Universitas Indonesia Library >> UI - Tesis Membership

Optimasi teknik hibridasi dot blot non isotopik deteksi mutasi S315T pada gen katG penyebab resistensi mycrobacterium tuberculosis terhadap isoniazid

Donna Mesina R.P., author

Deskripsi Lengkap: https://lib.ui.ac.id/detail?id=98453&lokasi=lokal

---

Abstrak

Resistensi terhadap obat anti tuberkulosis merupakan masalah yang memperberat suksesnya program penanggulangan dan pemberantasan tuberkulosis. Diperkirakan 90% isolat yang resisten terhadap rifampisin juga resisten terhadap isoniazid (INH). Sekitar 60-90% isolat yang resisten INH mengalami mutasi pada gen katG dan 60-94% mengalami mutasi pada kodon 315. Seining dengan perkembangan teknik molekuler, hibridisasi dot blot dengan menggunakan pelacak oligonukleotida dapat digunakan untuk mendeteksi adanya mutasi pada gent. Penelitian lid bertujuan untuk mendeteksi mutasi gen resisten INH pada Mycobacterium tuberculosis dan mengembangkan teknik hibridisasi dot blot untuk deteksi resisten obat anti tuberkulosis (OAT).

Isolasi DNA dengan teknik pemanasan telah dilakukan pada 52 isolat Mycobacterium tuberculosis yang resisten terhadap 1NH dan pada 52 spesimen sputum dengan teknik metode Boom. DNA kemudian diamplifikasi dengan PCR menggunakan primer El dan E2 untuk memastikan isolat adalah Mycobacterium tuberculosis. Pada DNA isolat yang terbukti sebagai Mycobacterium tuberculosis dengan teknik PCR dilakukan amplifikasi menggunakan primer RTB59 dan RTB36, untuk kemudian dilanjutkan dengan hibridisasi dot blot menggunakan pelacak katG315 mu dan katG3I5 wt, untuk mengetahui adanya mutasi pada gen katG kodon 315 sebagai tanda terjadinya resistensi terhadap TNH. Setelah itu produk PCR dielektroforesis untuk mengetahui kebenaran basil amplifikasi.

Pada penelitian ini identifikasi DNA spesimen Mycobacterium tuberculosis menggunakan primer El dan E2 berhasil diamplifikasi sebanyak 98% (51 dari 52 isolat) dan pada spesimen sputum berhasil diidentifikasi sebanyak 96% (50 dari 52 isolat).

Deteksi mutasi gen katG pada posisi S315T yang menggunakan pelacak katG315 mu dengan teknik hibridisasi dot blot tidak dapat diinterpretasikan hasilnya. Hal ini terjadi diduga kurang tepatnya waktu dan temperatur selama proses prehibridisasi sampai hibridisasi. Kondisi ini terbukti pada saat hibridisasi menggunakan pelacak katG315 wt. Pada hibridisasi menggunakan pelacak wild tipe, temperatur yang digunakan untuk prehibridisasi sesuai dengan Tm temperatur malting oligonuklitida pelacak dan dilakukan selama overnight, sehingga immobilisasi DNA terfiksasi dengan baik ke membran nitroselulosa dan sisa nukleotida yang tidak spesifik hilang dengan pencucian.

Deteksi mutasi gen katG pada posisi S315T yang menggunakan pelacak katG 315 wt dengan teknik hibridisasi memberikan hasil 85,42% (41 dari 48 isolat) hasilnya positif artinya isolat tersebut tidak mengalami mutasi pada posisi kodon 315 sedangkan 14.58% (7 dari 48 isolat) memberi hasil negatif, maknanya adalah diduga terjadi mutasi pada posisi kodon lain.

Deteksi mutasi gen katG dengan teknik hibridisasi dot blot sangat tepat dikembangkan sebagai uji screening di daerah yang prevalensi infeksi tuberkulosis dan resistensi INH atau obat anti tuberkulosis lainnya cukup tinggi, karena teknik ini hemat biaya, cepat, sederhana dan akurat.