

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 animalis subspecies lactis* merupakan salah satu bakteri probiotik yang dapat memberikan efek anti-inflamasi, sehingga dapat menghambat terjadinya translokasi bakteri. Gen dnaK merupakan sekuens penanda yang dapat digunakan untuk deteksi *B. animalis subsp. lactis*. Optimasi dilakukan untuk mendapatkan pasangan primer optimal dalam kuantifikasi *B. animalis subsp. lactis* dengan metode kuantitatif Real-time PCR. Isolat DNA diisolasi dari sampel feses bayi menggunakan metode fenol-kloroform. Pasangan primer dirancang berdasarkan sekuens gen dnaK *B. animalis subsp. lactis* [ABOTO1000010.1] menggunakan program primer3. 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. animalis 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 animalis 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. animalis subsp. lactis*. Optimization is performed to obtain optimal primer pair in quantifying *B. animalis 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. animalis 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.