

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN Rv1926c**  
*Mycobacterium tuberculosis* ISOLAT MAKASSAR SEBAGAI KANDIDAT  
VAKSIN TUBERKULOSIS

**NURUL PADHILAH**

**H411 15 512**



**DEPARTEMEN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**MAKASSAR**  
**2019**



**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN Rv1926c  
*Mycobacterium tuberculosis* ISOLAT MAKASSAR SEBAGAI KANDIDAT  
VAKSIN TUBERKULOSIS**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Sains*

**NURUL PADHILAH**

**H411 15 512**



**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

KATA PENGANTAR

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN Rv1926c  
*Mycobacterium tuberculosis* ISOLAT MAKASSAR SEBAGAI KANDIDAT  
VAKSIN TUBERKULOSIS**

**NURUL PADHILAH**

**H411 15 512**

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama

**Dr. Rosana Agus, M.Si**  
NIP. 19650905 199103 2 003

Pembimbing Pertama

**Dr. Sjafaraenan, M.Si**  
NIP. 19580816 198703 2 001

Makassar, 21 Januari 2019



## KATA PENGANTAR

*Alhamdulillah rabbil 'alamin*, segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT. karena atas segala nikmat berupa rahmat dan hidayah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Isolasi dan Karakterisasi Gen Rv1926c *Mycobacterium tuberculosis* Isolat Makassar sebagai Kandidat Vaksin Tuberkulosis**” yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang Strata Satu (S1) Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Banyak kendala yang penulis hadapi dalam penyusunan skripsi ini, sejak dari awal perencanaan penelitian, jalannya penelitian hingga dalam tahap penyusunan laporan. Namun berkat doa, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melalui kendala-kendala tersebut dan dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada kedua orang tuaku tercinta Ayahanda Nurdin dan Ibunda Idawati atas dukungan berupa doa dan kasih sayang yang tak terbatas serta segala bentuk motivasi yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan sampai di tingkat perguruan tinggi. Kepada Nenek tersayang, Hj. Nursiah, terima kasih telah menjadi orang tua kedua bagi penulis dari kecil hingga sekarang, terima kasih atas doa yang selalu dipanjatkan dan dukungannya selama ini bagi penulis. Terima kasih untuk adikku tercinta Nur Safitri dan Muh. Yusuf Almudi atas dukungan

yang selalu ada untuk penulis.

Terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada ibu Dr. Agus, M.Si., dan ibu Dr. Sjafaraenan, M.Si. selaku pembimbing yang



telah membantu dan membimbing penulis dalam melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi. Terima kasih atas segala ilmu, bimbingan, doa, dukungan, perhatian, semangat, waktu yang diberikan ditegah-tengah kesibukan dalam membimbing, saran dan motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan skripsi ini sampai selesai.

Ada banyak sukacita yang dirasakan penulis ketika menyelesaikan skripsi ini, karena begitu banyak orang-orang yang memberikan dukungan kepada penulis, khususnya dalam perjuangan menyelesaikan skripsi ini. Dengan ketulusan hati penulis mengucapkan terima kasih yang begitu besar kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) UNHAS beserta jajarannya.
3. Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) UNHAS.
4. Bapak Drs. Ambeng, M.Si, dan bapak Dr. Sulfahri, S.Si., M.Si selaku penguji ujian sidang sarjana.
5. Dr. Eddyman W. Ferial, S.Si., M.Si. selaku penasihat akademik yang selalu memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dari awal hingga akhir masa studi di Jurusan Biologi.
6. Kepada staf dan pegawai laboratorium *Hasanuddin University Research Center* (HUM-RC) unit tuberkulosis yang telah memberi waktu, tenaga, pikiran dan dorongan moril, Kak Marina B. Ali selaku pendamping yang

ak memberi bantuan dan saran dalam menyelesaikan penelitian di  
atorium.



7. Kepada rekan se-penelitianku, Wa Ode Kamillah, St. Nurkhalisa Syam, Rosdiana Marzuki, Wa Ode Siti Purnama Sari, Jesicca Dea Rapar, Unzia Sagita Putri, Risa Dengan Parura, Musdalifah, Rezki Rahmawati Anwar, dan Nurhidayah terima kasih untuk segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis selama penelitian berlangsung hingga penyusunan skripsi.
8. Kepada sahabatku Dody Alfian, Imam Hafidz Imran, Tri Yusmiah Sari, Mifthaniah Sakinah Ananda, Asmin Yuniarti, dan Putri Esmoda, dan Nurfahmiatunnisa, atas segala bantuan dan dukungan kepada penulis selama masa kesulitan yang dihadapi.
9. Kepada teman-teman Biologi 2015 atas bantuan dan dukungan kepada penulis selama perkuliahan.

Dalam penyelesaian skripsi ini tentu masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritik terbaik yang membangun dari para pembaca. Akhirnya, semoga skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kelak.

Makassar, Januari 2019

Penulis



## ABSTRAK

Tuberkulosis adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Sampai saat ini, satu-satunya vaksin yang digunakan untuk pencegahan TB yaitu Bacillus Calmette – Guérin (BCG). Namun BCG kurang efektif terhadap tuberkulosis dengan tingkat efikasi dari 0 hingga 80% pada populasi yang berbeda. Oleh karena itu, pencarian vaksin *Mycobacterium tuberculosis* yang reaktif terhadap penderita tuberkulosis terus dilakukan. Gen Rv1926c dari *Mycobacterium tuberculosis* mampu menginduksi respon imun humoral dan bersifat imonoreaktif sehingga memberikan perlindungan sebagai vaksin DNA. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi gen Rv1926c *Mycobacterium tuberculosis*. Metode yang digunakan adalah mengisolasi DNA kromosom dari kultur *Mycobacterium tuberculosis* dan mengamplifikasi gen Rv1926c dengan PCR menggunakan primer spesifik Forward 5'-CAGCAGGATCCCGCCTATCCCATCACCGGA-3' dan Reverse 5'- GCCCAAGCTTCGGCTCCCAAATCAGCAG-3'. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi gen Rv1926c dari *Mycobacterium tuberculosis* diperoleh satu pita DNA berukuran 412 bp.

Kata Kunci : Gen Rv1926c, Isolasi, PCR , Tuberkulosis



## ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. Until now the only vaccine used for TB prevention is Bacillus Calmette-Guérin (BCG). But BCG is less effective in preventing tuberculosis with efficacy rates from 0 to 80% in different populations. Therefore, the search for a reactive *Mycobacterium tuberculosis* vaccine is continuously carried out to prevent tuberculosis patient. Rv1926c gene from *Mycobacterium tuberculosis* is able to induce humoral and imonoreactive immune responses so as to provide protection as a DNA vaccine. The purpose of this study was to isolate Rv1926c gene from *M.tuberculosis*. The method used is isolating chromosome DNA from *M.tuberculosis* culture and amplifying the Rv1926c gene by PCR with using a specific primer Forward 5'-CAGCAGGATCCCGCCTATCCCATCACCGGA-3' and primer Reverse 5'-GCCCAAGCTTCGGCTCCCAAATCAGCAG-3'. Based on the results of the research conducted, it can be concluded that the results of Rv1926c gene isolation from *M.tuberculosis* obtained a DNA band measuring 412 bp.

Keywords: Rv1926c gene, Isolation, PCR, Tuberculosis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	4
I.3 Manfaat Penelitian.....	4
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
II.1 Karakteristik Umum <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	5
II.1.1 Morfologi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	5
II.1.2 Klasifikasi <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	6
II.1.3 Genom <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	6
II.2 Patogenesis TB .....	7
II.3 Mekanisme Respon Imun pada Penyakit TB .....	9
II.4 Vaksin TB .....	12
II.5 Rv1926c yang Mengkode MPT63 Sebagai Protein Immunogenik..	14
II.6 Ekstraksi atau Isolasi DNA .....	16
II.7 PCR .....	17



II.8 Elektroforesis .....	20
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
III.1 Alat.....	22
III.2 Bahan .....	22
III.3 Prosedur Kerja .....	23
III.3.1 Kultur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	23
III.3.2 Pewarnaan Ziehl-Neelsen .....	23
III.3.3 Isolasi DNA .....	24
III.3.4 Amplifikasi Gen Rv1926c <i>M. tuberculosis</i> dengan PCR ..	25
III.3.5 Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis.....	26
III.3.6 Purifikasi Produk PCR dengan KIT Geneaid .....	27
III.3.7 Analisis Data .....	27
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>28</b>
IV.1 Kultur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	28
IV.2 Pewarnaan Ziehl-Neelsen .....	29
IV.3 Isolasi DNA .....	30
IV.4 Amplifikasi Gen Rv1926c <i>M. tuberculosis</i> dengan PCR .....	32
IV.5 Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis .....	34
IV.6 Purifikasi Produk PCR dengan KIT Geneaid .....	37
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
V.1 Kesimpulan .....	40
V.2 Saran.....	40
<b>R PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>
<b>SARAN .....</b>	<b>45</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur Morfologi <i>M.tuberculosis</i> (Bleyenbergh, 2015) .....	5
Gambar 2.2. Peta Genom <i>M. tuberculosis</i> (Smith, 2003) .....	7
Gambar 2.3. Regulasi Respon Imun <i>M. tuberculosis</i> (O'Garra <i>et al.</i> , 2013) .....	10
Gambar 2.4. Lokasi Gen Rv1926c (NCBI, 2018) .....	15
Gambar 2.5. Proses PCR (Methee, 2014) .....	18
Gambar 4.1. Kultur <i>M. tuberculosis</i> dalam medium Lowenstein-Jensen .....	28
Gambar 4.2. <i>M. tuberculosis</i> setelah pewarnaan ZN .....	30
Gambar 4.3. Hasil BLAST untuk Primer Forward (NCBI, 2018).....	33
Gambar 4.4. Hasil BLAST untuk Primer Reverse (NCBI, 2018) .....	34
Gambar 4.5. Hasil Elektroforesis dari PCR. ....	36
Gambar 4.6. Pita DNA Hasil Purifikasi .....	38



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Kerja Penelitian .....	45
Lampiran 2. Skema Kerja Ekstraksi DNA .....	46
Lampiran 3. Bagan Kerja PCR .....	48
Lampiran 4. Komposisi Bahan.....	49
Lampiran 5. Foto Bahan Yang Digunakan .....	51
Lampiran 6. Prosedur Kerja .....	55



# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Tuberkulosis atau TB adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Penyakit ini biasanya menginfeksi organ paru-paru yang dikenal dengan TB paru, tetapi dapat pula menginfeksi organ lainnya atau disebut pula TB ekstraparu misalnya tulang, selaput otak, dan kelenjar getah bening.

Tuberkulosis merupakan penyakit yang menjadi perhatian global dan masih menjadi salah satu masalah terbesar di dunia internasional. Tuberkulosis adalah salah satu dari 10 penyebab kematian tertinggi di dunia. Pada tahun 2016, diperkirakan terdapat 10.4 juta kasus baru (insiden) TB di seluruh dunia, 6.2 juta diantaranya adalah pria, 3.2 juta adalah wanita dan 1 juta adalah anak-anak. Indonesia menduduki urutan kedua kasus TB tertinggi di dunia setelah India (WHO, 2017). Pada tahun 2016 diperkirakan terdapat 298.128 kasus TB yang dilaporkan, 156.723 diantaranya merupakan penderita TB paru BTA positif (Kemenkes, 2017).

Kasus tuberkulosis di Provinsi Sulawesi Selatan yaitu sekitar 12.972 kasus dengan jumlah penderita TB Paru 7.613 laki-laki dan 5.359 perempuan. Berdasarkan jumlah kasus yang terdata diantaranya merupakan TB paru BTA positif sebesar 7.139 orang yaitu 4.277 laki-laki dan 2.862 perempuan. Khusus di Kota Makassar, berdasarkan data yang diperoleh dari Bidang Bina Pencegahan Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Dinas Kesehatan Kota Makassar 2016, kasus baru penderita

BTA positif di Puskesmas dan Rumah Sakit tahun 2016 yaitu sebanyak 1.928 penderita, angka ini meningkat bila dibandingkan tahun 2015 yaitu 1.928 (Dinkes, 2017).



Penularan infeksi yang telah dilaporkan saat ini banyak dihubungkan dengan beberapa keadaan diantaranya belum optimalnya fasilitas pelayanan kesehatan, tidak memadainya organisasi pengendalian TB, kurangnya tingkat kepatuhan penderita untuk berobat dan meminum obat, harga obat yang mahal, timbulnya resistensi ganda, kurangnya daya tahan tubuh terhadap mikobakteria, meningkatnya kasus HIV/AIDS dan krisis ekonomi. Walaupun pengobatan TB sudah tersedia, namun sampai saat ini TB paru tetap menjadi masalah kesehatan dunia yang utama. TB paru dianggap masalah kesehatan dunia yang penting karena lebih kurang sepertiga penduduk dunia terinfeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Pada bulan Maret 1993 WHO mendeklarasikan TB paru sebagai *global health emergency*.

Selama ini pencegahan TB dilakukan dengan vaksinasi BCG. Bacillus Calmette – Guérin (BCG) adalah satu-satunya vaksin TB yang dilisensikan untuk digunakan pada manusia dalam mencegah TB dari strain *Mycobacterium bovis* hidup yang dilemahkan, dan efektif melindungi bayi dan anak-anak dalam melawan TB berat dan meningeal. Sebagian besar bayi baru lahir di seluruh dunia diberi vaksin BCG dengan harapan akan melindungi bayi terhadap TB. Namun, perlindungan yang diberikan BCG terhadap TB tidak efektif.

Efikasi vaksin ini bervariasi dari 0 hingga 80% pada populasi yang berbeda (Fine, 1995) dengan efektivitas rendah secara konsisten di banyak wilayah tropis di dunia tempat vaksin paling dibutuhkan. Vaksinasi BCG hanya memberi kekebalan 50-60% terhadap tuberkulosis dan bagi beberapa individu vaksin ini kurang efektif

terlalu cepat (Reyn and Jenni, 2002). Efikasi proteksi BCG bervariasi pada orang dewasa. Sebuah hipotesis untuk melindungi rendah terhadap orang dewasa adalah bahwa BCG menginduksi sel T memori yang dapat melindungi manusia



selama 10–15 tahun. Efek perlindungan BCG bervariasi secara geografis, karena sensitisasi oleh mikobakteria lingkungan atau paparan *Mycobacterium tuberculosis* sebelumnya.

Vaksin BCG tidak mencegah seseorang terinfeksi TB, tetapi mencegah perkembangan penyakit tersebut. Vaksin ini secara khusus dirancang untuk mencegah penyakit TB pada anak. Vaksin BCG melindungi anak-anak selama 10 tahun dan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO, 2012) merekomendasikan satu dosis. Vaksin ini bekerja dengan menghasilkan infeksi mikobakteri ringan sampai sistemik yang berlangsung beberapa minggu dan kurang efektif terhadap proteksi dalam jangka panjang sehingga saat ini dikembangkan vaksin TB baru.

Pencarian vaksin *Mycobacterium tuberculosis* yang reaktif terhadap penderita tuberkulosis terus dilakukan untuk pencegahan insiden TB yang semakin meningkat. Pada penelitian Samal (2012) diketahui bahwa gen Rv1926c yang mengkode protein MPT63 dari *Mycobacterium tuberculosis* merupakan antigen spesifik untuk *Mycobacterium tuberculosis*. Rv1926c yang mengkode protein MPT63 merupakan salah satu protein yang disekresikan paling melimpah dari patogen *M.tuberculosis*, serta strain *M.bovis* BCG. Rv1926c yang dihasilkan dari *Mycobacterium tuberculosis* adalah bagian pertama yang berinteraksi dengan sistem kekebalan tubuh inang, sehingga penting dalam mengaktifkan respon imun humoral pada individu yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Kesamaan struktural MPT63 dengan lipatan immunoglobulin dan protein pengikat permukaan sel mengisyaratkan keterlibatannya dalam interaksi inang-sel dan kemampuan untuk mempengaruhi

is selama internalisasi bakteri (Goulding *et al.*, 2002).

v1926c bersifat imunoreaktif terhadap tes antibodi pada manusia dan hewan memberikan perlindungan sebagai vaksin DNA. Rv1926c dapat



menginduksi reaktivitas sel Th1 sedang yang setara dengan reaktivitas yang disebabkan oleh antigen-antigen *M.tuberculosis*. Rv1926c juga ditemukan menginduksi proliferasi dan IFN- $\gamma$  terlepas dari sel mononuklear darah perifer pada pasien TB tetapi tidak pada pasien yang terinfeksi *M. avium*. Hal ini berpotensi dalam respon imun dan memiliki sifat protektif terhadap *M. tuberculosis*. Oleh karena itu, Rv1926c telah diusulkan sebagai target untuk desain vaksin dan pengembangan alat diagnostik (Samal, 2012).

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian ini akan dilakukan isolasi gen Rv1926c yang mengkode protein MPT63 khususnya isolat Makassar. Dihasilkannya gen target hasil isolasi tersebut akan digunakan pada penelitian lebih lanjut untuk produksi vaksin *Mycobacterium tuberculosis*.

## **I.2 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi gen Rv1926c dari *Mycobacterium tuberculosis*.

## **I.3 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan gen target Rv1926c untuk digunakan dalam proses kloning.

## **I.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-November 2018 di Unit Tuberkulosis *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM - RC) dan data dilakukan di Laboratorium Genetika, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Karakteristik Umum *Mycobacterium tuberculosis*

##### II.1.1 Morfologi *Mycobacterium tuberculosis*

*Mycobacterium tuberculosis* termasuk bakteri berbentuk basil atau batang, dinding selnya mengandung kompleks lipida-glikolipida serta lilin (wax) yang sulit ditembus oleh zat kimia (Depkes, 2007). Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida seperti arabinogalaktan dan arabinomanan. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu akan tetap tahan terhadap upaya penghilangan zat warna dengan menggunakan larutan asam – alkohol (PDPI, 2012).



Gambar 2.1. Struktur Morfologi *M. tuberculosis*  
Sumber: (Bleyenbergh, 2015).

Bakteri *M. tuberculosis* memiliki ukuran lebar 0,3 – 0,6  $\mu\text{m}$  dan panjang 1– 4

ing *M. tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak yang cukup  
itu sekitar 60%. Penyusun utama dari dinding sel *M. tuberculosis* ialah  
olat, lilin kompleks (*complex-waxes*), trehalosa dimikolat yang disebut *cord*



*factor*, dan *mycobacterial sulfolipids* yang berperan dalam virulensi. Asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang (C60 – C90) yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan dengan peptidoglikan oleh jembatan fosfodiester (PDPI, 2012).

### II.1.2 Klasifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Menurut Widowati (2012) dalam buku yang berjudul Tuberkulosis Paru menyatakan bahwa klasifikasi dari *Mycobacterium tuberculosis*, yaitu:

Kingdom	: Monera
Phyllum	: Actinobacteria
Classis	: Actinomycetes
Ordo	: Actinomycetales
Sub Ordo	: Corynebactericea
Familia	: Mycobacteriaceae
Genus	: <i>Mycobacterium</i>
Species	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

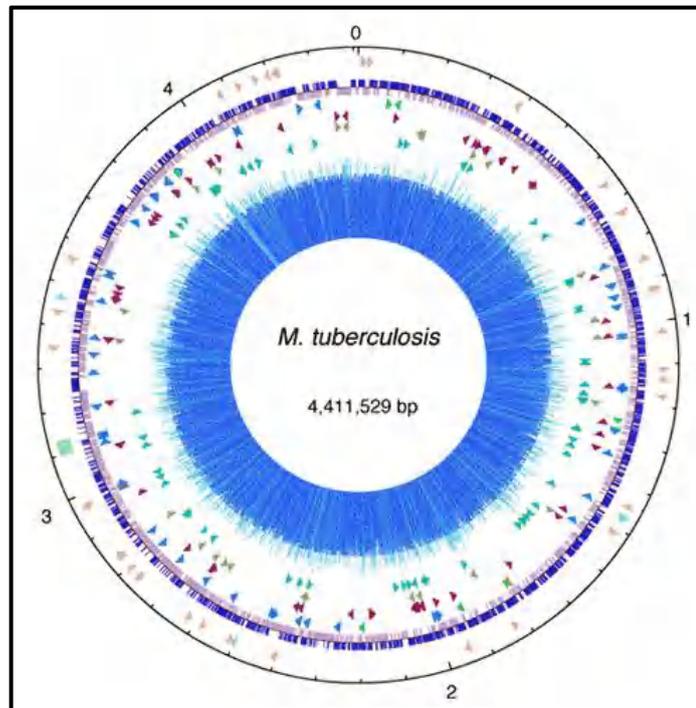
### II.1.3 Genom *Mycobacterium tuberculosis*

Genom *Mycobacterium tuberculosis* berukuran sangat besar. Genom dari *Mycobacterium tuberculosis* terdiri 4.411.529 pasangan basa, mengandung sekitar 4.000 gen dan memiliki kandungan guanin dan sitosin yang sangat tinggi yang dapat terlihat dalam isi asam amino yang terkandung dalam protein. Struktur genom ini diketahui mengalami evolusi dan sistem pengaturan ulang yang bertujuan untuk

hankan gen-gen yang bersifat konstitutif (dibutuhkan untuk kelangsungan serta menghilangkan sejumlah gen yang tidak diperlukan lagi. Dengan teknologi, genom *Mycobacterium tuberculosis* beserta protein yang



diekspresikannya telah dapat dipetakan (Gambar 2.1). Pengetahuan ini sangat bermanfaat dalam studi yang terkait patogenesis suatu penyakit serta penemuan obat dan vaksin (Rinanda, 2015).



Gambar 2.2. Peta Genom *Mycobacterium tuberculosis*  
Sumber: (Smith, 2003).

Genom *Mycobacterium tuberculosis* mempunyai ukuran 4,4 Mb (mega base). Dari hasil pemetaan gen, telah diketahui lebih dari 165 gen dan penanda genetik yang dibagi dalam tiga kelompok. Kelompok pertama, gen yang merupakan sekuen DNA mikobakteria yang selalu ada (*conserved*) sebagai DNA target, kelompok kedua merupakan sekuen DNA yang menyandi antigen protein, sedangkan kelompok ketiga adalah sekuen DNA ulangan seperti elemen sisipan (PDPI, 2012).

## II.2 Patogenesis TB

Secara klinis, TB dapat terjadi melalui infeksi primer dan pasca primer. Infeksi primer terjadi saat seseorang terpapar kuman TB untuk pertama kalinya. Infeksi sekunder terjadi melalui saluran pernafasan, di dalam alveoli (gelembung paru)



terjadi peradangan. Hal ini disebabkan oleh kuman TB yang berkembang biak dengan cara membelah diri pada paru-paru (Young *et al.*, 2008).

Bakteri tuberkulosis yang masuk melalui saluran pernapasan akan bersarang di jaringan paru sehingga akan terbentuk suatu sarang pneumonik, yang disebut sarang primer atau afek primer. Masa inkubasi *Mycobacterium tuberculosis* hingga membentuk afek primer biasanya berlangsung dalam waktu 10-20 hari. Ciri utama dari sarang primer akan terlihat adanya peradangan saluran getah bening menuju hilus (limfangitis lokal). Peradangan tersebut akan diikuti oleh terjadinya pembesaran kelenjar getah bening di hilus (limfadenitis regional) (PDPI, 2012).

Philips and Joel (2014) menyatakan bahwa afek primer yang terbentuk bersama dengan limfangitis regional disebut sebagai kompleks primer tuberkulosis. Kompleks primer tersebut akan mengalami beberapa kemungkinan yaitu sebagai berikut :

1. Sembuh dengan tidak meninggalkan cacat sama sekali (*restitution ad integrum*).
2. Sembuh dengan meninggalkan sedikit bekas (antara lain Ghon, garis fibrotic, sarang perkapuran di hilus).
3. Menyebar dengan cara :
  - a. *Perkontinuitatum*, menyebar ke daerah di sekitarnya. Bakteri tuberkulosis akan menjalar sepanjang bronkus yang tersumbat sampai ke lobus yang atelektasis dan menimbulkan peradangan pada lobus yang atelektasis tersebut, yang dikenal sebagai epituberkulosis.
  - b. Penyebaran secara *bronkogen*, baik dibagian paru yang bersangkutan maupun ke paru bagian sebelahnya.



- c. Penyebaran secara *hematogen* dan *limfogen*. Penyebaran ini berkaitan dengan daya tahan tubuh, jumlah dan virulensi bakteri.

Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (2006), mengatakan bahwa dari tuberkulosis primer akan muncul bertahun-tahun kemudian tuberkulosis post-primer, biasanya pada rentang usia 15-40 tahun. Tuberkulosis post primer disebut juga tuberkulosis bentuk dewasa, *localized tuberculosis*, atau tuberkulosis menahun. Bentuk tuberkulosis inilah yang menjadi masalah kesehatan di masyarakat karena dapat menjadi sumber penularan. Tuberkulosis post-primer dimulai dengan terbentuknya sarang dini yang umumnya terletak di segmen apikal dari lobus superior maupun lobus inferior.

Tuberkulosis ekstrapulmonal dapat terjadi pada 25-30% anak yang terinfeksi TB. TB tulang dan sendi terjadi pada 5-10% anak yang terinfeksi, dan paling banyak terjadi dalam 1 tahun tetapi dapat juga 2-3 tahun kemudian. TB ginjal biasanya terjadi 5-25 tahun setelah infeksi primer (Werdhani, 2014).

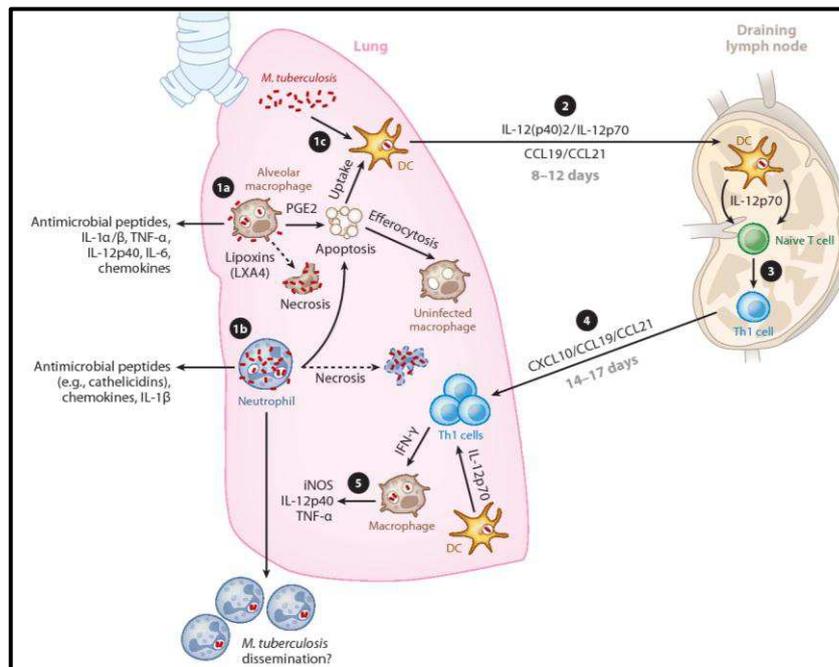
### **II.3 Mekanisme Respon Imun pada Penyakit TB**

Menurut Karakousis *et al.* (2004) segera setelah terjadi infeksi bakteri TB akan difagositosis oleh sel makrofag alveolar dan tetap bertahan hidup dalam fagosom. Respon makrofag terhadap infeksi awal ini merupakan *innate immune responses* yang utama. Selanjutnya rekrutmen sel-sel dendritik merupakan respon imun selular termasuk didalamnya keterlibatan sel T CD4<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup> dengan kemungkinan terbentuknya granuloma. Pada umumnya sebagian besar individu

bertahan agar tidak sakit tetapi tidak mampu mengeleminasi bakteri, bakteri tetap berada di dalam granuloma yang dapat berkembang dan likan infeksi TB laten.



*Mycobacterium tuberculosis* mengekspresikan sekitar 4000 protein, banyak di antaranya mengandung epitop sel T CD4 / CD8 yang diakui oleh reseptor sel T tipe  $\alpha\beta$ , dan menstimulasi respon imun terhadap makrofag yang terinfeksi. Melalui infeksi tuberkulosis pada manusia dan hewan, sel efektor utama yang terlibat hingga saat ini dalam pengendalian tuberkulosis adalah limfosit T dan makrofag alveolar dan interstitial. Namun, jenis sel lain seperti sel dendritik, pneumocytes tipe II, sel endotel, dan fibroblas telah dilaporkan mampu memfagosit *M. tuberculosis* dan menunjukkan bahwa banyak jenis sel lain yang mungkin terlibat dalam kontrol imunologis terhadap *M. tuberculosis* di paru-paru (Munoz *et al.*, 2018).



Gambar 2.3. Regulasi respon imun selama infeksi *M. tuberculosis*  
Sumber: (O'Garra *et al.*, 2013).

Setelah infeksi aerosol dengan *M. tuberculosis*, makrofag alveolar paru-paru (1a), neutrofil (1b) dan DC paru (1c) dapat menjadi terinfeksi, yang memicu produksi dan sekresi peptida antimikroba, sitokin, dan kemokin. Selain itu, produksi mediator lipid, seperti prostaglandin E2 (proapoptotic) atau lipoxin (pronecrotic), dalam makrofag yang terinfeksi memainkan peran utama



dalam menentukan jalur hilir yang mengarah ke induksi apoptosis atau nekrosis. Sel-sel apoptosis yang terinfeksi dapat diambil oleh DC paru-paru atau *efferocytosed* oleh makrofag paru yang tidak terinfeksi (1c). DC yang terinfeksi *M. tuberculosis* bermigrasi ke kelenjar getah bening paru-paru lokal selama 8-12 hari pasca infeksi. DC bermigrasi ke kelenjar getah bening di bawah pengaruh IL-12 (p40) dan IL-12p70 dan chemokines CCL19 dan CCL21 (2), untuk mendorong diferensiasi sel T naif terhadap fenotip Th1 (3). Sel-sel Th1 antigen spesifik pelindung bermigrasi kembali ke paru-paru dengan bergantung pada kemokin selama 14-17 hari setelah titik infeksi awal atau paparan (4) dan menghasilkan IFN- $\gamma$ , yang mengarah ke aktivasi makrofag, produksi sitokin, induksi mikrobisida faktor termasuk iNOS (5), dan kontrol bakteri.

Respon inang awal terhadap infeksi *M. tuberculosis* ditandai oleh masuknya sel fagositik terutama makrofag alveolar paru dan neutrofil yang direkrut. Setelah pembentukan infeksi *M. tuberculosis* di saluran udara dan parenkim paru, bacilli diyakini terfagositosis oleh makrofag alveolar dan diambil oleh neutrofil dan sel dendritik (DC) (Gambar 2.3). Makrofag dan neutrofil merupakan garis pertahanan pertama oleh ekspresi peptida antimikroba yang dapat berfungsi dalam respon imun awal (O'Garra *et al.*, 2013).

Setelah terserang *M. tuberculosis*, makrofag alveolar memasuki interstitium paru yang membentuk tempat infeksi. Hal ini akibatnya mengarah pada proinflamasi lokal dengan produksi TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 dan IL-12, bersama dengan kemotin inflamasi (CCL2, CXCL10) oleh makrofag yang terinfeksi (Gambar 2.3). Kemokin

merekrut gelombang neutrofil, sel pembunuh alami, CD4, CD8 dan  $\gamma\delta$  T, dan sel-sel yang masing-masing memproduksi komplemen kemokin dan sitokinnya untuk memperkuat perekrutan dan remodeling seluler dari tempat infeksi ke



dalam granuloma. TNF- $\alpha$  bertindak dengan cara umpan balik positif untuk menonjolkan produksi kemokin makrofag sehingga menekankan akumulasi sel imun dan pembentukan granuloma. Produksi TNF- $\alpha$  persisten diperlukan untuk mempertahankan kemokin gradien dan struktur granuloma (Korb *et al.*, 2016).

Peran protektif IFN- $\gamma$  terhadap *Micobacterium tuberculosis* sangat dikenal dan sudah sering dibuktikan kebenarannya terutama dalam konteks antigen spesifik *T-cell immunity*. Produksi IFN- $\gamma$  terhadap suatu antigen yang spesifik pada penyakit TB in vitro dapat dijadikan marker yang penting. Beberapa sel yang berperan dalam memproduksi IFN- $\gamma$  karena adanya respon imun terhadap bakteri *M. tuberculosis* adalah sel NK, makrofag paru, sel TCD1, sel Tgd, TCD4<sup>+</sup> dan sel TCD8<sup>+</sup> (Crevel *et al.*, 2002).

#### II.4 Vaksin TB

Kata “vaksin” berasal dari istilah Latin Variolae vaccinae (cacar sapi) yang ditunjukkan oleh Edward Jenner pada tahun 1798 yang dapat mencegah cacar pada manusia. Saat ini istilah vaksin berlaku untuk semua persiapan biologis yang dihasilkan dari mikroorganisme hidup. Vaksin dapat meningkatkan kekebalan terhadap penyakit, baik dalam mencegah (vaksin profilaksis) atau mengobati (vaksin terapeutik) penyakit. Vaksin diberikan dalam bentuk cair, baik melalui suntikan, melalui mulut, atau dengan rute intranasal (Pharma, 2013).

Vaksin adalah sediaan yang mengandung zat antigenik yang mampu menimbulkan kekebalan aktif dan khas pada manusia. Vaksinasi adalah pendekatan

yang lebih baik untuk menginterupsi infeksi *M. tuberculosis* dan BCG, strain *M. bovis* yang dilemahkan diperkenalkan hampir seabad yang ini BCG adalah satu-satunya vaksin TB yang disetujui dan secara rutin



diberikan kepada bayi di banyak negara untuk melindungi secara efektif terhadap bentuk TB yang parah (Kemenkes, 2017). Namun, efektivitas protektif BCG pada orang dewasa tidak konsisten dan tidak memadai (Kong *et al.*, 2014).

Vaksinasi BCG menginduksi respon hipersensitivitas tipe tertunda terhadap derivatif protein murni yang tidak dapat dibedakan dari paparan *Mycobacterium tuberculosis*, dan dapat membahayakan efikasi diagnostik. BCG sebagai vaksin hidup merupakan kontraindikasi pada orang yang terinfeksi HIV. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa semua strain BCG dalam penggunaan saat ini tidak memiliki beberapa segmen DNA yang terdapat dalam *M. tuberculosis* dan *M. bovis* patogen, yang menyandikan antigen penting untuk menginduksi kekebalan protektif. Selain itu, ada perbedaan antara strain BCG sehubungan dengan konten DNA (Rosilawati, 2007).

Vaksin BCG perannya sangat terbatas dalam hal pencegahan penularan TB. Ada beberapa faktor yang diduga kuat ikut andil dalam memengaruhi efikasi vaksin BCG. Faktor –faktor tersebut antara lain, yaitu karena adanya variasi dalam hal strain BCG (vaksin ini telah di produksi selama bertahun-tahun), perbedaan faktor genetik inang yang sangat bervariasi dalam hal tingkat status gizi inang dan akan sangat mempengaruhi respon sistem imun inang yang bersangkutan, adanya variasi dalam hal virulensi *M. tuberculosis* yang menginfeksi inang, pengaruh *mycobacteria* dari lingkungan (McShane, 2011).

Vaksin yang telah dikembangkan selama ini belum ada yang mampu mencegah timbulnya penyakit akibat kuman ini. Dengan demikian, strategi yang

untuk mengembangkan vaksin terhadap *M. tuberculosis* mencakup penggunaan vaksin dalam pencegahan sebagai alternatif vaksin BCG yang



sekarang beredar. Oleh karena itu, ada kebutuhan mendesak untuk mengembangkan jenis vaksin TB baru (Zhu *et al.*, 2018).

Pengembangan vaksin anti tuberkulosis (TB) yang efektif merupakan salah satu langkah penting untuk memperbaiki pengendalian TB. Respon imun sel dimediasi secara signifikan dalam mempengaruhi kontrol infeksi *M.tuberculosis*. Dengan demikian, vaksin yang dapat menghasilkan respon kekebalan seluler yang kuat memiliki keuntungan khusus melawan TB. Namun, pada TB tidak ada korelasi dengan perlindungan yang diinduksi vaksin, meskipun respon imun yang dimediasi sel seperti IFN- $\gamma$  diproduksi secara luas dan digunakan untuk menilai imunogenisitas vaksin (Mustafa, 2002).

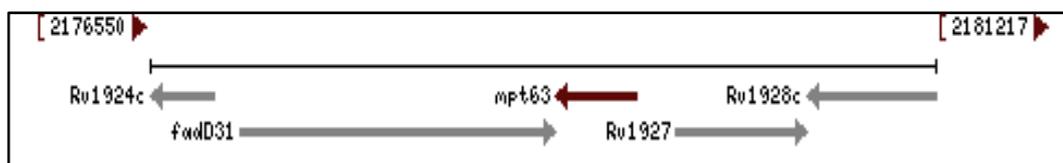
Studi terbaru menunjukkan bahwa memori sentral sel T dan IgA yang disekresikan lokal berkorelasi dengan perlindungan terhadap penyakit TB. Uji coba vaksin TB klinis harus berinvestasi dalam mengidentifikasi korelasi perlindungan, dan mengevaluasi biomarker TB baru yang muncul dari penelitian pada manusia dan hewan. Semua jenis vaksin yang berada dalam tahap uji klinis belum digunakan secara resmi sebagai vaksin untuk pencegahan TB. Terdapat banyak antigen sebagai kandidat vaksin, namun setiap antigen memiliki tingkat kepekaan yang berbeda terhadap kompleks multi-antigen. Kepekaan terhadap kompleks multi-antigen lebih tinggi daripada empat antigen tunggal. Tingkat IgG positif untuk MPT63 lebih tinggi daripada kompleks multi-antigen (Samal, 2012).

## II.5 Rv1926c yang mengkode MPT63 sebagai protein immunogenik

Rv1926c yang mengkode protein MPT63 adalah salah satu protein yang paling melimpah dari *Mycobacterium bovis* atau *Mycobacterium tuberculosis*. Menjadi sangat unik dan khusus untuk kompleks *Mycobacterium*



*tuberculosis*, Rv1926c adalah kandidat yang baik untuk diagnostik kompleks-spesifik pada *Mycobacterium tuberculosis*. Seperti protein yang disekresikan mikobakterium, Rv1926c adalah target untuk respon imun pada inang yang terinfeksi dan dapat menjadi penting untuk patogenesis TB. Beberapa protein disekresikan mikobakteri muncul untuk memainkan peran penting dalam penghambatan pematangan fagosom selama fagositosis dan berkontribusi terhadap kelangsungan hidup *Mycobacterium tuberculosis* serta proliferasi di dalam makrofag inang (Redchuk *et al.*, 2012).



Gambar 2.4. Lokasi gen Rv1926c  
Sumber: (NCBI, 2018).

Rv1926c yang mengkode protein MPT63 adalah antigen baru yang hanya ditemukan pada spesies *Mycobacterium tuberculosis* kompleks. Antibodi poliklonal terhadap Rv1926c tidak bereaksi silang dengan protein yang umum pada lingkungan spesies *Mycobakterium avium*. Rv1926c membangkitkan respons imun humoral pada babi guinea yang terinfeksi *M. tuberculosis* virulen oleh rute aerosol. Pemetaan epitop sel T menunjukkan bahwa Rv1926c yang mengkode protein MPT63 adalah protein imunodominan (Manca *et al.*, 1997).

Rv1926c imunoreaktif dalam tes antibodi pada manusia dan hewan dan memberikan perlindungan sebagai vaksin DNA gabungan pada tikus, vaksin DNA mengkodekan antigen MPT63 dan ESAT-6 telah ditunjukkan untuk menimbulkan respons pelindung yang kuat. Rv1926c dapat menginduksi reaktivitas sel Th1 sedang

ara dengan reaktivitas yang disebabkan oleh antigen-antigen yang  
kan oleh *M. tuberculosis* lainnya. Rv1926c juga ditemukan menginduksi  
i dan IFN $\gamma$  terlepas dari sel mononuklear darah perifer pada pasien TB tetapi



tidak pada pasien yang terinfeksi *M.avium*. Heterogenitas leukosit manusia (HLA) menunjukkan bahwa sel epitop reaktif Th1 tersebar di seluruh urutan Rv1926c (Samal, 2012).

## II.6 Ekstraksi atau Isolasi DNA

Ekstraksi DNA pada dasarnya merupakan proses pemisahan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Ekstraksi DNA pada organisme eukariot dilakukan melalui proses penghancuran dinding sel (lysis of cell walls), penghilangan protein dan RNA (cell digestion), dan pengendapan DNA (precipitation) (Farmasea, 2012).

Isolasi DNA merupakan tahap pertama dari berbagai teknologi analisis DNA. DNA dapat ditemukan baik pada kromosom inti maupun pada organel, yaitu pada mitokondria dan kloroplas. Untuk mengekstrak DNA diperlukan langkah-langkah laboratorium untuk memecah dinding sel dan membran inti, yang dilanjutkan dengan pemisahan DNA dari berbagai komponen sel yang lain. Pada saat melakukannya, DNA harus dijaga agar tidak rusak dan didapatkan DNA dalam bentuk rantai yang panjang (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Isolasi DNA memiliki dua prinsip, yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Prinsip utama sentrifugasi adalah memisahkan substansi berdasarkan berat jenis molekul dengan cara memberikan gaya sentrifugal sehingga substansi yang lebih berat akan berada di dasar, sedangkan substansi yang lebih ringan akan terletak di atas. Prinsip presipitasi adalah pengendapan DNA agar terpisah dari zat lain yang terdapat dalam sel (Kimball, 2005).

Pemecahan sel (lisis) merupakan tahapan dari awal isolasi DNA yang dilakukan untuk mengeluarkan isi sel. Tahap penghancuran sel atau jaringan memiliki beberapa cara yakni dengan cara fisik seperti menggerus sampel dengan



menggunakan mortar dan pestle dalam nitrogen cair atau dengan menggunakan metode freezing-thawing dan iradiasi. Cara lain yakni dengan menggunakan kimiawi maupun enzimatik. Penghancuran dengan menggunakan kimiawi seperti penggunaan detergen yang dapat melarutkan lipid pada membran sel sehingga terjadi destabilisasi membran sel. Sementara cara enzimatik seperti menggunakan proteinase K seperti untuk melisiskan membran pada sel darah serta mendegradasi protein globular maupun rantai polipeptida dalam komponen sel (Surzycki, 2000).

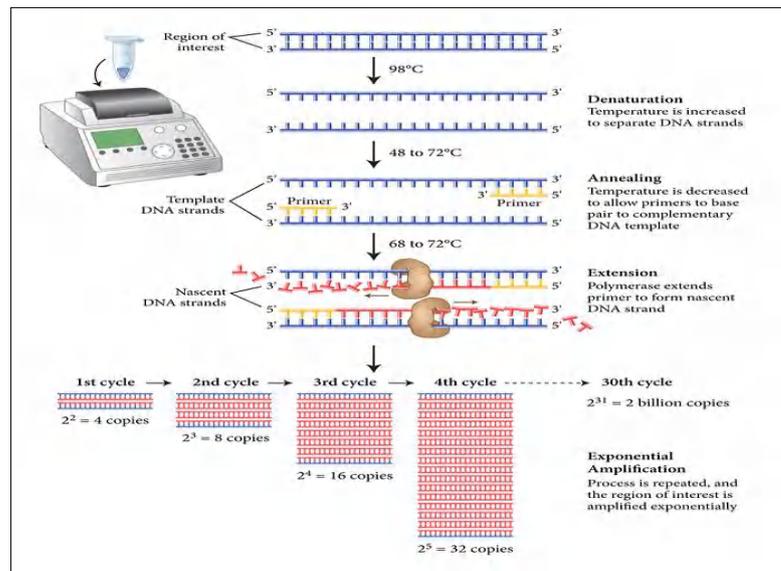
Isolasi DNA kromosom diawali dengan proses lisis sel secara kimiawi dengan menggunakan buffer ekstraksi DNA, proteinase K dan SDS. Buffer ekstraksi DNA mengandung NaCl dan EDTA. NaCl menyebabkan perbedaan gradien antara didalam dan diluar sel sehingga dinding sel menjadi rusak sedangkan EDTA berperan sebagai ion  $Mg^{2+}$  (kofaktor enzim DNase). Proteinase K berperan untuk memutus ikatan gugus karboksil antara asam amino alifatik dan aromatik dalam ikatan peptida yang menyusun lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri. Detergen berfungsi untuk merusak membran sel melalui ikatan yang dibentuk oleh sisi hidrofobik detergen dengan protein dan lemak yang terdapat pada membran (Weston, 2006).

## II.7 PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu tehnik sintesis dan amplifikasi DNA secara in vitro. Tehnik ini ditemukan oleh Kary B. Mullis dan F. Faloona pada tahun 1985. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung

5' dan 3' dari dua untaian sekuensi target. Oligonukleotida ini digunakan sebagai primer (Mullis dan Faloona, 1985). PCR) untuk memungkinkan DNA template dicopy oleh DNA polymerase (Mullis dan Faloona, 1985; Sambrook dan Fritschy, 2010).





Gambar 2.5. Proses PCR  
 Sumber: (Methee, 2014).

Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang meliputi denaturasi; anneling adalah langkah pengenalan primer ke pita DNA yang sesuai; dan ekstraksi oleh enzim DNA polimerase. Tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu denaturasi, anneling dan extension. Proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA cetakan, oligonukleotida primer, deoksiribonukelotida trifosfat (dNTP), enzim DNA polimerase dan komponen pendukung lain yaitu senyawa *buffer*. Salah satu komponen terpenting dari metode PCR adalah primer dimana primer dapat menentukan keberhasilan dari metode ini. Adapun kriteria dalam pemilihan primer (Handoyo & Rudiretna, 2001), yaitu :

1. Panjang primer : 18-30 pb.

... dengan GC berkisar 40-60%.

... temperatur dapat berkisar antara 55-80°C. Perbedaan nilai temperatur yang

... dapat ditoleransi pada kedua primer adalah 10°C.



4. Urutan nukleotida yang sama harus dihindari.
5. Tidak boleh terjadi *self dimmer*, *pair dimmer* atau *hairpin*.
6. Primer dengan pengulangan basa tunggal sama yang terlalu panjang harus dihindari.
7. Penempelan primer pada tempat yang tidak diinginkan dari templat harus dihindari.

Menurut (Purwanto, 2010) ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat, yaitu:

1. Denaturasi

Tahap ini molekul DNA dipanaskan sampai suhu 94°C yang menyebabkan terjadinya pemisahan untai ganda DNA menjadi untai DNA tunggal. Untai DNA tunggal inilah yang menjadi cetakan bagi untai DNA baru yang akan dibuat.

2. Penempelan (*Annealing*)

Enzim *Taq* polimerase dapat memulai pembentukan suatu untai DNA baru jika ada seuntai DNA berukuran pendek (DNA yang mempunyai panjang sekitar 10 sampai 30 pasang basa) yang menempel pada untai DNA target yang telah terpisah. DNA yang pendek ini disebut primer. Pada suhu 55°C selama 30-60 detik suatu primer dapat menempel dengan tepat pada DNA target.

3. Pemanjangan (*Extension*)

Setelah primer menempel pada untai DNA target, enzim DNA polymerase akan memanjangkan sekaligus membentuk DNA yang baru dari gabungan antara primer, DNA cetakan dan nukleotida.

Setelah di atas dilakukan pengulangan, maka untai DNA yang baru dibentuk kembali mengalami proses denaturasi, penempelan dan pemanjangan untai menjadi untai DNA yang baru. Pengulangan proses PCR akan menghasilkan



amplifikasi DNA cetakan baru secara eksponensial. Suhu yang digunakan pada tahap pemanjangan biasanya 72°C karena merupakan suhu optimum enzim Taq polymerase.

## II.8 Elektroforesis

Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan molekul yang menggunakan medan listrik (elektro) sebagai penggerak molekul dan matriks penyangga berpori (foresis). Dengan menggunakan elektroforesis, protein bisa dipisahkan berdasarkan berat molekulnya (menggunakan SDS-PAGE) atau berdasarkan titik isoelektriknya (menggunakan IEF). DNA juga bisa dipisahkan berdasarkan berat molekulnya menggunakan elektroforesis (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Prinsip kerja elektroforesis gel dimulai saat makromolekul yang bermuatan listrik ditempatkan pada medium berisi tenaga listrik. Molekul-molekul tersebut akan bermigrasi menuju kutub positif atau kutub negatif berdasarkan muatan yang terkandung di dalamnya (Magdeldin, 2012).

Elektroforesis digunakan untuk menyediakan informasi mengenai ukuran, konfirmasi dan muatan dari protein dan asam nukleat. Elektroforesis dalam skala besar memungkinkan untuk digunakan sebagai metode pemisahan yang dapat digunakan untuk menentukan komponen dari protein atau asam nukleat setiap individu (Habibi, 2011).

Manfaat elektroforesis gel antara lain untuk mengetahui ukuran fragmen DNA dari produk PCR, memisahkan produk DNA dari hasil digesti yang berbeda-beda hingga dapat disekuensing dan juga untuk pemurnian atau purifikasi DNA.

Elektroforesis dapat diaplikasikan untuk berbagai macam kegiatan, antara lain untuk mengidentifikasi gen homolog dari spesies yang berbeda, mengetahui susunan



sekuens berbagai genom, DNA *finger printing*, mengetahui ada atau tidaknya gen-gen penyebab kelainan genetik atau penyakit tertentu, mendeteksi lokasi dan jumlah mRNA dalam sel atau jaringan tertentu, mengetahui aktivitas gen selama perkembangan berbagai tipe sel organisme atau aktivitas gen sebelum dan sesudah diberi perlakuan tertentu, mempelajari evolusi di tingkat molekular, mengetahui variasi genetik dalam populasi natural di alam, menentukan atau mengidentifikasi berat molekul fragmen DNA, RNA, protein dan aktivitas enzimatik, menganalisa fragmen DNA yang di amplifikasi melalui PCR, mengidentifikasi persamaan dan perbedaan genetik antar individu dan menentukan jumlah fragmen DNA yang diklon dalam rekombinan plasmid DNA (Lee & Bahaman, 2010).

Elektroforesis gel juga memiliki kekurangan yaitu pada deteksi atau identifikasi ampikon. Penggunaan elektroforesis gel ini dirasakan kurang efisien karena lama pengerjaannya dan terbatasnya jumlah sampel yang dapat diperiksa (Tarigan, 2011).

