

## ABSTRAK

Gen Lipoprotein Lipase (LPL) terletak pada kromosom 8p22 ditranslasikan menjadi enzim LPL berfungsi biokatalis hidrolisis lipoprotein. Gen ini bersifat polimorfik SNP salah satunya dapat dikenali oleh enzim restriksi HindIII yaitu pada posisi 495+ bp yaitu penggantian kode basa timin (T) menjadi guanin (G) sehingga fokus dari penelitian untuk mendeteksi *wildtype* dan *mutant* dengan desain *tetra primer*. Tujuan penelitian ini mendeteksi alel HindIII dengan kondisi optimal dari d-PCR parameter suhu *annealing*, volume isolat DNA, dan kadar primer serta memastikan kondisi optimal tersebut dapat menghasilkan produk yang reproduibel.

Optimasi suhu *annealing* dilakukan dengan suhu gradien pada *Thermo Cycler*, optimasi volume isolat DNA dilakukan dengan membuat variasi volume DNA yang berbeda-beda sebanyak 2ul, 3ul, 4ul dan 5ul. Optimasi kadar primer dilakukan dengan membuat perbandingan *wildtype* : *mutant* yaitu 20:20 pmol/ul, 20:40 pmol/ul, 20:60 pmol/ul, dan 20:80 pmol/ul. Uji reproduibilitas terhadap kondisi optimal metode d-PCR. Analisis produk PCR dilakukan secara kualitatif menggunakan teknik elektroforesis gel dan divisualisasikan melalui transiluminator UV. Kemudian, pita DNA dicocokkan dengan *DNA ladder* untuk kesesuaian produk.

Hasil optimasi menunjukkan suhu *annealing* yang sesuai untuk amplifikasi adalah 58,9°C dengan volume isolat DNA 4uL dan kadar primer FO 20pmol/uL, RI 20pmol/uL, FI 40pmol/uL, dan RO10 pmol/uL. Kondisi optimal tersebut mampu memberikan produk yang reproduibel tanpa memberikan *dimer*

Kata Kunci: lipoprotein lipase, *HindIII*, *tetra primer*, optimasi

## ABSTRACT

Lipoprotein Lipase (LPL) gene located on chromosome 8p22 is translated into LPL enzyme functioning as a biocatalyst for lipoprotein hydrolysis. This gene is polymorphic SNP, one of which can be recognized by the HindIII restriction enzyme at position 495 + bp, namely the replacement of thymine (T) base code to guanine (G) so that the focus of the research is to detect wildtype and mutant with tetra primer design. The purpose of this study is to detect HindIII alleles with optimal conditions of d-PCR parameters of annealing temperature, volume of DNA isolate, and primer levels and ensure that these optimal conditions can produce reproducible products.

Optimization of annealing temperature is done with a gradient temperature on the Thermo Cycler, optimization of the volume of DNA isolate is done by making variations in the volume of different DNA volumes as much as 2ul, 3ul, 4ul and 5ul. Optimization of primer levels was carried out by making the ratio of wildtype: mutant, namely 20:20 pmol/ul, 20:40 pmol/ul, 20:60 pmol/ul, and 20:80 pmol/ul. Reproducibility test of the optimal conditions of the d-PCR method. PCR product analysis was performed qualitatively using gel electrophoresis technique and visualized through UV transilluminator. Then, the DNA band was matched with the DNA ladder for product suitability.

The optimization results showed that the appropriate annealing temperature was 58.9°C with DNA volume of 4uL and primer levels of FO 20pmol/ uL, RI 20pmol/ uL, FI 40pmol/ uL, and RO 10pmol/ uL. These optimal conditions were able to provide reproducible products without giving any dimers in the PCR product.

Keywords: gen, lipoprotein lipase, HindIII, *tetra primer*, optimization