

ABSTRAK

Gen *PRKAA2* merupakan gen yang menyandi enzim AMPK α 2. Salah satu *Reference SNPs* gen *PRKAA2*, yaitu rs857148 di daerah 3'UTR yang berpengaruh terhadap kemampuan enzim AMPK α 2 untuk melakukan fosforilasi dalam aktivasi enzim AMPK. Tujuan dari penelitian ini, yaitu untuk mengetahui kondisi optimum metode PCR berdasarkan parameter suhu *annealing* dan konsentrasi primer, mengetahui produk PCR yang menggunakan kondisi optimum dapat memenuhi parameter validasi metode, yaitu reproduksibilitas dan spesifisitas, kemudian mengetahui hasil identifikasi SNPs gen *PRKAA2* rs857148. Variasi suhu *annealing* yang akan dioptimasi, yaitu 55; 56,1; 57,9; 60,7; 64; 67; 68,9; dan 70°C. Konsentrasi primer yang dioptimasi pada penelitian ini, yaitu 2;2,5;3; dan 3,5 μ M. Identifikasi SNPs gen *PRKAA2* rs857148 menggunakan metode PCR-RFLP dengan ditambahkan enzim restriksi *BsuRI*. Kondisi optimum metode PCR yang diperoleh, yaitu suhu *annealing* 56,1°C dan konsentrasi primer 3 μ M. Band DNA yang diperoleh menggunakan kondisi optimum ini, yaitu tunggal, jelas, dan sesuai ukuran target (369 bp). Hasil visualisasi produk PCR menggunakan isolat DNA yang berbeda menghasilkan ukuran band yang sama, yaitu 369 bp sehingga memenuhi parameter reproduksibilitas. Hasil analisis primer *Nucleotide-BLAST* menunjukkan kesamaan, yaitu 100% sehingga telah memenuhi parameter spesifisitas. Adapun hasil identifikasi SNPs yang didapatkan, yaitu terdapat fragmen DNA yang membentuk homozigot *wildtype*, homozigot mutan, dan heterozigot.

Kata kunci : *PRKAA2*, SNPs, PCR-RFLP, optimasi, validasi

ABSTRACT

PRKAA2 is a gene that encodes AMPK α 2 enzyme. One of the reference SNPs in *PRKAA2* gene is rs857148 its location in 3'UTR could affect the ability of AMPK α 2 to phosphorylate AMPK enzyme. This study aims to known the optimum conditions of PCR method based on the annealing temperature and primer concentration, determine PCR product that use optimum conditions could fulfill reproducibility and specificity parameter, determine identification of SNPs *PRKAA2* rs857148 gene. Annealing temperature variations in this study were 55; 56,1; 57,9; 60,7; 64; 67; 68,9; and 70°C. Primer concentrations optimized in this study were 2; 2,5; 3; and 3,5 μ M. SNPs of *PRKAA2* rs857148 gene identified by PCR-RFLP method with restriction enzyme *BsuRI*. The results of optimum conditions for the PCR were temperature annealing (56,1°C) and primer concentration (3 μ M). DNA bands obtained were single, clear, and the length of PCR product was also suitable (369 bp). Visualization of PCR products using different DNA isolates resulted the same length of PCR product is 369 bp which fulfills reproducibility parameters. Nucleotide-BLAST tools were used to check primer specificity. After being analyzed, it has 100% similarity with human genome *PRKAA2*. SNPs *PRKAA2* rs857148 were found in wildtype homozygous, mutant homozygous, and heterozygous.

Keywords : *PRKAA2*, SNPs, PCR-RFLP, optimization, validation