

ANALISIS CAMPURAN DAGING TIKUS DALAM BAKSO SAPI MENGGUNAKAN CYTB DNA MITOKONDRIA DENGAN METODE *REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION*

Yanita Ika Widyasari
NIM 13/357689/PFA/01383

INTISARI

Semakin mahalnnya harga daging sapi sebagai bahan baku bakso, membuat beberapa pedagang bakso mengganti bahan baku bakso dengan daging tikus sawah. Adanya cemaran daging tikus dalam makanan merupakan isu yang krusial terutama bagi umat muslim karena tikus termasuk binatang yang diharamkan. Sebagian besar masyarakat juga beranggapan bahwa daging tikus tidak layak untuk dikonsumsi serta dapat menimbulkan masalah medis. Berdasarkan isu tersebut, perlu dilakukan penelitian secara fisika - kimia maupun biologi molekular untuk mendeteksi apakah dalam produk makanan tersebut mengandung daging tikus atau tidak.

Pada penelitian ini, akan dikembangkan metode *real time polymerase chain reaction* untuk menganalisis adanya cemaran daging tikus dalam bakso sapi. Pengujian dimulai dengan perancangan primer yang spesifik untuk DNA mitokondria tikus sawah (*Rattus argentiventer*) dan dilanjutkan dengan pengujian spesifitas primer. Setelah didapatkan primer yang spesifik, dilakukan pengujian lain untuk melihat validitas metode analisis yang dikembangkan. Pengujian tersebut meliputi uji keterulangan dengan parameter nilai koefisien variansi (CV), pengujian seri bakso simulasi dengan berbagai konsentrasi daging tikus sawah, pengujian batas deteksi serta pengujian pada bakso sapi yang beredar di pasaran. Isolasi DNA mitokondria dilakukan dengan menggunakan *Mitochondrial DNA Isolation Kit*.

Pasangan primer CYTB 42 5' – TAA CCA CTC CTT CAT CGA CCT T – 3' (*forward*) dan 5' – CCC CGT TGG CGT GTA AAT A – 3' (*reverse*) dari daerah *cytB* mitokondria tikus sawah (*Rattus argentiventer*) lebih spesifik digunakan pada analisis DNA tikus sawah secara RT PCR dengan suhu penempelan optimum 61,4⁰C. Primer tersebut dapat digunakan untuk identifikasi DNA daging tikus (*raw material*) secara *real time* PCR hingga konsentrasi 5 pg dan dalam bakso hingga konsentrasi 1% daging tikus. Kurva standar hasil amplifikasi bakso campuran daging tikus dan sapi pada konsentrasi 1 – 100% menunjukkan nilai efisiensi 74,5% dan nilai koefisien determinasi (R^2) 0,983. Nilai CV dari amplifikasi bakso daging tikus sebesar 1,91% dan nilai CV dari amplifikasi daging tikus (*raw material*) sebesar 1,01%. Hasil pengujian tiga macam sample bakso yang beredar dipasaran menunjukkan tidak adanya cemaran DNA tikus dalam sample.

Kata kunci : *real time* PCR, tikus, DNA Mitokondria, bakso sapi

ANALYSIS OF RAT MEAT IN MEATBALL FORMULATION WITH MITOCHONDRIAL CYTB PRIMERS USING REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION

ABSTRACT

In recent years, Indonesian society excited by the issue of meatballs mixed with rat meat. It was possible because of the high price of beef as raw materials meatballs. The public unrest occurs because most people assume that the rats are animals that are not suitable for consumption. Rat included in the animals that are not halal for Muslims, so the presence of contaminants in the rat meat halal food is an issue that is crucial, especially for Muslims. Based on these issues, is necessary to study physics - chemistry and molecular biology to detect whether the food products that contain meat rats or not.

On this research, real time PCR method will be developed for analyzing the presence of rat meat contamination in beef meatballs formulation. Its begin with designing specific primers for mitochondrial DNA of *Rattus argentiventer* and continued with the primary specificity testing. After obtained the specific primer, those primers use to see the validity of the analytical methods are developed. The testing includes testing repeatability with CV parameter values, meatballs with various concentrations of rat meat, testing the limits of detection and testing on beef meatballs on the market. Mitochondrial DNA Isolation Kit is used to extract DNA from sample.

Primer pair CYTB 42 5' - TAA CCA CTC CTT CAT CGA CCT T - 3' (forward) and 5' - CCC CGT TGG CGT GTA AAT A - 3' (reverse) from cytB mitochondrial *Rattus argentiventer* more specifically used to identify the presence of rat meat in fresh tissue and meatball formulation at optimum annealing temperature of 61, 4°C. The primer can be used for DNA identification by real time PCR with sensitivity of detection at 5 pg or in a mixture of rat and beef meatballs at concentration of 1% rat meat. Standard curve shows coefficient of determination (R²) 0.983, slope -4.136 and y-intercept of 28.91 while the amplification efficiency at 74,5%. The repeatability test demonstrated that the amplification occur in all sample with CV of rat meatball is 1.91% and CV of fresh rat tissue is 1.01%. The amplification of commercial beef meatball showed that no rat contamination in beef meatball samples.

Keywords : rat, real time PCR, mitochondrial DNA, meatball analysis