Desain Primer dan Optimasi Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Spesifik *Escherichia coli* untuk Pengembangan Metode Deteksi Patogen Pada Sampel Air Minum Isi Ulang

Annisa Irna Putri

ABSTRAK

Kebutuhan air minum masyarakat terus meningkat. Kemudian dimanfaatkan oleh Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU). Air dari DAMIU harus diperhatikan kualitasnya. Bila buruk, akan berdampak pada kesehatan tubuh, menjadi habitat bakteri hidup dan media penyebaran penyakit. Pengujian kualitas air umumnya menggunakan uji mikrobiologis. Namun memiliki kelemahan seperti pengerjaannya lama dan kesulitan untuk mengkultur karena jumlahnya sedikit. Metode PCR memiliki keunggulan yaitu pengerjaannya cepat dan bisa bekerja walaupun mikroorganisme sedikit. Oleh sebab itu, perlu pengembangan metode mendeteksi mikroba indikator. *E.coli* dijadikan sebagai mikroba indikator keamanan makanan dan minuman. Tujuan penelitian ini mendesain primer dan mengoptimalkan metode PCR deteksi *E.coli* pada sampel air minum isi ulang.

Jenis penelitian ini adalah peneltian deskriptif yang dilakukan pada Februari-Juni 2021 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA UNP. Desain primer dilakukan dengan *software* Geneious Prime dan PrimerBLAST. Optimasi kondisi PCR dilakukan dengan memvariasikan suhu annealing dan konsentrasi primer. Spesifisitas primer diuji melalui PCR dengan DNA bakteri lain. Adapun sensitivitas diuji melalui PCR dengan pengenceran DNA *template* secara berseri. Produk PCR hasil optimasi kemudian dikonfirmasi dengan *sequencing.*

Penelitian ini menghasilkan dua pasang primer yaitu E.coli-AA *forward* 5'-ATGCAGTGGTTCCTTATCTCACA-3 *reverse* 5'-ATCCTTAATGGCACTGCGCT-3' dan E.coli-AIP *forward* 5'-CAGAACGTTTTTCATTCAGCAGG-3' *reverse* 5'-GCCACTACCAGATCGAGTCA-3'. Suhu annealing optimum kedua pasang primer 59,5^{o}C. Konsentrasi primer optimum E.coli-AA 0,4 µM dan E.coli-AIP 0,3 µM. Hasil uji spesifisitas primer E.coli-AA spesifik mengamplifikasi *E.coli* sedangkan E.coli-AIP mengamplifikasi *E.coli* dan *Shigella* sp. tetapi ukuran amplikon berbeda. Metode PCR ini memiliki sensitivitas yang baik. Hasil *sequencing* mengidentifikasi *E.coli* dengan kemiripan 100%.

Kata kunci: Desain primer, Optimasi PCR, *E.coli,* Air minum isi ulang