

Deteksi DNA Brugia Malayi Dalam Darah Yang Ditetaskan Pada Kertas Filter Dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Tri Handajani, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=76359&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Diagnostik filariasis malayi secara konvensional menggunakan darah malam mempunyai kendala. Pemeriksaan darah vena siang hari dengan Polymerase Chain Reaction (PCR) menunjukkan hasil positif (Tuda, 1999), tetapi cara ini mempunyai kendala di lapangan karena penduduk enggan diambil darahnya venanya. Untuk mengatasi kendala tersebut perlu dikembangkan cara diagnosis baru.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi DNA B. malayi pada kertas filter Whatman dengan menggunakan teknik PCR. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan dalam skala laboratorium. Sampel yang digunakan adalah darah manusia sehat dari daerah non-endemis filariasis dicampur dengan mikrofilaria (mi.) B. malayi yang diisolasi dari cairan infra peritoneal (IP) gerbil positif filaria. Berbagai konsentrasi pengenceran mf yang diuji adalah: 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100 mf dalam total volume masing-masing konsentrasi 60 µl campuran darah dan ditetaskan pada kertas filter Whatman 3 mm. Dilakukan pula filtrasi cairan IP gerbil untuk membuang semua mikrofilaria yang ada di dalam cairan, lalu diambil 20 µl filtrat tersebut dan dicampur dengan 40 µl darah manusia sehat dari daerah non-endemis filariasis. Kontrol negatif adalah 20 µl cairan NaCl 0,9% dicampur 40 µl darah manusia sehat dari daerah non-endemis filariasis. Filtrat dan kontrol negatif, masing-masing ditetaskan pada kertas filter Whatman. Setelah dilakukan ekstraksi, sebanyak 2 µl supernatan dari tiap-tiap perlakuan tersebut digunakan untuk PCR. Kontrol positif menggunakan 2 µl pBma 68. Hasil PCR diamati pada elektroforesis, lalu divisualisasi menggunakan transiluminator dengan sinar UV

Terlihat pita DNA dengan panjang 322 bp dan 644 bp (dimer) pada konsentrasi : 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100 mf / 60 µl campuran darah serta filtrat cairan IP. Konsentrasi terendah yang dapat terdeteksi adalah 1 mf / 60 µl campuran darah. Teknik PCR dapat mendeteksi adanya DNA B. malayi dalam cairan IP gerbil yang telah difiltrasi.

ABSTRACT

Detection of DNA Brugia malayi on blood dropped on filter paper using Polymerase Chain Reaction (PCR)

The conventional diagnostic of filariasis malayi using evening blood is handicapped by a certain constraint. The analysis of daytime venous blood using Polymerase Chain Reaction (PCR) shows positive results (Tuda, 1999), but this method confronts field opposition because people are reluctant to surrender their venous blood. To overcome this problem we have to develop a new diagnostic method.

The purpose of this study is to detect DNA *B. malayi* on Whatman filter paper using PCR technique. This study is a preliminary study in a laboratory scale. The sample used in the blood of healthy people living in a non-endemic filariasis area, mixed with microfilaria (mf) *B. malayi*, isolated from filaria positive gerbil intra peritoneal (IP) liquid. Several diluted concentrate tested were: 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100 mf, in total volume of each concentrate 60 µl mixed blood, dropped on 3 mm Whatman filter paper. Filtration was conducted on the IP gerbil liquid, in order to get rid of all microfilaria existing in the liquid, after which 20 µl filtrate was taken and mixed with 40 µl healthy people blood from non-endemic filariasis area.

Filtrate and negative control, were dropped on Whatman filter paper. After extraction /isolation process, 2 µl supernatant from each treatment mentioned above were used for PCR. Positive control uses 2 µl pBma 68. The PCR result was scrutinized on electrophoresis, visualized later using transilluminator with UV rays.

Observed DNA ribbons of 332 bp and 644 bp (dimmer) length on the concentrate : 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100 mf / 60 µl mixed blood and filtrate liquid IP. The lowest concentration that could be detected was 1 mf / 60 µl mixed blood. Thus the PCR technique was able to detect the existence of DNA *B. malayi* on the gerbil IP liquid that has been filtrated.