

ABSTRAK

IDENTIFIKASI FRAGMEN DNA MITOKONDRIA PADA PENDERITA THALASSEMIA DARI SEL FOLIKEL AKAR RAMBUT

DNA mitokondria (mtDNA) manusia memiliki sejumlah sifat genetik khas yang berbeda dari genom inti yang dimanfaatkan dalam identifikasi penurunan hubungan kekerabatan, studi evolusi dan migrasi global manusia modern, bidang forensik dan penyakit genetik. Thalassemia merupakan penyakit kongetal hereditas yang diturunkan secara autosomal berdasarkan kelainan hemoglobin, yaitu ketika satu atau dua rantai Hb kurang atau tidak terbentuk secara sempurna sehingga terjadi anemia hemolitik. Kelainan hemolitik ini mengakibatkan kerusakan pada sel darah merah di dalam pembuluh darah sehingga umur eritrosit menjadi pendek. Pada penelitian ini digunakan sampel akar rambut dari keturunan penderita thalassemia yang dijadikan sebagai cetakan amplifikasi fragmen DNA mitokondria manusia. Tahapan yang dilakukan meliputi lisis terhadap sampel akar rambut, amplifikasi fragmen DNA dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), analisis hasil PCR dengan elektroforesis gel agarosa, penentuan konsentrasi dan kemurnian hasil PCR, dan mutasi yang terjadi pada daerah *D-Loop* DNA mitokondria. Amplifikasi fragmen DNA dengan primer M1 dan HV2R menghasilkan DNA berukuran 1 kb. Penentuan kuantitas DNA dilakukan menggunakan *Nano Quant Plate Tecan M 200 Pro* berdasarkan prinsip spektrofotometri pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm menghasilkan kemurnian sampel hasil PCR berada pada ratio 1,75 – 20 menunjukkan DNA yang murni. Urutan nukleotida dari daerah *D-Loop* DNA mitokondria dianalisis melalui sekuensing dengan metode dideoksi sanger menggunakan primer M1. Analisis hasil sekuensing dilakukan dengan membandingkan urutan nukleotida sampel dengan urutan nukleotida dari *National Center of Biotechnology Information* (NCBI), yang menunjukkan adanya 8 mutasi pada penderita thalassemia, yaitu c(16141)G, t(16261)G, g(16561)A, a(15961)G, c(16201)G, t(16261)G, a(16321)T, g(16381)A. Pada *carrier* ayah dan ibu masing-masing terjadi 1 mutasi t(59)C dan g(142)A, sedangkan individu normal tidak terjadi mutasi.

Kata-kata kunci: Dideoksi sanger; *D-Loop*; Kemurnian DNA; mtDNA; Mutasi; PCR; Sekuensing; Thalassemia.

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF MITOCHONDRIAL DNA FRAGMENTS IN THALASSEMIA PATIENTS FROM HAIR ROOT FOLLICLE CELLS

Human mitochondrial DNA (mtDNA) has a number of distinct genetic traits that are different from the core genome that is utilized in the identification of a decrease in kinship, the study of evolution and global migration of modern humans, the field of forensics and genetic diseases. Thalassemia is a hereditary congenital disease that is inherited autosomally based on hemoglobin abnormalities, where one or two Hb chains are lacking or not formed properly so that hemolytic anemia occurs. This hemolytic disorder results in damage to red blood cells in the blood vessels so that the age of erythrocytes becomes short. In this study, hair root samples from thalassemia offspring were used as a template for amplification of human mitochondrial DNA fragments. The steps taken include lysis of hair root samples, amplification of DNA fragments by Polymerase Chain Reaction (PCR) method, analysis of PCR results with agarose gel electrophoresis, determination of PCR concentration and purity, and mutations that occur in the mitochondrial DNA D-Loop. Amplification of DNA fragments with M1 and HV2R primers produces 1 kb DNA. Determination of DNA quantity was carried out using Nano Quant Plate Tecan M 200 Pro based on spectrophotometer principles at wavelengths of 260 nm and 280 nm resulting in the purity of PCR samples at a ratio of 1.75-20 showing pure DNA. The nucleotide sequence of the mitochondrial DNA D-Loop region was analyzed through sequencing by the didioxy sanger method using M1 primers. Analysis of sequencing results was done by comparing the sequence of nucleotide samples with the sequence of nucleotides from the National Center of Biotechnology Information (NCBI), which showed 8 mutations in patients with thalassemia, namely c(16141)G, t(16261)G, g(16561)A, a(15961)G, c(16201)G, t(16261)G, a(16321)T, g(16381) A. In the father and mother carrier each of 1 mutations occur t(59)C and g(142)A, whereas normal individuals do not occur mutations.

Keywords: Dideoksi sanger; D-Loop; DNA purity; mtDNA; Mutation; PCR; D-Loop; DNA purity; Sequencing; Thalassemia.