

Identifikasi Kandungan Babi dalam Bahan Perekat Gigi Tiruan dan *Soft Denture Lining* yang Digunakan di Bidang Prostodontik

Identification of Porcine in Denture Adhesive and Soft Denture Lining Used in Prosthodontics

Ika Andryas, Hubban Nasution

Staf pengajar Departemen Prostodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara
Corresponding email to: andryas_doc@yahoo.co.id

Received: 8 Mei 2024; Revised: 3 June 2024; Accepted: 24 June 2024; Published: 29 June 2024

Abstrak

Penggunaan bahan kedokteran gigi merupakan salah satu hal penting dalam perawatan gigi. Sejumlah besar bahan kedokteran gigi yang tersedia di pasar merupakan hasil impor dari luar negeri. Berkaitan dengan hal ini, terdapat ketidakpastian mengenai status kehalalan dari bahan kedokteran gigi yang digunakan untuk perawatan gigi. Hal ini telah menimbulkan kekhawatiran di kalangan Muslim yang ingin mencari perawatan gigi dengan zat yang telah terbukti valid status kehalalannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menguji kemungkinan keberadaan kandungan babi dalam bahan kedokteran gigi yang digunakan di bidang prostodontik terutama pada perekat gigi tiruan dan *soft denture lining* (n=4). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan dua pendekatan metodologi, yaitu ekstraksi DNA dan analisis PCR *Real-Time*. Preparasi sampel dilakukan dengan melisiskan 20 mg sampel dengan *lysis buffer*, divorteks, inkubasi, dan disentrifugasi. Kemudian sampel disimpan dibawah suhu 4°C sampai sampel siap untuk digunakan. Analisis dilakukan berdasarkan kurva amplifikasi dan nilai Ct pada *yellow channel* dan *green channel* menggunakan *EASYFAST™ PIG/Suidae detection & Quantification kit (Progenus s.a, Gembloux, Belgium)*. Penelitian menunjukkan bahwa tiga dari empat sampel (IPG-01, PG-02, dan IPG-03) mengandung DNA vertebrata. Kemudian sampel dianalisis berdasarkan *green channel* (FAM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada bahan perekat gigi tiruan yang teridentifikasi kandungan babi.

Kata kunci: Identifikasi *porcine*, ikatan rantai polimer, bahan kedokteran gigi, *tissue conditioning*, bahan perekat gigi tiruan.

Abstract

The utilisation of dental materials represents as one of the fundamental requirements of dental treatment. A considerable number of dental products available on the market have been imported from abroad. Despite this, there remains a lack of clarity surrounding the halal status of the materials used for dental care. This has caused concern amongst Muslims who wish to seek dental care with a substance that has been proven to be valid for its halal status. This study identified and examined any potential for porcine contamination in prosthodontic dental materials, mainly in tissue conditioning and dental adhesives (n=4). This research was conducted using two distinct methodological approaches, namely DNA extraction from dental materials and polymerase chain reaction (PCR) in real-time. The sample preparation process involved lysing 20 milligrams of tested materials in lysis buffer, vortexing, incubating, and centrifuging. Once the samples were prepared, they were kept at a temperature of 4°C until ready to be used. The analysis was based on the amplification curve and Ct score in yellow and green channels using *EASYFAST™ PIG/Suidae detection & Quantification kit (Progenus s.a, Gembloux, Belgium)*. This research found that three out of four samples (IPG-01, IPG-02, and IPG-03) contain vertebrae DNA. Afterward, the samples were analyzed based on green channel (FAM). This research showed that all denture adhesives did not contain porcine.

Keywords: Porcine identification, polymerase chain reaction, dental materials, tissue conditioning, denture adhesives

PENDAHULUAN

Pada bidang perawatan kesehatan gigi, penggunaan bahan kedokteran gigi (*dental material*) merupakan komponen tidak terpisahkan dari setiap perawatan gigi.¹⁻³ Komposisi bahan, sifat dan cara manipulasi bahan perekat gigi tiruan (*denture adhesive*) dan *soft denture lining* telah dibahas secara khusus di bidang Prostodonsia. Terdapat peningkatan permintaan akan produk halal dalam skala global. Permintaan ini tidak hanya terbatas pada makanan dan minuman, tetapi juga obat-obatan, termasuk vaksin, obat-obatan, dan bahan gigi.^{4,5}

Pemerintah Indonesia telah menunjukkan pendekatan konstruktif terhadap isu halal, termasuk yang berkaitan dengan makanan, farmasi dan kosmetik. Hal ini dibuktikan dengan disahkannya beberapa peraturan per undang-undangan, termasuk Undang-Undang No. 33 tahun 2014 tentang Jaminan Produk Halal. (UUJPH).⁶⁻⁸

Namun demikian, peraturan-peraturan yang disebutkan di atas tidak memiliki keseragaman, redundansi, dan pendekatan yang sistematis. Dengan demikian, peraturan-peraturan tersebut tidak mampu menjadi landasan hukum yang kuat dan tidak dapat secara spesifik mengikat produsen (pelaku usaha) dan jaminan terhadap masalah produk halal. Kurangnya kepastian hukum yang mengatur produk halal ini merupakan masalah yang signifikan, terutama mengingat kebutuhan dan urgensi jaminan untuk produk ini, terutama dalam kaitannya dengan perlindungan konsumen dan perdagangan global.^{8,9}

Perlu menjadi perhatian bahwa beberapa produk mungkin mengandung bahan-bahan yang tidak Halal, yang tidak secara eksplisit dinyatakan pada label produk. Selain itu, tidak ada sertifikasi Halal dan bahan-bahan produk tidak jelas. Status kehalalan bahan untuk kedokteran gigi yang beredar di Indonesia masih diragukan jika tidak ada mencantumkan logo halal dikemasannya.¹⁰⁻¹²

Bidang analisis halal terus berkembang secara teknologi untuk memudahkan pendeteksian kontaminasi bahan-bahan halal ketika tercampur dengan yang haram. Beberapa pengujian yang paling memungkinkan untuk mengidentifikasi berbagai jenis kandungan *porcine* dalam

produk adalah melalui biomarker spesifik seperti identifikasi terhadap protein, lemak dan DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*). Analisis berdasarkan DNA dapat menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) konvensional dan PCR *real-time*.¹³⁻¹⁵

DNA adalah polimer asam nukleat yang terstruktur secara sistematis. DNA merupakan molekul yang stabil selama proses ekstraksi dan ditemukan di semua jenis sel pada hewan dengan informasi genetik yang identik. Analisis DNA dalam suatu produk dapat dicapai melalui proses amplifikasi. Analisis DNA dilakukan dengan menggunakan alat PCR *real-time*. Tujuan dari alat ini adalah untuk mendeteksi ampikon dan untuk mengukur peningkatan fluoresensi yang dihasilkan dari sintesis DNA sampel.¹⁶⁻¹⁸ Salah satu keuntungan dari PCR *real-time* adalah bahwa sampel dapat dianalisis dalam jumlah kecil, dan data diproduksi dengan cepat dan akurat.^{19,20}

Penelitian tentang uji kehalalan terhadap bahan-bahan kedokteran gigi sudah pernah dilakukan.^{21,22} Pada tahun 2017, telah dilakukan penelitian uji kehalalan terhadap bahan-bahan kedokteran gigi pada bidang ortodonsia dengan jumlah 21 sampel. Hasil pengujian didapatkan tidak ada bahan-bahan kedokteran gigi di ortodontik yang menunjukkan kesamaan 100% dengan spektrum dari gelatin babi yang diuji. Namun, tes lebih lanjut perlu dilakukan untuk uji kehalalan dari bahan-bahan ini.²³

Pada tahun 2020, telah dilakukan penelitian tentang identifikasi gelatin *porcine* pada bahan kedokteran gigi dengan menggunakan kombinasi alat *Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (ATR-FTIR) dan *Chemometrics*. Hasil identifikasi didapatkan empat dari 49 bahan kedokteran gigi mengandung gelatin. Salah satunya cenderung mirip dengan gelatin babi. Pada tiga sampel lainnya tidak dapat diidentifikasi gelatin pada produk tersebut dan diperkirakan gelatin yang ada pada sampel hanya berfungsi sebagai pengemulsi dan terdeteksi dalam jumlah yang sedikit.^{1,23}

Penelitian tentang bahan kedokteran gigi terutama pada bidang prostodontik sudah banyak dilakukan.²⁴⁻²⁶ Hingga saat ini masih sedikit dilakukan identifikasi komposisi yang terdapat pada *dental material*, khususnya

bidang prostodontik, sehingga peneliti merasa perlu untuk mengidentifikasi komposisi DNA yang digunakan di bidang prostodontik.²⁷⁻²⁹

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental. Penelitian dilakukan di Pusat Kajian Sains Halal Institut Pertanian Bogor. Tiga perekat gigi tiruan dan satu bahan *soft denture lining* (n=4) dianalisis dan diberi kode sampel (Tabel 1).

Tabel 1. Sampel Penelitian

Kode	Kategori	Negara Produsen
IPG-01	Perekat gigi tiruan	Inggris
IPG-02	Perekat gigi tiruan	Austria
IPG-03	Perekat gigi tiruan	Singapura
ISD-01	<i>Soft denture lining</i>	Jepang

Setiap sampel terdiri dari 20 miligram/ bahan. Pada penelitian ini digunakan *purposive sampling* yang disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Semua sampel dianalisis menggunakan PCR real-time (*Rotor-Gene Q D-40724, Qiagene, Hilden, Jerman*). Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, dimana ekstraksi DNA sampel sebagai tahap pertama, dilanjutkan analisis PCR *real-time* berdasarkan kurva amplifikasi dan skor Ct pada *yellow channel* dan *green channel* sebagai tahap lanjutan.²⁰

Tahapan *pre-running* dilakukan sebelum tahap awal. Semua sampel diekstraksi menggunakan EasyFast™ Extra Pharma I (Ph.Ext1, Progenus s.a., Gembloux, Belgia). Produk ekstraksi DNA dideteksi menggunakan *Kit Progenus EasyFast™ Pharma Pig/Suidae Detection & Quantification kit (EFPig50, Progenus s.a., Gembloux, Belgia)* untuk kemudian dilanjutkan analisis PCR *real-time*.³⁰

Tahap awal ekstraksi DNA bertujuan untuk mendapatkan larutan DNA. Setelah larutan DNA sampel didapatkan, kemudian sampel dimasukkan kedalam PCR tube dan ditambahkan *lysis buffer* dengan suhu 65°C selama 10 menit, kemudian ditambahkan *precipitation buffer* dalam es selama 5 menit, sentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, ditambah *binding buffer* lalu sentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, ditambah *washing buffer* I dengan

kecepatan 12.000 rpm, kemudian hangatkan *elution buffer* pada suhu 65°C, selanjutnya sampel diinkubasi pada suhu 65°C dengan kecepatan 12.000 rpm.

Pada tahap kedua, selanjutnya dilakukan 40 siklus pengulangan analisis setelah didapatkan larutan DNA. Tahap ini dilakukan dengan menggunakan larutan *MIX (EFPig50, Progenus sa, Gembloux, Belgia)*, *DNase free water (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 proses denaturasi dengan suhu 95°C, *annealing* dengan suhu 60°C dan *extension* 72°C (Tabel 2).

Tabel 2. Program PCR *real-time*

Prosedur	Waktu	Suhu	Keterangan
Langkah pertama aktivasi PCR	5 menit	95°C	<i>HolStar Taq Plus DNA polymerase</i> diaktivasi
Tiga putaran:			
Denaturasi	15 s	95°C	Kumpulan data pada suhu 60°C
Annealing	15 s	60°C	
Extension	10 s	72°C	
Jumlah putaran	40		
Deteksi	Reporter	Eksitasi/ Emisi	<i>Channel</i>
Target	FAM	495/ 520 nm	<i>Green</i>
Kontrol internal	MAX	524/ 557 nm	<i>Yellow</i>

*FAM (*fluorescein amidets*); MAX (*Master Mix*)

Kemudian sampel diberi label dengan kode sampel, kemudian sampel dan kontrol dimasukkan kedalam mesin PCR *real-time*. Program PCR *real-time* diatur dan dioperasikan sesuai dengan program PCR *real-time*. Analisis data kemudian dilakukan berdasarkan reporterVIC (*yellow channel*) dan FAM (*green channel*). Keberadaan DNA *vertebrata* dalam sampel dideteksi dengan *Yellow channel* sedangkan deteksi *porcine* di dalam sampel dapat diketahui dengan keberadaan *green channel*.²⁷⁻²⁹ Jika terdapat nilai Ct, maka sampel dinyatakan positif mengandung DNA *porcine*; yaitu garis kurva sampel berada di atas garis *threshold* pada grafik amplifikasi *green channel* dan

mengikuti garis kontrol positif pada kurva amplifikasi.³⁰

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil amplifikasi DNA berdasarkan reporter FAM (*green channel*) tidak melaporkan kenaikan kurva pada semua sampel yang diuji, sehingga tidak ada DNA *porcine* yang teridentifikasi pada sampel, juga tidak ditemukan nilai Ct dengan primer *porcine* pada setiap sampel (Tabel 3).

Tabel 3. Nilai Ct sampel pada *yellow channel* (identifikasi DNA vertebrata)

Channel	Target	Sampel	Nilai Ct
VIC	Vertebrata	Kontrol Negatif	32,88
VIC	Vertebrata	Kontrol Positif	30,08
VIC	Vertebrata	IPG-01	39,53
VIC	Vertebrata	IPG-02	32,41
VIC	Vertebrata	IPG-03	35,17
VIC	Vertebrata	ISD-01	-

*VIC (victoria)
FAM (fluorescein amidets)

Penelitian ini menunjukkan bahwa tiga dari empat sampel (IPG-01, IPG-02, dan IPG-03) mengandung DNA vertebrata (Tabel 4). Hasil deteksi berdasarkan reporter VIC (*yellow channel*) menunjukkan bahwa IPG-01 (Ct 39,53), IPG-02 (Ct 32,41), IPG-03 (Ct 35,17), memiliki kurva yang meningkat secara signifikan di atas *threshold* (Gambar 1).

Tabel 4. DNA vertebrata pada sampel

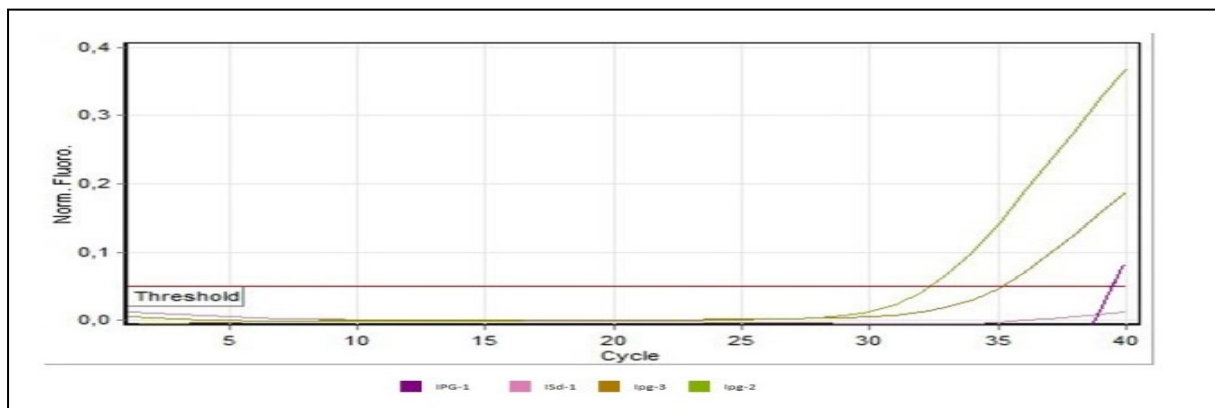
Kode	Target	Kategori	VIC
IPG-01	Vertebrata	Perekat gigi tiruan	+
IPG-02	Vertebrata	Perekat gigi tiruan	+
IPG-03	Vertebrata	Perekat gigi tiruan	+
ISD-01	Vertebrata	Soft denture lining	-

PEMBAHASAN

Status kehalalan bahan perawatan gigi penting bagi pasien muslim. Penelitian ini menunjukkan DNA *porcine* tidak terdeteksi pada semua sampel. Pemeriksaan menunjukkan dimana amplifikasi DNA berdasarkan reporter FAM (*green channel*) tidak ditemukan adanya kenaikan kurva dan nilai Ct dengan primer *porcine* pada setiap sampel. Tiga sampel memiliki DNA vertebrata.

Amplifikasi menggunakan PCR *real-time* dilakukan selama 40 siklus untuk mendapatkan hasil yang akurat. Selama amplifikasi, sinyal fluoresensi *probe* meningkat secara signifikan di atas garis *threshold*. Nilai ini dicatat sebagai Ct (*cycle threshold*), dimana semakin besar jumlah awal DNA target, semakin rendah nilai Ct, dan sebaliknya. Nilai Ct bertujuan untuk mengetahui validitas PCR *real-time* sesuai parameter deteksi dan mengetahui apakah sampel penelitian mengandung DNA vertebrata atau *porcine*.³⁰

Kontrol positif dan negatif menunjukkan hasil yang valid sesuai dengan kit, di mana Cq FAM dan VIC + 30 untuk kontrol positif dan Cq FAM dan VIC >38 untuk kontrol negatif.



Gambar 1. Amplifikasi sampel berdasarkan eporter VIC (identifikasi DNA vertebrata)

Hasil serupa juga diperoleh pada penelitian tahun 2017 untuk mendeteksi keberadaan gelatin pada bahan ortodontik sebagai autentikasi halal. Deteksi gelatin

dilakukan menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy with Attenuated Total Reflectance* (FTIR-ATR). Sejumlah 21 sampel diidentifikasi dan spektrum dihasilkan oleh perangkat lunak OMNIC dari Nicolet iS50 FTIR. Semua data mengalami *similarity match* (SM) menggunakan perangkat lunak *TQ Analyst*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat sampel yang memiliki spektra yang sama dengan gelatin yang diuji dan SM tidak menemukan sampel dengan kemiripan 100% dengan gelatin *porcine*.²⁴

Berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan pada tahun 2020 dimana pengujian gelatin *porcine* dilakukan menggunakan *Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (ATR-FTIR) dan *Chemometrics*. Hasil yang diperoleh dari penelitian tersebut adalah empat dari 49 bahan kedokteran gigi yang digunakan di rumah sakit dan klinik mengandung gelatin, salah satunya termasuk gelatin *porcine* sedangkan tiga tidak dapat diidentifikasi. Penelitian ini tidak sejalan karena alat dan metode yang digunakan berbeda dan hasil yang diperoleh juga berbeda.¹

Ada banyak metode analisis yang saat ini digunakan untuk menentukan DNA *porcine* di dalam suatu bahan; antara lain *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Gas Chromatography* (GC), *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry* (GC-MS), *Fourier Transform-Infrared Spectroscopy* (FTIR).³¹ Beberapa metode telah dikembangkan dengan metode menggunakan protein, lemak dan DNA. Analisis berdasarkan kandungan protein pada *porcine* dapat menggunakan alat pendeteksi dengan metode imunokromatografi yaitu kombinasi ELISA dan kromatografi, namun metode ini memiliki kelemahan karena protein akan kehilangan aktivitas biologisnya setelah hewan tersebut mati.³¹ Selain itu, sifat protein yang tidak efektif setelah mengalami pengolahan yang tinggi disebabkan oleh denaturasi pada suhu tinggi dan tekanan tinggi menghambat proses analisis.

Spektroskopi inframerah, *differential scanning calorimetric*, kromatografi gas, *high-performance liquid chromatography* (HPLC), dan *electronic odor detector* dapat digunakan untuk analisis berdasarkan kandungan lemak.

SIMPULAN

Sedangkan metode PCR memiliki target yaitu DNA, metode inilah yang dianggap paling valid saat ini.³¹ PCR adalah salah satu teknik amplifikasi asam nukleat *in vitro* yang paling banyak dipelajari dan digunakan. PCR digunakan untuk memperbanyak jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan menganalisis molekul DNA baru yang melengkapi molekul DNA target melalui enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam *thermocycle*. Analisis biologi molekuler khususnya DNA menggunakan PCR, keunggulannya dibandingkan menggunakan protein atau molekul lain, karena DNA lebih stabil.^{13,14,31} Pada PCR *real-time*, jumlah produk DNA yang terbentuk dapat dipantau secara *real time*, yaitu selama reaksi berlangsung, dengan akurasi dan sensitivitas tinggi pada rentang waktu yang singkat. Pemantauan ini dapat dibantu dengan penggunaan pewarna fluoresen atau *probe* yang diaplikasikan ke dalam sampel. Intensitas fluoresensi *probe* ini akan sebanding dengan jumlah produk DNA yang terbentuk.

PCR *real-time* mencatat jumlah siklus amplifikasi yang diperlukan untuk mendapatkan sejumlah molekul DNA tertentu. Efisiensi amplifikasi sampel tertentu biasanya mendekati dua kali lipat jumlah molekul per siklus amplifikasi, jumlah molekul DNA yang membawa urutan target yang awalnya ada dalam sampel dapat dihitung. Pengujian yang optimal memungkinkan kuantifikasi jumlah molekul DNA dari urutan tertentu dalam sampel kompleks dengan akurasi dan sensitivitas yang tinggi dapat mendeteksi suatu DNA target.¹⁸

Perlu menjadi catatan bahwa penelitian ini hanya menguji empat bahan prostodontik yang beredar di pasaran tanpa replikasi, sehingga hasil penelitian ini tidak dapat secara akurat mewakili bahan prostodontik secara yang tersedia secara umum. Lebih lanjut lagi, DNA vertebrata yang ditemukan tidak diketahui spesiesnya. Penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk memeriksa status kehalalan bahan kedokteran gigi yang banyak beredar di pasaran.

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa tidak ada kandungan babi yang

terdeteksi dalam sampel. Namun, tiga dari empat sampel mengandung DNA vertebrata (bukan *porcine*). PCR *real-time* (qPCR) dapat digunakan untuk mengidentifikasi kandungan *porcine* dalam suatu sampel.

SARAN

Disarankan penelitian lebih lanjut untuk memastikan DNA vertebrata pada sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sumatera Utara atas bantuan penelitian Talenta USU tahun 2020 Nomor: 289/UN5.2.3.1/PPM/SPP-TALENTA USU/2020 tanggal 28 April 2020.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mustaqimah DN, Roswiem AP. Identification of Gelatin in Dental Materials using the Combination of Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) and Chemometrics. *Int J Halal Res.* 2020;2(1):1–15.
2. Rahadian B, Hakim N, Kurniawan A, Putri AR, Adianda C. Implementation of Halal Product Guarantee in Dental Health Services in Islamic Hospital. *Int J Human and Health Sci.* 2019 Jan 22;3(2):54.
3. Anusavice. Philips's science of dental materials. 13th ed. 2019. 5–6 p.
4. Sultan Z, Sheikh Z, Zafar M, Sauro S. Application of metals and alloys in dentistry. In: Khurshid Z, Sheikh Z, editors. *Dental Materials (Principles and Applications.* Pakistan: Paramount Books Ltd; 2018. p. 41.
5. Chalifoux P. Acrylic and other resin: provisional restorations. In: Aschheim K, editor. *Esthetic dentistry: a clinical approach to techniques and materials.* 3rd ed. St. Louis Mosby; 2015. p. 197–203.
6. Nafis MC. The concept of halal and thayyib and its implementation in Indonesia. *J Halal Prod Res.* 2019 Jun 2;2(1):1.
7. Khan M, Haleem A. Understanding “halal” and “halal certification & accreditation system”-brief review. *Saudi J Bus Manag Stud.* 2016;1(1):32–42.
8. Salim M. Contemporary Islamic law in Indonesia-sharia and legal pluralism. Edinburgh: Edinburgh University Press; 2015. 23–27 p.
9. Muslimin J. Halal Product Guarantee in Indonesia: Regulation and Social Inclusion. *J Econ and Bus.* 2019;4(1):1-5
10. Ali E, Sultana S, Hamid SBA, Hossain M, Yehya WA, Kader A, et al. Gelatin controversies in food, pharmaceuticals, and personal care products: Authentication methods, current status, and future challenges. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018; 58(9):1495–511.
11. Ali ME, Kashif M, Uddin K, Hashim U, Mustafa S, Che Man Y Bin. Species Authentication Methods in Foods and Feeds: the Present, Past, and Future of Halal Forensics. *Food Anal Methods.* 2012;5(5):935–55.
12. Roswiem A, Mustaqimah D. Identification of gelatin source in toothpaste products using combination of attenuated total reflection-fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy and chemometrics. *Int J Halal Res.* 2020;2(1):30–7.
13. Hermanto S, Sumartin L, Fatimah W. Differentiation of bovine and porcine gelatin based on spectroscopic and electrophoretic analysis. *J Food Pharm Sci.* 2013;1:68–73.
14. 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.
15. 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):2127–34.
16. Rocha AJ, Monteiro-Júnior JE, Freire JEC, Sousa AJS, Fonteles CSR. Real Time PCR: the Use of Reference Genes and Essential Rules Required to Obtain Normalisation Data Reliable to Quantitative Gene Expression. *J Mol Biol Res.* 2015; 5(1):45-50.
17. Corona B, Lleonard R, Carpio Y, Uffo O, Martínez S. Short communication. PCR

- detection of DNA of bovine, ovine, caprine and porcine origin in feed as part of a bovine spongiform encephalopathy control program. *Span J Agric Res*. 2013;5(3):312–7.
18. Erwanto Y, Rohman A, Arsyanti L, Pranoto Y. Identification of pig DNA in food products using polymerase chain reaction (PCR) for halal authentication-a review Abstract. *Int Food Res J*. 2018;25(4):1322–31.
 19. Loftis A, Reeves W. Principles of PCR real-time. In: Wang C, Kaltenboeck B, D. Freeman M, editors. *Veterinary PCR Diagnostics*. Basseterre: Bentham E Books; 2012. p. 3–6.
 20. 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.
 21. Halib N, Salida N, Nik Salleh S, Fattah WA, Ismail W, Ramli H, et al. Islam and technological development in Malaysia's health care: An Islamic legal basis analysis of dental materials used in periodontal therapy. *TM Malay J Soc Space*. 2016;
 22. Irfanita N, Jaswir I, Mirghani MES, Sukmasari S, Ardini YD, Lestari W. Rapid detection of gelatin in dental materials using attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR). *Inter J Phys: Conference Series*. 2017 Aug;884:012090.
 23. Aziz AHA, Mutalib NAA, Rahman RA, Jaswir I, Mirghani MES, Octavianti F, et al. The Authentication of halal Dental Materials Using Rapid Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Adv Sci Lett*. 2017;23(5):4750–2.
 24. Craig's, Power J, Sakaguchi R. *Restorative dental materials*. 14th ed. India: Mosby Elsevier; 2018. 150–204 p.
 25. Gounder R, Sathasivam P. Importance of denture adhesive in complete denture patients-a review. *Int J Adv Multidiscip Res*. 2016;3(6):35–7.
 26. Manar J, Jarkas Manar C. Alginate as impression material. *Int J Appl Dent Sci*. 2018;300(3):300–3.
 27. Hatrick C, Eakle S, Bird W. *Dental materials- clinical applications for dental assistants and dental hygienist*. St. Louis: Saunders Elsevier; 2015. 106–107 p.
 28. Zarb B. *Prosthetic treatment for edentulous patient complete denture and implant-supported prosthesis*. 5th ed. Amsterdam: Elsevier; 2011. 442–448 p.
 29. Dorocka-Bobkowska B, Medynski D, Prylinski M. Recent Advances in Tissue Conditioners for Prosthetic Treatment. A review. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(4):723–8.
 30. Widayat W, Winarni Agustini T, Suzery M, Ni'matullah Al-Baarri A, Rahmi Putri S. Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sebagai Alat Deteksi DNA Babi dalam Beberapa Produk Non-Pangan. *IJH*. 2019;2(1):26-31
 31. Cebi N, Durak MZ, Toker OS, Sagdic O, Arici M. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chem*. 2016;190:1109–15.