

Penerapan teknik amplifikasi DNA metode loop-mediated isothermal amplification (LAMP) untuk mendeteksi virus HIV

Hadhimulya Asmara, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=110382&lokasi=lokal>

Abstrak

Penelitian ini merupakan usaha untuk mengembangkan suatu metode baru dalam mendeteksi HIV. Teknik deteksi yang biasa digunakan adalah RT-PCR dari sampel berupa RNA, Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengaplikasikan pengembangan metode amplifikasi DNA, LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification), untuk menggantikan RT-PCR, karena metode LAMP ini dinilai lebih spesifik, sensitif, dan efisien.

Reaksi LAMP telah dilakukan pada isolat RNA yang sebelumnya telah di-reverse transcription (RT) dan dikonfirmasi dengan PCR. Reaksi tersebut menggunakan enzim Bst/ DNA polimerase dan reaksinya berlangsung pada suhu 65°C. Hasil reaksi tersebut telah dikonfirmasi dengan elektroforesis dan menunjukkan ketiadaan pita hasil amplifikasi yang diharapkan. Argumentasi yang paling memungkinkan dari hasil reaksi ini antara lain, adalah kondisi kemurnian sampel, kondisi reaksi yang tidak optimal untuk reaksi LAMP, dan rancangan primer. Reaksi LAMP juga akan dilakukan pada bagian dari sekuens gen gag yang terletak pada nukleotida nomor 905-1081 dan telah diklon pada vektor pGEM-T serta telah dikonfirmasi dengan sekuensing DNA. Hasil sekuensing menunjukkan sekuens yang sama dengan data gene bank dengan ukuran yang sesuai dengan ukuran target primer komersial, yaitu sebesar 155 pb dan akan digunakan sebagai template untuk reaksi LAMP.

Kesimpulan penelitian ini adalah metode LAMP belum berhasil dikembangkan untuk deteksi HIV. Rancangan primer dan kondisi reaksi adalah hal-hal yang penting dalam metode LAMP dan harus ditingkatkan untuk keberhasilan reaksi ini.

This study was attempted to develop a new method for HIV detection. The technique that is usually used is RT-PCR for RNA detection. This research aims to apply the recently developed DNA amplification method, LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification), instead of RT-PCR as this method is more specific, sensitive, and efficient.

The LAMP reaction is done on RNA isolates that have been confirmed by PCR to contain HIV RNA. This reaction has been performed at 65°C using Bst DNA polymerase after doing reverse transcription. The result showed that LAMP on RNA isolates did not result in amplification as confirmed by electrophoresis. Most probable reasons for these results are the impurity of the sample, the conditions of the reactions that are not optimal for the LAMP reaction, and the design of the primer. LAMP was also performed on a part of a gag genes sequences on nucleotides number 905-1081 that has been cloned onto a pGEM-T vector and then sequenced for confirmation. The result of DNA sequence showed the same sequence as reported in Gene Bank data, with a size similar to a commercial primary target, i.e. 155 bp and will consequently be used as a template for the LAMP reaction.

The conclusions of this study are the LAMP method has not developed yet for HIV detection. The design of the primer and the conditions of the reactions in the LAMP method are the important things for the successful of this reaction, need to be improved.</i>