

## INTISARI

*Salmonella enteritidis* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan gastroenteritis pada manusia. Daging dan telur ayam dapat terkontaminasi *S. enteritidis* melalui 2 cara, yaitu secara vertikal dan horizontal. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode deteksi cemaran *S. enteritidis* pada daging dan telur ayam serta produk olahannya menggunakan metode *real-time Polymerase Chain Reaction* (*real-time* PCR). Tahapan penelitian ini dimulai dari perancangan primer, kultur bakteri *S. enteritidis*, isolasi DNA, validasi metode serta aplikasi metode analisis pada produk dipasaran menggunakan *real-time* PCR. Primer yang digunakan pada penelitian ini adalah primer Sdf1-138 (primer forward 5'-CGA GCA TGT TCT GGA AAG CC-3' dan primer reverse 5'-ATG GTG AGC AGA CAA CAG GC-3'). Primer ini dirancang secara *in silico* mengikuti *The National Center for Biotechnology Information* (NCBI) menggunakan *Salmonella different Fragment* (Sdf1) yang merupakan bagian spesifik dari *S. enteritidis*. Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan metode fenol-kloroform. Suhu optimum penempelan primer yang dihasilkan adalah 60,2 °C berdasarkan profil puncak pelelehan tertinggi (177,75). Uji spesifisitas terhadap empat DNA bakteri (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes*) dan DNA ayam, menunjukkan bahwa primer ini spesifik mengamplifikasi *S. enteritidis* dengan titik puncak lebur di 77,5-78,0°. Dari kurva amplifikasi pengenceran DNA diperoleh nilai R<sup>2</sup> 0,981 dan nilai E 126,67%. Uji keterulangan yang dilakukan memperoleh koefisien variasi (CV) 0,556% yang sesuai untuk PCR, yakni dengan nilai CV ≤ 25%. Uji sensitivitas menghasilkan nilai batas deteksi adalah 12,5 pg DNA *S. enteritidis*. Hasil amplifikasi sampel dipasaran menunjukkan tidak ada produk yang diuji yang terkontaminasi dengan *S. enteritidis*.

**Kata kunci:** *Salmonella enteritidis*, *real-time* PCR, primer, Sdf1, daging ayam, telur ayam

## ABSTRACT

*Salmonella enteritidis* is a bacteria that can cause gastroenteritis in humans. *S. enteritidis* can contaminate meat and eggs vertically and horizontally. The objective of this study was to develop detection method of *S. enteritidis* contamination in chicken meat and eggs and other dairy products using *real-time Polymerase Chain reaction (real-time PCR method)*. The study is initiated with the pre-enrichment bacterial culture of *S. enteritidis*, DNA isolation, validation method and method application on the marketed product. A pair of primers used in this study is Sdf1-138 primer (forward primer of 5'-CGA GCA TGT TCT GGA AAG CC-3' and reverse primer of 5'-ATG GTG AGC AGA CAA CAG GC-3'). This primer was designed in silico according to The National Center for Biotechnology Information (NCBI) using different *Salmonella* Fragment (Sdf1) which is a specific region of *S. enteritidis*. Isolation of DNA was performed using phenol-chloroform method. The optimum annealing temperature was 60.2 °C based on the highest melting peak profiles (177.75). Specificity test was performed toward four bacterial DNA (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *E. coli* and *L. monocytogenes*) and chicken DNA which showed that the used primer can specifically amplify *S. enteritidis* with melting peak point at 77,5-78,0°. Dilution of DNA amplification curves obtained R<sup>2</sup> 0,981 and E 126.67%. Repeatability test obtained coefficient of variation (CV) of 0,556%. Sensitivity test resulted the limit of detection at 12,5 pg/μL for *S. enteritidis* DNA. The validated method was further used for analysis of marketed sample and the result showed no products contaminated with *S. enteritidis*.

**Keywords:** *Salmonella enteritidis*, Real-time PCR, primers, Sdf1, chicken meat, chicken egg.