

# Optimasi primer dengan target gen dnaK untuk deteksi dan kuantifikasi Bifidobacterium animalis subspecies lactis menggunakan kuantitatif real-time PCR = Primer optimization target genes dnaK to detection and quantification Bifidobacterium animalis subspecies lactis quantification using quantitative real-time PCR

Zaenal Arifin, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20346888&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

Translokasi bakteri merupakan kejadian yang diinisiasi oleh adanya reaksi inflamasi pada permukaan usus dan dapat menyebabkan terjadinya sepsis. *Bifidobacterium anima/is* subspecies *lactis* merupakan salah satu bakteri probiotik yang dapat memberikan efek anti-inflamasi, sehingga dapat menghambat terjadinya translokasi bakteri. Gen *dnaK* merupakan sekuen penanda yang dapat digunakan untuk deteksi *B. anima/is* subsp. *lactis*. Optimasi dilakukan untuk mendapatkan pasangan primer optimal dalam kuantifikasi *B. anima/is* subsp. *lactis* dengan metode kuantitatif Real-time PCR. Isolat DNA diisolasi dari sampel feses bayi menggunakan metode fenol-kloroform. Pasangan primer dirancang berdasarkan sekuen gen *dnaK* *B.animalis* subsp.*lactis* [ABOTO1000010.1] menggunakan program pri mer3. Optimasi primer dilakukan menggunakan 5 konsentrasi berbeda, yaitu 50/50, 100/100, 300/300, 500/500, dan 1.000/1.000 nM. Konsentrasi optimal pasangan primer F\_HN019\_dnaK dan R\_HN019\_dnaK untuk kurva standar adalah 1.000/ 1.000 nM dengan nilai efisiensi 95.397% dan R2 0,998. Konsentrasi pasangan primer 50/50--1.000/1.000 nM dapat digunakan untuk kuantifikasi DNA target dengan kisaran nilai Ct sebesar 16,13--31,89. Konsentrasi primer dan DNA sampel tidak berpengaruh dan berkorelasi terhadap nilai Ct. Konsentrasi sampel DNA target terkecil yang dapat terkuantifikasi dengan baik oleh pasangan primer F\_HN019\_dnaK dan R\_HN019\_dnaK 300/ 300 nM sampai dilusi 10-4 Pasangan primer F\_HN019\_dnaK dan R\_HN019\_dnaK dapat dikembangkan untuk kuantifikasi *B. anima/is* subsp. *lactis* dalam sampel feses bayi pada kejadian sepsis.

.....Bacterial translocation is an event that is initiated by the presence of an inflammatory reaction at the surface of the intestine and can lead to sepsis. *Bifidobacterium anima/is* subspecies *lactis* is a probiotic bacterium that can provide anti-inflammatory effect, so as to prevent the occurrence of bacterial translocation. *dnaK* is a marker gene sequences that can be used for detection of *B. anima/is* subsp. *lactis*. Optimization is performed to obtain optimal primer pair in quantifying *B. anima/is* subsp. *lactis* by the method of real-time quantitative PCR. Isolate DNA were isolated from infant feces samples using phenol-chloroform method. Primer pairs designed based on gene sequences *B.anima/is* subsp.*lactis* *dnaK* f ABOTO1000010.11 using primer3 program. The primary optimization is done using 5 different concentrations, namely 50/50, 100/100, 300/300, 500/500, and 1.000/1.000 nM. F HN019 *dnaK* optimal primer pair concentrations and R HN019 *dnaK* for standard curve were 1,000 I 1,000 nM with 95,397% efficiency values and R2 0,998. 50/50--1.000/1.000 nM concentration of primer pairs can be used for quantification of the target DNA with a range of Ct values of 16.13 to 31, 89. Primer concentration and DNA samples have no effect and relation with the Ct value. The smallest concentration of the target DNA sample that can be quantified well by F\_HN019\_dnaK and R\_HN019\_dnaK primer pair 300/300 nM is up to dilution 10-4 R HN019 *dnaK* F\_HN019\_dnaK primer pairs can be developed for the quantification of *B.*

*anima/is* subsp. *lactis* in fecal samples of infants on the incidence of sepsis.