

Indonesian Journal of Innovation Studies

Vol. 15 (2021): July

DOI: 10.21070/ijins.v15i.550 . Article type: (Innovation in Health Science)

Table Of Content

Journal Cover	2
Author[s] Statement	3
Editorial Team	4
Article information	5
Check this article update (crossmark)	5
Check this article impact	5
Cite this article	5
Title page	6
Article Title	6
Author information	6
Abstract	6
Article content	7

ISSN (ONLINE) 2598-9936



INDONESIAN JOURNAL OF INNOVATION STUDIES
PUBLISHED BY
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SIDOARJO

Originality Statement

The author[s] declare that this article is their own work and to the best of their knowledge it contains no materials previously published or written by another person, or substantial proportions of material which have been accepted for the published of any other published materials, except where due acknowledgement is made in the article. Any contribution made to the research by others, with whom author[s] have work, is explicitly acknowledged in the article.

Conflict of Interest Statement

The author[s] declare that this article was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright Statement

Copyright © Author(s). This article is published under the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) licence. Anyone may reproduce, distribute, translate and create derivative works of this article (for both commercial and non-commercial purposes), subject to full attribution to the original publication and authors. The full terms of this licence may be seen at <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode>

EDITORIAL TEAM

Editor in Chief

Dr. Hindarto, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Managing Editor

Mochammad Tanzil Multazam, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Editors

Fika Megawati, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Mahardika Darmawan Kusuma Wardana, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Wiwit Wahyu Wijayanti, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Farkhod Abdurakhmonov, Silk Road International Tourism University, Uzbekistan

Bobur Sobirov, Samarkand Institute of Economics and Service, Uzbekistan

Evi Rinata, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

M Faisal Amir, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Dr. Hana Catur Wahyuni, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

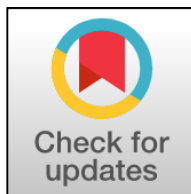
Complete list of editorial team ([link](#))

Complete list of indexing services for this journal ([link](#))

How to submit to this journal ([link](#))

Article information

Check this article update (crossmark)



Check this article impact (*)



Save this article to Mendeley



(*) Time for indexing process is various, depends on indexing database platform

Identification of Genes in Positive Alleles Marking Type II Diabetes Mellitus Using Primer D20

Identifikasi Gen pada Alel Positif Penanda Diabetes Mellitus Tipe II Menggunakan Primer D20

Erina Wahyu Kartikasari, erinawahyuk88@gmail.com, (0)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Miftahul Mushlih, mif.muslih@umsida.ac.id, (1)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

⁽¹⁾ Corresponding author

Abstract

Diabetes Mellitus is a metabolic disorder disease characterized by an increase in blood glucose due to insulin resistance (impaired insulin function) and or a decrease in insulin secretion. Genetically, Type 2 Diabetes Mellitus is influenced by genes that affect glucose metabolism in the body. The purpose of this study was to identify the genes involved in type 2 diabetes mellitus patients who were amplified using D20 primers. The method used in this research is descriptive experimental using 2 whole blood samples and 8 samples collected from DNA isolation in the Molecular Biology Laboratory of Type 2 Diabetes Mellitus patients. The results of the research based on the BLAST program obtained matched gene sequences from the sequenced leucine rich repeats gene. and guanylate kinase domain containing (LRGUK). The LRGUK gene is thought to be associated with Type 2 Diabetes Mellitus because the presence of SNP (Single Nucleotide Polymorphism) in the area around the LRGUK gene (7q32) shows a significant relationship with fasting blood glucose.

Published date: 2021-07-31 00:00:00

Pendahuluan

Diabetes Melitus merupakan penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan kenaikan glukosa darah akibat resistensi insulin dan atau penurunan sekresi insulin yang dihasilkan oleh sel beta pankreas[1]. Diabetes Melitus tipe 2 disebabkan penggunaan insulin dalam tubuh yang kurang efektif[2]. Secara genetik, Diabetes Melitus tipe 2 dipengaruhi oleh interaksi kompleks beberapa gen pengatur metabolisme energi di dalam tubuh. Selain disebabkan oleh faktor genetik, Diabetes Melitus tipe 2 juga disebabkan karena faktor lain seperti kebiasaan makan makanan yang tidak sehat, asupan nutrisi yang berlebih, obesitas, dan aktivitas fisik yang kurang[3].

Dari penelitian Zahid (2011), dilakukan analisa dengan PCR-RAPD untuk menentukan penanda Diabetes Melitus tipe 2. Dari hasil analisa ini diketahui primer A18 dan D20 menghasilkan jumlah band terbanyak dan kekuatan diskriminatif yang tinggi, yakni sebesar 25%. Berdasarkan penelitian Sari (2020) yang membedakan antara penderita Diabetes Melitus tipe II dengan kontrol berdasarkan primer A18 & D20 menggunakan metode PCR-RAPD, penanda Diabetes Mellitus tipe II dengan primer D20 terdapat pada panjang band 576 bp. Band tersebut dapat dikonfirmasi dengan menerjemahkan urutan basa nukleotida pada panjang band tersebut.

Penerjemahan urutan basa nukleotida dilakukan dengan metode sekuensing DNA. Sekuensing merupakan pengurutan pita DNA dengan menentukan urutan basa nukleotida pada suatu molekul DNA[4].

Metode Penelitian

Peneliti telah melakukan uji kelayakan etik melalui Komisi Etik Fakultas Ilmu Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dengan nomor sertifikat 218/HRECC.FODM/V/2021. Penelitian ini menggunakan desain penelitian deskriptif eksploratif. Populasi dari penelitian ini adalah pasien penderita Diabetes Melitus tipe 2 di Kabupaten Sidoarjo dan diambil sampel penelitian yakni sampel darah *whole blood* dari 2 orang pasien penderita Diabetes Melitus tipe 2 dan 8 sampel koleksi isolasi DNA di Laboratorium Biologi Molekuler di Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Sampel dipilih dengan teknik *purposive sampling*, dalam hal ini adalah pasien penderita Diabetes Melitus tipe 2 di Kabupaten Sidoarjo yang dibuktikan dengan surat diagnosa dokter serta bersedia menjadi subjek penelitian, dan hasil isolasi DNA dengan penanda molekuler pada panjang *band* 576 bp. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Sidoarjo pada bulan Mei 2021.

Hasil dan Pembahasan

Hasil isolasi DNA dari seluruh sampel diperoleh konsentrasi DNA yang berkisar antara 173,006 – 322,216 mg/µl, serta kemurnian DNA yang berkisar antara 1,507 – 1,699. Menurut Ayuningrum (2012) dan Nugroho (2017), dilihat berdasarkan konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dikatakan cukup untuk dilakukan proses selanjutnya, yakni PCR[5].

Pada tahap PCR, DNA diamplifikasi untuk memperbanyak jumlah DNA dengan menggunakan primer D20. Tahapan PCR meliputi tahap denaturasi, annealing, dan extension[6]. Pada tahap annealing digunakan suhu rendah, yakni pada 36°C, untuk mengoptimasi penempelan primer. Setelah tahap penggandaan DNA, DNA hasil PCR dielektroforesis untuk mengetahui panjang band yang ditunjukkan pada penelitian sebelumnya, yakni 576 bp.

Gambar 1. Visualisasi elektroforesis DNA hasil PCR pada sampel E1 dan E2

Gambar 2. Visualisasi elektroforesis DNA hasil PCR pada sampel F3 sampai 8A

Sampel DNA hasil PCR selanjutnya di sekuensing untuk mengetahui urutan basa nukleotida. Kualitas DNA dapat dilihat berdasarkan *peak trace* penanda masing-masing nukleotida. Hasil sekuensing yang baik ditandai dengan puncak (*peak trace*) yang sangat tinggi dan terpisah satu dengan yang lain. Sedangkan hasil sekuensing yang kurang baik ditandai dengan *peak trace* yang landai dan bergerombol (tidak terpisah satu dengan yang lain)[7].

Gambar 3. *Peak trace* hasil sekuensing pada sampel E2

Berdasarkan kromatogram hasil sekuensing pada sampel E2, *peak trace* penanda basa nukleotida terlihat cukup bagus ditandai dengan puncak yang tinggi. Sehingga sekuens DNA dari sampel E2 dapat digunakan untuk proses selanjutnya yakni analisa hasil sekuensing dengan mengidentifikasi gen menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*). Urutan basa nukleotida diedit dan diubah menjadi format FASTA untuk kemudian digunakan dalam melakukan pencocokkan gen.

Dengan menggunakan *database homo sapiens (human)* dan memasukkan seluruh urutan basa nukleotida dalam format FASTA dari sampel E2, ditemukan satu gen yang cocok dan terletak pada kromosom 7. Berdasarkan pedoman NCBI BLAST *information* oleh Madden (2013) yang dikutip oleh Gaffar & Sumarlin (2020), kesesuaian sekuens sampel diperhatikan berdasarkan 3 aspek, yakni *Query cover (coverage)*, *E value (expected)*, dan *Per ident*

(identity).

Gambar 4. Hasil pencarian pencocokan sekuens dengan database

Sekuens dikatakan mirip dengan *database* pada *GenBank* apabila nilai *Query cover* mendekati 100%, nilai *E value* mendekati 0, dan presentase *Per ident* mendekati 100% pada setiap *database*. *Query cover* menunjukkan panjang nukleotida yang selaras dengan data pada *GenBank*. Presentase *Per ident* menunjukkan tingkat kecocokan sekuens dengan data pada *GenBank*. Dan *E value* menunjukkan tingkat signifikan peninjauan, semakin rendah *E value* maka semakin signifikan sekuens yang cocok[8].

Berdasarkan gambar 4. dapat diketahui bahwa dari hasil pencarian kecocokan sekuens mempunyai nilai keseluruhan (*total score*) sebesar 69,8. Semakin tinggi *score* maka kecocokan *query* dengan *database* semakin tinggi [9]. *Query cover* yang didapat dari pencocokan gen tersebut sebesar 11% dan presentase *Per ident* menunjukkan hasil yang cukup tinggi yakni 84,13%.

Berdasarkan hasil pencocokkan, diketahui gen yang teridentifikasi tersebut terletak pada kromosom 7, dengan nama *leucine rich repeats and guanylate kinase domain containing* (LRGUK).

Hubungan Gen LRGUK dengan Diabetes Melitus tipe 2

Diabetes Melitus tipe 2 yang disebabkan oleh faktor genetik dipengaruhi oleh gen penyandi DMT2 yang mengalami mutasi. Terdapat banyak gen penyebab Diabetes Melitus tipe 2, seperti gen TCF7L2 yang berpengaruh dalam sekresi insulin, ABCC8 yang berperan dalam membantu regulasi insulin, CAPN10 yang berpengaruh dengan kejadian Diabetes Melitus tipe 2 di Amerika dan Meksiko, dan GCGR bersama dengan hormon glukagon berperan dalam regulasi glukosa[10].

Leucine rich repeats and guanylate kinase domain containing (LRGUK) memiliki nama lain gen CFAP246. Terdapat pada kromosom 7q33 dan terdiri dari 26 ekson. Gen LRGUK belum diketahui fungsinya[11]. Gen ini banyak terekspresi pada banyak jaringan, seperti testis, paru-paru, tiroid, dan lain sebagainya. Dari Yazbek (2011), LRGUK tidak terdeteksi di pankreas dan ditemukan dengan tingkat yang rendah pada jaringan lain. Gen LRGUK banyak terekspresi di testis.

Mengacu pada jurnal oleh Laramie (2008) dari *BioMed Central*, analisa mengenai delesi pada kromosom 7q32 yang menunjukkan keterkaitan dengan obesitas dan sindrom metabolik. Penelitian tersebut juga bertujuan menganalisis beberapa SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) pada daerah sekitar gen LRGUK (7q32) yang menunjukkan hubungan yang signifikan dengan glukosa darah puasa. Wilayah yang terjadi delesi dan polimorfisme ini terletak diantara gen EXOC4 dan LRGUK. Berdasarkan studi tersebut, adanya delesi kromosom 7q32 dapat mencegah risiko terjadinya diabetes, dikarenakan delesi kromosom ini risiko diabetes menjadi 53% lebih rendah. LRGUK mungkin berkorelasi dengan adanya mutasi pada gen TCF7L2 yang merupakan salah satu gen penyebab Diabetes Melitus tipe 2[12].

Dalam transkripsi protein pada TCF7L2 terjadi polimorfisme sehingga terekspresi menjadi Diabetes Melitus tipe 2, maka dapat timbul kemungkinan dalam proses transkripsi protein pada LRGUK terjadi polimorfisme yang berhubungan dengan kadar glukosa darah puasa, sehingga gen LRGUK dapat dikaitkan dengan Diabetes Melitus tipe 2.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, hasil sekuensing dari sampel E2 dengan primer D20 pada panjang band 576 bp menunjukkan gen LRGUK (*Leucine rich repeats and guanylate kinase domain containing*). Gen ini diduga memiliki keterkaitan kuat terhadap Diabetes Melitus tipe 2 setelah dilakukan riset pada penelitian mengenai gen tersebut, yang menunjukkan adanya hubungan antara polimorfisme di daerah sekitar gen LRGUK dengan Diabetes Melitus tipe 2.

References

1. Fatimah, R. N. (2015). Diabetes Melitus Tipe 2. *J Majority*, 4(5), 93-101. Retrieved from <https://jke.kedokteran.unila.ac.id/>
2. Kementerian Kesehatan Indonesia. (2014). Situasi dan Analisis Diabetes. Retrieved from <https://pusdatin.kemkes.go.id.go.id>
3. Kurniawaty, E. & Bella Y. (2016). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diabetes Melitus tipe II. *Medical Journal of Lampung University* 5(2), 27-31. Retrieved from <https://jke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/1073>
4. Tasma, I M. (2015). Pemanfaatan Teknologi Sekuensing Genom Untuk Mempercepat Program Pemuliaan Tanaman. *J. Litbang Pert.*, 34(4), 159-168. <https://dx.doi.org/10.21082/jp3.v3n4.2015.p159-168>

5. Ayuningrum, P. I., Eddy A. & Yuniar M. (2012). Keragaman Genetik Rumput Laut *Eucheuma* spp. Dari Sukabumi, Jawa Barat Berdasarkan Metode RAPD PCR. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 3(4), 337-345. Retrieved from <http://jurnal.unpad.ac.id/jpk/article/view/2578/0>
6. Nugroho, K., Rerenstradika T. T., & Puji L. (2017). Metode Ekstraksi DNA Cabai (*Capsicum annum* L.) Menggunakan Modifikasi Buffer CTAB (Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide) Tanpa Nitrogen Cair. *Scripta Biologica*, 4(2), 91-94. <https://doi.org/10.20884/1.sb.2017.4.2.423>
7. Bangol, I., Lidya I. M., & Maureen K. (2014). Barcode DNA Tumbuhan Pangli (*Pangium edule* R.) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA Unsrat Online*, 3(2), 113-119. <https://doi.org/10.35799/jm.3.2.2014.5862>
8. Gaffar, S. & Sumarlin. (2020). Analisis Sekuens mtDNA COI Pari Total Biru yang Didaratkan di Tempat Pendaratan Ikan Kota Tarakan. *Jurnal Harpodon Borneo*, 13(2), 80-89. Retrieved from <http://jurnal.borneo.ac.id/index.php/harpodon/article/view/1835>
9. Iknan, S. A. (2020). Studi Kasus; Analisis Mutasi Gen TCF7L2 (Transcription Factor 7 Like 2) pada Keluarga Penderita Diabetes Melitus tipe 2 di Kecamatan Tanggulangin, Kabupaten Sidoarjo. (Undergraduate's thesis). Universitas Muhammadiyah Sidoarjo
10. Santosa, A., Puput A. T., & Endiyono. (2017). Hubungan Riwayat Garis Keturunan Dengan Usia Terdiagnosis Diabetes Melitus Tipe II. Proceeding: The 6th University Research Colloquium 2017: Seri MIPA dan Kesehatan. Retrieved from <https://journal.unimma.ac.id/index.php/urecol/article/view/849>
11. Yazbek, S. N., David A. B., Jonathan M. G., Lindsay C. B., Sabrina H. S., Gabriel E. Z., Joseph H. N. (2011). Deep congenic analysis identifies many strong, context-dependet QTLs, one of which, *Slc35b4*, regulates obesity and glucose homeostatis. Cold Spring Harbor Laboratory Press No. 21, 1065-1073. <https://doi.org/10.1101/gr.120741.111>
12. Laramie, J. M., Jemma B. W., Sally L. W., Michael W. N., Jeanne C. L., Jennifer E. T., Richard H. M. (2008). Polymorphisms near EXOC4 and LRGUK on Chromosome 7q32 are Associated with Type 2 Diabetes and Fasting Glucose; The NHLBI Family Heart Study. *BMC Medical Genetics*, 9(46). <https://doi.org/10.1186/1471-2350/9/46>