

ABSTRAK

Keysha Jamala Putri. 24020120140176. **Kajian Preliminer CRISPR/Cas12a untuk Deteksi Cepat dan Ultrasensitif Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Gen Virulensi *phzA2* Penyebab *Food-Borne Disease*.** Dibawah bimbingan Nurhayati dan Achmad Dinoto

Food-borne Disease dapat menimbulkan masalah kesehatan global yang signifikan. *Food-borne disease* merupakan salah satu penyakit yang diakibatkan oleh konsumsi makanan atau minuman yang telah tercemar oleh mikroorganisme patogen atau zat. Salah satu bakteri Gram negatif penyebab *Food-borne Disease* yang dapat mengkontaminasi bahan pangan adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Metode deteksi akurat keberadaan *P. aeruginosa* diperlukan untuk mengidentifikasi dan mengendalikan penyebaran patogen. Sistem CRISPR/Cas12a merupakan salah satu kandidat metode deteksi berbasis asam nukleat spesifik. Gen virulensi *phzA2* berperan penting dalam jalur biosintesis fenazin yang bertanggungjawab dalam kemampuan interaksi dan koinfeksi bakteri terhadap jaringan inang. Gen *phzA2* relatif konservatif dibandingkan mikroorganisme patogen lain, sehingga berpotensi sebagai penanda deteksi berbasis CRISPR/Cas12a yang sensitif dan spesifik dalam mengidentifikasi kontaminasi *P. aeruginosa*. Tujuan penelitian ini yaitu merancang dan menganalisis crRNA & primer *forward* serta primer *reverse* gen *phzA2* secara *in silico*, optimalisasi suhu *annealing* primer gen *phzA2*, menguji spesifisitas dan sensitivitas primer *phzA2*, menguji batas deteksi primer *phzA2* pada sampel pangan, dan menganalisis sekuensing gen *phzA2*. Tahapan penelitian ini yaitu pencarian sekuens gen *phzA2*, desain dan analisis crRNA serta primer gen *phzA2*, kultivasi dan rekultivasi isolat bakteri, ekstraksi DNA bakteri, pengenceran primer *phzA2*, PCR gen *phzA2*, uji spesifisitas dan sensitivitas, pengenceran bertingkat dan TPC, persiapan sampel *spike*, elektroforesis produk PCR, analisis sekuensing gen *phzA2*. Desain crRNA dilakukan menggunakan *software* Benchling dan *Primer3*, dianalisis berdasarkan persyaratan. Hasil optimasi suhu *annealing* pada 59°C menunjukkan band paling terang dan jelas. Hasil uji spesifisitas menunjukkan bahwa gen *phzA2* hanya terekspresi pada *P. aeruginosa* dan batas sensitivitas deteksi *P. aeruginosa* dengan gen *phzA2* adalah $5,3 \times 10^6$. Batas deteksi sampel *spike P. aeruginosa* yaitu yaitu 10^6

Keyword: *Food-borne Disease*, CRISPR/Cas12a, *Pseudomonas aeruginosa*, *phzA2*, Biosensor