

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) yang merupakan *strain* baru dari Coronavirus (Li *et al.*, 2020). Pada tanggal 11 Juli 2021, Pemerintah Republik Indonesia melaporkan sebanyak 2.527.203 kasus positif dengan kematian mencapai 66.464 orang, kasus Covid-19 terus meningkat dan sulit untuk dikendalikan. Sedangkan di Provinsi Sumatera Barat kasus Covid-19 sudah mencapai angka 60.072, dengan jumlah kematian sebesar 1320 orang (Corona.sumbarprov.go.id, 2021), Covid-19 menyebar ke berbagai negara di dunia dan menjadi ancaman kesehatan masyarakat secara global dalam waktu relatif singkat (Huang *et al.*, 2020).

Pemeriksaan menggunakan *Real Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) sebagai baku emas dalam deteksi SARS-CoV-2, berfungsi mendeteksi adanya virus dalam tubuh pasien melalui reaksi rantai polimerase dengan primer dan *probe* yang spesifik menargetkan genom SARS-CoV-2, sehingga jumlah cDNA dalam spesimen pasien dapat dihitung (Bai *et al.*, 2020). Hal yang dapat mempengaruhi hasil RT-PCR dalam deteksi SARS CoV-2 adalah sensitivitas dan spesifisitas tes yang digunakan, tipe sampel, waktu pengambilan, serta target gen yang digunakan baik secara *singleplex* maupun *multiplex* serta kemungkinan terjadinya mutasi virus (Patel *et al.*, 2020).

Genom pada SARS-CoV-2 terdiri dari *single strand* RNA dengan ukuran 29.903 pasang basa, dua pertiga dari sekuen genom virus merupakan pengkode protein non struktural pada gen ORF1ab yang berperan dalam sintesis RNA dengan melakukan amplifikasi dari gen target pada SARS-CoV-2. Gen ORF1ab juga berfungsi dalam transkripsi virus, replikasi serta penekan respons imun dan ekspresi gen inang, dan similaritas yang cukup rendah dengan *strain* corona virus lainnya (Wang *et al.*, 2020).

Gen N merupakan protein struktural yang berikatan dengan materi genetik virus, mengkode pembentukan protein nukleokapsid dan merupakan daerah *conserved*, sehingga sangat kecil peluangnya untuk bermutasi (Wolfel *et al.*, 2020). Gen N merupakan salah satu target yang memiliki sensitivitas analitik yang sangat tinggi sehingga menjadikan gen N sebagai target uji diagnostik PCR paling sensitif yang direkomendasikan oleh CDC, United States (Holshue *et al.*, 2020).

Menurut penelitian (Wong *et al.*, 2021) gen ORF1ab memiliki spesifisitas dan nilai prediksi hampir 100% dengan tingkat negatif palsu hanya 4 % sedangkan pada gen N memiliki sensitivitas mencapai 96,6 % dengan spesifisitas dan nilai prediksi positif hampir 100%, sehingga hasil negatif palsu dapat dihindari dengan menggunakan primer dan *probe* pada wilayah gen ORF1ab dan gen N sebagai target deteksi Covid-19.

Seiring perkembangan bioteknologi molekuler, bioinformatika merupakan suatu teknik komputasi untuk mengolah dan menganalisis informasi biologis yang telah berkembang pesat, pemilihan primer dan *probe* yang tepat juga harus diperhatikan mengingat komponen ini bisa mempengaruhi akurasi diagnostik deteksi

Covid-19 dengan metode *multiplex* PCR, penggunaan lebih dari satu target pemeriksaan dapat meningkatkan spesifisitas tes (Lippi *et al.*,2020).

Metode *multiplex* PCR dapat mendeteksi dua atau lebih primer dalam sekuen target DNA atau RNA secara bersamaan, teknik ini lebih efisien dalam deteksi SARS-CoV-2, karena dapat meningkatkan spesifisitas tes, hasil yang didapatkan lebih akurat dan efisien dalam penggunaan waktu dan pengerjaanya, serta dapat menghemat reagen yang digunakan (Leblanc *et al.*, 2020).

Meningkatnya jumlah infeksi Covid-19 di seluruh dunia memerlukan kebutuhan alat diagnostik yang cepat dan handal dalam memerangi penyebaran. Untuk mencapai tujuan ini, beberapa peneliti telah melakukan penelitian dengan menghasilkan beberapa kit diagnostik menggunakan desain primer dan *probe* metode *multiplex* PCR dalam deteksi Covid-19 (Liu *et al.*, 2020). Pada penelitian ini hasil desain primer dan *probe* diharapkan mampu menjadi validitas yang baik jika terjadi mutasi atau varian tertentu pada SARS-CoV-2 dimasa depan, sehingga dapat dijadikan kandidat primer dan *probe* yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi dan sama dengan standart kit uji diagnostik yang sudah di pasarkan dalam deteksi Covid-19, khususnya pada isolat lokal.

Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat menunjang untuk tahap produksi kit deteksi Covid-19 yang dapat meningkatkan perekonomian dalam bidang pendidikan, diharapkan mampu menekan harga jual dibandingkan dengan kit komersial sehingga efisiensi terhadap penggunaan kit. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui uji diagnostik desain *multiplex* PCR pada gen ORF1ab dan gen N pada

isolat lokal agar dapat digunakan dan dijadikan referensi gen target untuk deteksi Covid-19.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang maka dapat dirumuskan masalah “Bagaimana Uji diagnostik desain primer dan *probe* gen ORF1ab dan gen N yang dirancang untuk deteksi Covid-19 menggunakan metode *multiplex* PCR pada isolat lokal” .

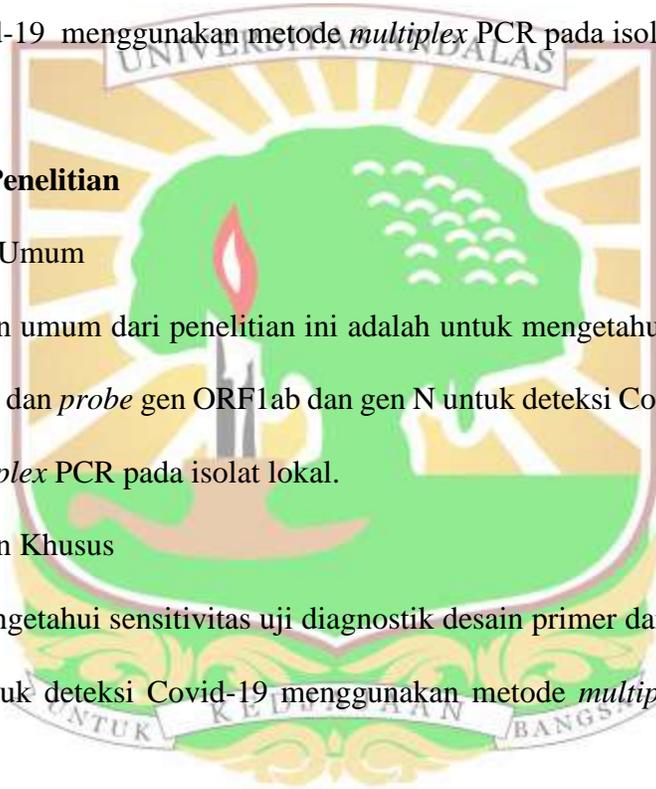
1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui uji diagnostik pada desain primer dan *probe* gen ORF1ab dan gen N untuk deteksi Covid-19 menggunakan metode *multiplex* PCR pada isolat lokal.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui sensitivitas uji diagnostik desain primer dan *probe* ORF1ab dan gen N untuk deteksi Covid-19 menggunakan metode *multiplex* PCR pada isolat lokal.
2. Untuk mengetahui spesifisitas uji diagnostik desain primer dan *probe* ORF1ab dan gen N untuk deteksi Covid-19 menggunakan metode *multiplex* PCR pada isolat lokal.
3. Untuk mengetahui nilai prediksi positif (NPP) uji diagnostik desain primer dan *probe* ORF1ab dan gen N untuk deteksi Covid-19 menggunakan metode *multiplex* PCR pada isolat lokal.



4. Untuk mengetahui nilai prediksi negatif (NPN) uji diagnostik desain primer dan *probe* ORF1ab dan gen N untuk deteksi Covid-19 menggunakan metode *multiplex* PCR pada isolat lokal.

1.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi:

1. Manfaat bagi ilmu pengetahuan

Sebagai referensi baru mendukung perkembangan ilmu pengetahuan yang berhubungan dengan uji diagnostik desain *multiplex* PCR berbasis variasi genotipe Covid-19

2. Manfaat bagi perguruan tinggi

Sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya terkait uji diagnostik desain *multiplex* PCR berbasis variasi genotipe Covid-19 pada isolat lokal.

3. Manfaat bagi pemerintah

Sebagai kajian dalam mengevaluasi upaya penanganan Covid-19 di Indonesia.

