

Deteksi virus dengue dengan cara hibridisasi in situ menggunakan pelacak cDNA yang berasal dari fragmen gen e yang dilabel dengan bahan nir-radioaktif

Maksum Radji, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=81706&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Ruang lingkup dan cara penelitian : Salah satu masalah utama dalam penanggulangan penyakit demam berdarah dengue adalah belum adanya cara diagnosis pemasti yang dapat diandalkan, terutama untuk pengelolaan penderita, walaupun berbagai cara diagnosis telah dikembangkan. Salah satu cara diagnosis pemasti yang saat ini sedang dikembangkan adalah penggunaan pelacak asam nukleat untuk mendeteksi RNA atau fragmen RNA virus dengue. Dalam penelitian ini akan dicoba teknik hibridisasi in situ menggunakan pelacak DNA yang komplementer terhadap fragmen RNA dari gen E, yaitu gen yang menyandi sintesis glikoprotein selubung virus dengue. Rekonstruksi pelacak cDNA dilakukan dengan mengklon plasmid pKS-DEN2 yaitu plasmid rekombinan yang mengandung cDNA yang spesifik terhadap virus dengue tipe 2, dan pKS-DEN3 yang mengandung cDNA yang spesifik terhadap virus dengue tipe 3, ke dalam E. coil DH5. Isolasi plasmid rekombinan dilakukan dengan cara "alkaline lysis method", setelah diamplifikasi dengan teknik "preparasi skala besar" dalam medium Luria Bertani cair yang mengandung ampisilin 50 ug/ml. Pelacak cDNA yang merupakan hasil pemotongan pKS-DEN2 dan pKS-DEN3 dengan enzim Hinc II dan BamHI, masing-masing sekitar 290 pasang basa, setelah dilabel dengan digoksinin-11-dUTP, dipakai untuk mendeteksi virus dengue tipe 2 dan tipe 3, yang dibiakkan dalam sel Aedes albopictus klon C6/36.

Hasil dan kesimpulan : Hasil percobaan menunjukkan bahwa pelacak cDNA yang berasal dari pKS-DEN2 dapat mendeteksi virus dengue tipe 2, sedangkan pelacak cDNA yang berasal dari plasmid pKS-DEN3 dapat mendeteksi virus dengue tipe 3, dalam sel C6/36 yang terinfeksi. Tidak terdapat reaksi silang diantara kedua pelacak tersebut. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pelacak cDNA yang merupakan fragmen restriksi Hinc II dan BamHI, yang masing-masing berasal dari pKS-DEN2 dan pKS-DEN3 secara spesifik dapat mendeteksi virus dengue yang sesuai dalam sel C6/36 yang terinfeksi, melalui hibridisasi DNA-RNA in situ.