

INTISARI

Penyakit Demam Berdarah Dengue merupakan salah satu penyakit yang menjadi permasalahan utama dunia. Pengembangan metode baru yang dapat digunakan untuk deteksi dini penyakit ini sangat diperlukan. Dalam penelitian ini dilakukan *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification* (NASBA) untuk mengamplifikasi RNA virus Dengue semua serotipe. Reaksi NASBA berlangsung pada kondisi isothermal sehingga tidak memerlukan *thermocycler*. Hasil amplikon NASBA dideteksi dengan elektroforesis gel agarosa.

RNA virus Dengue yang digunakan diisolasi dari *cell line* C6/36 yang telah terinfeksi virus Dengue. NASBA dilakukan dengan menggunakan *primer* baru F1 dan R1T7. *Primer* dirancang dengan *software* CLC Main Workbench 7.6.3 menggunakan 77 sekuens virus Dengue asal Indonesia. Hasil rancangan *primer* diuji secara *in silico* dengan *blastn*, selanjutnya *primer* dicek dengan RT-PCR. Elektroforesis hasil RT-PCR menunjukkan bahwa *primer* hasil rancangan dapat mendeteksi semua serotipe virus Dengue dan tidak dapat mendeteksi virus Chikungunya. *Primer* kemudian digunakan dalam NASBA, hasil yang diperoleh sama dengan RT-PCR. Uji sensitivitas juga dilakukan terhadap NASBA dan RT-PCR. Uji sensitivitas dilakukan dengan menggunakan serial pengenceran RNA virus Dengue serotipe 1 (DENV-1) sebagai *template*. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa sensitivitas NASBA lebih rendah dibanding RT-PCR. Hasil NASBA terdeteksi hingga konsentrasi RNA *template* 10^{-1} ng/ μ L lebih rendah dari RT-PCR yang dapat terdeteksi hingga 10^{-2} ng/ μ L.

Kata kunci: Dengue, NASBA

ABSTRACT

Dengue Fever is one of the diseases which become the world's main problem. The development of new methods that can be used for early detection of this disease is necessary. In this research, Nucleic Acid Sequence-Based Amplification (NASBA) is used to amplify all serotypes of dengue virus RNA. NASBA reaction takes place at isothermal condition, it means that thermocycler is no longer needed. Amplicons of NASBA are detected by agarose gel electrophoresis.

Dengue virus RNA was isolated from C6/36 cell lines which had been infected with dengue virus. NASBA was done by using new primers, F1 and RIT7, designed with CLC Main Workbench 7.6.3 software, in which 77 sequences of dengue virus from Indonesia were used as a template for designing. The new primers were tested in silico with blastn and then checked with RT-PCR. The result showed that new primers can detect all serotypes of Dengue virus and can not detect Chikungunya virus. Then, new primers were used in NASBA, the result was also the same as RT-PCR. Sensitivity test was also conducted on NASBA and RT-PCR. Sensitivity test was performed by using serial dilution of Dengue virus serotype 1 (DENV-1) RNA as a template. Electrophoresis results showed that the sensitivity of NASBA was lower than RT-PCR. NASBA has a sensitivity up to 10^{-1} ng / μ L, lower than RT-PCR which has a sensitivity up to 10^{-2} ng / μ L.

Keywords: Dengue, NASBA