

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Molekul DNA merupakan rantai polinukleotida berbentuk heliks ganda yang mempunyai beberapa jenis basa purin dan pirimidin [1]. *Deoxyribonucleic acid* (DNA) merupakan pembawa sifat genetik dan merupakan polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis dalam bentuk kodon berupa tiga pasang basa nukleotida. DNA mitokondria (mtDNA) terdapat di dalam mitokondria, yaitu suatu organel sel yang berfungsi menghasilkan energi untuk kebutuhan aktivitas sel. Mitokondria adalah organela yang terletak di dalam sitoplasma sel eukriota. Struktur organela ini berupa kantung yang diselimuti oleh dua membran yaitu membran dalam dan membran luar. Genom mtDNA manusia berbentuk sirkuler dengan panjang 16.569 bp [2].

Dalam proses sintesis protein, DNA menyediakan informasi genetik yang diperlukan oleh sel untuk dapat berfungsi secara fungsional dan struktural. Terkadang, bisa terjadi perubahan acak pada suatu bagian DNA yang disebut mutasi. Mutasi adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk yang terjadi secara tidak direncanakan, acak, dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan (*heritable*). Istilah mutasi pertama kali dipergunakan oleh Hugo de Vries, untuk mengemukakan adanya perubahan fenotip yang tidak direncanakan pada bunga *Oenothera lamarckiana* dan bersifat menurun. Ternyata perubahan tersebut terjadi karena adanya penyimpangan dari kromosomnya [3].

Mutasi merupakan sebuah perubahan dalam jumlah atau struktur DNA dari sebuah organisme [4]. Setiap mitokondria mengandung 2-10 mtDNA. Laju mutasi mtDNA lebih tinggi daripada nDNA (DNA inti) sehingga bermanfaat untuk identifikasi. Mitokondria ditemukan dalam jumlah banyak pada bagian ekor sperma, sel otot jantung, dan sel-sel yang aktif membelah seperti sel epitel, sel folikel akar rambut dan sel epidermis. Hal ini erat kaitannya dengan proses oksidasi zat-zat makanan yang menghasilkan energi dalam bentuk adenosin tripofat (ATP) yang merupakan sumber energi kimia sel [5].

DNA mitokondria diwariskan melalui garis keturunan ibu. Hal ini terjadi karena hampir tidak adanya rekombinasi DNA mitokondria dari ayah dan DNA mitokondria dari ibu saat pembuahan sel telur oleh sperma. Saat terjadi pembuahan, bagian ekor sperma dilepaskan sehingga hampir tidak ada DNA mitokondria dari ayah yang masuk ke dalam sel telur. Selain itu, jumlah kopi mtDNA sel sperma sangat rendah (100-500) sedangkan sel telur memiliki jumlah kopi mtDNA yang tinggi (≥ 100000) [6]. Oleh karena itu, mtDNA bersifat haploid yaitu karena diturunkan dari ibu ke seluruh keturunannya [7].

Gangguan fungsi mitokondria dapat terjadi dan diturunkan jika ada gen nDNA dan mtDNA yang membawa mutasi. Penurunan fungsi mitokondria akibat akumulasi radikal bebas di dalam organel mitokondria dapat mempercepat kematian sel yang akhirnya menyebabkan penyakit mitokondria. Beberapa penyakit yang umum terjadi akibat mutasi mtDNA yaitu MELAS (*mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke syndrome*), MIDD (*maternally inherited diabetes and deafness*), LHON (*Leber's hereditary optic neuropathy*), miopati, diabetes mellitus, hingga katarak.

Mutasi homoplasm DNA mitokondria terutama pada gen ND1, diketahui dapat menyebabkan penyakit. Mutasi homoplasm pada gen ND1 (3460, 4136, 4160) berkorelasi dengan LHON di beberapa keluarga. Selain itu, mutasi gen ND1 ditemukan terkait dengan diabetes tipe 2, gejala interval QT yang panjang, miopati mitokondria, MELAS, dan penyakit Parkinson. Salah satu penelitian menemukan mutasi gen ND1 pada 3460 menyebabkan penurunan fungsi reduktif. N-terminal ND1 adalah domain konservatif yang terkait dengan pengikatan koenzim Q dan deoksidasi [8].

Penyakit diabetes melitus tipe 2 ada hubungannya dengan mitokondria. Mitokondria berpengaruh dalam sekresi insulin dari sel β pankreas dan sekresi insulin oleh sel β pankreas sangat bergantung pada sintesis adenosin trifosfat (ATP) melalui fosforilasi oksidatif mitokondria [9]. Diabetes mellitus tipe 2 salah satunya disebabkan oleh faktor genetik. Faktor genetik ini menyebabkan berbagai gangguan baik pada hormon insulin maupun reseptor (penerima sinyal) insulin yang terdapat pada sel-sel tubuh. Pada reseptor sel, faktor genetik tersebut membuatnya bermutasi sehingga kesulitan untuk mengikat insulin.

Pada penyakit diabetes mellitus, gula menumpuk dalam darah sehingga gagal masuk ke dalam sel. Kegagalan tersebut terjadi akibat hormon insulin jumlahnya kurang atau cacat fungsi. Hormon insulin merupakan hormon yang membantu masuknya gula darah [10]. Kenaikan kadar gula darah atau disebut hiperglikemia adalah efek yang tidak terkontrol dari diabetes dan dalam waktu panjang dapat terjadi kerusakan yang serius pada beberapa sistem tubuh, khususnya pada pembuluh darah jantung (penyakit jantung koroner), mata (dapat terjadi kebutaan), ginjal (dapat terjadi gagal ginjal), dan syaraf (dapat terjadi *stroke*) [11].

Untuk mengetahui perbedaan mutasi terkait diabetes mellitus tipe 2, perlu dilakukan analisis terhadap sekuens DNA penderita diabetes mellitus tipe 2 dengan teknik *sequence alignment*. Penyejajaran DNA dapat dilakukan antar dua barisan (*pairwise alignment*) dan lebih dari dua barisan (*multiple alignment*) [12].

Sequence alignment (penyejajaran sekuens) merupakan teknik untuk menemukan bagian dari sekuens yang sama dan bagian yang berbeda. Dengan teknik *sequence alignment* diperoleh *subsequence* identik yang kemudian dilakukan analisis dan disimpulkan kemiripannya sebagai dasar untuk pemetaan data fisik dan genetika [13].

Salah satu perangkat lunak yang digunakan untuk penyejajaran sekuens adalah perangkat lunak MEGA X. Perangkat lunak MEGA X (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) merupakan program aplikasi komputer yang didesain untuk membandingkan dan menganalisis sekuens gen yang homolog, baik berupa sekuens DNA maupun protein. Sekuens yang dianalisis dapat berupa hasil penelitian yang dibandingkan dengan sekuens dari Genbank, seperti NCBI.

National Centre for Biotechnology Information (NCBI) merupakan server yang memuat basis data tentang informasi kesehatan dan bioteknologi. Basis data ini terus-menerus dilakukan perbaruan sesuai dengan penemuan-penemuan terkini yang menyangkut DNA, protein, senyawa aktif, dan taksonomi. Selain basis data, NCBI juga menyediakan berbagai macam perangkat lunak untuk analisis DNA, protein 3D, pencarian primer, pencarian *conserve domain*, dan lain sebagainya. NCBI merupakan salah satu bank data gen, protein, dan literatur khususnya dibidang kesehatan yang terlengkap dan diacu oleh para peneliti di dunia.

Penelitian-penelitian mengenai penyejajaran sekuens telah banyak dilakukan, terutama untuk analisis lanjutan berupa analisis filogenetik atau analisis kekerabatan. Namun analisis sekuens dengan teknik *sequence alignment* yang dilakukan terhadap sekuens manusia penderita penyakit tertentu, masih jarang ditemukan.

Penelitian mengenai diabetes yang berkaitan dengan mutasi mtDNA masih dilakukan hingga saat ini dengan alasan bahwa keterkaitan secara maternal penderita diabetes dengan anggota keluarga yang masih sehat memiliki kecenderungan resiko tinggi untuk diwariskan sehingga sangat menguntungkan apabila dilakukan diagnosis dini. Analisis sekuens terhadap manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 perlu dilakukan untuk mengetahui mutasi apa saja yang menandai adanya kemungkinan seseorang terkena penyakit tersebut. Berbeda dengan diabetes tipe 1 yang gejalanya bisa timbul secara tiba-tiba dan bisa berkembang dengan cepat, diabetes mellitus tipe 2 justru tidak menunjukkan gejala-gejala selama beberapa tahun, sehingga pengetahuan mengenai mutasi terkait diabetes mellitus tipe 2 sangat membantu dalam diagnosis dini.

Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan analisis sekuens dengan teknik *sequence alignment* terhadap manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 pada gen ND1 mitokondria, yang selanjutnya dilakukan identifikasi perbedaan mutasi tersebut dan dibandingkan dengan mutasi DNA mitokondria pada manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 dan komplikasi yang telah dipublikasikan melalui jurnal penelitian. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai perbedaan mutasi DNA mitokondria pada manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 dan komplikasi serta hasil identifikasi perbedaan mutasi dapat dijadikan acuan dalam skala besar untuk menentukan pola genetik DNA mitokondria manusia.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Bagaimana analisis sekuens dengan teknik *sequence alignment* pada gen ND1 mitokondria manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 menggunakan perangkat lunak?
2. Bagaimana perbedaan mutasi pada gen ND1 mitokondria manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 hasil analisis menggunakan perangkat lunak?
3. Bagaimana perbedaan mutasi DNA mitokondria manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 dan komplikasi dari jurnal penelitian 10 tahun terakhir?

1.3 Batasan Masalah

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

1. Identifikasi perbedaan mutasi DNA mitokondria pada manusia penderita diabetes mellitus dan komplikasi dilakukan dengan cara mereview hasil penelitian yang dipublikasikan melalui jurnal nasional dan internasional dengan tahun terbit 10 tahun terakhir, serta hasil penyejajaran sekuens yang dilakukan menggunakan perangkat lunak.
2. Teknik *sequence alignment* dilakukan untuk analisis sekuens dengan data masukan berupa data sekuens DNA penderita diabetes mellitus pada gen ND1 yang diperoleh dari GenBank NCBI.
3. Panjang sekuens gen ND1 mitokondria yang dianalisis yaitu antara 500-550 pasang basa.
4. Proses penyejajaran sekuens dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MEGA X.

1.4 Tujuan Penelitian

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

1. Menganalisis sekuens dengan teknik *sequence alignment* pada gen ND1 mitokondria manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 menggunakan perangkat lunak.
2. Mengidentifikasi perbedaan mutasi pada gen ND1 mitokondria manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 hasil analisis menggunakan perangkat lunak.

3. Mengidentifikasi perbedaan mutasi DNA mitokondria manusia penderita diabetes mellitus tipe 2 dan komplikasi dari jurnal penelitian 10 tahun terakhir.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan memberikan informasi mengenai profil genetik DNA mitokondria manusia pada keturunan penderita diabetes mellitus tipe 2 dan komplikasi. Selain itu, hasil yang diperoleh dapat dimanfaatkan dalam bidang kedokteran dan bidang *forensic* untuk dijadikan standar dalam identifikasi mtDNA.

