

ABSTRAK

*CYP2A6*4* merupakan salah satu bentuk *alel* tidak aktif dari *CYP2A6* yang menyebabkan penurunan dari aktivitas enzim. Adanya polimorfisme pada *CYP2A6* dapat dideteksi dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pada penelitian ini digunakan salah satu teknik PCR yaitu Duplex *Polymerase Chain Reaction*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimal dari suhu *annealing* dan kadar primer metode *Duplex-PCR* untuk mengidentifikasi *alel CYP2A6*4*. Sampel isolat DNA yang digunakan berasal dari pasien dengan riwayat DM tipe 2 yang telah diidentifikasi memiliki *alel CYP2A6*4*. Primer yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua pasang primer yang didesain secara manual dan dapat mengamplifikasi *CYP2A6*1* dan *CYP2A6*4* secara simultan. Kondisi optimum dari suhu *annealing* dan kadar primer divalidasi menggunakan parameter reproduibilitas. Pada optimasi suhu *annealing* digunakan 5 variasi suhu yaitu 57,9°C; 60,7°C; 64,0°C; 67,0°C; 68,9°C dan didapatkan suhu optimum yaitu pada suhu 57,9°C. Optimasi kadar primer dilakukan dengan menggunakan 3 variasi kadar yaitu 20pmol, 30pmol dan 40pmol dan didapatkan kadar primer optimum yaitu 40pmol. Validasi metode identifikasi yang dilakukan menggunakan 7 sampel isolat DNA yang berbeda memberikan hasil berupa terbentuknya pita dengan ukuran 387 bp untuk *1, 136 bp untuk *4 dan pita dengan ukuran 523 bp.

Kata Kunci : CYP2A6, CYP2A6*4, Duplex *Polymerase Chain Reaction*, Optimasi, Validasi

ABSTRACT

*CYP2A6*4* is an inactive allele form of *CYP2A6* which causes a decrease in enzyme activity. The presence of polymorphisms in *CYP2A6* can be detected using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Study applied PCR techniques Duplex Polymerase Chain Reaction. This study aims to determine the optimal condition of the annealing temperature and primer levels by Duplex-PCR method to identify *CYP2A6*4* alleles. The DNA isolate samples used came from patients with a history of type 2 DM who had been identified as having the *CYP2A6*4* allele. The primers used in this study consisted of two pairs of primers that were designed manually and could simultaneously amplify *CYP2A6*1* and *CYP2A6*4*. The optimum conditions of annealing temperature and primer content were validated using reproducibility parameters. In optimizing the annealing temperature, 5 temperature variations were used, namely 57.9°C; 60.7°C; 64.0°C; 67.0°C; 68.9°C and the optimum temperature is obtained at 57.9°C. Primary concentration optimization was carried out using 3 variations of concentration, namely 20pmol, 30pmol and 40pmol and the optimum primary concentration was obtained, namely 40pmol. The validation of the identification method using 7 different samples of DNA isolates resulted in the formation of bands with a size of 387 bp for *1, 136 bp for *4 and bands with a size of 523 bp.

Kata Kunci : *CYP2A6*, *CYP2A6*4*, *Duplex Polymerase Chain Reaction*, Optimization, Validation