

Pengembangan diagnostik untuk deteksi SARS-CoV-2 dengan gen target Ribonucleic acid-dependent Ribonucleic acid Polymerase (RdRP) = Diagnostic development for SARS-CoV-2 Ribonucleic acid-dependent Ribonucleic acid Polymerase (RdRP) target Gene

Priska Yodi, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20522466&lokasi=lokal>

Abstrak

RT-qPCR (Real-Time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction) berbasis SYBR Green, merupakan metode alternatif yang dapat digunakan untuk pendeteksian SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), selain berbasis TaqMan. Pada penelitian ini, primer yang dirancang menargetkan gen RdRP (Ribonucleic Acid/RNA-Dependent Ribonucleic Acid Polymerase) berdasarkan sekuens SARS-CoV-2 di Indonesia. Efisiensi dari metode yang dilakukan diketahui sebesar 97,82% dan limit of detection-nya adalah sampel dengan CT (cycle threshold) sebesar 41,25. Pada hasil uji spesifisitas, dua puluh sampel RNA positif SARS-CoV-2 terdeteksi positif dan delapan dari sepuluh sampel RNA negatif SARS-CoV-2 terdeteksi negatif. Dua sampel negatif yang terdeteksi positif karena terdeteksinya primer-dimer. Metode memenuhi kriteria presisi dengan hasil koefisien variasi pada intra-assay kurang dari 10% dan pada inter-assay kurang dari 15%. Sebagai langkah awal pengembangan deteksi kuantitatif, pada penelitian ini juga dilakukan percobaan penumbuhan transforman menggunakan sel kompeten One Shot® TOP10 dan One Shot® BL21(DE3) dengan plasmid kontrol DNA (deoxyribonucleic acid) pUC19 sebagai pemastian efisiensi sel kompeten yang dapat digunakan untuk penumbuhan kloning transforman gen RdRP SARS-CoV-2. Jumlah koloni bakteri yang berhasil tumbuh dari dua jenis sel kompeten tersebut tidak sesuai dengan ekspektasi panduan dari produsen. Selain itu, pada penelitian ini telah berhasil didapatkan fragmen gen target RdRP untuk kloning dengan PCR konvensional.

.....SYBR Green-based RT-qPCR (Real-Time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction) is an alternative method to detect SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), besides the TaqMan-based. In this study, the primers were designed to target the RdRP (Ribonucleic Acid/RNA-Dependent Ribonucleic Acid Polymerase) gene based on a SARS-CoV-2 sequence in Indonesia. The method's efficiency is known to be 97,82% and the limit of detection is a sample with a CT (cycle threshold) of 41,25. At the specificity test results, all twenty positive RNA samples of SARS-CoV-2 were detected as positive. Eight from ten negative RNA samples of SARS-CoV-2 were detected as negative, the remaining detected primer-dimer. The method meets the criteria of precision with the results of the coefficient of variation was less than 10% and 15% for intra-assay and inter-assay, respectively. As an initial step in developing quantitative detection, in this study, the efficiency of One Shot® TOP10 and One Shot® BL21(DE3) competent cells were confirmed using a DNA (deoxyribonucleic acid) control plasmid pUC19. Both types of competent cells do not meet the expectation based on the manufacturer. In addition, for cloning, the RdRP gene target fragment was successfully obtained by conventional PCR.