

Pengembangan uji molekuler untuk deteksi mutasi gen folp, rpob, dan gyra mycobacterium leprae resisten terhadap dapson, rifampisin, dan ofloksasin di LMK FKUI-RSCM = Molecular assay development for detection of folp, rpob, and gyra mutation of mycobacterium leprae resistance to dapson, rifampicin, and ofloxacin in clinical microbiology laboratory of FKUI-RSCM

Tanod, Veronica Patricia, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20476850&lokasi=lokal>

Abstrak

Kusta merupakan penyakit infeksi kronik yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*. Penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Munculnya bakteri *M.leprae* yang resisten terhadap antibiotik semakin menyulitkan terapi. Diperlukan pemeriksaan untuk mendeteksi bakteri resisten agar penatalaksanaan penyakit kusta menjadi lebih baik. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan uji genotipik untuk mengetahui resistensi *M.leprae* terhadap dapson, rifampisin, dan ofloksasin. Real time PCR dilakukan sebagai persyaratan analisis uji genotipik. Primer nested PCR dan sekuensing dirancang dengan Primer Designer software. Kondisi reaksi PCR yang dioptimasi yaitu suhu penempelan primer, volume cetakan DNA, dan jumlah siklus amplifikasi.

Hasil optimasi kemudian diterapkan pada spesimen kerokan jaringan kulit. Uji genotipik yang dikembangkan di penelitian ini dapat diterapkan pada spesimen kerokan jaringan kulit dengan nilai Ct real time PCR kurang dari 30. Suhu penempelan primer, volume cetakan DNA, dan jumlah siklus amplifikasi yang optimal yaitu 56 C PCR I dan II , 15 l cetakan DNA dalam volume reaksi 50 l PCR I dan 2 l cetakan DNA dalam volume reaksi 40 l PCR II , dan jumlah siklus amplifikasi PCR 40 PCR I dan 35 PCR II . Uji yang dioptimasi dapat menunjukkan genotipik 17 *M.leprae* dengan hasil 100 sensitif terhadap dapson dan rifampisin dan 5,9 resisten ofloksasin. PCR-direct sequencing pada penelitian ini dapat digunakan untuk mendeteksi resisten obat kusta dapson, rifampisin, dan ofloksasin.

.....Leprosy is a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium leprae* and considered as health problem. Treatment of leprosy tends to complicated because of emergences of resistant *M. leprae* strains. Therefore, it is essential to have a test that can detect drug resistance *M.leprae* for better management of this disease. The aim of this study is to obtain a genotyping assay for detection of *M.leprae* resistant to dapson, rifampicin, and ofloxacin. Real time PCR was performed for specimen requirement for genotyping analysis. Primers for nested PCR and DNA sequencing were designed by Primer Designer software and reaction condition of PCR was optimized including annealing temperature of primers, volume of DNA template, and number of thermal cycle.

The optimized nested PCR and DNA sequencing were applied for skin scrapings specimen. Genotyping assay developed in this study was applicable for skin scrap samples with real time PCR result of Ct less than 30. The optimal annealing temperature of primers, volume of DNA template, and number of thermal cycle were 56 C PCR I and II , 15 l DNA template in 50 l reaction PCR I and 2 l DNA template of 40 l reaction PCR II , and 40 PCR I and 35 PCR II thermal cycles, respectively. The optimized assay could genotype 17 *M.leprae* strains with 100 sensitive for dapson and rifampicin and 5,9 resistant for ofloxacin. PCR direct sequencing in this study can be used to detect leprosy drug resistance dapson, rifampicin, dan ofloxacin.