

## DETEKSI MUTASI Cd 59 DAN Hb CS GEN *HBA2* PADA POPULASI SUMATERA, SULAWESI DAN JAWA DENGAN METODE ACRS PCR-RFLP

Ahmad Saddam Husein

14/372569/PBI/1278

### ABSTRAK

Thalassemia merupakan kelainan hereditas dengan pola pewarisan autosomal resesif yang disebabkan adanya mutasi pada penyandi rantai globin pembentuk hemoglobin. Mutasi dapat terjadi pada gen  $\alpha$  globin. Di Indonesia, jumlah penyandang thalassemia semakin meningkat, dan jumlah pembawa sifat thalassemia diprediksi 3-10% dari total populasi. *World Health Organization* mencanangkan strategi global sebagai upaya preventif dan untuk mengontrol jumlah penyandang thalassemia. Salah satu strategi tersebut adalah skrining pembawa sifat thalassemia. Sebanyak 834 individu sebagai subjek penelitian, dengan indikasi pembawa sifat  $\alpha$  thalassemia sebanyak 61 individu berdasarkan hasil pemeriksaan hematologis peserta skrining thalassemia. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi molekuler mutasi non delesi yaitu mutasi Cd 59 dan mutasi Hb CS dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan *PCR Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) dengan modifikasi primer menggunakan teknik ACRS (*Artificially Created Restriction Site*) terhadap hasil pemeriksaan hematologis. Subjek penelitian adalah sampel DNA genom arsip peserta *screening* thalassemia yang dilakukan oleh Lembaga Eijkman pada populasi masyarakat Sulawesi, Sumatera dan Jawa yang tidak terdapat mutasi delesi 2 gen maupun delesi 1 gen. DNA genom arsip kemudian diamplifikasi menggunakan primer spesifik pada tempat target sekuens gen *HBA2*. Amplikom hasil PCR selanjutnya dianalisis dengan metode RFLP pada gel agarosa. Interpretasi data dilakukan dengan mendeskripsikan pita hasil RFLP dengan membandingkan perbedaan jarak migrasi pita tunggal DNA individu terduga pembawa sifat  $\alpha$  thalassemia dengan individu normal. Hasil menunjukkan terdapat 1 individu terdeteksi mengalami mutasi pada daerah gen *HBA2* pada mutasi Cd 59 dengan persentase 0,53 % artinya ada 5 dari 1000 individu membawa mutasi Cd 59, angka ini cukup signifikan untuk populasi Jawa, mengingat populasi Jawa pada umumnya merupakan populasi yang besar di Indonesia. PCR-RFLP digunakan untuk menganalisa secara molekuler keragaman genetik diantara individu dalam suatu populasi dan sebagai metode yang dapat mendeteksi adanya heterozigositas dan variasi pada tingkat sekuens DNA berdasarkan perbedaan panjang fragmen DNA akibat mutasi.

Kata kunci:  $\alpha$  thalassemia, ACRS, Cd 59, Hb CS, *HBA2*, mutasi, PCR-RFLP.

## DETECTION OF Hb CS AND Cd 59 MUTATIONS *HBA2* GENE AT SUMATERA, SULAWESI AND JAVA POPULATION BY ACRS PCR-RFLP METHOD

Ahmad Saddam Husein

14/372569/PBI/1278

### **ABSTRACT**

Thalassemia is a hereditary disorder with autosomal recessive inheritance pattern due to mutations in the coding of globin chains on hemoglobin formation. Mutations can occur in  $\alpha$ -globin gene. In Indonesia, the number of people with thalassemia is increasing, and the number of carriers thalassemia were predicted 3-10% of the total population. World Health Organization launched a global strategy as a preventative and to control the number of people with thalassemia. One such strategy is the screening of carrier thalassemia. There are 834 people as research subjects, with the indication of carrier thalassemia were 61 individual based on haematological screening thalassemia. This study aims to perform molecular detection of mutations non deletions, i.e Cd 59 mutation and Hb CS mutation by using *Polymerase Chain Reaction* (PCR) and *PCR Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLP) with modifications primer using *Artificially Created Restriction Site* (ACRS) techniques against haematological results. Subjects participants are archive DNA genomic thalassemia screening conducted by the Eijkman Institute for Molecular Biology in Sulawesi, Sumatra and Java population are not contained deletion mutations in two genes or one gene. Archival DNA genomic then amplified using specific primers to *HBA2* gene sequence. Amplikon PCR results then analyzed by agarose gel RFLP method. Interpretation of the data was done by describing ribbon RFLP results by comparing the differences in migration distance of individual single stranded DNA of carrier thalassemia with normal individuals. Results showed one individual has a Cd 59 mutation on *HBA2* gene with percentage of 0.53% means that there are 5 on 1000 people has Cd 59 mutations, this result is quite significant for Java population as a large population in Indonesia. PCR-RFLP was used to analyze genetic diversity among individuals within a population molecularly and as a method to detect heterozygosity and variations on the level of DNA sequences based on fragment length differences DNA caused by mutation.

Keywords:  $\alpha$  thalassemia, ACRS, Cd 59, Hb CS, *HBA2*, mutation, PCR-RFLP.