

**ANALISIS POLIMORFISME GEN *ADRENERGIC RECEPTOR* β -3
(ADRB3) PADA PASIEN DIABETES MELLITUS TIPE 2
ETNIS MINANGKABAU**

SKRIPSI

Diajukan sebagai Persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

**UMMU HABIBAH
NIM. 12652**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2013**

PERSETUJUAN SKRIPSI

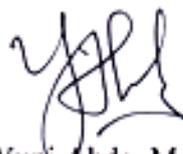
**ANALISIS POLIMORFISME GEN *ADRENERGIC RECEPTOR β -3*
(ADRB3) PADA PASIEN DIABETES MELLITUS TIPE 2 ETNIS
MINANGKABAU**

Nama : Ummu Habibah
NIM/BP : 12652/2009
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 15 Januari 2013

Disetujui Oleh:

Pembimbing I



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

Pembimbing II



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

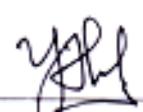
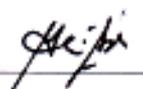
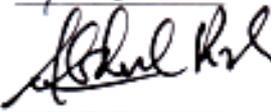
PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

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

Judul : Analisis Polimorfisme Gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau
Nama : Ummu Habibah
NIM/TM : 12652/2009
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 22 Januari 2013

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	: Dr. Abdul Razak, M. Si.	5. 

ABSTRAK

Ummu Habibah: Analisis Polimorfisme Gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau

Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2) merupakan penyakit degeneratif dengan prevalensi yang meningkat setiap tahunnya. DMT2 disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya faktor genetis. Trp64Arg merupakan varian dari gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3), berperan dalam metabolisme lipid pada tubuh. ADRB3 memiliki fungsi pada regulasi jaringan adiposa coklat dan putih. Peran gen ADRB3 dalam patogenesis DMT2 sudah diteliti pada beberapa populasi lain, namun belum pada etnis Minangkabau. Etnis Minangkabau, merupakan kelompok masyarakat dengan prevalensi penyakit DMT2 cukup tinggi. Karena, pola hidup masyarakat Minangkabau yang kurang olahraga dan menjaga pola makan. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan ada atau tidaknya perbedaan frekuensi polimorfisme Trp64Arg pada pasien DMT2 dan pengaruh polimorfisme Trp64Arg terhadap kandungan biokimia klinis pasien DMT2 etnis Minangkabau.

Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret sampai November di Rumah Sakit Dr. M. Djamil, Padang dan Laboratorium Bioteknologi FMIPA UNP. Penelitian tergolong pada penelitian deskriptif, sampel yang diteliti terdiri dari 30 pasien dan 29 kontrol. Polimorfisme diteliti dengan menggunakan teknik PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*). Data dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Frekuensi polimorfisme dianalisis menggunakan Chi-Square, data biokimia klinis pasien dianalisis dengan T-test.

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 (16,67%) Arg/Arg (83,33%) genotip Trp/Arg (0%). Pada kontrol frekuensi genotip Trp/Trp (10,35%), Arg/Arg (55,17%) dan Trp/Arg (34,48%). Alel Arg dominan pada pasien dibanding kontrol, sedangkan alel Trp dominan pada kontrol. Pada data biokimia klinis nilai T berbeda nyata pada parameter kolesterol total, HDL dan trigliserida. Perbedaan frekuensi antara dua kelompok sampel (pasien dan kontrol) membuktikan bahwa gen Trp64Arg berkaitan dengan DMT2 pada populasi Minangkabau. Alel Arg dominan terhadap alel Trp. Perbedaan genotip mempengaruhi beberapa parameter biokimia klinis pasien, yaitu: kolesterol total, HDL dan trigliserida.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil'alamin, puji dan syukur bagi Allah S. W. T. Karena atas rahmat dan izinnya Penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Analisis Polimorfisme Gen *Adrenergic Receptor β -3* (ADRB3) pada 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 komentar, saran, masukan, dan nasehat selama proses penelitian dan proses pembuatan skripsi ini.
2. Ibu Dezi Handayani, S. Si., M. Si. sebagai Pembimbing II dan sekaligus Penasehat Akademik atas komentar, saran, masukan dan nasehat selama proses penelitian dan proses pembuatan skripsi ini.
3. Ibu Irdawati S. Si., M. Si., Ibu Dr. Linda Advinda M. Kes, dan Bapak Dr. Abdul Razak, M. Si. sebagai Dosen Penguji atas saran dan masukan yang membangun.
4. Dokter dan perawat yang bertugas di Rumah Sakit Dr. M. Djamil, Padang.
5. Bapak Dr. Azwir Anhar, M. Si. selaku Ketua Jurusan Biologi.
6. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin S. Si., M. Si., selaku Ketua Program Pendidikan Biologi sekaligus Koordinator Seminar Biologi.

7. Bapak/Ibu staf pengajar Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang.
8. Bapak/Ibu staf pegawai Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang.
9. Seluruh rekan Mahasiswa Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang.
10. 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, Februari 2013

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 KAJIAN PUSTAKA	
A. Diabetes Mellitus	7
B. Gen Adrenergic Receptor β -3	11
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian	16
B. Waktu dan Tempat Penelitian	16
C. Alat dan Bahan Penelitian	16
D. Prosedur Kerja.....	17
E. Teknik Analisis Data.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	23
B. Pembahasan	27
BAB V PENUTUP	
A. Kesimpulan	31
B. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Frekuensi genotip polimorfisme Trp64Arg pada sampel	25
2. Frekuensi genotip berdasarkan Chi Square	25
3. Data Biokimia klinis pasien Diabetes Mellitus Tipe 2	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Adrenergic Receptor Beta-3	12
2. <i>Ligand binding site</i> pada Adrenergic Receptor Beta-3	13
3. Hasil PCR gen ADRB3	23
4. Hasil <i>digest</i> gen ADRB3 dengan enzim PfIMI (Van911)	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data pasien Diabetes mellitus Tipe 2	35
2. Data sampel kontrol	36
3. Analisis frekuensi genotip dengan Chi Square	37
4. Frekuensi genotip Trp64Arg	38
5. Contoh analisis data biokimia klinik dengan T-test	39
6. Analisis deskriptif data biokimia klinik	40
7. Pengenceran primer gen ADRB3	41
8. Contoh kuisisioner sampel pasien Diabetes Mellitus Tipe 2	42
9. Dokumentasi penelitian	45

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes mellitus adalah sindrom kelainan metabolisme karbohidrat yang ditandai hiperglikemia kronik akibat kekurangan pada sekresi insulin atau kelainan fungsional insulin. Diabetes Mellitus Tipe 2 adalah kelompok diabetes mellitus akibat kurangnya sensitivitas jaringan sasaran (otot, jaringan adiposa dan hepar) berespon terhadap insulin. Penurunan sensitivitas respon jaringan otot, jaringan adiposa dan hepar terhadap insulin ini, selanjutnya dikenal dengan resistensi insulin (dengan atau tanpa hiperinsulinemia). Faktor yang diduga menyebabkan terjadinya resistensi insulin dan hiperinsulinemia ini adalah kombinasi antara kelainan genetik, obesitas, inaktivitas dan faktor makanan (Tjekyan, 2007).

Prevalensi kemunculan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 pada penduduk dunia tinggi dan semakin meningkat setiap tahunnya. Menurut International Diabetes Federation jumlah penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 meningkat dari 30 juta pada tahun 1985 menjadi 150 juta pada tahun 2000. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 380 juta pada tahun 2025 (Riaz, 2009). Menurut World Health Organization (WHO) (Slominsky *et al.*, 2009), kejadian Diabetes Mellitus Tipe 2 saat ini dapat dikelompokkan sebagai epidemik noninfeksi. Jumlah pasien penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 meningkat dua kali lipat setiap 12-15 tahun di seluruh dunia dan pada tahun 2025, diperkirakan sebanyak 300 juta orang dari seluruh populasi dunia akan menderita penyakit ini. Jumlah penderita DMT2 di

Indonesia menempati posisi keempat teratas setelah India, Cina dan Amerika Serikat. WHO juga memperkirakan sampai tahun 2030 jumlah penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia meningkat sampai 21,3% dari jumlah populasi penduduk Indonesia.

Prevalensi Diabetes Mellitus Tipe 2 pada penduduk Indonesia tinggi dan semakin meningkat. WHO menyatakan pada tahun 1995 Indonesia berada pada peringkat ke-7 negara dengan penderita Diabetes Mellitus terbanyak pada angka 4,3 juta penderita. Angka ini mengalami peningkatan pada tahun 2025 ke peringkat 5 dengan angka 12,4 juta penderita (Sudoyo dkk, 2007).

Berdasarkan hasil survey PERKENI (2006) penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 pada penduduk perkotaan berjumlah 8,2 juta sedangkan pada penduduk desa berjumlah 5,5 juta. Penelitian Tjekyan (2007) yang dilakukan di daerah Kayu Putih Jakarta Timur (yang merupakan daerah urban) didapatkan bahwa penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 sebanyak 39,1% terjadi pada responden laki-laki dan 52,3% terjadi pada responden wanita.

Peningkatan prevalensi diabetes mellitus di Indonesia dapat menimbulkan dampak negatif yaitu berupa penurunan kualitas sumber daya manusia (SDM) terutama akibat penyakit menahun yang ditimbulkannya (Lely dan Indirawati, 2004). Karena itu berbagai bentuk pencegahan terhadap dampak negatif dari penyakit diabetes mellitus perlu dilakukan lebih awal, baik itu pencegahan maupun pengobatan terhadap resiko penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2.

Salah satu kelompok masyarakat Indonesia dengan resiko tinggi mengidap penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 adalah masyarakat Minangkabau. Masyarakat dari etnis Minangkabau mempunyai kebiasaan pola makan dan pola hidup yang mempunyai pengaruh tidak baik dilihat dari aspek kesehatan. Tingginya konsumsi makanan berlemak dan berkarbohidrat yang sering tidak diiringi dengan konsumsi serat sebagai pengimbang nutrisi, mengakibatkan masyarakat Minangkabau sering menderita penyakit degenerasi, seperti Diabetes Mellitus atau penyakit jantung koroner. Selain dari penyakit degenerasi, pola makan yang tidak seimbang juga berdampak langsung terhadap kondisi tubuh seperti; mudah lelah, sering mengantuk, dan naiknya berat badan.

Kemunculan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 juga disebabkan oleh tidak sesuainya ekspresi protein beberapa gen mengganggu aktivitas jaringan sasaran dalam bekerja dengan hormon insulin. Keberadaan beberapa kelompok gen ini mampu meningkatkan resiko Diabetes Mellitus Tipe 2 pada seseorang. Dalam peranannya, beberapa gen dianggap sebagai penanda kemunculan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2. Namun, karena pola hidup yang berbeda gen penanda kemunculan penyakit degeneratif ini tidak bisa diajukan secara universal. Salah satu gen yang diperkirakan memiliki peran dalam memunculkan penyakit ini adalah gen Adrenergic Receptor Beta 3 (ADRB3).

Gen ADRB3 adalah gen yang diekspresikan di jaringan adiposa, bertugas mengatur metabolisme lipid dan termogenesis (Fujisawa *et al.*, 1998,

Oizumi *et al.*, 2001). Pankreas juga merupakan salah satu organ yang menampakkan ekspresi dari gen ADRB3. Beberapa varian dari ADRB3 bahkan berkaitan dengan perkembangan obesitas dan abnormalitas metabolisme (Mirrakhimov *et al.*, 2011).

Keterkaitan antara gen ADRB3 dengan risiko penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 telah diamati oleh beberapa peneliti dari negara lain sebelumnya. Berdasarkan penelitian Oizumi *et al.* (2001) pada warga Jepang, frekuensi polimorfisme gen Arg/Arg (Arginin-Arginin) pada gen *Reseptor Adrenergic beta-3* disimpulkan terkait dengan penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. Hasil penelitian Oizumi *et al.* (2001) terhadap warga Jepang frekuensi varian gen Reseptor Adrenergic Beta 3 adalah: pada penderita diabetes mellitus; frekuensi alel Arg/Arg 13,6%, alel Trp/Arg 6,0% dan alel Trp/Trp 4,2%, pada orang normal dengan toleransi terhadap glukosa rendah; frekuensi alel Arg/Arg 18,2%, alel Trp/Arg 11,7% dan alel Trp/Trp 13,9%, dan pada orang normal dengan toleransi terhadap glukosa normal; frekuensi alel Arg/Arg 68,2%, alel Trp/Arg 82,3% dan alel Trp/Trp 82,0%. Menurut Isbir (2007) yang melakukan penelitian pada warga Turki berkesimpulan bahwa polimorfisme gen Trp64Arg tidak memiliki keterkaitan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2.

Trp64Arg juga memiliki pengaruh terhadap data biokimia klinis populasi. Menurut Yang *et al.* (2009) Trp64Arg memiliki kaitan dengan Trigliserida, HDL, LDL, Kolesterol dan level *Adiponectin* pada populasi cina.

Berdasarkan penjelasan diatas, maka penulis melakukan penelitian dengan judul “**Analisis Polimorfisme Gen *Adrenergic Receptor β-3* (ADRB3) pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau**”.

B. Batasan Masalah

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

1. Penderita diabetes mellitus dari etnis Minangkabau merupakan pasien yang berobat ke Poliklinik Khusus Penyakit Dalam di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. M. Djamil, Padang.
2. Analisis polimorfisme untuk mengetahui perbedaan frekuensi polimorfisme Trp64Arg pada gen ADRB3 dilakukan dengan metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*).

C. Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan frekuensi polimorfisme gen Reseptor Adrenergic Beta 3 antara penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 etnis Minangkabau dengan yang bukan penderita (non-diabetes)?

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan frekuensi polimorfisme gen *Adrenergic Receptor Beta 3* antara pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 etnis Minangkabau dengan membandingkan terhadap bukan pasien (non-diabetes).
2. Mengetahui ada atau tidaknya pengaruh polimorfisme terhadap data biokimia klinis pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 etnis Minangkabau.

E. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan nantinya dapat menambah khasanah pengetahuan mengenai Diabetes Mellitus Tipe 2 dan gen penandanya untuk masyarakat Minangkabau, bagi peneleti, pembaca serta pihak-pihak lain yang terlibat.
2. Penelitian ini juga menjadi dasar informasi untuk penelitian selanjutnya, seperti mengetahui pengaruh polimorfisme terhadap kadar insulin pasien.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Diabetes Mellitus

1. Klasifikasi Diabetes Mellitus

Klasifikasi pertama yang diterima secara luas Diabetes Mellitus diterbitkan oleh WHO pada tahun 1980 dan dimodifikasi pada tahun 1985. Komite Ahli 1980 mengusulkan dua kelas utama Diabetes Mellitus dan dinamakan, IDDM (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) atau jenis 1, dan NIDDM (*Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) atau tipe 2. Dalam laporan kelompok studi yang mempelajari topik ini persyaratan tipe 1 dan tipe 2 yang dihilangkan, tetapi kelas IDDM dan NIDDM tetap dipertahankan, dan diperkenalkan kelas Diabetes Mellitus terkait gizi buruk (MRDM). Pada kedua periode tahun tersebut, dilaporkan kelas lainnya dari diabetes mellitus yaitu Impaired Glucose Tolerance (IGT) dan Gestational Diabetes Mellitus (World Health Organization, 1999).

Namun, klasifikasi tersebut ditinjau lagi dan kemudian WHO menghapus istilah NIDDM dan IDDM. Istilah Diabetes Mellitus Tipe 1 dan Diabetes Mellitus Tipe 2 kembali diperkenalkan. Diabetes Mellitus Tipe 1 merupakan diabetes mellitus karena kerusakan sel beta pankreas, sedangkan Diabetes Mellitus Tipe merupakan diabetes mellitus karena kurang pekanya jaringan sasaran hormon insulin (World Health Organization, 1999).

Diabetes mellitus merupakan kelainan metabolisme dari beberapa penyebab seperti hiperglikemia dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein sebagai akibat dari kekurangan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Akibat dari diabetes mellitus termasuk diantaranya kerusakan jangka panjang, kurang berfungsi dan tidak bekerjanya beberapa organ. Diabetes mellitus dapat hadir dengan gejala khas seperti rasa haus, mengaburnya penglihatan, dan penurunan berat badan. Dalam bentuk yang paling parah, ketoasidosis atau pada tingkat ketika keadaan hiperosmolar non ketotik dapat berkembang dan menyebabkan koma dan ketika tidak adanya pengobatan yang efektif dapat menyebabkan kematian. Kadang-kadang gejala yang muncul tidak parah atau mungkin tidak ada. Akibatnya hiperglikemia menyebabkan perubahan patologis dan fungsional yang hadir sebelum penderita memeriksakan kesehatannya. Efek jangka panjang diabetes mellitus termasuk perkembangan progresif (meningkat) dari komplikasi retina dengan potensi kebutaan, kerusakan nefron dalam menyaring darah yang dapat menyebabkan gagal ginjal, risiko ulkus kaki dan amputasi. Orang dengan diabetes meningkatkan risiko penyakit jantung, pecahnya pembuluh darah perifer dan penyakit serebrovaskular (World Health Organization, 1999).

Beberapa proses patogen terlibat dalam perkembangan diabetes mellitus. Proses patogen tersebut termasuk proses yang menghancurkan sel beta pankreas dengan defisiensi insulin yang tetap dan penyebab lain

seperti kerusakan pada jaringan sasaran yang menghasilkan sifat resistensi terhadap kerja insulin. Salah satu penyebab diabetes mellitus merupakan abnormalitas kerja insulin yang disebabkan oleh kelainan genetik. Abnormalitas metabolisme dan mutasi gen menyebabkan timbulnya gejala diabetes seperti hiperinsulinemia dan hiperglikemia (World Health Organization, 1999).

2. Pandemi Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes Mellitus Tipe 1 merupakan penyakit paling umum pada anak-anak di seluruh dunia, namun ada kemungkinan bahwa Diabetes Mellitus Tipe 2 akan dominan hadir dalam waktu 10 tahun kedepan di banyak populasi. Diabetes Mellitus Tipe 2 telah dilaporkan banyak menyerang pada anak-anak dari Jepang, Kepulauan Pasifik, Hong Kong, Singapura, Cina, Malaysia, Korea dan Australia. Bahkan di antara anak-anak di Jepang, Diabetes Mellitus Tipe 2 merupakan penyakit yang lebih umum dari pada Diabetes Mellitus Tipe 1, berdasarkan penghitungan 80% anak-anak penderita diabetes mellitus merupakan Diabetes Mellitus Tipe 2 dan kejadian ini hampir dua kali lipat antara tahun 1976-1980 dan 1991-1995 (Asian-Pacific Type 2 Diabetes Policy Group, 2005).

Menurut penelitian epidemiologi yang dilaksanakan di Indonesia, kekerapan Diabetes di Indonesia berkisar antara 1,4% sampai 1,6%, kecuali di dua tempat yaitu Pekajangan 2,3% dan Manado 6%. Di Pekajangan prevalensi ini tinggi disebabkan di daerah itu banyak perkawinan antara kerabat. Sedangkan di Manado, disimpulkan bahwa

tingginya prevalensi karena pada studi populasinya terdiri dari orang yang datang dengan sukarela, jadi agak lebih selektif. Tetapi kalau dilihat dari segi geografis dan budaya yang dekat dengan Filipina, ada kemungkinan bahwa prevalensi di Manado memang tinggi, karena prevalensi di Filipina juga tinggi yaitu 8,4% sampai 12% di daerah urban dan 3,85% sampai 9,7% di daerah rural (Sudoyo dkk, 2007).

Karena faktor gaya hidup yang dijalani sebagian besar masyarakat Minangkabau, masyarakat etnis ini mempunyai risiko tinggi untuk terkena penyakit sindrom metabolisme. Berdasarkan penelitian Jalal dan rekan, masyarakat Padang Pariaman (salah satu daerah di Sumatera Barat) mempunyai prevalensi Obesitas 18,1% dan hipertensi 17,39%. Karena itu, tidak menutup kemungkinan terhadap peningkatan prevalensi penyakit sindrom metabolisme lainnya (Jalal *dkk.*, 2008)

Menurut Sulastri *dkk.*, sekitar 51,1% laki-laki etnis Minangkabau mempunyai aktivitas fisik yang rendah. Asupan nutrisi tidak mencukupi anjuran, asupan serat rata-rata adalah 7,4 g. Hasil tersebut masih jauh di bawah anjuran yakni sekitar 25%. Asupan antioksidan yakni vitamin C, vitamin E dan β -karoten adalah masing-masing 35 mg, 0,5 mg dan 1,5 mg (Sulastri *dkk.*, 2005).

3. Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes Mellitus Tipe 2 merupakan bagian dari sindrom metabolisme (MetS) yang dipengaruhi baik oleh lingkungan, serta berbagai faktor genetik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa akumulasi lipid memiliki peran dalam kemunculan penyakit diabetes

mellitus. Akumulasi lipid yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara pengiriman asam lemak/pembentukan dan oksidasi asam lemak pada waktu tertentu menyebabkan terhambatnya sinyal insulin, yang mengakibatkan resistensi insulin di hati dan otot rangka yang merupakan organ-organ bertanggung jawab untuk pengurangan glukosa (Banerjee *et al.*, 2010).

Diabetes Mellitus Tipe 2 meningkat dengan cepat sebagai sebuah masalah kepedulian kesehatan yang mengancam sebagai level penyakit pandemik pada tahun 2030. Di Malaysia, prevalensi penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 untuk orang dewasa adalah sekitar 14,9% pada tahun 2006 (Abougambou *et al.*, 2010).

B. Gen Adrenergic Receptor β -3

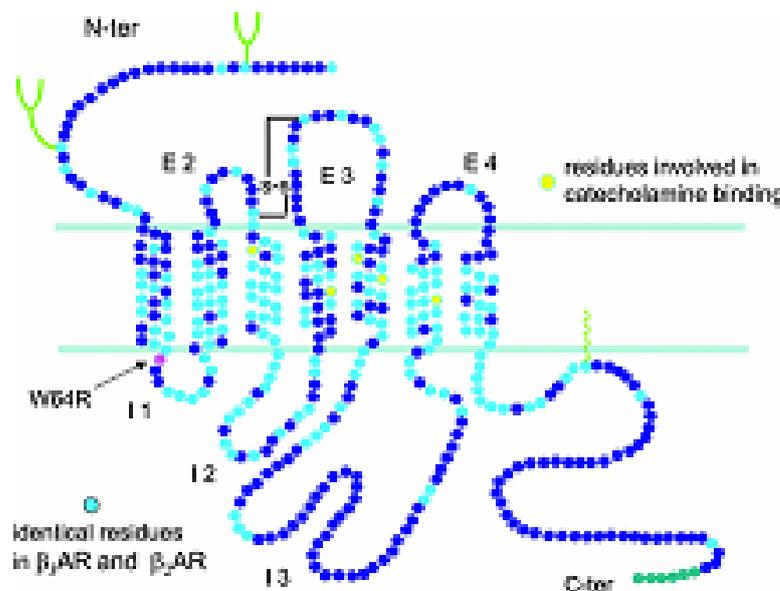
1. Polimorfisme

Secara umum polimorfisme dibagi kedalam tiga bentuk perubahan yang berbeda, yaitu:

- a. Perubahan basa tunggal yang mengubah suatu kodon tertentu menjadi suatu kodon lainnya, tetapi yang memberi sandi untuk asam amino yang sama.
- b. Perubahan yang mengubah daerah gen yang direkam pada daerah 5' atau 3' mRNA tapi tidak diterjemahkan menjadi protein.
- c. Perubahan yang mengubah urutan basa pada daerah DNA yang dikenal dengan urutan penyelim (diselipi) yang direkam ke dalam RNA tetapi selanjutnya dibuang selama prosesing RNA, sehingga mereka tidak terdapat mRNA (Harris, 1994).

2. Gen Reseptor Adrenergic Beta-3 (ADRB3)

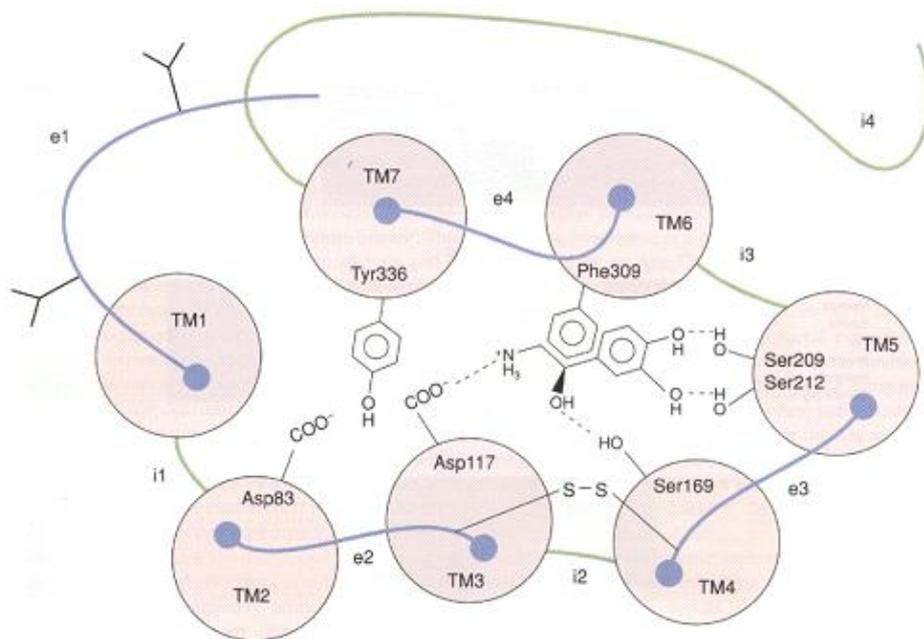
Gen reseptor adrenergic beta 3 ditemukan di lengan pendek kromosom nomor 8 (8p12), Reseptor Adrenergic Beta 3 memiliki 396 asam amino. Gen Reseptor Adrenergic Beta-3 mengekspresikan protein yang disebut Reseptor Adrenergic Beta-3. Reseptor adrenergic beta 3 ditemukan di jaringan adiposa, baik itu pada jaringan adiposa putih dan jaringan adiposa coklat. Reseptor Adrenergic Beta 3 merupakan anggota reseptor serpentine seperti halnya beta 1 dan beta 2, ADRB3 memiliki tujuh segmen transmembran (TM) yang masing-masing memiliki sekitar 22-28 asam amino dengan tiga lilitan ekstraseluler dan 3 lilitan intraseluler. Terminal-N berakhir di luar sel dan telah mengalami glikosilasi. Terminal-C berakhir di dalam sel tapi tidak mempunyai kedudukan tersendiri, dan bisa di-fosforilasi oleh protein kinase A (PKA) atau beta receptor kinase (betaARK) (Coman *et al.*, 2009).



Struktur Adrenergic Receptor Beta-3

Gambar 1: Struktur Adrenergic Receptor Beta-3. Adrenergic merupakan protein transmembran berperan dalam pengaturan jaringan adiposa coklat dan jaringan adiposa putih (Coman *et al.*, 2009).

ADRB3 bekerja sama dengan reseptor protein-G yang juga sebagian besar berada di jaringan adiposa. Gen ADRB3 berfungsi dalam pemecahan lipid dan thermogenesis pada jaringan adiposa bagian dalam, dan mempunyai peran penting dalam metabolisme lipid dan modulasi dasar metabolik. Diketahui juga bahwa ADRB3 memiliki efek anti-diabetes ketika diujikan terhadap hewan rodensia (hewan pengerat) (Yang *et al.*, 2009).



Gambar 2: *Ligand binding site* pada Adrenergic Receptor Beta-3. Situs tempat penempelan Adrenergic receptor dengan protein lain (Coman *et al.*, 2009).

Secara fisisologis ikatan antara reseptor adrenergic beta 3 dengan ligan endogen atau agonis sintetik khusus dapat mengaktifkan adenilat siklase dan meningkatkan level cAMP. Hal ini mengarah kepada peningkatan aktivitas protein kinase A. Pengaruh ini berhubungan dengan peningkatan aktivitas metabolisme tubuh dan penghasilan panas di

jaringan adiposa coklat serta peningkatan pemecahan lipid di jaringan adiposa putih. Karena peningkatan metabolisme dan kurangnya pemanfaatan hasil dari metabolisme tersebut aktivasi yang berkelanjutan dari proses ini mungkin penting dalam penanganan obesitas dan kontrol glukosa pada Diabetes Mellitus Tipe 2 (Susulic *et al.*, 2001).

3. Keterkaitan antara Gen ADRB3 dengan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2

Gen Reseptor Adrenergic BETA 3 memiliki varian; Arg (Arginin) dan Trp (Tryptophan). Varian Arg/Arg diketahui memiliki keterkaitan dengan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 pada beberapa populasi yaitu Afrika-Amerika dan Kaukasian (Perfetti *et al.*, 2001). Varian Arg/Arg juga diketahui berhubungan dengan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 pada warga Jepang (Oizumi *et al.*, 2001). Walston (2000) melakukan pengujian respon insulin yang rendah terhadap warga Kaukasian, Afrika-Amerika, Asia dan *Hispanic*. Berdasarkan penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa: individu dengan homozigot Arg mensekresikan insulin lebih rendah dari pada individu dengan homozigot Trp. Individu dengan alel heterozigot (Trp/Arg) berada di posisi tengah dari homozigot Arg/Arg dan homozigot Trp/Trp (Walston *et al.*, 2000).

Pankreas yang merupakan salah satu organ dengan ekspresi gen ADRB3 cukup tinggi membuktikan bahwa aktivasi gen ADRB3 pada sel langerhans berpengaruh terhadap sekresi hormon insulin. Arg64 berhubungan dengan penurunan drastis terhadap sekresi insulin yang bergantung terhadap kadar glukosa (Perfetti *et al.*, 2001). Penelitian pada

masyarakat Finlandia diketahui bahwa Trp64Arg tidak memiliki keterkaitan dengan Diabetes Mellitus Tipe2 karena tidak adanya perbedaan frekuensi yang signifikan antara penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan non-penderita (Ghosh *et al.*, 1999).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif merupakan salah satu jenis penelitian yang bertujuan mendeskripsikan secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat populasi tertentu atau menggambarkan fenomena secara detail (Yusuf, 2007).

B. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai bulan November 2012. Penelitian ini dilaksanakan di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. M. Djamil, Padang dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah; mikropipet (dengan ukuran 100 µl, 200 µl dan 1000 µl), *microcentrifuge*, *refrigerator*, inkubator, elektroforesis, *autoklav*, mesin *thermocycler*, *vortex*, *illuminator UV* dan *gel documentation*.

Bahan yang digunakan adalah; *syringe*, sarung tangan karet, tabung Eppendorf, tip, darah penderita @3mL x 30 pasien, darah kontrol(non-diabetes) @3mL x 29 orang normal, DNA purification kit (promega), alkohol 70%, 96%, kloroform, larutan EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid*), TAE(*Tris Base*, *Acetyc Acid* dan EDTA) buffer, aquades steril, ethanol, agarosa (Promega dan Agarosa), larutan EtBr (*Ethidium Bromida*), pewarna

(metilen blue, xylene xyanole, sukrosa), enzim restriksi PflMI (Van911), Go Tag[®] Green Master Mix

(Promega) yang terdiri dari; enzim, buffer, MgCl₂ dan dNTP (dATP, dGTP, dTTP, dCTP), *Upstream Primer*, *Downstream Primer*, *Nuclease-Free Water*.

D. Prosedur Kerja

1. Persiapan Penelitian

- a. Sebelum penelitian dimulai terlebih dahulu disiapkan kuisioner yang akan diisi oleh 30 orang sampel penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 sebagai bukti tertulis bahwa terpenuhinya syarat-syarat menjadi sampel penelitian. Kuisioner dengan format yang berbeda untuk 29 kontrol (non-penderita) sebagai bukti terpenuhinya syarat-syarat menjadi sampel penelitian (Lampiran 7).
- b. Sterilisasi alat-alat yang akan digunakan. Semua alat (tabung Eppendorf dan tip) dicuci bersih dan dikeringkan. Setelah itu dibungkus dengan kertas koran. Sterilisasi alat dilakukan dengan *autoclav* pada suhu 121⁰ C dan tekanan 15 *psi* selama 15 menit.

2. Pelaksanaan Penelitian

- a. Pengumpulan sampel

Sampel penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 yang dikumpulkan adalah sampel yang sesuai dengan kriteria, sebagai berikut : donor merupakan masyarakat Minangkabau asli yang dibuktikan dari 2 generasi sebelumnya, donor bersedia untuk menyumbangkan darah,

donor bersedia mengisi kuisisioner yang diberikan dan menjawab dengan jujur.

Sampel untuk kontrol juga harus memenuhi kriteria, sebagai berikut: donor merupakan masyarakat Minangkabau asli, donor harus bersih dari riwayat Diabetes Mellitus ditinjau dari dua keturunan sebelumnya dan donor bersedia menyumbangkan darah.

Kuisisioner penderita berisi data bioklinik penderita dan silsilah keturunan keluarga yang menderita Diabetes Mellitus Tipe 2. Data bioklinik diisi oleh dokter yang membantu dalam proses pengambilan darah sampel, yang diambil dari riwayat penyakit penderita. Silsilah penyakit diabetes mellitus ditanyakan langsung kepada penderita. Sedangkan, kuisisioner untuk kontrol berisi informasi data diri kontrol yang diisi oleh penulis berdasarkan pernyataan kontrol tersebut.

Darah sampel diambil dengan bantuan dari perawat Rumah Sakit Dr. M. Djamil. Darah diambil dari *vena brachialis* pada lipatan lengan dengan menggunakan *syringe* berukuran 3 mL. *Syringe* yang digunakan terlebih dahulu dibasahi tabungnya dengan larutan EDTA untuk mencegah terjadinya pembekuan darah. Setelah itu, sampel darah dibawa ke Laboratorium Bioteknologi (UNP) untuk isolasi DNA.

b. Isolasi DNA genom

300 μ L darah dicampurkan dengan 900 μ L larutan pelisis sel dari DNA purification kit. Campuran tersebut dibolak-balik 2-3 kali

dan kemudian diinkubasi selama 10 menit. Setelah selesai diinkubasi, kemudian disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Supernatan dibuang, pelet dilisis kembali dengan 600 μ L larutan pelisis sel dan disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Supernatan dibuang kemudian didapatkan pelet berwarna putih didasar tabung yang telah bersih dari eritrosit. Kemudian ditambah dengan 300 μ L larutan pelisis inti sel, pelet dilarutkan dengan pipet mikro agar pelet larut bersama dengan larutan pelisis inti sel. Larutan tadi ditambahkan dengan 100 μ L larutan pelisis protein, kemudian divortex selama 30-60 detik. Setelah itu, larutan disentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 3 menit. 900 μ L ethanol absolut dimasukkan pada tabung eppendorf baru lalu dicampurkan dengan larutan bening yang telah disentrifus sebelumnya (mengandung DNA). Campuran ini dibolak-balik sampai terlihat DNA berupa gumpalan benang putih yang melayang didalam larutan. Larutan disentrifus selama 1 menit dengan kecepatan 13.000 rpm. Supernatan dibuang dan DNA yang berupa pelet dikeringkan. Setelah kering 100 μ L air steril murni ditambahkan ke DNA yang sudah kering, kemudian didiamkan selama kurang lebih 12 jam (Promega Corporation, 2008).

c. Persiapan PCR Mix

Untuk 25 μ l volume reaksi, dicampurkan bahan-bahan sebagai berikut:

Isi	Volume	Konsentrasi
Go Tag [®] Green Master Mix, 2x	12,5 µL	1x
Upstream primer, 10 µM	2 µL	0,1-1,0 µM
Downstream primer, 10 µM	2 µL	0,1-1,0 µM
DNA Template	4 µL	<250
Nuclease-free water	4,5 µL	NA

Setelah itu, tabung dimasukkan ke mesin *Thermocycler* dan diatur sesuai dengan siklus yang dibutuhkan gen Reseptor Adrenergic Beta 3 untuk melakukan amplifikasi.

d. Amplifikasi gen ADRB3

Amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus, dengan rincian sebagai berikut:

No.	Proses	Suhu	Waktu
1.	Denaturasi awal (siklus 1)	94 ⁰ C	4 menit
2.	Denaturasi pada siklus 2-35	94 ⁰ C	1 menit
3.	Annealing	60 ⁰ C	45 detik
4.	Elongasi	72 ⁰ C	90 detik
5.	Elongasi tambahan, akhir siklus ke-35	72 ⁰ C	10 menit

Amplifikasi dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dengan menggunakan primer: forward 5' –CCA ATA CCG CCA ACA CCA GT- 3' dan reverse 5' –GTA GAC GAA GAG CAT CAC GAG AAG- 3'.

e. Elektroforesis

1) Persiapan Elektroforesis

TAE buffer: TAE buffer stok (konsentrasi 50x) dibuat dengan campuran; 242 gr Tris base, 57.1 mL Asam acetat glacial, 37.2 gr Na₂EDTA.2H₂O (2mM) dan 250 mL H₂O untuk TAE

buffer dengan konsentrasi 50x. TAE buffer yang digunakan merupakan TAE buffer yang telah diencerkan menjadi konsentrasi 1x, dengan mencampurkan 10 mL TAE buffer stok dengan 490 mL aquades.

Agarosa: Agarosa 1% dibuat dengan mencampurkan TAE buffer (1x) 50 mL dengan 0,5 gr agarosa. Campuran dipanaskan dengan penangas air sampai semua butir agarosa larut, setelah itu didinginkan sambil digoyang hingga mencapai suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ lalu ditambahkan dengan 1 μL EtBr (Ethidium Bromida). Larutan agarosa dimasukkan ke cetakan beserta dengan sisir untuk sumur dan ditunggu sampai dingin pada suhu ruangan.

2) Elektroforesis

Agarosa yang telah diangkat dari cetakan diletakkan diatas bak elektroforesis dengan posisi sumur berada di kutub negatif. TAE buffer dimasukkan ke dalam bak elektroforesis sampai menutupi permukaan agarosa. DNA yang telah diberi pewarna dan pemberat (Loading Dye; metilen blue, xylene cyanole, sukrosa) dimasukkan ke sumur agarosa. Alat elektroforesis dinyalakan selama 20 menit dengan voltase 100v. Pita DNA diperiksa dengan meletakkan gel agarosa di atas mesin Illuminator UV. Pita DNA akan berpendar ketika diberi penyinaran sinar UV. Tebal pita DNA yang terlihat akan menunjukkan banyak gen yang teramplifikasi. Amplifikasi beracuan pada marker DNA ladder 100 bp.

f. Pemotongan (Restriksi) gen ADRB3 dengan enzim PflMI (Van911)

Produk PCR diambil sebanyak 8 μ L dan kemudian ditambahkan dengan 1 μ L buffer 10x dan 1 μ L enzim FastDigest PflMI (Van911). Campuran diinkubasi selama 120 menit pada suhu 37⁰C. Kemudian, di-elektroforesis untuk melihat hasil pemotongan.

Situs restriksi untuk enzim PflMI (Van911) adalah:

5' C C A N N N N \downarrow N T G G 3'

3' G G T N \uparrow N N N N A C C 5'

E. Teknik Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis data kualitatif dilakukan dengan mengamati hasil restriksi gen ADRB3 pada gel elektroforesis melalui pengamatan dengan sinar UV dari *Illuminator*. Kemudian, didokumentasikan dengan *gel documentation*. Sedangkan, analisis data kuantitatif dilakukan dengan membandingkan frekuensi gen yang mengalami mutasi pada penderita dan bukan penderita. Angka perbandingan frekuensi dianalisis dengan menggunakan rumus *Chi Square*. Data biokimia klinik pada pasien dianalisis menggunakan *t-test*.

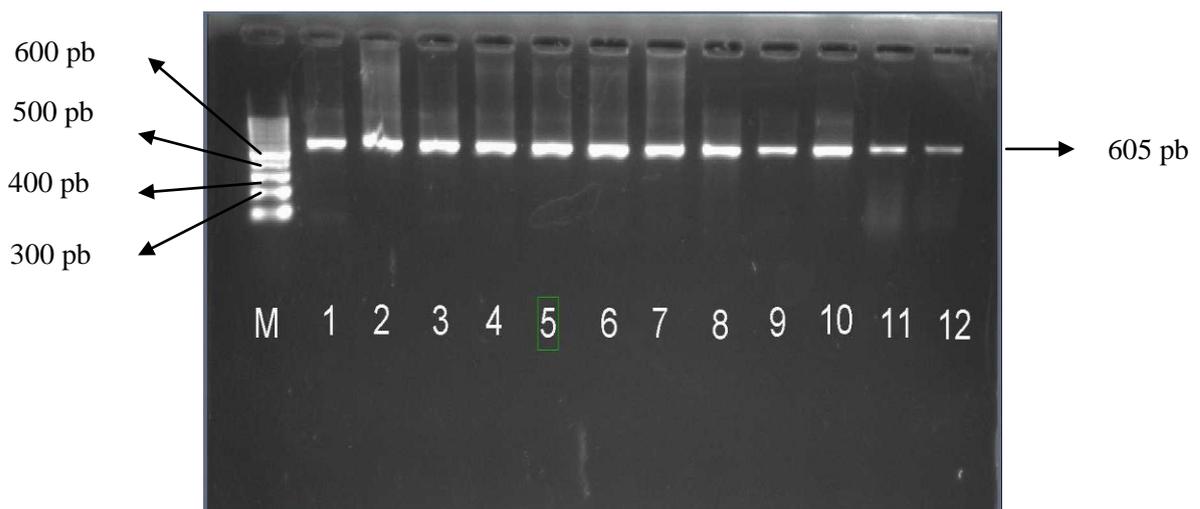
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian dilakukan terhadap 30 sampel pasien penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 dan 29 sampel kontrol (non-pasien). Pasien wanita sebanyak 20 orang, dan pasien pria sebanyak 10 orang. Pasien dipilih dari total kunjungan pasien rawat jalan unit penyakit dalam (bagian endokrinologi) Rumah Sakit Dr. M. Djamil, Padang selama periode bulan Maret 2012 sampai April 2012.

1. Amplifikasi gen ADRB3

Amplifikasi berhasil dilakukan pada dua kelompok sampel (pasien dan kontrol) seperti terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil PCR gen ADRB3. Pada proses amplifikasi diperoleh pita DNA sepanjang 605 pb (M=Marker, 1-12 sampel).

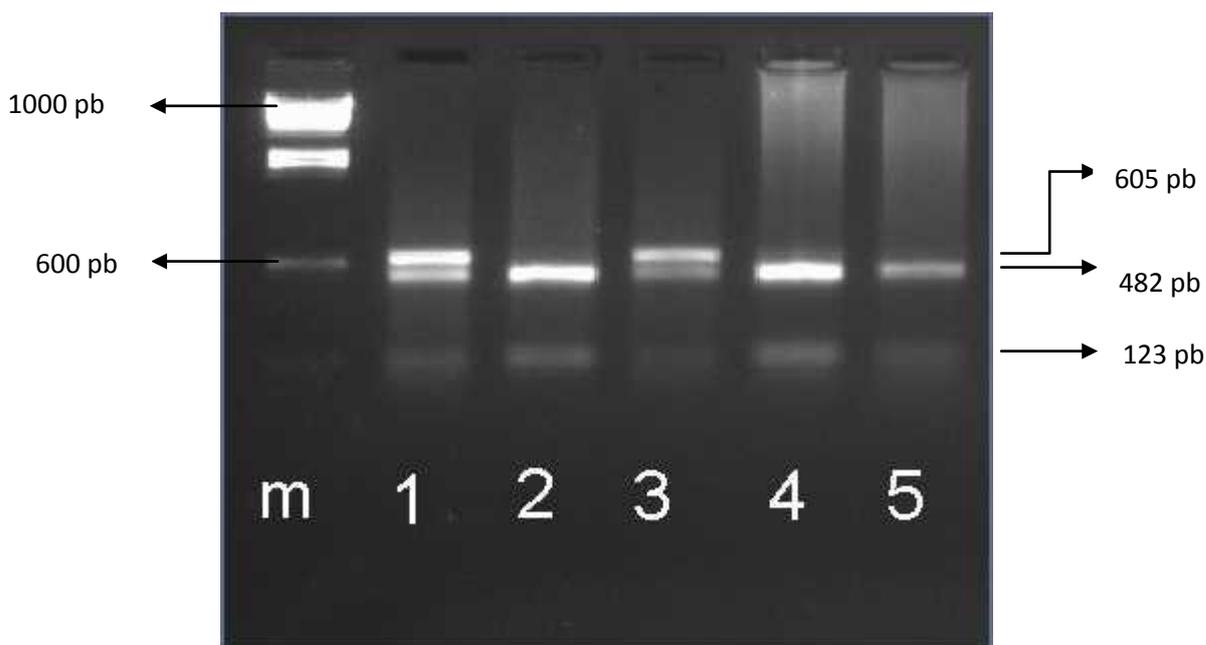
Gambar 3 memperlihatkan hasil amplifikasi gen ADRB3 sepanjang 605 pasang basa. Amplifikasi menggunakan primer *forward* 5' -CCA ATA CCG CCA ACA CCA GT- 3' yang berada pada posisi 65 sampai 84 dan primer *reverse* 5' -GTA GAC GAA GAG CAT CAC GAG AAG- 3' yang berada pada posisi 649 sampai 673 dari urutan basa nukleotida gen ADRB3.

2. Restriksi gen ADRB3

Polimorfisme ditemukan dengan teknik RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Restriksi (*digest*) menggunakan enzim spesifik PflMI (Van911)-(Thermo Scientific). Enzim ini mengenali basa nukleotida pada ujung dengan urutan sebagai berikut:

5' C C A N N N N ↓ N T G G 3'

3' G G T N ↑ N N N N A C C 5'



Gambar 4. Hasil *digest* gen ADRB3 dengan enzim PflMI (Van911). Pada proses *digest* diperoleh pita-pita DNA dengan panjang 605 pb, 482 pb dan 123 pb berturut-turut (m=marker, 1 & 3 heterozigot dan 2, 4 & 5 homozigot Arg).

Gambar 4 memperlihatkan hasil restriksi (*digest*) dari gen ADRB3 menggunakan enzim PflMI (Van911). Alel heterozigot (Trp/Arg) mempunyai pita dengan ukuran 605 pb, 482 pb dan 123 pb. Homozigot Arg mempunyai pita dengan ukuran 482 pb dan 123 pb. Sedangkan, homozigot Trp berukuran 605 pb.

3. Frekuensi polimorfisme

Polimorfisme yang terdapat pada gen Adrenergic Beta-3 salah satunya adalah Trp64Arg, dengan tiga genotip yaitu Trp/Trp, Arg/Arg dan Trp/Arg.

Tabel 1. Frekuensi genotip polimorfisme Trp64Arg pada sampel

Sampel	Frekuensi Genotip			Frekuensi alel	
	Trp/Trp	Arg/Arg	Trp/Arg	Trp	Arg
Pasien DMT2	16,67% (5)	83,33% (25)	-	16,67%	83,33%
Kontrol	10,35% (3)	55,17% (16)	34,48% (10)	27,59%	72,41%

Keterangan : P value = 0,002

$\alpha = 0,05$

Frekuensi genotip diperoleh berdasarkan perbandingan seperti yang tertera pada Tabel 2 menggunakan metode Chi Square.

Tabel 2. Frekuensi genotip berdasarkan Chi Square

Sampel	Trp/Trp		Arg/Arg		Trp/Arg		Total	
	fo	fe	fo	fe	fo	fe	fo	fe
Pasien	5	4,07	25	20,85	-	5,08	30	30
Kontrol	3	3,93	16	20,15	10	4,92	29	29
Total	8	8	41	41	10	10	59	59

Keterangan : fo= frekuensi yang didapat

fe= frekuensi harapan

Dari 30 sampel pasien, hanya ditemukan genotip homozigot Trp dan homozigot Arg. Sedangkan, pada sampel kontrol ditemukan ketiga genotip berbeda.

Perbandingan frekuensi alel antara kedua kelompok sampel berbeda. Frekuensi alel Trp lebih tinggi pada sampel kontrol, sebaliknya frekuensi alel Arg lebih tinggi pada pasien.

Nilai χ^2 hitung (12,598) lebih besar dari nilai χ^2 tabel (5,99) sehingga didapatkan nilai χ^2 berbeda nyata dengan nilai P value 0,002 ($\alpha < 0,05$). Dengan demikian polimorfisme Trp64Arg pada gen ADRB3 berkaitan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2 pada masyarakat Minangkabau.

4. Data biokimia klinis pasien Diabetes Mellitus tipe 2

Data biokimia klinis pasien juga mempunyai perbedaan antara dua genotip (Trp/Trp dan Arg/Arg) dari gen ADRB3 pada masyarakat etnis Minangkabau seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Biokimia klinis pasien Diabetes Mellitus Tipe 2

Karakteristik	Genotip		Nilai t
	Trp/Trp	Arg/Arg	
	Mean \pm SEM	Mean \pm SEM	
Usia (tahun)	62,4 \pm 1,17	57,48 \pm 1,66	-1,963
Berat badan (kg)	58,2 \pm 1,70	60,96 \pm 3,99	0,676
Gula darah puasa (mg/dL)	309,2 \pm 18,42	217,5 \pm 67,03	1,881
Gula Darah 2 Jam Puasa (mg/dL)	264,4 \pm 12,37	151,2 \pm 59,62	3,031
Kolesterol Total (mg/dL)	215,4 \pm 10,92	224,4 \pm 14,98	-0,359*
HDL (mg/dL)	41,6 \pm 2,78	48,0 \pm 3,83	-1,289*
LDL (mg/dL)	149,4 \pm 10,29	140,5 \pm 11,32	0,122
Trigliserida (mg/dL)	98 \pm 19,39	148,0 \pm 12,42	-1,033*

Keterangan : Mean= rata-rata

SEM= *Standars Error of Mean*

$\alpha = 0,05$

LDL = Low Density Lipoprotein (kolesterol jahat)

HDL = High Density Lipoprotein (kolesterol baik)

* = nilai t lebih rendah dari nilai t tabel

Tabel 3 dapat menunjukkan perbandingan antara data biokimia pasien dengan genotip yang berbeda. Pada pasien dengan genotip Trp/Trp mempunyai rata-rata kandungan gula darah puasa dan gula darah 2 jam puasa lebih tinggi dari pada pasien dengan genotip Arg/Arg. Sedangkan rata-rata kandungan trigliserida pasien dengan genotip Arg/Arg lebih tinggi dari pada kandungan trigliserida pasien dengan genotip Trp/Trp.

Berdasarkan analisis T-test, ditemukan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada parameter: kolesterol total, HDL dan trigliserida pada sampel pasien dengan kedua genotip yang berbeda.

B. Pembahasan

Diabetes Mellitus merupakan penyakit yang umum dan mempunyai prevalensi yang cukup tinggi di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Seperti yang dinyatakan oleh Abougambou et al. (2010) bahwa penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 merupakan penyakit yang terus meningkat prevalensinya dan menjadi masalah kesehatan dan mencapai level pandemik pada tahun 2030.

Gen ADRB3 merupakan salah satu gen yang berperan dalam pengaturan lemak. Gen ADRB3 berperan dalam kerja jaringan adiposa coklat dan jaringan adiposa putih (Coman *et al.*, 2009). Dengan fungsi tersebut, telah banyak kajian mengenai gen ADRB3 dengan penyakit kelainan metabolisme.

Barisan kodon ke 64 terdiri atas basa TGG yang mengkodekan protein tryptophan atau basa CGG yang mengkode protein arginin. Pada alel ini sering dikaji polimorfisme-nya dan keterkaitannya dengan penyakit kelainan metabolisme salah satunya Diabetes Mellitus Tipe 2. Pada kodon ini terjadi

perubahan basa T (Timin) menjadi basa C (Cytosin), yang mengakibatkan perubahan pada struktur protein yang dihasilkan yaitu Tryptophan menjadi Arginin.

Polimorfisme Trp64Arg tidak hanya dikaitkan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2 saja, tapi juga dengan kelainan metabolis lainnya seperti Obesitas. Karena pada dasarnya gen ADRB3 berperan dalam metabolisme lipid, terkait dengan jaringan jaringan adiposa coklat dan jaringan adiposa putih.

1. Frekuensi polimorfisme Trp64Arg

Berdasarkan hasil yang didapat dalam penelitian, dapat dibuktikan bahwa polimorfisme Trp64Arg pada gen Adrenergic Beta-3 memiliki keterkaitan terhadap munculnya penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 pada masyarakat dari etnis Minangkabau. Hasil penelitian ini sesuai dengan beberapa penelitian lain yang dilakukan oleh Buettner *et al.* (1998), Okada *et al.* (2001), Walston *et al.* (1995) dan Oizumi *et al.* (2001).

Buettner *et al.* (1998) berkesimpulan bahwa gen ADRB3 mempunyai hubungan dengan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 pada masyarakat populasi Kaukasian. Walston *et al.* (1995) menyatakan bahwa gen ADRB3 berkaitan dengan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 pada masyarakat Pima Indian. Diketahui bahwa individu dengan homozigot Arg mempunyai respon yang lebih rendah terhadap insulin dari pada individu dengan heterozigot Trp/Arg.

Okada *et al.* (2001) juga membuktikan bahwa gen ADRB3 mempunyai keterkaitan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2 pada masyarakat Jepang yang berstatus sebagai pekerja. Hal ini juga sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Oizumi *et al.* (2001). Oizumi (2001) berkesimpulan bahwa gen ADRB3 mempunyai keterkaitan dengan penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2. Namun, genotip Arg/Arg tidak memiliki hubungan dengan data biokimia klinis masyarakat Jepang yang dijadikan sebagai sampel penelitian.

Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa perbandingan alel Trp dan Arg pada pasien maupun kontrol tidak mengikuti hukum Hardy-Weinberg. Perbandingan antara tiga genotip tersebut memperlihatkan dominansi genotip Arg/Arg, pada kedua kelompok sampel. Keragaman genetik populasi berperan dalam hasil penelitian ini. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Hassanein *et al.* (2009). Hassanein menyatakan bahwa perbandingan genotip tidak sesuai dengan hukum Hardy-Weinberg pada masyarakat Mesir. Pada masyarakat Mesir tidak ditemukan sampel dengan genotip Arg/Arg.

Hal berbeda ditemui pada masyarakat Kaukasian (Buettner *et al.*, 1998). Buettner menemukan bahwa perbandingan genotip pada masyarakat Kaukasian sesuai dengan perbandingan dalam hukum Hardy-Weinberg. Okada *et al.* (2001) juga menyatakan bahwa perbandingan genotip Trp64Arg pada masyarakat Jepang sesuai dengan perbandingan dalam hukum Hardy-Weinberg.

2. Keterkaitan Trp64Arg dengan Gula Darah Puasa, HDL, LDL, Gula Darah dua Jam Puasa, Kolesterol Total dan Trigliserida

Hasil analisis data dengan menggunakan T-test, terdapat perbedaan nyata pada parameter: kolesterol total, HDL dan trigliserida antara kedua genotip Trp/Trp dan Arg/Arg yang ditemukan pada sampel pasien. Hasil penelitian ini hampir sama dengan penelitian Yang *et al.* (2009). Yang (2009) melakukan penelitian terhadap masyarakat Cina. Yang (2009) menemukan bahwa Trp64Arg memiliki kaitan dengan Trigliserida, HDL, LDL, Kolesterol dan level *Adiponectin*.

Hal berbeda dikemukakan oleh Oizumi *et al.* (2001). Oizumi menyatakan bahwa Trp64Arg tidak mempunyai pengaruh terhadap data biokimia klinis pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 etnis Jepang.

Pengaruh ADRB3 terhadap parameter biokimia klinis juga memperlihatkan peran variasi gen pada setiap populasi masyarakat. Genotip mempengaruhi kemunculan fenotip sehingga terdapat perbedaan pada fisiologis individu dalam populasi.

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini ditemukan perbedaan frekuensi polimorfisme Trp64Arg dari gen ADRB3 antara kedua kelompok sampel yaitu sampel pasien dan kontrol (bukan-pasien) pada etnis Minangkabau. Frekuensi alel Arg lebih tinggi pada pasien, sedangkan frekuensi alel Trp lebih tinggi pada kontrol (bukan-pasien). Polimorfisme berpengaruh terhadap data biokimia klinis pasien, yaitu: kolesterol total, HDL dan trigliserida.

B. Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan terhadap kandungan insulin pada pasien dengan kedua genotip tersebut. Disarankan penelitian dengan skala besar (menggunakan sampel dengan jumlah yang lebih besar) agar hasil yang didapatkan lebih valid dan dengan parameter lebih beragam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abougalambou S. S. I., M. Mohamed, S. A. S. Sulaiman, A. S. Abougalambou, M. A. Hassali. 2010. Current clinical status and complications among Type 2 Diabetic Patients in University Sains Malaysia Hospital. *International Journal of Diabetes Mellitus* 2; 184-188.
- Asian-Pacific Type 2 Diabetes Policy Group. 2005. *Type 2 Diabetes: Practical Targets and Treatments, Fourth Edition*. Melbourne: Asian-Pacific Type 2 Diabetes Policy Group.
- Banerjee, M., S. Gautam, M. Saxena, H. K. Bid and C. G. Agrawal. 2010. Association of CD36 gene variants rs1761667 (G>A) and rs 1527483 (C>T) with Type 2 Diabetes in North Indian Population. *International Journal of Diabetes Mellitus* 2; 179-183.
- Buettner, R., A. Schaffler, H. Arndt, G. Rogler, J. Nusser, B. Zietz, I. Enger, S. Hugl, A. Cuk, J. Scholmerich and K. D. Palitzsch. 1998. The Trp64Arg polymorphism of the β -3 Adrenergic Receptor gene is not associated with Obesity or Type Diabetes Mellitus in a large population-based Caucasian cohort. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* (83) 8; 2892-2857.
- Coman, O. A., H. Paunescu, I. Ghita, L. Coman, A. Badararu and I. Fulga. 2009. Beta 3 Adrenergic Receptor: molecular, histological, functional and pharmlological approaches. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 50(2); 169-179.
- Fujisawa, T., H. Ikegami, Y. Kawaguchi and T. Ogihara. 1998. Meta-Anlysis of the association of Trp64Arg polymorphism of β -3 adrenergic receptor gene with body mass index. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83(7); 2441-2448.
- Ghosh, S., C. D. Langefeld, D. Ally, R. M. Watanabe, E. R. Hauser, V. L. Magnuson, S. J. Nylund, T. Valle, J. Eriksson, R. N. Bergman, J. Tuomilehto, F. S. Collins and M. Boehnke. 1999. The W64R variant of the β -3 adrenergic receptor is not associated with Type II Diabetes Mellitus or Obesity in a large Finnish sample. *Diabetologia* 42; 238-244.
- Harris, Harry. 1994. *Dasar-dasar Genetika Biokemis Manusia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Hassanein, N. M. and G. I. Khalil. 2009. Relation Trp64Arg polymorphism of Beta-3 Adrenergic Receptor gene to Type 2 Diabetic patients. *Bulletin Alexandria Faculty Medic* 45 (2); 451-456.

- Isbir, Turgay. 2007. Insulin receptor and beta adrenergic receptor gene polymorphism in Turkey population. *Adv Mol Med* 3(2); 85-88.
- Jalal, F., N. I. Liputo, N. Susanti, F. Oenzil. 2008. Lingkar pinggang, kadar glukosa darah, trigliserida dan tekanan darah pada etnis Minangkabau di Kabupaten Padang Pariaman, Sumatera Barat. *Media Medika Indonesiana* 43(3); 129-137.
- Lely, Ayu dan Indirawati T. 2004. Pengaruh kadar glukosa darah yang terkontrol terhadap penurunan derajat kegoyahan gigi penderita Diabetes Mellitus di Rumah Sakit Persahabatan Jakarta. *Media Litbang Kesehatan* 14 (3); 38-43.
- Mirrakhimov, A. E., A. S. Kerimkulova, O. S. Lunegova, C. B. Moldokeeva, Y. V. Zalesskaya, S. S. Abilova, N. A. Sovhozova, A. A. Aldashev and E. M. Mirrakhimov. 2011. An association between Trp64Arg polymorphism of the B3 adrenoceptor gene and some metabolic disturbances. *Cardiovascular Diabetol* (10); 89-101.
- Oizumi, T., M. Daimon, T. Saitoh, W. Kameda, H. Yamaguchi, H. Ohnuma, M. Igarashi, H. Eguchi and H. Manaka. 2001. Genotype Arg/Arg, but not Trp/Arg of the Trp64Arg polymorphism of the β -3 adrenergic receptor is associated with Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity in a large Japanese sample. *Diabetes Care* 24(9); 1579-1583.
- Okada, H., A. Suyama, Y. Osaki, M. Okamoto, T. Yamamoto, E. Nanba and T. Kishimoto. 2001. Association of the Trp64Arg mutation of the β -3-Adrenergic Receptor with Diabetes Mellitus, impaired glucose tolerance and lifestyle in Japanese workers. *Yonago Acta Medica* (44); 55-59.
- Perfetti, R., H. Hui, K. Chamie, S. Binder, M. Seibert, J. McLenithan, K. Silver and J. D. Walston. 2001. Pancreatic β cells expressing the Arg64 variant of the β 3 adrenergic receptor exhibit abnormal insulin secretory activity. *Journal of Molecular Endocrinology* 27; 133-144.
- PERKENI. 2006. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia. Jakarta: Penerbit PERKENI.
- Promega Corporation. 2008. Promega Life Science Catalog 2008-2009. Madison: Manual Promega.
- Riaz, S. 2009. Diabetes mellitus. *Scientific Research and Essay* 4(5); 367-373.

- Slominsky P.A., Pivovarova O.V. and Shadrina A.V. 2009. Assosiacion of insulinaase gene polymorphisms with Type 2 Diabets mellitus in patients from the Moscow population. Russian Journal of Genetic, Vol. 45, No. 1.
- Sulastri, D., S. Rahayuningsih dan Purwastyastuti. 2005. Pola asupan lemak, serat, dan antioksidan serta hubungan antara profil lipid pada laki-laki etnik Minangkabau. Kedokteran 55(2); 61-66.
- Susulic, V., S., L. LaVallette, E. Duzic, L. Chen, D. Shuey, S. K. Karathanasis and K. E. Steiner. 2001. Expression oh the human β 3-adrenergic receptor gene in SK-N-MC cells is under the control of a distal enhacer. Endocrinology 142 (5); 1935-1949.
- Tjekyan, Suryadi. 2007. Risiko penyakit Diabetes Mellitus Tipe 2 di kalangan peminum kopi di kotamadya Palembang tahun 2006-2007. Makara Kesehatan 11 (2); 54-60.
- Walston, J., K. Silver, C. Bogardus, W. C. Knowler, F. C. Celi, S. Austin, B. Manning, D. Strosberg, M. P. Stern, N. Raben, J. D. Sorkin, J. Roth and A. R. Shuldiner. 1995. Time of onset of Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus and genetic variation in the β 3-Adrenergic Receptor gene. The New England Journal of Medicine 333; 343-347.
- Walston, J., K. Silver, H. Hilfiker, R. E. Andersen, M. Seibert, B. Beamer, J. Roth, E. Poehlman and A. R. Shuldiner. 2000. Insulin response to glucose is lower in individuals homozygous for the Arg 64 variant of the β -3-adrenergic receptor. The Jpurnal of Clinical Endocrinology and Metabolism 85(11); 4019-4022.
- World Health Organization. 1999. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complication: Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO, 1999. Technical Report Series 99.2.
- Yang, M., Q. Huang, J. Wu, J. Y. Yin, H. Sun, H. L. Liu, H. H. Zhou and Z. Q. Liu. 2009. Effects of UCP2-866 G/A and ADBR3 Trp64Arg on rosiglitazon response in Chinese patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Br Journal Clinical Pharmacol 68(1); 14-22.
- Yusuf, M. 2007. *Metodologi Penelitian: Dasar-dasar Penyelidikan Ilmiah*. Padang: UNP Press Padang.