

### ABSTRAK

Gen *CYP3A4* merupakan gen yang menyandi enzim CYP3A4. Pada gen *CYP3A4* terdapat SNPs rs2242480 yang terjadi di posisi intron 10 dimana sitosin mengalami perubahan menjadi timin (T) dengan frekuensi yang tinggi pada populasi Asia. Tujuan dari penelitian ini, yaitu untuk mengetahui kondisi optimum metode *Duplex-PCR* berdasarkan parameter suhu *annealing* dan kadar primer, kemudian mengetahui hasil identifikasi SNP gen *CYP3A4\*1G*. Kondisi optimum perlu divalidasi agar menghasilkan produk PCR yang spesifik dan reproduibel. Kondisi PCR dalam penelitian ini yaitu *initial* denaturasi pada suhu 98°C (45 detik); denaturasi pada suhu 98°C (10 detik); *annealing* pada suhu optimum selama 30 detik; ekstensi pada suhu 72°C (30 detik); siklus amplifikasi dilakukan sebanyak 35 kali dan *final* ekstensi pada suhu 72°C (5 menit). Optimasi suhu *annealing* dilakukan pada variasi suhu 49,0; 50,0; 51,9; 54,7; 58,1; 60,9, 62,8°C, sedangkan kadar primer pada variasi 20 pmol; 30 pmol; 40 pmol. Hasil penelitian menunjukkan kondisi optimum *duplex-PCR* yang diperoleh yaitu suhu *annealing* 58,1 °C dan kadar primer 30 pmol. Kondisi optimum *duplex-PCR* dapat menghasilkan produk PCR yang memenuhi parameter spesifisitas dan reproduibilitas pada validasi metode sehingga dapat digunakan untuk identifikasi SNP gen *CYP3A4\*1G*. Hasil identifikasi SNP yang diperoleh, yaitu terdapat fragmen DNA yang membentuk homozigot *wildtype* dan heterozigot.

**Kata Kunci:** CYP3A4, CYP3A4\*1G, *Duplex Polymerase Chain Reaction*, Optimasi, Validasi.

### ABSTRACT

The *CYP3A4* gene is a gene that encodes the enzyme CYP3A4. In the *CYP3A4* gene there are SNPs rs2242480 which occur at the 10 intron position where cytosine changes to thymine with high frequency in Asian populations. The purpose of this study is to determine the optimum conditions of the Duplex-PCR method based on annealing temperature parameters and primary levels, then to determine the result of identification of the SNP gene *CYP3A4\*1G*. Optimum conditions need to be validated in order to produce specific and reproducible PCR products. PCR conditions in this study were initial denaturation at a temperature of 98°C (45 seconds); denaturation at 98°C (10 seconds); annealing at optimum temperature for 30 seconds; extension at 72°C (30 seconds); The amplification cycle was carried out 35 times and the final extension at 72°C (5 minutes). Optimization of annealing temperature was carried out at a temperature variation of 49,0; 50,0; 51,9; 54,7; 58,1; 60,9, 62,8°C, while the primary level at a variation of 20 pmol; 30 pmol; 40 pmol. The results showed the optimum *duplex*-PCR conditions obtained, namely annealing temperature of 58.1°C and primary content of 30 pmol. Optimum duplex-PCR conditions can produce PCR products that meet the parameters of specificity and reproducibility in method validation so that they can be used for SNP identification of the *CYP3A4\*1G* gene. The results of SNP identification obtained, namely there are DNA fragments that form wildtype and heterozygous homozygotes.

**Keywords :** *CYP3A4*, *CYP3A4\*1G*, *Duplex Polymerase Chain Reaction*, optimization, validation