

# OPTIMASI SUHU DESAIN PRIMER GEN BLAZ RESISTENSI PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA *IN SILICO*

Arista Pratiwi, Rafika Sari, Pratiwi Apridamayanti

0858 2258 6891 – rafikasari.untan@gmail.com

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura – Indonesia

## ABSTRAK

Penisilin merupakan antibiotik yang mengalami resistensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Resistensi ini diperantarai oleh gen yang mengkode beta laktamase yaitu gen blaZ. Pendeteksian resistensi dapat dilakukan dengan metode PCR yang membutuhkan primer berupa sederet sekuens DNA pendek sebagai pengenalan DNA target. Tujuan dari penelitian ini adalah mendesain primer sebagai bahan utama dalam pendeteksian gen target, yaitu gen blaZ untuk mengurangi angka resistensi. Pengujian secara *in silico* merupakan salah satu metode yang paling efektif dan efisien dalam merancang suatu primer. Metode yang digunakan dalam desain primer secara *in silico* berbasis bioinformatika adalah dengan menggunakan situs NCBI, Primer3Plus, dan OligoAnalyzer. Hasil perancangan primer gen blaZ *S.aureus* diperoleh 10 kandidat primer dari suhu leleh ( $T_m$ ) optimum 55°C dan 60°C. Primer yang memiliki kriteria primer terbaik untuk deteksi gen blaZ *S.aureus* adalah primer 1 yang memiliki urutan basa primer *forward* ATTTGCCTATGCTTCGACTT dan urutan basa primer *reverse* GCTTGACCACTTTTATCAGC. Kriteria rancangan primer yang dihasilkan yaitu memiliki panjang basa 20 bp,  $T_m$  55,4°C dan 55°C, %GC sebesar 40% dan 45%, *hairpin* dengan nilai  $\Delta G$  -0,75 dan 1,23 kcal/mol, *self dimer* dengan nilai  $\Delta G$  -3,14 kcal/mol, serta *hetero dimer* dengan nilai  $\Delta G$  -4,74 kcal/mol.

**Kata kunci** : Desain primer, gen blaZ, resistensi, Penisilin, *S.aureus*, *in silico*

## PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik golongan Penisilin terhadap *Staphylococcus aureus* terkait dengan plasmid yang membawa gen bla-Z yang menyandi  $\beta$ -Laktamase. Gen blaZ merupakan fenotip resisten Penisilin terhadap *Staphylococcus aureus*.<sup>(1)</sup> Keberadaan gen blaZ perlu pendeteksian yang tepat, akurat dan cepat. Pendeteksian gen target yang akurat tergantung dengan primer yang digunakan. Primer berupa sederet sekuens DNA pendek sebagai pengenalan DNA target yang selanjutnya dapat memperpanjang dan memperbanyak DNA target secara spesifik.<sup>(2)</sup> Primer yang digunakan untuk deteksi gen target harus spesifik dan

memenuhi kriteria primer. Kriteria primer tersebut antara lain: *melting temperature* ( $T_m$ ), persentase jumlah G dan C (% GC), 3'dimer, stabilitas, tidak adanya *repeats,runs* dan *hairpins* sebagai parameter primer yang baik. Primer dapat didesain dan dianalisis secara *in silico* untuk mengurangi terjadinya *error* saat dilakukan penelitian lanjutan berupa *in vitro*.<sup>(3)</sup>

Penelitian ini melakukan desain primer yang dapat dimanfaatkan untuk deteksi gen target yaitu gen *blaZ* secara spesifik. Primer terbaik adalah primer yang spesifik. Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi.<sup>(4)</sup> Pendeteksian resistensi berbasis molekular berguna untuk pengobatan yang akurat dan strategi kontrol preventif lebih cepat.<sup>(5)</sup> Resistensi dapat dideteksi dengan cepat dan tepat dengan menggunakan primer spesifik untuk amplifikasi menggunakan PCR sehingga perlu dilakukannya penelitian ini yaitu desain primer spesifik gen *blaZ* resistensi antibiotik golongan Penisilin terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in silico*.

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini adalah penelitian berbasis kajian biologi molekular dan pengujian secara *in silico*. Sekuens nukleotida dari sampel gen *blaz* *Staphylococcus aureus* yang didapat dari situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), Primer3Plus dan OligoAnalyzer 3.1.

### **1. Pencarian Sekuens Nukleotida dengan NCBI**

Penelitian ini dimulai dengan mencari sekuens nukleotida yang didapatkan dengan cara mencari pada *database National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg>) menggunakan penelusuran menu “Gene” dengan kata kunci yaitu *blaZ*, *Staphylococcus aureus*. Perlu diperhatikan bahwa akan muncul banyak hasil dari pencarian sekuens nukleotida, sehingga pada bagian “Gene ID” harus memuat kode gen yang sama yaitu *blaZ* serta pada bagian “Description” memuat organisme yang diinginkan yaitu *Staphylococcus aureus*. Pilih menu “GenBank” setelah didapatkan data mengenai keberadaan gen *blaZ* pada *Staphylococcus aureus* untuk melihat sekuens nukleotida yang dihasilkan.

### **2. Pencarian Kandidat Primer dengan Primer3Plus**

Sekuens nukleotida yang telah didapatkan, dicopy bagian “Fasta” dan dianalisis pemilihan kandidat primer *forward* dan *reverse* dengan menggunakan program *Primer3Plus*. Hasil

yang akan didapatkan yaitu beberapa kandidat primer *forward* dan *reverse* dengan susunan basa nukleotida yang berbeda-beda.

#### 4. Analisis Primer *Forward* dan *Reverse* dengan *OligoAnalyzer 3.1*

Hasil kandidat primer yang diperoleh kemudian dianalisa dengan mempertimbangkan kriteria primer di dalam program *Integrated DNA Technologies* '(IDT) *OligoAnalyzer 3.1* dengan menempelkan urutan primer ke dalam kotak urutan dan klik pada kotak *Analyze*, *Hairpin*, *Homo Dimer* dan *Hetero Dimer*.

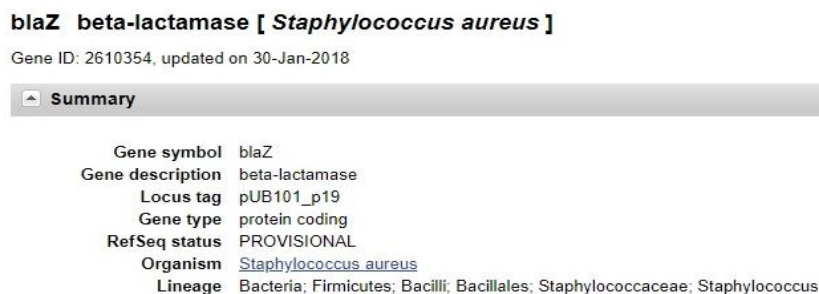
#### 5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini merupakan data primer, yaitu data yang diperoleh peneliti langsung dari hasil analisis kandidat primer menggunakan program *Primer3Plus*. Kandidat primer yang dihasilkan tersebut kemudian dianalisis struktur sekunder dan sifat lainnya dilakukan pada kandidat primer yang terpilih menggunakan perangkat *OligoAnalyzer*. Perangkat ini menampilkan sifat-sifat seperti nilai *hairpin*, % GC, panjang basa, *melting temperature* ( $T_m$ ), *self dimer* dan *cross dimer*. Data yang dihasilkan merupakan data yang bersifat kualitatif, sehingga hanya dilakukan analisis deskriptif

## HASIL DAN DISKUSI

### 1. Pencarian Sekuen Nukleotida Gen *BLAZ Staphylococcus aureus* menggunakan situs NCBI

Pencarian sekuen nukleotida dengan situs NCBI dilakukan dengan membuka *website* [www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/rsg/) dan pengetikan *keyword* “*blaz, staphylococcus aureus*”. Rincian informasi singkat atau *summary* dari hasil pencarian NCBI sebaai berikut :



**blaZ beta-lactamase [ *Staphylococcus aureus* ]**  
Gene ID: 2610354, updated on 30-Jan-2018

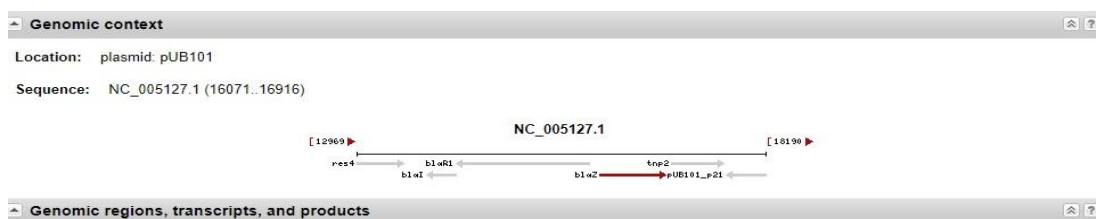
**Summary**

Gene symbol	blaZ
Gene description	beta-lactamase
Locus tag	pUB101_p19
Gene type	protein coding
RefSeq status	PROVISIONAL
Organism	<a href="#">Staphylococcus aureus</a>
Lineage	Bacteria; Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Staphylococcaceae; Staphylococcus

**Gambar 1.** Rincian Informasi Gen *blaZ* dari *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan *summary* dari hasil pencarian gen *blaZ Staphylococcus aureus* dengan situs NCBI (Gambar 1) didapatkan informasi bahwa gen *blaZ* mengkode beta lactamase yang terletak pada lokus pUB101\_p19. Lokus berisi gen yang berfungsi sebagai protein

pengkode. Status referensi adalah *provisional* yang berarti bersifat sementara yakni masih dalam peninjauan dan penelitian lanjutan. Organisme yang teridentifikasi adalah *Staphylococcus aureus* dengan garis silsilah yaitu berada pada kingdom Bacteria, divisi Firmicutes, kelas Bacilli, ordo Bacillales, famili Staphylococcaceae, dan bergenus *Staphylococcus*. Gen blaZ secara konteks genomik terletak pada plasmid pUB101 dengan sekuens NC\_005127.1 dengan urutan basa ke 16071 hingga 16916 yang dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Konteks Genomik dari gen blaZ *Staphylococcus aureus*

## 2. Perancangan Kandidat Primer dengan menggunakan Primer3Plus

Primer3Plus digunakan pada penelitian ini untuk mencari kandidat primer dan menganalisis kriteria primer. Kriteria primer yang terdapat pada situs ini hanya panjang basa, Tm dan % GC, sehingga perlu dilakukan analisis lebih lanjut dengan program atau situs lain. Penelitian ini menggunakan 2 kelompok suhu, yaitu suhu optimum 60°C dan 55°C. Jumlah kandidat primer yang didapatkan adalah 10 pasang primer *forward-reverse* dan akan diseleksi menjadi 1 kandidat terbaik di tiap rentang suhu. Hasil perancangan primer dengan suhu 1 ditunjukkan pada tabel 1, sedangkan perancangan primer dengan suhu 2 ditunjukkan pada tabel 2.

**Tabel 1.** Hasil Pencarian Kandidat Primer dengan Primer3Plus Suhu Optimum 60°C

Kandidat	Primer <i>Forward</i>	Primer <i>Reverse</i>	Panjang Produk	Jumlah basa
Primer 1	CCTGCTGCTTTCGGTAAG AC	G TTCAGATTGGCCCTTAGG A	226 bp	20
Primer 2	ACCTGCTGCTTTCGGTAA GA	G TTCAGATTGGCCCTTAGG A	227 bp	20
Primer 3	CCTGCTGCTTTCGGTAAG AC	TTCAGATTGGCCCTTAGGA T	225 bp	20
Primer 4	ACCTGCTGCTTTCGGTAA GA	TTCAGATTGGCCCTTAGGA T	226 bp	20
Primer 5	CCTGCTGCTTTCGGTAAG AC	G TTCAGATTGGCCCTTAGG AT	226 bp	21

**Tabel 2.** Hasil Pencarian Kandidat Primer dengan Primer3Plus Suhu Optimum 55°C

Kandidat	Primer <i>Forward</i>	Primer <i>Reverse</i>	Panjang Produk	Jumlah basa
Primer 1	ATTTGCCTATGCTTCGAC	GCTTGACCACTTTTATCAG	513 bp	20

	TT	C		
Primer 2	AGTTCACATGCCAAAGA GTT	AGTCTTTTGAAACACCGTC T	598 bp	20
Primer 3	AGAGATTTGCCTATGCTT CG	TCAGATTGGCCCTTAGGAT A	574 bp	20
Primer 4	TATGCTTCGACTTCAAAA GC	ACCACTTTTATCAGCAACC T	501 bp	20
Primer 5	AAACAGTTCACATGCCA AAG	TGCTTAATTTCCATTTGCG A	518 bp	20

Panjang produk menandakan jumlah basa produk yang dihasilkan dalam proses amplifikasi dengan metode PCR. Produk PCR dengan panjang 2000 panjang basa memerlukan waktu 1 menit untuk proses pemanjangan primer atau *extention* pada tahap PCR.<sup>(6)</sup> Hasil perancangan primer didapatkan panjang 225-227 panjang basa. Hal ini menunjukkan bahwa kandidat primer yang telah didapatkan dengan panjang basa kurang dari 2000/menit sehingga hanya memerlukan waktu yang sangat singkat dalam proses pemanjangan primer atau *extention* pada metode PCR.

### 3. Analisa Kriteria Primer dengan menggunakan *OligoAnalyzer*

Parameter yang dianalisis oleh *OligoAnalyzer* meliputi panjang basa, *melting temperature* ( $T_m$ ), % GC, *hairpin*, *self dimer* dan *hetero dimer*. Berdasarkan analisis gen *blaZ* dari *Staphylococcus aureus* pada suhu optimum 60°C (tabel 1) menunjukkan bahwa primer *forward* dan *reverse* dari 5 kandidat primer yang dianalisis memenuhi syarat kriteria primer yang baik. Panjang basa berdasarkan kriteria primer yang baik adalah berjumlah 18-30 nukleotida.<sup>(7)</sup> Hasil perancangan menghasilkan 20-21 nukleotida sehingga memenuhi syarat kriteria panjang basa yang baik sehingga semua kandidat primer hasil perancangan dapat digunakan untuk proses PCR.

**Tabel 3.** Hasil Analisis Kriteria Primer Gen *blaZ Staphylococcus aureus* Suhu Optimum 60°C

No	Primer	Panjang Produk	Panjang Basa	$T_m$ (°C)	%GC (%)	Hairpin (kcal/mol)	Self Dimer (kcal/mol)	Hetero Dimer (kcal/mol)
1	Forward	226 bp	20	60	55	-0,87	-3,61	-4,5
	Reverse		20	59,1	50	-0,77	-3,07	
2	Forward	227 bp	20	60	50	0,11	-3,61	-4,5
	Reverse		20	59,1	50	-0,77	-3,07	
3	Forward	225 bp	20	60	55	-0,87	-3,61	-4,5
	Reverse		20	58,6	45	-0,77	-3,07	
4	Forward	226 bp	20	60	50	0,11	-3,61	-4,5
	Reverse		20	58,6	45	-0,77	-3,07	
5	Forward	226 bp	20	60	55	-0,87	-3,61	-4,5
	Reverse		21	59,4	47,6	-0,77	-3,07	

**Keterangan :** Merah = Tidak sesuai syarat kriteria primer yang baik  
 Putih = Memenuhi syarat kriteria primer yang baik  
 Biru = Memenuhi persyaratan dengan nilai paling baik

**Tabel 4.** Hasil Analisis Kriteria Primer Gen blaZ *Staphylococcus aureus* Suhu Optimum 55°C

No	Primer	Panjang Produk	Panjang Basa	Tm (°C)	% GC (%)	Hairpin (kcal/mol)	Self Dimer (kcal/mol)	Hetero Dimer (kcal/mol)
1	Forward	513 bp	20	55,4	40	-0,75	-3,14	-4,74
	Reverse		20	55	45	1,23	-3,14	
2	Forward	598 bp	20	55,5	40	1,6	-3,14	-7,06
	Reverse		20	55,1	40	1,18	-3,61	
3	Forward	574 bp	20	55,6	45	-0,75	-3,61	-5,63
	Reverse		20	55	45	-0,77	-3,07	
4	Forward	501 bp	20	54,3	40	-1,41	-3,14	-7,43
	Reverse		20	54,8	40	1,4	-3,14	
5	Forward	518 bp	20	55	40	1,99	-3,14	-5,84
	Reverse		21	55	33,3	0,83	-3,61	

**Keterangan :** Merah = Tidak sesuai syarat kriteria primer yang baik  
 Putih = Memenuhi syarat kriteria primer yang baik  
 Biru = Memenuhi persyaratan dengan nilai terbaik

Hasil analisis berdasarkan pada tabel 3 dan tabel 4 menunjukkan bahwa pasangan primer *forward-reverse* yang memiliki nilai Tm memenuhi syarat adalah pada tabel 4 yaitu dengan suhu optimum 55°C. Rancangan primer dengan suhu optimum 60°C menghasilkan nilai Tm dengan rentang nilai 58,6°C-60°C.

Persentase G dan C atau % GC merupakan persentase jumlah basa guanin dan sitosin yang terdapat dalam suatu primer. Kriteria primer yang baik adalah mengandung %GC sebesar 40-60%.<sup>(8)</sup> Berdasarkan dari Tabel 3, semua kandidat primer *forward* dan *reverse* memenuhi syarat %GC. Berdasarkan analisis %GC pada suhu optimum 55°C yang ditunjukkan pada tabel 4 didapatkan hasil bahwa kandidat primer yang tidak memenuhi syarat yaitu primer *reverse* kandidat primer kelima. Primer *reverse* kandidat primer kelima memiliki %GC sebesar 33,3% yang berarti kurang dari syarat minimum %GC yang baik, yaitu 40%. Jika suatu primer memiliki nilai % GC yang rendah, maka dapat menurunkan efisiensi pada proses PCR karena primer tidak mampu berkompetisi untuk menempel secara efektif pada *template*. Sedangkan jika primer

memiliki nilai % GC yang tinggi, maka dapat menyebabkan terbentuknya ikatan yang terlalu kuat antara primer dengan DNA target sehingga produk PCR yang dihasilkan rendah namun lebih spesifik. Hal ini disebabkan karena pada basa G dan C terdapat lebih banyak ikatan hidrogen di dalamnya (3 ikatan hidrogen).<sup>(8), (9)</sup>

*Hairpin* adalah salah satu struktur sekunder yang sebaiknya dihindari dalam mendesain primer, namun sangat sulit untuk memperoleh primer yang tidak membentuk struktur *hairpin* atau *loop*. Struktur *hairpin* dapat dipecah dengan adanya  $\Delta G$  atau energi bebas. Struktur *hairpin* dapat dipecah apabila memiliki nilai  $\Delta G$  lebih besar dari -3 kcal/mol. Jika suatu primer memiliki nilai  $\Delta G$  kurang dari -3kcal/mol, maka suatu primer tersebut akan sulit untuk memecah struktur sekunder yang terbentuk, akibatnya primer tidak dapat menempel pada daerah yang diinginkan. Sebaliknya, jika primer memiliki nilai  $\Delta G$  lebih besar dari -3kcal/mol, maka primer tersebut dapat dengan mudah memecah struktur *hairpin* yang terbentuk.<sup>(9)</sup>

Berdasarkan hasil perancangan yang ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4, nilai  $\Delta G$  pada *hairpin* semua kandidat primer lebih dari -3kcal/mol sehingga dapat memecah struktur *hairpin*. Berdasarkan Tabel 3 dan Tabel 4, dapat dilihat bahwa nilai  $\Delta G$  pada *hairpin* dengan suhu optimum 55°C (Tabel 4) lebih banyak bernilai positif dibandingkan dengan suhu optimum 60°C (Tabel 3). Nilai positif pada  $\Delta G$  mempengaruhi kemampuan energi untuk memecah struktur *hairpin* karena semakin besar nilai  $\Delta G$  maka semakin kuat pula energi untuk memecah struktur sekunder *hairpin*. Hasil rancangan dengan suhu optimum 55°C meskipun menghasilkan banyak  $\Delta G$  pada *hairpin* bernilai negatif, tetapi masih mampu memecah struktur *hairpin* karena nilai lebih besar dari -3kcal/mol.

*Self dimer* terjadi apabila terbentuk ikatan pada dua primer yang sejenis (primer *forward* dengan primer *forward* atau primer *reverse* dengan primer *reverse*). Parameter pada *self dimer* dilihat dari nilai  $\Delta G$  atau energi bebas. Nilai  $\Delta G$  yang diperlukan untuk suatu primer memecah struktur *self dimer* yaitu memiliki nilai  $\Delta G$  lebih besar dari -6 kcal/mol. Suatu primer jika memiliki nilai  $\Delta G$  kurang dari -6 kcal/mol maka primer tersebut akan sulit untuk memecah struktur sekunder yang terbentuk, akibatnya primer tidak dapat menempel pada daerah yang diinginkan. Jika primer memiliki nilai  $\Delta G$  lebih besar dari -6 kcal/mol, maka primer tersebut dapat memecah struktur *self dimer* sehingga tidak mengganggu proses penempelan (*annealing*).<sup>(9)</sup> Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 3 dan Tabel 4, rancangan primer dari semua kandidat menunjukkan nilai  $\Delta G$  pada *self dimer* lebih dari -6 kcal/mol. Nilai  $\Delta G$  mengindikasikan bahwa semua kandidat rancangan

primer dengan menggunakan suhu optimum 60°C (Tabel 3) dan 55°C (Tabel 4) dapat memecah struktur *self dimer* sehingga tidak mengganggu proses penempelan primer (*annealing*) saat digunakan sebagai bahan dasar PCR.

*Hetero dimer* atau *cross dimer* merupakan ikatan yang terjadi jika suatu primer berikatan dengan primer pasangannya (primer *reverse* dan primer *forward*). Ikatan ini dapat diputus apabila suatu primer memiliki nilai  $\Delta G$  lebih besar dari -6 kcal/mol. Hasil analisis menunjukkan bahwa rancangan primer dengan suhu optimum 60°C (Tabel 3) memiliki nilai  $\Delta G$  lebih besar dari -6 kcal/mol. Sedangkan, perancangan primer dengan suhu optimum 55°C menunjukkan pada primer 2 dan 4 memiliki nilai  $\Delta G$  lebih kecil dari -6 kcal/mol yaitu -7,06 kcal/mol pada primer 2 dan -7,43 kcal/mol pada primer 4. Nilai  $\Delta G$  kurang dari -6kcal/mol menunjukkan energi yang dimiliki terlalu kecil untuk memecah struktur sekunder sehingga dapat mengakibatkan *error* pada saat proses penempelan.

#### **4. Pemilihan Primer Terbaik Gen BLAZ *Staphylococcus aureus***

Berdasarkan analisis kandidat primer dengan suhu optim 60°C (Tabel 3) semua kandidat primer tidak memenuhi persyaratan primer yang baik pada nilai Tm. Nilai Tm yang baik berada pada rentang 52-58°C, sedangkan semua kandidat melebihi 58°C. Nilai maksimum yang terbentuk dari hasil perancangan 60°C. Nilai syarat lainnya, pada suhu optimum 60°C memenuhi persyaratan kriteria primer yang baik.

Hasil analisis kandidat primer dengan suhu 2 yaitu suhu minimum 52°C, optimum 55°C dan maksimum 58°C ditunjukkan pada tabel berikut:

Berdasarkan hasil analisis kandidat primer dengan suhu optimum 55°C (Tabel 4) menunjukkan bahwa kandidat primer 2,4, dan 5 tidak ideal untuk menjadi primer terbaik. Primer 2 dan 4 tidak memenuhi persyaratan pada *hetero dimer* karena nilai  $\Delta G$  lebih dari -6 kcal/mol, sedangkan pada primer 5 tidak memenuhi persyaratan pada nilai Tm primer *reverse* karena kurang dari syarat nilai Tm minimum yaitu kurang dari 40°C. Primer yang baik digunakan adalah primer 1 dan 3 dengan suhu optimum 55°C. Pada primer 1 dilihat dari Tabel 6 menunjukkan lebih banyak stabilo biru dibandingkan primer 3 karena nilai  $\Delta G$  *hairpin* primer 1 *reverse* menunjukkan nilai positif yaitu 1,23 yang berarti memiliki nilai energi bebas lebih besar untuk memecah struktur sekunder *hairpin* dibandingkan dengan kandidat primer 3 yang memiliki nilai  $\Delta G$  negatif. Ditinjau dari nilai  $\Delta G$  *hetero dimer* pada primer 1 memiliki nilai  $\Delta G$  paling besar dibandingkan kandidat primer yang lain termasuk primer 3 sehingga dari segi kemampuan memecah struktur *hetero dimer* yang berpotensi mengganggu proses penempelan, primer 1 lebih baik dari primer 3. Ditinjau dari panjang



produk, primer 1 memiliki panjang 513 bp sedangkan primer 3 memiliki panjang 574 bp. Hal ini menunjukkan primer 1 memiliki nilai lebih kecil sehingga memerlukan waktu lebih singkat pada saat amplifikasi dibandingkan primer 3. Berdasarkan analisis, primer 1 dengan suhu optimum 55°C merupakan primer terbaik untuk identifikasi resistensi antibiotik golongan Penisilin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Urutan basa primer *forward* dari primer terbaik hasil penelitian adalah ATTTGCCTATGCTTCGACTT dan urutan basa primer *reverse* adalah GCTTGACCACTTTTATCAGC. Primer 1 dengan suhu optimum 55°C memiliki panjang produk 513 pasangan basa yang memungkinkan untuk menghasilkan produk basa saat amplifikasi dengan cepat yaitu kurang lebih 15 detik. Panjang basa primer 1 adalah 20 basa nukleotida dengan suhu leleh ( $T_m$ ) 55,4°C untuk primer *forward* dan 55°C untuk primer *reverse*. Primer 1 mengandung Guanin dan Sitosin sebanyak 40% dan 45% yang memenuhi persyaratan primer untuk mendeteksi gen secara tepat. Nilai  $\Delta G$  *hairpin* primer *forward* bernilai -0,75 dan primer *reverse* bernilai positif yaitu 1,23.  $\Delta G$  *self dimer* adalah -3,14 kcal/mol dan  $\Delta G$  *hetero dimer* primer adalah -4,74 kcal/mol. Nilai  $\Delta G$  *hairpin*, *self dimer* dan *hetero dimer* memungkinkan untuk memecah struktur sekunder pengganggu C pada saat proses *annealing*.

## Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini, yaitu:

1. Suhu optimum primer gen *blaZ* resistensi antibiotik golongan Penisilin pada *Staphylococcus aureus* adalah 55°C pada primer 1 dengan kriteria panjang produk 513 bp, panjang basa 20,  $T_m$  55,4 dan 55°C, %GC 40 dan 45 %,  $\Delta G$  *hairpin* -0,75 dan 1,23 kcal/mol ,  $\Delta G$  *self dimer* -3,14 kcal/mol, serta  $\Delta G$  *hetero dimer* -4,74 kcal/mol.
2. Urutan sekuen nukleotida dari hasil perancangan primer gen *blaZ* dari bakteri *Staphylococcus aureus* adalah ATTTGCCTATGCTTCGACTT untuk primer *forward* dan GCTTGACCACTTTTATCAGC untuk primer *reverse*.

## Saran

Saran yang dapat ditujukan untuk penelitian berikutnya, yaitu perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut dengan metode *in vitro* yaitu menggunakan PCR terhadap sekuen nukleotida gen *blaZ* untuk memprediksi resistensi antibiotik golongan Penisilin yang telah didesain secara *in silico*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Yang,F., Wang,Q., Wang, X., Wang,L., Xiao,M., Xinpu. Prevalence of blaZ Gene and Other Virulence Genes in Penicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolated from Bovine Mastitis Cases in Gansu,China. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 2015; 39.
2. Suparman. Desain primer PCR in silico untuk amplifikasi gen rbcL pada genus *mangifera*. Jurnal Bioedukasi. 2013 Sept; 2(1): 163-170.
3. Pradnyaniti DG, Wirajana IN, Yowani SC. Desain primer secara in silico untuk amplifikasi fragmen gen rpoB *Mycobacterium tuberculosis* dengan polymerase chain reaction (PCR). Jurnal Farmasi Udayana. 2013: 124-130.
4. Aris,M., Sukenda, Harris,E., Sukadi,MF., Yuhana,M. Identifikasi Molekuler Bakteri Patogen Dan Desain Primer PCR. Budidaya Perairan. 2013; 1(3): 43-50.
5. Yusuf, ZK. Polymerase chain reaction (PCR). Jurnal Saintek. 2010; 5(6): 1-6.
6. Innis MA, Gelfand DH. PCR Protocol: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press; 1990. Hal 3-12.
7. Borah P. Primer Designing for PCR. Science Vision. 2011; 11(3): 134-136.
8. Septiari, IGAA., Yustiantara, PS., Yowani, SC. Analisis Primer Untuk Amplifikasi Promoter Inha Multidrug Resistance Tuberculosis (MDR-TB) Dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Jurnal Kimia. 2015; 9(1): 117-123.
9. Sasmito DEK, Kurniawan R, Muhimmah I. Karakteristik primer pada polymerase chain raction (PCR) untuk sekuensing DNA [Mini Review]. SNIMed V 2014. 2014: 93-102.