

## **Identifikasi Genotip Golongan Darah Sistem ABO dengan Metode *Direct* PCR-RFLP**

Hasna Fadlilatul Bidayah  
2010/301831/BI/8513

### **INTISARI**

Golongan darah sistem ABO merupakan salah satu golongan darah terpenting secara klinis. Golongan darah ini merupakan salah satu model studi populer. Golongan darah sistem ABO diidentifikasi berdasarkan ada tidaknya antigen A atau B pada eritrosit dan antibodi A atau B pada plasma. Metode serologi merupakan metode umum untuk identifikasi fenotip golongan darah sistem ABO. Pada penelitian ini, ditemukan individu yang memiliki ketidakpastian golongan darah sistem ABO. Ketidakpastian golongan darah yang dimaksud adalah adanya perbedaan fenotip hasil identifikasi golongan darah yang dilakukan pada rentang waktu berlainan dan kemunculan fenotip yang tidak umum pada sistem genetik. Ketidakpastian ini diselidiki lebih lanjut melalui metode molekuler (*genotyping*), yaitu *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui tingkat kesesuaian genotip golongan darah sistem ABO antara hasil uji serologi dengan hasil uji dengan metode *direct* PCR-RFLP pada individu yang diteliti.

Sampel darah kapiler diambil dari 15 individu sehat yang tidak saling berkerabat berusia 18-65 tahun, dengan 11 individu yang memiliki riwayat ketidakpastian golongan darah dan 4 individu berfenotip normal sebagai kontrol negatif. Fenotip ABO diidentifikasi melalui metode serologi menggunakan serum anti-A dan anti-B. Genotip ABO diidentifikasi melalui PCR-RFLP. Sampel darah diamplifikasi dengan TransDirect™ *Blood* PCR kit menggunakan dua pasang primer, yaitu ABO<sub>1</sub> dan ABO<sub>2</sub>. Amplikon primer ABO<sub>1</sub> (199bp atau 200bp) dipotong menggunakan enzim *KpnI*, sedang Amplikon primer ABO<sub>2</sub> (129bp) dipotong menggunakan enzim *AluI*. Genotip kemudian diidentifikasi dengan menganalisa fragmen restriksi DNA hasil elektroforesis.

Hasil analisis menunjukkan bahwa metode *direct* PCR-RFLP dapat mengidentifikasi genotip golongan darah sistem ABO. Keseluruhan individu kontrol memiliki fenotip dan genotip yang sesuai. Tiga orang probandus memiliki fenotip dan genotip yang berbeda: P<sub>7</sub> memiliki fenotip A dan genotip AB, sedang pada P<sub>10</sub> dan P<sub>12</sub> memiliki fenotip A dan genotip AB. Ketidakpastian golongan darah ini disebabkan oleh anomali antigen, anomali antibodi, kelainan, penyakit, ligkungan dan sub kelompok ABO.

**Kata kunci:** Golongan darah sistem ABO, *Genotyping*, *Direct* PCR, RFLP, Ketidakpastian golongan darah.

## **Genotyping of ABO Blood Group System by Direct PCR RFLP Method**

Hasna Fadlilatul Bidayah  
2010/301831/BI/8513

### **ABSTRACT**

ABO blood group has been well documented that remain clinically one of the most important blood group system. This blood group was one of popular models of study. ABO blood group was determined by the presence of A or B antigens in the erythrocytes and A or B antibody in the serum. Serological methods was usual method used to identify ABO blood group phenotype. In this research has been found that some people have ABO blood group phenotype discrepancy. They have different ABO phenotype as a result from different blood group identification and the emergence of uncommon phenotype in the genetic system. This discrepancies investigated further through molecular method (genotyping) by Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR RFLP). This study aim was to confrim the suitability of ABO blood group system genotype between that investigated through serological method and direct PCR-RFLP method.

Capillary blood sample was taken from 15 unrelated healthy people age 18-65 years old, who have discrepancies case 11 people and 4 people with normal ABO phenotype as negative control. ABO phenotype was identified using serological method with anti-A and anti-B serum. ABO genotype was identified using PCR-RFLP method. Blood samples were amplified using TransDirect™ Blood PCR kit using two primer pairs, ABO<sub>1</sub> and ABO<sub>2</sub>. Amplicon of ABO<sub>1</sub> primer (199bp or 200bp) was digested with *KpnI* enzyme. Amplicon of ABO<sub>2</sub> primer (129bp) was digested with *AluI* enzyme. ABO genotypes were conclusively determined by examining the electrophoresis patterns of DNA fragments.

The analysis showed that direct PCR-RFLP method can identify the ABO blood group genotype. Overall controls have the corresponding phenotype and genotype. Three probandus have a different phenotype and genotype: P<sub>7</sub> has A phenotype and AB genotype; P<sub>10</sub> and P<sub>12</sub> have A phenotype and AB genotype. This discrepancies caused by antigen anomaly, antibody anomaly, disorders, diseases, enviorenment, or ABO subgroup.

**Keywords:** ABO blood group system, Genotyping, Direct PCR, RFLP, Blood group discrepancies.