Syntax Literate: Jurnal Ilmiah Indonesia p–ISSN: 2541-0849
e-ISSN: 2548-1398
Vol. 7, No. 11, November 2022

APLIKASI *BASIC LOCAL ALIGNMENT SEARCH TOOL (BLAST) NCBI* PADA PENELITIAN MOLEKULER *SALMONELLA* SPP

Mahdalena Anwar, Siti Nurjanah*, Winiati P. Rahayu*
Institut Pertanian Bogor, Indonesia
Email: Mahdalena_anwar@apps.ipb.ac.id, sity_nr@apps.ipb.ac.id, Wpr@apps.ipb.ac.id

Abstrak

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) merupakan *tool* pada *website NCBI* yang banyak digunakan pada penelitian mikrobiologi molekuler. Tujuan penelitian ini adalah melakukan r*eview* sistematik dari fungsi program *BLAST* dan menentukan parameter penting yang diaplikasikan pada penelitian *Salmonella* asal produk pangan. *Salmonella* spp. menjadi fokus karena bakteri ini terdiri dari banyak serovar yang memiliki variasi dalam mekanisme virulensi, perbedaan patogenitas dan adaptasi *Salmonella* terhadap inangnya. Pencarian artikel dilakukan dengan menggunakan mesin pencari *PUBMED* dan *Google Scholar,* dengan penentuan kriteria artikel dengan menggunakan metode *PICO (problem/population, intervention, comparation, outcome),* dan penyeleksian artikel dengan menggunakan metode PRISMA. Hasil penelitian terseleksi 30 artikel yang masuk dalam kriteria. Fungsi *BLAST* diaplikasikan pada 4 fungsi yaitu: (1) mengidentifikasi sekuens, (2) menemukan DNA target dengan efisien, (3) menyimpulkan fungsi gen dan menduga *domain architecture* dari struktur proteinnya, serta (4) merancang primer. *BLAST NCBI* yang digunakan adalah *BLAST*n, *BLAST*p serta PRIMER *BLAST*. Aplikasi tersebut dapat digunakan dengan memperhatikan parameter penting pada empat fungsi tersebut.

Kata kunci: *NCBI, BLAST, Salmonella, BLASTn, BLASTp , PrimerBLAST*

Abstract

The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) is a tool from NCBI that is widely used in molecular microbiology research. The objective of this study was to conduct a systematical review of the BLAST's functions and determine the important parameters that applied to Salmonella spp. research obtained food products. Salmonella spp. become the focus of this study because it consists of many serovars that have variations in virulence mechanisms, differences in pathogenicity and adaptation of Salmonella to its host. Article searches are carried out using PUBMED and Google Scholar search engines by determining criteria using the PICO (problem / population, intervention, comparation, outcome) method, and article selection using the PRISMA method. The results of the study were selected 30 articles that fulfilled the criteria. The BLAST functions were applied into 4 functions, namely: (1) identifying sequences, (2) finding target DNA efficiently, (3) inferring gene function and estimating the domain architecture of its protein structure, and (4) designing primers. Blast NCBI used were BLASTn,

BLASTP and PRIMER BLAST. The application can be used by paying attention to the critical parameters of the four functions.

Keywords: *NCBI, BLAST, Salmonella, BLASTn, BLASTp, Primer-BLAST*

Pendahuluan

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) banyak digunakan pada tahapan penelitian molekuler (Achyar, Atifah, & Putri, 2021). Hal ini dikarenakan *BLAST* dapat memberikan informasi biologis hingga ketingkat serovar dari sekuens yang diamati. Fungsi *BLAST* antara lain dapat mengidentifikasi sekuens, menemukan DNA target dengan efisien, menyimpulkan fungsi gen dan menduga *domain architecture* dan struktur proteinnya, serta merancang primer (Akinola, Mwanza, & Ateba, 2019). *Salmonella enterica* memiliki lebih dari 2600 serovar (Issenhunt-Jean *et al.* 2019). Perbedaan serovar *Salmonella* memungkinkan adanya perbedaan pada mekanisme virulensi, perbedaan patogenitas dan adaptasi *Salmonella* terhadap inangnya (Alarjani, Elkhadragy, Al-Masoud, & Yehia, 2021). Produk pangan yang dilaporkan paling sering terkontaminasi *Salmonella* adalah produk peternakan dan rantai pengolahan produk pangan (Álvarez-Fernández, 2013). *Nucleotide BLAST (BLASTn*) merupakan *tool* yang berfungsi membandingkan suatu sekuen nukleotida (*query sequence*) yang dimiliki dengan *database* sekuen nukleotida, *BLASTn* banyak digunakan pada penelitian yang menggunakan sekuens nukelotida sebagai *raw* datanya. *Protein BLAST (BLASTp)* dapat membandingkan suatu sekuen asam amino yang menyusun protein yang ingin diamati dengan database (Arunima et al., 2020).

Primer *BLAST* digunakan untuk mendesain primer spesifik target. Primer menjadi faktor penting dalam proses pengamplifikasi DNA (PCR). Primer akan menemukan target gen spesifik sehingga dapat diamplifikasi dan diidentifikasi. Salah satu karakteristik primer yang harus diperhatikan adalah spesifisitas primer terhadap target. primer yang optimal adalah primer yang hanya akan mengamplifikasi target gen yang dituju (Bano et al., 2020). Primer-*BLAST* digunakan untuk menemukan region dari antar sekuens yang memiliki kemiripan dengan mengkalkulasikan sekens yang cocok secara statistic (Bejerano, Seldin, Margalit, & Tishby, 2001). Penelitian ini bertujuan melakukan ulasan sistematik aplikasi *tools analyze BLAST NCBI* berdasarkan empat fungsi *BLAST* menurut Ladunga (2017) pada penelitian *Salmonella* di produk pangan dan menyusun parameter penting pada aplikasi 4 fungsi *BLAST* tersebut (Bell, Jarvis, Ottesen, McFarland, & Brown, 2016).

Metode Penelitian

Analisis dilakukan melalui tiga tahapan yaitu (1) penentuan kriteria artikel dengan menggunakan metode *PICO (problem/population, intervention, comparation, outcome)* (2) penyeleksian artikel dengan menggunakan metode PRISMA, (3) melakukan review aplikasi *BLAST* dan mengelompokkan berdasarkan tujuan penelitian atau fungsi *BLAST*, serta menentukan parameter penting yang menjadi unsur utama

dalam aplikasi. Pencarian artikel dilakukan dengan mesin pencari *PUBMED* dan *Google Scholar* (Boratyn et al., 2013).

Penentuan kriteria artikel dengan menggunakan metode *PICO*

Pemilihan artikel mengikuti kriteria inklusi dan ekslusi metode *PICO (problem/population, intervention, comparation, outcome*/hasil) (Pollock dan Berger *et al*. 2017) (Tabel 1).

Tabel 1. Inklusi dan ekslusi PICO

Kriteria	Inklusi	Ekslusi
Problem/population	Jurnal terakreditasi yang berhubungan dengan topik penelitian aplikasi *BLAST NCBI* pada penelitian *Salmonella* pada pangan	Jurnal tidak berhubungan dengan topik penelitian aplikasi *BLAST NCBI* pada penelitian *Salmonella* pada pangan
Intervention	Termasuk yang menggunakan intervensi ataupun tidak	Tidak ada ekslusi
Comparation	Termasuk yang menggunakan faktor pembanding ataupun tidak	Tidak ada ekslusi
Outcome	Adanya data aplikasi *BLAST NCBI* berdasarkan 4 fungsi pada penelitian *Salmonella* pada bidang pangan	Tidak adanya data aplikasi *BLAST NCBI* berdasarkan 4 fungsi pada penelitian *Salmonella* pada bidang pangan
Tahun Terbit	Jurnal atau artikel yang terbit 10 tahun terakhir (2012)	Jurnal atau artikel yang terbit dibawah 10 tahun terakhir (2012)
Bahasa	Bahasa Inggris dan Bahasa Indonesia	Selain Bahasa Inggris dan Bahasa Indonesia

Seleksi Artikel dengan Metode PRISMA

Seleksi dilakukan dengan menggunakan metode PRISMA (*Identification, Screening, Eligibility* (Bustin & Huggett, 2017)*, Inclusion and Exclusion*) (Cha et al., 2020). Artikel diperoleh dari sumber terakreditasi (PUBMED dan *Google Scholar*) dengan kata kunci : *'BLAST'* , '*Salmonella'* kemudian disesuaikan dengan topik berdasarkan 4 fungsi *BLAST* menurut Ladunga (2017) dan pangan yang paling banyak ditemukan cemaran *Salmonella* menurut Gast dan Porter jr. (2020) (Chen, Zhong, Luo, Zhang, & Huang, 2019). Tahapan ini mengumpulkan 30 artikel yang memenuhi kriteria (Tabel 2)

Tabel 2. Seleksi Artikel Dengan Metode PRISMA

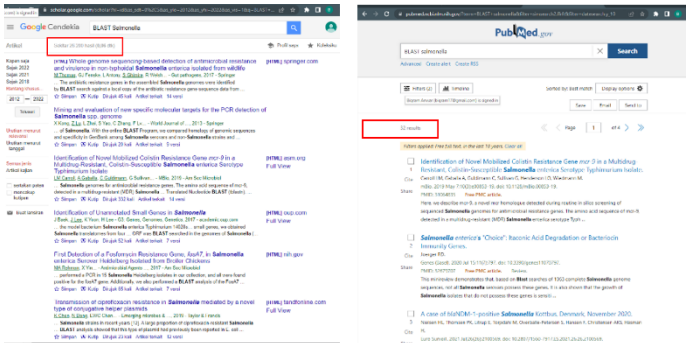
PRISMA	PUBMED	SCHOLAR	Total
Pencarian artikel berdasarkan *keyword "BLAST", Salmonella* pada 10 tahun terakhir	32	26200	26232
Seleksi berdasarkan topik penelitian	2	66	68
Seleksi berdasarkan judul, abstrak dan *full paper*	2	28	30
Total Inklusi			30
Total Ekslusi			26202

Review artikel dan Penentuan Parameter penting

Ulasan artikel dilakukan dengan menganalisis kebutuhan data dengan melakukan ekstraksi informasi untuk dilakukan identifikasi dan melakukan evaluasi terhadap suatu permasalahan (Cheng, Eade, & Wiedmann, 2019) yang sesuai dengan pembahasan 4 fungsi *BLAST* berdasarkan Ladunga (2017) dan aplikasi *BLAST* pada penelitian *Salmonella* pada produk pangan serta menyusun parameter penting dari fungsi tersebut (Choudhury et al., 2016).

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelusuran menggunakan kata kunci *Salmonella* dan *BLAST,* mesin pencarian jurnal *Google Scholar* dan *PUBMED* menemukan sebanyak masing-masing 26200 dan 32 artikel (Gambar 1)



Gambar 1. Penelusuran kata kunci *Salmonella* dan *BLAST* pada Google Scholar dan PUBMED

Hasil seleksi artikel secara bertahap Google Scholar dan PUBMED didapatkan 30 jurnal penelitian yang memanfaatkan fungsi *BLAST* (Tabel 2).

Tabel 2. Daftar Jurnal Sesuai Dengan Pemanfaatan *BLAST*

Kata Kunci	Literatur	Jumlah
Identifikasi, deteksi sekuens dengan menggunakan *tool NCBI*	Mkangara 2020) (Bano et al, 2020) (Rosniawati et al. 2020) (Akinola et al. 2019) (Alarjani et al. 2021) (Can et al. 2014) (Teti et al. 2019) (Pal *et al.* 2017)	8

BLASTn	(Samantha *et al.* 2013)	
Menemukan sekuens DNA/ RNA target dengan *tool NCBI BLASTn*	Elabed *et al.* 2016) (Su *et al.* 2018) (Hennebery *et al.* 2012) (Cha *et al.* (2020) (Li *et al.* 2013) (Zhai *et al.* 2014) (Rehman *et al.* 2017) (Sallam *et al.* 2014) Uddin *et al.* (2021) (Sarjit *et al.* 2022)	10
Menyimpulkan fungsi *exon dan domain architechture*	Arunima *et al.* (2021)	1
Merancang desain primer dengan *Primer BLAST*	(Melati et al. 2022) (Achyar et al. 2020) (Zhai et al. 2018) (Sahu et al. 2019) (Muhsinin et al. 2018) (Gong et al. 2016) (Gao et al. 2017) (Nurjanah et al. 2018) (Singh et al. 2014) (Choudury et al. 2016) (Tomar et al. 2014)	11
Total		30

Fungsi 1 *BLAST*: Mengidentifikasi Sekuens

Pencarian sekuens homolog menjadi langkah informatif pada analisis identifikasi organism (Elabed, Merghni, Hamza, Bakhrouf, & Gaddour, 2016). *BLAST* melakukan pencarian sekuens homolog dengan cara menyaring data sesuai dengan *filter* yang ditentukan untuk menemukan kemiripan sekuens pada *database* (Forslund, Pekkari, & Sonnhammer, 2011). Dalam identifikasi sekuens, pemilihan urutan sekuens target, pemilihan lokasi dan anotasi sekuens yang tepat akan memberikan prediksi yang lebih akurat untuk mengidentifikasi suatu sekuens organisme (Gao et al., 2018)

Fungsi *BLAST* banyak diaplikasikan pada penelitian *Salmonella* yang berasosiasi dengan kontaminasinya pada pangan (Gast & Porter Jr, 2020). Penggunaan *BLAST* dalam penelitian pada fungsi 1 ini banyak digunakan untuk melakukan deteksi dan identifikasi serovar *Salmonella* berdasarkan sekuens pada pangan. Analisis identifikasi bakteri dapat menggunakan fitur *BLASTn* pada program *BLAST NCBI* (Gong et al., 2016). *BLASTn* merupakan fitur pada *BLAST* yang dapat membandingkan suatu query sequence yang diinginkan dengan database sekuen nukleotida yang ada pada *database* NCBI (Hennebry et al., 2012). Penelitian yang mengaplikasikan fungsi ini antara lain dilakukan oleh Mkangara *et al.* (2020) menggunakan *BLASTn* untuk mengidentifikasi informasi serovar pada isolat ayam kampung, hasil *BLAST* menunjukkan isolat merupakan *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strain 14028 dan *Salmonella enterica* subspecies enterica serovar Typhimurium strain 14028. Bano *et al* (Hung & Weng, 2016). (2020) menggunakan *BLAST* untuk mendeteksi keberadaan bakteri pathogen pada *raw milk*. Hasil *BLAST* menunjukkan adanya keberadaan *S*. aureus dan *Salmonella* sp. Rosniawati *et al* (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). (2020) menggunakan *BLAST* dalam penelitiannya untuk mendeteksi *Salmonella* pada sampel ayam goreng. Hasil *BLAST* menunjukkan bahwa sampel terdeteksi *Salmonella* Typhimurium strain FORC_030, S. Bergen strain ST350, S. Enteritidis strain FORC_052, S. Enteritidis strain GD1011, S. Typhi strain 541, dan S (Kumar & Chordia, 2015). Typhi strain 3N4 dengan tingkat *percent coverage* sebesar 99%. Alarjani *et al.* (2021) melaporkan berdasarkan hasil *BLAST* terdeteksi cemaran *Salmonella Enterica* subs *in the enterica* ser Typhimurium dan *Salmonella Spp* (Ladunga, 2009).

Samantha *et al.* (2013) melaporkan hasil *BLAST* pada keseluruhan 8 isolat *Salmonella* terdapat dua *Salmonella* yaitu 6 sampel *Salmonella Enteritidis* dan 2 sampel *Salmonella* Typhimurium pada *backyard poultry*. Akinola *et al* (Baoguang Li & Chen, 2013). (2019) mengidentifikasi banyak serovar *Salmonella* pada isi perut ayam. Pal *et al.* (2017) Hasil *BLAST* menunjukkan sekuens isolat memiliki kemiripan yang tinggi

dengan serovar poultry lainnya pada *database* yaitu *Salmonella* enterica serovar Gallinarum strain 9184 (accession no. CP019035.1) dan *Salmonella* Enteritidis strain OLF 00D 98987-1 (accession no. CP011942.1) (Ruichao Li et al., 2013)

Aplikasi fungsi 1 pada penelitian *Salmonella* memiliki parameter penting yang mempengaruhi hasil *BLAST* diantaranya yaitu menentukan gen target berdasarkan dugaan serovar (Madden, 2013), data *query sequence, reference sequence.* Langkah awal yang dibutuhkan dalam menentukan gen target adalah memilih urutan basa spesifik yang banyak ditemukan pada spesies tersebut dan tidak ada pada bakteri lain. Gen 16S rRNA merupakan gen target yang digunakan dalam identifikasi mikroorganisme prokariot. Penentuan gen target dipilih wilayah urutan basa yang disebut *hypervariable region* yang menjadi ciri khas dari bakteri tersebut (Mahram & Herbordt, 2010). Gen target yang banyak digunakan pada penelitian deteksi dan identifikasi adalah gen invasif *InvA* (Melati, Nurjanah, & Rahayu, 2022). Penggunaan gen ini sebagai target potensial adalah karena gen ini ditemukan spesifik pada strain *Salmonella* (Mkangara, Mbega, & Chacha, 2020). Selain menggunakan gen *invA* Penggunaan gen target lain dilakukan Nurjanah *et al.* (2018) dengan menggunakan *gen STM* dan plasmid virulen *Prot6E* spesifik untuk *Salmonella* Typhimurium dan *Salmonella* Enteritidis dan tidak mendeteksi serovar lain (Muhsinin, Sulastri, & Supriadi, 2019). Pemilihan region yang tepat juga merupakan faktor paling penting dalam melakukan konfirmasi deteksi dan identifikasi strain Salmonella dengan menggunakan *BLAST*. Region yang dipilih harus merupakan *conserved sequence* pada strain tersebut Hal ini menunjukkan bahwa faktor pemilihan region atau *conserved sequence* pada deteksi merupakan faktor yang penting. Buehler et al. (2018) (Nurjanah, Rahayu, & Mutaqin, 2018).

Parameter penting lainnya adalah data *query sequence.* Data ini didapatkan dari hasil analisis sekuensing, *query sequence* harus memiliki Panjang sequence yang tidak terlalu sedikit, *query sequence* juga harus mengandung gen target spesifik untuk identifikasi (Pal et al., 2017)

Sequence reference merupakan referensi sekuens yang ada pada *database* NCBI. Untuk mendapatkan *sequence reference, query sequence* dianalisis dengan *BLAST.* Pemilihan *query sequence* dipilih berdasarkan beberapa parameter yaitu *percent coverage, Percent coverage* didapatkan dari penghitungan jumlah basa yang identik dibagi dengan Panjang *alignment,* hasil persentasi semakin mendekati 100% maka akan semakin akurat juga hasilnya (Pearson, 2013). Algoritma *BLAST* juga akan melihat *expect value* (*e-value*) sebagai pertimbangan analisisnya (Pollock & Berge, 2018).

Fungsi 2 *BLAST*: Menemukan DNA Target Dengan Efisien

Berdasarkan jurnal yang telah di review, aplikasi penggunaan *BLAST* pada *Salmonella* dengan memanfaatkan fungsi *BLAST* yaitu menemukan DNA target dengan efisien dapat diaplikasikan untuk berbagai macam tujuan, seperti untuk mengembangkan metode deteksi *Salmonella* dengan menggunakan gen target spesifik (Rehman, Yin, Persaud-Lachhman, & Diarra, 2017), untuk menemukan gen yang bertanggung jawab *(overexpression)* pada *Salmonella* dengan kondisi lingkungan tertentu atau terpapar faktor stress untuk menemukan gen pada *Salmonella* yang memiliki karakteristik tertentu seperti ketahanan terhadap antimikroba atau antibiotic (Rinanda, 2011).

Elabed *et al.* (2016) melaporkan hasil *BLAST* bahwa gen yang bertanggung jawab pada kondisi stress kekurangan makanan dan salinitas tinggi pada *Salmonella* Typhimurium adalah gen sopA, ssaD, yhhK, gmK, cspC, uspA, ompR, phoP, stcC, fimA, acrA, andyehZ. Hennebry *et al* (Rosniawati, Rahayu, Kusumaningrum, Indrotristanto, & Nikastri, 2020). 2012) Hasil *BLAST* menunjukkan bahwa gen *TLP*

(Transthyretin-Like Protein) merupakan gen yang peran dalam *survival* pada kondisi urea tinggi pada *Salmonella* Typhimurium pada kondisi urea tinggi (pada fecal ayam). Zhai *et al* (Sahu et al., 2019). (2014) juga melaporkan pada penelitiannya bahwa *BLAST* menemukan 16 gen target spesifik untuk deteksi *Salmonella* Paratyphi B. Pengerucutan gen target dapat dilakukan dengan metode lab (Sallam, Mohammed, Hassan, & Tamura, 2014).

Li *et al.* (2013) melaporkan bahwa hasil *BLAST* menunjukkan keberadaan 5 grup gen resisten, dfrA12–aadA2 dfrA1–aadA1, dfrA1, blaPSE dan dfrA1/aadA2 pada isolate *Salmonella* yang berasal dari babi (Samanta et al., 2014), bebek dan ayam di Sichuan, China. Su *et al.* (2018) melaporkan hasil *BLAST* menunjukkan keberadaan gen PMQR and mcr-1 pada isolat *Salmonella* yang berasal dari babi yang terkena diare.(Sarjit, Ravensdale, Coorey, Fegan, & Dykes, 2021). (2019) melaporkan hasil *BLAST* menunjukkan keberadaan gen yang merespon pemberian kondisi stress *heatshock* fadA, rpoH, rpoE, rpoD, rpoS, fkpA, cpxP, ibpA htrA, htpG, cypD, gyrA, ompC, dnaJ, dnaK, yggX, grpE, rdgB, pspA, groEL dan gen yang merespon kondisi kekeringan yaitu gen rpoS, otsB, hilA, dnaK, grpE, proV, sseD, sopD, STM1494 pada *Salmonella* yang berasal dari daging merah (Selçuk, 2019).

Fungsi *BLAST* untuk menemukan DNA target yang memiliki karakteristik seperti resisten antimikroba atau antibiotic pada *Salmonella* dilakukan oleh Cha *et al.* (2020) hasil *BLAST* menunjukkan sekuens nukleotida dari mcr-9 *transconjugant* TrECJ53-KUFSESAL043 yang diisolasi memiliki 100% kemiripan dengan data sekuens gen mcr-9 pada *database*.(Sheridan & Venkataraghavan, 1992). (2017) melaporkan *BLAST* memberikan konfirmasi keberadaan gen baru resisten Fosfomycin (fosA7) pada *Salmonella enterica* serovar Heidelberg yang ada pada ayam broiler. Uddin *et al.* (2021) melaporkan *BLAST* menkonfirmasi keberadaan gen mcr-1 pada empat isolat *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Typhimurium dalam penelitian deteksi gen *mcr-1* dan *multidrug antimicrobial resistance.* (Nicholas A Stover & Cavalcanti, 2014). (2014) melaporkan *BLAST* mengidentifikasi keberadaan gen *stn (*enterotoksin) penyebab diare pada 272 isolat *Salmonella* (Naomi A Stover & Cavalcanti, 2017)*a.*

Parameter penting yang perlu diperhatikan pada aplikasi fungsi 2 pada penelitian *Salmonella* pada pangan antara lain pengkondisian kultur (*treatment*) untuk gen target. Faktor ini akan berperan dalam memunculkan ekspresi gen atau gen yang merespon kondisi tersebut. Toleransi bakteri terhadap faktor stress tergantung pada pengkondisian faktor lingkungan (Su et al., 2018), selanjutnya adalah *Query Sequence*. Sekuens yang diperoleh dari hasil sekuensing ini merupakan sekuens untuk melakukan pencarian DNA target dengan cara dibandingkan dengan *Sequence Reference. BLAST* memberikan pilihan banyak *database* dimana yang paling banyak digunakan adalah *database nr* (nukleotida dan protein *redundant* yang tersimpan di *GenBank, EMBL* dan DDBJ (Farida & Agustini, 2019) Pemilihan hasil *BLAST* yang menunjukkan daftar *possible* gen dapat melihat pada skor maksimal semakin tinggi semakin baik yang dihitung dari akumulasi perhitungan *e-value* jika hasilnya semakin kecil semakin baik (Tomar, Jyoti, Mishra, Shrivastava, & Kaushik, 2014). Pada *BLAST* terdapat *percent coverage* yaitu persentase dari panjang urutan sekuens yang masuk ke *alignment* atau persentase kecocokan urutan basa subjek semakin tinggi persentase maka hasilnya akan makin valid yaitu 99-100%. *False positive* dapat disebabkan oleh adanya beberapa kemiripan region antara gen target dan gen lain pada *BLAST* selain wilayah dari 1000-1200 bp, sehingga ukuran *base pair* tersebut merupakan ukuran yang paling optimal untuk deteksi *Salmonella* (Uddin et al., 2021).

Fungsi 3: Menyimpulkan Fungsi Gen dan Menduga *Domain Architecture* Dari Struktur Proteinnya

Domain Architechture memberikan peran penting dalam kompleksitas protein fungsional. *Domain architechture* merupakan kombinasi dari sekuens protein yang memiliki fungsi yang setara (Wahyuni, Saraswati, & Dewi, 2020)a Aplikasi fungsi 3 ini dapat menggunakan *BLASTp* yaitu fitur yang menganalisis sekuens protein. *Penggunaan BLASTp* dalam analisis *domain architechture* dilakukan (Ye et al., 2012) mengungkapkan bahwa hasil *BLAST* menunjukkan ortholog pada *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strain P125109 (WT) (nomor aksesi CAR33115.1) dengan *sequence reference* urutan protein YdeI dari *Salmonella* enterica serovar Typhimurium strain SL1344 (nomor aksesi HAD6491983.1) ortholog pada dengan kesamaan urutan sebesar 100% (Yu et al., 2019).

Parameter penting yang perlu diperhatikan pada aplikasi fungsi 3 adalah sekuens protein, sekuens protein *reference*. Pada hasil *BLASTp* hasil *BLAST* antara sekuens protein dibandingkan dengan sekuens protein reference terbaik adalah hasil protein yang memiliki nilai *e-value* yang rendah dan *percent identity* yang tinggi (Engki, n.d.) pemilihan *sequence protein* untuk analisis *domain architechture* harus memiliki setidaknya satu *domain signature*. *Domain signature* merupakan domain yang menbawa fungsi biologis spesifik (Schneider et al., 2005). Sekuens *domain signature* merupakan pola dari asam amino dengan panjang residu 1050 dan diasosiasikan dengan struktur fungsional protein (Zhai et al., 2014)

Fungsi 4: Merancang Primer

BLAST juga dapat digunakan untuk merancang primer. Penggunaan *BLAST NCBI* (Primer *BLAST*) sebagai program untuk memfasilitasi desain primer banyak digunakan secara luas untuk merancang primer untuk metode pendeteksian mikroba, (Ladunga, 2017).

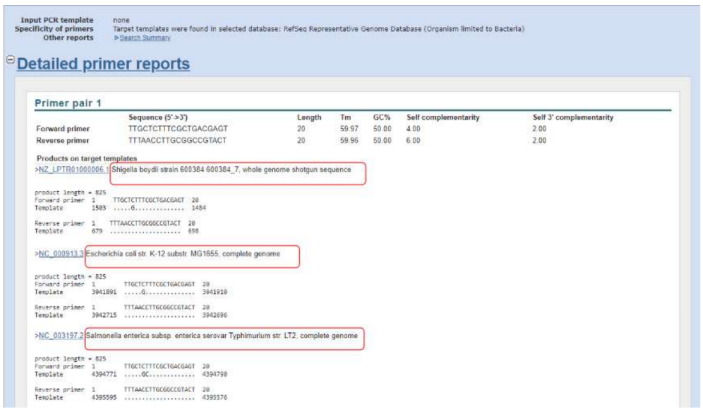
Berdasarkan jurnal yang telah di *review*, aplikasi penggunaan *BLAST* pada *Salmonella* digunakan untuk merancang primer atau untuk menganalisis spesifitas primer secara *in silico* untuk deteksi *Salmonella* dengan menggunakan PCR, untuk mendapatkan hasil yang tepat dibutuhkan spesifitas dan sensitivitas primer pada mikroba. Sensitivas dan spesifitas yang baik akan ditentukan oleh berbagai faktor krusial seperti suhu annealing (tm) dan G/C content yang seimbang. Primer yang baik juga harus menghindari terjadinya self-complementary dan struktur hairpin dan primer yang baik tidak boleh ada primer dimer (Ye *et al.* 2012).

Analisis primer secara *in silico* dilakukan untuk memberikan prediksi suatu hasil penelitian dengan menggunakan pendekatan bioinformatik, sehingga dapat memberikan efisiensi pada penelitian. Prinsip kerja dari desain primer pada analisis *in silico* yaitu menentukan target identifikasi dengan melakukan pengumpulan informasi sebanyak-banyaknya dari data sekuens target., karena memiliki target amfilifikasi yang jelas sangat penting untuk keberhasilan primer, (*database* mining) . Pengumpulan informasi data sekuens mengasumsikan kekerabatan sekuens dengan nomenklaturnya serta perlu memastikan tidak pengujian tidak memperbanyak pseudogen, kemudian tahapan selanjutnya mendefinisikan properti pengujian sebagai integrasi antara anplikon dan krakteristik primer (Bustin dan Huggit 2017).

Melati *et al.* (2022) merancang primer gen virulensi *invA* untuk identifikasi dan sekuensing *Salmonella* pada sampel karkas ayam dengan menggunakan *Primer BLAST* dengan sampel uji *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) dan *Salmonella* spp. pada

karkas ayam. Sekuens gen *Salmonella invA* diambil dari GenBank (*Salmonella* Typhimurium dengan nomor aksesi M90846.1) , lalu atur parameter, lalu pilih kemudian dilakukan klik '*get primer'* dan didapatkan hasil sebanyak 22 primer kemudian diseleksi lagi hingga didapatkan primer dengan urutan *forward* GCCGGTGAAATTATCGCCAC dan *reverse* CTCGTAATTCGCCGCCATTG memiliki panjang amplikon 1486. hasil pengujian spesifitas Primer *BLAST* dapat diketahui bahwa primer tersebut spesifik pada 110 jenis *serovar Salmonella* tidak dapat mendeteksi sekuen bakteri yang memiliki kemiripan sekuen DNA yang tinggi dengan *invA* pada *Salmonella* spp. (Klebsiella, *Citrobacter* sp., *Serratia* sp*., Hafnia* sp. *, E*. coli).

Dalam merancang primer, mengetahui bahwa primer yang kita miliki memiliki spesifitas terhadap mikrooragnisme target merupakan suatu hal yang diperlukan agar mendapatkan hasil dan mendapatkan mikroba target dengan tepat. Peneliti yang merancang desain dapat melakukan analisis untuk mengetahui spesifitas primer dengan cara *in silico* dan dengan analisis lab. Analisis spesifitas dengan primer, menggunakan alat bionformatika, salah satunya yang paling banyak digunakan adalah dengan menggunakan *BLAST.* Muhsinin *et al.* (2018) menggunakan *primer BLAST* untuk merancang primer pada penelitiannya untuk mendeteksi gen *invA* pada *Salmonella* dengan metode PCRm. Tomar *et al.* (2014) Menggunakan *Primer-BLAST* untuk merancang primer dan menganalisis spesifitas primer untuk digunakan pada deteksi *Salmonellae* dan *E. coli* yang berasal dari air dengan menggunakan RT PCR dengan *SYBR Green* secara *in silico* hasil primer yang didapatkan adalah primer *invA Forward* GAGGGCCTGGACGATAACAG dan *reverse* AGGACACGACTTCATCGGAA dengan Panjang amplicon 20 bp , tm sebesar 58,75-59,89 C dan GC% sebesar 60 dan 50 dengan spesifitas yang baik terhadap *Salmonellae.*Analisis *in silico* spesifitas primer dilakukan oleh Achyar *et al.* (2020) pada penelitian pengembangan metode deteksi bakteri pantogen pada sampel air minum isi ulang. Tahapan pengujian spesifitas primer secara *in silico* dilakukan untuk melakukan prediksi keberhasilan primer dalam mendeteksi bakteri pathogen pada sampel air minum, sehingga dapat memberikan efisiensi penggunaan bahan dan waktu pada penelitian. Tahapan pengujian spesifitas primer dengan Primer-*BLAST*, menunjukkan hasil bahwa *primer pair* dapat mengamflifikasi gen 16s RNA dari *E. coli, Salmonella* dan *Shigella* dengan ukuran produk 825 bp. (Gambar 2)



Gambar 2. Detailed primer reports (Achyar *et al.* 2020)

Analisis spesifitas dengan tool *NCBI BLAST* dilakukan dengan cara memasukkan sekuens DNA primer yang diperoleh ke dalam tool Primer-*BLAST* pada

kolom '*use my own forward/reverse primer*', kemudian melakukan klik '*Get primer'* dan diperoleh hasil pada gambar yang menunjukkan karakteristik primer dan target product template yang dapat terdeteksi. Zhai *et al.* (2018) melakukan analisis spesifitas primer pada penelitian pengembangan metode amplifikasi real time sekuens asam nukleat untuk deteksi secara cepat *Salmonella* spp. dari pangan. Peneliti menggunakan Primer-*BLAST* untuk melakukan analisis spesifitas primer dengan hasil primer spesifik pada strain target (*Salmonella*) tanpa ada bakteri non-*Salmonella*.

Sahu *et al.* (2019) melakukan analisis spesifitas primer dengan tool *BLAST* dalam penelitiannya untuk mendeteksi secara cepat kontaminasi *Salmonella* pada makanan laut dengan multiplex *PCR*. Analisis *NCBI-BLAST* dari urutan nukleotida yang diperoleh dari amplikon *PCR* set primer C (Aksesi GenBank No. AY593967.1) menunjukkan homologi 100% dengan semua serovar genus *Salmonella* dan 0% dengan semua strain non-*Salmonella*. Analisis *in silico* ini (data tidak diberikan) menyimpulkan bahwa set primer C yang dirancang dalam penelitian ini dapat mendeteksi adanya anggota genus *Salmonella*. Gong *et al*. (2016) menggunakan Primer *BLAST* untuk melakukan analisis spesifitas primer yang akan digunakan untuk mendeteksi gen *sefA* pada *Salmonella* Enteritidis dan *Salmonella* Gallinarum pada ayam dengan menggunakan PCR. Singh et al. (2014) juga menggunakan *primer BLAST* untuk analisis spesifitas primer yang dimiliki pada penelitian pengembangan metode deteksi *Salmonellae* pada air dengan SYBR Green RT PCR.

Gao *et al.* (2017) merancang primer dalam penelitian untuk amplifikasi polimerase rekombinase dikombinasikan dengan aliran lateral dipstick untuk deteksi *Salmonella* dalam kerang. Penggunaan Primer-*BLAST* ada pada tahapan perancangan desain primer dan probe dengan berdasarkan target gen *invA*. Choudhury *et al.* 2016) menggunakan *Primer-BLAST* untuk melakukan analisis spesifitas primer hasil analisis menunjukkan bahwa primer memiliki spefisitas yang baik pada berbagai serovar *Salmonella enterica* dari berbagai sumber mulai dari hewan ternak, burung dan manusia.

Menurut Nurjanah *et al.* (2018) yang melakukan analisis spesifitas dengan mengkombinasikan tool primer-*BLAST*, tool MEGA *software*, dan analisis menggunakan RT-*PCR* serta menggunakan tiga gen target yaitu *InvA*, STM, dan Prot6E, pasangan primer yang baik ditandai dengan nilai Ct yang lebih rendah pada hasil RT-*PCR*, kemudian *InvA* menunjukkan sensitivitas tertinggi. Efisiensi *PCR* yang baik diperoleh dari gen STM dan Prot6E yang ditargetkan. Sehingga menunjukkan bahwa metode ini dapat diterapkan untuk mendeteksi *Salmonella* sp. Hasil dari analisis Primer *BLAST* dan MEGA menunjukkan bahwa semua primer memiliki spesifisitas yang tinggi untuk target serovar.

Berdasarkan pembahasan diatas, merancang primer merupakan tahapan penting pada penelitian dengan menggunakan RT-*PCR* untuk berbagai tujuan seperti melakukan deteksi, mengetahui prevalensi dan lain sebagainya, tool pada *NCBI* yang digunakan dalam merancang primer adalah dengan menggunakan tool Primer-*BLAST* dan menganalisa spesifitas primer dengan menggunakan primer-*BLAST* dan *BLAST*n. Primer ideal dipilih dengan melihat pada 3 komponen utama seperti suhu *melting*, GC % *content* dan *self complimentary sequences*. Gen target dapat dipilih dengan menggunakan *conserved domain* pada *Salmonella* seperti *invA*, *STM, Prot6E, hilA* yang dapat diperoleh melalui pencarian sekuens di *database NCBI* atau berasal dari hasil sekuensing sendiri. Kemudian dapat dilakukan perancangan primer dengan menggunakan tool *NCBI* Primer-*BLAST*.

Menurut Chen *et al.* (2018) *False positive* dapat terjadi karena adanya beberapa kemiripan region antara *invA* dan gen lain pada *BLAST* selain wilayah dari 1000-1200 bp, sehingga merupakan ukuran bp optimal untuk deteksi gen *invA* pada *Salmonella*. Primer spesifik berfungsi sebagai penanda dan pembatas untuk proses amplifikasi sekuen DNA saat proses *PCR*. Keberhasilan primer pada proses amplifikasi ditandai dengan ketepatan primer menempel pada DNA cetakan. Desain primer secara *in silico* merupakan teknik baru untuk menghasilkan kandidat primer spesifik dengan alat komputasi. Hasil dari desain primer *in silico* dapat digunakan untuk mendeteksi sekuen DNA dan melihat spesifisitas amplifikasi sekuen DNA target. merancang primer spesifik secara *in silico* adalah untuk melakukan prediksi pada primer untuk mengamplifikasi DNA target sebelum dilakukan pengujian secara in vitro sehingga dapat melakukan penelitian dengan efisien (Wahyuni *et al.* 2020).

Parameter penting yang perlu diperhatikan dalam analisis fungsi 4 ini antara lain sekuens reference gen target, melting temperature, GC Content%, suhu annealing, dan panjang primer, kemudian untuk analisis spesifitas adalah sekuens primer *forward* dan primer reverse. Dalam pemilihan sekuens reference target pemilihan gen target sesuai dengan gen penyandi yang yang ingin dideteksi. Sekuens yang didapat dianalisis berdasarkan start kodon dan stop kodon pada sekuens gen yang dicari kemudian melting temperature pemilihan primer yang tepat akan membuat primer *forward* dan *reverse* memisah dengan baik. Pemilihan primer ada baiknya dipilih primer yang memiliki suhu melting yang tidak terlalu jauh biasanya berkisar 55-65 C. kemudian GC Content sekitar 40-60%, dan self complementary. Semakin kecil makan hasilnya semakin baik (Álvarez-Fernández 2013).

Pada hasil primer-*BLAST* akan menampilkan beberapa kandidat primer, lalu untuk pemilihan primer yang paling ideal adalah dengan memperhatikan suhu Tm (Melting temperature) dari primer forward dan reverse. Tm harus sama atau hanya memiliki sedikit perbedaan suhu (tidak lebih dari 1o celcius). Kemudian hal yang harus diperhatikan adalah komposisi GC % content. GC % content yang ideal adalah harus pada kisaran 40-60%, lalu melihat pada Self complimentary dari primer, makin kecil angka self complimentary lebih baik karena semakin kecil kemungkinan primer membentuk hairpin ataupun primer dimer dan pilih dengan amplicon terpanjang (Hung dan Weng 2016).

Tabel 3. Parameter penting dari aplikasi 4 fungsi BLAST

Fungsi	Menu *BLAST*	Parameter penting	Persyaratan yang baik dari parameter
Fungsi 1	*BLASTn*	1. Gen target berdasarkan dugaan serovar	-Memiliki spesifitas yang baik/ tidak dapat mendeteksi *bakteri non Salmonella* dan Gen target yang dipilih adalah daerah yang menjadi ciri spesifik dari dugaan serovar atau *(Hypervariable region)*
		2. Data q*uery sequence*	Sekuens memiliki kemurnian yang baik dan tidak ada kontaminasi protein, mengandung wilayah/ urutan basa gen target spesifik,= dan memiliki panjang sekuens yang sesuai
		3. *Reference sequence*	Sekuens memiliki skor *percent identity* yang tinggi (99-100%), memiliki skor e-value yang rendah
Fungsi 2	*BLASTn*	1. Pengkondisian	Pemberian perlakuan lingkungan atau *treatment*

		kultur (*treatment)*	pada isolate untuk mendapatkan ekspresi dari gen target
		2. Gen target	Merupakan gen yang menjadi ciri spesifik/unik dari serovar tersebut
		3. Data *query sequence*	Sekuens memiliki kemurnian yang baik dan tidak ada kontaminasi protein, mengandung wilayah/ urutan basa gen target spesifik, panjang sekuens cukup
		4. *Reference sequence*	Sekuens memiliki skor *percent identity* yang tinggi (99-100%) dan memiliki skor e-value yang rendah
Fungsi 3	*BLASTp*	1. *Query Sequence*	Sekuens memiliki kemurnian yang baik atau tidak ada kontaminasi, memiliki minimal 1 *domain signature*
		2.Sekuens protein *reference*	Sekuens memiliki skor *percent identity* yang tinggi (99-100%), sekuens memiliki skor e-value yang rendah
Fungsi 4	Primer-*BLAST*	1. *Reference* gen target	Sekuens merupakan gen spesifik/ unik yang ada pada bakteri target deteksi
		2. *Sequence* Primer	Sekuens memiliki *melting temperature* yang sama atau tidak jauh berbeda (tidak lebih dari 1^{o} C), memiliki GC *content %* antara 40-60%, memiliki skor e-value rendah (*self complementary*)
		Dan karakteristiknya (panjang primer, *tm,* GC *content%,* dan suhu *annealing*	(minim terjadi struktur *hairpin* dan *primer dimer),* Memiliki amplicon terpanjang dan suhu *annealing* yang berdasarkan perhitungan (tm^{o}-5^{o})

Kesimpulan

Jumlah artikel yang masuk dalam kriteria diperoleh sebanyak 30 artikel. Fungsi *BLAST* diaplikasikan pada 4 fungsi yaitu: (1) mengidentifikasi sekuens, (2) menemukan DNA target dengan efisien, (3) menyimpulkan fungsi gen dan menduga *domain architecture* dari struktur proteinnya, serta (4) merancang primer. *BLAST NCBI* yang digunakan adalah *BLAST*n, *BLAST*p serta PRIMER *BLAST*. Aplikasi tersebut dapat digunakan dengan memperhatikan parameter penting pada empat fungsi tersebut. Parameter penting tersebut adalah gen target berdasarkan dugaan serovar, data *query sequence, reference sequence* (fungsi 1), pengkondisian kultur (*treatment*), gen target, data *query sequence, reference sequence* (fungsi 2), sekuens protein dan sekuens protein *reference* (fungsi 3), reference gen target serta karakteristik dari sekuens primer yaitu panjang primer, melting temperature, GC Content%, suhu annealing (fungsi 4).

BIBLIOGRAFI

Achyar, A., Atifah, Y., & Putri, D. H. (2021). In silico study of developing a method for detecting pathogenic bacteria in refillable drinking water samples. *Journal of Physics: Conference Series*, *1940*(1), 12061. IOP Publishing.

Akinola, Stephen Abiola, Mwanza, Mulunda, & Ateba, Collins Njie. (2019). Occurrence, genetic diversities and antibiotic resistance profiles of Salmonella serovars isolated from chickens. *Infection and Drug Resistance*, *12*, 3327.

Alarjani, Khaloud M., Elkhadragy, Manal F., Al-Masoud, Abdulrahman H., & Yehia, Hany M. (2021). Detection of Campylobacter jejuni and Salmonella typhimurium in chicken using PCR for virulence factor hipO and invA genes (Saudi Arabia). *Bioscience Reports*, *41*(9).

Álvarez-Fernández, Rubén. (2013). Explanatory chapter: PCR primer design. In *Methods in enzymology* (Vol. 529, pp. 1–21). Elsevier.

Arunima, Aryashree, Swain, Sunil Kumar, Patra, Saumya Darshana, Das, Susmita, Mohakud, Nirmal Kumar, Misra, Namrata, & Suar, Mrutyunjay. (2020). Role of OB-fold protein ydei in stress response and virulence of salmonella enterica serovar enteritidis. *Journal of Bacteriology*, *203*(1), e00237-20.

Bano, Syeda Asma, Hayat, Munazza, Samreen, Tayyaba, Asif, Mohammad, Habiba, Ume, & Uzair, Bushra. (2020). Detection of pathogenic bacteria Staphylococcus aureus and Salmonella sp. from raw milk samples of different cities of Pakistan. *Natural Science*, *12*(05), 295.

Bejerano, Gill, Seldin, Yevgeny, Margalit, Hanah, & Tishby, Naftali. (2001). *Extraction of Protein Domains and Signatures through Unsupervised Statistical Sequence Segmentation*.

Bell, Rebecca L., Jarvis, Karen G., Ottesen, Andrea R., McFarland, Melinda A., & Brown, Eric W. (2016). Recent and emerging innovations in Salmonella detection: a food and environmental perspective. *Microbial Biotechnology*, *9*(3), 279–292.

Boratyn, Grzegorz M., Camacho, Christiam, Cooper, Peter S., Coulouris, George, Fong, Amelia, Ma, Ning, Madden, Thomas L., Matten, Wayne T., McGinnis, Scott D., & Merezhuk, Yuri. (2013). BLAST: a more efficient report with usability improvements. *Nucleic Acids Research*, *41*(W1), W29–W33.

Bustin, Stephen, & Huggett, Jim. (2017). qPCR primer design revisited. *Biomolecular Detection and Quantification*, *14*, 19–28.

Cha, Min Hyeok, Woo, Gun Jo, Lee, Woojung, Kim, Seok Hwan, Woo, Jung Ha, Kim, Junyoung, Ryu, Jae Gee, Kwak, Hyo Sun, & Chi, Young Min. (2020). Emergence of transferable mcr-9 gene-carrying colistin-resistant Salmonella enterica Dessau

ST14 isolated from retail chicken meat in Korea. *Foodborne Pathogens and Disease*, *17*(11), 720–727.

Chen, Zhi guang, Zhong, Hai xia, Luo, Huan, Zhang, Ren yu, & Huang, Jun rong. (2019). Recombinase polymerase amplification combined with unmodified gold nanoparticles for Salmonella detection in milk. *Food Analytical Methods*, *12*(1), 190–197.

Cheng, Rachel A., Eade, Colleen R., & Wiedmann, Martin. (2019). Embracing diversity: differences in virulence mechanisms, disease severity, and host adaptations contribute to the success of nontyphoidal Salmonella as a foodborne pathogen. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 1368.

Choudhury, Mridusmita, Borah, Probodh, Sarma, Hridip Kumar, Barkalita, Luit Moni, Deka, Naba Kumar, Hussain, Isfaqul, & Hussain, Md Iftikar. (2016). Multiplex-PCR assay for detection of some major virulence genes of Salmonella enterica serovars from diverse sources. *Current Science*, 1252–1258.

Elabed, Hamouda, Merghni, Abderrahmen, Hamza, Rim, Bakhrouf, Amina, & Gaddour, Kamel. (2016). Molecular analysis of the adaptive response in Salmonella Typhimurium after starvation in salty conditions. *The Journal of Infection in Developing Countries*, *10*(01), 74–81.

Engki, Zelpina. (n.d.). *Similarity-Non-Thypoid Salmonella Causes Food-borne Diseases Causing: Prevention and Control*.

Farida, Muthia, & Agustini, Dian. (2019). Sistem Informasi Data Akademik Sekolah Pada Mts. Al–Furqon Banjarmasin. *Technologia: Jurnal Ilmiah*, *10*(2), 64–67.

Forslund, Kristoffer, Pekkari, Isabella, & Sonnhammer, Erik L. L. (2011). Domain architecture conservation in orthologs. *BMC Bioinformatics*, *12*(1), 1–14.

Gao, Weifang, Huang, Hailong, Zhu, Peng, Yan, Xiaojun, Fan, Jianzhong, Jiang, Jinpo, & Xu, Jilin. (2018). Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow dipstick for equipment-free detection of Salmonella in shellfish. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *41*(5), 603–611.

Gast, Richard K., & Porter Jr, Robert E. (2020). Salmonella infections. *Diseases of Poultry*, 717–753.

Gong, Jiansen, Zhuang, Linlin, Zhu, Chunhong, Shi, Shourong, Zhang, Di, Zhang, Linji, Yu, Yan, Dou, Xinhong, Xu, Bu, & Wang, Chengming. (2016). Loop-mediated isothermal amplification of the sefA gene for rapid detection of Salmonella Enteritidis and Salmonella Gallinarum in chickens. *Foodborne Pathogens and Disease*, *13*(4), 177–181.

Hennebry, Sarah C., Sait, Leanne C., Mantena, Raju, Humphrey, Thomas J., Yang, Ji, Scott, Timothy, Kupz, Andreas, Richardson, Samantha J., & Strugnell, Richard A.

(2012). Salmonella typhimurium's transthyretin-like protein is a host-specific factor important in fecal survival in chickens. *PLoS One*, *7*(12), e46675.

Hung, Jui Hung, & Weng, Zhiping. (2016). Designing polymerase chain reaction primers using Primer3Plus. *Cold Spring Harbor Protocols*, *2016*(9), pdb-prot093096.

Issenhuth-Jeanjean, Sylvie, Roggentin, Peter, Mikoleit, Matthew, Guibourdenche, Martine, De Pinna, Elizabeth, Nair, Satheesh, Fields, Patricia I., & Weill, François Xavier. (2014). Supplement 2008–2010 (no. 48) to the white–Kauffmann–Le minor scheme. *Research in Microbiology*, *165*(7), 526–530.

Kumar, Anil, & Chordia, Nikita. (2015). In silico PCR primer designing and validation. In *PCR primer design* (pp. 143–151). Springer.

Ladunga, Istvan. (2009). Finding homologs in amino acid sequences using network BLAST searches. *Current Protocols in Bioinformatics*, *25*(1), 3–4.

Li, Baoguang, & Chen, Jin Qiang. (2013). Development of a sensitive and specific qPCR assay in conjunction with propidium monoazide for enhanced detection of live Salmonellaspp. in food. *BMC Microbiology*, *13*(1), 1–13.

Li, Ruichao, Lai, Jing, Wang, Yang, Liu, Shuliang, Li, Yun, Liu, Kunyao, Shen, Jianzhong, & Wu, Congming. (2013). Prevalence and characterization of Salmonella species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China. *International Journal of Food Microbiology*, *163*(1), 14–18.

Madden, Thomas. (2013). The BLAST sequence analysis tool. In *The NCBI Handbook [Internet]. 2nd edition*. National Center for Biotechnology Information (US).

Mahram, Atabak, & Herbordt, Martin C. (2010). Fast and accurate NCBI BLASTP: Acceleration with multiphase FPGA-based prefiltering. *Proceedings of the 24th ACM International Conference on Supercomputing*, 73–82.

Melati, R. P., Nurjanah, S., & Rahayu, W. P. (2022). Desain Primer Gen Virulensi invA untuk Identifikasi dan Sekuensing Salmonella pada Sampel Karkas Ayam. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, *10*(2), 91–97.

Mkangara, Mwanaisha, Mbega, Ernest R., & Chacha, Musa. (2020). Molecular identification of Salmonella Typhimurium from village chickens based on invA and spvC genes. *Veterinary World*, *13*(4), 764.

Muhsinin, Soni, Sulastri, Maria Martina, & Supriadi, Dadih. (2019). Deteksi Cepat Gen InvA pada Salmonella spp. Dengan Metode PCR. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, *5*(3), 191–200.

Nurjanah, Siti, Rahayu, Winiati P., & Mutaqin, L. S. (2018). Detection method for Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis using Real-Time Polymerase

Chain Reaction. *Intl J Eng Technol*, *7*, 302–306.

Pal, Susmita, Dey, Samir, Batabyal, Kunal, Banerjee, Abhiroop, Joardar, Siddhartha Narayan, Samanta, Indranil, & Isore, Devi Prasad. (2017). Characterization of Salmonella Gallinarum isolates from backyard poultry by polymerase chain reaction detection of invasion (invA) and Salmonella plasmid virulence (spvC) genes. *Veterinary World*, *10*(7), 814.

Pearson, William R. (2013). An introduction to sequence similarity ("homology") searching. *Current Protocols in Bioinformatics*, *42*(1), 1–3.

Pollock, Alex, & Berge, Eivind. (2018). How to do a systematic review. *International Journal of Stroke*, *13*(2), 138–156.

Rehman, Muhammad A., Yin, Xianhua, Persaud-Lachhman, Marissa G., & Diarra, Moussa S. (2017). First detection of a fosfomycin resistance gene, fosA7, in Salmonella enterica serovar Heidelberg isolated from broiler chickens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *61*(8), e00410-17.

Rinanda, Tristia. (2011). Analisis sekuensing 16S rRNA di bidang mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, *11*(3), 172–177.

Rosniawati, Teti, Rahayu, Winiati Pudji, Kusumaningrum, Harsi Dewantari, Indrotristanto, Nugroho, & Nikastri, Eva. (2020). Prevalence and level of Salmonella spp. Contamination on selected pathways of preparation and cooking of fried chicken at the household level. *Food Science and Technology*, *41*, 41–46.

Sahu, Brundaban, Singh, Shiva D., Behera, Bijay Kumar, Panda, Satyen Kumar, Das, Abhishek, & Parida, Pranaya Kumar. (2019). Rapid detection of Salmonella contamination in seafoods using multiplex PCR. *Brazilian Journal of Microbiology*, *50*(3), 807–816.

Sallam, Khalid Ibrahim, Mohammed, Mahmoud Ahmed, Hassan, Mohammed Ahmed, & Tamura, Tomohiro. (2014). Prevalence, molecular identification and antimicrobial resistance profile of Salmonella serovars isolated from retail beef products in Mansoura, Egypt. *Food Control*, *38*, 209–214.

Samanta, I., Joardar, S. N., Das, P. K., Sar, T. K., Bandyopadhyay, S., Dutta, T. K., & Sarkar, U. (2014). Prevalence and antibiotic resistance profiles ofSalmonella serotypes isolated from backyard poultry flocks in West Bengal, India. *Journal of Applied Poultry Research*, *23*(3), 536–545.

Sarjit, Amreeta, Ravensdale, Joshua T., Coorey, Ranil, Fegan, Narelle, & Dykes, Gary A. (2021). Survival of Salmonella on red meat in response to dry heat. *Journal of Food Protection*, *84*(3), 372–380.

Schneider, Petra, Wolters, Liselotte, Schoone, Gerard, Schallig, Henk, Sillekens, Peter, Hermsen, Rob, & Sauerwein, Robert. (2005). Real-time nucleic acid sequence-

based amplification is more convenient than real-time PCR for quantification of Plasmodium falciparum. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(1), 402–405.

Selçuk, Ayşe Adin. (2019). A guide for systematic reviews: PRISMA. *Turkish Archives of Otorhinolaryngology*, *57*(1), 57.

Sheridan, Robert P., & Venkataraghavan, R. (1992). A systematic search for protein signature sequences. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, *14*(1), 16–28.

Stover, Naomi A, & Cavalcanti, Andre R. O. (2017). Using NCBI BLAST. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, *14*(1), 11.

Stover, Nicholas A, & Cavalcanti, Andre R. O. (2014). Using NCBI BLAST. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, *8*(1), 11.

Su, Jin Hui, Zhu, Yao Hong, Ren, Tian Yi, Guo, Liang, Yang, Gui Yan, Jiao, Lian Guo, & Wang, Jiu Feng. (2018). Distribution and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from pigs with diarrhea in China. *Microorganisms*, *6*(4), 117.

Tomar, RAJESH SINGH, Jyoti, ANURAG, Mishra, RAGHVENDRA K., Shrivastava, VIKAS, & Kaushik, SHUCHI. (2014). In-silico designing of SYBR Green based Real-Time PCR array for the quantification of Salmonellae and Enterotoxigenic Escherichia coli in water. *Eur. Acad. Res*, *1*, 5945–5958.

Uddin, Md Bashir, Hossain, S. M. Bayejed, Hasan, Mahmudul, Alam, Mohammad Nurul, Debnath, Mita, Begum, Ruhena, Roy, Sawrab, Harun-Al-Rashid, Ahmed, Chowdhury, Md Shahidur Rahman, & Rahman, Md Mahfujur. (2021). Multidrug antimicrobial resistance and molecular detection of MCR-1 gene in Salmonella species isolated from chicken. *Animals*, *11*(1), 206.

Wahyuni, Febriana Dwi, Saraswati, Henny, & Dewi, Kartika Sari. (2020). In-Silico Analysis for cryI gene amplification from Bacillus thuringiensis. *BIOEDUKASI*, 8–14.

Ye, Jian, Coulouris, George, Zaretskaya, Irena, Cutcutache, Ioana, Rozen, Steve, & Madden, Thomas L. (2012). Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*, *13*(1), 1–11.

Yu, Lijia, Tanwar, Deepak Kumar, Penha, Emanuel Diego S., Wolf, Yuri I., Koonin, Eugene V, & Basu, Malay Kumar. (2019). Grammar of protein domain architectures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *116*(9), 3636–3645.

Zhai, Ligong, Yu, Qian, Bie, Xiaomei, Lu, Zhaoxin, Lv, Fengxia, Zhang, Chong, Kong, Xiaohan, & Zhao, Haizhen. (2014). Development of a PCR test system for specific detection of Salmonella Paratyphi B in foods. *FEMS Microbiology Letters*, *355*(1), 83–89.

Copyright holder:
Nama Author (Tahun Terbit)

First publication right:
Syntax Literate: Jurnal Ilmiah Indonesia

This article is licensed under:

