

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

**Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(*Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*)**
Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2013–2016
(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 008/PP-PATKLIN/III/2014)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Puspa Wardhani

Wakil Ketua:

Maimun Zulhaidah Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG. Sudewa, Rahayuningsih Dharma, Mansyur Arif

Penelaah Pelaksana:

Prihatini, July Kumalawati, Ida Parwati, Tahono, Krisnowati, Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Aryati, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Sidarti Soehita, Maimun Zulhaidah Arthamin, Endang Retnowati, Edi Widjajanto, Budi Mulyono, Adi Koesoema Aman, Uleng Bahrin, Ninik Sukartini, Kusworini Handono, M. Yolanda Probahoosodo, Rismawati Yaswir

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

Bastiana Bermawi dr, SpPK

Bank Mandiri KCP SBY PDAM No AC: 142-00-1079020-1

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Mayjend. Prof. Dr Moestopo 6–8 Surabaya.

Telp/Fax. (031) 5042113, 085-733220600 E-mail: majalah.ijcp@yahoo.com; jurnal.ijcp@gmail.com

Website: <http://www.indonesianjournalofclinicalpathology.or.id>

Akreditasi No. 66b/DIKTI/KEP/2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Angka Banding Netrofil/Limfosit di Populasi Dewasa Muda (<i>Neutrophil/Lymphocyte Ratio in Young Adults</i>) Arie Yanti, Uleng Bahrun, Mansyur Arif	105-108
Phosphatidylinositol -3kinase (PI3K) di Perbenihan Adiposit yang Dipajan Glukosa Tinggi dengan Retinol { <i>The Enzyme Phosphatidylinositol -3Kinase (PI3K) in Adipocyte Culture Exposed by High Glucose Related with Retinol</i> }	
Novi Khila Firani, Bambang Prijadi	109-113
Penilaian Uji Troponin I dengan <i>Point of Care Testing</i> (<i>Evaluation of Troponin I Assay with Point of Care Testing</i>) Sheila Febriana, Asvin Nurulita, Uleng Bahrun	114-118
Perbandingan Nilai Diagnostik IgE Spesifik Tungau Debu Rumah, Metode ELISA dan Immunoblot pada Rinitis Alergi (<i>Diagnostic Value Comparison of Specific IgE House Dust Mite, ELISA and Immunoblot Methods in Allergic Rhinitis</i>) Janti Tri Habsari, Aryati, Dwi Reno Pawarti	119-126
<i>Heart Fatty Acid Binding Protein</i> Sebagai Petanda Biologis Diagnosis Sindrom Koroner Akut (<i>Heart Fatty Acid Binding Protein Can be a Diagnostic Marker in Acute Coronary Syndromes</i>) Ira Puspitawati, I Nyoman G Sudana, Setyawati, Usi Sukorini	127-132
Permintaan Darah Persiapan Tindakan Bedah di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo (<i>Blood Demand for Surgery Preparation at Dr. Wahidin Sudirohusodo General Hospital</i>) Herlinah, Rachmawati Muhiddin, Mansyur Arif	133-136
CD4+ dan CD8+ Interferon Gamma Tuberkulosis Paru Aktif dan Tuberkulosis Laten (<i>Interferon Gamma Expression of CD4+ and CD8+ between Active Pulmonary Tuberculosis and Latent Tuberculosis</i>) Betty Agustina Tambunan, John Wiwin, Jusak Nugraha, Soedarsono	137-140
Interleukin-4 dan Interferon Gamma di Nefritis Lupus: Hubungan Aktivitas Penyakit Serta Kekambuhan (<i>Interleukin-4 and Interferon Gamma in Lupus Nephritis: Correlation with Disease Activity and Flare Up</i>) Torajasa Achamar, Dany Farida, Hani Susianti, Kusworini Handono, Ati Rastini, R.I, I Putu A.S, Atma Gunawan, Handono Kalim	141-146
RDW, Jumlah Trombosit dan RPR dengan Indeks FIB-4 di Hepatitis C (<i>RDW, Platelets and RPR with FIB-4 Index in Hepatitis C</i>) Yenny Yulianti, Banundari Rachmawati	147-150

Protein Rekombinan 38 KDA Mycobacterium Tuberculosis dapat Mengimbas Pembuatan Interleukin-2 dan Interferon- γ Limfosit T di Kultur Sel Mononuklear Darah Tepi (<i>The 38 KDA Recombinant Protein of Mycobacterium Tuberculosis can Induce the Synthesis of Interleukin-2 and Interferon-γ T Lymphocytes in Peripheral Blood Mononuclear Cell Culture</i>) Maimun Z Arthamin, Singgih Pujo Wahono, Antiek Primardianti, Ati Rastini, Tri Wahyu Astuti, Tri Yudani Mardining Raras, Francisca S Tanoerahardjo	151–157
Rancangan Primer Spesifik <i>Gen Macrophage Mannose Receptor</i> (MMR) untuk <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) dan <i>Sekuensing Deoxyribo Nucleic Acid</i> (DNA) { <i>Macrophage Mannose Receptor Gene (MMR) Specific Primer Design for Polymerase Chain Reaction (PCR) and Deoxyribonucleic Acid (DNA) Sequencing</i> }	
Yani Triyani, Nurizzatun NaFsi, Lelly Yuniarti, Nanan Sekarwana, Endang Sutedja, Dida Ahmad Gurnida, Ida Parwati, Bacht Alisjahbana	158–162
Analisis <i>King's Score</i> di Penyakit Hati Kronis Berdasarkan Fibroscan (<i>Analysis of King's Score in Chronic Liver Disease Based on Fibroscan</i>)	
Wira, Amaliyah T. Lopa, Ibrahim Abdul Samad	163–167
Kadar <i>Surfactant Protein-D</i> Serum pada Pasien Penyakit Paru Obstruktif Kronis Berkebahayaan Kambuhan Rendah dan Tinggi (<i>Serum Surfactant Protein-D Level in High and Low Risk of Exacerbation Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients</i>)	
Dewi Nurhayati, Ida Parwati, Tiene Rostini, Arto Yuwono	168–175
Identifikasi Mutasi H63D <i>Gen HFE</i> pada Kelainan HBE (<i>Identification of H63D HFE Gene Mutation in HBE Disorder</i>)	
Yanuarita Tursinawati, Nyoman Suci Widyastiti, Moedrik Tamam	176–181
Anti-HIV dan Subtipe HIV pada Pasien Hemodialisis (<i>Anti-HIV and HIV Subtype in Hemodialysis Patients</i>)	
Retno Handajani, Mochammad Thaha, Mochamad Amin, Citrawati Dyah Kencono WuNgu, Edhi Rianto, Pranawa	182–186
Kenasaban Fosfat Serum, C-Reaktif Protein dan Fetuin A di Pasien Ginjal Tahap Akhir dengan Hemodialisis (<i>Correlation of Serum Phosphate, CRP and Fetuin A in End Stage Renal Disease Patients on Hemodialysis</i>)	
Indranila KS, Heri Winarto, Purwanto AP	187–193
TELAAH PUSTAKA	
<i>Maldi-Tof dan Seldi-Tof Mass Spectrometry</i> dengan <i>Throughput</i> Tinggi untuk Analisis Proteomik Profil Protein dari Petanda Biologis (<i>Maldi-Tof and Seldi-Tof Mass Spectrometry with High Throu Ghput for Proteomic Analysis of Protein Profiling of Biomarker</i>)	
Trinovia Andayaningsih, Siti Muchayat P	194–199
LAPORAN KASUS	
Ketoasidosis Diabetik di Diabetes Melitus Tipe 1 (<i>Ketoacidosis Diabetic in Type 1 Diabetes Mellitus</i>)	
Zuhrinah Ridwan, Uleng Bahrn, Ruland DN Pakasi R	200–203

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol. 22 No. 2 Maret 2016

Riadi Wirawan, Adi Koesoema Aman, Purwanto AP, Sidarti Soehita, Ninik Sukartini, Prihartini, Kusworini Handono, Uleng Bahrn, Aryati, Budi Mulyono, AAG. Sudewa

PENELITIAN

RANCANGAN PRIMER SPESIFIK GEN MACROPHAGE MANNOSE RECEPTOR (MMR) UNTUK POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) DAN SEKUENSING DEOXYRIBO NUCLEIC ACID (DNA)

{Macrophage Mannose Receptor Gene (MMR) Specific Primer Design for Polymerase Chain Reaction (PCR) and DeoxyriboNucleic Acid (DNA) Sequencing}

Yani Triyani¹, Nurizzatun Nafsi², Lelly Yuniarti¹, Nanan Sekarwana³, Endang Sutedja⁴, Dida Ahmad Gurnida³, Ida Parwati², Bachtis Alisjahbana⁵

ABSTRACT

The order (sequencing) determination of Deoxyribonucleic Acid (DNA) bases is the gene's most basic information, using the method of Polymerase Chain Reaction (PCR) as its stage. A key factor of successful detection by PCR is specific PCR primer design choice. The detection of diversity of Mycobacterium Mannose Receptor (MMR) gene, responsible for recognizing mannose antigen structure of Mycobacterium tuberculosis (M.tb) by DNA sequencing of exon 7 chromosome 10p12, related to susceptibility for Pulmonary Tuberculosis (TB), was first performed in China in 2012. The purpose of this study was to find specific primer from both design originated from the research in China/primer I and my own design/primer II by using Primer3 software. This study was based on 10 healthy subjects and was a preliminary study of a research titled "The Relationship of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) of Macrophage Mannose Receptor Gene to Pulmonary Tuberculosis Cases". The examination materials consist of 3 mL of EDTA blood and DNA extraction from its buffy coat. The resulting DNA was processed by PCR to amplify MMR gene with primer I and II. The primer I successfully amplified DNA fragments up to 780bp while primer II only 329 bp. The MMR gene DNA sequencing analysis was performed on the amplification result of both kinds primers by using DNA Baser and Ensembl-BLAST software. The results were different, DNA sequencing result by using the primer I was found in several chromosomes and also in several loci. Whereas, by using the primer II, it was only found in chromosome 10 and in the same locus. Based on this study, it can be concluded that the specific primer design is one of the most important factors in the success of DNA sequencing.

Key word: Specific primer design, macrophage mannose receptor gene, polymerase chain reaction, deoxyribo nucleic acid sequencing

ABSTRAK

Penentuan urutan (sekuensing) basa Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) merupakan informasi paling mendasar suatu gen, menggunakan metode PCR (Polymerase Chain Reaction) sebagai tahapannya. Salah satu kunci keberhasilan PCR adalah pemilihan rancangan primer PCR yang spesifik. Deteksi keberadaan ragam terkait gen *Macrophage Mannose Receptor* (MMR) yang mengenali struktur antigen manosit Mycobacterium tuberculosis (M.tb) dengan sekuensing DNA exon 7 kromosom 10p12 berhubungan dengan kerentanan seseorang menjadi Tuberkulosis (TB) Paru, pertama kali dilakukan di Cina pada tahun 2012. Tujuan penelitian ini adalah mencari primer spesifik dari 2 rancangan yang berasal dari penelitian di Cina/primer I dan yang dirancang sendiri/primer II menggunakan piranti lunak primer3. Penelitian ini menggunakan bahan pemeriksaan dari 10 orang sehat dan merupakan kajian pendahuluan dari penelitian yang berjudul Hubungan Single nucleotide polymorphisms (SNPs) pada Gen MMR dengan Kejadian Tuberkulosis Paru. Bahan pemeriksaan sebanyak 3mL darah EDTA dan buffy coat kemudian diisolasi berkaitan dengan DNA. Deoxyribo nucleic acid yang diperoleh diproses dengan PCR untuk mengamplifikasi gen MMR dengan primer I dan II. Primer I berhasil mengamplifikasi fragmen DNA sebanyak 780 bp, sedangkan primer II sejumlah 329 bp. Analisis sekuensing DNA gen MMR dilakukan di hasil amplifikasi kedua macam primer dengan perangkat lunak DNA Baser dan Ensembl-BLAST. Hasil sekuensing

1 Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung. E-mail: y3yani78@gmail.com

2 Bagian Patologi Klinik, Rumah Sakit Hasan Sadikin Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung

3 Bagian Ilmu Kesehatan Anak, Rumah Sakit Hasan Sadikin Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung

4 Bagian Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin, Rumah Sakit Hasan Sadikin Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung

5 Bagian Ilmu Penyakit Dalam Rumah Sakit Hasan Sadikin, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran, Bandung

DNA dengan menggunakan primer I ditemukan di beberapa kromosom dan dalam beberapa lokus. Sedangkan sekuensing DNA dengan menggunakan primer II ditemukan hanya di kromosom 10 dan satu lokus yang sama. Didasari telitian ini dapat disimpulkan rancangan primer yang spesifik adalah salah satu faktor yang paling penting dalam keberhasilan sekuensing DNA.

Kata kunci: Rancangan primer spesifik, gen *macrophage mannose receptor*, *polymerase chain reaction*, sekuensing *deoxyribo nucleic acid*

PENDAHULUAN

Ragaman genetik berbagai gen diperkirakan terlibat dan memainkan peran penting dalam kekebalan bawaan dan kerentanan terhadap TB di tingkat individu. Beberapa kajian terkait gen menunjukkan bahwa faktor genetik dari inang dan M.tb, serta lingkungan berhubungan dengan patofisiologi TB. Berdasarkan hal tersebut, identifikasi gen yang memengaruhi kerentanan terhadap TB menjadi banyak dipelajari belakangan ini. Beberapa kajian kasus kendali TB termasuk sejumlah gen yang berbeda terdapat populasi tertentu telah diperiksa. Kajian meta analisis hubungan polimorfisme inang dengan kerentanan TB saat ini telah menemukan 275 SNPs yang terjadi di faktor transkripsi di 19 gen terlibat dalam timbulnya dan perjalanan penyakit TB. Berdasarkan peramalan ini, terdapat hipotesis bahwa gen memainkan peran penting dalam kerentanan terhadap tuberkulosis melalui ekspresi hasil gen dan modifikasi pengaturan transkripsi gen.¹⁻³

Penelitian pertama kali di Cina melaporkan bahwa ragam genetik *Macrophage Mannose Receptor/Mannose Receptor C type 1* (MMR/MRC-1) yang menyandi *Mannose Receptor* (MR) dan berlokasi di kromosom 10p12 yang terdiri dari 30 *exon*, berhubungan dengan kejadian TB paru. Penelitian ini melibatkan 222 orang pasien TB dan 232 orang sebagai pembandingan, dari 6 *Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) *exon* 7 di MMR (G1186A, G1195A, T1212C, C1221G, C1303T dan C1323T) ditemukan hanya di alel G1186A (rs34039386) tempat terjadinya polimorfisme yang bermakna di kedua kelompok ($P=0,037$; OR=0,76; 95% selang kepercayaan 0,58-0,98). Pada penelitian ini pemeriksaan SNPs gen MMR, dengan sekuensing segmen DNA gen MMR yang diperoleh dari hasil amplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer *forward* TTG AGG CTG CAA TGA GAC AT dan primer *reverse* AGT GTAAGG TAG ACT GCT CT.⁴

Keberhasilan sekuensing DNA sangat bergantung dari keberhasilan proses PCR. Asas PCR adalah melipatgandakan secara eksponensial sekuen nukleotida tertentu secara *in vitro*. Agar dapat mengenali sekuen yang akan dilipatgandakan diperlukan primer tertentu yang spesifik. Daerah yang dikenal primer inilah yang nanti akan dilipatgandakan hingga ribuan bahkan jutaan kopi, sehingga setelah

dielektroforesis akan terlihat pita dari DNA yang diamplifikasi tersebut.⁵⁻⁸

Perancangan primer dapat dilakukan berdasarkan urutan DNA yang telah diketahui ataupun dari urutan terkait protein yang dituju. Data urutan DNA atau protein dapat diperoleh dari pangkalan data *Genbank*.⁶

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang berjudul hubungan *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) pada gen MMR dengan kejadian tuberkulosis paru. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini merupakan kajian pendahuluan yang bertujuan mencari primer spesifik dari 2 rancangan yang berasal dari penelitian di Cina/primer I dan yang dirancang sendiri/primer II, sebagai langkah awal pemeriksaan sekuensing DNA.

METODE

Penelitian ini merupakan kajian deskriptif, yaitu peneliti mendeskripsikan hasil merancang primer dan mengukuhkan kemampuan kedua primer (yang berasal dari penelitian di Cina dan yang dirancang sendiri), yaitu mengamplifikasi daerah yang diinginkan. Penelitian ini dilaksanakan antara bulan Maret–Agustus 2014, untuk perancangan dan pemeriksaan PCR di laboratorium Biomolekuler Patologi Klinik Rumah Sakit Umum Pusat dr. Hasan Sadikin Bandung. Sedangkan pemeriksaan sekuensing DNA gen MMR di Lab Biologi Molekuler Eijkman Jakarta.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *heating block*, mesin *thermocycler* PCR, mikrosentrifus, mikropipet, tabung Eppendorf, *microtube*, *vortex*, *chamber*, rak tabung mikro, pemasok tenaga, tempat pembuangan, tabung PCR, *gel doc*, *UV Illuminator*. Bahan yang digunakan adalah *deoxynucleotide triphosphate* (dNTP's), *taq polymerase*, bufer 10X, MgCl₂, H₂O, agarose, *Tris*, *acetic acid* and *EDTA* (TAE) IX, *Sybr safe gel stain*, air suling, *DNA ladder*.

Dalam penelitian ini DNA yang digunakan berasal dari darah vena EDTA yang diambil dari 10 orang normal yang sudah diketahui sehat masing-masing sebanyak 3 mL. Setelah itu dipusingkan guna diambil *buffy coat* untuk isolasi berkaitan dengan DNA.

Primer yang akan digunakan untuk mendeteksi fragmen DNA dari gen MMR menggunakan piranti lunak komputer “primer3”. Pengukuhan dilakukan menggunakan BLAST *gen bank* The National Center for Biotechnology Information (NCBI) untuk melihat keberadaan kemungkinan salah cetak primer dengan daerah lain di gen MMR, selain daerah yang akan diamplifikasi. Jika tidak ditemukan kemungkinan keberadaan salah cetak, maka selanjutnya hasil rancangan primer siap untuk dibuat menjadi oligonukleotida primer.⁴

Langkah yang dilakukan selama penelitian, ialah sebagai berikut: Isolasi DNA dari sampel; Rancangan primer untuk gen MMR menggunakan perangkat lunak primer3; Perbaikan reaksi PCR menggunakan primer I dan II; Amplifikasi gen MMR dengan PCR; Melakukan elektroforesis di gel agarose 0,8% untuk mengetahui hasil amplifikasi; Sequencing DNA gen MMR; Analisis bioinformatika menggunakan perangkat lunak DNA Baser dan European Bioinformatics Institute and the Wellcome Trust Sanger Institute—Basic Local Alignment Search Tool (*Ensembl-BLAST*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Primer I (panjang 20 bp) yang berasal dari peneliti Cina terdahulu sebagai berikut:

Forward primer 5'TTG AGG CTG CAA TGA GAC AT3' dan

Reverse primer 5'AGT GTA AGG TAG ACT GCT CT3'

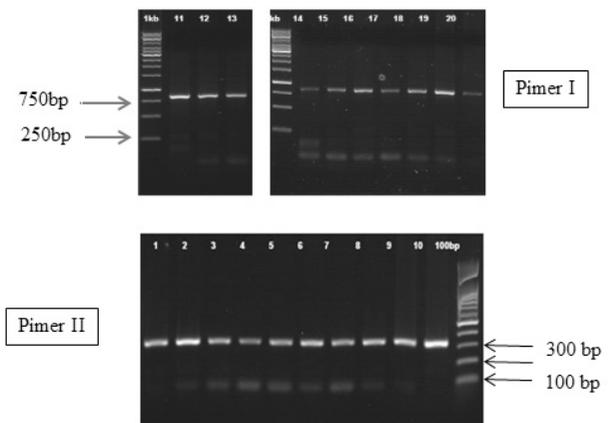
Kemudian dihasilkan sebuah rancangan primer baru hasil merancang di laboratorium Biomolekuler Patologi Klinik Rumah Sakit Umum Pusat dr. Hasan Sadikin Bandung (primer II) dengan panjang 20 bp yaitu:

Forward primer 5'CTA GTC AGT GGT GGC CGT AT3'

Reverse primer 5'CAC ATT GTG GTC GCA TTT TCA GC3'

Deoxyribo Nucleic Acid yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya diamplifikasi menggunakan PCR dengan primer I dan II. Hasil mengisolasi DNA lebih lanjut dilakukan amplifikasi PCR dan hasilnya dielektroforesis di agarosa 0,8%. Lokasi DNA yang terdapat di gel dapat diamati dengan *staining* menggunakan *Sybr safe gel stain*, sehingga nanti dapat dilihat sewaktu gel diletakkan di atas *Gel Doc*. Hal ini dapat dilihat di Gambar 1.

Pada penelitian ini diteliti pendahuluan sekuensing DNA terhadap 10 sampel orang yang sehat, dari hasil PCR menggunakan kedua jenis primer. Hal ini dilakukan untuk memastikan ketelitian metode PCR.



Gambar 1. Hasil isolasi DNA menggunakan kedua primer

Setelah diperoleh pengukuhan mengenai pita (*band*) DNA, sampel sebanyak 30 μ L disekuensing DNA.

Pemeriksaan sekuensing DNA menggunakan metode *Sanger* dengan alat *Big Dye Terminator* dari *ABI 3130xl Genetic Analyzer*. Penilaian hasil menganalisis sekuensing fragmen DNA gen MMR dari kedua jenis primer menggunakan perangkat lunak *DNA Baser* dan *Ensembl-BLAST*.

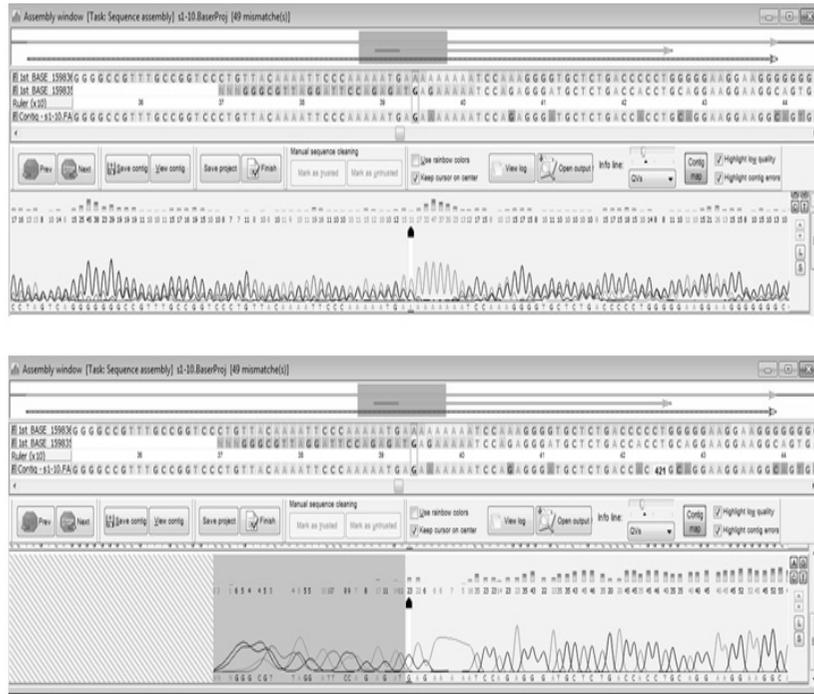
Tampilan analisis hasil sekuensing DNA dengan perangkat lunak *DNA Baser* dapat dilihat di Gambar 2.

Tampilan analisis hasil sekuensing DNA perangkat lunak *Ensembl-BLAST* salah satu contohnya pada sampel No. 2, dapat dilihat di Gambar 3.

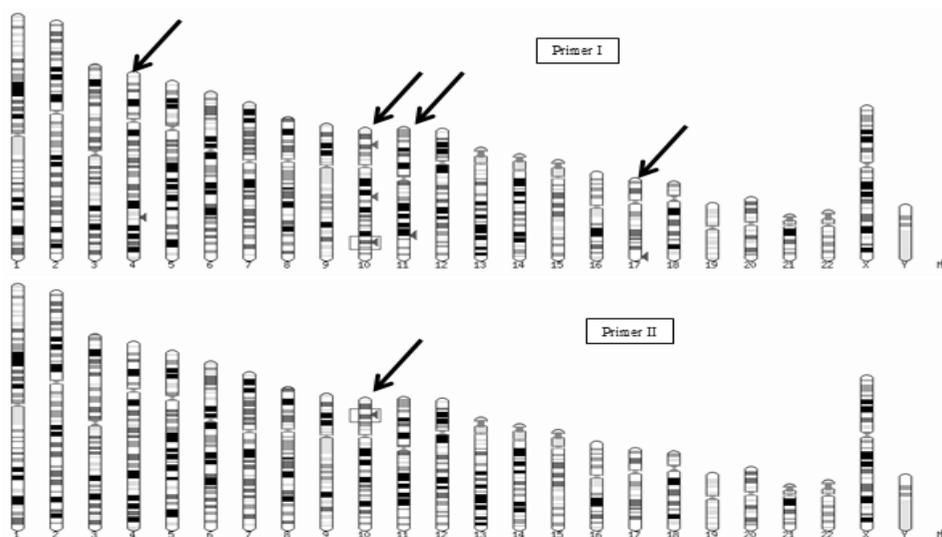
Amplifikasi DNA dengan primer I tidak spesifik untuk fragmen gen MMR, dibandingkan dengan amplifikasi dengan primer II. Hasil sekuensing DNA dengan menggunakan primer I ditemukan penempelan primer tidak hanya di kromosom 10, tetapi juga di lokus ditemukannya di kromosom 2,3,4,5,9,10,11,12,16 dan 17. Di samping itu juga ditemukan dalam beberapa lokus di kromosom 10 dan 11, sedangkan dengan menggunakan primer II terlihat spesifik hanya pada kromosom 10 dan satu lokus yang sama, hal ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Keberhasilan reaksi PCR sangat ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu: Deoksiribonukleotida trifosfat (dN-TP); Oligonukleotida primer; DNA *template*; Susunan larutan bufer; Jumlah dauran reaksi; Enzim yang digunakan dan faktor teknis lainnya, seperti pencemaran.⁸

Oligonukleotida primer (rancangan primer) memegang peran penting untuk kekhasan terbesar dan keberhasilan-gunaan PCR. Primer yang baik ditentukan oleh beberapa sifat/cirinya yaitu: Panjangnya, *Primer Melting Temperature* (T_m), *Primer Annealing Temperature* (T_a), Selisih *Primer Melting Temperature* (ΔT_m), *GC Content*, *GC Clamp*, *Secondary Structures*,



Gambar 2. Hasil analisis sekunging DNA perangkat lunak DNA Baser di sampel No. 2



Gambar 3. Contoh analisis sekunging DNA perangkat lunak Ensembl-BLAST di sampel No. 2

Self-Complementary (SC) dan *Pair-Complementary (PC)*, mengulang dan mengelolanya, kekhasan atau keunikan, panjang hasilnya dan sisi keterbatasannya.⁵

Rancangan primer yang baik sangat penting untuk keberhasilan reaksi PCR. Penelitian terkait rancangan primer memiliki beberapa sifat/ciri yang perlu dipertimbangkan. Gabungan sifat/ciri yang digunakan pada setiap penelitian hampir mirip satu sama lain, baik untuk rancangan primer tunggal maupun primer multiplek. Setelah mengetahui beberapa sifat/ciri

primer yang penting untuk merancang yang terkait PCR, maka selanjutnya dapat diteliti untuk mencari sifat/ciri yang bermakna terhadap pengharapan baik rancangan primer tersebut.⁸

SIMPULAN

Didari telitian ini, dapat disimpulkan bahwa rancangan primer I belum spesifik, karena mengenali tidak hanya di kromosom 10p12, tetapi mengenali

Tabel 1. Hasil analisis sekuensing DNA gen MMR menggunakan 2 macam primer

No Sampel	Primer	Lokasi sekuens DNA pada kromosom ke dan Jumlah lokus										Jumlah
		2	3	4	5	9	10	11	12	16	17	
1	I						1					1
2							1					1
3							1					1
4							1					1
5							1					1
6							1					1
7							1					1
8							1					1
9							1					1
10							1					1
1	II			1	1		2	2			1	7
2				1			3	1			1	6
3			1		1		2	1		1	1	7
4							1					1
5					1	1	1	2	2		1	8
6					1	1	1	2	1		1	7
7				1	1		1	2	1	1	1	8
8					1		1	2	1		1	6
9							1	1			1	3
10								1				1

beberapa kromosom dan termasuk beberapa lokus dalam 1 kromosom. Sedangkan rancangan primer II lebih spesifik, karena berhasil mengenali hanya kromosom 10p12 sebagai tempat gen MMR.

Rancangan primer PCR yang tepat adalah salah satu faktor yang paling penting dalam keberhasilan sekuensing DNA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melalui pendanaan hibah Riset pembinaan ilmu pengetahuan dan kedokteran (RISBIN IPTEKDOK) periode Tahun 2014.

DAFTAR PUSTAKA

1. Qidwai T, Jamal F, Khan My. DNA Sequence Variation and Regulation of Genes Involved in Pathogenesis of Pulmonary Tuberculosis. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2012;75(6): 568-87 568-83.

2. Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LAB, Netea MG, Crevel RV. Innate Immune Recognition of Mycobacterium tuberculosis. *Review Article Clinical and Developmental Immunology*, 2011; Article ID 405310, 1-12. doi:10.1155/2011/405310

3. Broz P, Monack DM. Newly Described Pattern Recognition Receptors Team Up Against Intracellular Pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(8): 551-65.

4. Zhang X, Jiang F, Wei L, Li F, Liu J, Wang C, et al. Polymorphic Allele of Human MRC1 Confer Protection against Tuberculosis in a Chinese Population *International Journal of Biological Sciences*, 2012; 8(3): 375-82.

5. Pan W, Byrne-Steele M, Wang C, Lu S, Clemmons S, Zahorchak SJ, and Han J. DNA polymerase preference determines PCR priming efficiency. *BMC Biotechnology* 2014; 14:10.

6. Syamsurizal, Yanwirasti, Manaf A dan Jamsari. Konstruksi Primer Untuk Deteksi Snp Rs12255372 Pada Gen 228 Transcription Factor 7 Like 2 (Tcf7l2) Penyebab Diabetes Melitus Tipe-2 Dengan Metode Amplification Refractory Mutation System (Arms) – Pcr. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III*. ISSN: 2339-2592. 2013; 228-237.

7. Leonard JT, Grace MB, Buzard GM, Mullen MJ and Barbagallo CB. Millipore, Danvers, MA Preparation of PCR Products for DNA Sequencing. *BioTechniques*, 1998; 24: 314-317.

8. Sasmito Dinda E K., Kurniawan Rahadian dan Muhimmah Izzati. Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) V Magister Teknik Informatika, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Islam Indonesia* 2014; 93-102