

Desain Primer PCR Sebagai Biomarker COVID-19 Strain Terbaru Yang Di Identifikasi Di Januari 2021

Muhammad Azhari Herli*, Dewi Gulya Hari, Ayu Rahmawati
Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau
Jl. Tuanku Tambusai, Kota Pekanbaru, Provinsi Riau- Indonesia
***Correspondence e-mail:** azhari.herli@umri.ac.id

ABSTRAK

Penyakit Coronavirus 2019 (COVID-19) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2* (SARS CoV-2). Penyakit ini menyebar pertama kali di Wuhan, Provinsi hubei, Cina di bulan desember 2019. SARS-CoV-2 sangat menular dan telah berkembang pesat di seluruh dunia sejak ditemukan. sampai Januari 2021, total kasus infeksi SARS-CoV-2 101.406.059 kasus telah dikonfirmasi di seluruh dunia dengan jumlah kematian 2.191.898 jiwa dan masih terus bertambah. Diagnosa COVID-19 dilakukan dengan dua cara yang umum yaitu rapid test dan PCR (*polymerase chain reaction*). Penelitian ini bertujuan untuk mendesain primer PCR strain COVID-19 terbaru yang di isolasi pada januari 2021 dengan metode insilico (simulasi menggunakan komputer) sehingga didapat primer yang digunakan sebagai biomarker COVID-19 yang cepat, dan akurat. Hasil penelitian ini didapatkan 10 buah primer terbaik dari strain COVID-19 dengan kode MW454767, MW454771, MW460582, MW454660 yang di identifikasi pada 11 Jan 2021.

Kata kunci: SARS CoV 2; Covid 19; Primer; Polymer Chain Reaction; biomarker

ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a contagious disease caused by *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2* (SARS CoV-2). The disease first spread in Wuhan, Hubei Province, China in December 2019. SARS-CoV-2 is highly contagious and has grown rapidly around the world since its discovery. Until January 2021, a total of 101,406,059 confirmed cases of SARS-CoV-2 infection worldwide with a death toll of 2,191,898 and still growing. Diagnosis of COVID-19 is carried out in two common ways, namely a rapid test and PCR (*polymerase chain reaction*). This study aims to design a PCR primer for the latest COVID-19 strain isolated in January 2021 with the insilico method (computer simulation) so that the primer used as a COVID-19 biomarker is fast and accurate. The results of this study obtained 10 of the best primers from the latest COVID-19 strains with codes MW454767, MW454771, MW460582, MW454660 which were identified on 11 Jan 2021.

Keywords: SARS CoV 2; Covid 19; Primer; Polymer Chain Reaction; biomarkers

Received: April 2021, **Accepted :** Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2
DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

1. Introduction

Penyakit Coronavirus 2019 (COVID-19) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2* (SARS CoV-2). Penyakit ini menyebar pertama kali di Wuhan, Provinsi hubei, Cina di bulan desember 2019. SARS-CoV-2 sangat menular dan telah berkembang pesat di seluruh dunia sejak ditemukan sampai januari 2021, total kasus infeksi SARS-CoV-2 101.406.059 kasus telah dikonfirmasi di seluruh dunia dengan jumlah kematian 2.191.898 jiwa dan masih terus bertambah [1] [2]. Diagnosa COVID-19 dilakukan dengan dua cara yang umum yaitu rapid test dan PCR (*polymerase chain reaction*) yang bertujuan membantu menahan penyebaran virus corona di Asia pada umumnya dan Indonesia pada khususnya terutama pada negara menengah dan negara berkembang. Ada beberapa kendala dalam memutus rantai penyebaran Covid-19 ini yaitu ketidakpastian teknis dalam pengujian seperti biomarker yang terbatas dan sumber daya terbatas (dana dan personel). Berbagai kit diagnostik (biomarker) SARS-CoV-2 sudah tersedia dari banyak perusahaan dan lembaga kesehatan nasional. Namun, informasi yang tersedia secara publik tentang kit diagnostik ini masih kurang [3] [4] [5]. Menanggapi meningkatnya kebutuhan kit diagnostik COVID-19 yang cepat dan akurat serta kurangnya informasi, kami tertarik melakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mendesain primer PCR untuk biomarker mudah diakses untuk deteksi dini virus COVID-19 secara cepat dan akurat. Penelitian ini adalah penelitian secara insilico (simulasi menggunakan komputer), bertujuan untuk mendesain dan mengevaluasi primer untuk mendeteksi Covid-19 strain terbaru dilakukan menggunakan software online yaitu primer BLAST. Ada dua Langkah proses dalam mendesain primer dan optimalisasi set primer spesifik meliputi (1) pemilihan set primer untuk gen target (RdRP , N , E , dan S) dalam genome SARS-CoV-2 (COVID-19), (2) validasi in silico urutan primer dan ampikon [6].

2. The Methods

Penelitian ini adalah penelitian secara insilico (simulasi menggunakan komputer), dimana dalam mendesain dan mengevaluasi primer untuk mendeteksi Covid-19 dilakukan menggunakan software primer BLAST online. Penelitian ini sudah berjalan lebih kurang 5-6 bulan di laboratorium Farmasi, Universitas Muhammadiyah Riau. Yang pertama dilakukan pada penelitian ini adalah pemilihan set genome strain COVID-19 terbaru dengan mendownload dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/download-nuccore-ids/> kemudian data yang didapat dipilih yang terbawah dan dicek

secara online <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore> dan di BLAST untuk melihat waktu genome strain COVID-19 diidentifikasi, data terpilih dimasukkan ke dalam software FastPCR (dalam bentuk software java) dan primer BLAST untuk mendapatkan desain primer selanjut dilakukan validasi urutan primer dan amplikon hasil yang didapat dan dipilih yang terbaik dalam mendeteksi COVID-19.

3. Result And Discussion

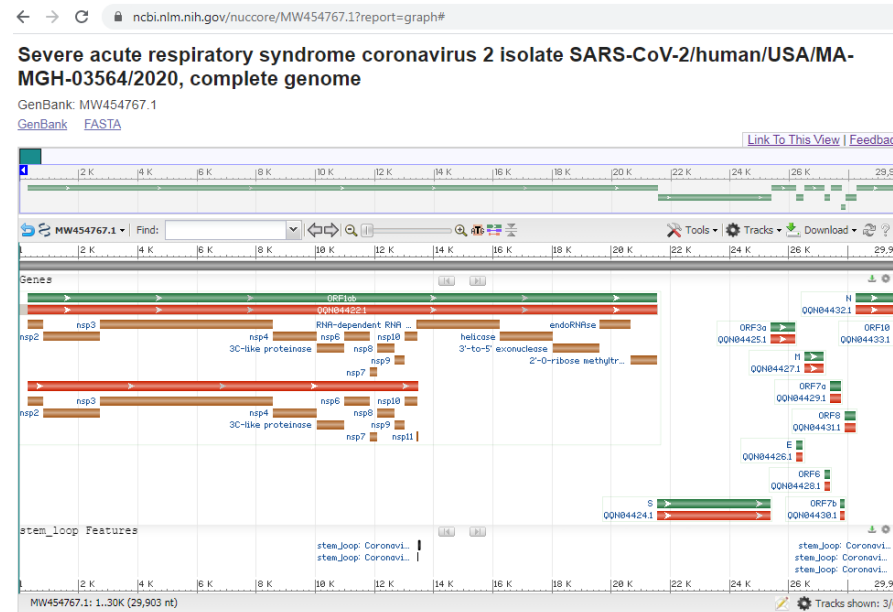
Pemilihan Genome Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) yang ditampilkan pada tabel 1 berdasarkan waktu identifikasi terbaru sequen genome secara lengkap dengan menggunakan teknologi sequencing illumina. Penelitian ini dimulai dengan mendownload data dari set genome COVID-19 terbaru dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/download-nuccore-ids/> dalam file acc.txt lalu dipilih dan dicek secara online <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore> dan di BLAST untuk melihat waktu genome strain COVID-19 diidentifikasi, berikut hasil pengecekan secara online didapatkan kode genome COVID-19 dan waktu diidentifikasinya seperti dibawah ini :

Tabel 1. Genome Strain COVID-19 Terbaru

No	Kode Genome COVID-19	Diidentifikasi Pada
1	MW454767	11 Januari 2021
2	MW454771	11 Januari 2021
3	MW460582	11 Januari 2021
4	MW454660	11 Januari 2021

Sumber data <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/download-nuccore-ids/> [7].

Genome Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) dengan kode MW454767 disajikan pada gambar 1, merupakan genome RNA yang memiliki panjang 29903 bp diisolasi dari pasien di rumah sakit Massachusetts dan diidentifikasi sequen lengkapnya pada tanggal 11 januari 2021. Untuk susunan lengkap genomnya dapat dilihat <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MW454767> [8].



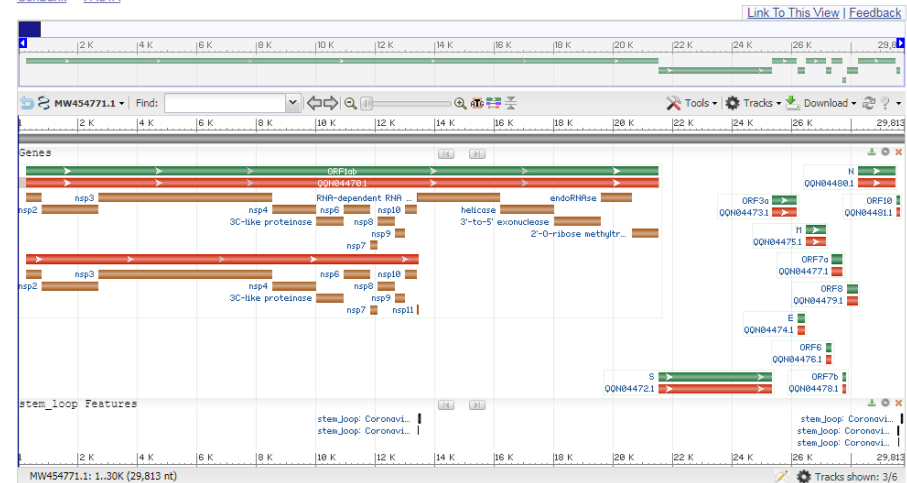
Gambar 1. Genome SARS-CoV-2 Kode MW454767

Genome Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) dengan kode MW454771 disajikan pada gambar 2, merupakan genome RNA yang memiliki panjang 29813 bp diisolasi pada tanggal 20 desember 2020 dari pasien di rumah sakit Massachusetts dan diidentifikasi sequen lengkapnya pada tanggal 11 januari 2021. Untuk susunan lengkap genomnya dapat dilihat <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW454771> [9].

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate SARS-CoV-2/human/USA/MA-MGH-03583/2020, complete genome

GenBank: MW454771.1

GenBank: [FASTA](#)



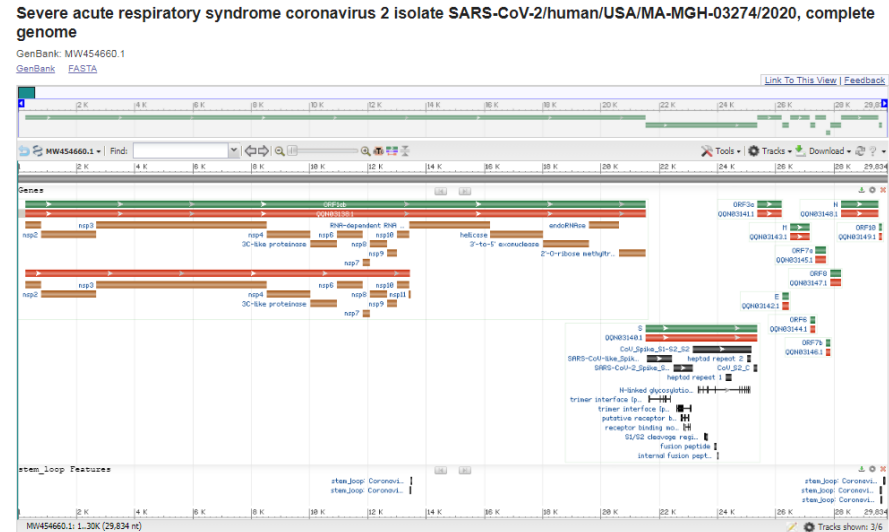
Gambar 2. Genome SARS-CoV-2 Kode MW454771

Genome Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) dengan kode MW460582 disajikan pada gambar 3, merupakan genome RNA yang memiliki panjang 29782 bp diisolasi pada tanggal 26 desember 2020 dari spesimen pasien dan diidentifikasi sequen lengkapnya pada tanggal 11 januari 2021. Untuk susunan lengkap genomnya dapat dilihat <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW460582> [10].

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)



Gambar 4. Genome SARS-CoV-2 Kode MW454660

Setelah penentuan strain Genome Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) di tabel 1, selanjutnya dilakukan desain set primer untuk masing-masing genome dengan menggunakan primer BLAST online dengan data berasal dari NCBI [12] [13]. Primer BLAST dipilih karena cukup sensitif untuk mendeteksi target yang memiliki banyak ketidakcocokan dengan primer. Primer BLAST memungkinkan pengguna untuk merancang primer spesifik-target baru dalam satu langkah serta untuk memeriksa spesifitas primer yang sudah ada sebelumnya. Primer-BLAST juga mendukung penempatan primer berdasarkan lokasi ekson / intron dan tidak termasuk nukleotida tunggal polimorfisme (SNP)[14] [15].

Berikut hasil desain primer dari masing-masing kode genome menggunakan primer BLAST (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome) :

1. Untuk genome kode MW454767 didapatkan 10 primer (disajikan di tabel 2)

Tabel 2. Hasil primer BLAST untuk genome kode MW454767

Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CGGATGGCTTATTGTTGGCG	Plus	20	25521	25540	59.97	55.00	2.00	2.00
Reverse primer	TTGTGCTTACAAAGGCACGC	Minus	20	26226	26207	59.97	50.00	5.00	2.00
Product length	706								

Primer pair 2

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GCCGCTGTTGATGCACTATG	Plus	20	17170	17189	59.97	55.00	4.00	2.00
Reverse primer	CTCCAAGCAGGGTTACGTGT	Minus	20	17756	17737	59.97	55.00	4.00	2.00
Product length	587								

Primer pair 3

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTCGTTGACAGGACACGAG	Plus	20	148	167	59.97	55.00	5.00	2.00
Reverse primer	TTACCTTTTCGGTCACACCCG	Minus	20	264	245	59.97	55.00	3.00	2.00
Product length	117								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 4

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGAGCCAGTGCTCAAAGGAG	Plus	20	25345	25364	59.96	55.00	7.00	2.00
Reverse primer	CGCCAACAATAAGCCATCCG	Minus	20	25540	25521	59.97	55.00	2.00	2.00
Product length	196								

Primer pair 5

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TACGGCGCCGATCTAAAGTC	Plus	20	671	690	59.97	55.00	8.00	2.00
Reverse primer	GCGACCACCCTTACGAAGAA	Minus	20	1471	1452	60.04	55.00	4.00	0.00
Product length	801								

Primer pair 6

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TCTTGGTTCACCGCTCTCAC	Plus	20	28424	28443	59.97	55.00	4.00	0.00
Reverse primer	TGCGGGTGCCAATGTAATCT	Minus	20	28721	28702	60.03	50.00	3.00	0.00
Product length	298								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 7

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	ATCTGTGTGGCTGTCACTCG	Plus	20	82	101	60.04	55.00	5.00	3.00
Reverse primer	ACTCGTGTCTGTCAACGAC	Minus	20	168	149	59.97	55.00	4.00	3.00
Product length	87								

Primer pair 8

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CACCTTCGGGAACGTGGTTA	Plus	20	29247	29266	59.97	55.00	8.00	2.00
Reverse primer	TAGCCCATCTGCCTTGTGTG	Minus	20	29565	29546	60.04	55.00	2.00	0.00
Product length	319								

Primer pair 9

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	AGAATGGGAAACGAGTGGG	Plus	20	28356	28375	60.04	55.00	3.00	3.00
Reverse primer	TGAGAGCGGTGAACCAAGAC	Minus	20	28442	28423	59.97	55.00	4.00	1.00
Product length	87								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 10

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTTCCCTCGGAACTTGTCGG	Plus	20	17543	17562	59.97	55.00	8.00	1.00
Reverse primer	CTGAGGTGTGTAGGTGCCTG	Minus	20	18122	18103	60.04	60.00	4.00	2.00
Product length	580								

2. Untuk genome kode MW454771 didapatkan 10 primer (yang disajikan di tabel 3)

Tabel 3. Hasil primer BLAST untuk genome kode MW454767

Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CGGATGGCTTATTGTTGGCG	Plus	20	25493	25512	59.97	55.00	2.00	2.00
Reverse primer	TTGTGCTTACAAAGGCACGC	Minus	20	26198	26179	59.97	50.00	5.00	2.00
Product length	706								

Primer pair 2

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GCCGCTGTTGATGCACTATG	Plus	20	17142	17161	59.97	55.00	4.00	2.00
Reverse primer	CTCCAAGCAGGGTTACGTGT	Minus	20	17728	17709	59.97	55.00	4.00	2.00
Product length	587								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 3

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTCGTTGACAGGACACGAG	Plus	20	120	139	59.97	55.00	5.00	2.00
Reverse primer	TTACCTTTTCGGTCACACCCG	Minus	20	236	217	59.97	55.00	3.00	2.00
Product length	117								

Primer pair 4

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGAGCCAGTGCTCAAAGGAG	Plus	20	25317	25336	59.96	55.00	7.00	2.00
Reverse primer	CGCCAACAATAAGCCATCCG	Minus	20	25512	25493	59.97	55.00	2.00	2.00
Product length	196								

Primer pair 5

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TACGGCGCCGATCTAAAGTC	Plus	20	643	662	59.97	55.00	8.00	2.00
Reverse primer	GCGACCACCCTTACGAAGAA	Minus	20	1443	1424	60.04	55.00	4.00	0.00
Product length	801								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 6

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	ATCTGTGTGGCTGTCACTCG	Plus	20	54	73	60.04	55.00	5.00	3.00
Reverse primer	ACTCGTGTCTGTCAACGAC	Minus	20	140	121	59.97	55.00	4.00	3.00
Product length	87								

Primer pair 7

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTTCCCTCGGAACCTGTCCG	Plus	20	17515	17534	59.97	55.00	8.00	1.00
Reverse primer	CTGAGGTGTGTAGGTGCCTG	Minus	20	18094	18075	60.04	60.00	4.00	2.00
Product length	580								

Primer pair 8

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GACTAATTCTCCTCGGCGGG	Plus	20	23565	23584	59.97	60.00	4.00	3.00
Reverse primer	TGTACCCGCTAACAGTGCAG	Minus	20	24177	24158	60.04	55.00	4.00	2.00
Product length	613								

Primer pair 9

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TCTTGTTTACCGCTCTCAC	Plus	20	28396	28415	59.97	55.00	4.00	0.00
Reverse primer	TTGTTAGCAGGATTGCGGGT	Minus	20	28706	28687	59.96	50.00	4.00	1.00

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Product length 311

Primer pair 10

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GACGGTTCATCCGGAGTTGT	Plus	20	26112	26131	60.04	55.00	6.00	0.00
Reverse primer	GGAGTGGCACGTTGAGAAGA	Minus	20	26867	26848	59.97	55.00	5.00	0.00
Product length	756								

3. Untuk genome kode MW460582 didapatkan 10 primer (yang disajikan di tabel 4)

Tabel 4. Hasil primer BLAST untuk genome kode MW460582

Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CGGATGGCTTATTGTTGGCG	Plus	20	25467	25486	59.97	55.00	2.00	2.00
Reverse primer	TTGTGCTTACAAAGGCACGC	Minus	20	26172	26153	59.97	50.00	5.00	2.00
Product length	706								

Primer pair 2

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GCCGCTGTTGATGCACTATG	Plus	20	17116	17135	59.97	55.00	4.00	2.00
Reverse primer	CTCCAAGCAGGGTTACGTGT	Minus	20	17702	17683	59.97	55.00	4.00	2.00
Product length	587								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 3

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTCGTTGACAGGACACGAG	Plus	20	94	113	59.97	55.00	5.00	2.00
Reverse primer	TTACCTTTTCGGTCACACCCG	Minus	20	210	191	59.97	55.00	3.00	2.00
Product length	117								

Primer pair 4

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGAGCCAGTGCTCAAAGGAG	Plus	20	25291	25310	59.96	55.00	7.00	2.00
Reverse primer	CGCCAACAATAAGCCATCCG	Minus	20	25486	25467	59.97	55.00	2.00	2.00
Product length	196								

Primer pair 5

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TACGGCGCCGATCTAAAGTC	Plus	20	617	636	59.97	55.00	8.00	2.00
Reverse primer	GCGACCACCTTACGAAGAA	Minus	20	1417	1398	60.04	55.00	4.00	0.00
Product length	801								

Primer pair 6

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	ATCTGTGTGGCTGTCACTCG	Plus	20	28	47	60.04	55.00	5.00	3.00
Reverse primer	ACTCGTGTCTGTCAACGAC	Minus	20	114	95	59.97	55.00	4.00	3.00
Product length	87								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 7

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	AGAATGGGAAACGAGTGGG	Plus	20	28302	28321	60.04	55.00	3.00	3.00
Reverse primer	TGAGAGCGGTGAACCAAGAC	Minus	20	28388	28369	59.97	55.00	4.00	1.00
Product length	87								

Primer pair 8

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTTCCCTCGGAACTTGTCGG	Plus	20	17489	17508	59.97	55.00	8.00	1.00
Reverse primer	CTGAGGTGTGTAGGTGCCTG	Minus	20	18068	18049	60.04	60.00	4.00	2.00
Product length	580								

Primer pair 9

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GACTAATTCTCCTCGGCGGG	Plus	20	23539	23558	59.97	60.00	4.00	3.00
Reverse primer	TGTACCCGCTAACAGTGCAG	Minus	20	24151	24132	60.04	55.00	4.00	2.00
Product length	613								

Primer pair 10

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CCTATTGGGTTCCACGTGCT	Plus	20	1473	1492	60.04	55.00	6.00	2.00
Reverse primer	GGTTTCAAGAGTGCGGGAGA	Minus	20	1873	1854	59.97	55.00	3.00	0.00
Product length	401								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

4. Untuk genome kode MW454660 didapatkan 10 primer (yang disajikan di tabel 5)

Tabel 5. Hasil primer BLAST untuk genome kode MW454660

Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CGGATGGCTTATTGTTGGCG	Plus	20	25493	25512	59.97	55.00	2.00	2.00
Reverse primer	TTGTGCTTACAAAGGCACGC	Minus	20	26198	26179	59.97	50.00	5.00	2.00
Product length	706								

Primer pair 2

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GCCGCTGTTGATGCACTATG	Plus	20	17142	17161	59.97	55.00	4.00	2.00
Reverse primer	CTCCAAGCAGGGTTACGTGT	Minus	20	17728	17709	59.97	55.00	4.00	2.00
Product length	587								

Primer pair 3

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGTCGTTGACAGGACACGAG	Plus	20	120	139	59.97	55.00	5.00	2.00
Reverse primer	TTACCTTTCGGTCACACCCG	Minus	20	236	217	59.97	55.00	3.00	2.00
Product length	117								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 4

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TGAGCCAGTGCTCAAAGGAG	Plus	20	25317	25336	59.96	55.00	7.00	2.00
Reverse primer	CGCCAACAATAAGCCATCCG	Minus	20	25512	25493	59.97	55.00	2.00	2.00
Product length	196								

Primer pair 5

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TACGGCGCCGATCTAAAGTC	Plus	20	643	662	59.97	55.00	8.00	2.00
Reverse primer	GCGACCACCCTTACGAAGAA	Minus	20	1443	1424	60.04	55.00	4.00	0.00
Product length	801								

Primer pair 6

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	ATCTGTGTGGCTGTCACTCG	Plus	20	54	73	60.04	55.00	5.00	3.00
Reverse primer	ACTCGTGTCTGTCAACGAC	Minus	20	140	121	59.97	55.00	4.00	3.00
Product length	87								

Primer pair 7

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	AGAATGGAGAACGCACTGGG	Plus	20	28328	28347	60.04	55.00	3.00	3.00
Reverse primer	TGAGAGCGGTGAACCAAGAC	Minus	20	28414	28395	59.97	55.00	4.00	1.00
Product length	87								

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Primer pair 8

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GACTAATTCTCCTCGGGCGGG	Plus	20	23565	23584	59.97	60.00	4.00	3.00
Reverse primer	TGTACCCGCTAACAGTGCAG	Minus	20	24177	24158	60.04	55.00	4.00	2.00
Product length	613								

Primer pair 9

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TCTTGGTTCACCGCTCTCAC	Plus	20	28396	28415	59.97	55.00	4.00	0.00
Reverse primer	TTGTTAGCAGGATTGCGGGT	Minus	20	28706	28687	59.96	50.00	4.00	1.00
Product length	311								

Primer pair 10

	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GACGGTTCATCCGGAGTTGT	Plus	20	26112	26131	60.04	55.00	6.00	0.00
Reverse primer	GGAGTGGCACGTTGAGAAGA	Minus	20	26867	26848	59.97	55.00	5.00	0.00
Product length	756								

Primer PCR yang baik harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu optimal panjang primer 16-28 basa walaupun dalam teori 18-22 basa dan tidak boleh lebih dari 30 basa [16] [17], suhu minimal 57°C-63°C dan optimal 60°C [18]. Sehingga dalam penelitian ini didapatkan masing-masing genome didapatkan primer sepuluh buah yang memenuhi persyaratan.

4. KESIMPULAN

Penelitian ini kami mendapatkan primer masing-masing 10 buah primer terbaik dari strain COVID-19 dengan kode MW454767, MW454771, MW460582, MW454660 yang diidentifikasi pada 11 Jan 2021.

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Majelis Diktilitbang PP Muhammadiyah yang mendanai penelitian ini pada program Hibah RisetMu Batch 4 Majelis Diktilitbang PP Muhammadiyah, serta kepada program studi farmasi, Universitas Muhammadiyah Riau yang memberikan izin untuk melakukan penelitian ini di laboratorium farmasi.

References

- [1]. Li D, Zhang J, Li J. Primer design for quantitative real-time PCR for the emerging Coronavirus SARS-CoV-2. *Theranostics*. 2020;10(16):7150–62. <https://doi.org/10.7150/thno.47649>
- [2]. WHO. Coronavirus Disease (COVID-19) Situation Reports [Internet]. 2020 [cited 2020 Jul 20]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>
- [3]. Park M, Won J, Choi BY, Lee CJ. Optimization of primer sets and detection protocols for SARS-CoV-2 of coronavirus disease 2019 (COVID-19) using PCR and real-time PCR. *Exp Mol Med*. 2020;52(6):963–77.
- [4]. Chan JF-W, Yip CC-Y, To KK-W, Tang TH-C, Wong SC-Y, Leung K-H, et al. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-PCR assay validated in vitro and with clinical specimens. *J Clin Microbiol*. 2020;58(5).
- [5]. Chen L, Liu W, Zhang Q, Xu K, Ye G, Wu W, et al. RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):313–9.
- [6]. Yip CC-Y, Ho C-C, Chan JF-W, To KK-W, Chan HS-Y, Wong SC-Y, et al. Development of a novel, genome subtraction-derived, SARS-CoV-2-specific COVID-19-nsp2 real-time RT-PCR assay and its evaluation using clinical specimens. *Int J Mol Sci*. 2020;21(7):2574.
- [7]. NCBI. NCBI SARS-CoV-2 Resources [Internet]. 2020 [cited 2020 Nov 27]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>
- [8]. Nucleotide Database N. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate SARS-CoV-2/human/USA/MA-MGH-03564/2020, complete genome. 2021; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW454767.1>

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

- [9]. Nucleotide Database N. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate SARS-CoV-2/human/USA/MA-MGH-03583/2020, complete genome. 2021; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW454771.1>
- [10]. Nucleotide Database N. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate SARS-CoV-2/human/USA/CA-QDX-2772/2020, complete genome. 2021; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW460582.1>
- [11]. Nucleotide Database N. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate SARS-CoV-2/human/USA/MA-MGH-03274/2020, complete genome. 2021; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MW454660.1>
- [12]. Rangwala SH, Kuznetsov A, Ananiev V, Asztalos A, Borodin E, Evgeniev V, et al. Accessing NCBI data using the NCBI Sequence Viewer and Genome Data Viewer (GDV). *Genome Res.* 2021;31(1):159-69.
- [13]. NCBI SARS-CoV-2 Resources [Internet]. [cited 2020 Nov 27]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>
- [14]. Madden T. The BLAST sequence analysis tool. In: *The NCBI Handbook* [Internet] 2nd edition. National Center for Biotechnology Information (US); 2013.
- [15]. Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics.* 2012;13(1):1-11.
- [16]. Burpo FJ. A critical review of PCR primer design algorithms and crosshybridization case study. *Biochemistry.* 2001;218(11).
- [17]. Yuwono T. Teori dan aplikasi polymerase chain reaction. Penerbit Andi Yogjak. 2006;1-3.
- [18]. Dieffenbach CW, Dveksler GS. PCR primer: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2003.

Received: April 2021, Accepted : Mai 2021 - Jurnal Photon Vol.11 No.2

DOI : <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.3645>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)