

ABSTRAK

Gen *CYP2A6* adalah gen yang menyandi enzim CYP2A6. Pada gen *CYP2A6* terdapat polimorfisme yaitu *CYP2A6*9* yang mengalami mutasi berupa SNP di TATABOX (T-48G). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi optimum metode *Duplex*-PCR berdasarkan parameter suhu *annealing* dan konsentrasi primer. Pada penelitian ini digunakan 2 pasang primer yaitu *forward CYP2A6*1*, *reverse CYP2A6*1* yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA *CYP2A6*1* (*wildtype*) dan primer *forward CYP2A6*9*, *reverse CYP2A6*9* yang digunakan untuk mengamplifikasi SNP *CYP2A6*9*. Kondisi PCR yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pre denaturasi pada suhu 95°C (5 menit), denaturasi pada suhu 95°C (30 detik), *annealing* pada suhu sesuai hasil optimasi suhu *annealing* (15 detik) dan ekstensi pada suhu 72°C (25 detik). Siklus amplifikasi dilakukan sebanyak 35 kali dan terakhir final ekstensi pada suhu 72°C (5 menit). Kondisi optimum dari suhu *annealing* dan kadar primer akan divalidasi menggunakan parameter spesifisitas dan reproduibilitas. Variasi suhu *annealing* yang digunakan untuk optimasi yaitu, 65.9°C; 64.2°C; 61.5°C; 58.3°C; 55.7°C, sedangkan kadar primer untuk optimasi pada variasi 20 pmol, 30 pmol, dan 40 pmol. Hasil penelitian menunjukkan suhu *annealing* 55.7°C dan kadar primer 20 pmol adalah kondisi optimum metode *dPCR* untuk mengidentifikasi gen *CYP2A6*9* dan *CYP2A6*1*. Kondisi optimum metode *dPCR* dapat menghasilkan produk yang spesifik dan *reproducible* sehingga dapat digunakan untuk identifikasi SNP gen *CYP2A6*9* dengan tujuh sampel isolat DNA yang diidentifikasi bertipe heterozigot (**1/*9*).

Kata Kunci: *CYP2A6*, *CYP2A6*9*, *Duplex Polymerase Chain Reaction*, Optimasi, Validasi.

ABSTRACT

The *CYP2A6* gene is the gene that encodes the enzyme CYP2A6. In the *CYP2A6* gene, there is a polymorphism, namely *CYP2A6**9 which has a mutation in the form of an SNP in the TATABOX (T-48G). The purpose of this study was to determine the optimum condition of the Duplex-PCR method based on the parameters of annealing temperature and primary concentration. In this study, 2 pairs of primers were used, namely forward *CYP2A6**1, reverse *CYP2A6**1 which was used to amplify DNA *CYP2A6**1 (wildtype) and primer forward *CYP2A6**9, reverse *CYP2A6**9 which was used to amplify SNP *CYP2A6**9. The PCR conditions used in this study were pre-denaturation at 95°C (5 minutes), denaturation at 95°C (30 seconds), annealing at temperatures according to the results of annealing temperature optimization (15 seconds) and extension at 72°C (25 seconds). The amplification cycle was carried out 35 times and finally the final extension at 72°C (5 minutes). The optimum conditions of the annealing temperature and primary grade will be validated using reproducibility parameters. The optimum conditions of annealing temperature and primary content will be validated using specificity and reproducibility parameters. The annealing temperature variation used for optimization is 65.9°C; 64.2°C; 61.5°C; 58.3°C; 55.7°C, while the primary content for optimization in variations of 20 pmol, 30 pmol, and 40 pmol. The results showed that the annealing temperature of 55.7°C and primary levels of 20 pmol were the optimum conditions for the dPCR method to identify *CYP2A6**9 and *CYP2A6**1 genes. The optimum conditions of the dPCR method can produce specific and reproducible products so that they can be used for SNP identification of the *CYP2A6**9 gene with seven DNA isolatesamples identified as heterozygous type (*1/*9).

Keywords: *CYP2A6*, *CYP2A6**9, Duplex Polymerase Chain Reaction, Optimization, Validation.