

Sintesis fragmen 688-1119 gen HA Avian Influenza Virus (AIV) galur A/Indonesia/5/2005 dengan inisiasi overlapping extension PCR

Lamtorogung Prayitno, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20340741&lokasi=lokal>

Abstrak

Spesimen Avian Influenza Virus (AIV) H5N1 untuk pengembangan vaksin maupun sistem diagnostik sulit diperoleh. Hal tersebut menginisiasi usaha untuk memperoleh fragmen-fragmen DNA penyandi protein AIV H5N1 melalui teknik sintesis DNA in vitro. Sintesis fragmen tersebut menggunakan teknik PCR yang diinisiasi oleh overlapping extension PCR. Teknik tersebut dipilih karena merupakan salah satu cara yang relatif mudah dan murah untuk memperoleh DNA serat ganda sintetik. Penelitian sintesis fragmen 688--1119 gen HA Avian Influenza Virus (AIV) galur A/Indonesia/5/2005 dengan inisiasi overlapping extension PCR telah dilakukan di Laboratorium Institute of Human Virology and Cancer Biology of the University of Indonesia (IHVCB-UI), Jakarta Pusat selama 6 bulan (November 2007--April 2008).

Penelitian bertujuan untuk memperoleh metode optimal dalam sintesis fragmen 688--1119 gen HA Avian Influenza Virus (AIV) galur A/Indonesia/5/2005. Oligonukleotida yang digunakan untuk inisiasi DNA serat ganda maupun untuk perpanjangan produk PCR dirancang berdasarkan informasi susunan nukleotida yang diperoleh dari ISD Nucleotide Record melalui internet. Inisiasi sintesis DNA serat ganda dilakukan dengan teknik PCR, menggunakan sepasang oligonukleotida dengan susunan nukleotida yang komplementer satu sama lain pada ujung 3'. Serat ganda yang terbentuk digunakan sebagai pola cetak (template) untuk sintesis fragmen-fragmen yang lebih panjang dengan menggunakan pasangan-pasangan primer yang mengandung penambahan susunan nukleotida pada ujung 5'. Lima variasi metode penambahan primer digunakan untuk memperoleh metode optimal dalam sintesis fragmen tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan 2 dari 5 metode penambahan primer berhasil membentuk fragmen 688--1119 gen HA Avian Influenza Virus (AIV) galur A/Indonesia/5/2005 sintetik dengan ukuran 446 pb; yaitu metode ke-4 dan metode ke-5. Metode ke-4 dilakukan dengan cara menambahkan delapan pasang primer dalam empat kali reaksi PCR, dengan selang 3 siklus untuk satu pasang primer dalam satu reaksi PCR. Metode ke-5 dilakukan dengan cara menambahkan delapan pasang primer dalam delapan kali reaksi PCR. Berdasarkan efisiensi waktu dan efektivitas penggunaan bahan dan biaya, maka metode optimal dalam sintesis fragmen 688--1119 gen HA Avian Influenza Virus (AIV) galur A/Indonesia/5/2005 adalah metode ke-4. Fragmen DNA yang diperoleh masih perlu dikonfirmasi dengan uji sekuensing susunan nukleotida.