

IDENTIFIKASI DAGING ANJING (*Canis lupus familiaris*) DALAM BAKSO SAPI DENGAN METODE *REALTIME POLYMERASE CHAIN REACTION* DAN SEKUENSING

INTISARI

Autentikasi status halal pada berbagai macam jenis daging telah menjadi perhatian utama di beberapa negara. Salah satu jenis daging yang tidak halal untuk dikonsumsi oleh umat Islam adalah daging anjing. Daging yang umum dipalsukan adalah daging sapi karena harganya yang mahal. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya daging anjing (*Canis lupus familiaris*) pada bakso daging sapi menggunakan metode *real-time* PCR dengan primer yang telah didesain pada daerah sekuen CYTBCA3-kh dan kemudian dilakukan sekuensing untuk mengetahui urutan basa nukleotida pada molekul DNA anjing. Parameter validasi pada *real-time* PCR meliputi uji sensitivitas, uji linieritas, penentuan batas deteksi dan uji keterulangan. Primer CYTBCA3-kh spesifik dapat mengamplifikasi DNA mitokondria anjing dengan suhu *annealing* 50,6°C. Spesifisitas primer ditunjukkan dengan *Melting Curve Analysis* (MCA) ditandai dengan munculnya satu *peak* pada *melt peak*. Pengujian spesifisitas dilakukan terhadap 7 isolat DNA daging segar (babi, celeng, ayam, sapi, kelinci, kambing dan tikus). Uji sensitivitas pada daging segar dan bakso referensi anjing 100% secara berturut-turut sebesar 50 dan 500 pg. Dengan nilai efisiensi (E) berturut-turut 100,7 dan 97,0%. Batas deteksi yang masih dapat teramplifikasi pada variasi konsentrasi bakso anjing-sapi hingga kadar 0,1% dengan nilai E sebesar 105,0%. Pada uji keterulangan, nilai *Coefficient Variation* (CV) dari isolat DNA daging anjing segar konsentrasi 1000 pg sebesar 0,00331% dan isolat DNA bakso anjing 100% sebesar 0,0302%. Hasil analisis dari dua belas sampel bakso sapi pasaran menggunakan primer CYTBCA3-kh menunjukkan tidak adanya daging anjing. Dari dua pasang primer, dipilih primer CYTBCA3-kh sebagai primer terbaik karena spesifik terhadap DNA anjing dengan suhu *annealing* 50,6°C. Sedangkan hasil urutan basa DNA anjing dari analisis sekuensing dengan primer CYTBCA3-kh mempunyai daerah yang tidak sesuai dengan gen CYTBCA3-kh mt-DNA *Canis lupus familiaris mitochondrion complete genome* dengan ukuran basa >105 bp.

Kata kunci: *Real-time Polymerase Chain Reaction*, *cytochrome-b*, anjing (*Canis lupus familiaris*), autentikasi halal.

IDENTIFICATION OF DOG MEAT (*Canis lupus familiaris*) IN BEEF MEATBALL WITH RTPCR AND SEQUENCING METHODS

ABSTRACT

Authentication of halal status in various types of meat has been a major concern in several countries, one of them is dog meat. Beef is commonly forged meat because it's expensive. This study aims to identify the presence of dog meat (*Canis lupus familiaris*) on beef meatballs using RTPCR with primers that have been designed in the CYTBCA3-kh sequence area. Validation parameters in *real-time* PCR include sensitivity test, linearity test, detection limit determination and repeatability test. Specific CYTBCA3-kh primers can amplify mitochondrial DNA of dogs with annealing temperatures of 50.6°C. Primary specificity indicated by the Melting Curve Analysis (MCA) was characterized by the appearance of a peak. Specificity testing was carried out on 7 fresh meat isolates DNA (pigs, wild-boars, chickens, beef, rabbits, goat and mice). Sensitivity tests on fresh meat and 100% dog reference meatballs were 50 and 500 pg respectively. With the efficiency value (E), 100.7 and 97.0%. The limit of detection that can still be amplified was the variation in the concentration of dog-beef meatballs to levels of 0.1% with an E value of 105.0%. In the repeatability test, the CV value of fresh dog meat isolates DNA with a concentration of 1000 pg was 0.00331 and 0.0302% for 100% dog meat DNA. The results of the analysis of twelve samples of market beef meatballs using primary CYTBCA3-kh showed no contamination of dog meat. And the results of the sequencing primer CYTBCA3-kh having areas that do not match with the CYTBCA3-kh mt-DNA gene *Canis lupus familiaris* mitochondrion complete genome (>105 bp).

Keywords: *Real-time Polymerase Chain Reaction, cytochrome-b, Canis lupus familiaris*, halal autentification,