

# OPTIMASI PROSEDUR PCR UNTUK DETEKSI KELAINAN-KELAINAN GENETIS (SINDROMA WAARDENBURG, OVALOSITOSIS, DEFISIENSI G6PD dan *SICKLE CELL ANEMIA*)

## Intisari

Kelainan genetik disebabkan oleh mutasi pada DNA, sehingga menyebabkan perubahan ekspresi ataupun susunan protein. Empat kelainan (Sindroma Waardenburg, Ovalositosis, Defisiensi G6PD dan Sickle Cell Anemia) di atas adalah contoh kesalahan dari ekspresi gen, dimana akan terjadi perubahan atau penurunan fungsi dari protein yang dihasilkan oleh gen mutan. Perubahan dan penurunan fungsi inilah yang menyebabkan kelainan pada fenotip (keadaan fisik yang dinilai terjadi kelainan). Oleh karena itu sangatlah diperlukan diagnosis awal yang nantinya diharapkan dapat membantu mengantisipasi kelainan fisik yang akan terjadi. Pendeteksian secara molekuler telah dilakukan dan dapat menjadi *gold standard* dalam diagnosis kelainan genetik. Masalah utama dalam pendeteksian secara molekuler yang membutuhkan banyak sampel DNA, sudah dapat dipecahkan dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Dimana metode ini dapat mengamplifikasikan satu atau beberapa sample DNA target dengan waktu yang relatif singkat dan dapat mencapai jumlah yang dibutuhkan untuk pendeteksian lebih lanjut.

Signifikansi dari hasil metode PCR sangat mempengaruhi ketepatan pendeteksian lebih lanjut. Ketelitian dan optimasi yang prima adalah ketepatan pada aplikasi metode ini untuk mendapatkan hasil yang signifikan. Tidak adanya sebuah protokol standar pada prosedur penggunaan metode PCR menyebabkan diperlukannya suatu optimasi yang tepat pada penggunaannya untuk setiap pendeteksian kelainan genetik. Pada keempat kelainan genetik diatas dilakukan pengamplifikasian dengan metode ini dengan optimasi pada bahan, tahap dan prosesnya.

Visualisasi yang spesifik dan viable yang baik dengan pewarnaan ethidium bromida pada elektroforesis menunjukkan prosedur optimasi yang digunakan adalah tepat. Dari protokol PCR yang digunakan pada pendeteksian keempat kelainan diatas ternyata ada tiga hal yang perlu dioptimasi dengan kisarannya yang cukup nyata, yaitu; kisaran konsentrasi  $MgCl_2$  adalah 0,1 – 3 mM; kisaran konsentrasi primer adalah 100 – 500 nM; dan kisaran suhu dan waktu annealing adalah 50 – 70°C dan 30 – 100 detik. Ketelitian dari aplikasi metode PCR dalam melakukan proses pengamplifikasi sangat dibutuhkan untuk meningkatkan signifikansi produk hasilnya.

**Kata kunci:** deteksi kelainan genetik PCR