

**KAITAN POLIMORFISME Trp64Arg GEN ADRENERGIC RECEPTOR β -3
(ADRB3) DENGAN STATUS BIOKIMIA KLINIS PASIEN DIABETES
MELLITUS TIPE 2 ETNIS MINANGKABAU**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian Persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

**JEFRI CHANDRA
NIM. 16010**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2014**

PERSETUJUAN SKRIPSI

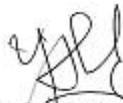
**KAITAN POLIMORFISME Trp64Arg GEN *ADRENERGIC RECEPTOR* β -3
(ADRB3) DENGAN STATUS BIOKIMIA KLINIS PASIEN DIABETES
MELLITUS TIPE 2 ETNIS MINANGKABAU**

Nama : Jefri Chandra
NIM/BP : 16010/2010
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 21 Januari 2014

Disetujui Oleh:

Pembimbing I



Dr. Yuni Ahda S.Si., M.Si
NIP. 19690629 199403 2 003

Pembimbing II



Dezi Handayani, S.Si., M.Si
NIP. 19770126 200604 2 002

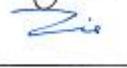
PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

**Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Biologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang**

Judul : Kaitan Polimorfisme Trp64Arg Gen Adrenergic Reseptor β -3 (ADRB3) dengan Status Biokimia Klinis Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau.
Nama : Jefri Chandra
NIM/TM : 16010/2010
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 24 Januari 2014

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr. Yuni Ahda, S.Si., M.Si.	1. 
2. Sekretaris	: Dezi Handayani, S.Si., M.Si.	2. 
3. Anggota	: Dr. Linda Advinda, M.Kes.	3. 
4. Anggota	: Irdawati, S.Si., M.Si.	4. 
5. Anggota	: Fitri Arsih, S.Si., M.Pd.	5. 

PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul: “Kaitan Polimorfisme Trp64Arg Gen *Adrenergic Reseptor* β -3 (ADRB3) dengan Status Biokimia Klinis Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau” adalah benar merupakan hasil karya saya dan bukan merupakan plagiat dari karya orang lain. Apabila suatu saat terbukti saya melakukan plagiat maka saya bersedia diproses dan menerima sanksi akademis maupun hukum sesuai dengan hukum dan ketentuan yang berlaku baik di universitas maupun di masyarakat dan negara.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan penuh rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Saya yang menyatakan,


Jefri Chandra
NIM. 16010

ABSTRAK

Jefri Chandra : Kaitan Polimorfisme Trp64Arg Gen *Adrenergic Reseptor β -3* (ADRB3) dengan Status Biokimia Klinis Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau

Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2) termasuk kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia akibat disfungsi insulin, penyakit ini tidak dapat disembuhkan secara sempurna dan dapat menyebabkan komplikasi. DMT2 disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya faktor genetik. Berbagai gen telah dilaporkan terlibat dalam perkembangan DM tipe 2 di seluruh dunia, salah satunya adalah gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3). Gen ADRB3 juga berkaitan dengan status biokimia klinis, polimorfisme Trp64Arg dapat menyebabkan tingginya kadar kolesterol. Peran gen ADRB3 dalam patogenesis DMT2 sudah diteliti pada beberapa populasi lain, namun pada etnis Minangkabau perlu pengkajian ulang.

Penelitian dilaksanakan dari bulan April sampai Desember 2013 di Balai Laboratorium Kesehatan, Padang dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang. Sampel penelitian terdiri dari dua kelompok (pasien DMT2 dan non-pasien). Analisis polimorfisme Trp64Arg gen ADRB3 dilakukan dengan metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*). Status biokimia klinis yang diteliti adalah kandungan hormon insulin, kadar Glukosa Darah Puasa, LDL, HDL, trigliserida, dan kolesterol total. Data dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Frekuensi polimorfisme dianalisis menggunakan Chi-Square, data biokimia klinis pasien dianalisis dengan ANOVA satu arah.

Amplifikasi berhasil dilakukan dengan panjang pita 605 pb. Restriksi dengan enzim PfuI (Van911) menghasilkan pita dengan panjang basa 605 pb, 482 pb dan 123 pb. Analisis kuantitatif pada pasien, ditemukan frekuensi genotip pasien: Trp/Trp (31,66%), Trp/Arg (10,66%) genotip Arg/Arg (51,66%). Pada non-pasien frekuensi genotip Trp/Trp (12,76%), Trp/Arg (21,72%) dan Arg/Arg (65,95%). Alel Arg dominan pada pasien dan kontrol, data biokimia klinis yang berbeda nyata pada parameter gula darah puasa dan HDL. Frekuensi polimorfisme Trp64Arg gen ADRB3 pada pasien DM tipe 2 etnis Minangkabau tidak berbeda secara statistik bila dibandingkan dengan non-pasien.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur bagi Allah S. W. T. Karena atas rahmat dan izinnya Penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Kaitan Polimorfisme Trp64Arg Gen Adrenergic Reseptor β -3 dengan Status Biokimia Klinis Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau” guna mendapatkan gelar Sarjana Sains, Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang.

Proses penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari andil berbagai pihak, sehingga Penulis ingin berterima kasih banyak kepada pihak-pihak yang ikut berperan dalam penyelesaian skripsi ini. Atas sumbangsih tersebut Penulis ingin berterima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Yuni Ahda, S. Si., M. Si. sebagai Pembimbing I, atas kepercayaan, saran, dan nasehat selama proses penelitian dan pembuatan skripsi ini.
2. Ibu Dezi Handayani, S. Si., M. Si. sebagai Pembimbing II, atas dukungan,, saran, dan nasehat selama proses penelitian dan proses pembuatan skripsi ini.
3. Ibu dr. Elsa Yuniarti S.Ked. sebagai Penasehat Akademik atas nasehat dan dukungan selama perkuliahan ini.
4. Ibu Dr. Linda Advinda M. Kes, Ibu Irdawati S. Si., M. Si., dan Ibu Fitri Arsih, S.Si., M.Pd. sebagai Dosen Penguji atas saran dan nasehat yang membangun.
5. Perawat-perawat yang bertugas di Poliklinik Universitas Negeri Padang dan Laboratorium Kesehatan Kota Padang

6. Bapak dan Ibu yang telah bersedia menyumbangkan darahnya (sebagai sampel) demi kelancaran penelitian ini.
7. Bapak Dr. Azwir Anhar, M. Si. sebagai Ketua Jurusan Biologi.
8. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin S. Si., M. Si., sebagai Ketua Program Pendidikan Biologi sekaligus Koordinator Seminar Biologi.
9. Bapak/Ibu staf pengajar Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang.
10. Bapak/Ibu staf pegawai Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang.
11. Seluruh rekan Mahasiswa Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang.
12. Serta pihak-pihak lain yang tak disebutkan seluruhnya, yang telah memberikan bantuan selama menjadi Mahasiswa Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang.

Penulis berharap, dengan selesainya skripsi ini dapat memberikan bantuan bagi setiap penulis, pembaca dan masyarakat pada umumnya. Oleh karena itu, diharapkan kritik dan saran bagi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Padang, Januari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Batasan Masalah	5
C. Rumusan Masalah	5
D. Tujuan Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Diabetes Mellitus Tipe 2	7
B. Pandemi Diabetes Mellitus Tipe 2	8
C. Status Biokimia Klinis	9
D. Gen Adrenergic Reseptor β -3 (ADRB3)	13
E. Keterkaitan gen ADRB3 dengan penyakit DM tipe 2	16
F. Masyarakat Minangkabau	17
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian	20
B. Waktu dan Tempat Penelitian	20
C. Alat dan Bahan Penelitian	20
D. Prosedur Kerja	21
E. Teknik Analisis Data	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	29
B. Pembahasan.....	33

BAB V PENUTUP	
A. Kesimpulan	38
B. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan status biokimia klinis pada manusia normal	13
2. Formula untuk amplifikasi gen ADRB3	23
3. Tahapan proses amplifikasi gen ADRB3	23
4. Frekuensi genotip dan alel gen ADRB3	31
5. Frekuensi genotip berdasarkan Chi Square.....	31
6. Hasil analisis data biokimia klinis pasien Diabetes Mellitus Tipe 2	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur ekstrasel dan intrasel gen <i>Adrenergic Receptor β-3</i>	15
2. Hasil PCR gen ADRB3	29
3. Hasil <i>digest</i> gen ADRB3 dengan enzim restriksi PflMI (Van911)	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data awal pasien DM Tipe 2 (April – Desember 2013)	43
2. Data awal pasien DM Tipe 2 (April – Desember 2012)	44
3. Data sampel kontrol (April – Desember 2013)	45
4. Data sampel kontrol (April – Desember 2012)	46
5. Analisis frekuensi genotip dengan Chi Square	47
6. Frekuensi genotip Trp64Arg	48
7. Analisis data biokimia klinis dengan ANOVA satu arah	49
8. Pengenceran primer gen ADRB3	58
9. Contoh kuisisioner sampel pasien Diabetes Mellitus Tipe 2	59
10. Dokumentasi penelitian	60
11. Analisis frekuensi genotip dengan Chi Square menggunakan SPSS.16 ..	62

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes mellitus termasuk kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia akibat disfungsi sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (*American Diabetes Association, 2006*). *International Diabetes Federation* memperkirakan 285 juta orang mengidap penyakit diabetes. Berdasarkan penyebabnya diabetes mellitus dikelompokkan menjadi Diabetes mellitus tipe 1 (DM tipe 1), Diabetes mellitus tipe 2 (DM tipe 2), dan Diabetes Gestasional. DM tipe 2 yang paling banyak, ditemui sekitar 90-95% dari seluruh tipe diabetes yang ada (Tama *et al.*, 2011). DM tipe 2 merupakan kelompok diabetes mellitus akibat disfungsi metabolisme glukosa yang ditandai dengan hiperglikemia dan hilangnya respon terhadap insulin dari waktu ke waktu (Petznick, 2013). Dampak negatif dari penyakit diabetes mellitus yaitu menyebabkan komplikasi pada penderita misalnya jantung koroner, gagal ginjal, kebutaan, dan kelumpuhan (Gomez, 2005). Penyakit ini tidak dapat disembuhkan secara sempurna dan hanya bisa dikontrol (Hadi, 2005).

Berbagai penelitian epidemiologi menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insidensi dan prevalensi DM tipe 2 di berbagai penjuru dunia. *World Health Organization* (WHO) memprediksi peningkatan jumlah penyandang diabetes mellitus di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Laporan dari hasil penelitian di berbagai daerah di Indonesia yang dilakukan pada dekade 1980-an menunjukkan sebaran prevalensi DM tipe 2 antara 0,8% sampai 6,1% di Tanah Toraja dan Manado.

Hasil penelitian pada rentang tahun 1980-2000 menunjukkan peningkatan prevalensi yang sangat tajam. Sebagai contoh, pada penelitian di Jakarta (daerah urban), prevalensi diabetes mellitus dari 1,7% pada tahun 1982 naik menjadi 5,7% pada tahun 1993 dan meningkat menjadi 12,8% pada tahun 2001 (WHO, 2011 dalam PERKENI, 2011). Selain peningkatan prevalensi diabetes mellitus, hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, juga menginformasikan tentang proporsi penyebab kematian akibat diabetes mellitus pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%, dan daerah pedesaan DM menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8 % (Kemenkes, 2009).

Penyakit DM tipe 2 dapat muncul disebabkan oleh faktor genetik dan faktor lingkungan seperti usia dan gaya hidup yang tidak sehat. Mutasi pada gen tertentu dapat memicu perkembangan DM tipe 2 baik secara langsung ataupun tidak. Gen yang termutasi tersebut dapat dijadikan sebagai penanda penyakit DM tipe 2. Berbagai gen telah dilaporkan terlibat dalam perkembangan DM tipe 2 di seluruh dunia, salah satunya adalah gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) (Othman, 2006).

Gen ADRB3 merupakan gen yang terlibat dalam regulasi lipolisis, termogenesis pada jaringan adiposa dan mempengaruhi sekresi insulin oleh sel pankreas (Clement *et al.*, 1995) dan (Perfetti *et al.*, 2001) serta mengatur penggunaan energi dan berat tubuh seseorang (Motoyama *et al.*, 1997 dalam Othman, 2006). Gen ADRB3 dapat mengalami polimorfisme yang berdampak terhadap fungsi gen ADRB3. Menurut Kawamura *et al.*, (1997) dalam Othman, (2006) polimorfisme gen ADRB3 akan menyebabkan sindrom resistensi insulin.

Hal ini terjadi apabila tubuh secara kronik menghadapi kelebihan lemak dalam otot, maka banyak asam lemak jenuh tersedia bagi sintesis VLDL dalam hati. Maka komposisi lemak di membran otot rangka berubah dan meningkatkan kepekatan trigliserida dalam otot. Keadaan ini mengakibatkan tubuh akan mengurangi serapan asam lemak jenuh dengan cara meningkatkan keresistenan insulin dalam otot rangka.

Polimorfisme yang dikaji adalah polimorfisme Trp64Arg dimana terjadi pergantian basa guanin oleh sitosin yang menyebabkan perubahan asam amino triptophan menjadi arginin (Othman, 2006). Hasil penelitian Takeuchi (2012) menyatakan bahwa polimorfisme Trp64Arg memiliki tiga genotipe yaitu Trp/Trp, Arg/Arg, dan Trp/Arg. Berdasarkan penelitian Walston (2000) terhadap warga Kaukasian, Afrika-Amerika, Asia dan Hispanic, tentang respon insulin diketahui bahwa individu dengan genotip homozigot Arg mensekresikan insulin lebih rendah dibandingkan dengan individu homozigot Trp, sedangkan individu heterozigot (Trp/Arg) berada pada posisi tengah.

Keterkaitan antara polimorfisme Trp64Arg dengan munculnya DM tipe 2 telah banyak diteliti sebelumnya. Hameed *et al.*, (2013) menyimpulkan bahwa pada masyarakat Kasmir terdapat kaitan antara polimorfisme Trp64Arg dengan DM tipe 2. Menurut Isbir (2007) yang melakukan penelitian pada warga Turki berkesimpulan bahwa polimorfisme Trp64Arg tidak memiliki keterkaitan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2.

Polimorfisme Trp64Arg juga memiliki kaitan dengan status biokimia klinis populasi. Penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.* (2009) menyimpulkan bahwa

pada masyarakat Cina, polimorfisme Trp64Arg memiliki kaitan dengan trigliserida, HDL, LDL, kolestrol, dan level *adiponectin*. Sebaliknya, Oizumi *et al.* (2001) menyatakan bahwa Trp64Arg tidak mempunyai pengaruh terhadap data biokimia klinis pasien DM Tipe 2 etnis Jepang. Dari beberapa hasil penelitian tersebut terlihat bahwa, etnis berpengaruh terhadap kaitan polimorfisme Trp64Arg gen ADRB3 dengan status biokimia pasien DM tipe 2.

Hasil penelitian Habibah (2013) terhadap frekuensi varian gen ADRB3 pada pasien DM tipe 2 etnis Minangkabau dengan sampel kecil (30 orang), ternyata perbandingan frekuensi alel antara kedua kelompok sampel berbeda. Frekuensi alel Trp lebih tinggi pada sampel kontrol, sebaliknya frekuensi alel Arg lebih tinggi pada pasien. Perbedaan frekuensi antara dua kelompok populasi (penderita dan non penderita) membuktikan bahwa gen Trp64Arg berkaitan dengan diabetes mellitus tipe 2 pada populasi Minangkabau, dan juga berkaitan dengan status biokimia klinis seperti trigliserida, HDL, LDL, dan kolestrol total. Penelitian selanjutnya bertujuan untuk membuktikan kaitan polimorfisme Trp64Arg gen ADRB3 dengan DM tipe 2 dan status biokimia klinis pada sampel yang lebih besar (60 orang). Selain itu perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah ada kaitan sekresi insulin dengan polimorfisme Trp64Arg pada pasien DM Tipe 2 etnis Minangkabau.

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan, peneliti melakukan penelitian yang berjudul “**Kaitan Polimorfisme Trp64Arg Gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) dengan Status Biokimia Klinis Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau**”.

B. Batasan Masalah

Untuk menghindari adanya perluasan pembahasan dari materi pokok, maka penulis membatasi bahasan dengan:

1. Analisis polimorfisme Trp64Arg gen ADRB3 dilakukan dengan metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphisme*).
2. Status biokimia klinis yang akan diteliti adalah kandungan hormon insulin, kadar Gula Darah Puasa, LDL, HDL, trigliserida, dan kolestrol total.
3. Pengecekan kadar hormon insulin pada pasien DM tipe 2 dilakukan dengan teknik *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) metode *Sandwich*.

C. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat perbedaan frekuensi polimorfisme Trp64Arg gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) antara penderita DM tipe 2 etnis Minangkabau dengan yang bukan penderita?
2. Apakah Polimorfisme Trp64Arg gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) berkaitan dengan status biokimia klinis pasien diabetes mellitus tipe 2 etnis Minangkabau?

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui perbedaan frekuensi polimorfisme Trp64Arg gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) antara penderita DM tipe 2 etnis Minangkabau dengan yang bukan penderita.

2. Untuk mengetahui adakah kaitan status biokimia klinis pasien diabetes mellitus tipe 2 etnis Minangkabau dengan polimorfisme Trp64Arg gen Adrenergic Receptor β -3 (ADRB3).

E. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan nantinya dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan tentang DM tipe 2 dan gen penandanya bagi masyarakat etnis Minangkabau.
2. Penelitian ini juga mampu menjadi sumber informasi untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan.