

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

1. Optimasi asam nukleat pada tahapan ekstraksi, amplifikasi, dan kuantifikasi telah berhasil meningkatkan keberhasilan proses *pra-sequencing*. Tahapan *downstream* seperti amplifikasi dan *sequencing* berhasil dilakukan dengan *coverage* tinggi yang memungkinkan deteksi resistensi genom virus HIV secara akurat pada spesimen plasma dengan *viral load*  $>10.000 \text{ copies/ml}$ .
2. Proses amplifikasi menggunakan RT-PCR dan Nested PCR berhasil dilakukan, konsentrasi DNA cukup tinggi dan kemurnian yang baik.
3. Nilai rata-rata Q score sebesar 8,1 menunjukkan bahwa tingkat kesalahan *basecalling* masih berada pada kisaran  $\pm 15,49\%$ , sehingga belum seluruh data *sequencing* dapat dikategorikan sebagai “*passed reads*” ( $\geq Q9$ ). Namun, karena nilai *coverage* yang tinggi, koreksi kesalahan dan pembentukan konsensus sekuens dapat dilakukan dengan akurasi yang cukup.

### B. Saran

Hasil *sequencing* berbasis *Oxford Nanopore Technologies* (ONT) pada penelitian ini diperlukan optimasi lanjutan mulai dari tahap ekstraksi RNA/DNA hingga *library preparation*. Validasi konsentrasi asam nukleat disarankan menggunakan Qubit Fluorometer agar lebih akurat. Tahap purifikasi disarankan menggunakan metode filtrasi sensitif seperti *Multiscreen HTS filter plate* atau *spin-column* berkualitas tinggi guna menghilangkan sisa protein, garam, dan dNTP yang dapat menurunkan *quality score*. Data sekuens *passed read* yang dihasilkan dapat dianalisis lebih lanjut menggunakan WHO HIV Drug Resistance Quality Control Tool (WHOQCT), serta interpretasi mutasi resistensi dapat dilakukan menggunakan platform Stanford HIV Drug Resistance Database (HIVdb). Dengan diterapkannya langkah optimasi ini, nilai Qscore diharapkan dapat meningkat melampaui ambang  $\geq 9$ , sehingga menghasilkan lebih banyak *passed reads* dan data *sequencing* yang andal untuk deteksi genom virus HIV.