

ABSTRAK

Latar Belakang: Infeksi *Hepatitis B Virus* (HBV) merupakan penyebab utama kematian akibat penyakit hati, khususnya karsinoma hepatoseluler (HCC). Gen *HBx* yang bersifat onkogenik berperan penting dalam patogenesis HBV. Deteksi ekspresi gen ini melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sangat bergantung pada primer yang spesifik, namun di Indonesia belum tersedia rancangan primer untuk amplifikasi gen *HBx* guna mendukung diagnosis HCC.

Tujuan Penelitian: Merancang dan menganalisis pasangan primer spesifik untuk amplifikasi gen *HBx* pada HBV dengan metode *in silico*.

Metode Penelitian: Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan mengambil urutan gen *HBx* dari *database* GenBank NCBI. Daerah konservatif diidentifikasi melalui proses *alignment* menggunakan MAFFT versi 7 dan Unipro UGENE versi 52. Perancangan pasangan primer dilakukan dengan Primer-BLAST, kemudian dianalisis struktur sekundernya menggunakan NetPrimer. Uji similaritas primer dilakukan menggunakan Nucleotide BLAST.

Hasil Penelitian: Daerah konservatif gen *HBx* berhasil diidentifikasi dan digunakan sebagai daerah cetakan primer. Perancangan primer menggunakan Primer-BLAST menghasilkan 10 kandidat pasangan primer spesifik. Analisis struktur sekunder menunjukkan hasil bervariasi dengan pasangan primer 1 dan pasangan primer 8 merupakan pasangan primer paling optimal. Uji similaritas menunjukkan pasangan primer 8 memiliki spesifisitas tinggi terhadap gen *Hbx* dan tidak menunjukkan kemiripan dengan organisme lain.

Kesimpulan: Pasangan primer 8 (*forward*: 5'-TGTGCCTTCTCATCTGCCG-3', *reverse*: 5'-TATGCCTCAAGGTCGGTCG-3') teridentifikasi sebagai kandidat pasangan primer terbaik dengan spesifisitas tinggi dan struktur yang optimal untuk amplifikasi gen *HBx* pada HBV.

Kata Kunci: gen *HBx*, *Hepatitis B Virus*, primer spesifik, PCR, *in silico*

ABSTRACT

Background: *Hepatitis B Virus* (HBV) infection is a leading cause of liver disease-related deaths, particularly hepatocellular carcinoma (HCC). The *HBx* gene, which is oncogenic, plays a significant role in HBV pathogenesis. Detection of this gene expression through *Polymerase Chain Reaction* (PCR) is highly dependent on specific primers. However, there are currently no available primer designs in Indonesia for the amplification of the *HBx* gene to support HCC diagnosis.

Objective: This study focuses on designing and analyzing specific primer pairs for the amplification of the *HBx* gene in HBV using *in silico* methods.

Methods: This study was conducted *in silico* by retrieving *HBx* gene sequences from the GenBank NCBI database. Conserved regions were identified through multiple sequence alignment using MAFFT version 7 and Unipro UGENE version 52. Primer pairs were designed using Primer-BLAST, and their secondary structures were analyzed with NetPrimer. Primer specificity was evaluated using Nucleotide BLAST.

Results: Conserved regions of the *HBx* gene were successfully identified and used as primer binding sites. Primer-BLAST generated 10 candidate primer pairs. Secondary structure analysis showed varying results, with primer pairs 1 and 8 being the most optimal. Similarity testing indicated that primer pair 8 had high specificity for the *HBx* gene and showed no similarity to other organisms.

Conclusion: Primer pair 8 (forward: 5'-TGTGCCTTCTCATCTGCCG-3', reverse: 5'-TATGCCTCAAGGTCGGTCG-3') was identified as the best primer pair candidate, with high specificity and optimal structure for the amplification of the *HBx* gene in HBV.

Keywords: *HBx* gene, *Hepatitis B Virus*, specific primers, PCR, *in silico*.