

## VALIDASI METODE REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION UNTUK DETEKSI DNA BABI (*Sus scrofa domestica*) DAN CELENG (*Sus barbatus*) PADA SOSIS SAPI

### INTISARI

Babi (*Sus scrofa domestica*) dan celeng (*Sus barbatus*) hewan satu spesies yang memiliki kemiripan sangat tinggi, perbedaan keduanya dilihat dari susunan basa DNA yang dimiliki. Metode analisis DNA antara babi dan celeng banyak yang belum berhasil membedakan kedua spesies tersebut seperti pada penelitian yang dilakukan Hikmah (2019) untuk membedakan babi dan celeng menggunakan primer Nk-ND1 dengan metode *real time* PCR namun berhasil mendapatkan perbedaan basa antara fragmen DNA babi dan celeng dari hasil sekuensing sehingga perbedaan urutan basa tersebut dijadikan sebagai primer spesifik babi untuk membedakan kedua spesies babi dan celeng dengan metode *real time* PCR.

Daging celeng diperoleh dari Kalimantan Timur, daging babi dari peternak hewan di Yogyakarta, primer babi forward 5'-GATGCCCTAAACTATTTCACC-3' dari hasil sekuensing dan primer babi reverse yaitu 5'-TAGTGCTAGGGATAAGGCTAGG-3' desain Hikmah (2019), SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad), proteinase-K (Invitrogen), isolasi DNA menggunakan *Geneaid Genomic DNA Mini Kit*. Validasi metode *real time* PCR dengan uji spesifitas primer terhadap 5 isolat DNA jaringan segar, uji efisiensi dan sensitivitas pada 6 konsentrasi DNA (50; 5; 0,5; 0,05; 0,005 dan 0,0005 ng) dan sosis referensi campuran daging sapi:babi (100%; 50%; 25%; 10%; 5% dan 1%), uji keterulangan dilakukan sebanyak 5 kali replikasi.

Hasil analisis menunjukkan sepasang primer spesifik terhadap DNA babi dan celeng. Efisiensi DNA babi yaitu 109,5% dan  $R^2 = 0,967$ , efisiensi celeng 99,1% dan  $R^2 = 0,999$ . Batas deteksi absolut DNA babi yaitu 0,05 ng/μL dan celeng 0,5 ng/μL, batas deteksi relatif sosis babi yaitu 5% dan sosis celeng 1%. Nilai RSD rata-rata pada analisis keterulangan DNA babi dan celeng yaitu 4,210% dan 3,611%. Pada sampel tidak terdeteksi adanya DNA babi dan celeng, secara kuantitatif metode ini tidak memenuhi persyaratan validasi.

Kata Kunci: *real-time* PCR, DNA Babi, DNA Celeng (*Sus barbatus*), Validasi.

## ABSTRACT

Pigs (*Sus scrofa domestica*) and boars (*Sus barbatus*) are animals of one species that have a very high similarity, the difference between the two is seen from the base arrangement of DNA. DNA analysis method between pigs and boars many have not managed to distinguish the two species as in the study conducted Hikmah (2019) to distinguish pigs and boars using primer Nk-ND1 with real time PCR method but managed to get the difference between the dna fragments of pigs and boars from the results of sequencing so that the difference in the order of the base is used as a specific primer pig to distinguish the two species of pigs and boars with real time pcr method.

The five animal species used are pigs, boars, cows, goats and chickens, forward pig primer 5'-GATGCCCTAAACTATTCACC-3' from sequencing results and reverse pig primer 5'-TAGTGCTAGGGATAAGGCTAGG-3' Hikmah design (2019), SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad), proteinase-K (Invitrogen), DNA isolation using Geneaid Genomic DNA Mini Kit. Validation of real time PCR method with primary specificity test against 5 isolates of fresh tissue DNA, efficiency and sensitivity tests on 6 DNA concentrations (50; 5; 0.5; 0.05; 0.005 and 0.0005 ng) and reference sausages of beef:pork mixture (100%; 50%; 25%; 10%; 5% and 1%), recurrence tests were conducted 5 times replication.

The results of the analysis showed a specific pair of primers on the DNA of pigs and boars. Pig DNA efficiency is 109.5% and  $R^2 = 0.967$ , boar efficiency is 99.1% and  $R^2 = 0.999$ . The absolute detection limit of pig and boar DNA is 0.05 ng/μL and 0.5 ng/μL, the relative detection limit of pig sausage is 5% and boar sausage is 1%. The average RSD value in the analysis of the recurrence of pig and boar DNA was 4.210% and 3.611%. In the sample there is no detectable presence of dna of pigs and boars, quantitatively this method does not meet the validation requirements.

**Keywords:** real-time PCR, Pig DNA, Wild Boar DNA, Validation, Food Products.