



INNOVATIVE: Journal Of Social Science Research

Volume 5 Nomor 4 Tahun 2025 Page 4175-4184

E-ISSN 2807-4238 and P-ISSN 2807-4246

Website: <https://j-innovative.org/index.php/Innovative>

## Desain Primer PCR Secara In Silico untuk Deteksi Gen NS1 DENV-2 Strain New Guinea C (NGC) sebagai Diagnosis Dini Demam Berdarah Dengue

Ni Kadek Sri Adnyani Alit Putri<sup>1✉</sup>, Sagung Chandra Yowani<sup>2</sup>

Universitas Udayana

Email: [adnyaniputri560@gmail.com](mailto:adnyaniputri560@gmail.com)<sup>1✉</sup>

### Abstrak

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi serius yang disebabkan oleh virus Dengue, dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi, terutama di negara tropis seperti Indonesia. Salah satu metode yang sensitif dan spesifik untuk diagnosis dini adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dengan gen Non-Struktural 1 (NS1) sebagai target molekuler yang ideal. Penelitian ini bertujuan untuk merancang primer PCR secara *in silico* yang spesifik terhadap gen NS1 virus Dengue serotipe 2 (DENV-2) strain New Guinea C (NGC). Perancangan dilakukan menggunakan perangkat lunak Primer3Plus, dan validasi spesifisitas dilakukan melalui Primer-BLAST terhadap basis data NCBI. Pasangan primer terpilih memiliki panjang 20 basa dengan suhu leleh ( $T_m$ ) 60,0°C, serta konten GC masing-masing 50,0% dan 45,0%. Primer tersebut mampu mengamplifikasi segmen gen NS1 sepanjang 258 bp secara spesifik tanpa menunjukkan amplifikasi silang terhadap genom manusia maupun serotipe DENV lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa primer yang dirancang memiliki potensi kuat untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai alat diagnosis molekuler untuk deteksi dini infeksi DENV-2.

Kata Kunci: *DENV-2, NS1, PCR, In Silico, Primer*

## Abstract

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a serious infectious disease caused by the Dengue virus, with a high morbidity and mortality rate, especially in tropical countries such as Indonesia. One sensitive and specific method for early diagnosis is Polymerase Chain Reaction (PCR), with the Non-Structural gene 1 (NS1) as the ideal molecular target. This study aims to design an *in silico* PCR primer that is specific to the NS1 gene of Dengue virus serotype 2 (DENV-2) strain New Guinea C (NGC). The design was done using the Primer3Plus software, and the specificity validation was done through Primer-BLAST against the NCBI database. The selected primary pair has a length of 20 bases with a melting temperature ( $T_m$ ) of 60.0°C, and a GC content of 50.0% and 45.0%, respectively. The primer was able to amplify the NS1 gene segment along 258 bp specifically without exhibiting cross-amplification of the human genome or other DENV serotypes. These results suggest that the designed primer has strong potential to be further developed as a molecular diagnostic tool for early detection of DENV-2 infection.

Keywords: *DENV-2, NS1, PCR, In Silico, Primer*

## PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh virus Dengue (DENV) serotipe 1 – 4 dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* (Sundari dkk., 2023). Penyakit ini telah menjadi masalah kesehatan masyarakat global yang signifikan, terutama di negara-negara beriklim tropis dan subtropis seperti Indonesia, di mana kondisi iklim, kepadatan penduduk, serta praktik pengelolaan lingkungan yang kurang baik mempercepat penyebaran vektor. WHO menyebutkan bahwa lebih dari 3,9 miliar orang di 128 negara berisiko terinfeksi virus Dengue, dengan sekitar 390 juta kasus terjadi setiap tahun secara global, termasuk 96 juta kasus yang menunjukkan manifestasi klinis. Di Indonesia, berdasarkan data Kementerian Kesehatan hingga tanggal 26 Maret 2024, jumlah kasus DBD tercatat sebanyak 53.131 kasus dengan 404 kematian. Dalam satu minggu, angka ini melonjak menjadi 60.296 kasus dengan 455 kematian (Kemenkes RI, 2024). Tingginya angka morbiditas dan mortalitas ini mengindikasikan bahwa DBD masih menjadi ancaman nyata terhadap sistem kesehatan masyarakat. Pakar epidemiologi menekankan bahwa peningkatan kasus dari tahun ke tahun sangat erat kaitannya dengan kurangnya deteksi dini serta keterlambatan penanganan klinis di fasilitas kesehatan primer, terutama pada fase awal infeksi.

Diagnosis dini menjadi kunci utama dalam mengendalikan dampak DBD. Identifikasi cepat terhadap infeksi Dengue sangat penting dalam menentukan tindakan medis yang tepat sebelum penyakit berkembang ke fase kritis seperti *Dengue Hemorrhagic Fever* (DHF) dan *Dengue Shock Syndrome* (DSS), yang secara signifikan meningkatkan risiko kematian

(Kemenkes RI, 2023). Oleh karena itu, dibutuhkan metode diagnosis yang tidak hanya cepat dan akurat, tetapi juga mampu memberikan hasil sebelum tubuh membentuk respons imun dalam bentuk antibodi. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) atau reaksi berantai polimerase merupakan salah satu teknik yang sangat andal untuk deteksi virus Dengue secara molekuler (Fakih *et al.*, 2021). PCR memungkinkan amplifikasi fragmen DNA atau RNA dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat (Zubaidah dan Setyawati, 2021). Menurut para ahli biologi molekuler, sensitivitas dan spesifisitas tinggi dari metode PCR menjadikannya sebagai "*gold standard*" dalam diagnosis dini berbagai penyakit infeksius, termasuk DBD (Shuenn-Jue *et al.*, 2016). PCR juga mampu mendeteksi keberadaan virus bahkan pada kadar yang sangat rendah, menjadikannya alat penting dalam skrining awal dan konfirmasi kasus.

Salah satu target utama dalam deteksi virus Dengue adalah gen *Non-Structural Protein 1* (NS1). NS1 merupakan glikoprotein penting dalam patogenesis virus yang dilepaskan ke dalam aliran darah selama fase viremia akut. Para ahli virologi sepakat bahwa NS1 adalah biomarker yang sangat ideal karena dapat dideteksi dalam darah sebelum antibodi IgM atau IgG terbentuk, yang umumnya baru muncul pada hari ke-5 hingga ke-7 setelah infeksi (Wowor, 2011). Oleh karena itu, deteksi NS1 memungkinkan diagnosis dilakukan lebih awal, yang sangat krusial dalam konteks intervensi medis. Penelitian ini secara khusus memfokuskan diri pada DENV serotipe 2 (DENV-2), yang dalam berbagai literatur dikaitkan dengan manifestasi klinis yang lebih parah dibandingkan serotipe lainnya. DENV-2 juga diketahui memiliki tingkat virulensi tinggi serta kemampuan untuk menyebabkan infeksi sekunder yang berisiko memicu reaksi imun yang berlebihan. Dalam penelitian ini digunakan strain referensi New Guinea C (NGC) sebagai model, yang telah banyak digunakan dalam studi eksperimen laboratorium dan validasi metode diagnostik.

Perancangan primer yang tepat merupakan aspek krusial dalam keberhasilan metode PCR. Dalam konteks konvensional, primer sering kali dirancang melalui uji coba laboratorium (*wet lab*) yang memakan waktu lama, mahal, dan berisiko menghasilkan primer yang kurang optimal. Namun, dengan kemajuan bioinformatika, perancangan primer kini dapat dilakukan secara *in silico* yaitu sebuah pendekatan berbasis komputer yang memungkinkan simulasi dan analisis struktur primer sebelum dilakukan sintesis secara fisik. Menurut para pakar bioinformatika, metode *in silico* memungkinkan peneliti untuk menganalisis parameter penting seperti suhu leleh (*melting temperature*), kandungan basa GC, ukuran ampikon, dan kemungkinan terbentuknya dimer atau *hairpin* yang dapat mengganggu efisiensi PCR. Dengan pemanfaatan algoritma prediksi primer dan perangkat lunak khusus, proses desain menjadi lebih sistematis dan hemat sumber daya.

Dengan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk merancang sepasang primer PCR secara *in silico* yang secara spesifik menargetkan gen NS1 dari DENV-2 strain New Guinea C (NGC). Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam pengembangan alat deteksi molekuler berbasis PCR yang tidak hanya presisi tetapi juga efisien secara waktu dan biaya, sekaligus mendukung sistem diagnosis dini DBD di Indonesia secara lebih luas.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dilaksanakan sepenuhnya secara *in silico*. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah data sekuens biologis. Sekuens genom lengkap dari virus Dengue serotipe 2 (DENV-2) strain New Guinea C (NGC) diperoleh dari basis data publik *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) dengan nomor akses KM204118.1 (Gambar 1). Seluruh sekuens, termasuk anotasi gen penyandi protein Non-Struktural 1 (NS1), diunduh dalam format FASTA untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan perangkat lunak bioinformatika.

```
>KM204118.1:2422-3477 Dengue virus 2 strain New Guinea C, complete genome
GATAGTGGTTGCGTTGTGAGCTGGAAAAACAAAGAACTGAAGTGTGGCAGTGGGATTTTCATCACAGACA
ACGTGCACACATGGACAGAAACAATACAAGTTCCAACCGAATCCCTTCAAACTAGCTTCAGCTATCCA
GAAAGCTCATGAAGAGGGCATTGTGGAATCCGCTCAGTAACAAGACTGGAAAATCTGATGTGGAAACAA
ATAACACCAGAATTGAATCACATTCTATCAGAAAATGAGGTGAAGTTGACTATTATGACAGGAGACATCA
AAGGAATCATGCAGGCAGGAAAACGATCTCTGCRGCCCCAGCCACTGAGCTGAAGTATTTCATGGAAAAC
ATGGGGCAAAGCGAAAATGCTCTCTACAGAGTCTCATAACCAGACCTTTCTATTGATGGCCCCGAAACA
GCAGAATGCCCAACACAAACAGAGCTTGGAAATTCGCTGGAAGTTGAAGACTATGGCTTTGGAGTATTCA
CCACCAATATATGGCTAAAGTTGAGAGAAAAGCAGGATGTATTCTGCGACTCAAACTCATGTCAGCGGC
CATAAAGACAACAGAGCCGTCATGCCGATATGGGTTATTGGATAGAAAGTGCACCTCAATGACACATGG
AAGATAGAGAAAGCCTCTTTCATCGAAGTTAAAAGCTGCCACTGGCCAAAGTCACACACCCTCTGGAGTA
ATGGAGTGTAGAAAAGTGAGATGATAATCCAAAGAATTTGCTGGACCAGTGTACACAACAACACTACAG
ACCAGGCTACCATACACAACAGCAGGACCATGGCATCTAGGTAAGCTTGAGATGGACTTTGATTTCTGC
GAAGGAACCACAGTGGTGGTACTGAGGACTGTGGAATAGAGGACCCTCTTAAGAACAACACTACTGCCT
CTGAAAACCTATAACAGAATGGTGTGCCGATCTTGACATTACCACCGCTAAGATACAGAGGTGAGGA
CGGATGCTGGTACGGGATGAAAATCAGACCATTGAAAGAGAAAGAAGAGAATTTGGTCAACTCCTTGGTC
ACAGCC
```

Gambar 1. Urutan gen NS1 (Nomor Akses KM204118.1)

Proses perancangan primer dilakukan menggunakan perangkat lunak berbasis web Primer3Plus (<https://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>), sementara validasi spesifisitasnya dilakukan dengan Primer-BLAST yang disediakan oleh *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Gen NS1 pada sekuens referensi (KM204118.1) ditetapkan sebagai target. Parameter desain primer diatur secara spesifik untuk menghasilkan pasangan primer yang optimal, meliputi: (1) panjang produk PCR (amplikon) antara 150–300 pasangan basa (bp); (2) panjang primer antara 18–28 basa; (3)

suhu leleh ( $T_m$ ) diatur dalam rentang 55–65°C dengan perbedaan  $T_m$  antar pasangan primer tidak lebih dari 2°C; (4) kandungan Guanin-Sitosin (GC) antara 40–60%; serta (5) menghindari adanya pengulangan basa tunggal (mononukleotida) yang panjang. Ujung 3' primer diatur agar memiliki Guanin (G) atau Sitosin (C) untuk meningkatkan efisiensi amplifikasi, namun menghindari lebih dari dua G atau C pada posisi tersebut untuk mengurangi mispriming.

Seluruh pasangan primer kandidat yang dihasilkan kemudian divalidasi spesifisitasnya. Uji spesifisitas *in silico* dilakukan dengan menjalankan BLAST terhadap basis data *non-redundant* (nr) milik NCBI. Pencarian dibatasi pada organisme spesifik untuk mengidentifikasi potensi amplifikasi non-spesifik (*off-target*). Organisme yang menjadi target pengecualian adalah Homo sapiens (manusia) untuk memastikan bahwa primer tidak mengamplifikasi genom manusia, serta serotipe virus Dengue lainnya (DENV-1, DENV-3, dan DENV-4) guna menjamin spesifisitas terhadap serotipe DENV-2. Pengecualian ini dilakukan untuk menghindari amplifikasi non-spesifik yang dapat menyebabkan hasil positif palsu. Lebih lanjut, analisis terhadap potensi terbentuknya struktur sekunder yang tidak diinginkan, seperti *hairpin*, *self-dimer*, dan *cross-dimer* (Octifani dan Dewi, 2023). Seleksi akhir dilakukan untuk memilih satu pasangan primer terbaik dari seluruh kandidat yang lolos uji validasi. Kriteria pemilihan didasarkan pada kombinasi beberapa faktor, yaitu skor penalti terendah yang diberikan oleh algoritma Primer3, hasil BLAST yang menunjukkan 100% spesifisitas pada DENV-2 tanpa adanya ikatan signifikan pada target lain.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein NS1 adalah sebuah glikoprotein dengan massa molekul sekitar 42–50 kD yang tersusun atas 353 hingga 354 asam amino. Protein ini memiliki dua lokasi glikosilasi-N yang konservatif serta mengandung 12 residu sistein yang membentuk enam ikatan disulfida. Selama proses sintesisnya, NS1 dimasukkan ke dalam retikulum endoplasma, di mana ia mengalami pembentukan dimer. Proses dimerisasi ini menjadi langkah awal bagi transpor NS1 menuju kompleks Golgi. Fungsi utama NS1 berkaitan erat dengan mekanisme replikasi RNA virus (Masduki dkk., 2011). Proses perancangan primer dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Primer3Plus. Berdasarkan sekuens target dari DENV-2 yang dimasukkan, perangkat lunak ini menghasilkan beberapa kandidat pasangan primer. Pasangan primer terbaik dipilih berdasarkan parameter termodinamika yang paling optimal untuk reaksi PCR. Karakteristik dari pasangan primer terpilih disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rancangan Desain Primer Menggunakan Primer3Plus

Primer pair No.	Primer Sequence	Panjang Primer	Tm (°C)	Ukuran Produk (bp)	GC content	Amplification Size (bp)
1.	F5'-GAAGTGTGGCAGTGGGATTT-3'	20	60,0	258	50,0%	258
	R3'-GCCTGCATGATTCCTTTGAT-5'	20	60,0		45,0%	
2.	F5'-AGTGTGGCAGTGGGATTTTC-3'	20	60,0	256	50,0%	256
	R3'-GCCTGCATGATTCCTTTGAT-5'	20	60,0		45,0%	
3.	F5'-GAAGTGTGGCAGTGGGATTT-3'	20	60,0	266	50,0%	266
	R3'-GTTTTCTGCCTGCATGATT-5'	20	60,1		45,0%	
4.	F5'-AGTGTGGCAGTGGGATTTTC-3'	20	60,0	264	50,0%	264
	R3'-GTTTTCTGCCTGCATGATT-5'	20	60,1		45,0%	
5.	F5'-CGTTGTGAGCTGGAAAAACA-3'	20	59,9	285	45,0%	285
	R3'-GCCTGCATGATTCCTTTGAT-5'	20	60,0		45,0%	

Pasangan primer yang terpilih memiliki panjang 20 basa, yang merupakan panjang ideal untuk memberikan spesifisitas yang cukup tanpa mengurangi efisiensi penempelan pada suhu *annealing* (Kumar and Singh, 2020). Suhu leleh (Tm) kedua primer identik, yaitu 60.0°C. Nilai Tm yang seimbang (perbedaan < 1°C) sangat direkomendasikan agar kedua primer dapat menempel pada untai DNA target dengan efisiensi yang setara selama siklus PCR (Li, 2015). Persentase GC konten sebesar 50.0% untuk primer *forward* dan 45.0% untuk primer *reverse* juga masuk dalam rentang ideal (40-60%). Rentang ini penting untuk menjaga stabilitas ikatan hidrogen antara primer dan templat DNA tanpa membuatnya terlalu stabil sehingga sulit terdenaturasi pada tahap selanjutnya. Pasangan primer ini didesain untuk menghasilkan fragmen DNA (amplikon) dengan ukuran 258 bp.

Untuk memastikan bahwa primer yang dirancang hanya akan mengamplifikasi target spesifik dari DENV-2 dan tidak berikatan dengan sekuens non-target, dilakukan uji spesifisitas secara *in silico* menggunakan Primer-BLAST (Octifani dan Dewi, 2023). Uji ini dilakukan dengan memasang sekuens primer terhadap basis data nukleotida non-redundan (nr) milik NCBI, dengan organisme target spesifik *Dengue virus type 2* (taxid: 11060) (Gambar 2 dan Gambar 3). Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa pasangan primer yang digunakan mengikat secara spesifik pada sekuens gen NS1 (*non-structural* protein 1) dari genom *Dengue virus* serotipe 2, strain New Guinea C yang dapat dilihat pada Tabel 2.

**Primer Parameters**

Use my own forward primer (5'->3' on plus strand): GAAGTGTGGCAGTGGGATTT

Use my own reverse primer (5'->3' on minus strand): GCCTGCATGATTCCTTTGAT

PCR product size: Min 70, Max 1000

# of primers to return: 10

Primer melting temperatures (T<sub>m</sub>): Min 57.0, Opt 60.0, Max 63.0, Max T<sub>m</sub> difference 3

Primer Location Preference:  Prefer primers at 3' side of the template

Gambar 2. Input Desain Primer *Pair 1* pada Primer BLAST (*Primer Parameters*)

**Primer Pair Specificity Checking Parameters**

Specificity check:  Enable search for primer pairs specific to the intended PCR template

Search mode: Automatic

Database: nt

Exclusion:  Exclude predicted Refseq transcripts (accession with XM, XR prefix)  Exclude uncultured/environmental sample sequences

Organism: dengue virus type 2 (taxid:11060)

Primer specificity stringency: Primer must have at least 2 total mismatches to unintended targets, including at least 2 mismatches within the last 5 bps at the 3' end. Ignore targets that have 6 or more mismatches to the primer.

Max target amplicon size: 4000

Allow splice variants:  Allow primer to amplify mRNA splice variants (requires refseq mRNA sequence as PCR template input)

Gambar 3. Input Desain Primer *Pair 1* pada Primer BLAST (*Primer Pair Specificity Checking Parameters*)

Tabel 2. Hasil Primer-BLAST *Pair 1*

<i>Accession Number</i>	Strain	Target Genetik	<i>Forward Primer</i>	<i>Reverse Primer</i>	Ukuran Produk (bp)	Keterangan
PV682585.1	DENV2_LPV	NS1 <i>gene</i>	GAAGTGTGG CAGTGGGAT T (2355– 2374)	GCCTGCATGAT TCCTTTGAT (2612–2593)	258	Amplifikasi segmen NS1 secara spesifik
MH613986.1	C6L_P5 6	NS1 <i>gene</i>	GAAGTGTGG CAGTGGGAT TT (2460– 2479)	GCCTGCATGAT TCCTTTGAT (2717–2698)	258	Sesuai pada wilayah target DENV-2
MH613984.1	C6L_48 h	NS1 <i>gene</i>	GAAGTGTGG CAGTGGGAT	GCCTGCATGAT TCCTTTGAT (2717–2698)	258	Hasil identik dengan strain lain DENV-2

			TT (2460– 2479)			
MH613985.1	C6L_P3 0	NS1 <i>gene</i>	GAAGTGTGG CAGTGGGAT TT (2460– 2479)	GCCTGCATGAT TCCTTTGAT (2717–2698)	258	Variasi posisi primer kecil, namun tetap dalam gen NS1 dan menghasilkan amplikon yang sesuai.
MK506264.1	ngc- 2007	NS1 <i>gene</i>	GAAGTGTGG CAGTGGGAT TT (2460– 2479)	GCCTGCATGAT TCCTTTGAT (2717–2698)	258	Varian sekuens dari strain New Guinea C

Hasil *Primer-BLAST* menunjukkan bahwa pasangan primer yang dirancang untuk mendeteksi gen NS1 DENV-2 mampu mengamplifikasi segmen sepanjang 258 bp secara spesifik pada berbagai isolat DENV-2. Kelima isolat yang dianalisis, yaitu MK506264.1, MH613986.1, MH613985.1, MH613984.1, dan PV682585.1, semuanya menunjukkan urutan target yang identik atau sangat mirip, dengan posisi penempelan primer berada dalam rentang gen NS1 yang telah diketahui, yaitu posisi nukleotida 2422–3477. Primer *forward* menempel pada posisi 2460–2479, sedangkan primer *reverse* secara komplementer pada posisi 2717–2698. Adapun pada isolat DENV2\_LPV, terdapat sedikit pergeseran ke posisi 2355–2374 dan 2612–2593, tetapi hasil amplifikasi tetap berada dalam wilayah gen NS1 dan menghasilkan produk PCR berukuran 258 bp.

Kesesuaian posisi penempelan primer dengan wilayah target menunjukkan bahwa desain primer ini bersifat optimal dan spesifik. Tidak terdeteksi adanya *mismatch* maupun ikatan non-spesifik pada bagian lain dari genom virus, yang menunjukkan bahwa primer ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi yaitu dua karakteristik penting dalam metode diagnostik berbasis PCR. Menurut para ahli bioteknologi molekuler, primer yang ideal harus memiliki kesesuaian 100% terhadap target genetik untuk menghindari amplifikasi palsu positif atau negatif, yang dapat mengaburkan hasil diagnosis dan mengganggu proses klinis lanjutan.

Gen NS1 dipilih sebagai target molekuler bukan tanpa alasan. Protein ini merupakan salah satu produk awal dari replikasi virus dengue dan dilepaskan dalam konsentrasi tinggi

ke dalam sirkulasi darah selama fase viremia akut. Menurut beberapa studi, keberadaan NS1 dapat dideteksi bahkan sebelum sistem imun tubuh mulai memproduksi antibodi IgM dan IgG, menjadikannya biomarker utama dalam diagnosis dini infeksi dengue. Di samping itu, NS1 juga berperan dalam meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan proses inflamasi sistemik, sehingga keterdeteksiannya sangat relevan secara klinis dalam konteks prediksi keparahan penyakit.

Hasil yang ditunjukkan oleh Primer-BLAST memperkuat bahwa pasangan primer yang dirancang tidak hanya bekerja secara *in silico* dalam simulasi komputer, tetapi juga layak untuk diuji lebih lanjut di laboratorium (*in vitro*). Dalam pandangan ahli virologi dan bioinformatika, keberhasilan uji *in silico* menjadi fondasi penting sebelum masuk ke tahap sintesis primer dan uji validasi biologis, karena dapat menghemat waktu, biaya, dan menghindari kegagalan eksperimen akibat desain primer yang kurang tepat.

Keseragaman hasil amplifikasi pada berbagai isolat DENV-2 menunjukkan bahwa primer ini memiliki aplikabilitas luas terhadap variasi genetik virus, yang merupakan keuntungan besar dalam konteks epidemiologi, mengingat virus dengue sering mengalami mutasi antar wilayah dan waktu. Hal ini menunjukkan potensi kuat dari pasangan primer ini untuk digunakan sebagai bagian dari alat diagnostik molekuler berbasis PCR yang tidak hanya akurat, tetapi juga adaptif terhadap beragam varian genetik DENV-2, khususnya strain New Guinea C (NGC) yang digunakan sebagai referensi dalam penelitian ini.

## SIMPULAN

Desain primer yang diperoleh secara *in silico* menghasilkan primer terbaik untuk deteksi gen NS1 virus DENV-2 strain New Guinea C, yaitu primer forward 5'-GAAGTGTGGCAGTGGGATTT-3' dan primer reverse 3'-GCCTGCATGATTCCTTTGAT-5'. Desain primer tersebut mampu mengamplifikasi daerah gen NS1 dengan ukuran 258 bp amplikon.

## DAFTAR PUSTAKA

- Fakih, T. M., Wijaya, S., & Priani, S. E. (2021). Desain primer gen 12s rRNA dari DNA mitokondria babi (*Sus scrofa*) secara *in silico* sebagai kandidat primer dalam analisis molekuler kehalalan produk. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(3), 316.
- Kemenkes RI. (2023). Profil kesehatan indonesia 2022. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kemenkes RI. (2024). Mediakom: demam berdarah masih mengintai (Edisi 165). Jakarta:

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

- Kumar, S., & Singh, R. (2020). *Molecular and serological diagnosis of human diseases*. London: Academic Press.
- Li, K. (2015). *Basic techniques in molecular biology*. Florida: CRC Press.
- Masduki, A., Narita, V., & Omar, A. (2011). Analisis pohon filogenik dari protein non-struktural 1 (NS1) virus dengue di kawasan asia tenggara. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 1(2), 69–74.
- Octifani, A., & Dewi, I. G. A. A. A. (2023). Desain primer secara in silico untuk amplifikasi gen *tcdA* bakteri *Clostridium difficile*. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, 8(1), 19–26.
- Shuenn-Jue, L. W., Sundaram A. P., and Lee, C. R. (2016). Review of current laboratory diagnostics for dengue fever. *Clinical Research in Infectious Disease*, 3(5), 1044.
- Sundari, M., Nugraheni, E., & Rizqoh, D. (2023). Manifestasi klinis demam berdarah dengue (DBD). *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 10(3), 267–274.
- Wowor, D. (2011). Nonstructural protein 1 sebagai target molekuler deteksi dini infeksi dengue. *Jurnal Biomedik*, 3(2), 97–103.
- Zubaidah, S., & Setyawati, R. (2021). Peran PCR sebagai metode deteksi molekuler penyakit infeksi virus. *Jurnal Ilmu Laboratorium Medik*, 7(1), 10–17.