

INTISARI

Seiring dengan telah diberlakukannya Undang-Undang Jaminan Produk Halal (UU-JPH) No. 33 Tahun 2014 maka produk makanan yang beredar di Indonesia harus dijamin kehalalannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* menggunakan primer spesifik spesies, *probe TaqMan* dan *multiplex* untuk mendeteksi kontaminasi daging babi dalam produk bakso sapi menggunakan *primers* dan *probe* baru yang telah dirancang. Tahapan penelitian terdiri atas uji kinerja metode RT-PCR menggunakan primer spesifik spesies, *probe TaqMan* dan *multiplex* pada bakso yang meliputi uji spesifisitas, batas deteksi dan efisiensi, sensitivitas dan *repeatability*. Hasil uji metode menggunakan primer spesifik spesies menunjukkan bahwa *primers* yang dirancang yaitu *primers cyt b* (A) dan *D-Loop* (B) mitokondria *Sus scrofa* hanya spesifik untuk DNA babi, sedangkan *primers D-Loop* mitokondria *Bos taurus* (C) hanya spesifik untuk DNA sapi. Dari hasil pengujian terhadap ketiga *primers* diperoleh nilai batas deteksi *primers* A, B, C masing-masing 1 pg, 10 pg dan 100 pg. Nilai efisiensi *primers* A, B, C masing-masing 242,58%, 82,7% dan 97,1% , nilai koefisien determinasi (R^2) *primers* A, B, C masing-masing 0,956; 0,732 dan 0,884 dan nilai koefisien variasi (CV) *primers* A, B, C masing-masing 4,39%, 1,81% dan 0,77%. Hasil uji metode *probe TaqMan* menunjukkan bahwa *primers probe* yang dirancang yaitu *TaqMan probe D-Loop* mitokondria *Sus scrofa* (D) menunjukkan spesifik untuk DNA Babi dan Celeng, dan *primers probe TaqMan D-Loop* mitokondria *Bos taurus* (E) hanya spesifik untuk DNA sapi. Hasil pengujian terhadap kedua *primers probe* memberikan hasil batas deteksi *primers* D dan E masing-masing 5 pg dan 100 pg. Nilai efisiensi *primers* D dan E masing-masing 59,4% dan 41,6%. Nilai koefisien R^2 *primers* D dan E masing-masing 0,940 dan 0,995 dan nilai CV untuk *primers* D dan E masing-masing 1,69% dan 2,48%. Analisis *multiplex* menggunakan *primers* B dan C dilakukan dengan cara melakukan amplifikasi DNA babi dan DNA sapi secara simultan. Hasil analisis *multiplex* menunjukkan bahwa kedua *primers* babi dan sapi dapat mendeteksi target DNA babi dan sapi secara simultan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kurva tunggal dengan dua puncak. Puncak ini terbentuk pada lokasi tertentu pada nilai T_m 77,0°C untuk DNA babi dan 81,5°C untuk DNA sapi. Dengan *multiplex* PCR, diperoleh nilai batas deteksi 0,1%, nilai R^2 sebesar 0,997 dan nilai efisiensi 58,5%. Kesimpulannya adalah perancangan *primers* dan *probe* yang spesifik terhadap spesies babi dan sapi pada metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* menggunakan primer spesifik spesies dan *Probe TaqMan* dapat divalidasi dan digunakan untuk identifikasi DNA babi pada campuran daging babi dan daging sapi dalam bakso sapi.

Kata kunci: *Primers* spesifik, *TaqMan probe*, *multiplex* RT-PCR, Autentikasi halal.

ABSTRACT

Along with the enactment of the Halal Product Guarantee Law (UU-JPH) No. 33, 2014, food products circulating in Indonesia must be guaranteed halal. This study aims to develop Real-Time Polymerase Chain Reaction method using species-specific *primers*, Probe TaqMan and multiplex to detect pork contamination in beef meatball products using new *primers* and probes that have been designed. The research stages consisted of testing the performance of the RT-PCR method using species-specific *primers*, TaqMan probe and multiplex on meatballs which included specificity tests, detection limits and efficiency, sensitivity and repeatability. The results of the method test using species-specific *primers* showed that the *primers* designed, were cyt b (A) and D-Loop mitochondrial *Sus scrofa* (B) *primers* only specific to pork DNA, while *Bos taurus* mitochondrial D-Loop *primers* (C) were only specific to beef DNA. From the test results of the three *primers*, the detection limit values were obtained up to a concentration of 1 pg, 10 pg and 100 pg for *primers* A, B and C respectively. The efficiency values of each were 242.58%, 82.7% and 97.1% for *primers* A, B and C with the coefficient of determination (R^2) was 0.956; 0.732 and 0.884 for *primers* A, B and C. The coefficient of variation (CV) was 4.39%, 1.81% and 0.77% for *primers* A, B, and C. The test results of the TaqMan probe method showed that the Probe TaqMan D-Loop mitochondrial *Sus scrofa* (D) was specific for pork and Boar DNA, and the Probe TaqMan D-Loop mitochondrial *Bos taurus* (E) was specific only for beef DNA. The test results for both *primers* gave detection limits of up to 5 pg and 100 pg concentrations for *primers* D and E. The Efficiency values of each were 59.4% and 41.6%, for *primers* D and E, the Coefficient of determination (R^2) was 0.940 and 0.995 for *primers* D and E, and The coefficient of variation (CV) was 1.69% and 2.48% for *primers* D and E respectively. Multiplex analysis using *primers* B and C was carried out by simultaneously amplifying pork DNA and beef DNA. The results of the multiplex analysis showed that both pork and beef *primers* in the multiplex test could detect the DNA target of porks and beef simultaneously. This is indicated by the existence of a single curve with two peaks. This peak is formed at certain locations at a T_m value of 77.0°C for porks and 81.5°C for beef. With the multiplex PCR, the detection limit value was 0.1%, the R^2 value was 0.997 and the efficiency value was 58.5%. The conclusion is that the design of *primers* and TaqMan probes that are specific to pork and beef species using the Real-Time Polymerase Chain Reaction method can be validated and used to identify pork DNA in a mixture of pork and beef in beef meatballs.

Keywords: Specific *primers*, TaqMan probe, multiplex RT PCR, halal authentication

