

Optimasi primer dengan target gen *grpE* menggunakan quantitative real time pcr untuk kuantifikasi *bifidobacterium animalis subspecies lactis* dalam sampel feses = Primer optimization with *grpE* target gene using quantitative real time pcr for quantification of *bifidobacterium animalis subspecies lactis* in fecal sample

Eleyna Farihah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20347161&lokasi=lokal>

Abstrak

Sepsis merupakan suatu penyakit sistemik yang dapat disebabkan oleh translokasi bakteri. *B. animalis subsp. lactis* merupakan salah satu bakteri yang berpotensi dalam mencegah translokasi bakteri. Gen *grpE* merupakan salah satu target spesifik dalam mendeteksi *B. animalis subsp. lactis*. Penelitian bertujuan untuk mengoptimasi primer dengan target gen *grpE* untuk kurva standar, mengetahui hubungan konsentrasi primer terhadap nilai Ct, serta mengetahui sensitivitas dan spesifisitas primer. Isolat diisolasi dari sampel feses bayi menggunakan metode fenol-kloroform. Pasangan Primer dirancang berdasarkan sekuens gen *grpE B. animalis subsp. lactis* (NZ_ABOT01000010.1) menggunakan program Primer3. Optimasi primer dilakukan menggunakan lima konsentrasi berbeda, yaitu 50/50 nM, 100/100 nM, 300/300 nM, 500/500 nM, dan 1.000/1.000 nM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pasangan primer F_HNO19_ *grpE* dan R_HNO19_ *grpE* dengan konsentrasi 1.000/1.000 nM menghasilkan kurva standar yang optimal dengan efisiensi dan koefisien korelasi (R²) masing-masing sebesar 99,095% dan 0,971. Berdasarkan uji sensitivitas dan spesifistas, pasangan primer F_HNO19_ *grpE* dan R_HNO19_ *grpE* konsentrasi 1.000/1.000 nM dapat mengamplifikasi DNA target sampai dilusi 10⁻⁵, tetapi spesifisitasnya hanya sampai dilusi 10⁻². Konsentrasi primer tidak berkorelasi terhadap nilai Ct. Pasangan primer F_HNO19_ *grpE* dan R_HNO19_ *grpE* dapat digunakan untuk kuantifikasi *B. animalis subsp. lactis* dengan kisaran nilai Ct sebesar 15,74--33,89.

.....Sepsis is a systemic disease that can be caused by bacterial translocation. *B. animalis subsp. lactis* is one of the bacteria that has the potential to prevent the bacterial translocation. *grpE* gene is a specific target in the detection of *B. animalis subsp. lactis*. The research aims to optimize primer pair with target gene *grpE* for generating standard curve, to know the correlation between primer concentration and Ct value, and to know the primer sensitivity and specificity. Isolates were isolated from infant stool samples using phenol-chloroform method. Primer pair is designed based on *B. animalis subsp. lactis grpE* gene sequence (NZ_ABOT01000010.1) using the Primer3 program. The primer optimization is done using five different concentrations, which are 50/50 nM, 100/100 nM, 300/300 nM, 500/500 nM, and 1.000/1.000 nM. The results showed that the primer pair F_HNO19_ *grpE* and R_HNO19_ *grpE* with 1.000/1.000 nM concentration can be used to generate an optimal standard curve with efficiency and correlation coefficient (R²) each by 99.095% and 0.971. Based on sensitivity and specificity test, primer pair F_HNO19_ *grpE* and R_HNO19_ *grpE* with 1.000/1.000 nM concentration can amplify DNA targets up to 10⁻⁵ dilution, but its specificity is only up to 10⁻² dilution. Primer concentration and DNA samples with different concentrations were not correlated to the Ct value. F_HNO19_ *grpE* and R_HNO19_ *grpE* primer pair can be used for quantification of *B. animalis subsp. lactis* with a range of Ct values of 15.74 to 33, 89.