

Identifikasi DNA *porcine* pada bahan mahkota sementara, basis gigi tiruan dan *hydrocolloid irreversible* menggunakan *Real-Time PCR*

Hubban Nasution^{1*}, Ika Andryas¹

¹Departemen Prostodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara, Indonesia

*Korespondensi: hubban.nst@usu.ac.id

Submisi: 29 November 2021; Penerimaan: 30 Agustus 2022; Publikasi online: 30 Agustus 2022

DOI: [10.24198/jkg.v34i2.36859](https://doi.org/10.24198/jkg.v34i2.36859)

ABSTRAK

Pendahuluan: Banyak bahan kedokteran gigi yang beredar diimpor dari luar negeri dan dijual bebas di pasaran. Hal ini sempat menimbulkan kegelisahan bagi para muslim yang mencari perawatan gigi yang halal. Status halal bahan yang digunakan untuk perawatan gigi masih belum jelas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi DNA *porcine* pada bahan mahkota sementara, bahan basis gigi tiruan, dan bahan cetak *hydrocolloid irreversible* menggunakan *Real-Time PCR*. **Metode:** Jenis penelitian menggunakan penelitian deskriptif, metode *quota sampling* digunakan untuk pengambilan sampel. Tiga bahan mahkota sementara, tiga bahan basis gigi tiruan dan tiga bahan cetak *hydrocolloid irreversible* dengan merk yang berbeda digunakan sebagai sampel. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap. Pertama, ekstraksi DNA pada sampel dan kedua dilakukan analisis *Real-Time PCR* berdasarkan kurva amplifikasi dan skor Ct pada *channel yellow* dan *channel green*. **Hasil:** Analisis sampel berdasarkan *channel green* menunjukkan bahwa semua bahan tidak mengandung DNA *porcine*, tetapi empat dari sembilan sampel mengandung DNA vertebrata. **Simpulan:** Semua jenis bahan yang diuji tidak satupun yang mengandung DNA *porcine*.

Kata kunci: identifikasi DNA *porcine*; mahkota sementara; basis gigi tiruan; bahan cetak; *Real-Time PCR*

Identification of porcine DNA in temporary crown, denture base and impression materials using Real-Time PCR

ABSTRACT

Introduction: Most of dental materials circulates are imported from abroad and sold freely on the market. It cause an anxiety for Muslim community who looking for halal dental treatment. Halal status for dental treatments still unclear. This study aimed to identify porcine DNA in temporary crown, denture base, and hydrocolloid irreversible impression materials using Real-Time PCR. **Methods:** This research type is descriptive, quota sampling method was used for sampling. Three temporary crown materials, three denture base materials and three irreversible hydrocolloid impression materials were used as the specimens. This study was conducted in two stages. Extraction of DNA sample and Real-Time PCR analysis based on amplification curve and Ct score in yellow and green channel. **Results:** An analysis of samples based on green channel showed that all materials were not containing porcine DNA, but four out of nine samples were containing vertebrae DNA. **Conclusion:** All tested specimens were not containing porcine DNA.

Keywords: identification of porcine DNA; temporary crown; denture base; impression material; Real-Time PCR

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara berpenduduk Muslim terbesar di dunia di mana lebih dari 200 juta orang Indonesia adalah Muslim. Saat ini permintaan produk halal meningkat secara global tidak hanya untuk makanan dan minuman tetapi juga mencakup produk farmasi seperti vaksin, obat-obatan, dan bahan kedokteran gigi.¹

Respon positif mengenai masalah halal, terutama terkait makanan, obat-obatan, dan kosmetik telah dilakukan oleh pemerintah Indonesia dengan menerbitkan beberapa peraturan perundang-undangan, salah satunya adalah Undang-Undang Nomor 33 Tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal (UUPJH).^{2,3,4} Akan tetapi masih banyak makanan, minuman, obat-obatan, dan bahan kedokteran yang belum bersertifikat halal sehingga menimbulkan kecemasan bagi penduduk muslim.^{5,6,7}

Undang-Undang Jaminan Produk Halal (UUPJH) menggarisbawahi bahwa semua produk yang masuk, beredar, dan diperdagangkan di Indonesia harus memiliki sertifikat halal. Namun, peraturan tersebut dibuat secara parsial, tidak konsisten, tumpang tindih, dan tidak sistematis. Sehingga secara teknis tidak dapat ditegakkan sebagai perlindungan hukum yang kuat dan secara khusus mengikatkan kehalalan produk kepada produsen (pelaku usaha) dan memberikan jaminan kepada konsumen.^{2,3}

Hal tersebut berkontribusi pada tidak adanya jaminan kepastian hukum yang mengatur produk halal, padahal kebutuhan akan jaminan produk halal sangat mendesak, terutama menyangkut perlindungan pelanggan dan kancah perdagangan global. Beberapa produk mungkin mengandung produk non-halal tanpa terdaftar oleh produsen, tidak memiliki sertifikat halal, dan informasi yang tidak jelas tentang bahan produk.^{5,6} Status kehalalan bahan gigi yang diperdagangkan di Indonesia masih diragukan jika tidak ada jaminan dari produsen dengan logo halal.

Kemajuan teknologi di bidang analisis halal terus meningkat untuk mendeteksi bahan halal yang terkontaminasi bahan haram. Beberapa pengujian untuk membedakan berbagai kandungan *porcine* dalam suatu produk adalah dengan mengidentifikasi protein, lemak, dan asam deoksiribonukleat (DNA).^{8,9,10} Salah satu metode

yang biasa digunakan adalah dengan alat *Real-Time* PCR.

Keunggulan *Real-Time* PCR adalah sampel dapat dianalisis dalam jumlah kecil dan diproduksi secara cepat dan akurat. Asam deoksiribonukleat merupakan polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis, suatu molekul yang stabil dalam proses ekstraksi dan terdapat pada semua jenis sel hewan dengan informasi genetik yang identik.^{11,12,13} Analisis asam deoksiribonukleat dalam suatu produk dapat dilakukan menggunakan *Real-Time* PCR dengan amplifikasi DNA.^{14,15}

Tahun 2020, studi identifikasi gelatin *porcine* pada obat kumur menggunakan *Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (ATRFTIR) menunjukkan bahwa 15 dari 21 obat kumur yang digunakan di rumah sakit dan klinik gigi mengandung gelatin.¹⁶

Gelatin dalam produk bertindak sebagai pengemulsi dan ditambahkan dalam jumlah kecil.^{16,17,18} Pada penelitian tersebut tidak secara spesifik meneliti kandungan DNA *porcine*. Di tengah sedikitnya penelitian mengenai kandungan *porcine* di dalam bahan kedokteran gigi, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi DNA *porcine* pada bahan mahkota sementara, bahan basis gigi tiruan dan bahan cetak *hydrocolloid irreversible* menggunakan *Real-Time* PCR.

METODE

Jenis penelitian ini adalah deskriptif. Metode pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah metode *quota sampling*. Penelitian ini menggunakan kriteria inklusi yaitu bahan kedokteran gigi yang beredar di pasar Indonesia dengan kriteria eksklusi adalah bahan kedokteran gigi kadaluarsa dan terdapat logo halal. Penelitian dilakukan di Halal Science Center Institut Pertanian Bogor (IPB). Tiga bahan mahkota sementara, tiga bahan basis gigi tiruan, dan tiga bahan cetak *hydrocolloid irreversible* dengan merk yang berbeda digunakan sebagai sampel penelitian (Tabel 1).

Sampel dianalisis dengan *Real-Time* PCR tipe Rotor-Gene Q (Rotor-Gene Q D-40724, Qiagene, Hilden, Jerman). Prosesnya dibagi menjadi dua langkah. Pertama, ekstraksi DNA dan kedua analisis *Real-Time* PCR. Sebelum pengujian dilakukan, sampel dihaluskan, dan diekstraksi menggunakan EasyFast™ Extra Pharma I (Ph.

Tabel 1. Bahan kedokteran gigi yang digunakan dalam penelitian

Jenis	Negara produsen	Kode sampel
Bahan mahkota sementara 1	USA	FA-1
Bahan mahkota sementara 2	Korea	FA-2
Bahan mahkota sementara 3	USA	FA-3
Bahan basis gigi tiruan resin akrilik polimerisasi panas 1	Brazil	FrA-1
Bahan basis gigi tiruan resin akrilik polimerisasi panas 2	Japan	FrA-2
Bahan basis gigi tiruan resin akrilik polimerisasi panas 3	China	FrA-3
Bahan cetak <i>hydrocolloid irreversible</i> 1	Italy	HI-1
Bahan cetak <i>hydrocolloid irreversible</i> 2	Japan	HI-2
Bahan cetak <i>hydrocolloid irreversible</i> 3	USA	HI-3

Ext1, Progenus sa, Gembloux, Belgium). Hasil ekstraksi DNA dideteksi dengan menggunakan *Real-Time* PCR type Rotor-Gene Q. Ekstraksi DNA awal bertujuan untuk mendapatkan larutan DNA.

Larutan DNA dibuat dengan menambahkan *buffer* pada sampel pada suhu 65°C selama 10 menit dan menambahkan *precipitation buffer* (EFPig50, Progenus sa, Gembloux, Belgium) dalam es selama 5 menit, kemudian disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Setelah itu ditambahkan *binding buffer* dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm.

Larutan kemudian ditambahkan *elution buffer* dan dilakukan pemanasan awal pada suhu 65°C, setelah itu sampel diinkubasi pada suhu 65°C. Untuk tahap kedua, setelah larutan DNA diperoleh, analisis sampel dilakukan dengan pengulangan empat puluh siklus menggunakan *Real-Time* PCR dengan larutan MIX (EFPig50, Progenus sa, Gembloux, Belgium), *Nuclease free water/NFW* (EFPig50, Progenus sa, Gembloux, Belgia) sebagai kontrol negatif, *External Positive Control/EPC* (EFPig50, Progenus sa, Gembloux, Belgia) sebagai kontrol positif dengan suhu awal 95°C, diikuti suhu denaturasi 95°C, dan suhu *annealing* 60°C.

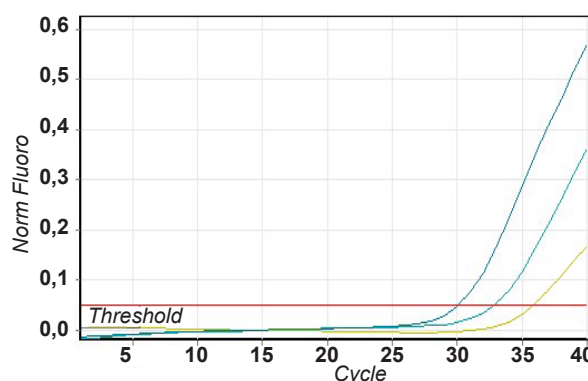
Analisis data kemudian dilakukan berdasarkan reporter VIC (*channel yellow*) untuk vertebrata dan reporter FAM (*channel green*) untuk *porcine*. *Channel yellow* untuk mendeteksi ada tidaknya DNA vertebrata pada sampel sedangkan *channel green* digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya DNA *porcine* dalam sampel.^{19,20}

Sampel dinyatakan positif mengandung DNA *porcine* jika terdapat nilai Ct dan kurva sampel berada di atas garis *threshold* pada grafik amplifikasi *channel green* serta mengikuti garis kontrol positif pada kurva amplifikasi. Penelitian ini telah disetujui Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara dengan nomor: 205/KEP/USU/2020.

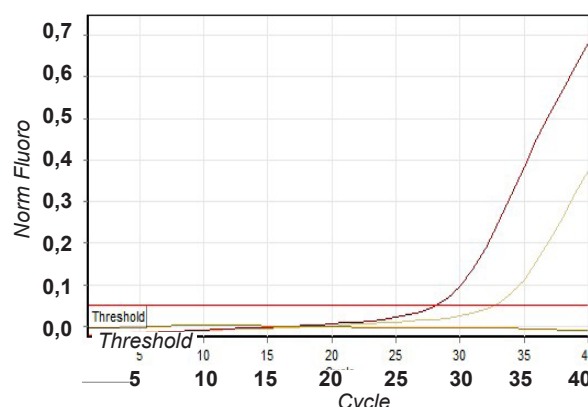
HASIL

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada DNA *Porcine* yang teridentifikasi pada sampel, dimana hasil amplifikasi DNA berdasarkan reporter FAM (*channel green*) tidak menunjukkan elevasi kurva pada semua sampel yang diuji, dan tidak ditemukan nilai Ct DNA *Porcine* pada setiap sampel.

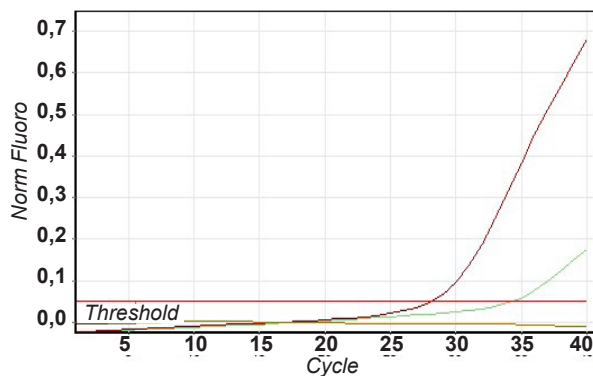
Hasil amplifikasi *Real-Time* PCR terlihat pada kurva amplifikasi, dimana sampel diuji tanpa pengulangan dengan kontrol negatif dan positif. Hasil sampel berdasarkan *channel yellow* menunjukkan empat dari sembilan sampel terdapat DNA vertebrata. Sampel yang mengandung DNA vertebrata (*channel yellow*,) adalah FA-3 dengan



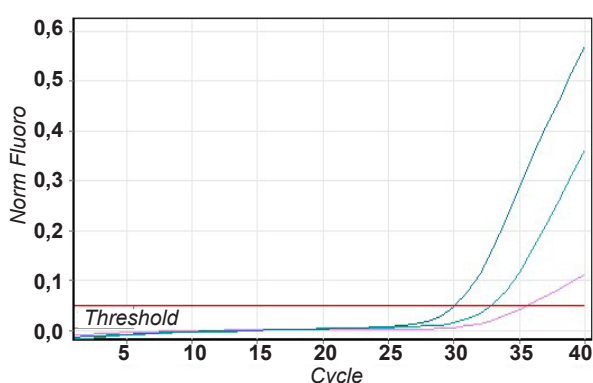
Gambar 1. Kurva amplifikasi sampel FA-3 berdasarkan reporter VIC (deteksi vertebrata)



Gambar 2. Kurva amplifikasi sampel FrA-1 berdasarkan reporter VIC (deteksi vertebrata)



Gambar 3. Kurva amplifikasi sampel FrA-2 berdasarkan reporter VIC (deteksi vertebrata)



Gambar 4. Kurva amplifikasi sampel HI-2 berdasarkan reporter VIC (deteksi vertebrata)

Ct 35,89 (Gambar 1), FrA-1 dengan Ct 32,66 (Gambar 2), FrA-2 dengan Ct 34,33 (Gambar 3) dan HI-2 dengan Ct 35,66 (Gambar 4).

PEMBAHASAN

Real-time PCR merupakan metode uji cepat dikarenakan jumlah DNA yang diamplifikasi dapat langsung diamati secara *Real-Time*, sehingga tidak memerlukan analisis dengan elektroforesis gel untuk mengetahui hasil amplifikasi PCR. Analisis amplifikasi DNA dengan *Real-time* PCR dinilai berdasarkan nilai *cycle threshold* (Ct) dan dengan melihat kenaikan kurva pada kurva amplifikasi.

Ct adalah jumlah siklus sampel mulai terbaca yang menunjukkan awal mulainya fase pertumbuhan eksponensial, semakin rendah nilai Ct semakin tinggi jumlah DNA target sebaliknya semakin tinggi nilai Ct semakin rendah jumlah DNA target. Berdasarkan analisis *Real-time* PCR, dimana sampel dilakukan tanpa pengulangan disertai dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

External Positive Control (EPC) yang berperan sebagai kontrol positif pada penelitian ini mengalami kenaikan kurva amplifikasi secara

signifikan melewati garis *threshold*. Selain EPC, terdapat *Non Template Control* (NTC) yang berperan sebagai kontrol negatif. Penggunaan kontrol negatif dipakai untuk menunjukkan bahwa *reagen* yang digunakan tidak terkontaminasi dengan DNA target yang akan diamplifikasi.¹⁹

Berdasarkan reporter VIC (*channel yellow*), satu sampel bahan mahkota sementara resin komposit memiliki garis kurva yang meningkat cukup signifikan melewati garis *threshold*, dimana nilai Ct pada kontrol positif adalah 33,92. Salah satu sampel dengan kode FA-3 memiliki nilai Ct sebesar 35,89 (Gambar 1).

Nilai Ct tersebut di dapatkan dari kurva sampel kode FA-3 yang melewati batas garis *threshold* dan dilihat dari seberapa banyak jumlah *cycle* tersebut yang menandakan bahwa sampel tersebut mengandung DNA vertebrata. Berdasarkan reporter VIC (*channel yellow*), dua sampel dengan kode FrA-1 dan FrA-2 (Gambar 2 dan 3) memiliki garis kurva yang meningkat cukup signifikan melewati garis *threshold*, dimana nilai Ct pada kontrol positif FrA-1 dan FrA-2 adalah 28,11. Sampel FrA-1 dan FrA-2 memiliki nilai Ct sebesar 32,66 dan 34,33. Nilai Ct tersebut di dapatkan dari kurva sampel dengan kode FrA-1 dan FrA-2 yang melewati batas garis *threshold* dan dilihat dari seberapa banyak jumlah *cycle* tersebut.

Hal tersebut diatas menandakan bahwa sampel kode FrA-1 dan FrA-2 teridentifikasi memiliki DNA vertebrata. Sampel HI-2 memiliki nilai Ct 35,66 pada *channel yellow* yang dimana nilai Ct HI-2 melewati batas garis *threshold* dan dilihat dari seberapa banyak jumlah *cycle* tersebut (Gambar 4). Hal ini menandakan bahwa sampel kode HI-2 teridentifikasi mengandung DNA vertebrata. Berdasarkan analisis hasil amplifikasi DNA yang dilihat dari nilai Ct memperlihatkan bahwa pada semua sampel memiliki nilai Ct yang tinggi artinya konsentrasi DNA yang teramplifikasi hasil *Real-Time* PCR adalah rendah. Menurut Zilhada et al. (2017) semakin rendah nilai Ct semakin tinggi jumlah DNA target, sebaliknya semakin tinggi nilai Ct semakin rendah jumlah DNA target.^{13,21}

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan tidak didapati adanya kandungan *porcine* pada sampel yang telah diteliti, dimana hasil amplifikasi DNA berdasarkan reporter FAM (*channel green*) tidak ditemukan adanya kenaikan kurva pada sampel yang diuji dan tidak ditemukannya

nilai Ct masing-masing sampel, jika sampel teridentifikasi DNA *porcine* maka hasil amplifikasi DNA berdasarkan reporter FAM (*channel green*) akan mengalami kenaikan kurva yang signifikan atau berada diatas garis Ct pada setiap sampel.¹³ Hasil dari penelitian sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Aziz dkk.¹⁷ menggunakan *Rapid Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy*, dimana pada semua sampel produk kedokteran gigi yang diteliti (n=80) tidak ditemukan 100% kesamaan dengan kandungan *porcine*, walaupun hasil beberapa produk kedokteran gigi tersebut memiliki kecocokan spektrum diatas 50% dengan kandungan gelatin yang berasal dari *porcine*.¹⁷

Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu hanya menguji sembilan dari sekian banyak produk kedokteran gigi yang beredar di pasaran, sehingga hasil yang diperoleh pada penelitian ini tidak dapat menggambarkan keseluruhan produk kedokteran gigi secara umum. Diperlukan pengujian lebih lanjut terhadap produk-produk kedokteran gigi lain yang belum memiliki sertifikasi atau logo halal. Penelitian ini juga tidak dapat mengetahui DNA vertebrata apa saja yang terdapat pada sampel. Penelitian lanjutan diperlukan mengidentifikasi DNA vertebrata yang terdapat pada sampel. Diharapkan untuk dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap bahan kedokteran gigi yang lainnya yang beredar di masyarakat yang belum memiliki sertifikat halal.

SIMPULAN

Tidak ditemukan adanya DNA *Porcine* di dalam sampel, tetapi terdapat DNA vertebrata pada sampel FA-3, FrA-1, FrA-2, dan HI-.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini yang didanai oleh USU sesuai dengan kontrak pelaksana USU Talenta Research tahun 2020 Nomor: 289 / UN5.2.3.1/PPM/SPP-TALENTA USU/2020 tanggal 27 April 2020.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rahardian B, Hakim N, Kurniawan A. Implementation of halal product guarantee in dental health services in Islamic hospital. *Int J Human and Health Sci*. 2019;3(2);54-7. DOI: [10.31344/ijhhs.v3i2.77](https://doi.org/10.31344/ijhhs.v3i2.77).
2. Muslimin JM. Halal product guarantee in indonesia: regulation and social inclusion. *Shirkah J Econ Bus*. 2019;4(1);27-48. DOI: [10.22515/shirkah.v4i1.259](https://doi.org/10.22515/shirkah.v4i1.259)
3. Nafis MC. The concept of halal and thayyib and its implementation in Indonesia. *J Halal Prod Res*. 2019;2(1);1-5. DOI: [10.20473/jhpr.vol.2-issue.1.1-5](https://doi.org/10.20473/jhpr.vol.2-issue.1.1-5)
4. Khan MI, Haleem A. Understanding “halal” and “halal certification & accreditation system”-a brief review. *Saudi J Bus Manag Stud*. 2016; 1(1);32-42.
5. Salim M. Contemporary Islamic Law In Indonesia Sharia And Legal Pluralism. Edinburgh: Edinburgh University Press. 2015. p. 3-27.
6. Ali ME, Sultana S, Hamid SBA, Hossain M, Yehya WA, Kader MA, et al. Gelatin controversies in food, pharmaceuticals, and personal care product: authentication methods, current status, and future challenges. *Crit Rev Food Sci Nutri*. 2017;58(9);1-10. DOI: [10.1080/10408398.2016.1264361](https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1264361).
7. Ali ME, Kashif M, Uddin K, Hashim U, Mustafa S, Che Man YB. Species authentication methods in foods and feeds: the present, past, and future of halal forensics. *Food Analyt Methods*. 2012;5(5);935-55. DOI: [10.1007/s12161-011-9357-3](https://doi.org/10.1007/s12161-011-9357-3).
8. Hermanto S, Fatimah W. Differentiation of bovine and porcine gelatin based on spectroscopic and electrophoretic analysis. *J Food Pharm Sci*. 2013 Oct;1(3). DOI: [10.14499/jfps](https://doi.org/10.14499/jfps).
9. Lee JH, Yi GS, Lee JW, Kim DJ. Physicochemical characterization of porcine bone-derived grafting material and comparison with bovine xenografts for dental applications. *J Periodontal Implant Sci*. 2017;47(6);388-401. DOI: [10.5051/jpis.2017.47.6.388](https://doi.org/10.5051/jpis.2017.47.6.388).
10. Sudjadi, Wardani HS, Sepminarti T, Rohman A. Analysis of porcine gelatin DNA in a commercial capsule shell using real-time polymerase chain reaction for halal authentication. *Int J Food Prop*. 2016;19(9);21-34. DOI: [10.1080/10942912.2015.1110164](https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1110164).
11. Rocha AJ, Monteiro-Júnior JE, Freire JEC, Sousa AJS, Fonteles C. Real-time PCR: the use of reference genes and essential rules required to obtain normalization data reliable to

- quantitative gene expression. *J Mol Biol.* 2015; 5(1); 45-55. DOI: [10.5539/jmbr.v5n1p45](https://doi.org/10.5539/jmbr.v5n1p45).
12. Corona B, Lleonard R, Carpio Y, Uffo O, Martinez. Short communication. PCR detection of DNA bovine, ovine-caprine and porcine origin in feed as part a bovine spongiform encephalopathy control program. *Span J Agric Res.* 2017;5(3);12-7. DOI: [10.5424/sjar/2007053-5342](https://doi.org/10.5424/sjar/2007053-5342).
13. Erwanto Y, Rohman A, Arsyanti L, Pranoto Y. Identification of pig DNA in product using polymerase chain reaction (PCR) for halal authentication-a review. *Int Food Res J.* 2018; 25(4):22–31.
14. Loftis AD, Reeves WK, Wang C, Kaltenboeck B, Freeman MD. Principles of real-time PCR. *Veterinary PCR Diagnostics*, Basseterre: Bhentam E-Books. 2012;1;3-6. DOI: [10.2174/978160805348311201010003](https://doi.org/10.2174/978160805348311201010003).
15. Salamah N, Erwanto Y, Martono S, Rohman A. Real-time PCR based detection of bovine DNA by specific targeting on cytochrome-B. *Pharmaciana.* 2019;9(2);201-204. DOI: [10.12928/pharmaciana.v9i2.14070](https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v9i2.14070).
16. Dewi N, Mustaqimah, Roswiem AP. Identification of gelatin in dental materials using combination of attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and chemometrics. *Int J Halal Res.* 2020;2(1);1-15. DOI: [10.24815/cdj.v11i2.16157](https://doi.org/10.24815/cdj.v11i2.16157).
17. Aziz AH, Ab Mutalib NA, Rahman RA, Jaswir I, Mirgani ME, Octavianti F, et al. The authentication of halal dental materials using rapid fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Adv Sci.* 2017;23(5);1-4. DOI: [10.1166/asl.2017.8883](https://doi.org/10.1166/asl.2017.8883).
18. Gounder R. Sathasivam P. Importance of denture adhesive in complete denture patients-a review. *Int J Recent Adv Multidisciplin Res.* 2016;3(6);1535-7.
19. Widayat, Agustini TW, Suzery M, Al-Baarri AN, Putri SR, Kurdianto. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) as a tool for detecting pig DNA in non-food products. *Ind J Hal.* 2019;2(1);27-9. DOI: [10.14710/halal.v2i1.5361](https://doi.org/10.14710/halal.v2i1.5361).
20. Hui Cai, Xuelin Gu, Mary S. Scanlan, Dintletse H. Ramatlapeng, Chris R. Lively. Real-time PCR assays for detection and quantitation of porcine and bovine DNA in gelatin mixtures and gelatin capsules. *J Food Compos Analys* 2012;25(1);83-7. DOI: [10.1016/j.jfca.2011.06.008](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.06.008).
21. Zilhadia, Izzah AN, Betha OS. Comparison of SYBR green and hydrolysis probe in analyzing porcine and bovine gelatin DNA using real-time PCR. *J Sains Farm Klin.* 2017;4(1);16-23. DOI: [10.29208/jsfk.2017.4.1.194](https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.4.1.194).