

**Desain Primer dan Optimasi Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)
Spesifik *Salmonella* sp. untuk Pengembangan Metode Deteksi Patogen pada
Sampel Air Minum Isi Ulang**

Oswal Yuselman

ABSTRAK

Salah satu parameter kualitas air minum yang layak dikonsumsi tidak tercemar oleh *Salmonella* sp. yang dapat menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan (*Salmonellosis*). Pengujian analisis air menggunakan teknik PCR bersifat spesifik, sensitif, cepat dan cukup akurat mendeteksi dari asam nukleat target dalam sampel air minum. Penelitian ini bertujuan untuk mendesain primer spesifik gen *InvA* *Salmonella* sp., menguji spesifisitas primer hasil desain secara *in silico* dan *in vitro*, menentukan kondisi PCR yang optimum untuk deteksi *Salmonella* sp., menguji sensitivitas metode PCR deteksi *Salmonella* sp dan menganalisis hasil sekuensing deteksi *Salmonella* sp.

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dilakukan di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA UNP dari Desember 2020 - April 2021. Primer dirancang menggunakan *software* Geneious Prime dan Primer-BLAST NCBI. DNA diisolasi dari kultur murni *Salmonella* sp. dan beberapa bakteri lainnya untuk uji spesifisitas. Optimasi kondisi PCR dilakukan dengan PCR gradient, variasi konsentrasi primer, uji spesifisitas dan uji sensitivitas PCR. Produk PCR *Salmonella* sp. kemudian dikonfirmasi melalui metode sekuensing.

Penelitian ini telah berhasil merancang primer spesifik *Salmonella* yaitu *Salmonella_OY_Fwd* 5'-CCGTCTTATCTTGATTGAAGCCG-3' dan primer *Salmonella_OY_Rev* 5'-CGTCATGATATTCCGCCCA-3' dengan ampikon berukuran 559 bp. Primer hanya mengamplifikasi *Salmonella* sp. dan *Salmonella enterica* berdasarkan hasil uji spesifisitas secara *in silico*. Kinerja PCR optimum pada suhu annealing 59,5⁰C dengan konsentrasi primer 0,2 µM dan hasil akan spesifik menggunakan program *Touchdown* PCR dalam uji *in vitro*. Metode PCR sensitif mengamplifikasi DNA *Salmonella* sp. sampai konsentrasi 0,0005 ng/µl pada uji sensitivitas. Sekuensing menunjukkan bahwa gen yang diamplifikasi adalah gen *InvA* *Salmonella* sp.

Kata kunci: *Salmonella* sp., Desain Primer, Optimasi PCR, Air Minum isi Ulang.