

RINGKASAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan infeksi demam akut yang disebabkan oleh virus Dengue. Infeksi Dengue menimbulkan gejala sulit dibedakan dengan infeksi demam akut lainnya pada manusia dan dapat bermanifestasi menjadi gejala yang lebih parah bahkan kematian jika tidak didiagnosis dengan benar. Metode RT-PCR dengan menggunakan sepasang primer spesifik telah banyak dikembangkan untuk mendeteksi DENV. Perancangan primer untuk mendeteksi DENV menggunakan gen penyandi protein NS3 belum banyak dilaporkan. Protein NS3 merupakan protein yang berperan penting dalam proses replikasi virus dan memiliki daerah lestari paling tinggi antar serotipe DENV. Tujuan penelitian ini yaitu mendapatkan sekuens primer yang potensial untuk mendeteksi gen penyandi protein nonstruktural 3 (NS3) virus Dengue dan mengetahui efektivitas primer hasil rancangan terhadap sampel klinis demam berdarah menggunakan metode RT-PCR.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika dan Molekuler Fakultas Biologi Unsoed serta Balai Litbangkes Kelas I Banjarnegara dengan menggunakan metode survei. Penelitian ini terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas yaitu sekuens nukleotida primer hasil perancangan untuk mengamplifikasi gen NS3 DENV. Variabel terikat yaitu produk RT-PCR yang dideteksi dengan elektroforesis gel agarosa pada sampel pasien DBD. Parameter yang diamati yaitu keberadaan pita dengan ukuran tertentu hasil amplifikasi gen NS3 dari sampel pasien demam berdarah. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif dan tingkat efektivitas primer pada sampel *suspect* demam berdarah dianalisis menggunakan uji Cohen's Kappa.

Hasil perancangan primer yang diperoleh pada penelitian ini yaitu primer *forward* DenVNS3F (5'-CGAGTAGGAATGGGWWGARGCAGC-3') dan primer *reverse* DenVNS3R (5'-CTGTCCAGTGAGCRYGGTCTT-3'). Primer hasil rancangan efektif untuk mendeteksi gen NS3 virus Dengue pada sampel pasien demam berdarah dengan tingkat kecocokan *moderate agreement* terhadap hasil *screening* menggunakan primer komersial *real-time* RT-PCR ($K = 0,60$). Nilai tersebut menunjukkan adanya kesesuaian antara hasil primer rancangan dengan dengan hasil primer komersial, namun memiliki tingkat kepercayaan yang masih rendah. Penelitian ini perlu dilanjutkan ke tahap sekuensing untuk mengkonfirmasi sekuens dari pita hasil amplifikasi yang terbentuk.

Kata kunci: *demam berdarah, gen NS3, primer, RT-PCR, virus Dengue*

SUMMARY

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an acute febrile illness caused by Dengue virus (DENV). Dengue infection may lead to undifferentiated symptoms with other acute febrile illnesses in humans and can cause more severe symptoms if not diagnosed accurately. RT-PCR method using specific primer has been developed for the detection of DENV. Primer design for detecting DENV using the NS3 gene has not been reported. NS3 is a protein that has an important role in virus replication and has the highest conserved region between DENV serotype. The aim of this study was to determine potential primer sequences for detecting the NS3 gene in Dengue virus and to determine the level of effectiveness of the designed primers in dengue clinical samples using the RT-PCR method.

This research was conducted at Genetics and Molecular Laboratory, Faculty of Biology, Unsoed and Balitbangkes Kelas I Banjarnegara using survey methods. This study consists of independent variables and dependent variables. The independent variable is the nucleotide sequence of primer to amplify the NS3 gene in Dengue virus. The dependent variable is the RT-PCR product detected by agarose gel electrophoresis in dengue clinical samples. Parameters observed were the presence of bands from the amplification of the NS3 gene on Dengue clinical sample using the designed primer. The results obtained were analyzed descriptively and the designed primer was analyzed using Cohen's Kappa test.

The results of primer design in this study were forward primer DenVNS3F (5'-CGAGTAGGAATGGGARGCAGC-3') and reverse primer DenVNS3R (5'-CTGTCCAGTGAGCRYGGTCTT-3'). The designed primers were effective for detecting the NS3 gene of Dengue virus in dengue clinical samples with a moderate level of agreement with the screening results using real-time RT-PCR (K= 0,60). This value shows that there is agreement between the designed primer results and the commercial primer results, but the level of confidence is still low. This research needs to be continued to the sequencing stage to confirm the sequence of the amplified band.

Key words: dengue fever, Dengue virus, NS3 gene, primer, RT-PCR