

ABSTRAK

Judul : Optimasi *in house Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) Untuk Amplifikasi Gen BCL-2 Pada Sampel Saliva Manusia
Nama : Indra Wahyu Nufroha
Program Studi : Bioteknologi

Gen BCL-2 merupakan anggota keluarga protein Bcl-2 yang berperan dalam mengatur proses apoptosis. Namun, dapat menyebabkan penyakit berbahaya seperti kanker jika diekspresikan secara berlebihan sehingga diperlukan adanya metode yang dapat mengukur tingkat ekspresi gen BCL-2. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan kondisi RT-PCR yang optimal untuk gen BCL-2 dari sampel saliva. Sampel RNA diisolasi dari saliva yang digunakan dalam *real-time Reverse Transcriptase PCR* (RT-PCR). Metode *Two Step PCR* digunakan dalam penelitian ini, artinya produksi cDNA dan DNA dilakukan dalam tabung terpisah. Ada 3 set primer yang digunakan untuk RT-PCR ini yaitu Primer A (*Forward : GTGGATGACTGAGTACCTGAAC, Reverse : GAGACAGCCAGGAGAAATCAA*), B (*Forward : GGAGGATTGTGGCCTTCTTT, Reverse : GTTCAGGTA CT CAGTCATCCAC*), dan C (*Forward : GGATGCCTTTGTGGA ACTGTA, Reverse : CCAA ACTGAGCAGAGTCTTCAG*) yang telah dianalisis dengan software bioinformatika sebagai kandidat terbaik. Optimasi konsentrasi primer dilakukan dengan menggunakan 200-400 nM dan suhu *annealing* pada 60-65 °C. Kami menggunakan Sistem Deteksi *Bio-Rad CFX96 Connect Real-Time* dengan suhu gradien untuk pengoptimalan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa primer C (*Forward : GGATGCCTTTGTGGA ACTGTA, Reverse : CCAA ACTGAGCAGAGTCTTCAG*) merupakan primer yang paling optimal dengan suhu *annealing* 60,3°C dan konsentrasi akhir 400 nM untuk RT-PCR. Dari penelitian ini juga dapat dikatakan bahwa sampel saliva dapat digunakan dalam RT-PCR untuk gen BCL-2.

Kata Kunci : Apoptosis, Gen BCL-2, RT-PCR, RNA, Saliva