

Optimasi primer dengan target gen groEL untuk kuantifikasi *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* dalam sampel feses menggunakan quantitative real-time PCR = Primer optimization with groel as a target gen to quantify *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* in fecal sample using quantitative real-time PCR

Cintera Rahmagiarti, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20347504&lokasi=lokal>

Abstrak

Translokasi bakteri merupakan perpindahan bakteri dari usus ke sistem sirkulasi yang dapat menyebabkan sepsis. *B. animalis* subsp. *lactis* mencegah translokasi melalui adhesi epitel usus dan regulasi anti-inflamatori. Penelitian bertujuan mengoptimasi primer dengan target gen groEL pada *B. animalis* subsp. *lactis* [ABOT01000006] untuk kurva standar, mengetahui hubungan konsentrasi primer terhadap nilai Ct, serta mengetahui sensitivitas dan spesifisitas primer. Primer F_HNO19_groEL dan R_HNO19_groEL dirancang menggunakan program Primer3 lalu disejajarkan menggunakan Primer BLAST. Optimasi menggunakan konsentrasi primer berbeda, meliputi 50/50 nM, 100/100 nM, 300/300 nM, "500/500 nM, dan 1.000/1.000 nM. Isolat DNA diisolasi dari sampel feses bayi sehat menggunakan metode fenol-kloroform. Pasangan primer dengan konsentrasi 1.000/1.000 nM menghasilkan kurva standar optimal dengan efisiensi sebesar 93,82% dan R2 sebesar 0,99. Hubungan konsentrasi primer terhadap nilai Ct pada 5 sampel DNA dengan konsentrasi berbeda tidak berkorelasi ($p > 0,05$). Semua konsentrasi primer secara bermakna tidak memiliki perbedaan rata-rata nilai Ct ($p = 1,00$). Pasangan primer dengan konsentrasi 50/50 nM – 1.000/1.000 nM menghasilkan kisaran Ct 8--35 sehingga dapat digunakan untuk kuantifikasi *B. animalis* subsp. *lactis* pada sampel feses secara optimal. Uji sensitivitas pasangan primer dengan konsentrasi 300/300 nM dapat mengamplifikasi DNA *B. animalis* subsp. *lactis* sampai dilusi 10⁻⁵, tetapi spesifisitasnya hanya sampai dilusi 10⁻⁴.

.....Bacterial translocation is the transfer of bacteria from the intestine into the circulation system which can lead to sepsis. *B. animalis* subsp. *lactis* prevents translocation through adhesion to the intestinal epithelium and anti inflammatory regulation. The research aims to optimize the primer with groEL as a target gene in *B. animalis* subsp. *lactis* [ABOT01000006] for generating the standard curve, to determine the relationship of the primer concentration with the Ct values, as well as knowing the sensitivity and specificity of the primers. Primer pairs (F_HNO19_groEL and R_HNO19_groEL) had been designed with Primer3 software and aligned with Primer BLAST. Primer optimization used different primer concentrations, such as 50/50 nM, 100/100 nM, 300/300 nM, 500/500 nM, and 1.000/1.000 nM. DNA is isolated from the healty infants fecal by phenol- chloroform method. The primer pair with concentration of 1.000/1.000 nM gives optimal result for the standard curve with the efficiency value = 93,82% and R2 value = 0,99. There is no correlation between primer concentration with Ct value at 5 different concentration of the DNA ($p > 0,05$). All primer concentration have no significant differences in the average Ct values ($p = 1,00$). Primer pairs with concentration of 50/50 nM – 1.000/1.000 nM gives Ct value between 8--35, so primer pairs can be used optimally for quantification *B. animalis* subsp. *lactis* in fecal samples. The sensitivity of primer with concentration of 300/300 nM can optimally amplify the *B. animalis* subsp. *lactis* to 10⁻⁵ dilution, but the specificity is only up to 10⁻⁴ dilution.