

Deteksi Mycobacterium Tuberculosis Dengan Reaksi Berantai Polimerasa ("Polymerase Chain Reactions PCR)

Maria Lina Rosilawati, supervisor

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=77247&lokasi=lokal>

Abstrak

Ruang Lingkup dan Cara Penelitian : Salah satu alasan utama gagalnya pengendalian tuberkulosis di negara berkembang termasuk Indonesia, adalah karena kelemahan dalam diagnostik untuk mendeteksi kasus infeksi pada saat dini, di samping kegagalan terapi kasus tuberkulosis yang resisten terhadap beberapa obat anti tuberkulosis. Teknik PCR yang didasarkan pada amplifikasi DNA, merupakan salah satu cara diagnosis yang telah banyak diteliti dan dikembangkan untuk mendeteksi bakteri *M. tuberculosis*, penyebab penyakit TBC. Pada penelitian ini telah dilakukan uji PCR untuk mendeteksi *M tuberculosis H 7Rv*, isolat klinis *M. tuberculosis* dan mikobakteria atipik. Bakteri dibiakkan dalam medium Lowenstein-Jensen kemudian dilakukan ekstraksi DNA menggunakan metode fenol-kloroform. Untuk mengetahui sensitivitas uji PCR, DNA basil ekstraksi diencerkan dalam beberapa pengenceran. Pada percobaan awal DNA *M. tuberculosis H37Rv* diamplifikasi menggunakan primer YNP5 & YNP6 yang disintesis dari sekwens DNA yang menyandi antigen b protein 38kDa. Amplifikasi DNA *M. tuberculosis H37Rv*, isolat klinis *M. tuberculosis*, dan mikobakteria atipik dilakukan dengan menggunakan primer Pt8 & Pt9 yang dirancang dari sekwens sisipan IS6110. Hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa. Gel kemudian diwarnai dengan larutan etidium bromida dan divisualisasi dengan "ultraviolet transilluminator". Pengambilan gambar gel agarosa dilakukan dengan menggunakan kamera Polaroid.

Hasil dan Kesimpulan : Batas deteksi DNA *M. tuberculosis H37Rv* hasil amplifikasi dengan primer YNP5 & YNP6 adalah 5 pg setara dengan 1000 sel bakteri, sedangkan dengan primer Pt8 & Pt9 kemampuan uji PCR lebih tinggi dengan batas deteksi 10 fg setara dengan 2 sel bakteri. Uji PCR pada isolat klinis *M tuberculosis* yang mempunyai batas deteksi tertinggi adalah amplifikasi DNA basil ekstraksi isolat 9727. Batas deteksi uji tersebut adalah 100 fg setara dengan 20 sel bakteri. Primer Pt 8 & Pt9 spesifik untuk *M. tuberculosis* karena tidak terjadi amplifikasi DNA basil ekstraksi dari mikobakteria atipik.