

Optimasi reaksi PCR untuk deteksi Gen Matriks (M) Virus Influenza A

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20180985&lokasi=lokal>

Abstrak

Penelitian mengenai optimasi PCR untuk deteksi gen matriks (m) virus influenza A telah dilakukan. Penelitian bertujuan mendapatkan kondisi optimum PCR yang digunakan untuk mendeteksi salah satu gen yang terkonservasi pada virus influenza A, yaitu gen m, menguji sensitivitas, dan spesifisitas PCR dengan menggunakan metode Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Primer yang digunakan yaitu MAF26--MAR500 dan MAF306--MAR744. Parameter dalam optimasi PCR meliputi temperature annealing (TA), konsentrasi MgCl₂, primer, dan Q-solution [Qiagen]. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan primer random lebih sensitif dibandingkan dengan oligo(dT) pada reaksi sintesis cDNA. Selain itu, hasil penelitian menyimpulkan kondisi optimum pasangan primer MAF26--MAR500 untuk mendeteksi gen m virus influenza A, yaitu temperature annealing (TA) 55° C, 3 mM MgCl₂, 1 µM primer, dan 0,5x Q-solution [Qiagen], sedangkan pasangan primer MAF306--MAR744 yaitu TA 59,5° C, 3 mM MgCl₂, 1 µM primer, dan 0,5x Q-solution [Qiagen]. Uji sensitivitas menunjukkan pasangan primer MAF26--MAR500 dapat mendeteksi gen m virus influenza A sampai 0,05 ng/µl (dengan two-step RT-PCR) dan 0,02048 HA/unit (dengan one-step RT-PCR), sedangkan pasangan primer MAF306--MAR744 dapat mendeteksi sampai 0,5 ng/µl. Uji spesifisitas dari spesimen influenza H5N1, H1N1, dan H3N2, menunjukkan bahwa teknik PCR dapat mendeteksi influenza A tanpa adanya cross-reaction pada sejumlah bakteri saluran pernapasan.