

VALIDASI TEKNIK NOVEL *TRIPLEX ALLELE SPESIFIC PCR* UNTUK MENDETEKSI POLIMORFISME -1082 G>A GEN IL-10 DAN -308 G>A GEN TNF α

I G K Nyoman Arijana¹, I Dewa Made Sukrama², I Made Gede Dwi Lingga Utama³

¹Bagian Histologi, FK UNUD

²Bagian Mikrobiologi FK UNUD

³Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNUD/RSUP Sanglah
nyomanarijana@unud.ac.id

ABSTRAK

Penyakit Dengue merupakan penyakit endemis di daerah tropis dan subtropis, dimana terdapat tempat-tempat wisata yang ramai dikunjungi. Hal ini menyebabkan wisatawan yang berkunjung rentan terkena infeksi. Setiap tahunnya terjadi infeksi virus Dengue sebanyak 50 juta dengan *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) sebanyak 500 ribu kasus dan jumlah kematian sebanyak 22.000 terutama pada anak-anak.

Infeksi virus Dengue mengakibatkan gejala yang berspektrum dan dipengaruhi oleh umur, genetik host dan status viremia. Patogenesis terjadinya DHF belum diketahui sepenuhnya, namun beberapa studi mendukung peran sitokin dimana sitokin memperantai terjadinya kebocoran plasma. Sitokin yang mengalami perubahan ekspresi pada DHF utamanya adalah IL10 dan TNF α . Beberapa studi menunjukkan adanya variasi (polimorfisme) dalam region promoter mempengaruhi ekspresi. Namun penelitian-penelitian tersebut masih menggunakan teknik mendeteksi polimorfisme seperti PCR-RFLP dimana dapat dikatakan menghabiskan waktu dan biaya. Hal dapat dihitung dari banyaknya produk PCR yang diperlukan untuk proses restriksi serta perlunya reagen enzim restriksi itu tersebut. Oleh karenanya dipandang perlu dikembangkan teknik yang dapat mendeteksi varian tersebut dengan menggunakan PCR konvensional yang lebih terjangkau oleh negara berkembang. Teknik yang tepat untuk dikembangkan adalah *duplex allele spesific PCR* karena dapat menghindari kesalahan post-PCR yang dapat terjadi pada PCR-RFLP. Selain itu pada *duplex allele spesific PCR* sudah terdapat kontrol internal untuk menghindari adanya kesalahan internal saat proses amplifikasi. Teknik ini bersifat murah, cepat dan dapat diaplikasikan pada tempat dengan fasilitas terbatas.

Design penelitian adalah uji diagnostik. Darah vena dari 16 anak dengan DHF dikumpulkan secara konsekutif, dilakukan isolasi DNA dan disekuensing sebagai baku standar. Kemudian dikembangkan design primer secara *trial and error* untuk menghasilkan *duplex allele spesific PCR*. Selanjutnya dilakukan analisis untuk melihat sensitivitas dan spesifisitas teknik novel *duplex allele spesific PCR* untuk mendeteksi polimorfisme -1082 G>A gen IL-10 dan -308 G>A gen TNF α .

Kata Kunci : DHF, Polimorfisme, IL-10, TNF α