

PENELITIAN

RANCANGAN PRIMER SPESIFIK GEN MACROPHAGE MANNANOSE 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 Sutedia⁴,
Dida Ahmad Gurnida³, Ida Parwati², Bacht 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 mannosylated 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 manosilat *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