

## Analisis Gen TCF7L2 (*Trancription Factor 7 Like 2*) Pada Keluarga Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Kecamatan Tanggulangin, Kabupaten Sidoarjo

Miftahul Mushlih<sup>1)</sup> \*, Siti Asriani Iknan<sup>1)</sup>, Hindah Sabrina Amin<sup>1)</sup>, Bayu Segara & Siti Cholifah<sup>2)</sup>

- 1) Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia.
- 2) Pendidikan Profesi Bidan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia.

Correspondence to: mif.mushlih@umsida.ac.id

### ABSTRACT (bahasa inggris)

Tanggal Submit:  
26 Agustus 2020

Tanggal Review:  
5 November 2020

Tanggal Publish  
Online:  
10 Desember 2020

Diabetes mellitus is a metabolic disorder characterized by not produced insulin or disruption of insulin action. Diabetes mellitus was reported correlated with TCF7L2 gene mutation. This study aimed to analyze the TCF7L2 gene in families with type 2 diabetes. 5 samples were used in this study, the methods flow through DNA Isolation, PCR, and sequencing. Samples were amplified by the PCR technique using primers that were designed to detect the TCF7L2 gene, (F: 5'-GGCTTGATTGTTGATTATGGGC3' and R:5 'TCTGGCACTCAGAGAGT 3'). The amplification and sequencing resulted in 368 bp (located at 103631-103972 bp). We found a transition mutation at C103950T. The polymorphisms found may characteristic in this population because they are not found in other sequences.

**Keywords** : Diabetes mellitus, TCF7L2 gene, mutation

### PENDAHULUAN / INTRODUCTION

Diabetes mellitus adalah suatu kelainan metabolik yang ditandai dengan tidak terproduksi insulin dengan baik dan atau tidak optimalnya produksi kinerja insulin atau diakibatkan oleh faktor keduanya<sup>[1]</sup> Diabetes mellitus tipe 2 merupakan kelainan yang sering ditemukan di dunia. Sebanyak 90

sampai 95 % orang dewasa di dunia menderita diabetes mellitus tipe 2<sup>[2]</sup>

Resiko terjadinya diabetes mellitus tipe 2 akan meningkatkan 2 sampai 6 kali lipat lebih tinggi ketika saudara kandung atau orang tuanya menderita penyakit tersebut<sup>[3]</sup>. Diabetes mellitus tipe 2 dapat diakibatkan oleh faktor lingkungan dan genetik<sup>[4]</sup>.

Menurut Welcome case control consortium<sup>[5]</sup> menyatakan bahwa gen TCF7L2 adalah gen yang menjadi sinyal paling kuat terhadap kerentanan pada diabetes mellitus tipe 2. Pada penelitian Beloso<sup>[6]</sup> ditemukan mutasi gen TCF7L2 dengan varian SNPs – rs 12255372 yang menunjukkan hubungan kuat dengan diabetes mellitus tipe 2. tipe 2<sup>[7]</sup>.

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan metode *purposive sampling*. *Ethical clearance* disetujui oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga nomor 094/HRECC.FODM/III/2020. Kriteria inklusi meliputi sampel keluarga penderita diabetes mellitus yang telah di diagnosa oleh dokter, Subjek sampel bersedia di mintai keterangan silsilah keluarga yang jelas.

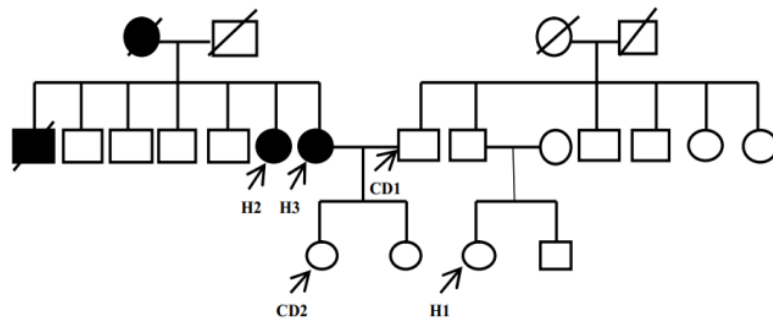
Sample kemudian dilakukan macrosampling sebanyak 3 cc melalui darah vena. Sampel kemudian disimpan dalam almari pendingin sampai digunakan. Isolasi DNA menggunakan metode standart dari Gene Aid DNA Isolation kit untuk darah. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan Biorad T100 sebanyak 35 siklus meliputi pradenaturasi, 95 °C, 3 menit; denaturasi 95 °C, 1 menit; annealing 58 °C, 30 menit; elongasi pada suhu 72 °C, 1 menit dan

pre elongasi pada suhu 75 °C , 3 menit. Sekuensing gen TCF7L2 (*Transcription Factor 7 Like 2*) dilakukan di genetika science Indonesia kota tanggerang.

Analisis hasil sekuens menggunakan program mega 6.0, dimana urutan nukleotida sampel dan urutan nukleotida standar dimasukkan dalam program, program akan mengurutkan nukleotida sampel sesuai dengan urutan dan posisi nukleotida standar, dengan ditandai adanya basa yang berbeda sehingga akan tampak perbedaan urutan nukleotida sampel yang mengalami mutasi.

## HASIL PENELITIAN

Hasil visualisasi PCR menggunakan UV transilluminator menunjukkan adanya pita DNA dengan kode sampel CD1, CD2, H1, H2, dan H3 pada 368 bp yang menandakan adanya gen TCF7L2 (*Transcription Factor 7 Like 2*) pada keluarga penderita diabetes mellitus tipe 2 sesuai dengan target (Gambar 1). Gen TCF7L2 merupakan salah satu gen yang menjadi penyebab diabetes mellitus tipe 2<sup>[9]</sup> Sebanyak 1 keluarga penderita diabetes tipe 2 yang terdiri dari 5 sampel yaitu ayah, ibu, saudara ibu, anak, dan keponakan ayah yang didapatkan dari kecamatan tanggulangun kabupaten sidoarjo. Data tersebut dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** sisilah keluarga penderita diabetes mellitus yang digunakan sampel.

Sebelum dilakukan pengujian analisis gula darah dilakukan dengan menggunakan metode POCT Gula darah acak. Nilai tertinggi terdapat pada sampel H2+ dengan kadar glukosa 210 mg/dl. Dan terendah adalah sampel CD2 dengan kadar gula darah 80 mg/dl. Teridentifikasi dua sampel (H2+ dan H3+) terdiagnosa positif DM2. Sedangkan 3 sampel lain teridentifikasi negatif.

**Tabel 1. Hasil Pengukuran Kadar Gula darah Keluarga sampel**

Kode sampel	Keluarga penderita DM	Umur	Kadar gula darah acak	Riwayat DM
CD1	Ayah	55 th	100mg/dl	Negatif DM
H2+	Ibu	48 th	210mg/dl	Positif DM
CD2	Anak	22 th	80 mg/dl	Negatif DM
H3+	Bude	50 th	200mg/dl	Positif DM
H1	Keponakan	24 th	85 mg/dl	Negatif DM

**Tabel 2. Hasil Pengukuran Kemurnian DNA hasil Isolasi**

No	Kode sampel	A260	A280	Kemurnian A260/280	konsentrasi
1	CD1	0.409	0.261	1.569	184.127
2	CD2	0.44	0.275	1.6	197.859
3	H1	0.691	0.542	1.275	311.13
4	H2	0.592	0.364	1.627	266.182
5	H3	0.710	0.434	1.637	319.388

```

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
      10      20      30      40      50
sampel CD1 TGATGTTGTA GGCTGTATGA AGTCATTGA TGATTGTTT GTTAATGGCT
sampel H2 TGATGTTGTA GGCTGTATGA AGTCATTGA TGATTGTTT GTTAATGGCT
sampel CD2 TGATGTTGTA GGCTGTATGA AGTCATTGA TGATTGTTT GTTAATGGCT
AL445486.1 TGATGTTGTA GGCTGTATGA AGTCATTGA TGATTGTTT GTTAATGGCT
NG_012631. TGATGTTGTA GGCTGTATGA AGTCATTGA TGATTGTTT GTTAATGGCT
sampel H3 TGATGTTGTA GGCTGTATGA AGTCATTGA TGATTGTTT GTTAATGGCT
3871082_H1 TGATGTTGTA GGCTGTATGA AGTCATTGA TGATTGTTT GTTAATGGCT

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
      60      70      80      90     100
sampel CD1 TGCAGGTCAG ATTTTCATCT TTTTAAATTA ATTATCATAG AAGGAGAAAA
sampel H2 TGCAGGTCAG ATTTTCATCT TTTTAAATTA ATTATCATAG AAGGAGAAAA
sampel CD2 TGCAGGTCAG ATTTTCATCT TTTTAAATTA ATTATCATAG AAGGAGAAAA
AL445486.1 TGCAGGTCAG ATTTTCATCT TTTTAAATTA ATTATCATAG AAGGAGAAAA
NG_012631. TGCAGGTCAG ATTTTCATCT TTTTAAATTA ATTATCATAG AAGGAGAAAA
sampel H3 TGCAGGTCAG ATTTTCATCT TTTTAAATTA ATTATCATAG AAGGAGAAAA
3871082_H1 TGCAGGTCAG ATTTTCATCT TTTTAAATTA ATTATCATAG AAGGAGAAAA

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
      110     120     130     140     150
sampel CD1 CAACTGGATT TCAGAATTGT CCCTTGAGGT GTACTGGAAA CTAAGGCGTG
sampel H2 CAACTGGATT TCAGAATTGT CCCTTGAGGT GTACTGGAAA CTAAGGCGTG
sampel CD2 CAACTGGATT TCAGAATTGT CCCTTGAGGT GTACTGGAAA CTAAGGCGTG
AL445486.1 CAACTGGATT TCAGAATTGT CCCTTGAGGT GTACTGGAAA CTAAGGCGTG
NG_012631. CAACTGGATT TCAGAATTGT CCCTTGAGGT GTACTGGAAA CTAAGGCGTG
sampel H3 CAACTGGATT TCAGAATTGT CCCTTGAGGT GTACTGGAAA CTAAGGCGTG
3871082_H1 CAACTGGATT TCAGAATTGT CCCTTGAGGT GTACTGGAAA CTAAGGCGTG

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
      160     170     180     190     200
sampel CD1 AGGGACTCAT AGGGGCTGCG CTTGGAAAAGT GTATTGCTAT GTCCAGTTTA
sampel H2 AGGGACTCAT AGGGGCTGCG CTTGGAAAAGT GTATTGCTAT GTCCAGTTTA
sampel CD2 AGGGACTCAT AGGGGCTGCG CTTGGAAAAGT GTATTGCTAT GTCCAGTTTA
AL445486.1 AGGGACTCAT AGGGGCTGCG CTTGGAAAAGT GTATTGCTAT GTCCAGTTTA
NG_012631. AGGGACTCAT AGGGGCTGCG CTTGGAAAAGT GTATTGCTAT GTCCAGTTTA
sampel H3 AGGGACTCAT AGGGGCTGCG CTTGGAAAAGT GTATTGCTAT GTCCAGTTTA
3871082_H1 AGGGACTCAT AGGGGCTGCG CTTGGAAAAGT GTATTGCTAT GTCCAGTTTA

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
      210     220     230     240     250
sampel CD1 CACATAAGGA TGTGCAAAATC CAGCAGGTTA GCTGAGCTGC CCAGGAATAT
sampel H2 CACATAAGGA TGTGCAAAATC CAGCAGGTTA GCTGAGCTGC CCAGGAATAT
sampel CD2 CACATAAGGA TGTGCAAAATC CAGCAGGTTA GCTGAGCTGC CCAGGAATAT
AL445486.1 CACATAAGGA TGTGCAAAATC CAGCAGGTTA GCTGAGCTGC CCAGGAATAT
NG_012631. CACATAAGGA TGTGCAAAATC CAGCAGGTTA GCTGAGCTGC CCAGGAATAT
sampel H3 CACATAAGGA TGTGCAAAATC CAGCAGGTTA GCTGAGCTGC CCAGGAATAT
3871082_H1 CACATAAGGA TGTGCAAAATC CAGCAGGTTA GCTGAGCTGC CCAGGAATAT

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
      260     270     280     290     300
sampel CD1 CCAGGCAAGA ATGACCATAT TCTGATAATT ACTCAGGCTC CTGCCTCATC
sampel H2 CCAGGCAAGA ATGACCATAT TCTGATAATT ACTCAGGCTC CTGCCTCATC
sampel CD2 CCAGGCAAGA ATGACCATAT TCTGATAATT ACTCAGGCTC CTGCCTCATC
AL445486.1 CCAGGCAAGA ATGACCATAT TCTGATAATT ACTCAGGCTC CTGCCTCATC
NG_012631. CCAGGCAAGA ATGACCATAT TCTGATAATT ACTCAGGCTC CTGCCTCATC
sampel H3 CCAGGCAAGA ATGACCATAT TCTGATAATT ACTCAGGCTC CTGCCTCATC
3871082_H1 CCAGGCAAGA ATGACCATAT TCTGATAATT ACTCAGGCTC CTGCCTCATC

...|...| ...|...| ...|...| ...|...| ...|...|
      310     320     330     340
sampel CD1 TCCGCTGCCC CCCC GCCCTC TGACTCTCTT CTGAGTGCCA --
sampel H2 TCCGCTGCCC CCCC GCCCTC TGACTCTCTT CTGAGTGCCA G-
sampel CD2 TCCGCTGCCC CCCC GCCCTC TGACTCTCTT CTGAGTGCCA G-
AL445486.1 TCCGCTGCCC CCCC GCCCTC TGACTCTCTT CTGAGTGCCA --
NG_012631. TCCGCTGCCC CCCC GCCCTC TGACTCTCTT CTGAGTGCCA GA
sampel H3 TCCGCTGCCC CCCC GCCCTC TGACTCTCTT CTGAGTGCCA --
3871082_H1 TCCGCTGCCC CCCC GCCCTC TGACTCTCTT CTGAGTGCCA G-
  
```

Gambar 3. Analisis hasil Allighment gen TCF7L2 di dibandingkan dengan beberapa sampel dari gene bank. Keterangan: panah hitam merupakan dugaan adanya mutasi pada sampel. Titik tersebut terdapat pada C103950T.

Sampel kemudian di isolasi menggunakan metode solasi standart GeneAid dan dilakukan PCR selanjutnya di visualisasi menggunakan gel agarosa 2 %. Hasil visualisasi dapat dilihat pada gambar 2. Analisis sekuensing dilakukan dengan menggunakan bantuan software Mega 6.0 dengan menggunakan pembandingan yang diambil dari genbank NCBI dengan accession Number AL445486.1, NG\_012631., & 3871082\_H1. Analisis menggunakan metode pensejajaran (alignment) untuk mengetahui mutasi yang ada. Hasil analisis dapat dilihat pada gambar 3. Dari hasil Alignment didapatkan dugaan mutasi pada titik C103950T.

## PEMBAHASAN

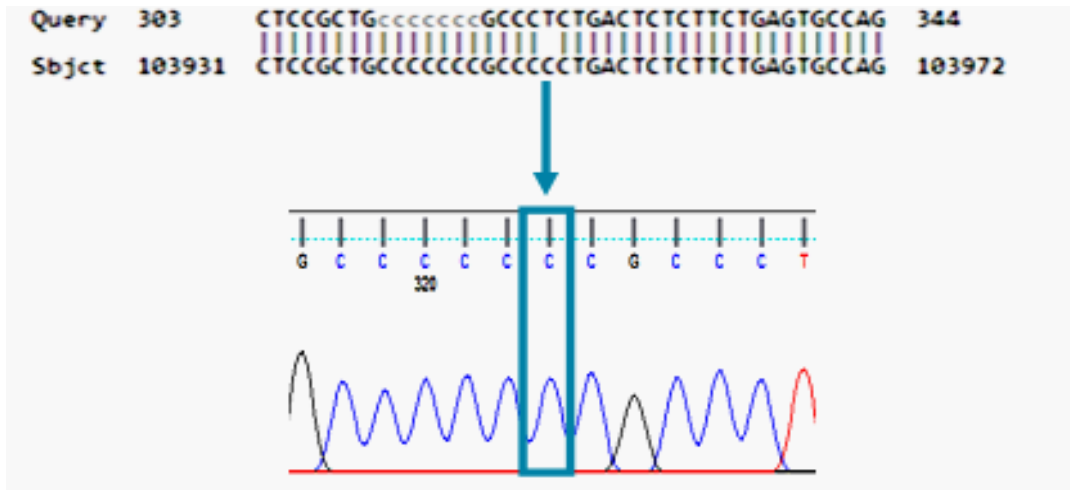
Gen TCF7L2 dilaporkan berkaitan erat dengan adanya DM Type II. Analisis pada keluarga penderit memberi gambaran kepada seseorang untuk mengetahui kemungkinan diwariskan mutasi tersebut kepada anak atau keturunannya. Analisa menggunakan sampel darah karena dinilai lebih mudah untuk diisolasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari satu keluarga dengan latar belakang memiliki DM type II.

Dalam melakukan pengecekan kemurnian DNA hasil isolasi sampel dapat dilihat dari nilai rasio A260/A280, sampel DNA dikatakan murni jika nilai kemurniaan DNA 1,8 atau 2.0 Sedangkan syarat konsentrasi DNA yaitu 50 ng/ $\mu$ l. jika nilai rasio A260/A280 kurang dari 1.8 menandakan bahwa DNA masih mengandung protein sedangkan jika nilai rasio lebih dari 2.0 menandakan bahwa penambahan pelarut lebih banyak dibandingkan DNA<sup>[11]</sup>.

Urutan basa hasil sekuensing yang sudah disejajarkan kemudian dibandingkan dengan urutan basa dari gen TCF7L2 (NG\_012631) yang didapatkan dari data gen bank dan menunjukkan bahwa sampel penelitian memiliki kemiripan yang tinggi dengan gen TCF7L2 dapat dilihat dari grafik hasil blast yang menunjukkan warna merah dengan nilai quari > 200 dan mirip dengan NG\_012631.

Hasil penjajaran sekuen sampel penelitian dibandingkan dengan salah satu hasil blast yang sekiranya paling mirip dengan sekuen sampel penelitian. Dari hasil penjajaran pada Gambar 3 menunjukkan adanya mutasi jenis transisi yaitu C menjadi T dimana urutan basa nukleotida terletak pada posisi ke 103950. untuk memastikan apakah mutasi tersebut menandakan adanya

pewarisan gen TCF7L2 pada keturunan penderita diabetes tipe 2 dapat dilakukan analisis posisi mutasi pada gen TCF7L2 dan bandingkan dengan hasil penelitian – penelitian terdahulu.



Gambar 4.6 kromagram sekuen gen TCF7L2 yang mengalami mutasi

Pada penelitian sebelumnya telah ditemukan mutasi gen TCF7L2 rs 7903146 C/T, rs789834 A/G dan rs12255372 G/T yang menjadi penanda genetik diabetes mellitus tipe 2, dari masing – masing SPN tersebut posisi mutasi ada pada titik basa nukleotida ke 103894<sup>[14]</sup> sedangkan pada penelitian ini, pada sampel pasien penderita diabetes mellitus tipe 2 dan sampel pasien yang belum menderita diabetes mellitus tipe 2 sama – sama mengalami mutasi pada urutan basa nukleotida ke 103950 dengan jenis mutasi transisi C menjadi T yang diduga sebagai penanda genetik

diabetes mellitus tipe 2, namun berdasarkan hasil penelitian terdahulu tidak ditemukan titik mutasi yang sama dengan penelitian ini sehingga pada penelitian ini tidak dapat mengidentifikasi pewarisan diabetes mellitus tipe 2 dengan penanda genetik gen TCF7L2 karena polimorfisme pada seluruh sampel sama.

## KESIMPULAN / CONCLUSSION

Hasil alignment gen TCF7L2 pada sampel keluarga penderita diabetes mellitus tipe 2 Kecamatan Tanggulangin, Kabupaten Sidoarjo ditemukan mutasi pada urutan ke T103950C. hasil tersebut mungkin menjadi penciri DM type 2 yang ada di populasi tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Suneja, S, Christian, Y, & Chandra, N 2018, 'Milieu of Diabetes in the 2 nd Decade of 21 st Century', *Journal Of Diabetes Of Metabolism*, vol. 9, no. 9, hh. 1-14. <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000804>.
- [2] Petersson, C, & Andersson, K 2010, 'Standars of medical care in diabetes,' *diabetic retirophaty* vol. 19, no. 40, hh. 1-6. [https://doi.org/10.1142/97898114304443\\_00001](https://doi.org/10.1142/97898114304443_00001).
- [3] Riaz, S, 2009, 'Diabetes mellitus,' *Scientific Research and Essay*, vol. 4, no. 5, hh. 367-373. <http://www.academicjournals.org/SRE>.
- [4] Shafee, T, & Lowe, R 2017, 'Eukaryotic and prokaryotic gene structure,' *WikiJournal of Medicine*, vol. 4 no. 1, hh. 2. <https://doi.org/10.15347/wjm/2017.002>.
- [5] 'Welcome trust case control consortium 2007, 'Genome-wide association study of 14,000 cases of seven commom diseasses and 3,000 shared controls,' *Nature europe PMC funders*, vol. 6, no. 447, hh. 661-678. doi:10.1038/nature05911.
- [6] Beloso, C, Souto, J, & Mimbacas, A 2018, 'Association of TCF7L2 mutation and atypical diabetes in a uruguayan population,' *World Journal Of Diabetes*, vol. 9, no. 9, hh. 157-164. DOI: 10.4239/wjd.v9.i9.157.
- [7] Jyothi, U, & Mohan, B 2011, 'Genetic etiology of type 2 diabetes mellitus,' *Research Society For Study Of Diabetes In India*, vol. 1, no. 6, hh. 3-10. DOI 10.1007/s13410-011-0020-8.
- [8] Vural, H 2017, 'gene polimorphism in T2 dm with patient in turkish population,' *journal of clinical epigenetics* vol. 3, hh. 2-27. doi: 10.211767/2472-1158.100061.
- [9] Yang, Q 2011, 'Harrison's Endocrinology,' *In The Yale Journal of Biology and medicine*, vol. 84, no. 4, hh. 497-498. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3238314>.
- [10] Franca, C & Kist, T 2002, 'Areview of DNA sequencing techniques,' *Queaterly Review Of Biophzsics* vol. 35, hh. 169-200. <http://dx.doi.org/10.1017/50033583502003797>

- [11] Ridwan, M 2018, 'elektroforesis analisis elektronika terhadap biokimia genetika,' *jurnal ilmiah pendidikan tehnik elektro*, vol. 2 no. 1, hh. 21-26. <https://jurnal.ar-raniry.ac.id>.
- [12] Rahn, K, Clarke, C & Curtiss, R 2012, 'amplifikasi urutan gen invA *Salmonella thypitrium* oleh reaksi berantai polimerase sebagai metode spesifik deteksi,' *Salmonella. Probe molekul dan seluler*, vol. 6, hh. 271-279.
- [13] Delianis, P 2010, 'Karakter senyawa bioaktif bakteri simbion moluska dengan GC-M,' *Jurnal dan ilmu teknologi kelautan*, vol. 2, no. 2, hh. 34-40. [https://www.itk.fpik.ipb.ac.id/ej\\_itkt22](https://www.itk.fpik.ipb.ac.id/ej_itkt22).
- [14] Syamsuril, H 2019, 'genotyping SPN rs 793146 TCF7L2 gene for detection T2DMT in indonesia melayu ethnis,' *Journal of shyscs* vol. 13, no. 17, hh. 1-6. DOI: 10.1088/1742-6596