

ABSTRAK

Latar Belakang: Bakteri *Corynebacterium diphtheria* atau *C. diphtheria* merupakan bakteri gram positif penyebab penyakit difteri yang merupakan salah satu penyakit mematikan terutama pada anak dan dewasa era pre-vaksin. Apabila tidak diobati dan kasus tidak mempunyai kekebalan, angka kematian sekitar 50%, sedangkan dengan terapi angka kematiannya 10%. Faktor virulensi utama *Corynebacterium diphtheria* yaitu toksigenisitas (kemampuan memproduksi toksin). Produksi toksin diatur seperangkat gen yang disebut gen *tox/dtx* (*diphtheria toxin gene*) dan diregulasi oleh gen *dtxR* (*Diphtheria Toxin Repressor*) yang dikatalis oleh besi (Fe). Alternatif pemeriksaan toksigenisitas *C. diphtheriae* dapat dilakukan dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR), gen *dtxR* dapat digunakan sebagai marker deteksi *C. diphtheriae* karena gen ini terdapat pada *C. diphtheriae* yang bersifat toksigenik maupun nontoksigenik. Perancangan primer merupakan langkah awal untuk memperoleh primer yang dapat digunakan dalam amplifikasi DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) dengan metode PCR. Suatu primer yang baik untuk amplifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan desain secara *in silico*

Tujuan Penelitian: Merancang dan menganalisis pasangan primer spesifik untuk amplifikasi gen *dtxR* pada bakteri *C. diphtheria* dengan metode *in silico*

Metode Penelitian: Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan mengambil urutan gen *dtxR* 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 *dtxR* 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 4 dan pasangan primer 6 merupakan pasangan primer paling optimal. Uji similaritas menunjukkan pasangan primer 6 memiliki spesifisitas tinggi terhadap gen *dtxR* 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 *dtxR* pada bakteri *C. diphtheria*.

Kata Kunci: bakteri *C. diphtheria*, gen *dtxR*, perancangan primer PCR,

ABSTRACT

Background: *Corynebacterium diphtheria* or *C. diphtheria* bacteria are gram-positive bacteria that cause diphtheria which is one of the deadly diseases, especially in children and adults in the pre-vaccine era. If it is not treated and the case does not have immunity, the mortality rate is around 50%, while with therapy the mortality rate is 10%. The main virulence factor of *Corynebacterium diphtheria* is toxicity (ability to produce toxins). Toxin production is regulated by a set of genes called the tox/dtx gene (*diphtheria toxin gene*) and is regulated by the dtxR (*Diphtheria Toxin Repressor*) gene that is catalyzed by iron (Fe). An alternative to checking the toxicity of *C. diphtheriae* can be done by *polymerase chain reaction* (PCR) technique, the dtxR gene can be used as a marker for the detection of *C. diphtheriae* because this gene is present in *C. diphtheriae* which is both toxic and non-toxic. Primer design is the first step to obtain a primer that can be used in DNA amplification (*Deoxyribonucleic Acid*) by PCR method. A good primer for amplification can be done using *an in silico design*

Objective: To design and analyze specific primary pairs for dtxR gene amplification in *C. diphtheria* bacteria by *in silico method*

Method: This study was conducted in silico by taking the *dtxR gene sequence* from the NCBI GenBank database. Conservative areas were identified through an alignment process using MAFFT version 7 and Unipro UGENE version 52. The design of the primary pair was carried out with Primer-BLAST, then the secondary structure was analyzed using NetPrimer. The primary similarity test was performed using BLAST Nucleotide.

Results: The conservative region of the *dtxR* gene was successfully identified and used as the primary print region. Primary design using Primer-BLAST resulted in 10 specific primary pair candidates. Analysis of the secondary structure showed that the results varied with primary pair 4 and primary pair 6 being the most optimal primary pair. The similarity test showed that the primary pair 6 had a high specificity to the *dtxR* gene and showed no resemblance to other organisms.

Conclusions: Primary pair 8 (forward: 5'-TGTGCCTTCTCATCTGCCG-3', reverse: 5'-TATGCCTCAAGGTCGGTCG-3') was identified as the best primary pair candidate with high specificity and optimal structure for *dtxR* gene amplification in *C. diphtheria* bacteria.

Keywords: *C. diphtheria* bacteria, dtxR gene, PCR primer design