

**DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *NESTED
POLYMERASE CHAIN REACTION* SEBAGAI DETEKSI
SPESIFIK BAKTERI *Escherichia coli***



Oleh:
NI MADE DELIABUDI APRILIAPATNI
NIM. P07134220024

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PRODI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2024**

**DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *NESTED
POLYMERASE CHAIN REACTION* SEBAGAI DETEKSI
SPESIFIK BAKTERI *Escherichia coli***

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Menyelesaikan Pendidikan Sarjana Terapan
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis**

Oleh:

**NI MADE DELIABUDI APRILIAPATNI
NIM. P07134220024**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PRODI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2024**

LEMBAR PERSETUJUAN

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *NESTED POLYMERASE CHAIN REACTION* SEBAGAI DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Escherichia coli*

Oleh :

NI MADE DELIABUDI APRILIAPATNI
NIM. P07134220024

TELAH MENDAPATKAN PERSETUJUAN

Pembimbing Utama



Burhannuddin, S.Si., M.Biomed
NIP. 198602282009121003

Pembimbing Pendamping



Nyoman Mastra, S.KM., S.Pd, M.Si
NIP. 196208181983031009

MENGETAHUI :

KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR



I Gusti Ayu Sri Dhyana Putri, S.KM., M.P.H.
NIP. 197209011998032003

SKRIPSI DENGAN JUDUL :

**DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *NESTED
POLYMERASE CHAIN REACTION* SEBAGAI DETEKSI
SPESIFIK BAKTERI *Escherichia coli***

Oleh :

NI MADE DELIABUDI APRILIAPATNI

NIM. P07134220024

TELAH DIUJI DI HADAPAN TIM PENGUJI

PADA HARI : RABU

TANGGAL : 24 APRIL 2024

TIM PENGUJI

1. Heri Setiyo Bakti, S.ST., M. Biomed (Ketua) ()
2. Burhannuddin S.Si., M.Biomed (Sekretaris) ()
3. I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM.,M.P.H. (Anggota) ()

MENGETAHUI :

**KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR**


I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.P.H.
NIP. 197209011998032003

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ni Made Deliabudi Apriliapatni

NIM : P07134220024

Program Studi : Sarjana Terapan

Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis

Tahun Akademik : 2023/2024

Alamat : Br. Pujung Kaja, Sebatu, Tegallalang, Gianyar

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi dengan judul Desain Primer dan Optimasi Metode *Nested Polymerase Chain Reaction* Sebagai Deteksi Spesifik Bakteri *Escherichia coli* adalah benar **karya sendiri atau bukan plagiat hasil karya orang lain.**
2. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa Skripsi ini **bukan** karya sendiri atau plagiat hasil karya orang lain, maka saya sendiri bersedia menerima sanksi sesuai Peraturan Mendiknas RI No.17 Tahun 2010 tentang Pencegahan dan Penanggulangan Plagiat di Perguruan Tinggi dan ketentuan perundang-undangan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Denpasar, 20 April 2024

Yang membuat pernyataan



: Deliabudi Apriliapatni
NIM. P07134220024

LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada Tuhan Yang Maha Esa sebagai wujud rasa

syukur atas segala tuntunan sepanjang masa pendidikan dan hidup saya,

Kepada Bapak/Ibu tenaga pendidik dan staf Jurusan Teknologi Laboratorium

Medis serta jajaran Direktorat Poltekkes Kemenkes Denpasar yang senantiasa

mendukung dan membersamai setiap langkah saya sebagai mahasiswa,

Kepada kedua orang tua dan saudara saya yang tanpa lelah memberi dukungan

finansial dan emosional dengan penuh keyakinan pada setiap pilihan saya,

Kepada seluruh sahabat yang senantiasa menyemangati,

Kepada saudara Renita yang telah berjuang bersama menghadapi tangis dan

tawa, gagal dan berhasil, baik dalam perkuliahan maupun di berbagai kompetisi,

Serta kepada diri saya sendiri yang telah belajar dan berupaya dengan sungguh-

sungguh hingga sampai di titik ini.

Mari jadikan skripsi ini sebagai tanda ketulusan perjalanan kita.

RIWAYAT PENULIS



Ni Made Deliabudi Apriliapatni atau yang akrab disapa Delia merupakan anak kedua dari tiga bersaudara yang lahir di Gianyar, 30 April 2002. Penulis mengawali pendidikan formal di SD Negeri 2 Sebatu pada tahun 2008 – 2014. Penulis menuntaskan Pendidikan sekolah menengah di SMP Negeri 1

Tegallalang pada tahun 2017 dan SMA Negeri 1 Gianyar pada tahun 2020. Penulis melanjutkan Pendidikan tinggi di Poltekkes Kemenkes Denpasar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis sejak tahun 2020 dengan mengambil program sarjana terapan. Melalui pendidikannya, penulis berharap dapat menjadi tenaga kesehatan yang berkualitas serta terus meningkatkan pengetahuannya dalam Upaya mendukung peningkatan kualitas kesehatan.

PRIMER DESIGN AND OPTIMIZATION OF *NESTED* POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD AS SPECIFIC DETECTION OF *Escherichia coli* BACTERIA

ABSTRACT

Escherichia coli is a bacterium that caused diarrhea, poisoning, meningitis, myositis, and primary bloodstream infections. The conventional methods which are the commonly used detection for *E. coli* has various disadvantages. Nested Polymerase Chain Reaction is a molecular examination with high specificity that requires complement primers to the target sequence. This study aimed to obtain the primer design and the optimal Nested PCR reaction as *E. coli* detection. The research conducted quantitative descriptive by in silico methods in primer design and in vitro method in optimization of Nested PCR. The results obtained two pairs of primers, F1 5'TCTCCGTGAAGCTGGTTTCC3' and R1 5'GCGACCAATCAGATCCACCA3' produced 509 bp amplicon, F2 5'ATCGGTGAAATACGCAGGCT3' and R2 5'TCGTCACCTTGAATGGCAGG3' produced 305 bp amplicon. The optimal reaction obtained for the first stage of Nested PCR carried out in 20 cycles, 300 mM primer concentration, and annealing temperature 55 °C. The second stage Nested PCR carried out in 35 cycles, 300 mM primer concentration, and annealing temperature 55 °C. The results of examination for suspected *E. coli* colonies obtained positive results in 7 out of 10 samples. It can be concluded that the primer with optimal Nested PCR reaction produced in the study can be used as detection of *E. coli* bacteria.

Keywords: Primer Design; Optimization; Nested Polymerase Chain Reaction; *Escherichia coli*

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *NESTED POLYMERASE CHAIN REACTION* SEBAGAI DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Escherichia coli*

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan bakteri penyebab diare, keracunan, meningitis, myositis, hingga infeksi aliran darah primer. Pemeriksaan yang umum dilakukan sebagai deteksi infeksi *E. coli* yaitu metode konvensional memiliki berbagai kelemahan. *Nested Polymerase Chain Reaction* merupakan metode pemeriksaan berbasis molekuler dengan spesifisitas tinggi yang memerlukan primer komplemen terhadap sekuen target. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan desain primer serta reaksi *Nested PCR* yang optimal sebagai deteksi spesifik bakteri *E. coli*. Jenis penelitian yaitu kuantitatif deskriptif yang terdiri dari metode *in silico* dalam desain primer dan *in vitro* dalam optimasi metode *Nested PCR*. Hasil penelitian didapatkan dua pasang primer, yaitu primer pertama F1 5'TCTCCGTGAAGCTGGTTTCC3' dan R1 5'GCGACCAATCAGATCCACCA3' menghasilkan produk 509 bp, primer kedua F2 5'ATCGGTGAAATACGCAGGCT3' dan R2 5'TCGTCACCTTGAATGGCAGG3' dengan ukuran produk 305 bp. Reaksi optimal yang didapat yaitu untuk *Nested PCR* tahap pertama dilakukan dalam 20 siklus, konsentrasi primer 300 mM, dan suhu *annealing* 55°C, serta untuk *Nested PCR* tahap kedua dilakukan dalam 35 siklus, konsentrasi primer 300 mM, dan suhu *annealing* 55°C. Hasil pemeriksaan koloni terduga *E. coli* didapatkan hasil positif pada 7 dari 10 sampel. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa desain primer dan reaksi *Nested PCR* yang dihasilkan dalam penelitian dapat digunakan sebagai deteksi bakteri *E. coli*.

Kata kunci: Desain Primer; Optimasi; *Nested Polymerase Chain Reaction*; *Escherichia coli*

RINGKASAN PENELITIAN

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *NESTED POLYMERASE CHAIN REACTION* SEBAGAI DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Escherichia coli*

Oleh: Ni Made Deliabudi Apriliapatni

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri penyebab keracunan, meningitis, myositis, hingga infeksi aliran darah primer. Selain itu, bakteri ini juga menjadi penyebab utama kejadian diare akut pada wisatawan dan penyebab diare berkepanjangan pada penderita HIV/AIDS. Menurut data dari *World Health Organization* (WHO), infeksi diare disebut sebagai penyebab kematian Balita kedua di Indonesia. Tingginya kasus kesakitan akibat infeksi bakteri *E. coli* menunjukkan pentingnya metode pemeriksaan yang tepat. Pemeriksaan *E. coli* umumnya diperiksa dengan metode konvensional. Namun, pemeriksaan ini tidak spesifik untuk mendeteksi bakteri tertentu termasuk *E. coli* karena dalam metode pemeriksaan akan terdeteksi berbagai jenis mikroba pada sampel. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan metode pemeriksaan yang lebih spesifik dengan menggunakan potongan pendek DNA untai tunggal yang disebut dengan primer. Perancangan primer harus memenuhi kriteria untuk amplifikasi dan spesifik terhadap gen target untuk menjamin keberhasilan amplifikasi. Penelitian menunjukkan bahwa sekuen bakteri dapat memiliki kemiripan hingga 99% sehingga memungkinkan sebuah primer mengamplifikasi lebih dari satu jenis bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa perancangan desain primer perlu didukung dengan penggunaan metode yang optimal sehingga dapat mendeteksi secara spesifik terhadap bakteri *E. coli*.

Berdasarkan permasalahan di atas, peneliti tertarik untuk merancang sebuah desain primer yang spesifik yang didukung dengan metode PCR optimal dalam mendeteksi bakteri *E. coli* secara spesifik. Pada penelitian ini dirancang dua pasang desain primer yang digunakan dalam dua reaksi PCR berurutan yang dikenal dengan *Nested PCR*. Tujuan penelitian yaitu untuk mendapatkan desain primer serta reaksi *Nested Polymerase Chain Reaction* yang optimal sebagai deteksi spesifik bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian kuantitatif deskriptif. Penelitian kuantitatif deskriptif merupakan jenis penelitian yang memberikan gambaran terhadap suatu data-data berupa angka yang dianalisis dan dibahas sebagai narasi dan bukan merupakan pembuktian dari sebuah hipotesis. Penelitian ini menerapkan metode *in silico* dalam perancangan dan analisis desain primer dan metode *in vitro* pada optimasi metode *Nested* PCR dalam mendeteksi bakteri *E. coli* secara spesifik. Optimasi *Nested* PCR dilakukan pada 1 sampel DNA *E. coli* murni (ATCC 25922). Komponen PCR yang dioptimasi meliputi jumlah siklus PCR tahap pertama, konsentrasi primer, dan suhu *annealing*. Setelah didapatkan reaksi yang optimal, dilakukan pemeriksaan *Nested* PCR pada 12 sampel yang terdiri dari 10 sampel DNA yang berasal dari koloni terduga *E. coli*, 1 NTC sebagai kontrol negatif, dan 1 sampel DNA *E. coli* ATCC 25922 sebagai kontrol positif. Optimasi dilakukan dalam dua tahap. Pada hasil optimasi *Nested* PCR tahap pertama, dipilih amplikon yang memberi hasil reaksi terbaik untuk dijadikan template *Nested* PCR tahap kedua.

Hasil penelitian telah didapatkan dua pasang primer. Primer pertama yang menghasilkan produk 509 bp, terdiri dari primer *forward* F1 5'TCTCCGTGAAGCTGGTTTCC3' serta primer *reverse* R1 5'GCGACCAATCAGATCCACCA3' dengan ukuran 20 bp, yang secara keseluruhan pasangan primer pertama memenuhi syarat karakteristik primer dan komplemen dengan 825 strain *E. coli*. Primer kedua yang menghasilkan produk 305 bp, terdiri dari primer *forward* F2 5'ATCGGTGAAATACGCAGGCT3' serta primer *reverse* R2 5'TCGTCACCTTGAATGGCAGG3' yang secara keseluruhan pasangan primer kedua memenuhi syarat karakteristik primer dan komplemen dengan 978 strain *E. coli*. Primer yang telah didapat kemudian dilakukan pengujian pada DNA koloni bakteri *E. coli* ATCC 25922 dan koloni terduga *E. coli*. Hasil ekstraksi DNA didapatkan sampel mengandung DNA dan gen 16s sebagai ciri keberadaan bakteri. Primer dan DNA kemudian digunakan dalam proses optimasi reaksi agar didapatkan *Nested* PCR terbaik dengan primer spesifik. Hasil optimasi *Nested* PCR didapatkan reaksi yang optimal pada pemeriksaan *E. coli* dengan desain primer spesifik yaitu *Nested* PCR tahap pertama dilakukan dalam 20 siklus dengan konsentrasi primer 300 mM dan suhu *annealing* 55°C serta *Nested* PCR

tahap kedua dilakukan dalam 35 siklus dengan konsentrasi primer 300 mM dan suhu *annealing* 55°C.

Setelah didapatkan primer spesifik dan reaksi *Nested* PCR optimal, dilanjutkan pada pengujian dengan metode *Nested* PCR menggunakan desain primer spesifik didapatkan hasil positif pada 7 dari 10 sampel ditunjukkan dengan munculnya *band* berukuran 305 bp pada gel elektroforesis. Sehingga dapat disimpulkan bahwa reaksi *Nested* PCR optimal dengan desain primer spesifik dapat digunakan sebagai deteksi *E. coli*. Penelitian ini merupakan tahap awal dengan fokus penelitian terkait dengan desain primer serta optimasi reaksi *Nested* PCR dalam deteksi bakteri *E. coli*. Penelitian ini perlu dilanjutkan hingga didapatkan metode pemeriksaan terbaik dalam deteksi *E. coli*. Peneliti selanjutnya dapat melanjutkan penelitian dengan melakukan pengujian berbagai sampel biologis maupun non biologis dengan reaksi *Nested* PCR optimal dan desain primer yang dihasilkan dalam penelitian ini.

Daftar bacaan: 64 (tahun 2015 – 2024)

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Desain Primer dan Optimasi Metode *Nested Polymerase Chain Reaction* Sebagai Deteksi Spesifik Bakteri *Escherichia coli*” dengan baik.

Skripsi ini dibuat sebagai laporan hasil penelitian yang bertujuan untuk menemukan desain primer dan reaksi *Nested Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang optimal dalam mendeteksi bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) secara spesifik. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Sri Rahayu, S.Tr. Keb., S.Kep., Ners., M.Kes., selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar yang telah memberikan kesempatan kepada penulis dalam mengikuti pendidikan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.
2. Ibu I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.PH. selaku ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah memberikan kesempatan menyusun skripsi.
3. Bapak Heri Setiyo Bakti, S.ST., M. Biomed selaku ketua program studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis atas dukungan dalam proses pembelajaran.
4. Bapak Burhannuddin, S.Si., M.Biomed. selaku pembimbing utama atas bimbingan materi dalam proses penyusunan skripsi.
5. Bapak Nyoman Mastra, S.KM., S.Pd, M.Si selaku pembimbing pendamping atas bimbingan penulisan dalam proses penyusunan skripsi.

6. Bapak I Gusti Ngurah Dwija Putra, A.Md. Kes, selaku pranata laboratorium atas bimbingan dalam pengujian di laboratorium.
7. Orang tua yang telah memberikan dukungan baik moral maupun materiil, sehingga pembuatan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar sesuai harapan penulis.
8. Rekan – rekan di jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar maupun di luar jurusan yang telah memberi dukungan serta menjadi rekan diskusi dalam penyusunan skripsi.
9. Semua pihak yang telah membantu dari awal proses penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran sangat diharapkan demi pengembangan penelitian di masa mendatang.

Denpasar, 8 Mei 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
RIWAYAT PENULIS	vii
ABSTRACT	viii
ABSTRAK	ix
RINGKASAN PENELITIAN	x
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah Penelitian.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. <i>Escherichia coli</i>	6

B.	Pemeriksaan Laboratorium <i>E. coli</i>	9
C.	<i>Polymerase Chain Reaction</i>	13
D.	Desain Primer	18
BAB III KERANGKA KONSEP		21
A.	Kerangka Konsep	21
B.	Variabel dan Definisi Operasional Variabel.....	22
BAB IV METODE PENELITIAN		25
A.	Jenis Penelitian	25
B.	Alur Penelitian.....	26
C.	Tempat dan Waktu Penelitian	26
D.	Sampel Penelitian	26
E.	Prosedur Kerja	27
F.	Jenis dan Teknik Pengumpulan Data.....	36
G.	Pengolahan dan Analisis Data	38
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		40
A.	Hasil Penelitian.....	40
B.	Pembahasan	51
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....		62
A.	Simpulan.....	62
B.	Saran	63
DAFTAR PUSTAKA		64
LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Definisi Operasional Variabel	23
Tabel 2 Komposisi Reaksi <i>Nested</i> PCR Tahap 1	33
Tabel 3 Komposisi Reaksi <i>Nested</i> PCR Tahap 2	33
Tabel 4 Kondisi <i>Nested</i> PCR Tahap 1.....	34
Tabel 5 Kondisi <i>Nested</i> PCR Tahap 2.....	34
Tabel 6 Karakteristik Primer Pertama	41
Tabel 7 Karakteristik Primer Kedua.....	42
Tabel 8 Hasil BLAST Desain Primer.....	43
Tabel 9 Analisis Hasil Ekstraksi DNA.....	44
Tabel 10 Hasil Optimasi <i>Nested</i> PCR	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 <i>Escherichia coli</i>	6
Gambar 2 Kerangka Konsep Penelitian	21
Gambar 3 Desain Penelitian.....	25
Gambar 4 Alur Penelitian.....	26
Gambar 5 Skema Optimasi <i>Nested</i> PCR.....	35
Gambar 6 Posisi Primer Pada DNA	40
Gambar 7 Analisis Kualitatif Hasil Ekstraksi	43
Gambar 8 Hasil Uji Keberadaan Gen 16s	45
Gambar 9 Hasil <i>Nested</i> PCR Tahap Pertama 35 Siklus	45
Gambar 10 Hasil <i>Nested</i> PCR Tahap Kedua dari Tahap Pertama 35 Siklus	46
Gambar 11 Hasil <i>Nested</i> PCR Tahap Pertama 30 Siklus	47
Gambar 12 Hasil <i>Nested</i> PCR Tahap Kedua dari Tahap Pertama 30 Siklus	47
Gambar 13 Hasil <i>Nested</i> PCR Tahap Pertama 20 Siklus	48
Gambar 14 Hasil <i>Nested</i> PCR Tahap Kedua dari Tahap Pertama 20 Siklus Sampel 1A I	49
Gambar 15 Hasil <i>Nested</i> PCR Tahap Kedua dari Tahap Pertama 20 Siklus Sampel 2A II.....	49
Gambar 16 Hasil Pemeriksaan Sampel Koloni Terduga <i>E. coli</i> Dengan Primer Spesifik dan Reaksi <i>Nested</i> PCR Optimal.....	50

DAFTAR SINGKATAN

ATGC	: Adenin, Timin, Guanin, Cytosine
Balita	: Anak di Bawah Lima Tahun
BGLB	: <i>Brilliant Green Lactose Bile Broth</i>
bp	: Base pair/pasang basa
cDNA	: <i>Complementary Deoxyribonucleic Acid</i>
CFA	: <i>Colonization Factor Antigen</i>
dATP	: <i>Deoxyadenosine triphosphate</i>
dCTP	: <i>Deoxycytosine triphosphate</i>
dGTP	: <i>Deoxyguanine triphosphate</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTP	: <i>Deoxyribonucleotide triphosphate</i>
dTTP	: <i>Deoxytimindin triphosphate</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid</i>
EMB	: <i>Eosin Methylene Blue</i>
H ₂ S ₂	: Hidrogen disulfida
kkal/mol	: Kilokalori/molar
LB	: <i>Lactose Bile Broth</i>
MCA	: <i>Mac-Conkey Agar</i>
Mg ²⁺	: Magnesium
MR	: <i>Methyl Red</i>
mRNA	: <i>Messenger- Ribonucleic Acid</i>
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i>
NTC	: <i>Non Template Control</i>

PCIA	: <i>Phenol Chloroform Isoamyl Alcohol</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SCA	: <i>Simmons Citrate Agar</i>
SDS	: Sodium Sulfat Anhidrat
Ta	: <i>Temperature annealing</i>
Tm	: <i>Temperature melting</i>
TSIA	: <i>Triple Sugar Iron Agar</i>
UV	: Ultraviolet
VP	: <i>Voge's Proskauer</i>
ΔG	: Delta G
ml	: mili liter
μl	: Mikro liter
mM	: Mili Molar
nM	: Nano Molar
F1	: Primer <i>Forward</i> 1
R1	: Primer <i>Reverse</i> 1
F2	: Primer <i>Forward</i> 2
R2	: Primer <i>Reverse</i> 2

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Etika Penelitian.....	70
Lampiran 2. Tabel hasil BLAST primer.....	72
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian.....	78
Lampiran 4. Hasil Uji Plagiasi	83
Lampiran 5. Lembar Validasi Bimbingan	87
Lampiran 6. Surat Pernyataan Persetujuan Publikasi Repository	88