

PAIR/T. 395/99

UJI PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION/
REAKSI) BERANTAI POLIMERASE PADA
BAKTERI MYCROBACTERIUM TUBERCULOSIS
DAN MIKOBATERIUM ATIPIK.

Maria Lina R.

UJI PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION / REAKSI BERANTAI
POLIMERASE PADA BAKTERI *Mycobacterium tuberculosis* dan MIKO-
BAKTERIUM ATIPIK *

Maria Lina R.**

ABSTRAK

UJI PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) / REAKSI BERANTAI
POLIMERASE PADA BAKTERI *Mycobacterium tuberculosis* DAN MIKO-
BAKTERIUM ATIPIK. Telah dilakukan uji PCR untuk mendeteksi bakteri.
M. tuberculosis H₃₇Rv, isolat *M. tuberculosis* dari sputum penderita TBC, dan
mikobakterium atipik. Bakteri dibiakkan pada medium Lowenstein-Jensen. Ekstraksi
DNA dilakukan dengan menggunakan metode fenol-kloroform setelah sel dilisiskan
dengan lisosim, proteinase-K, dan SDS. Untuk mengetahui sensitivitas uji PCR, DNA
hasil ekstraksi diencerkan dalam beberapa konsentrasi. Amplifikasi DNA dilakukan
dengan menggunakan primer oligonukleotida YNP5 & YNP6 dan Pt8 & Pt9 yang
masing-masing disintesis dari sekwens DNA yang menyandi antigen b protein 38-kDa dan
sekwens sisipan IS6110. Deteksi hasil amplifikasi dilakukan dengan elektroforesis gel
agarosa. Gel diwarnai dengan larutan etidium bromida dan divisualisasi dengan ultraviolet
transilluminator. Pengambilan gambar gel agarosa dilakukan dengan menggunakan
kamera polaroid. Hasil penelitian menunjukkan batas deteksi DNA *M. tuberculosis*
H₃₇Rv yang dapat diamplifikasi menggunakan primer YNP5 & YNP6 adalah 5 pg setara
dengan 1000 sel bakteri. Sensitivitas tertinggi uji PCR menggunakan primer Pt8 & Pt9

* Dibawakan dalam Presentasi Ilmiah Hasil Studi Program Doktor dan Magister dalam
Rangka Ulang Tahun Batan ke 40, tanggal 8 - 9 Desember 1998 di Jakarta.

** Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Batan.

pada DNA isolat *M. tuberculosis* yang berasal dari sputum penderita TBC, adalah hasil amplifikasi DNA isolat 9727 yang mempunyai batas deteksi 100 fg. Amplifikasi DNA beberapa mikobakterium atipik menggunakan primer Pt8 & Pt9 cukup spesifik, karena tidak ada amplifikasi DNA bakteri tersebut.

ABSTRACT

PCR ("POLYMERASE CHAIN REACTION") ASSAY ON *Mycobacterium tuberculosis* AND ATYPICAL MYCOBACTERIUM BACTERIA. PCR technique was carried out to detect *M. tuberculosis* H₃₇Rv, isolates of *M. tuberculosis* from TBC patients sputum, and atypical mycobacteria. The bacteria was cultured on Lowenstein-Jensen medium. DNA extraction was done by using phenol- chloroform method after lysing the bacteria cells with lysozyme, proteinase-K, and SDS. Serial dilution of extracted DNA was done to know the sensitivity of PCR. Primers used for DNA amplification were YNP5 & YNP6 and Pt8 & Pt9. The primers were designed from DNA sequence which codes the protein antigen b 38-kDa, and insertion sequence IS6110, respectively. The amplification product was analysed by electrophoresis in agarose gel. Gel was stained with ethidium bromide solution and photographed by polaroid camera under ultraviolet transilluminator. The results showed that the detection limit of amplified DNA of *M. tuberculosis* H₃₇Rv with YNP5 & YNP6 primer was 5 pg which was equivalent to 1000 bacterial cells. The highest sensitivity of PCR using Pt8 & Pt9 primer on DNA of *M. tuberculosis* isolates from TBC patients sputum, was showed on the amplified DNA from *M. tuberculosis* isolate 9727 with detection limit of 100 fg (equivalent to 20 bacterial cells). PCR assay using Pt8 & Pt9 primer on DNA of atypical mycobacteria was specific. It can be revealed that no amplification occurred on DNA of those bacteria.