

Pengembangan dan Evaluasi Deteksi SARS-CoV-2 Berbasis Intercalating Dye = Establishment and Evaluation of Intercalating Dye-Based SARS-CoV-2 Detection

Syifa Naura Azallea, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920556276&lokasi=lokal>

Abstrak

Pandemi COVID-19 yang sedang berlangsung telah menjadi masalah global yang harus segera diselesaikan. Sistem deteksi yang sensitif dan responsif merupakan parameter yang sangat penting untuk menekan angka penyebaran SARS-CoV-2. Menurut WHO, real-time PCR berbasis probe merupakan standar emas untuk diagnosis COVID-19, namun berbiaya tinggi sehingga sulit untuk mendiagnosis dalam skala besar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi sensitivitas dan kinerja uji RT-qPCR berbasis intercalating-dye dalam mendeteksi SARS-CoV-2 pada sampel manusia. Penelitian ini dilakukan dengan mengembangkan dan menguji RT-qPCR berbasis intercalating-dye dengan SYBR Green menggunakan dua primer yang direkomendasi WHO yaitu CCDC-N dan HKU-ORF-nsp14. Penelitian diawali dengan melakukan skrining primer dan dilakukan uji deteksi, uji spesifisitas, uji sensitivitas, pembuatan kurva linearitas untuk menentukan efisiensi, dan uji keterulangan menggunakan sampel SARS-CoV-2. Hasil uji keterulangan dari % CV intra-assay dan inter-assay dari pengujian RT-qPCR menggunakan primer CCDC-N secara berurutan adalah 0,74% dan 1,16%. Sedangkan, % CV intra-assay dan inter-assay dari pengujian RT-qPCR menggunakan primer HKU-ORF1b-nsp14 secara berurutan adalah 1,16% dan 1,69%. Nilai efisiensi RT-qPCR berbasis intercalating-dye menggunakan pasangan primer CCDC-N dan pasangan primer HKU-ORF1b-nsp14 masing-masing sebesar 93,73% dan 90,6%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa RT-qPCR menggunakan primer CCDC-N dan HKU-ORF-nsp14 baik dalam parameter spesifisitas, sensitivitas, efisiensi, dan keterulangan untuk digunakan pada deteksi SARS-CoV-2 dan performa RT-qPCR berbasis intercalating-dye baik untuk menjadi alternatif deteksi SARS-CoV-2.

.....A sensitive and responsive detection system is an important parameter for the success of minimizing the spread of SARS-CoV-2. According to WHO, probe-based PCR is the gold standard for the diagnosis of COVID-19. However, to detect using probe-based PCR is high-cost and making it difficult to diagnose on a large scale. The aim of this study is to test the performance of intercalating dye-based RT-qPCR for detecting SARS-CoV-2 in human samples. This research was conducted by developing RT-qPCR assays with SYBR Green using two primers, namely CCDC-N and HKU-ORF-nsp14. The study was carried out with primer screening, specificity tests, sensitivity tests, repeatability tests using SARS-CoV-2 samples, and linearity curve test to determine efficiency. The repeatability test results of intra-assay and inter-assay CV % from RT-qPCR test using CCDC-N were 0.74% and 1.16%, respectively. Meanwhile, the % of intra-assay and inter-assay CV from RT-qPCR assay using HKU-ORF1b-nsp14 were 1.16% and 1.69%, respectively. The efficiency values of RT-qPCR using the CCDC-N primer pair and the HKU-ORF1b-nsp14 primer pair were 93.73% and 90.6%, respectively. The results showed that intercalating dye-based RT-qPCR acceptable in the parameters of specificity, sensitivity, efficiency, and repeatability and satisfactory for being alternative detection for SARS-CoV-2.