

Penerapan Deteksi Sekaligus Pembedaan Galur Secara Langsung dari Spesimen Klinik dan Isolat Mycobacterium Tuberculosis untuk Diagnosis dan Epidemiologi Tuberkulosis

R. Lia Kusumawati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=76845&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Salah satu penyebab kegagalan pengendalian tuberkulosis di Indonesia, adalah karena lemahnya diagnosis untuk deteksi dini kasus infeksi disamping kegagalan terapi kasus tuberkulosis yang resisten terhadap beberapa obat anti tuberkulosis dan hambatan dalam melakukan kontrol tuberkulosis secara global. Dengan ditemukannya teknik molekuler "spoligotyping" (spacer oligonucleotide typing) yang dilakukan berdasarkan analisis keragaman jumlah dan letak daerah diantara lokus direct repeat (DR) DNA M, tuberkulosis dan hibridisasi menggunakan pelacak spacer oligonucleotide yang terletak diantara daerah DR ini akan dapat memperlihatkan perbedaan antar galur. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi cepat sekaligus dapat membedakan galur M. tuberculosis langsung dari spesimen klinik tanpa melakukan kultur kuman.

Sebanyak 30 sampel yang terdiri dari 29 sampel klinik bakteri AI tuberkulosis yang dikumpulkan dari 28 penderita tuberkulosis dan 1 sampel kuman standard AI BGC dilakukan pemeriksaan mikroskopik BTA, kultur pada media Lowenstein Jensen, uji bioldmia, uji resistensi serta ekstraksi DNA. DNA hasil ekstraksi kemudian diamplifikasi dengan menggunakan oligonukleotida DRa dan DRb 5'biotinylated sebagai primer untuk amplifikasi lokus direct repeat (DR) DNA M tuberkulosis. DNA hasil amplifikasi dihibridisasi dengan pelacak (probe) yang terdiri dari 1 set oligonukleotida (43 jenis spacer oligonucleotides). Deteksi DNA hasil hibridisasi dilakukan dengan alat deteksi substrat kemiluminesen ECL (Amersham) dan dipaparkan pada film sinar-X (Hyperfilm ECL; Amersham).

Dari hasil penelitian terlihat bahwa ekstraksi DNA M. tuberculosis dengan menggunakan metode Boom maupun Fenol-Kloroform dapat menghasilkan DNA dengan tingkat kemurnian atau nilai rasio absorbansi (a. 260/280) berkisar 1,4-1,9. Keberhasilan isolasi DNA ini telah dibuktikan dengan adanya pita DNA dalam gel agarosa dari hasil amplifikasi PCR dengan ukuran 541 bp, yang sesuai dengan fragmen DNA AI tuberkulosis yang disintesis dengan menggunakan primer Pt8 dan Pt9. Hibridisasi telah dilakukan untuk menentukan galur pada 9 dari 30 sampel yang berhasil dikumpulkan dan di dapatkan 8 pola pita hibridisasi unik yang menunjukkan adanya 8 galur yang berbeda. Pada 2 sampel sputum yang dikumpulkan dalam 2 waktu pengambilan yang berbeda dari seorang penderita tuberkulosis, memberikan pola pita hibridisasi yang sama. 4 galur MDR-TB (Multi Drug Resistance - Tuberculosis) dalam sampel penelitian ini mempunyai pola kekerabatan yang lebih dekat dibandingkan dengan 3 galur lainnya yang sensitif terhadap semua jenis Obat Anti Tuberculosis. Dari ke 9 sampel yang diidentifikasi dengan teknik spoligotyping, dapat menunjukkan perbedaan antar galur dan diperoleh 8 pola pita hibridisasi DNA AI. tuberculosis yang dapat digunakan sebagai penanda epidemiologi untuk bakteri penyebab penyakit tuberkulosis di Indonesia.

Teknik spoligotyping dapat menjadi alternatif disamping isolasi *M. tuberculosis* untuk mendeteksi adanya bakteri *M. tuberculosis* sekaligus dapat membedakan galur kuman pada penderita tuberkulosis, sehingga dapat digunakan untuk memantau penyebaran kuman penyakit tuberkulosis yang sangat penting untuk dikembangkan lebih lanjut.