

IDENTIFIKASI MUTASI RS7903146 PADA GEN TCF7L2 PADA PENDERITA DIABETES TIPE II DI WILAYAH SIDOARJO

Mutation Identification of rs7903146 Gene of Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) in Type II Diabetes Patients in Sidoarjo Region

Wa Ode Asma'ul Husna Huesein, Miftahul Mushlih*, Chylen Setiyo Rini,
& Galuh Ratmana Hanum

Program Studi Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia
Kampus 3 Jl. Raya Rame Pilang No. 04 Wonoayu

ABSTRAK

Diabetes Mellitus Tipe 2 adalah gangguan sistem endokrin yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan pilihan gaya hidup. Mutasi pada gen TCF7L2, khususnya pada rs7903146, telah erat terkait dengan T2DM karena efek gangguan pada sekresi insulin. Tujuan utama dari penelitian ini adalah mengidentifikasi mutasi pada gen TCF7L2 dalam populasi T2DM di Wilayah Sidoarjo. Sebanyak tujuh sampel digunakan dalam penelitian ini dengan mengaplikasikan teknik isolasi DNA, PCR, dan sekuensing. Sampel DNA secara khusus diperbanyak untuk menargetkan gen TCF7L2 selama 318 pasangan basa. Hasil penelitian ini menunjukkan ketiadaan mutasi pada rs7903146.

Kata Kunci: Diabetes mellitus tipe 2; gen TCF7L2, mutasi

ABSTRACT

Type 2 Diabetes Mellitus is an endocrine system disorder influenced by genetic factors and lifestyle choices. Mutations in the TCF7L2 gene, particularly at rs7903146, have been closely associated with T2DM due to their disruptive effects on insulin secretion. The primary objective of this study is to identify mutations in the TCF7L2 gene within the T2DM population of the Sidoarjo Region. A total of seven samples were utilized in this research, employing DNA isolation, PCR, and sequencing techniques. The DNA samples were specifically amplified to target the TCF7L2 gene over a stretch of 318 base pairs. The findings of this study indicate an absence of mutations at rs7903146.

Key Words: Type II diabetes mellitus; TCF7L2 gene; mutation

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan dari penyakit kelainan sistem endokrin. Menurut Data International Diabetes Federation, tahun 2021 sebanyak 537 juta orang dewasa hidup dengan diabetes diperkirakan akan meningkat pada tahun 2030 sebanyak 643 juta dan diprediksi tahun 2045 meningkat menjadi 783 juta (Webber, 2013). Diabetes Mellitus Type II (DT2) dapat meningkatkan risiko penyakit jantung, hipertensi, dislipidemia dan dapat menyebabkan penyakit kompleks dibandingkan orang tanpa diabetes. Gangguan sekresi insulin dan peningkatan resistensi insulin merupakan karakteristik patofisiologis utama dari diabetes tipe 2 (Kaneto, 2015).

DT2 dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan (Murea, Ma and Freedman, 2012; Mushlih *et al.*, 2021). Secara genetik penderita DT2 dipengaruhi oleh beberapa gen yang mengatur metabolisme energi di dalam tubuh. Pewaris DT2 memiliki risiko 40% mengidap DT2 apabila salah

satunya menderita DT2, sedangkan risiko akan meningkat 70% apabila kedua orang tuanya menderita DT2 (Lyssenko and Laakso, 2013).

Beberapa gen yang diduga kuat terlibat DT2 diantaranya gen TCF7L2, KIF11, HNF4A, CAPN10, dan PPARG (Dedoussis, Kaliora and Panagiotakos, 2007; Murea, Ma and Freedman, 2012; Haghvirdizadeh *et al.*, 2015). Lebih lanjut sebenarnya terdapat ratusan gen yang dilibatkan dalam DT2, namun hanya beberapa yang dianggap berperan signifikan (McCarthy, 2010). Salah satu gen yang paling berkaitan dengan DT2 adalah TCF7L2. Terdapat 3 titik polimorfisme pada gen TCF7L2 yang berkaitan dengan DT2 rs34872471, rs7901695 dan rs35198068 (Chandak *et al.*, 2007; Mushlih, Iknan, *et al.*, 2020). Diantara ketiga varian ini rs7901695 dianggap varian yang paling berpengaruh dengan DT2, Alel ini meningkatkan risiko T2D sebesar 1,45 pada heterozigot dan sebesar 2,41 pada homozigot (Grant *et al.*, 2006). Sejak ditemukan mutasi ini ternyata telah dikonfirmasi

*Alamat korespondensi:
mifta.frozi01@gmail.com

Di Indonesia, telah teridentifikasi adanya korelasi polimorfisme gen TCF7L2 dengan kejadian DT2 di suku Minangkabau (Manaf, Parwanto and Sardi, 2014; Syamsyirizal *et al.*, 2018). Di sisi lain, pada suku Jawa (khususnya populasi Sidoarjo, Jawa timur) tidak menemukan beberapa mutasi yang lazim pada penderita DT2 (Ishak *et al.*, 2014; Amin and Mushlih, 2020; Mushlih, Iknan, *et al.*, 2020). Berdasarkan uraian diatas, Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mutasi gen Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) pada populasi DT2 di Wilayah Sidoarjo.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan pendekatan purposive sampling. Ethical Clearance disetujui oleh STIKES Ngudia Husada Madura dengan nomor serfikat1809/KEPK/STIKES/NHM/EC/VII/2023 . Kriteria sampel yaitu terdiagnosis DT2 di rumah luka wilayah sidoarjo yang dibuktikan riwayat pemeriksaan di klinik tersebut. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Sample berupa darah vena sebanyak 7 sampel sebanyak 3cc kemudian disimpan disuhu 4°C hingga digunakan. Isolasi DNA dengan menggunakan kit genomic TIANGEN dengan memodifikasi sentrifugasi (Wardana and Mushlih, 2021). Reaksi PCR menggunakan Biorad T100 dengan komposisi primer forward 5'GGTAATGCAGATGTGATGAGATCT3' dan reverse 5'AGATGAAATGTAGCAGTGAAGTGC3' (Velayutham *et al.*, 2019) dengan target sekuens

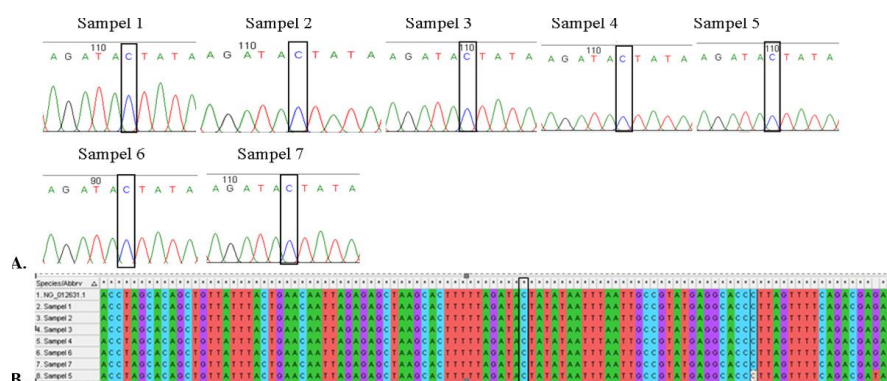
sepanjang 318bp. Pengaturan reaksi PCR meliputi pra-denaturasi 94°C, 3 menit, denaturasi 94°C, 1 menit, annealing 58°C, 1 menit, extension 72°C, 1 menit, dan post extension 72°C, selama 5 menit.

Data pembandingan didapatkan dengan dengan sekuen dengan ID: NG_012631.1 dari NCBI. Analisis Basic Local Alligment Search Tool (BLAST) digunakan untuk mengetahui keabsahan hasil pengurutan subjek sampel penelitian dengan menggunakan program BLAST NCBI semua sampel. Analisis polimorfisme dilakukan dengan pensejajaran menggunakan Mega 6.0.

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini menganalisis SNP RS7903146 pada gen Gen TCF7L2. Analisis ini sebagai langkah awal untuk deteksi dini keterlibatan gen tersebut dengan kejadian DT2. Hal ini menindak lanjuti keunikan genetic pada ras Jawa yang tidak memiliki keterkaitan dengan DT2 dengan mutasi SNP RS7903146. Pada saat ini SNP RS7903146 pada gen Gen TCF7L2 di kenal secara luas berhubungan dengan kejadian DT2 (Chandak *et al.*, 2007; Hayashi *et al.*, 2007; Dutra *et al.*, 2008; Zheng *et al.*, 2012; Manaf, Parwanto and Sardi, 2014).

Polimorfisme SNP (*single nucleotida polymorphisme*) rs7903146 TCF7L2 dideteksi dengan metode DNA sequencing. Hasil sequencing kemudian di bandingkan dengan data dari NCBI dan dianalisis keberadaan mutasi rs790314 menggunakan program Mega 6.0. Sebelumnya, analisis Blast dilakukan untuk menilai kesamaan (homologi) dengan data bank. Proses ini dilakukan untuk memastikan sekuen target PCR sesuai dengan tujuan analisis. Hasil analisis menunjukkan kemiripan yang tinggi dengan sekuen gen dari TCF7L2. Analisis mutasi dengan memperhatikan puncak (*peak*) pada nukleotida yang analisis (Lihat Gambar 1.A). Hasil ke tujuh *peak* dari ketujuh sampel menunjukkan hasil yang reliabel. Peak tidak ada kemungkinan adanya mutasi atau heterozigositas, yang ditandai background yang sangat sedikit.



Gambar 1. (A) Hasil pic ke7 sampel Tidak terlihat adanya mutasi pada titik. **(B)** Hasil alligment semua sampel dan NG_012631.1.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian Ishak dkk. (2014), yang menduga terdapat keunikan karakter genomik pada DT2 pada populasi Jawa. Indikasi kuat terdapat perbedaan antara karakter gen yang ada pada Jawa dan Melayu, yang meskipun memiliki rumpun negara yang sama tetapi kedekatan antara keduanya dari segi genomik berbeda (Syamsyirizal *et al.*, 2018). Penelitian ini juga berkorelasi positif dengan penelitian Samodro, Asdie, dan Sadewa (2015), yang menunjukkan etnis Jawa tidak menunjukkan polimorfisme pada gen TCF7L2. Selain itu, penelitian tersebut juga menemukan tidak adanya pengaruh obesitas dengan DT2. Indikasi banyaknya faktor pendukung terjadinya DT2 termasuk gaya hidup menjadi salah satu yang diperhatikan. Kemungkinan lainnya adalah adanya keunikan genetik di populasi Jawa (Mushlih, Sari, *et al.*, 2020; Mushlih *et al.*, 2021).

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukan mutasi pada rs7903146 gen TCF7L2 pada populasi DT2 di Sidoarjo

Daftar Pustaka

- Alsmadi, O., 2008. Weak or no association of TCF7L2 variants with Type 2 diabetes risk in an Arab population, *BMC Medical Genetics*, 9, pp. 1–7. doi: 10.1186/1471-2350-9-72.
- Amin, H. S. and Mushlih, M., 2020. Identification of the Mitochondrial ND1 Gene Carrier of Diabetes Mellitus Type 2 with Blood Samples, *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 3(2), pp. 48–53. doi: 10.21070/medicra.v3i2.873.
- Chandak, G. R., 2007. Common variants in the TCF7L2 gene are strongly associated with type 2 diabetes mellitus in the Indian population, *Diabetologia*, 50(1), pp. 63–67. doi: 10.1007/s00125-006-0502-2.
- Dedoussis, G. V. Z., Kaliora, A. C. and Panagiotakos, D. B., 2007. Genes, diet and type 2 diabetes mellitus: A review, *Review of Diabetic Studies*, 4(1), pp. 13–24. doi: 10.1900/RDS.2007.3.13.
- Dutra, L. A. S. *et al.*, 2008. Allele-specific PCR assay to genotype SNP rs7903146 in TCF7L2 gene for rapid screening of diabetes susceptibility, *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 52(8), pp. 1362–1366. doi: 10.1590/S0004-27302008000800026.
- Grant, S. F. A., 2006. Confers risk of type 2 diabetes', 38(3), pp. 320–323. doi: 10.1038/ng1732.
- Haghighizadeh, Polin, 2015. KCNJ11: Genetic Polymorphisms and Risk of Diabetes Mellitus, *Journal of Diabetes Research*, 2015. doi: 10.1155/2015/908152.
- Hayashi, T. *et al.*, 2007. Replication study for the association of TCF7L2 with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population, *Diabetologia*, 50(5), pp. 980–984. doi: 10.1007/s00125-007-0618-z.
- Ishak, A. *et al.*, 2014. Mutation of mtDNA ND1 Gene in 20 Type 2 Diabetes Mellitus Patients of Gorontalo and Javanese Ethnicity, *HAYATI Journal of Biosciences*, 21(4), pp. 159–165. doi: 10.4308/hjb.21.4.159.
- Kaneto, H., 2015. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus', *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, 73(12), pp. 2003–2007. doi: 10.1093/med/9780199235292.003.1336.
- Lyssenko, V. and Laakso, M., 2013. Genetic screening for the risk of type 2 diabetes: Worthless or valuable?, *Diabetes Care*, 36(SUPPL.2), pp. 120–126. doi: 10.2337/dcS13-2009.
- Manaf, A., Parwanto, M. L. E. and Sardi, A., 2014. Transcription factor 7-like 2 as type-2 diabetes mellitus diagnostic marker in ethnic Minangkabau, 33(3), pp. 205–212.
- McCarthy, M. I., 2010. Genomics, Type 2 Diabetes, and Obesity', *New England Journal of Medicine*, 363(24), pp. 2339–2350. doi: 10.1056/nejmra0906948.
- Murea, M., Ma, L. and Freedman, B. I., 2012. Genetic and environmental factors associated with type 2 diabetes and diabetic vascular complications, *Review of Diabetic Studies*, 9(1), pp. 6–22. doi: 10.1900/RDS.2012.9.6.
- Mushlih, M., Iknan, S. A., 2020. Analisis gen TCF7L2 (Transcription Factor 7 Like 2) pada keluarga penderita diabetes mellitus tipe II Kecamatan Tanggulangin, Kabupaten Sidoarjo', *the Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 3(2), p. 78. doi: 10.30651/jmlt.v3i2.6065.
- Mushlih, M., Sari, F. K., *et al.*, 2020. Identification of molecular markers for type 2 Diabetes mellitus in Sidoarjo, Indonesia, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 9(2), pp. 186–191. doi: 10.1525/9780520974166-002.
- Mushlih, M. *et al.*, 2021. Genetic Polymorphism In Individuals With Type II Diabetes Mellitus Using PCR-RAPD In Sidoarjo District', 02, pp. 153–159.
- Samodro, P., Asdie, A. H. and Sadewa, A. H., 2015. 'Polimorfisme gena transcription factor 7 like 2 (tcf7l2) dan fat mass and obesity associated (fto)', *Disertasi, UGM*, 2, pp. 1–3.
- Syamsyirizal *et al.*, 2018. Association of rs290487 Polymorphisms in TCF7L2 Gene with Type 2 Diabetes in Ethnic Minangkabau', (July).
- Velayutham, K. *et al.*, 2019. Carriers of the TCF7L2 rs7903146, rs1225372 Risk Alleles in the South Tamil Nadu T2DM Patients Present with Early Incidence and Insulin Dependence, pp. 563–569. doi: 10.4103/ijem.IJEM.
- Wardana, A. C. and Mushlih, M. (2021) 'Comparison the quality of template DNA isolated by column method

with and without centrifugation', *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, pp. 10–21070.

Webber, S. (2013) *International Diabetes Federation, Diabetes Research and Clinical Practice*. doi: 10.1016/j.diabres.2013.10.013.

Zheng, X. *et al.* (2012) 'Association of type 2 diabetes susceptibility genes (TCF7L2, SLC30A8, PCSK1 and PCSK2) and proinsulin conversion in a Chinese population', pp. 17–23. doi: 10.1007/s11033-011-0705-6.