

1. Cover Proseding



BUKU 4

BIOLOGI I
(Sains, Integrasi dan Pendidikan)

Diterbitkan oleh: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor



ISBN 978-602-70491-0-8

2. PANITIA PELAKSANA

ISBN : 978-602-70491-0-9

PROSIDING

Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA 2014

"Integrasi Sains MIPA untuk Mengatasi Masalah Pangan, Energi, Kesehatan, Lingkungan, dan Reklamasi"

Diterbitkan Oleh



**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor**

3. PANITIA PENGARAH DAN EDITOR

Editor dan Reviewer

PROSIDING

Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang MIPA 2014

Direktor Editor

- Drs. Ali Kusnanto, MSI,
- Dr. Heru Sutono
- Dr. Wisnu Ananta Kusuma
- Dr. Imas Sukaesih Sitanggang
- Auzi Asfaran, M.Kom
- Wulandari, S.Komp
- Dean Apriana Ramadhan, S.Komp

Editor Utama

- Dr. Rika Raffudin
- Dr. Ence Darmo Jaya Supena
- Dr. Ujut Widyastuti
- Prof. Dr. Prawartiningih
- Dr. Tony Ibnu Sumaryada
- Dr. Imas Sukaesih Sitanggang
- Dr. Wisnu Ananta Kusuma
- Dr. Irh. Sulistyani, MSc.
- Dr. Indahwati
- Dr. Sobri Efendi
- Drs. Ali Kusnanto, MS

Editor Pembantu

- Fikar & Alif

Reviewer

- Dr. Rika Raffudin
- Prof. Dr. Ir. Alex Hartana
- Dr. Ir. Taik Chikmawati, M.Si
- Prof. Dr. Anis Tri Wahyudi, M.Si
- Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, MS
- Dr. Ir. Nampiah
- Dr. Ir. Achmad Farajallah, M.Si
- Dr. Ir. RR Lyah Perwitasari, M.Sc
- Dr. Sulistjoni, M.Si
- Dr. Ir. Rita Megia
- Prof. Dr. Okky Setiawati
- Dr. Ujut Widyastuti
- Dr. Ence Darmo Jaya Supena

4. DAFTAR ISI

Daftar Isi	Halaman
Editor dan Reviewer.....	vii
Daftar Isi.....	ix
INTEGRASI.....	13
LIMA GALUR KACANG HIJAU POTENSIAL HASIL MUTASI KOLKISIN.....	
Herman, Efrida Oktavia, Dewi Indriyani Roslim.....	14
BIODIVERSITAS TUMBUHAN DI CAGAR ALAM MOROWALI SULAWESI TENGAH INDONESIA.....	
Ramadhani Pitopang dan Muhammad Ihsan Nur Mallo.....	19
UII VIABILITAS KAPANG DARI INOKULUM PROBIOTIK UNTUK PAKAN TERNAK PADA BERBAGAI JENIS KEMASAN.....	
Nurul Maulida dan Sumard.....	25
EKSTRAKSI LINAMARIN DAN LINAMARASE DARI UBI KAYU (<i>MAMBOGT ESCULENTA CRANTZ</i>) UNTUK PENGEMBANGAN SISTEM DETEKSI SENYAWA SIANOGEN.....	
Rini Riffani.....	39
ISOLASI DAN KARAKTERISASI GEN-GEN ANALOG RESISTEN PADA TANAMAN KAKAO (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	
Surti Kurniasih, Sudarsono, Asep Setiawati, Agus Purwanegara, Hugo Volkaert.....	47
KONSTRUKSI PRIMER UNTUK DETEKSI SNP RS7895340 PADA GEN TCF7L2 PENYEBAB DIABETES MELITUS TIPE-2 DENGAN METODE ARMS-PCR.....	
Syamsurizal, Yanwirasti, Asman Manaf, Husni Kadri dan Jamsari.....	57
HASIL UMBI DARI UBI KAYU (<i>Manihot esculenta Crantz</i>) GEOTIPE MELNTEGA.....	
Dewi Indriyani Roslim, Robni Yenti, Herman.....	66
PRODUKSI BIOGAS DARI SFDIMFN DANAU SITU LERAKWANGI DALAM SKALA LABORATORIUM.....	
Arif Raditya Nugraha, Megga Ratnasari Pikuli dan Irwan Sugoro.....	70
PENGARUH PEMBERIAN BIOKONTROL TERHADAP TINGKAT INFESI KAPANG PATOGEN FOC DAN KLANEKARAGAMAN MIKROORGANISME PERAKARAN DI PERKERIHAN PISANE CUGEMANG, CIANJUR.....	
Nur Faiz, Dwi Agusriyani, Sarjiya Antonius.....	78
ANALISIS FLOGENETIK SPESIES-SPEKIES <i>RADOPHOLUS</i> (NEMATODA: RADOPHOLIDAE) MENGGUNAKAN DATA MORFOLOGI.....	
Abdul Gafur.....	88
ISOLASI DAN DETEKSI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN AZOTOBACTER SP.....	

KONSTRUKSI PRIMER UNTUK DETEKSI SNP RS7895340 PADA GEN TCF7L2 PENYEBAB DIABETES MELITUS TIPE-2 DENGAN METODE ARMS – PCR

Syamsurizal^{1*}, Yanwirasti², Asman Manaf², Husnil Kadri² dan Jamsari²
Universitas Negeri Padang, Padang¹
email: syam_unp@yahoo.co.id
Universitas Andalas, Padang²

CONSTRUCTION PRIMER FOR RS7895340 SNP DETECTION IN TCF7L2 GENE CAUSES OF TYPE-2 DIABETES MELLITUS WITH ARMS-PCR METHODE

Syamsurizal¹, Yanwirasti², Asman Manaf², Husnil Kadri² dan Jamsari²
Universitas Negeri Padang, Padang¹
email: syam_unp@yahoo.co.id
Universitas Andalas, Padang²

ABSTRACT

TCF7L2 gene is one of the genes that cause type-2 diabetes mellitus (T2DM). The purpose of the research are: 1. The primary construct for the gene variant rs7895340 TCF7L; 2. Knowing polymorphism ability to detect primary gene TCF7L2 rs7895340 variant. The research method used was a cross-sectional study, the main steps: DNA isolation, primer design for gene TCF7L2 use primary software designer, amplification of the gene TCF7L2 rs7895340 variant with ARMS-PCR method, and the method then direct DNA sequencing bioinformatics analysis. Based on the analysis of data it can be concluded that it has successfully constructed three primary i.e. RS78F forward primer, reverse primer and primer forward RS78R RS78C. The third primary is constructed able to recognize the SNP rs7895340 TCF7L2 gene by ARMS-PCR method.

Keywords: snp rs7895340, gen TCF7L2 and ARMS-PCR

ABSTRAK

Gen TCF7L2 merupakan salah satu gen penyebab Diabetes Melitus Tipe-2 (DMT2). Tujuan riset adalah: 1. Mengkonstruksi primer untuk varian rs7895340 pada gen TCF7L; 2. Mengetahui kemampuan primer mendeteksi polimorfisme gen TCF7L2 varian rs7895340. Metode penelitian yang dipakai adalah cross sectional study, dengan langkah utama: isolasi DNA, disain primer untuk gen TCF7L2 menggunakan perangkat lunak primer designer, amplifikasi varian rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR, dan metode direct DNA sequencing kemudian analisis bioinformatika. Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dikonstruksi tiga buah primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Ketiga primer yang dikonstruksi mampu mengenali SNP rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR

Kata kunci: snp rs7895340, gen TCF7L2 dan ARMS-PCR

1. PENDAHULUAN

Penderita diabetes melitus di dunia setiap tahun mengalami peningkatan, termasuk di Indonesia maupun Sumatera Barat. Prevalensi diabetes melitus di dunia tahun 2000 sebesar 2,8% (171 juta orang) dan proyeksi pada tahun 2030 sebanyak 4,4% (366 juta orang). Estimasi jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia tahun 2000 sebesar 4,1% (8,4 juta dari 205.132.000 orang penduduk Indonesia). Proyeksi pada tahun 2030 jumlah kasus diabetes melitus di Indonesia akan meningkat mencapai 7,8% (21,3 juta dari 273.219.200 orang). Estimasi jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia menempati posisi keempat terbanyak setelah India, Cina dan Amerika (1,2,3).

Secara klinis diabetes melitus dibedakan menjadi empat tipe, yaitu tipe I, II, Gestasional dan tipe lain. Diabetes melitus tipe-2 merupakan jenis yang paling sering ditemukan 95% (4). Diabetes melitus tipe-2 terjadi karena hormon insulin yang ada dalam darah tidak bekerja secara efektif, meskipun jumlah insulin yang diproduksi sel beta pulau Langerhans pankreas normal. Glukosa yang masuk ke dalam sel berkurang sehingga sel kekurangan sumber energi sehingga glukosa darah meningkat.

Diabetes melitus tipe-2 dipengaruhi beberapa faktor sebagai berikut: riwayat diabetes dalam keluarga, obese, gaya hidup yang berisiko, kurang istirahat, dan stres (5,6). Diabetes melitus tipe-2 akan muncul pada seseorang penyandang cacat genetik setelah melalui perubahan genetik dalam waktu yang panjang. Percepatan maupun perlambatan proses perubahan genetik tersebut sangat tergantung pada faktor lingkungan yang mempengaruhinya. Andaikata faktor genetik tidak berkembang kearah perburukan karena faktor lingkungan, maka secara teoritis diabetes melitus tipe-2 tidak akan muncul ke permukaan. Abnormalitas atau kelainan genetik pada tahap awal tanpa gejala apa-apa sehingga secara klinis sulit untuk dikenali (7). Penanda genetik yang berkembang kearah perburukan namun belum menyebabkan toleransi gula terganggu (TGT) dapat diketahui melalui analisis DNA. Untuk melakukan analisis DNA diperlukan data genetik berupa gen-gen yang berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2. Beberapa suku bangsa di dunia sudah memiliki gen bank untuk diabetes melitus tipe-2 seperti Kaukasus, Denmark, USA, Inggris, Prancis dan India (8)

Melalui analisis gen, penyandang cacat genetik calon penderita diabetes melitus tipe-2 dapat didiagnosis lebih cepat dan tepat. Banyak orang yang tidak menyadari bahwa mereka sedang menderita diabetes melitus. Pasien yang didiagnosa diabetes melitus tipe-2 sebenarnya telah dijangkiti penyakit ini sejak 8-12 tahun yang

lalu. Diagnosis pada penderita diabetes melitus tipe-2 sering terlambat, sehingga sebagian besar dari mereka telah mengalami komplikasi yang serius. Diantara gen-gen yang berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2 adalah gen “transcription factor 7 like 2 (TCF7L2)” pada kromosom 10q. Gen TCF7L2 berasosiasi kuat dengan diabetes melitus tipe-2 pada etnik Denmark, Kaukasia, India, dan etnik pada bangsa-bangsa di Asia (8). Varian gen TCF7L2 dapat dijadikan calon penanda genetik pada etnik Minangkabau penderita diabetes melitus tipe-2.

Salah satu kejutan baru yang ditemukan dalam *Human Genome Project* adalah *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). SNPs merupakan alel minor dengan keberadaannya lebih dari 1%. Apabila SNPs terjadi pada *gene coding regions* bisa mengakibatkan *synonymous* (tidak menyebabkan perubahan asam amino) atau *nonsynonymous*. Akan tetapi pada penelitian beberapa tahun terakhir SNP *synonymous* mendorong terjadinya evolusi yang mendorong terjadinya suatu penyakit (9). SNP *synonymous* dapat mengubah struktur, fungsi, ekspresi protein. Polimorfisme *synonymous* dapat menyebabkan splicing RNA, stabilitas dan struktur protein dapat rusak. Perubahan ini dapat menyebabkan efek signifikan pada fungsi protein, perubahan respon seluler. *Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) merupakan variasi sekuen DNA yang dapat dihubungkan dengan kerentanan seseorang terhadap suatu penyakit seperti diabetes mellitus tipe-2. Sebagian besar SNPs merupakan non coding region yang merupakan dasar variasi genetik pada manusia dan mengacu pada perbedaan basa tunggal antar individu (10).

Penanda atau haplotype yang tepat akan dapat memberikan indikasi meningkatnya kerentanan individu terhadap diabetes melitus tipe-2. Perwujudan peningkatan kerentanan dicirikan oleh risiko relatif minimal 1,2-1,4. Varian gen TCF7L2 yang diduga paling kuat berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2 adalah varian rs7895340. sekuen rs 7895340 adalah:

ACAGTTCTAGACACCTAGAGAGTAAA[A/G]TGAAGAAGCCTGTTTTTCAGGTTTCC

(11). Kehadiran G alel dalam rs7895340 adalah indikasi meningkatnya kerentanan terhadap diabetes melitus tipe-2 (12,13).

Tujuan riset adalah untuk pengembangan sistem deteksi dini DM tipe-2 secara molekuler yang cepat, akurat sehingga dapat membantu pencegahan ataupun pengobatan DM tipe-2 pada etnik Minangkabau. Target khusus riset adalah: mengkonstruksi primer untuk snp rs7895340 pada gen TCF7L2. Mengetahui kemampuan primer mendeteksi polimorfisme gen TCF7L2 varian rs7895340.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini mendeskripsikan hasil konstruksi primer dan konfirmasi kemampuan primer mengamplifikasi daerah snp rs7895340 pada gen TCF7L2. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biomedik FK Unand.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin thermocycler (*Polymerase Chain Reaction*), elektroforesis, gel doc, gel red, DNA ladder 100bp, kit isolasi DNA dan Mix PCR RTG dari invitrogen.

Dalam penelitian ini DNA yang digunakan berasal dari darah vena ~~tepi?~~ manusia. Isolat-isolat ini diperlukan untuk menguji apakah primer yang dikonstruksi dapat bekerja mengamplifikasi fragmen DNA yang diinginkan. Data dianalisis secara kualitatif, data yang dianalisis adalah hasil konstruksi primer dan kemampuan primer mengamplifikasi daerah snp rs7895340 pada gen TCF7L2.

Konstruksi Primer

Primer yang akan digunakan untuk mendeteksi SNP rs7895340 dari gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR dikonstruksi menggunakan piranti lunak komputer "primer designer". Akan dihasilkan tiga buah hasil konstruksi primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Primer RS78F, primer reverse RS78R digunakan untuk mengamplifikasi DNA yang mencakup daerah ± 431 bp (selanjutnya disebut primer eksternal). Primer RS78C dan RS78R dipakai untuk mengamplifikasi fragmen berukuran ± 209 bp, daerah yang meliputi SNP rs7895340 (disebut primer internal). Sekuen gen TCF7L2 yang akan digunakan untuk konstruksi primer ini diperoleh dari *gen bank* NCBI.

Konfirmasi dilakukan menggunakan *software* untuk melihat adanya kemungkinan *mispriming* primer dengan daerah-daerah lain pada gen TCF7L2 selain daerah yang akan diamplifikasi. Jika tidak ditemukan kemungkinan adanya *mispriming* maka selanjutnya hasil konstruksi primer siap untuk disintesis menjadi oligonukleotida primer. Kemampuan primer mengamplifikasi daerah yang diinginkan dilakukan dengan urutan kegiatan sebagai berikut : Isolasi DNA menggunakan kit dari Invitrogen. Selanjutnya hasil isolasi DNA di elektroforesis.

Amplifikasi dengan metode ARMS-PCR. DNA yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya diamplifikasi dengan menggunakan primer yang dikonstruksi dengan mix PCR RTG. Untuk mengetahui hasil amplifikasi, dilakukan elektroforesis pada gel agarose 1,5 %. Langkah-langkah yang akan dilakukan selama penelitian:

1. Isolasi DNA dari sampel
2. Disain primer untuk snp rs7895340 gen TCF7L2 menggunakan perangkat lunak primer designer.

3. Amplifikasi snp rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode touch-PCR
4. Analisis ARMS-PCR dan sequencing untuk analisis situs polimorfik.
5. Analisis bioinformatika.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu hal yang sangat penting dalam reaksi PCR ialah konstruksi atau pemilihan primer DNA yang tepat. Primer bertanggung jawab untuk mengenali dan menandai segmen DNA *template* yang akan diamplifikasi. Pada penelitian ini dihasilkan tiga buah primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Primer RS78F, primer reverse RS78R digunakan untuk mengamplifikasi DNA yang mencakup daerah ± 431 bp (selanjutnya disebut primer eksternal). Primer RS78C dan RS78R dipakai untuk mengamplifikasi fragmen berukuran dan ± 209 bp, untuk lebih jelas lihat tabel 1 dan 2.

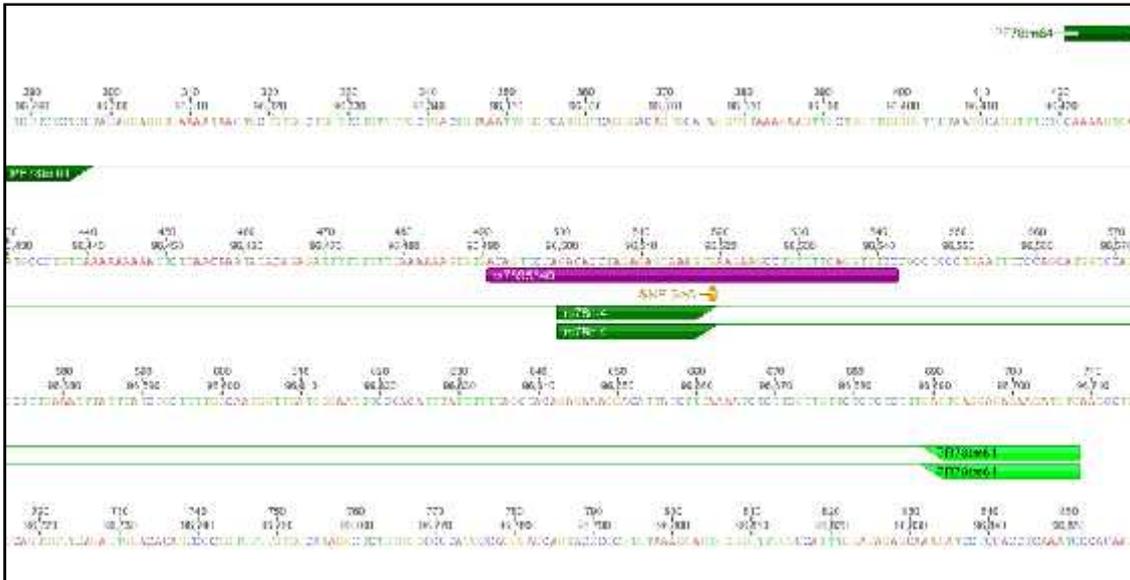
Tabel 1. HasilrekonstruksiprimerRS78C untuk snp rs7895340 gen TCF7L2

Sequence: 5'-GAGACCTAGAGAGTGAAGTG-3'			
Kriteria	Pengaturankriteria	Hasil	Ket
%GC	Min 50, Max 60	50	YES
TmC	Min 55, Max 80	58	YES
NoHairpins	Energycutoff0.0kcal	-	YES
No3'Dimers	Reject>=3matchespadaujung3'	1	YES
NoDimers	Reject>=7batasanhomolbasa	4	YES
NoRuns	Reject>=3basaruns	2	YES
No3'GCruns	Reject>=3G atauCpadaujung3'	1	YES

Tabel 2. HasilkonstruksiprimerRS78FdanRS78R untuk snp rs7895340 gen TCF7L2

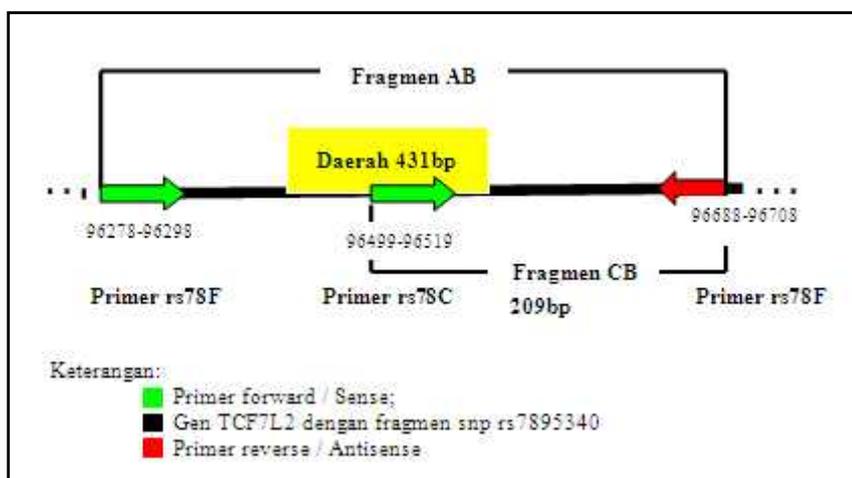
Sequence: 5'-CCTTGTGATGTCTTCTCTCC-3'				
	Kriteria	Pengaturankriteria	Hasil	Ket
Primer RS78F	%GC	Min 50, Max 60	50	YES
	TmC	Min 55, Max 80	64	YES
	NoHairpins	Energycutoff0.0kcal	-	YES
	No3'Dimers	Reject>=3matchespadaujung3'	1	YES
	NoDimers	Reject>=7batasanhomolbasa	2	YES
	NoRuns	Reject>=3basaruns	2	YES
	No3'GCruns	Reject>=3G atauCpadaujung3'	2	YES
Sequence: 5'-ACATCTTCTCTCCTCACTC-3' (Complementarystrand)				
	Kriteria	Pengaturankriteria	Hasil	Ket
Primer RS78R	%GC	Min 50, Max 60	50	YES
	TmC	Min 55, Max 80	61	YES
	NoHairpins	Energycutoff0.0kcal	-	YES
	No3'Dimers	Reject>=3matchespadaujung3'	0	YES
	NoDimers	Reject>=7batasanhomolbasa	2	YES
	NoRuns	Reject>=3basaruns	2	YES
	No3'GCruns	Reject>=3G atauCpadaujung3'	1	YES

Spesifisitas konstruksi primer yang dibuat selanjutnya dikonfirmasi dengan *software*. Hal ini dilakukan untuk menghindari kemungkinan *mispriming* primer dengan daerah lain pada gen TCF7L2 selain snp rs7895340 gen TCF7L2 yang akan diamplifikasi. Hasil alignment primer dengan DNA snp rs7895340 gen TCF7L2 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil *alignment* primer dengan fragmen snp rs7895340 Gen TCF7L2

Dari gambar 1 bisa dilihat bahwa posisi penempelan primer RS78C berada sequence 103894 dari DNA TCF7L2. Penempelan primer pada posisi tersebut sesuai dengan yang diprediksi sebelumnya bahwa primer internal RS78C akan mengenali daerah yang mengalami SNP. Secara teoritis *annealing* primer RS78C akan dimulai dari posisi 96520 serta tidak ditemukan adanya kemungkinan *mispriming*. Posisi penempelan primer dan besarnya pita/fragmen DNA yang terbentuk secara relatif dapat dilihat pada gambar2.



Gambar 2. Posisi penempelan primer dan besarnya pita/fragmen DNA yang terbentuk

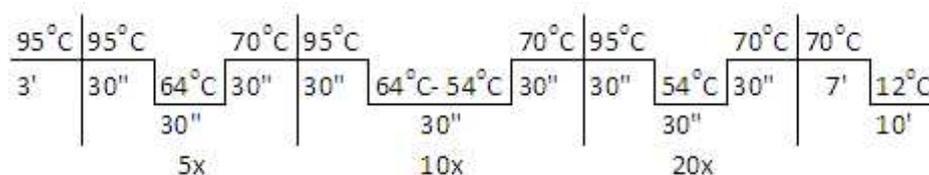
Untuk mengetahui kemampuan primer yang dikonstruksi dalam mendeteksi SNP rs7895340 gen TCF7L2, maka dilakukan pengujian dengan PCR. Prinsip PCR adalah melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara invitro. Agar dapat mengenali sekuen yang akan dilipatgandakan dibutuhkan suatu primer yang khusus dan spesifik. Daerah yang dikenal primer inilah yang nantinya akan dilipatgandakan hingga ribuan bahkan jutaan kopi, sekitar $10^6 - 10^7$ kali (14) sehingga setelah dielektroforesis akan terlihat pita DNA yang diamplifikasi tersebut.

Tahap awal konfirmasi primer dilakukan secara terpisah sesuai dengan kondisi masing-masing pasangan primer. Faktor yang harus diperhatikan dalam mendapatkan hasil yang optimum dalam PCR adalah jumlah/konsentrasi mix yang digunakan. Masing-masing komponen tersebut memiliki peranan yang sangat penting dalam suatu reaksi PCR. Komposisi enzim, *template*, dNTP, $MgCl_2$, buffer dan primer yang tepat sangat menentukan berhasil suatu reaksi PCR. Komposisi mix yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Mix untuk Reaksi ARMS-PCR untuk SNP rs7895340 gen TCF7L2

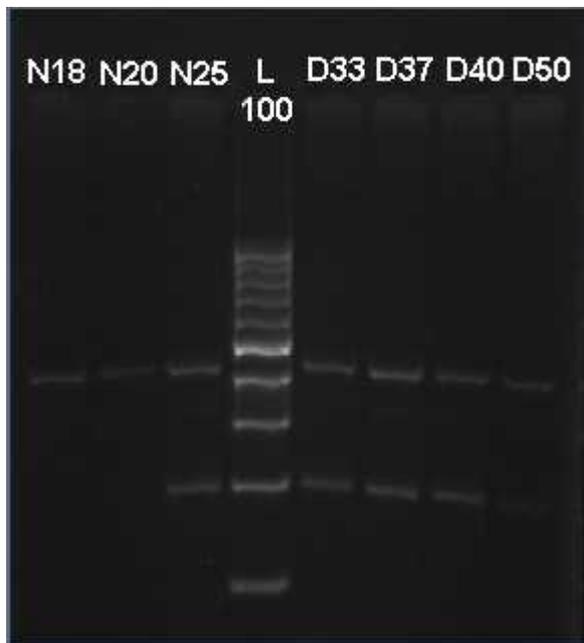
	Stok	Akhir	Volume
Go Tag Green MM	2 μ M	1 μ M	5 μ L
Primer rs-78 C	10 μ M	0,6 μ M	0,8 μ L
Primer rs-78 F	10 μ M	0,1 μ M	0,04 μ L
Primer rs-78 R	10 μ M	0,4 μ M	0,2 μ L
$MgCl_2$	50 μ M	3 μ M	0,8 μ L
ddH ₂ O			2,16 μ L
DNA template		1	1 μ L
		Produk=	10 μ L

Program PCR yang dipakai adalah touchdown PCR



DNA yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya diamplifikasi menggunakan primer yang dikonstruksi dengan mix PCR RTG/ Go Tag Green. Hasil amplifikasi PCR dianalisis menggunakan teknik elektroforesis pada agarose. Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran molekul tersebut. Agarose dan poliakrilamid merupakan matriks penyangga yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat. Pada penelitian ini digunakan agarose 1,5 %. Menurut Sambrook and Russel (1990;6.2) agarose 1,5 % sangat cocok

untuk memisahkan fragmen DNA berukuran 200–300 basa. Lokasi dari DNA yang terdapat pada gel bisa diamati dengan staining menggunakan gel red, sehingga nantinya bisa dilihat sewaktu gel diletakkan diatas GelDoc. Visualisasi hasil elektroforesis produk PCR menggunakan pasangan primer dapat dilihat Gambar 3.



Gambar 3. Elektroforegram SNP rs7895340 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR. Sampel N18 dan N20 mengalami polimorfisme sedangkan N25, D33, D37, D40 dan D50 tidak mengalami polimorfisme. L adalah DNA lader.

Dari data tersebut bisa diketahui bahwa reaksi ARMS-PCR yang dilakukan bisa digunakan untuk mendeteksi SNP pada gen TCF7L2 khususnya SNP rs7895340. Tetapi metode ini memiliki keterbatasan diantaranya: reaksi ini tidak mungkin bisa mendeteksi 100 % SNP pada gen TCF7L2. Walaupun demikian spesifitas dan sensitifitasnya yang tinggi dalam mendeteksi SNP dapat dijadikan sebagai salah satu faktor mengapa metode ini bisa digunakan. Selain itu jika dibandingkan dengan metode deteksi SNP lainnya, reaksi ARMS-PCR memiliki beberapa keuntungan diantaranya lebih murah dan mudah diaplikasikan.

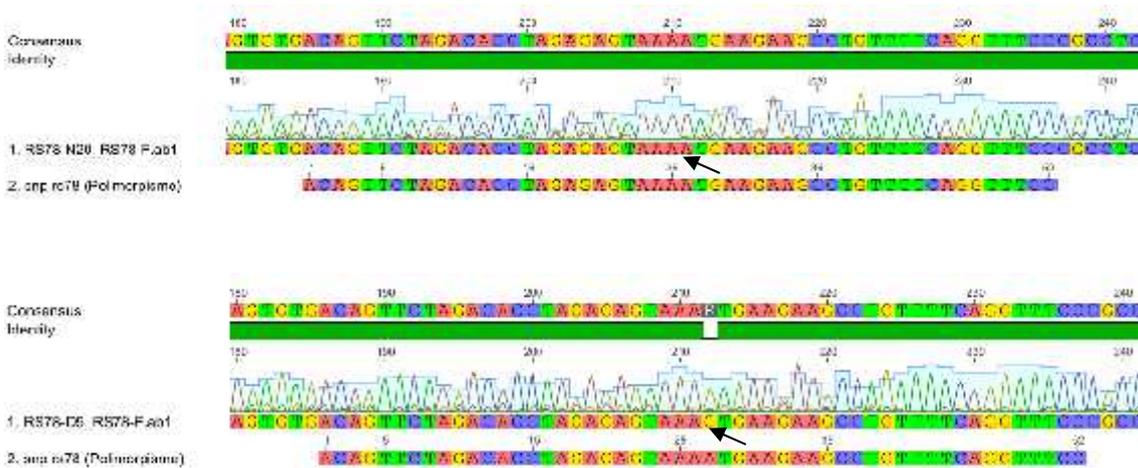
Proses/waktu pelaksanaanya lebih singkat, mulai dari persiapan reagen, peralatan termasuk penambahan DNA genom (*template*), ARMS-PCR amplifikasi dan elektroforesis pada agarose bisa diselesaikan dalam satu hari. Pengaplikasiannya yang cepat dan metode yang mudah untuk mendeteksi SNP rs7895340 merupakan nilai yang sangat penting untuk pencegahan DMT2.

Dua sampel disekuensing untuk mamastikan akurasi metode ARMS-PCR. Hasil sekuensing di BLAST pada NCBI. Hasil BLAST menunjukkan bahwa sekuen hasil sekuensing memiliki nilai query 200. Hasil ini menunjukkan bahwa hasil pcr dengan primer forward rs78 dan primer reverse rs78 adalah benar merupakan fragmen dari gen TCF7L2. Hasil BLAST dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil BLAST fragmen dari SNP rs7895340gen TCF7L2

Hasil sekuensing kemudian di-alignment dengan profil nukletida SNP rs7895340. Hasil alignment membuktikan bahwa produk pcr dengan primer forward rs78 dan primer reverse rs78 adalah benar memiliki fragmen dari SNP rs7895340gen TCF7L2 sehingga bisa digunakan untuk mendeteksi snp pada populasi Diabetes mellitus tipe-2. Selain itu hasil sekuensing memiliki kesesuaian dengan metode ARMS-PCR. Hasil sekuensing dapat dilihat pada gambar berikut: (Gambar 5)



Gambar 5 Hasil sekuensing sampel yang mengalami polimorpisme pada rs7895340 dimana terjadi perubahan basa A menjadi G (gambar bawah)

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dikonstruksi tiga buah primer yaitu primer forward RS78F, primer reverse RS78R dan primer forward RS78C. Ketiga primer yang dikonstruksi mampu mengenali SNP rs7895340gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR

Ucapan Terimakasih

Pada kesempatan ini, Kami mengucapkan terimakasih kepada Rektor UNP yang sudah memfasilitasi penelitian ini sehingga dapat disponsori melalui hibah disertasi doktor dari Dirjen Dikti Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik

Indonesia. Begitu juga segenap staf di laboratorium Biomedik FK Unand yang turut membantu keberhasilan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) PERKENI, 2011. *Konsesnsus Pengelolaan dan pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: PB PERKENI.
- (2) Perdomo RP, 2005. *Epidemiology of Diabetes; Prevalence, Complications and Health Services Disparities*. Para Puerto Rico: Centro de Diabetes
- (3) Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H, 2004. Global Prevalence of Diabetes, Estimate for the year 2000 and projection for 2030. *Diabetes Care* 27: 1047-1053.
- (4) Tjokprawiro A, 2002. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Balai penerbit Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- (5) American Diabetes Association/ADA, 2010. Standards of Medical Care in Diabetes 2010. *Diab Care*: 33
- (6) Joshi, Shashank R, 2006. *Family History and Pedigree Charting- A Simple Genetic Tool For Indian Diabetics*. (<http://id.www.hindujahospital.com/IDCC2006>. diakses tanggal 10 september 2008)
- (7) Manaf A, 2011. *Harmonizing The Metabolic Syndrome With Prediabetes*. Makalah
- (8) Radha V and Mohan V, 2007. Genetic Predisposition To Type 2 Diabetes Among Asian Indians. Mellitus. *Indian J Med Res* 117: 259-274
- (9) Komar A (ed). 2009. *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols*. Cleveland, USA: Humana Press
- (10) Kwok PY (ed). 2003. *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols*. Totowa, NJ: © Humana Press Inc.
- (11) National Centre Biotechnology Information (NCBI), 2014
- (12) Florez JC, *et al.*, 2006. TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N. Engl. J. Med.* 355, 241–250
- (13) Grant S F, *et al.*, 2006. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature Genet.* 38: 320–323
- (14) Fatchiyah dkk, 2008, *Biologi Molekuler*. Jakarta: Erlangga: 25.

5. BUKTI KINERJA

