

Deteksi gen p30 untuk diagnosis toksoplasmosis dengan reaksi rantai polimerase

Lisawati Susanto, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20442976&lokasi=lokal>

Abstrak

Toxoplasma gondii adalah protozoa intraselular yang dapat menyebabkan toksoplasmosis. Pada orang sehat (imunokompeten) infeksi biasanya tidak disertai gejala klinis, sedangkan pada penderita imunokompromais terutama pada penderita AIDS infeksi dapat berakibat fatal. Infeksi primer pada wanita hamil dapat mengakibatkan terjadinya transmisi melalui plasenta ke janin. Karena itu pemeriksaan laboratorium mutlak diperlukan untuk menentukan adanya infeksi T.gondii, sehingga pengobatan dapat diberikan dengan segera untuk menghindari kerusakan lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan apakah Polymerase chain reaction (PCR) dengan menggunakan gen P30 dapat mendeteksi DNA T.gondii. Pada DNA yang diisolasi dilakukan PCR terhadap target gen P30 menurut metode menurut metode Weiss dkk. dan Chang & Ho. Primer gen P30 terdiri dari oligo 1 : 5'CACACGGTTGTATGTCGGTTTCGCT3' dan oligo 2 : 5'TCAAGGAGCTCAATG TTACAGCCT3'. Sampel DNA yang digunakan untuk PCR dengan target gen P30 terdiri dari berbagai macam bahan yaitu : (a) DNA murni T.gondii dengan berbagai konsentrasi, (b) campuran DNA murni T.gondii dengan DNA darah manusia sehat, (c) DNA dari takizoit yang berasal dari campuran 99 ml darah manusia sehat dengan 1 ml suspensi takizoit yang masing-masing mengandung 1000,100, 50, 40, 30, 20 dan 10 takizoit. PCR dengan target gen P30 yang dilakukan menurut metode Weiss dkk. memberikan pita yang tidak spesifik. Pada metode Chang & Ho penggunaan siklus sebanyak 30, 35, 40 dan 45 siklus tidak memberikan gambaran pita, sedangkan penggunaan 50 siklus baru memberikan hasil pita spesifik T.gondii pada elektroforesis.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa konsentrasi minimal DNA T.gondii yang masih terdeteksi pada sampel DNA murni T.gondii adalah 1 pg, pada sampel DNA murni T.gondii yang dicampur dengan DNA manusia sehat adalah 0,025 ng dan pada sampel darah manusia sehat yang dicampur dengan suspensi takizoit adalah DNA yang berasal dari minimal 20 takizoit. Dengan demikian dapat disimpulkan PCR dengan menggunakan target gen P30 dapat digunakan untuk mendeteksi DNA T.gondii.

<hr>

Detection of P30 gene to diagnosis of toxoplasmosis by using polymerase chain reaction. Toxoplasma gondii is an intracellular protozoan which causes toxoplasmosis. In healthy persons (immunocompetent) the infection is usually asymptomatic; however in immunocompromised patients, especially AIDS patients, the infection can be fatal. Primary infection in pregnant women can be transmitted to the fetus via the placenta. Therefore laboratory examination is absolutely necessary to assess the presence of T.gondii infection hence prompt treatment can be given to prevent further damage.

The aim of this study is to know whether by using P30 gene as target the Polymerase chain reaction (PCR)

can detect *T.gondii* DNA in Indonesia. The PCR was performed on the DNA which had been isolated against P30 gene as target by using the method described by Weiss et al and Chang & Ho. The P30 gene primers consisted of oligo 1: 5'CACACGGTTGTATGTCGGTTTCGCT3' and oligo 2: 5'TCAAGGAGCTCAATGTTAC GCT3'. The DNA samples used in the PCR with P30 gene as target were derived from the following materials: (a) pure *T.gondii* DNA of various concentrations, (b) a mixture of pure *T.gondii* DNA and normal human blood DNA, (c) tachyzoite DNA derived from the mixture of 99 ml normal human blood and 1 ml tachyzoite suspension with the following amount of tachyzoites :1000,100, 50, 40, 30, 20 and 10 tachyzoites. It was shown that no specific bands were observed in the PCR with P30 gene as target (performed according to the method described by Weiss et al). The PCR according to the method described by Chang & Ho did not show any band when 30, 35, 40 and 45 cycles of PCR were used however, by using 50 cycles a specific band was observed.

The results obtained showed that the minimal DNA concentrations which still could be detected using P30 gene as target were as follows : 0.001 ng DNA in 50 ml PCR solution from samples of pure DNA, 0.025 ng DNA in 50 ml PCR solution from samples of pure DNA mixed with normal human blood and the amount of DNA originated from at least 20 tachyzoites. It was concluded that the assay using P30 gene as target could be used for detecting *T.gondii* DNA in Indonesia.