

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

DNA mitokondria (mtDNA) manusia memiliki sejumlah sifat genetik khas yang membedakannya dari genom inti. Pada mamalia, mtDNA hanya diturunkan melalui jalur ibu tanpa rekombinasi. DNA mitokondria pada sel anak seluruhnya disumbangkan oleh ibu dan sperma sama sekali tidak berkontribusi [1]. 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].

Lebih dari 3000 penyakit manusia diketahui disebabkan oleh adanya cacat pada satu gen tunggal. Selain itu, banyak proses penyakit dipengaruhi oleh latar belakang genetik (*genetic background*) si penderita. Sering kali ditemui adanya interaksi yang kompleks antara faktor lingkungan dan predisposisi genetik. Salah satu diantaranya adalah penyakit asma. Asma termasuk golongan penyakit yang menjadi masalah kesehatan umum utama [3].

Asma adalah penyakit radang kronis dan prevalensinya masih meningkat di seluruh dunia [4]. Banyak rangsangan lingkungan yang telah diketahui, misalnya; paparan asap rokok atau alergi tertentu. Sementara para peneliti telah menemukan asosiasi mitokondria yang signifikan haplogroup U dengan peningkatan kadar IgE dan asma [5] serta disfungsi mitokondria yang dikaitkan dengan peningkatan inflamasi saluran napas alergi [6]. Juga telah diamati risiko asma untuk anak, ibu dengan asma lebih tinggi dibandingkan dengan ayah [7]. Satu penjelasan untuk peningkatan penularan melalui perempuan mungkin merupakan keterlibatan genom mitokondria yang secara dominan diwariskan secara maternal.

Mitokondria memainkan peran penting dalam proses inflamasi. Telah diketahui bahwa asma ditandai oleh peradangan kuat pada saluran udara yang akhirnya mengarah ke remodeling paru. Peradangan dipicu oleh pemaparan sel epitel saluran napas terhadap stres oksidatif yang dimediasi oleh apa yang disebut spesies oksigen reaktif (ROS) [8]. ROS endogen terutama dihasilkan oleh mitokondria. Jadi disfungsi mitokondria dapat menyebabkan kelebihan ROS dan

meningkatkan peradangan. Sebaliknya, ROS yang berlebihan dapat merusak mitokondria sampai terjadi apoptosis sel epitel bronkial. Dengan cara ini peradangan alergi sel-sel epitel bronkial dapat menyebabkan disfungsi dan remodeling saluran udara selama asma [9].

DNA mitokondria manusia memiliki sejumlah sifat genetik khas yang dibedakan dari genom inti, diantaranya adalah memiliki laju mutasi yang lebih tinggi yaitu sekitar 10-17 kali DNA inti [10]. MtDNA terdapat lebih dari 1000 kopi dalam tiap sel, sedangkan DNA inti hanya berjumlah 2 kopi. DNA inti merupakan hasil rekombinasi DNA kedua orang tua sedangkan mtDNA hanya diwariskan dari ibu. MtDNA memiliki daerah pengkode dan daerah non pengkode. DNA mitokondria mengandung 37 gen pengkode untuk rRNA, 22 tRNA, dan 13 polipeptida yang merupakan subunit kompleks enzim yang terlibat dalam fosforilasi oksidatif. Daerah yang tidak mengkode yaitu *D-Loop*. *D-Loop* memiliki dua daerah yaitu Hipervariabel 1 (HV1) dan hipervariabel 2 (HV2) [11].

Daerah Hipervariabel 1 (HV1) bersifat sangat variatif (mempunyai urutan basa nukleotida yang bervariasi) dan mempunyai laju evolusi lima kali lebih cepat dibandingkan dengan daerah Hipervariabel 2 (HV2) dalam genom mitokondria. Keunikan daerah HV1 adalah memiliki tingkat polimorfisme (substitusi basa) yang tinggi dalam DNA mitokondria (mtDNA). Daerah *D-Loop* ini sangat beragam antara individu satu dengan individu lainnya, baik itu individu penderita penyakit genetik seperti asma [11].

Analisis untuk membuat jutaan kopi DNA dari sampel biologis digunakan metode *Polymerase chain reaction* (PCR). Amplifikasi DNA menggunakan PCR hanya membutuhkan sedikit sampel dan dapat diperoleh dari sampel seperti rambut. Kemampuan PCR untuk mengamplifikasi sejumlah kecil DNA memungkinkan untuk menganalisis sampel yang sudah terdegradasi sekalipun. Namun, tetap saja harus dicegah kontaminasi dengan materi biologis yang lain selama melakukan identifikasi, dan menyiapkan sampelnya [12]. Tes DNA dilakukan dengan cara mengambil DNA dari kromosom sel tubuh (autosom) yang mengandung area STR (*short tandem repeats*), suatu area ini tidak memberi kode untuk melakukan sesuatu. STR inilah yang bersifat unik karena berbeda pada setiap orang. Perbedaannya

terletak pada urutan pasang basa yang dihasilkan dan urutan pengulangan STR. Pola STR ini diwariskan dari orang tua.

Untuk mengetahui ukuran fragmen DNA dari produk PCR dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel. Metode elektroforesis gel didasarkan pada pergerakan molekul bermuatan dalam media penyanggah matriks stabil di bawah pengaruh medan listrik. Media yang umum digunakan adalah gel agarosa atau *polyacrylamide*. Elektroforesis gel agarosa digunakan untuk memisahkan fragmen DNA yang berukuran lebih besar dari 100 pb dan dijalankan secara horizontal, sedangkan elektroforesis *acrylamide* dapat memisahkan 1 pb dan dijalankan secara vertikal [13].

Mengingat fungsi dan peran penting mitokondria pada peradangan saluran napas alergi yang mungkin dalam warisan asma pada ibu, tujuan dari penelitian ini adalah upaya mendapatkan ukuran fragmen mtDNA manusia pada penderita penyakit asma dengan menggunakan 2 jenis primer yaitu pada sampel sel folikel akar rambut dengan primer M1 dan HV2R menggunakan elektroforesis gel agarosa, serta mengidentifikasi urutan nukleotida dari fragmen yang diperoleh metode dideoksi Sanger.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka permasalahan yang perlu dirumuskan adalah; bagaimana mutasi yang terjadi pada daerah *D-Loop* mtDNA manusia pada penderita asma dan normal?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Sampel yang digunakan adalah sel folikel akar rambut dari individu penderita asma dan normal sebagai kontrol.
2. Lisis sel yang digunakan yaitu *buffer* Lisis.
3. Metode yang digunakan untuk mengamplifikasi fragmen *D-Loop* mtDNA manusia dengan metode PCR menggunakan primer M1 dan HV2R.

4. Penentuan ukuran fragmen hasil PCR menggunakan *marker GeneRuler 1 Kb DNA Ladder*.
5. Menentukan urutan nukleotida dengan sekuensing menggunakan metode dideoksi Sanger.
6. Menganalisis data menggunakan program *SeqMan DNASTAR*.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang diajukan, tujuan dilakukannya penelitian ini adalah mengidentifikasi mutasi yang terjadi pada daerah *D-Loop* mtDNA manusia pada penderita asma dan normal.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan memberikan informasi mengenai profil genetik DNA mitokondria manusia pada penderita penyakit asma serta dapat dimanfaatkan dalam bidang kedokteran dan bidang forensik.





uin
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
SUNAN GUNUNG DJATI
BANDUNG