

**DETEKSI BAKTERI PATOGEN DAN FERMENTATIF DARI PANGAN
MENGUNAKAN *REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION***
(Detection of Pathogenic and Fermentative Bacteria from Food by Real-Time
Polymerase Chain Reaction)

B. Sri Laksmi S. Jenie, Harsi D. Kusumaningrum, Siti Nurjanah
Dep. Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengembangkan metode deteksi bakteri patogen *Cronobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus* dan bakteri fermentatif *Lactobacillus plantarum* menggunakan *real-time* PCR (rt-PCR). Amplifikasi sekuens parsial gen 16S rRNA dengan menggunakan PCR konvensional dan primer spesifik 16 SUNI-L/Saka-2b menghasilkan amplicon sebesar 1000 bp. Protokol rt-PCR dapat digunakan untuk mendeteksi tiga isolat *Cronobacter sakazakii* mulai siklus ke-4 sampai ke-30. Protokol ini menunjukkan spesifitas yang baik dengan kemampuan membedakan antara *C. sakazakii* dan *C. muytjensii* dengan suhu puncak pelelehan (T_m) sebesar 85,0–85,5 °C. Analisis *L. plantarum* menggunakan rt-PCR dengan primer 1541R/9F dan *L. plantarum* sa28k sebagai kultur standar, berhasil mengamplifikasi isolat *L. plantarum* sa28k dan beberapa isolat *Lactobacillus* sp. dengan kondisi sesuai PCR konvensional. Protokol yang digunakan dapat mendeteksi spesies *L. plantarum* sa28k dan mengidentifikasi beberapa isolat *Lactobacillus* sp. ditandai dengan suhu pelelehan yang hampir sama yaitu 85,5 °C. Isolasi DNA *S. aureus* juga berhasil dilakukan dengan metode yang dikembangkan yang ditunjukkan dengan pita DNA pada hasil elektroforesis isolat DNA. Amplifikasi dengan primer 63F dan 1387R menghasilkan produk PCR berukuran 1350 bp, sedangkan amplifikasi dengan primer 16sF dan 16sR3 menghasilkan produk PCR berukuran 240 bp. Suhu pelelehan (T_m) gen penyandi 16S rRNA *S. aureus* yang diamplifikasi baik dengan primer 63F/1387R maupun 16sF/16sR3 menggunakan rtPCR berkisar antara 83–84,5 °C. Protokol rt-PCR yang dikembangkan mempunyai spesifitas yang baik dan dapat digunakan untuk mendeteksi bakteri uji.

Kata kunci: *Cronobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *real-time* PCR.

ABSTRACT

Protocol of detection method using real time PCR (rt-PCR) was developed for *Cronobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus plantarum*. Amplification of partial sequencing of 16S rRNA using conventional PCR and specific primer of 16 SUNI-L/Saka-2b resulted in 1000 bp amplicon. The rt-PCR protocol could be used to detect three isolates of *Cronobacter sakazakii* began at cycle 4 until cycle 30. This protocol showed good specificity with the ability to differentiate between *C. sakazakii* and *C. muytjensii* with the peak of melting temperatures (T_m) were at 85,0–85,5 °C. Analysis of *L. plantarum* using rt-PCR with 1541R/9F primer and *L. plantarum* sa28k as standard culture successfully amplified *L. plantarum* sa28k isolate and several isolates of *Lactobacillus* sp. under PCR conventional condition. The protocol could be able to detect *L. plantarum* sa28k species and identify several *Lactobacillus* sp. isolates indicated by the similar melting temperature at 85.5 °C. Isolation of *S. aureus* DNA was also successfully performed by the developed protocol represented by the DNA bands obtained from electrophoresis of the DNA isolate. Amplification using 63F and 1387R primers produced 1350 bp PCR product, while 16sF dan 16sR3 primers produced

240 bp PCR product. Melting temperatures of the encoded gene of 16S rRNA *S.aureus* amplified either by 63F/1387R or 16sF/16sR3 primers using rtPCR ranged between 83–84,5 °C. The developed protocol had good specificity and can be used to detect the test bacteria using rt-PCR.

Keywords: *Cronobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, real-time PCR.