

# **DESAIN PRIMER UNTUK DETEKSI rs683369 *SLC22A1* PENYANDI *ORGANIC CATION TRANSPORTER 1* SEBAGAI TRANSPORTER UTAMA METFORMIN MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION***

## **INTISARI**

Metformin sebagai terapi utama dalam pengobatan diabetes melitus tipe 2 (DM2) memiliki sifat basa kuat dalam pH fisiologis tubuh dan dalam bentuk kationik >99% sehingga membutuhkan transporter untuk menembus membran sel. Transporter utama dalam distribusi metformin ke hepatosit adalah *Organic Cation Transporter 1* (OCT1). Polimorfisme rs683369 *SLC22A1* pada OCT1 diketahui mempengaruhi efek klinis terapi penggunaan metformin baik profil farmakokinetik maupun farmakodinamik, maka desain primer yang tepat penting dilakukan dalam rangka mendukung analisa genetika polimorfisme untuk memberikan pertimbangan terapi terhadap pengelolaan DM2. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh primer dan kondisi PCR yang optimal dalam mendukung analisis rs683369 serta tingkat sensitivitas kondisi PCR terhadap variasi volume dan kualitas DNA *template* berdasarkan frekuensi *freeze-thawing*. DNA diisolasi dari spesimen darah pasien DM2. Desain primer untuk rs683369 *SLC22A1* pada OCT1 dilakukan menggunakan laman *Primer-BLAST* yang kemudian dianalisis menggunakan *oligoanalyser* dan dilakukan pengecekan posisi penempelan primer dengan Primer3 untuk mendapatkan primer terbaik yang dapat mengamplifikasi target secara spesifik. Kondisi amplifikasi menggunakan PCR dioptimasi untuk menghasilkan template DNA dalam jumlah dan kualitas yang baik. Uji sensitivitas kondisi PCR terhadap perbedaan volume dan kualitas DNA *template* berdasarkan frekuensi *freeze-thawing* yang dianalisis berdasarkan visualisasi pita elektroforesis. Pasangan primer yang diperoleh (*forward* : 5'-CCT CCT CTT GCC GTG GTA TG-3' dan *reverse* : 5'- CTG CAA AGT AGC CAA CAC CG-3') mampu mengamplifikasi sekuen DNA yang memuat SNP rs683369 *SLC22A1* dengan panjang 128 bp. Kondisi PCR yang digunakan adalah 1 siklus pre-denaturasi pada suhu 94,0°C selama 120 detik, 30 siklus berurutan denaturasi pada suhu 94,0°C selama 40 detik, *annealing* pada suhu 57,4°C selama 40 detik dan *elongasi* pada suhu 72,0°C selama 60 detik serta 1 siklus post-*elongasi* pada suhu 72,0°C selama 60 detik. Uji sensitivitas menunjukkan kondisi PCR dapat digunakan untuk volume DNA *template* 0,01µL pada template yang telah dilakukan *freeze-thawing* hingga 6 siklus.

**Kata kunci :** Metformin, *Organic Cation Transporter 1*, *Polymerase Chain Reaction*, rs683369, Primer.

# PRIMER DESIGN FOR DETECTION SNP rs683369 *SLC22A1* WHICH CODING ORGANIC CATION TRANSPORTER 1 AS THE MAIN TRANSPORTER FOR METFORMIN USING POLYMERASE CHAIN REACTION

## ABSTRACT

Main therapy for Diabetic Melitus Type 2 (DM2) is usinf Metformin which is a strong base in body fisiologis pH and in cationic form >99%, so it needs a transporter to penetrate cell membran. Main transporter to distribute metformin to hepatocyte is *Organic Cation Transporter 1* (OCT1). Polymorphism SNP rs683369 *SLC22A1* in OCT1 known has a clinical effect in pharmacodynamic and pharmacokinetic profile of metformin. Hence, design an appropriate primer become an important part in genomic polymorphism analysis to give consideration therapy in management DM2. The aim of this study was to find primers, an optimal PCR condition to support analysis rs683369 and sensitivity level of an optimal PCR condition in supporting analysis rs683369 to the variation of volume and quality of template DNA based on the freeze-thawing frequency. DNA was isolated from DM2 patients. Primer was designed using website Primer-BLAST and aalyzed using website primer3 dan oligoanalyser to get the most spesific primer. Condition for DNA amplification using PCR was optimized to obtain the best quality and amount of DNA template. Then, the sensitivity level of amplification condition using PCR was obtained towards the difference volume and quality of DNA template that has been frozen and thawed many times based on electrophoresis visualization. Primer pair (forward : 5'-CCT CCT CTT GCC GTG GTA TG-3' dan reverse : 5'- CTG CAA AGT AGC CAA CAC CG-3') which is the result of this study showed that it can use to amplify 128bp of SNP rs683369 *SLC22A1*. It amplifies for 1 cycle of pre-denaturation at 94°C for 2 minutes, 30 cycles of denaturation at 94°C for 40 seconds, annealing at 57.4°C for 40 seconds and extention at 72°C for 1 minutes; and 1 cycle post-extention at 72°C for 1 minute. This condition could amplify up to 0,01µL of DNA template which has been frozen and thawed for 6 cycles.

**Keywords :** Metformin, *Organic Cation Transporter 1*, *Polymerase Chain Reaction*, rs683369, Primer.