analisis yang baik. Kemampuan laboratorium terkait hal tersebut berbeda-beda sehingga adanya uji profisiensi diharapkan dapat melihat kemampuan laboratorium dalam menganalisis kandungan daging babi dalam pangan.

Kata Kunci: daging babi, ddPCR, halal, metode, metrologi

Abstrak

The obligation to consume halal food for Muslims has been supported by the existence of Law no. 33 of 2014 concerning Halal Product Guarantee. The law states that all products that enter, circulate and trade in Indonesia must be certified halal. The existence of this law is expected to guarantee food products from mixing using porcine. Various methods of analyzing pork content in food have been developed, including PCR, FTIR, LC-MS and GC. The use of this method is adjusted to the components to be analyzed. The analytical method that is widely used in the analysis of porcine content in food is PCR and the potential PCR method used as routine analysis in the future is ddPCR. The use of ddPCR can be directly linked to the copy number of the DNA so that the analysis results obtained can be more accurate, and has high sensitivity and specificity. The traceability and good analysis results of the method are supported by the role of metrology. Metrology provides support related to instrument capability, confirmation of methods and use of reference materials. Good instrumentation, appropriate methods and use of traceable reference materials will guarantee good analysis results. The ability of the laboratory in this regard varies so that the proficiency test is expected to be able to see the laboratory's ability to analyze the content of porcine in food.

Keywords: porcine, ddPCR, halal, method, metrology

1. PENDAHULUAN

Setiap muslim diwajibkan untuk mengonsumsi makanan yang halal, baik ditinjau dari proses pembuatannya maupun dari bahan bakunya. Kewajiban tersebut didukung juga dengan adanya Undang-Undang No. 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal (JPH). Pada Pasal 4 dalam Undang-Undang Jaminan Produk Halal dijelaskan bahwa produk yang masuk,

beredar, dan diperdagangkan di wilayah Indonesia wajib bersertifikat halal. Adanya UU JPH diharapkan dapat menjamin kehalalan dari produk yang beredar di Indonesia, karena saat ini banyak produk yang beredar mengalami pencampuran daging babi dengan alasan lebih ekonomis dan menguntungkan. Tentunya hal tersebut bertentangan dengan konsep halal. Salah satu konsep halal adalah tidak mengandung sedikitpun “lard” atau lemak

pangan atau bahan lainnya yang berasal dari babi. Adanya kandungan babi walaupun dalam jumlah yang sedikit akan membuat makanan tersebut menjadi haram hukumnya untuk dikonsumsi (Hilda, 2015). Sesuai dengan yang terdapat dalam UU JPH Pasal 17 dan Pasal 18 menjelaskan bahwa bahan yang berasal dari hewan pada dasarnya halal kecuali yang diharamkan menurut syariat meliputi bangkai, darah, babi dan atau hewan yang disembelih tidak sesuai dengan syariat. Aturan tersebut menegaskan bahwa adanya pencampuran daging babi menyebabkan makanan tersebut haram untuk dikonsumsi.

Adanya komponen bahan makanan yang mengandung babi dapat diidentifikasi melalui lemak, protein maupun DNANYa. Dalam penentuannya, diperlukan suatu metode analisis yang tepat untuk mengetahui dan membedakan produk olahan bahan pangan yang berasal dari daging sapi dan daging babi. Berbagai metode telah banyak dikembangkan untuk melakukan analisis kandungan daging babi dalam produk pangan. Beberapa metode yang digunakan saat ini adalah *real-time* PCR (q-PCR) dan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Cahyaningsari et al., 2019), analisis kandungan daging babi pada cytochrom b dengan metode *Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) (Erwanto et al., 2012), kombinasi Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Principal Component Analysis (PCA) (Zilhadia et al., 2018), polarisasi transmisi (Putri et al., 2017), *liquid chromatography-mass spectrometry* (LC-MS) (Kleinnijenhuis et al., 2018), *Gas Chromatography* (GC) dan *FTIR second derivative* (2D) (Prabawati & Fajriati, 2018).

Setiap metode yang digunakan untuk menganalisis kandungan daging babi memiliki tingkat akurasi, sensitivitas dan spesifisitas yang berbeda-beda. Daging babi yang telah diolah menjadi produk turunannya membutuhkan metode analisis yang lebih baik lagi dengan hasil yang terjamin ketertelusurannya, sehingga dibutuhkan suatu metode deteksi canggih untuk menganalisis kandungan daging babi dengan hasil yang baik.

Jaminan atas hasil analisis didukung oleh kemampuan alat yang baik dalam melakukan analisis dan metode yang sesuai. Metode analisis yang digunakan di suatu laboratorium harus terlebih dahulu dilakukan konfirmasi terhadap kemampuan laboratoriumnya dapat berupa validasi atau verifikasi metode, dan uji profisiensi untuk melihat kemampuan suatu laboratorium dan membandingkan hasilnya dengan laboratorium lainnya. Uji profisiensi memungkinkan laboratorium untuk memonitor

hasil analisisnya dari waktu ke waktu. Uji profisiensi bertujuan menyediakan perangkat jaminan mutu bagi laboratorium-laboratorium dalam membandingkan kinerjanya terhadap laboratorium lainnya yang sejenis sehingga apabila terdapat ketidaksesuaian maka dapat diambil langkah yang sesuai untuk memperbaikannya.

Dari berbagai metode analisis yang telah banyak dikembangkan untuk mendeteksi kandungan daging babi, metode ddPCR dinilai potensial sebagai metode analisis rutin dimasa yang akan datang karena dapat memberikan hasil analisis yang baik. Jaminan hasil analisis didukung dengan adanya peran metrologi. Kajian literature ini bertujuan untuk menganalisis dukungan metrologi dalam analisis terkini kandungan daging babi dalam rangka jaminan produk halal.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Halal

Halal merujuk pada makanan atau produk-produk yang boleh dikonsumsi oleh umat muslim. Pangan halal adalah pangan yang tidak mengandung bahan yang haram atau bahan yang dilarang dikonsumsi oleh umat muslim, baik berupa pangan segar, bahan tambahan pangan, bahan bantu atau penolong lainnya termasuk bahan pangan yang diolah melalui proses rekayasa genetika dan iradiasi pangan, dan termasuk yang pengelolaannya dilakukan sesuai dengan ketentuan hukum agama Islam (Ardilla et al. 2018). Adapun menurut Majelis Ulama Indonesia, produk halal adalah produk yang memenuhi persyaratan halal sesuai dengan syariat Islam, yaitu (1) tidak mengandung babi dan bahan yang berasal dari babi; (2) tidak mengandung bahan-bahan yang diharamkan seperti bahan-bahan yang berasal dari organ manusia, darah, kotoran-kotoran dan sebagainya; (3) semua bahan yang berasal dari hewan halal yang disembelih menurut tata cara syariat Islam; (4) semua tempat penyimpanan, tempat penjualan, pengolahan, tempat pengelolaan, dan transportasinya tidak boleh digunakan untuk babi, jika digunakan untuk babi atau barang yang tidak halal lainnya terlebih dahulu harus dibersihkan dengan tata cara yang diatur sesuai syariat Islam; (5) semua makanan dan minuman yang tidak mengandung khamar. Pengertian mengenai haramnya suatu makanan dijelaskan oleh Zulaekah et al. (2005), makanan yang dilarang diklasifikasikan kedalam empat jenis yaitu bangkai, babi dan turunannya, alkohol dan turunannya serta darah dan turunannya. Selain itu, makanan yang terkontaminasi dari empat jenis bahan tersebut juga haram untuk dikonsumsi.

Konsep halal dan *thayyiban* dalam menetapkan standar kualitas untuk makanan saat ini dikenal dengan Sistem Jaminan Halal (SJH). SJH banyak dikembangkan oleh negara-negara yang berpenduduk mayoritas muslim. Hal utama sebagai pembeda SJH dengan sistem kualitas lain adalah titik tolak dari sistem kualitas itu sendiri. Dalam SJH, kualitas halal ditentukan oleh ajaran dalam agama Islam sedangkan sistem kualitas konvensional lainnya ditentukan berdasarkan pada *consensus* manusia (Prabowo & Rahman, 2016)

2.2 Produk Babi dan Turunannya

Bagian dari tubuh babi yang banyak digunakan adalah daging. Daging babi banyak digunakan dalam pencampuran dengan daging sapi, tetapi pencampuran daging tersebut haram dikonsumsi oleh umat muslim. Selain daging babi, lemak babi juga banyak digunakan dalam industri makanan dan kosmetika. Lemak babi mempunyai karakteristik yang lembut dan juga padat pada suhu kamar. Lemak babi meleleh sempurna pada suhu 42 °C dan semi padat pada suhu 27 °C. Pada lemak babi, kandungan asam lemak tak jenuh paling banyak adalah asam oleat dan kandungan asam lemak jenuh paling banyak adalah asam palmitat. Lemak babi yang telah diolah dapat menghasilkan *lard* stearin, *refined lard*, atau *hydrogenated lard*. Lemak babi biasanya dipakai juga sebagai *skin conditioning agent* dan peningkat viskositas (Syakri, 2019).

2.3 Metode Analisis

Berbagai metode analisis kandungan babi telah banyak dilakukan, dapat berupa analisis lemak, protein dan DNA-nya. Analisis lemak pada sapi dan lemak babi dapat dilakukan menggunakan *Gas Chromatography* (GC) dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) *second derivative* (2D) (Prabawati & Fajriati, 2018). Karakteristik lemak babi dan sapi juga dilaporkan telah dilakukan oleh Buana & Fajriati (2019) dan oleh Islami et. al. (2019). Analisis kandungan babi dalam bentuk gelatin hewan dapat menggunakan metode *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) (Kleinnijenhuis et al., 2018), sama halnya yang dilaporkan oleh Salamah et. al (2019) mengenai perbedaan gelatin sapi and babi menggunakan LC-MS/MS dan bantuan kemometrika.

Analisis kandungan babi lebih spesifik mengenai DNA nya dapat menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan berbagai jenis PCR, mulai dari PCR konvensional hingga digital. Analisis kandungan daging babi menggunakan qPCR terbatas pada efisiensi amplifikasi dan bergantung pada kurva

standar berdasarkan nilai Ct (*cycle threshold*), serta pendeteksian dan pengukuran nomor salinan (*copy number*) DNA target. Penggunaan metode terkini dPCR telah dicobakan pada daging babi dan ayam dengan hasil yang tepat dalam mengukur kandungan daging babi dan ayam (Cai et al., 2017).

2.4 Metrologi

Metrologi merupakan suatu ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan pengukuran dan berperan penting dalam kehidupan sehari-hari seperti di bidang industri, perdagangan, lingkungan, kedokteran, dan lain sebagainya (Dobiliene & Meskuotiene, 2018). Metrologi adalah ilmu pengukuran yang mencakup ilmu eksperimental dan teoritis pada setiap tingkat ketidakpastian dalam bidang ilmu pengetahuan dan teknologi (BIPM 2004). Metrologi mencakup tiga kegiatan utama, yaitu definisi satuan ukuran yang dapat diterima secara Internasional, realisasi pengukuran dengan metode ilmiah dan pembentukan rantai ketertelusuran. Ketertelusuran merupakan rantai penelusuran untuk memastikan hasil pengukuran atau nilai suatu standar sesuai dengan standar pada tingkat yang lebih tinggi. Dalam bidang kimia dan biologi, ketertelusuran dikaitkan dengan penggunaan CRM dan metode standar tertentu. (Howarth & Redgrave, 2003).

3. METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah studi literatur berdasarkan data sekunder yang berasal dari jurnal, buku, prosiding, dan kepastakaan lainnya. Sebagai ulasan akan dibahas perbandingan beberapa metode yang digunakan dalam analisis kandungan daging babi dan metode terkini yang dinilai potensial sebagai analisis rutin kandungan daging babi dimasa yang akan datang yaitu metode ddPCR dan peran metrologi dalam mendukung hal tersebut. Dukungan metrologi yang akan dibahas lebih spesifik pada metode analisisnya. Data diperoleh dari perbandingan beberapa metode yang telah dilakukan dalam melakukan analisis kandungan daging babi.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Metode Analisis Kandungan Babi

Cemaran daging babi dalam pangan, membutuhkan suatu metode analisis. Berbagai metode dikembangkan dengan produk asal yang berbeda-beda. Analisis kandungan daging babi berdasarkan asam lemaknya dapat menggunakan GC dan FTIR. Dilaporkan oleh

Prabawati & Fajriati (2018), analisis asam lemak menggunakan GC didapatkan bahwa kandungan asam lemak jenuh (asam palmitat dan asam okta-dekanoat) pada lemak sapi lebih banyak daripada asam lemak jenuh pada lemak babi, tetapi kandungan asam lemak tak jenuh (asam oleat, linoleat dan asam linolenat) pada lemak babi lebih tinggi daripada lemak sapi. Hasil tersebut didukung juga dengan spectra FIR, yaitu pada lemak babi terdapat serapan pada bilangan gelombang 3000-3010 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur dari ikatan rangkap $\text{C}=\text{CH}$ cis tetapi tidak nampak serapan pada bilangan gelombang tersebut pada profil lemak sapi. Selain untuk analisis lemak, FTIR juga dapat menganalisis kandungan protein babi dalam bentuk gelatin secara kualitatif. Metode kombinasi FTIR dan PCA dapat membedakan gelatin sapi dan gelatin babi yang diekstraksi dari *gummy* vitamin C (Zilhadia et al., 2018). Analisis gelatin babi dapat juga dilakukan menggunakan LC-MS. Sebuah metode analisis dikembangkan oleh Kleinnijenhuis et al (2018) dan dilaporkan bahwa

metode yang divalidasi ternyata cocok untuk mendeteksi kandungan gelatin babi dengan batas deteksi yang rendah yaitu sebesar 0.05%.

Metode analisis kandungan daging babi yang banyak digunakan saat ini adalah PCR, baik PCR secara kualitatif maupun secara kuantitatif tetapi metode yang lebih mutakhir saat ini adalah ddPCR. Metode ini dinilai sebagai metode yang potensial dalam melakukan analisis kandungan daging babi karena memiliki akurasi, sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Pada metode ddPCR, setiap campuran reaksinya akan dipartisi menjadi ukuran 20.000 nanoliter droplet (Cai et al., 2014). Setiap mikrodroplet yang berukuran nano tersebut diuji untuk mengkuantifikasi asam nukleat pada target. Jumlah asam nukleat pada target dapat dihitung dengan statistika menggunakan distribusi poisson dan rasio partisi positif terhadap total (Hindson et al., 2013). Beberapa kelebihan dan kekurangan berbagai metode analisis kandungan daging babi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan berbagai metode analisis kandungan daging babi

Metode	Zat	Kelebihan	Kekurangan
dd- PCR	DNA	sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi tinggi, yang dapat dikaitkan langsung dengan rasio <i>copy number</i> fraksi massa DNA tanpa kurva kalibrasi	amplitudo fluoresensi dan suhu anil (<i>annealing</i>) masih perlu dioptimalkan untuk pemisahan yang lebih baik, biaya analisa tinggi
LC-MS	gelatin/protein	selektivitas tinggi dengan limit deteksi yang rendah	Biaya analisa yang tinggi
FTIR	gelatin/protein, lemak	analisisnya handal, cepat, murah dan pengerjaannya relatif sederhana.	tidak dapat mengidentifikasi jenis dan kandungan komponen asam lemak secara pasti, membutuhkan kemometrika
GC	lemak	dapat menguji kemurnian, mengidentifikasi suatu kompleks, waktu analisis yang cepat	terbatas pada senyawa volatil

(Sumber: hasil olahan data peneliti)

Berdasarkan Tabel 1, setiap metode analisa kandungan daging babi memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Metode ddPCR memiliki sensitivitas, spesifisitas dan akurasi yang tinggi karena terkait langsung dengan *copy number* suatu DNA nya, tetapi suhu *annealing* masih perlu diperhatikan untuk mendapatkan pemisahan yang lebih baik lagi. Metode ddPCR ini dinilai menjadi metode terkini yang potensial digunakan dimasa yang akan datang sebagai metode rutin dalam analisa kandungan daging babi dalam pangan.

4.2 Metode Analisa Tekini (ddPCR) dengan Pendekatan Metrologi

Dukungan metrologi dalam suatu metode analisa terkait dengan pemastian jaminan hasil analisa. Adanya metrologi membantu menghasilkan pengukuran dengan akurasi yang tinggi dan ketidakpastian yang rendah. Dalam praktiknya, terdapat banyak kemungkinan sumber ketidakpastian dalam suatu pengukuran yang meliputi serangkaian proses analisa berupa penggunaan alat ukur (penimbangan, pemipetan); pengambilan sampel yang tidak representatif artinya sampel yang diambil tidak mewakili ukuran yang ditentukan; pengetahuan yang tidak memadai tentang pengaruh kondisi lingkungan pada pengukuran atau pengukuran

kondisi lingkungan yang tidak sempurna; resolusi instrumen; serta nilai yang tidak tepat dari standar pengukuran dan bahan referensi dan lain-lain. Sumber-sumber ketidakpastian tersebut akan berdampak pada hasil analisa.

Ketidakpastian pengukuran akan selalu terdapat dalam suatu metode analisa, tetapi hal tersebut dapat diminimalisir untuk menghasilkan pengukuran dengan akurasi yang tinggi. Akurasi yang tinggi juga dibutuhkan juga dalam bidang yang banyak berhubungan dengan kuantifikasi protein, DNA, sel dan mikroorganisme. Kuantisasi dari ketiganya banyak dilakukan dalam perkembangan ilmu biologi modern dengan menggunakan berbagai metode pengujian dan instrumentasi dengan teknologi yang tinggi.

Salah satu metode instrumentasi deteksi analisis kandungan daging babi terkini dalam produk makanan adalah menggunakan *duplex droplet digital-Polymerase Chain Reaction* (ddPCR). Metode ddPCR dinilai memiliki kemampuan yang sangat spesifik untuk mendeteksi kandungan babi dalam produk pangan olahan dibandingkan dengan metode lainnya (Andriyani et al. 2019). Sistem deteksi pada sampel daging babi dan daging sapi tidak menunjukkan adanya *cross reaction* dengan spesies lain. Hal tersebut mengindikasikan bahwa metode ini dapat diandalkan untuk mengidentifikasi material daging babi dan sapi dalam produk campuran daging dan mengindikasikan bahwa kombinasi primernya dapat digunakan secara spesifik (Cai et al., 2014)

Menurut Andiyani et al. (2019), sistem deteksi dan kuantifikasi DNA menggunakan metode ddPCR cocok digunakan untuk analisis rutin dan kontrol kualitas sehingga dapat dijadikan pertimbangan untuk pengembangan metode penelitian kandungan babi pada produk olahan pangan secara efektif dan efisien dimasa yang akan datang.

Dalam suatu pengujian, memerlukan suatu pemastian terhadap analisa yang dihasilkan. Pemastian jaminan tersebut akan terkontrol dengan adanya suatu kegiatan penjaminan dapat berupa kalibrasi, validasi atau verifikasi. Tujuan dari kalibrasi suatu instrumen adalah untuk memastikan bahwa instrumen telah memenuhi suatu persyaratan regulasi sehingga diharapkan dapat memberikan hasil pengukuran yang andal selama periode waktu tertentu (Dobilien & Meskuotiene, 2018). Kalibrasi menentukan karakteristik kinerja instrumen atau bahan referensi. Hal ini dapat dicapai melalui perbandingan langsung dengan standar pengukuran atau bahan referensi bersertifikat.

Kalibrasi berguna untuk memastikan pembacaan dari instrumen konsisten dengan pengukuran lainnya, untuk menetapkan keandalan suatu instrument dan untuk mengetahui keakuratannya (Howarth & Redgrave, 2003).

4.3 Konfirmasi Metode

Sebelum suatu metode dijadikan metode rutin dalam suatu pengujian, maka dibutuhkan validasi metode. Validasi metode dilakukan untuk membuktikan bahwa metode telah sesuai dengan tujuan dan untuk memastikan bahwa hasil analisis adalah andal. Beberapa parameter dan serangkaian proses validasi ialah selektivitas, rentang konsentrasi, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ), akurasi, presisi, kekokohan (robustness), ketidakpastian pengukuran dan lain-lain (Deprez et. al 2016). Validasi memberikan gambaran tentang kapabilitas dan batasan proses atau metode dalam penggunaannya (Dobilien & Meskuotiene, 2018). Beberapa parameter metode pengukuran daging babi menggunakan ddPCR terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Berbagai sensitivitas pengukuran daging babi menggunakan ddPCR

Spesifisitas	LOD	LOQ	Sumber
tidak ada reaksi silang	0.1 ng/μL	0.5 ng/μL	(Cai et al., 2014)
-	0.01 w/w	0.1 w/w	(Temisak et al., 2020)
-	0.001 w/w	0.01 w/w	(Floren et al., 2015)
tidak ada reaksi silang	-	0.0025% DNA (0.05% sampel)	(Shehata et al., 2017)

Beberapa metode memiliki karakteristik parameter yang berbeda dalam melakukan suatu pengujian, termasuk dalam analisa kandungan daging babi dalam pangan. Metode yang sensitif dibutuhkan untuk mengetahui kandungan daging babi walaupun dengan kandungan yang sangat rendah. Sensitivitas suatu metode dapat dinyatakan dalam batas deteksi (LOD) dan nilai batas kuantifikasi (LOQ). Nilai batas deteksi merupakan konsentrasi terendah yang dapat dideteksi dengan tingkat kepercayaan yang ditentukan, sedangkan nilai batas kuantifikasi merupakan konsentrasi terendah yang diperoleh selama metode yang digunakan masih dapat memberikan hasil dengan ketidakpastian yang dapat diterima.

Cai *et al.* (2017) telah melakukan deteksi dan kuantisasi kandungan babi dalam produk daging dan mendapatkan nilai batas deteksi (LOD) sebesar 0.1 ng/ μ L dan nilai batas kuantisasi (LOQ) sebesar 0.5 ng/ μ L. Nilai tersebut merupakan nilai yang cukup rendah untuk dapat mendeteksi kandungan daging babi dalam produk daging serta metode yang digunakan pun memiliki spesifisitas yang tinggi. Hal tersebut dicirikan dengan tidak terjadinya reaksi silang berdasarkan hasil analisa. Sensitivitas metode yang digunakan lebih tinggi pada penelitian yang telah ada dilaporkan dengan nilai LOD 0.001 w/w dan nilai LOQ sebesar 0.01% (Floren *et al.*, 2015). Sensitivitas dan spesivitas yang tinggi dibutuhkan dalam suatu metode analisa, agar menghasilkan pengukuran yang baik dan dapat mengukur dalam konsentrasi yang rendah. Akurasi yang baik juga disampaikan oleh Ren *et al.*, (2017), bahwa metode ddPCR lebih akurat (bias kurang dari 9%) dibandingkan dengan RT-PCR yang telah banyak digunakan dalam analisa kandungan daging babi. Selain itu, perbedaan bagian daging juga tidak berpengaruh pada keakuratan kuantifikasi metode ddPCR.

Dalam penggunaan metode ddPCR, variabilitas volume tetesan juga menjadi faktor penting yang mempengaruhi akurasi, volume tetesan yang tidak akurat akan menjadi sumber bias atau sumber ketidakpastian yang mempengaruhi nomor salinan DNA yang diukur menggunakan ddPCR sehingga volume tetesan juga perlu diperhatikan (Kořir *et al.*, 2017).

4.4 Bahan Acuan (*Reference Material*)

Ketertelusuran dalam bidang metrologi akan memastikan bahwa hasil pengukuran atau nilai standar terkait dengan referensi di tingkat yang lebih tinggi. Dalam kimia dan biologi ketertelusuran sering kali dibuat dengan menggunakan *Certified Reference Material* (CRM) dan metode standar. Menurut SNI ISO Guide 30-2015, CRM merupakan *reference material* (RM) atau bahan acuan yang dikarakterisasi menggunakan prosedur yang valid secara metrologi untuk satu atau lebih nilai yang ditentukan disertai dengan sertifikat yang menyatakan mengenai nilai yang ditentukan, ketidakpastiannya dan pernyataan ketertelusuran metrologinya.

Penggunaan *reference material* atau bahan acuan penting dalam bidang metrologi. Validasi metode ddPCR untuk kuantifikasi salinan konsentrasi DNA dilakukan menggunakan CRM (Deprez *et al.*, 2016). Selain dapat digunakan untuk analisa, ddPCR juga dapat digunakan untuk membuat CRM DNA. Metode ddPCR dapat digunakan untuk

menentukan nilai dari CRM DNA dengan ketertelusuran ke Sistem internasional (Pinheiro *et al.*, 2017). Metode ddPCR tidak membutuhkan kalibrator eksternal untuk mengukur jumlah salinan absolut dan relatif dari DNA target (Dong *et al.*, 2015).

4.5 Kemampuan Laboratorium Uji-Uji Profisiensi

Metode standar merupakan suatu prosedur pengujian, pengukuran atau analisis, dikarakterisasi secara menyeluruh dan terbukti terkendali, Metode standar juga dapat digunakan untuk untuk penilaian kualitas dari suatu prosedur. Ketidakpastian hasil metode standar harus diestimasi secara memadai dan sesuai untuk tujuan penggunaannya. Hal tersebut dapat dilakukan untuk memvalidasi pengukuran atau prosedur pengujian lainnya dan untuk menentukan ketidakpastiannya, juga dapat digunakan untuk menentukan nilai referensi dari suatu bahan (Howarth & Redgrave, 2003)

Kebutuhan terhadap metode standar menjadi hal yang penting. *International Organization for Standardization* (ISO) telah mengeluarkan standar ISO/TS 22224-3:2020 terkait dengan metode deteksi porcine menggunakan RT-PCR pada makanan dan pakan. Sebelum standar tersebut digunakan sebagai metode standar dalam analisis porcine pada makanan dan pakan, dibutuhkan suatu konfirmasi mengenai kemampuan berbagai laboratorium yang ada di Indonesia. Kemampuan laboratorium akan tercermin melalui hasil uji profisiensi. Saat ini, Direktorat Satuan Nasional Satuan Ukuran (SNSU) Mekanika, Radiasi dan Biologi Badan Standardisasi Nasional sedang akan melakukan uji profisiensi yang diikuti oleh beberapa laboratorium di Indonesia. Diharapkan hasil dari uji profisiensi ini dapat menggambarkan kemampuan laboratorium uji dan mendapatkan metode standar analisis porcine yang dapat digunakan sesuai kemampuan laboratorium dengan mengacu pada standar ISO/TS 22224:3-2020.

5 KESIMPULAN

Berbagai metode analisa kandungan daging babi telah banyak dikembangkan. Metode ddPCR dinilai menjadi metode yang potensial dan cocok digunakan untuk analisis kandungan daging babi karena dengan penggunaan metode tersebut dapat mengkuantifikasi DNA dalam sampel dengan, sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Metrologi memberikan dukungan dalam metode analisa tersebut. Peran metrologi dalam hal ketertelusuran dan kepastian jaminan hasil analisa terkait dengan kemampuan alat,

konfirmasi metode dan penggunaan bahan acuan. Mendukung hal tersebut, kemampuan laboratorium dalam menjamin hasil analisa yang baik akan tercermin berdasarkan hasil uji profisiensi antar laboratorium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusrisbang SDM BSN yang telah memfasilitasi kajian pustaka ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan peneliti Pusrisbang SDM yang telah memberikan masukan, saran, koreksi dan ilmu yang sangat bermanfaat sehingga artikel ini dapat tersusun dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Buana, D. L., & Fajriati, I. (2019). Karakteristik lemak sapi dan lemak babi dalam bakso menggunakan FTIR Spektrofotometer. *Indonesia Journal of Halal*. 2(1), 15-22.
- Cahyaningsari, D., Latif, H., & Sudarnika, E. (2019). *Identifikasi Penambahan Daging Babi pada Pangan Berbahan Dasar Daging Sapi Menggunakan ELISA dan qPCR*. 7(2), 17–25.
- Cai, Y., He, Y., Lv, R., Chen, H., Wang, Q., & Pan, L. (2017). Detection and quantification of beef and pork materials in meat products by duplex droplet digital PCR. *PLoS ONE*, 12(8), 112. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181949>
- Cai, Y., Li, X., Lv, R., Yang, J., Li, J., He, Y., & Pan, L. (2014). Quantitative Analysis of Pork and Chicken Products by Droplet Digital PCR. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/810209>
- Deprez, L., Corbisier, P., Kortekaas, A. M., Mazoua, S., Beaz Hidalgo, R., Trapmann, S., & Emons, H. (2016). Validation of a digital PCR method for quantification of DNA copy number concentrations by using a certified reference material. *Biomolecular Detection and Quantification*, 9, 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2016.08.002>
- Dobilienė, J., & Meskuotienė, A. (2018). Metrology in industry. The mean of “validation” in different measurements. *Journal of Physics: Conf. Series* 1065, 0–4.
- Dong, L., Meng, Y., Sui, Z., Wang, J., Wu, L., & Fu, B. (2015). Comparison of four digital PCR platforms for accurate quantification of DNA copy number of a certified plasmid DNA reference material. *Scientific Reports*, 5(July). <https://doi.org/10.1038/srep13174>
- Erwanto, Y., Sugiyono, Rohman, A., Abidin, M. Z., & Ariyan, D. (2012). *Identifikasi Daging Babi Menggunakan Metode PCR-RFLP Gen Cytochrome b dan PCR Primer Spesifik Gen Amelogenin Pork Identification Using PCR-RFLP of Cytochrome b Gene and*. 32(4), 370–377.
- Floren, C., Wiedemann, I., Brenig, B., Schütz, E., & Beck, J. (2015). Species identification and quantification in meat and meat products using droplet digital PCR (ddPCR). *Food Chemistry*, 173, 1054–1058. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.138>
- Hilda, L. (2015). Pengaruh Harga Diskon Dan Persepsi Produk Terhadap Nilai Belanja Serta Perilaku Pembelian Konsumen. *Tazkir*, 7(9), 27–44.
- Hindson, C. M., Chevillet, J. R., Briggs, H. A., Gallichotte, E. N., Ruf, I. K., Hindson, B. J., Vessella, R. L., & Tewari, M. (2013). Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nature Methods*, 10(10), 1-6, <https://doi.org/10.1038/nmeth.2633>
- Howarth, P., & Redgrave, F. (2003). *Metrology – in short 2*.
- Islami, M. N., Fatahillah, R., Suriana, S., Wati, A., & Aini, S. k. (2019). Analisis lemak babi pada bakso menggunakan Spektrofotometer Fourirer Transform Infrared (FTIR). *Alkimia: Jurnal Ilmu Kimia Terapan*. 3(2), 75-58.
- Kleinnijenhuis, A. J., van Holthoon, F. L., & Herregods, G. (2018). Validation and theoretical justification of an LC-MS method for the animal species specific detection of gelatin. *Food Chemistry*, 243(September), 461467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.104>
- Košir, A. B., Divieto, C., Pavšič, J., Pavarelli, S., Dobnik, D., Dreo, T., Bellotti, R., Sassi, M. P., & Žel, J. (2017). Droplet volume variability as a critical factor for accuracy of absolute quantification using droplet

- digital PCR. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(28), 6689–6697. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0625-y>
- Pinheiro, L. B., Ó'Brien, H., Druce, J., Do, H., Kay, P., Daniels, M., You, J., Burke, D., Griffiths, K., & Emslie, K. R. (2017). Interlaboratory Reproducibility of Droplet Digital Polymerase Chain Reaction Using a New DNA Reference Material Format. *Analytical Chemistry*, 89(21), 11243–11251. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b05032>
- Prabawati, S. Y., & Fajriati, I. (2018). Analisis Lemak Sapi dan Lemak Babi Menggunakan Gas Chromatography (GC) dan Fourier Transform Infrared Spectroscopy Second Derivative (FTIR-2D) Untuk Autentifikasi Halal. *Indonesian Journal of Halal*, 89–96.
- Prabowo, S., & Rahman, A. A. (2016). Sertifikasi Halal Sektor Industri Pengolahan Hasil Pertanian Halal Certificate in the Agricultural Products Processing Industry. *Forum Penelitian Agro Ekonomi*, 34(1), 57–70.
- Putri, N. K., Firdausi, K. S., & Sugito, H. (2017). Metode polarisasi transmisi untuk deteksi cemaran lemak babi pada minyak goreng. 6(4), 348–352.
- Ren, J., Deng, T., Huang, W., Chen, Y., & Ge, Y. (2017). A digital PCR method for identifying and quantifying adulteration of meat species in raw and processed food. *PLoS ONE*, 12(3), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173577>
- Salamah, N., Erwanto, Y., Martono, S., Maulana, I., Rohman, A. (2019). Differentiation of bovine and porcine gelatines using LC-MS/MS and chemometrics. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 11(4), 159-163.
- Shehata, H. R., Li, J., Chen, S., Redda, H., Cheng, S., Tabujara, N., Li, H., Warriner, K., & Hanner, R. (2017). Droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) assays integrated with an internal control for quantification of bovine, porcine, chicken and turkey species in food and feed. *PLoS ONE*, 12(8), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182872>
- Temisak, S., Thangsunan, P., Boonil, J., Yenchum, W., Yata, T., Rios-solis, L., & Morris, P. (2020). Accurate determination of meat mass fractions using DNA measurements for quantifying meat adulteration. *BioRxiv*. <https://search.proquest.com/docview/2413256119?accountid=14795>
- Zilhadia, Kusumaningrum, F., & Betha, O. S. (2018). Diferensiasi Gelatin Sapi dan Gelatin Babi pada Gummy Vitamin C Menggunakan Metode Kombinasi Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR) dan Principal Component Analysis (PCA) Differentiation of Bovine and Porcine Gelatin Extracted from Vitamin. 5(2),90–96.
- Zulaekah, S., Yuli Kusumawati, Ilmu, F., Universitas, K., & Surakarta, M. (2005). Halal Dan Haram Makanan Dalam Islam. *Suhuf*, XVII(1), 25–35.