

INTISARI

Daging celeng merupakan salah satu jenis daging non-halal yang banyak disalahgunakan di Indonesia, baik dalam bahan mentah maupun pada produk makanan olahan. Kasus yang paling banyak terjadi adalah pengoplosan daging celeng pada produk bakso sapi. Oleh karena itu diperlukan metode analisis yang spesifik, sensitif, serta efektif untuk mendeteksi adanya campuran celeng dan turunannya pada produk makanan khususnya pada bakso.

Metode identifikasi yang dikembangkan merupakan kombinasi dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer spesifik celeng dan analisis sekuensing DNA terhadap produk amplifikasi yang terbentuk. Primer CYTBWB2 didesain menggunakan *software* dari situs resmi NCBI dan PrimerQuest dengan *template* gen *cytochrome-B* mtDNA celeng (NC_026992). Pembuktian spesifitas secara *in silico* menggunakan fitur BLAST pada website NCBI dan secara eksperimental di laboratorium. Kemudian dilakukan validasi terhadap metode yang telah dikembangkan. Selanjutnya primer ini digunakan untuk menguji bakso yang beredar di pasaran.

Hasil menunjukkan primer CYTBWB2 mengamplifikasi DNA celeng secara spesifik dan tidak mengamplifikasi DNA pembanding (sapi, kelinci, kambing, babi, ayam, dan anjing). Metode yang dikembangkan memenuhi parameter validasi yang ditetapkan. Limit deteksi yang didapat sebesar 3,2 pg/ μ L DNA celeng dengan nilai koefisien determinasi (R^2) = 0,992 dan efisiensi amplifikasi (E) sebesar 104,8%. Analisis sekuensing menunjukkan bahwa primer menempel dengan tepat pada gen target dan produk amplifikasi yang terbentuk memiliki kemiripan sebesar 93-98% terhadap gen *cytochrome-B* mtDNA dari beberapa spesies celeng. Hasil pengujian terhadap 11 sampel bakso sapi pasaran di wilayah Yogyakarta menunjukkan 1 sampel positif mengandung DNA celeng.

Hasil uji validasi yang memenuhi parameter keberterimaan, nilai LOD yang sangat rendah, serta hasil analisis sekuensing DNA menunjukkan metode yang dikembangkan spesifik, sensitif, serta efektif untuk mengidentifikasi adanya cemar daging celeng pada produk bakso.

Kata kunci : *real-time* PCR, sekuensing, *cytochrome-B*, celeng, autentikasi halal

ABSTRACT

Wild boar meat is non-halal meat widely abused in Indonesia both in raw materials and processed food products. The most common case is mixing wild boar meat on beef meatball products. Therefore a specific, sensitive, and effective method of analysis is needed to detect a mixture of wild boar and its derivatives in food products, especially on meatballs.

The identification method developed was a combination of Polymerase Chain Reaction (PCR) with wild boar specific primers and DNA sequencing analysis of the amplification products formed. The CYTBWB2 primer was designed using software from the official NCBI website and PrimerQuest with wild boar cytochrome-B mtDNA gene template (NC_026992). Proof of specificity in silico uses the BLAST feature on the NCBI website and experimentally in the laboratory. Then validation of the method has been carried out. Furthermore, this primer is used to test meatballs on the market.

The results showed that the CYTBWB2 primer amplified wild boar DNA specifically and doesn't amplified comparable DNA (beef, rabbits, goats, pigs, chickens, and dogs). The method developed fulfilled the validation parameters specified. The detection limit obtained was 3.2 pg/ μ L wild boar DNA with a value of $R^2 = 0.992$ and efficiency of 104.8%. Sequencing analysis showed that the primer was appropriately attached to the target gene and the amplification product formed had a similarity of 93-98% to the cytochrome-B mt gene of DNA from several wild boar species. The test results on 11 samples of beef meatballs in the market in Yogyakarta region showed 1 positive sample containing wild boar DNA.

The validation test results that meet the acceptability parameters, very low LOD values, and the results of DNA sequencing analysis show that the method developed is specific, sensitive, and effective to identify the presence of wild boar contamination on meatball products.

Keyword: real-time PCR, sequencing, cytochrome-B, wild boar, halal authentication