

Optimasi primer untuk mendeteksi *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* dalam sampel feses berdasarkan target Gen *recA* menggunakan quantitative real time PCR = Primer optimization to detect *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* in fecal samples based on *recA* Genes target using quantitative real time PCR

Nita Amalia, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20347197&lokasi=lokal>

Abstrak

Gen *recA* merupakan gen salinan tunggal dan mampu membedakan organisme sampai tingkat subspecies sehingga lebih spesifik dan akurat dalam pendeteksian *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi primer yang optimal untuk membuat kurva standar, mengetahui hubungan antara konsentrasi primer dengan nilai Ct pada beberapa sampel DNA dan mengetahui sensitivitas dan spesifisitas primer terhadap DNA target untuk kuantifikasi *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* dengan quantitative Real-time PCR. Isolat DNA berasal dari sampel feses bayi yang diisolasi dengan metode fenol-kloroform. Pasangan primer dirancang berdasarkan sekuens gen *recA* *B. animalis* subsp. *lactis* (NZ_ABOT01000001) menggunakan Primer 3. Beberapa konsentrasi pasangan primer F_HN019_ *recA* dan R_HN019_ *recA* yang digunakan dalam penelitian, antara lain 50/50 nM, 100/100 nM, 300/300 nM, 500/500 nM, dan 1000/1000 nM.

Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi primer paling optimal untuk membuat kurva standar ialah 1000/1000 nM dengan efisiensi (95,20%) dan R² (0,998). Konsentrasi primer dan sampel DNA tidak berkorelasi terhadap nilai Ct. Pasangan primer dengan konsentrasi 300/300 nM dapat mengamplifikasi DNA target dengan sensitif sampai dilusi 10⁻⁵, namun spesifik hanya sampai dilusi 10⁻³. Kesimpulan dari penelitian menunjukkan bahwa primer F_HN019_ *recA* dan R_HN019_ *recA* dengan konsentrasi 50/50 nM - 1000/1000 nM mampu mengkuantifikasi *B. animalis* subsp. *lactis* secara optimal.

.....The *recA* gene is a single copy gene and is able to distinguish organisms up to the subspecies levels that are more specific and accurate in the detection of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. The research aimed to obtain the optimal primer concentrations to create a standard curve, to determine the correlation between primer concentration with Ct value of several DNA samples and determine primer sensitivity and specificity to the DNA target for quantification of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* by quantitative Real-time PCR. DNA isolate was derived from infant fecal samples that was isolated using phenolchloroform method. Primer pair was designed based on *recA* gene sequence *B. animalis* subsp. *lactis* (NZ_ABOT01000001) using Primer 3. Several concentrations of primer pair R_HN019_ *recA* and F_HN019_ *recA* that were used in this study include 50/50 nM, 100/100 nM, 300/300 nM, 500/500 nM, and 1000/1000 nM.

The results showed the optimum primer pair concentration to create a standard curve was 1000/1000 nM with efficiency (95.20%) and R² (0.998). Primer concentrations and DNA samples were not correlated to the Ct value. The primer pair with concentration 300/300 nM was able to amplify DNA target sensitively to dilution 10⁻⁵, but specifically only to dilution 10⁻³. The conclusion of this study showed that primer pair of F_HN019_ *recA* and R_HN019_ *recA* with concentration 50/50 nM – 1000/1000 nM are able to quantify *B. animalis* subsp. *lactis* optimally.