

INTISARI

Latar Belakang. Multiplex PCR merupakan metode molekular yang dapat dipergunakan untuk deteksi infeksi cacing sekaligus dalam satu reaksi. Tahap-tahap optimasi terhadap semua komponen yang terlibat dalam proses deteksi menggunakan multiplex PCR perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil deteksi yang tepat. Studi yang dilakukan ini dilakukan untuk deteksi infeksi *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* dan *Necator americanus* pada sampel tinja yang telah disimpan selama 3 tahun. Optimalisasi dilakukan baik selama ekstraksi DNA maupun selama tahap amplifikasi.

Tujuan Penelitian. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menemukan kondisi yang optimal untuk mendeteksi infeksi *A.lumbricoides*, *T.trichiura* dan *N.americanus* dalam feses yang diawetkan menggunakan metode multiplex PCR selama ekstraksi DNA maupun pada tahap amplifikasi.

Metode Penelitian. Sebanyak 15 sampel tinja yang diawetkan STH positif menggunakan mikroskop dianalisis untuk mendeteksi infeksi *A.lumbricoides*, *T.trichiura* dan *N.americanus* menggunakan metode multiplex PCR. Optimasi dilakukan selama proses ekstraksi dan amplifikasi DNA.

Hasil. Mendapatkan DNA yang cukup dari telur *Soil Transmitted Helminth* dari feses membutuhkan beberapa langkah termasuk homogenisasi menggunakan *beat beater* dan dengan cepat melewati sampel pada Nitrogen cair diperlukan terutama untuk *T.trichiura* dari minimal 200 mg sampel feses yang diawetkan. Campuran PCR optimal dari beberapa PCR menggunakan gen COI target utama untuk *A. lumbricoides*, 18S rDNA untuk *T.trichiura* dan ITS1 untuk *N.americanus* adalah 15 µl dari Go Taq Green Master Mix, 5 µl dari 3 pasang primer, 5 µl template DNA dan 4 µl Dd H₂O, dan kondisi PCR optimal adalah 30 menit denaturasi pada suhu 95°C, 30 detik pada suhu 53°C untuk proses aniling dan 1 menit ekstensi pada suhu 72°C, diulang 35 siklus.

Kesimpulan. Multiplex PCR dapat dioptimasi untuk mendiagnosis STH isolat Indonesia. Keberhasilan pendeteksian infeksi *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* dan *Necator americanus* menggunakan metode multiplex PCR dipengaruhi oleh preparasi sampel sebelum isolasi DNA dilakukan, yang meliputi beberapa tahapan antara lain homogenisasi sampel menggunakan *bead beater*, serta melewati sampel pada nitrogen cair.

Kata kunci. Optimasi, multiplex PCR, *Soil Transmitted Helminth*.

ABSTRACT

Background. Multiple PCR to detect Soil Transmitted Helminth Infection is one the most effective molecular detection of worm infection in stool samples, since in one run many worm infection can be detected. To ensure the assay work properly, optimization of each component involved in the species detection are essential. In the current study this method will be used to detect *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* and *Necator americanus* infection in stool sample that has been preserved for 3 years. Optimization were done both during DNA extraction as well as during amplification stage.

Objective. The objective of the study is to find the optimal condition to detect *A.lumbricoides*, *T.trichiura* and *N.americanus* infection in preserved stool using multiple PCR both during DNA extraction as well as amplification stage.

Methods. A total of 15 preserved stool sample STH positive using microscopy were analyzed to detect *A.lumbricoides*, *T.trichiura* and *N.americanus* infection using multiple PCR. Optimization were done during DNA extraction and amplification processes.

Result. In order to get sufficient DNA from Soil Transmitted Helminth eggs from the stool, several steps included homogenization using beat beater and rapidly passing the sample on liquid Nitrogen are needed especially for *T.trichiura* from a minimum of 200 mg of preserved stool sample. The optimal PCR mixture of the multiple PCR using premier targeted COI gene for *A.lumbricoides*, 18S rDNA for *T.trichiura* and ITS1 for *N.americanus* are 15 µl of Go Taq Green Master Mix, 5 µl of the 3 pair of primer, 5 µl of DNA template and 4 µl of Dd H₂O, and the optimal PCR condition are 30 minutes of 95⁰C denaturation, 30 second of 53⁰C annealing and 1 minute of 72⁰C extension, repeated 35 cycles.

Conclusion. Multiplex PCR can be optimized to diagnose STH of Indonesian isolates. The success of the detection of *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* and *Necator americanus* infection using the multiplex PCR method was influenced by sample preparation before DNA isolation, which included several steps including homogenization of samples using bead beaters, and passing samples on liquid nitrogen rapidly.

Keywords. Optimization, multiplex PCR, *Soil Transmitted Helminth*