

DETEKSI MUTASI IVS-1 nt2 (T→C) GEN PENGKODE β-GLOBIN PADA CARRIER β-THALASSEMIA DENGAN RFLP

Riris Anindya Ghifari

13/349104/BI/09148

INTISARI

Beta-thalassemia merupakan kelainan genetik dengan pola pewarisan autosomal resesif yang disebabkan karena adanya mutasi pada gen penyandi rantai globin, yaitu gen HBB yang menyandi rantai β-globin. Pembawa sifat β-thalassemia bersifat *asymptomatic* dicirikan dengan kondisi eritrosit mikrositik, hipokromik, dan nilai HbA₂ berada pada kisaran $3,6\% < x > 13\%$. Pemeriksaan secara molekuler dapat dilakukan untuk dapat mengetahui apakah seseorang adalah pembawa sifat atau bukan. Mutasi IVS-1 nt2 merupakan salah satu mutasi β-thalassemia yang umum ditemukan, yaitu sekitar 70-90% populasi di Asia Tenggara dan 68-90% di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi mutasi IVS-1 nt2 gen HBB dengan menggunakan metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Sampel penelitian berupa *frozen blood* dari 10 individu *carrier* β-thalassemia berdasarkan analisis hematologis serta satu individu normal sebagai kontrol negatif. DNA sampel darah diisolasi kemudian diamplifikasi dengan sepasang primer spesifik yang menghasilkan amplicon berukuran 293 bp. Selanjutnya, produk PCR didigesti menggunakan enzim restriksi *Cac8I*. Pita DNA hasil isolasi dan produk PCR diamati melalui proses elektroforesis gel agarose pada 2 konsentrasi yaitu 0,8% (genom hasil isolasi) dan 2% (produk PCR), sedangkan pita DNA hasil digesti enzim diamati dengan proses elektroforesis gel poliakrilamid 8%. Interpretasi data dilakukan dengan membandingkan ukuran dan jumlah fragmen pada pita DNA sampel pembanding (termutasi pada IVS-1 nt5) dan normal. Hasil penelitian menunjukkan 2 dari 11 individu terdeteksi memiliki mutasi IVS-1 nt2 dengan metode RFLP yang ditunjukkan dengan terpotongnya pita DNA produk PCR menjadi amplicon berukuran 43 bp, 250 bp, dan 293 bp. Enzim restriksi *Cac8I* dapat digunakan sebagai uji konfirmasi terhadap hasil analisis hematologis *carrier* β-thalassemia untuk mutasi pada IVS-1 nt2 (T→C).

Kata Kunci : analisis hematologis, β-Thalassemia, mutasi, RFLP.

DETECTION OF MUTATION IVS-1 nt2 (T→C) β-GLOBIN ENCODING GENE IN CARRIER β-THALASSEMIA WITH RFLP

Riris Anindya Ghifari

13/349104/BI/09148

ABSTRACT

Beta-thalassemia is a genetic disorder with an autosomal recessive inheritance pattern that caused by mutation in the gene that encoding the globin chain, the HBB gene encoding the β-globin chain. Beta-thalassemia carrier is *asymptomatic* which characterized by microcytic erythrocyte, hypochromic, and HbA₂ levels are in the range of 3.6% < x > 13%. Molecular genetic testing can be used to know whether someone is carrier or not. Mutation IVS-1 nt2 is one of the β-thalassemia mutations that commonly can be found in the Southeast Asia populations, which is about 70-90% and 68-90% in Indonesia. This research is aimed to detect mutation of IVS-1 nt2 HBB gene using Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) method. The samples of this study were frozen blood from 10 individuals with β-thalassemia carrier based on the hematological analysis and one normal individual as a negative control. The DNA was isolated from the blood sample and then amplified with specific primers which produced 293 bp amplicon. Furthermore, PCR products were digested by using restriction enzyme *Cac8I*. DNA bands from isolation and PCR products were visualized with agarose gel electrophoresis at 2 concentrations of 0.8% (DNA genome) and 2% (PCR product), meanwhile the DNA bands that obtained by enzyme digestion were visualized by 8% polyacrylamide gel electrophoresis. Interpretation data was done by comparing the size and number of fragments in the DNA bands of the comparison sample (which has IVS-1 nt5 mutation) and normal sample. The result showed 2 of 11 individuals had IVS-1 nt2 mutation that can be detected by RFLP method which had 43 bp, 250 bp, and 293 bp amplicons. Restriction enzyme *Cac8I* can be used as a confirmation test against the results of hematological analysis of β-thalassemia carriers for IVS-1 nt2 (T→C) mutation.

Keywords : hematologic analysis, β-Thalassemia, mutation, RFLP.