

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu organel sel yang mempunyai peranan sangat vital dalam sel adalah mitokondria, hal ini tidak terlepas dari fungsi utamanya sebagai penghasil energi bagi sel. Mitokondria menghasilkan energi dengan jalan mentransfer elektron yang bersumber dari makanan ke dalam sistem rantai respirasi yang melibatkan berbagai macam protein kompleks. Sebagian besar protein yang terdapat dalam mitokondria dikode oleh DNA inti. Meskipun demikian, pada mitokondria sendiri terdapat DNA yang memiliki sistem replikasi otonom dan terpisah dari DNA inti, dimana DNA ini juga ternyata mengkode beberapa protein respirasi [1].

DNA mitokondria (mtDNA) bersama-sama dengan DNA inti berperan dalam menyandi kompleks enzim respirasi yang sangat diperlukan untuk transfer elektron pada proses fosforilasi oksidasi dalam menghasilkan energi ATP. Hasil samping dari fosforilasi oksidatif berupa radikal oksigen. Radikal oksigen ini bersifat mutagenik sehingga memicu terjadinya mutasi. Mutasi pada mtDNA dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit genetik yang dikenal dengan penyakit mitokondria [3]. Karakteristik mtDNA ini sangat berguna pada situasi ketika jumlah DNA dalam sampel sangat terbatas, seperti sampel-sampel yang diambil dari kasus kriminal yaitu rambut, tulang, gigi, cairan tubuh (air liur, air mani, darah) [4].

DNA mitokondria (mtDNA) manusia memiliki sejumlah sifat genetik khas yang membedakannya dari genom inti. Pada mamalia, DNA mitokondria hanya diturunkan melalui jalur ibu tanpa rekombinasi. mtDNA pada sel anak seluruhnya disumbangkan oleh ibu dan sperma sama sekali tidak berkontribusi. Keunikan sistem penurunan yang menarik ini telah dimanfaatkan dalam berbagai bidang yaitu penurunan hubungan kekerabatan, studi evolusi dan migrasi global manusia modern, bidang forensik dan identifikasi penyakit genetik [2].

Pada penelitian-penelitian terbaru, varian mtDNA biasa digunakan untuk mempelajari keterkaitan antara mutasi genetik dengan berbagai jenis penyakit, terutama varian pada daerah D-Loop. D-Loop merupakan daerah *non coding*

(bukan pengkode) pada bagian mtDNA yang memiliki laju mutasi paling tinggi, sehingga urutan nukleotida pada daerah D-Loop sangat bervariasi antar individu. D-Loop terdiri dari dua daerah, yaitu *Hypervariable I* (HVI) dan *Hypervariable II* (HVII) [5].

Penyakit thalassemia dapat ditemukan terutama di kawasan Mediterania, Afrika dan Asia Tenggara dengan frekuensi sebagai pembawa gen sekitar 5-30%. Berdasarkan laporan Badan Kesehatan Dunia (WHO), sekitar 7% penduduk dunia diduga carrier thalassemia dan sekitar 300-500 ribu bayi lahir dengan kelainan ini setiap tahunnya. Penderita thalassemia tertinggi ada di negara-negara tropis, namun dengan tinggi angka migrasi penyakit ini juga ditemukan diseluruh dunia [6].

Penyakit thalassemia saat ini mengalami peningkatan yang sangat besar karena adanya pernikahan antara pembawa sifat yang tidak diketahui dari awal. Thalassemia perlu mendapat perhatian, karena jumlah penderitanya di Indonesia yang terus meningkat setiap tahunnya diperkirakan jumlah pembawa sifat thalassemia di Indonesia sekitar 8-10% dari jumlah populasi [7]. Sehingga penelitian ini dikhususkan untuk menentukan dan menganalisis urutan nukleotida ukuran 1,0 kb daerah D-Loop mtDNA manusia penderita thalassemia di Indonesia.

Beberapa penelitian yang berkaitan dengan mtDNA pada penyakit thalassemia telah dilakukan sebelumnya oleh para peneliti. Li Du (2019) menganalisis hubungan genetik dan fenotip pada enam keluarga penderita thalassemia di Guangzhou, China menunjukkan bahwa faktor keturunan dapat mempengaruhi keparahan secara klinis pada penderita thalassemia [8]. Penelitian lainnya oleh Furqan (2019) menemukan urutan nukleotida 861 pb pada enam pasien thalassemia di iraq menunjukkan 6 mutasi diantaranya -88(C>T), kodon 15 (G>A), IVS-1-5(G>C), 8-9 (+G), 30(G>C) dan 8 del-AA) [9]. Penelitian ini merupakan bagian dari upaya mendapatkan urutan nukleotida daerah D-Loop DNA mitokondria pada penderita thalassemia menggunakan primer M1 dan HV2R dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pemeriksaan terhadap pembawa sifat thalassemia sangat efektif untuk menekan jumlah populasi penderita, yang dilanjutkan dengan deteksi letak mutasi dengan metode

sekuensing. Hasil yang diperoleh dapat dijadikan acuan skala besar dalam menentukan pola genetik mtDNA.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka permasalahan yang perlu dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Berapa konsentrasi dan kemurnian sampel hasil amplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)?
2. Bagaimana mutasi yang terjadi pada daerah *D-Loop* DNA mitokondria individu penderita thalassemia, *carrier* dan individu normal dengan pembandingan *National Center of Biotechnology Information* (NCBI)?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan permasalahan yang telah dirumuskan, penelitian ini akan dibatasi pada beberapa masalah berikut:

1. DNA mitokondria yang digunakan berasal dari akar rambut individu penderita thalassemia, keluarga penderita dan normal diluar penderita.
2. Isolasi DNA mitokondria menggunakan buffer lisis.
3. Amplifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada daerah *D-Loop* menggunakan primer M1 dan HV2R.
4. Identifikasi ukuran fragmen DNA mitokondria menggunakan *marker GenRuler 1 Kb DNA Ladder*.
5. Sekuensing hasil PCR menggunakan metode *Dideoksi Sanger* dengan primer M1.
6. Analisis urutan nukleotida hasil sekuensing menggunakan program *SeqMan Pro DNA*.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang diajukan, tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan konsentrasi dan kemurnian sampel DNA hasil PCR.
2. Menentukan mutasi yang terjadi pada daerah *D-Loop* DNA mitokondria individu penderita thalassemia, *carrier* dan individu normal dengan pembandingan *National Center of Biotechnology Information* (NCBI).

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan memberikan informasi untuk pewarisan genetik pada penyakit keturunan yang dapat dimanfaatkan dalam bidang kedokteran, dan bidang forensik. Serta menjadi sumber informasi untuk penelitian dengan tema yang serupa dimasa mendatang.

