

ABSTRAK

Enzim lipoprotein lipase (LPL) merupakan enzim yang berperan dalam metabolisme lipid dalam tubuh manusia. Enzim ini dikode oleh gen *LPL* yang terletak pada kromosom 8p22 dan memiliki panjang sekitar 30 kb serta memiliki 10 ekson dan 9 intron. Gen *LPL* bersifat polimorfik, salah satu polimorfisme yang terjadi pada gen *LPL* adalah rs285 akibat adanya perubahan basa nitrogen C497-T pada intron ke-6. Penelitian ini bertujuan untuk memastikan bahwa desain primer spesifik terhadap gen target, mengetahui kondisi optimal metode *tetra-primer* ARMS PCR dengan parameter suhu *annealing* dan kadar primer, serta memastikan metode dapat menghasilkan produk yang reproduibel. Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental murni dengan rancangan deskriptif analitik. Sampel isolat DNA berasal dari pasien diabetes mellitus tipe 2 dengan profil lipid yang berisiko dislipidemia. Empat buah primer didesain dengan metode *tetra-primer* ARMS PCR dan spesifitasnya diuji menggunakan fitur BLAST pada *website* NCBI. Optimasi suhu *annealing* dilakukan dengan membuat gradien suhu pada alat *ThermoCycler*. Optimasi kadar primer dilakukan dengan perbandingan primer *wildtype* : *mutant*, yaitu 20 pmol/μL:20 pmol/μL; 30 pmol/μL:30 pmol/μL; 40 pmol/μL:40 pmol/μL. Setelah itu dilakukan uji reproduibilitas terhadap kondisi optimal metode PCR. Analisis produk PCR dilakukan secara kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarosa yang diamati dibawah lampu transiluminator UV. Pita DNA yang nampak dibandingkan dengan DNA *ladder* untuk memastikan kesesuaian produk dengan desain primer. Hasil menunjukkan bahwa kondisi optimum yang mampu menghasilkan produk yang spesifik dan reproduibel adalah suhu *annealing* 58,5°C dan kadar primer 20 pmol/μL:20 pmol/μL.

Kata Kunci: lipoprotein lipase, rs285, *tetra-primer* ARMS PCR, optimasi, validasi

ABSTRACT

Lipoprotein lipase (LPL) is an enzyme that plays a role in lipid metabolism in the human body. This enzyme is encoded by the LPL gene, which is located on chromosome 8p22, spans approximately 30 kb, and consists of 10 exons and 9 introns. The LPL gene is polymorphic, with rs285 being a notable variant resulting from a C497-T nucleotide substitution in the 6th intron. This study aimed to ensure that the primer design is specific to the target gene, determine the optimal conditions for annealing temperature and primer concentration using tetra-primer ARMS PCR method, and ensure the reproducibility of the method. This research is a pure experimental study with a descriptive-analytic design. DNA sample were isolated from type 2 diabetes mellitus patients with lipid profiles at risk of dyslipidemia. Four primers were designed using the tetra-primer ARMS PCR method, and their specificity was tested using the BLAST feature on the NCBI website. Annealing temperature optimization was performed with a gradient temperature on a ThermoCycler. Primer concentration optimization was conducted with wildtype to mutant primer ratios of 20 pmol/μL:20 pmol/μL; 30 pmol/μL:30 pmol/μL; 40 pmol/μL:40 pmol/μL. Subsequently, reproducibility tests were conducted under optimal PCR conditions. PCR products were analyzed qualitatively using agarose gel electrophoresis visualized under UV transillumination lamp. The observed DNA bands were compared to a DNA ladder to confirm their correspondence with the primer design. The result indicated that the optimal conditions for producing specific and reproducible products are an annealing temperature of 58,5°C and a primer concentration of 20 pmol/μL:20 pmol/μL.

Keywords: *lipoprotein lipase, rs285, tetra-primer ARMS PCR, optimization, validation.*