

Mutation Analysis Of Rs7903146 Transcription Factor 7 Like 2 (Tcf7l2) Gene In Type Ii Diabetes Mellitus Sufferers Using The Pcr-Rflp Method

Analisis Mutasi Rs7903146 Gen *Transcription Factor 7 Like 2 (Tcf7l2)* Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe Ii Di Sidoarjo Menggunakan Metode Pcr-Rflp

Afilisa Maulidiya¹⁾, Miftahul Mushlih^{*,1)}

¹⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: mif.mushlih @umsida.ac.id

Abstract. *Diabetes mellitus (DM) is a series of metabolic abnormalities characterized by increased blood glucose levels (hyperglycemia), which is caused by impaired insulin release, insulin function. The TCF7L2 gene is a gene associated with susceptibility to type 2 diabetes mellitus (T2). Research by Beloso found mutations in the TCF7L2 gene with variations in the SNP rs7903146, which showed a significant correlation with type 2 diabetes. The purpose of this study was to analyze the rs7903146 mutation of the TCF7L2 gene in T2 patients in the Sidoarjo area using the PCR RFLP method. This study uses a descriptive research type with a qualitative approach. This research was conducted at the Molecular Biology Laboratory, Faculty of Health Sciences, Muhammadiyah University of Sidoarjo, in July-August 2024. The sampling technique used in this study was non-probability sampling, especially the purposive sampling technique at the Bhayangkara Hospital Pusdik Sabhara Porong for 1 month. The method used for analysis is the PCR RFLP method. This study used 18 samples. In this study, there were no mutations..*

Keywords - Diabetes Mellitus Type 2; PCR Rflp Tcf7l2; SNP rs7903146; Sidoarjo

Abstrak. *Diabetes melitus (DM) merupakan serangkaian ketidaknormalan metabolisme yang ditandai oleh peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia), yang diakibatkan oleh gangguan pelepasan insulin, fungsi insulin. Gen TCF7L2 adalah gen terkait kerentanan terhadap diabetes mellitus tipe 2 (DT2). Penelitian oleh Beloso menemukan mutasi pada gen TCF7L2 dengan variasi SNP rs7903146, yang menunjukkan korelasi yang signifikan dengan diabetes tipe 2. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis mutasi rs7903146 gen TCF7L2 pada penderita DT2 di wilayah Sidoarjo dengan metode PCR RFLP. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif dengan pendekatan kualitatif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus 2024. Teknik pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini non probability sampling, khususnya teknik purposive sampling di Rumah Sakit Bhayangkara Pusdik Sabhara Porong selama 1 bulan. Metode yang digunakan untuk analisis yaitu metode PCR RFLP. Penelitian ini menggunakan 18 sampel. Pada penelitian ini terjadi tidak adanya mutasi.*

Kata Kunci - Diabetes Mellitus Tipe 2; PCR Rflp Tcf7l2; SNP rs7903146; Sidoarjo

I. Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) adalah gangguan kronis yang ditandai oleh peningkatan kadar gula darah di atas batas normal. Hal ini disebabkan oleh ketidaknormalan dalam produksi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Oleh karena itu, penanganan yang serius dan tepat diperlukan untuk mengatasi kondisi ini [1]. Diabetes merupakan salah satu penyakit degeneratif yang semakin meluas, baik di negara maju maupun negara berkembang [2].

Langkah pencegahan dan pengelolaan yang efektif sangat penting untuk mencegah komplikasi serius pada organ tubuh dan bahkan kematian akibat diabetes. Salah satu pendekatan adalah dengan memahami faktor-faktor yang memengaruhi terjadinya DM. Hal ini bertujuan untuk pencegahan, memungkinkan seseorang untuk menghindari risiko dan mencegah komplikasi. Selain itu, pemahaman akan faktor-faktor ini juga penting dalam upaya penyembuhan, sehingga deteksi awal kelainan metabolisme dapat mengarah pada pengobatan yang lebih cepat dan efisien, disesuaikan dengan jenis DM yang dialami oleh penderita [3].

DT2 adalah jenis diabetes yang tergantung pada tingkat insulin dan lebih dipengaruhi oleh gaya hidup yang dapat diubah oleh individu. Di negara-negara maju, sekitar 85-95% kasus diabetes diklasifikasikan sebagai DT2, tetapi prevalensinya lebih tinggi di negara-negara dengan tingkat pendapatan rendah dan menengah. Sebagai isu kesehatan global yang penting, DT2 merupakan kondisi yang paling umum [4]. Polimorfisme pada gen TCF7L2

yang terkait dengan DT2 telah diamati dalam berbagai populasi di negara-negara seperti Arab Saudi, Denmark, Islandia, Amerika, dan Malaysia, dengan variasi SNP seperti rs34872471, rs7901695, dan rs35198068. SNP rs7903146, yang berasal dari gen homolog, telah diidentifikasi sebagai salah satu indikator mutasi pada gen TCF7L2 secara umum yang terkait dengan DT2 .

Di Indonesia, telah diidentifikasi bahwa terdapat hubungan antara variasi gen TCF7L2 dan kejadian DT2 pada suku Minangkabau 2018 [5]. Namun, berbeda dengan populasi suku Jawa, khususnya di wilayah Sidoarjo, Jawa Timur, tidak ditemukan beberapa mutasi spesifik pada individu yang mengidap DT2. Berdasarkan penjelasan tersebut, tujuan dari penelitian ini adalah untuk meneliti mutasi gen TCF7L2 pada populasi DT2 di wilayah Sidoarjo [6].

Gaya hidup memiliki peran penting dalam meningkatkan risiko diabetes mellitus tipe 2 (DT2). Selain variasi genetik yang terkait dengan DT2, termasuk gen GCKR (glucokinase regulatory protein) yang mengkodekan protein pengatur glukokinase. Salah satu varian SNP nukleotida tunggal yang memiliki korelasi yang signifikan adalah rs780094 gen GCKR [7]. DT2 terkait dengan kelebihan berat badan atau obesitas, kurangnya aktivitas fisik, dan pola makan yang tidak sehat karena asupan kalori berlebihan. Gaya hidup yang mencakup pola konsumsi tinggi gula dan makanan berkalori tinggi, bersama dengan kebiasaan merokok, semuanya termasuk dalam kategori perilaku tidak sehat yang dapat mengganggu sistem metabolisme tubuh [8].

Gen TCF7L2 adalah sinyal paling kuat terkait kerentanan terhadap DT2. Penelitian oleh Beloso menemukan mutasi pada gen TCF7L2 dengan variasi SNP rs7903146, yang menunjukkan korelasi yang signifikan dengan DT2 [9]. PCR-RFLP merupakan sebuah metode yang memanfaatkan enzim restriksi untuk memotong sekuens DNA secara spesifik, memungkinkan penghasilan hasil yang lebih terperinci [10]. Keuntungan utama dari metode PCR-RFLP adalah kesederhanaan, kecepatan, kekuatan, dan biayanya yang lebih rendah bila dibandingkan dengan penggunaan barcode DNA dengan sekuensing mtDNA. Hal ini ditambah dengan fakta bahwa metode ini hanya memerlukan peralatan dasar seperti thermocycler PCR dan alat elektroforesis [11].

II. METODE

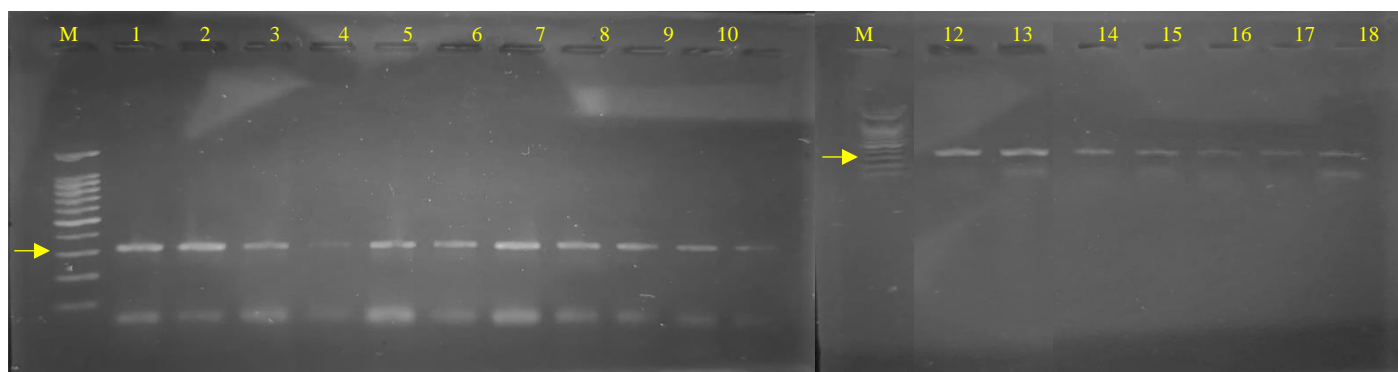
Penelitian ini telah lolos uji etik (*etichal clearence*) di Komisi Etik Penelitian dan Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dengan nomor 056/HRECC.FODM/V/2024. Penelitian ini menggunakan teknik deskriptif dengan cara pendekatan kualitatif. Populasi dalam penelitian ini yaitu pasien penderita DT2 di Rumah Sakit Bhayangkara Pusdik Porong. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara purposive sampling dengan kriteria subyek memiliki riwayat DT2 dengan dibuktikan dokumen pendukung seperti hasil rekam medik pasien, nilai kadar glukosa >200 mg/dl, berjenis kelamin laki-laki atau perempuan berusia ≥ 20 tahun, serta bersedia menjadi subjek penelitian dengan menggunakan *informed consent*. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 18 sampel, penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus 2024. Adapun tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

Preparasi sampel dimulai dengan melakukan makrosampling darah EDTA sebanyak 3cc, kemudian disentrifugasi dalam kecepatan 3500 rpm selama 5 menit. Darah yang telah disentrifugasi kemudian diambil pada bagian buffy coat nya masing-masing diambil sebanyak 200 μL pada tube dan dilakukan isolasi DNA column dengan kit merk TianGen. Kemudian dilanjutkan dengan proses PCR dengan menggunakan alat thermal cycler (Bio-Rad T100) dengan volume 20 μL yang terdiri dari 10 μL PCR Mix, 3 μL DNA, 5,8 μL ddH₂O, 0,6 μL primer forward (5'- GGT AAT GCA GAT GTG ATG AGA TCT-3) dan 0,6 μL pimer reverse (5'-AGA TGA AAT GTA GCA GTG AAG TGC'-3). Dengan tahapan predenaturasi 94° selama 3 menit, denaturasi 94° selama 30 detik, annealing 58° selama 30 detik, extension 72° selama 40 detik, siklus 30 siklus, post extension 72° selama 5 menit. Setelah itu dilakukan dengan Elektroforesis menggunakan gel agrose 1%. dan dilakukan proses PCR RFLP menggunakan enzim restriksi pertama inkubasi pada waterbath selama 4 jam terdiri dari, DNA pcr 10 μL , ddH₂O 17 μL , buffer 10x 2 μL , enzim restriksi 1 μL , setelah inkubasi selama 4 jam inkubasi lagi selama 10 menit dengan suhu 80°. Setelah itu dilakukan elektroforesis 100volt selama 40 menit, dengan menggunakan gel agarose 1%, larutan TBE 100 ml, isi marker terdiri dari 1 μL loading dye, 3 μL ddH₂O, 2 μL marker, untuk isi terdiri dari 1 μL loading dye, 3 μL sampel, 2 μL ddH₂O.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

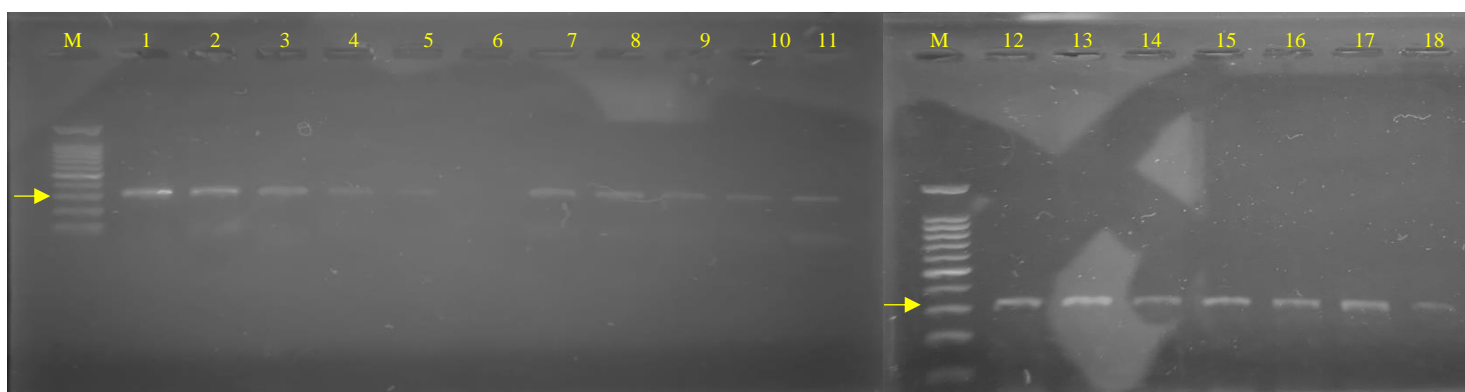
A. Hasil dan Pembahasan

Analisis ini menggunakan 18 sampel pasien yang mempunyai riwayat DT2, untuk menganalisis sampel menggunakan metode PCR-RFLP, metode yang digunakan untuk menganalisis variasi genetika dalam DNA. Pengambilan sampel di lakukan di Rumah Sakit Bhayangkara Sabhara Pusdik Porong.



Gambar 1. Hasil PCR gen TCF7L2 pada 18 sampel penderita DT2
Elektroforesis konsentrasi gel agarose 1%
Ket M: Marker. Panah kuning menunjukkan pita DNA

Gambar 1 hasil PCR menggunakan UV transluminator gen TCF7L2 dengan menggunakan 18 sampel menunjukkan adanya pita DNA pada hasil elektroforesis konsentrasi gel agarose 1% dengan panjang 300bp



Gambar 2. Hasil PCR-RFLP gen TCF7L2 pada 18 sampel penderita DT2 .
Elektroforesis Konsentrasi gel agarose 1%,
Ket : M : Marker. Panah kuning menunjukkan band target gen TCF7L2.

Berdasarkan hasil PCR-RFLP pada Gambar 2 menunjukkan dengan adanya pita DNA spesifik dengan panjang 300bp. Tidak ditemukan mutasi pada sampel 100%. Faktor yang mempengaruhi terjadinya pola hidup yang tidak berubah. Masyarakat yang susah hidup sehat [12].

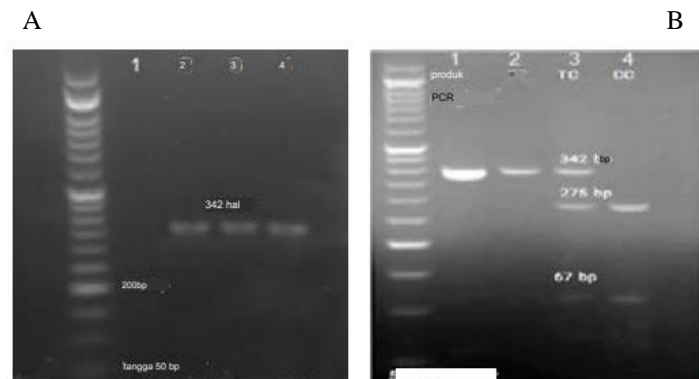
Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keberadaan mutasi pada lokus rs7903146 dari gen TCF7L2, yang telah diidentifikasi sebagai faktor risiko signifikan untuk perkembangan DT2. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada seluruh sampel yang diteliti, tidak ditemukan mutasi. Penelitian analisis mutasi pada sampel diabetes melitus tipe 2 memiliki beberapa manfaat yang signifikan, baik dalam konteks pemahaman dasar penyakit, pencegahan, diagnosis, maupun pengobatan.

Jika terjadi mutasi pada pasien diabetes tipe 2 bisa memberikan wawasan penting mengenai predisposisi genetik pasien terhadap penyakit dan komplikasi yang mungkin terjadi. Ini bisa membantu dalam merancang pengobatan yang lebih dipersonalisasi, serta pencegahan lebih awal. Apabila Jika tidak terjadi mutasi tidak adanya mutasi spesifik tidak berarti bahwa diabetes tidak memiliki basis genetik. Namun, ini menekankan bahwa faktor non-genetik (seperti gaya hidup dan faktor lingkungan) lebih berperan, dan pendekatan pengobatan dan pencegahan akan lebih mengarah pada modifikasi gaya hidup dan manajemen risiko.

Karakteristik pasien yang relevan meliputi beberapa faktor yang dapat mempengaruhi temuan mutasi pada tingkat genetik. Berikut adalah karakteristik yang perlu diperhatikan dalam memilih sampel untuk analisis mutasi pada pasien diabetes melitus tipe diabetes, riwayat keluarga, usia dan waktu diagnosa, komplikasi yang terkait dengan diabetes dan pengobatan respon terhadap penyakit.

Populasi di Sidoarjo tidak mengalami mutasi karena adanya respons sel yang dapat mengenali dan memperbaiki kerusakan dengan menghentikan siklus sel. Hasil ini juga menunjukkan kemungkinan adanya keterkaitan gen lain yang lebih erat. Temuan ini didukung oleh analisis TCF7L2 pada populasi yang sama, di mana tidak ditemukan mutasi [13].

Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa mutasi rs7903146 bervariasi. Pada penelitian sebelumnya tidak ditemukan titik mutasi pada penderita diabetes mellitus tipe 2 dan sampel pasien yang belum menderita DT2 sama-sama mengalami mutasi pada urutan basa nukleotida ke 103950 dengan jenis mutasi transisi C dan T yang di duga penanda genetik diabetes meliitus tipe 2. Sehingga tidak dapat mengidentifikasi pewarisan diabetes mellitus tipe 2 dengan penanda genetik gen TCF7L2 karena polimorfisme pada sampel sama [14].



Gambar 3. A. 1,5 persen gel elektroforesis. Jalur 1, kontrol negatif produk PCR. Jalur 2-4 produk PCR.
A. 3 persen gel elektroforesis produk RFLP. Jalur 1, produk PCR yang tidak tercerna. Jalur 2-4 Produk RFLP

Pada Gambar 3 contoh dari hasil penelitian sebelumnya dengan terjadinya mutasi T-alel tidak dibelah oleh BseGI (enzim restriksi) dan menghasilkan pita 342 bp dan alel T dibelah menjadi dua ikatan 275 bp dan 67 bp[. Perbandingan antara pasien kontrol dan T2DM menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dalam distribusi jumlah dan jenis kelamin [15].

Ketidakadaan mutasi pada rs7903146 dalam sampel membuka kemungkinan untuk mengeksplorasi faktor risiko lain yang dapat berkontribusi pada perkembangan DT2. Dalam analisis lebih lanjut terhadap variasi genetik lain yang mungkin berkontribusi, termasuk gen yang berperan dalam metabolisme glukosa dan respons inflamasi. Selain itu, penelitian jangka panjang dan analisis lebih mendalam mengenai interaksi gen dan lingkungan diperlukan untuk memahami kompleksitas penyakit ini

VII. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini di simpulkan bahwa tidak ada terjadinya mutasi pada mutasi 7903146 dalam gen TCF7L2 pada pasien DT2 di wilayah Sidoarjo. Metode yang digunakan dalam penelitian ini PCR-RFLP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penyusunan, sehingga terselesaikannya penelitian dengan baik, termasuk Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah memberikan izin dan membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Serta semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian. Penulis berharap artikel ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembacanya.

REFERENSI

- [1] W.-K. Chen, *Linear Networks and Systems*. Belmont, CA: Wadsworth, 1993, pp. 123-135.
- [2] R. Hayes, G. Pisano, D. Upton, and S. Wheelwright, *Operations, Strategy, and Technology: Pursuing the competitive edge*. Hoboken, NJ: Wiley, 2005.
- [3] *The Oxford Dictionary of Computing*, 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2003.
- [4] A. Rezi and M. Allam, "Techniques in array processing by means of transformations, " in *Control and Dynamic Systems*, Vol. 69, Multidemsional Systems, C. T. Leondes, Ed. San Diego: Academic Press, 1995, pp. 133-180.

- [5] O. B. R. Strimpel, "Computer graphics," in *McGraw-Hill Encyclopedia of Science and Technology*, 8th ed., Vol. 4. New York: McGraw-Hill, 1997, pp. 279-283.
- [6] H. Ayasso and A. Mohammad-Djafari, "Joint NDT Image Restoration and Segmentation Using Gauss–Markov–Potts Prior Models and Variational Bayesian Computation," *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 19, no. 9, pp. 2265-77, 2010. [Online]. Available: IEEE Xplore, <http://www.ieee.org>. [Accessed Sept. 10, 2010].
- [7] A. Altun, "Understanding hypertext in the context of reading on the web: Language learners' experience," *Current Issues in Education*, vol. 6, no. 12, July 2003. [Online]. Available: <http://cie.ed.asu.edu/volume6/number12/>. [Accessed Dec. 2, 2004].
- [8] H. Imron, R. R. Isnanto and E. D. Widiyanto, "Perancangan Sistem Kendali pada Alat Listrik Rumah Tangga Menggunakan Media Pesan Singkat (SMS)". *Jurnal Teknologi dan Sistem Komputer*, vol.4, no. 3, pp. 454-462, Agustus 2016. [Online]. doi: <http://dx.doi.org/10.14710/4.3.2016.454-462>. [Diakses 4 September 2016].
- [9] J. R. Beveridge and E. M. Riseman, "How easy is matching 2D line models using local search?" *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 19, pp. 564-579, June 1997.
- [10] E. H. Miller, "A note on reflector arrays," *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, to be published.
- [11] L. Liu and H. Miao, "A specification based approach to testing polymorphic attributes," in *Formal Methods and Software Engineering: Proc. of the 6th Int. Conf. on Formal Engineering Methods, ICFEM 2004, Seattle, WA, USA, November 8-12, 2004*, J. Davies, W. Schulte, M. Barnett, Eds. Berlin: Springer, 2004. pp. 306-19.
- [12] J. Lach, "SBFS: Steganography based file system," in *Proc. of the 2008 1st Int. Conf. on Information Technology, IT 2008, 19-21 May 2008, Gdansk, Poland* [Online]. Available: IEEE Xplore, <http://www.ieee.org>. [Accessed: 10 Sept. 2010].
- [13] H. A. Nimr, "Defuzzification of the outputs of fuzzy controllers," presented at 5th Int. Conf. on Fuzzy Systems, 1996, Cairo, Egypt. 1996.
- [14] T. J. van Weert and R. K. Munro, Eds., *Informatics and the Digital Society: Social, ethical and cognitive issues: IFIP TC3/WG3.1&3.2 Open Conf. on Social, Ethical and Cognitive Issues of Informatics and ICT*, July 22-26, 2002, Dortmund, Germany. Boston: Kluwer Academic, 2003.
- [15] R. E. Sorace, V. S. Reinhardt, and S. A. Vaughn, "High-speed digital-to-RF converter," U.S. Patent 5 668 842, Sept. 16, 1997.
- [16] European Telecommunications Standards Institute, "Digital Video Broadcasting (DVB): Implementation guidelines for DVB terrestrial services; transmission aspects," *European Telecommunications Standards Institute*, ETSI TR-101-190, 1997. [Online]. Available: <http://www.etsi.org>. [Accessed: Aug. 17, 1998].
- [17] "A 'layman's' explanation of Ultra Narrow Band technology," Oct. 3, 2003. [Online]. Available: <http://www.vmsk.org/Layman.pdf>. [Accessed: Dec. 3, 2003].
- [18] G. Sussman, "Home page - Dr. Gerald Sussman," July 2002. [Online]. Available: <http://www.comm.pdx.edu/faculty/Sussman/sussmanpage.htm>. [Accessed: Sept. 12, 2004].
- [19] *FLEXChip Signal Processor (MC68175/D)*, Motorola, 1996.
- [20] A. Karnik, "Performance of TCP congestion control with rate feedback: TCP/ABR and rate adaptive TCP/IP," M. Eng. thesis, Indian Institute of Science, Bangalore, India, Jan. 1999.
- [21] F. Sudweeks, *Development and Leadership in Computer-Mediated Collaborative Groups*. PhD [Dissertation]. Murdoch, WA: Murdoch Univ., 2007. [Online]. Available: Australasian Digital Theses Program.
- [22] J. Padhye, V. Firoiu, and D. Towsley, "A stochastic model of TCP Reno congestion avoidance and control," Univ. of Massachusetts, Amherst, MA, CMPSCI Tech. Rep. 99-02, 1999.
- [23] *Wireless LAN Medium Access Control (MAC) and Physical Layer (PHY) Specification*, IEEE Std. 802.11, 1997.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.