

SUSUNAN BASA-BASA NUKLEOTIDA DAERAH INTRON 5 GEN *LDLR* MAHASISWA UNIPA ASAL PAPUA

Eka Karlita Sari¹, Achmad Taher^{1*}

¹Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Papua, Manokwari, 98314, Indonesia
Email: ecca.karlita.sari@gmail.com, taher_kimia73@yahoo.co.id

ABSTRACT

Papua has about 466 tribes that have been identified and spread from coastal areas, mountains, swamps and valleys. Some of the tribes found in Papua are: Nduga, Onate, Arusai and Byak. Intron region 5 the *LDLR* gene is a structural region but after it becomes mature mRNA this section will be removed so that in the further process this section does not under go translation into protein. Ethnic diversity in Papua has the potential to produce genetic diversity that varies. However, until now there is very little research related to the genetic characterization of tribes in Papua. This study aims to characterize the composition of nucleotide base in the Intron 5 region of the *LDLR* gene of UNIPA students from the Papuan tribe. The sample of students came from the tribe of Byak, the tribe of Onate, the tribe of Aruisai and the tribe of Nduga. The results showed that the number and arrangement of nucleotides from the six samples studied were the same. The number of nucleotides for the Intron 5 of *LDLR* gene is 704 pb, consisting of T = 28.7%, C = 28.6%, G = 23.7% and A = 19.0%.

Keywords: *LDLR* gene; Intron 5; Papua

ABSTRAK

Papua memiliki sekitar 466 suku yang telah diidentifikasi serta tersebar dari daerah pesisir, pegunungan, rawa dan lembah. Beberapa diantara suku yang terdapat di Papua yaitu: Nduga, Onate, Arusai dan Byak. Daerah intron 5 Gen *LDLR* merupakan daerah struktural namun setelah menjadi mRNA matang bagian ini akan dihilangkan sehingga pada proses lebih lanjut bagian ini tidak mengalami translasi menjadi protein. Keragaman suku yang berada di papua berpotensi menghasilkan keragaman genetik yang bervariasi. Meskipun demikian hingga saat ini penelitian yang terkait dengan karakterisasi genetik suku-suku di papua masih sangat sedikit. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi susunan basa-basa nukleotida pada daerah intron 5 gen *LDLR* mahasiswa UNIPA asal suku Papua. Sampel mahasiswa berasal dari suku Byak, Onate, Aruisai dan Nduga (2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah dan susunan nukleotida dari ke enam sampel yang diteliti adalah sama. Jumlah nukleotida daerah Intron 5 Gen *LDLR* adalah sebesar 704 pb, terdiri dari T=28.7%, C=28.6%, G=23.7% dan A=19.0%.

Kata kunci: Gen *LDLR*; Intron 5; Papua

PENDAHULUAN

Wilayah Papua terletak di bagian timur Indonesia memiliki banyak keunikan, baik dalam keadaan alam maupun pada suku dan kultur budayanya yang dapat dilihat dari

karakterisasi penduduknya (BPS, 2017). Perbedaan fenotip manusia memiliki bentuk tubuh yang berbeda-beda. Perbedaan fenotip pada manusia dapat dilihat dari perbedaan bentuk tubuh, warna kulit, bibir dan dapat dilihat dari kasat mata. Sedangkan karakter genetik ditentukan oleh DNA (*Deoxyribonucleic acid*) yang mengandung 20.000 sampai 3 miliar gen pada 23 pasang kromosom. DNA adalah urutan basa-basa nukleotida yang mengkode materi genetik kemudian diwariskan oleh induk kepada keturunannya, sehingga akan tampak perbedaan antar organisme satu dan organisme lainnya (Campbell *et al.*, 2008). Pasangan-pasangan pada gen dapat mengontrol karakter dari suatu individu melalui perkawinan silang. Gen adalah unit molekul DNA dengan panjang minimum tertentu yang membawa informasi mengenai urutan asam amino lengkap suatu protein. Gen meliputi bagian kecil dari DNA yang berada di dalam genom dan mengkode suatu protein (Triwibowo, 2005).

Gen *LDLR* manusia terletak pada kromosom 19p13.2 yang terdiri dari 17 intron dan 18 ekson dan membentang sepanjang 45 kilo basa (Gunder dan Martin, 2011). Gen ini mengkode protein Reseptor LDL yang terdiri dari 839 asam amino yang dibagi menjadi 5 daerah fungsional, yaitu: (1) daerah pengikat ligan yang mengandung 292 asam amino (ekson 2-6) (2) daerah homolog yang mengandung 400 asam amino (ekson 7-14) (3) daerah terglisosilasi yang mengandung 58 asam amino (ekson 15) (4) daerah transmembran yang terdiri dari 22-25 asam amino yang mengandung hidrofobik (ekson 16,17) dan daerah sitoplasma yang mengandung 50 asam amino dan merupakan bagian yang paling pendek (ekson 17,18) (Sudhof *et al.*, 1985). Protein reseptor LDL adalah protein transmembran pada permukaan sel yang berperan dalam transpor kolesterol plasma ke dalam sel (Hobbs *et al.*, 1992). LDL-R memasukkan LDL ke dalam sel melalui proses yang disebut endositosis. Endositosis adalah proses pengambilan molekul-molekul dari luar sel untuk memenuhi kebutuhan sel dan mengatur interaksi antara sel dengan lingkungannya (Doherty dan McMahon, 2009). Endositosis yang diperantarai oleh reseptor memiliki peran penting dalam pertumbuhan, perkembangan dan diferensiasi sel hewan (Goldstein *et al.*, 1979).

Daerah intron 5 merupakan bagian struktural gen *LDLR*, namun setelah menjadi mRNA bagian ini akan dihilangkan sehingga pada proses lebih lanjut bagian ini tidak mengalami translasi menjadi protein. Dari beberapa penelitian diketahui bahwa sinyal

untuk pemotongan intron sangat seragam, dimana Intron akan dipotong atau dihilangkan saat DNA mengalami perubahan menjadi pre-mRNA (Triwibowo, 2005).

Keragaman suku yang berada di papua berpotensi menghasilkan keragaman genetik yang bervariasi. Meskipun demikian hingga saat ini penelitian yang terkait dengan karakterisasi genetik suku-suku di papua masih sangat sedikit. Beberapa penelitian terkait keragaman genetik DNA mitokondria penduduk Papua telah dilaporkan Palit *et al.* (2008) dan Ngili *et al.* (2010). Penelitian terkait keragaman genetik Gen *LDLR* penduduk papua telah dilaporkan (Munir, 2018) namun daerah yang dikarakterisasi adalah daerah 3'UTR.

METODE PENELITIAN

Sampel Darah

Sampel darah diperoleh dari 6 orang Mahasiswa Universitas Papua yang berasal dari suku byak (2 Mahasiswa), suku onate (1 Mahasiswa), suku aruisai (1 Mahasiswa), dan suku nduga (2 Mahasiswa) dengan menggunakan metode *selective purposing*. Mahasiswa yang darahnya dijadikan sebagai sampel terlebih dahulu diberi penjelasan mengenai tujuan pengambilan darah dan manfaat penelitian. Apabila responden bersedia secara sukarela maka mereka diminta untuk mengisi data dan menandatangani (*informed consent*).

Pengambilan Darah

Sampel darah diambil dari vena tangan sebanyak 0,5 ml dengan menggunakan alat suntik dan dimasukkan ke dalam tabung vakum yang berisi antikoagulan EDTA. Pengambilan darah dilakukan oleh tenaga medis di Puskesmas Amban Manokwari.

Ekstraksi dan Amplifikasi DNA

DNA genomik diekstraksi menggunakan *Geneaid DNA Isolation Kit*. Amplifikasi Intron 5 gen *LDLR* menggunakan metode PCR. Pasangan primer yang digunakan merujuk pada penelitian sebelumnya (Taher *et al.*, 2016). Primer *forward* yang digunakan adalah ekson 5 F : 5'-AAAATCAACACACTCTGTCC-3' sedangkan primer *reverse* yang digunakan adalah Ekson 6 R: 5'-ACTCTGCAAGCCGCCTGCAC-3' dengan ukuran hasil amplifikasi 1010 pb PCR terdiri dari denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit lalu tahapan 40 siklus. Setiap siklus dilakukan dengan tahapan reaksi sebagai

berikut: sampel didenaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, dilanjutkan *annealing* pada suhu 55°C selama 1 menit 30 detik, dan *extension* pada suhu 72°C selama 30 detik. Setelah itu proses PCR dilanjutkan dengan *post extension* pada suhu 72°C selama 7 menit, dan diakhiri pada suhu 4°C selama 2 menit.

Elektroforesis Gel Agarosa

Produk PCR dideteksi menggunakan elektroforesis gel agarosa 1,8%. sebagai penanda digunakan DNA *marker* 1 kb. Hasil elektroforesis diamati dibawah sinar UV GelDoc dengan Program Quantity One. Adanya produk PCR ditunjukkan dengan adanya pita (band) dalam hasil elektroforesis.

Sekuensing Amplikon

Produk hasil purifikasi selanjutnya dikirim ke *First Base Laboratory Sdh Bhd* (Malaysia) untuk dianalisis sekuensnya menggunakan *dideoxy sequencing in ABI 3730 XL automated DNA sequencer*.

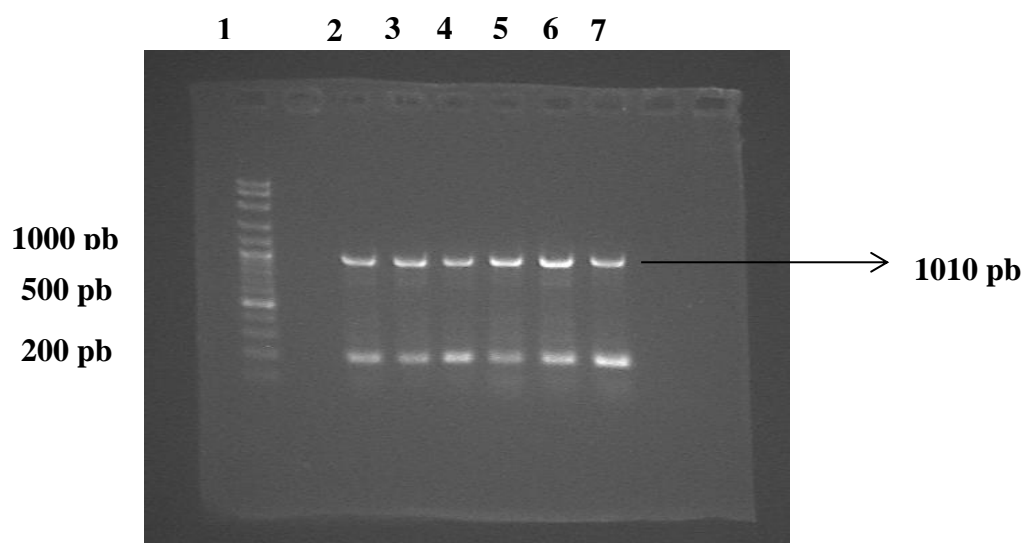
Analisis Data

Sekuens *forward* dan *reverse* yang diperoleh dari setiap amplikon dianalisis menggunakan program Mega versi 7.0 untuk mendapatkan sekuens konsensus. Selanjutnya hasil sekuens konsensus disejajarkan dengan sekuens rujukan di *GenBank* dengan nomor akses FJ525879.1 dengan *Basic Local Search Alignment Tools (BLAST)* untuk menganalisis karakteristik gen amplikon dan menemukan titik mutasi atau *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP). Data hasil Pensejajaran sekuens dan analisis komposisi nukleotida berdasarkan rujukan selanjutnya dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan nukleotida, keragaman nukleotida (π), jarak genetik dan pohon filogenetik dilakukan menggunakan program yang sama, yaitu Mega 7.0. Pensejajaran menggunakan Clustal W, jumlah perbedaan nukleotida menggunakan opsi *number of differences*, perhitungan jarak genetik berdasarkan Kimura 2-parameter dan pohon filogenetik dibentuk berdasarkan *Neighbourjoining* dengan melakukan *bootstraps* sebanyak 1000 pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi

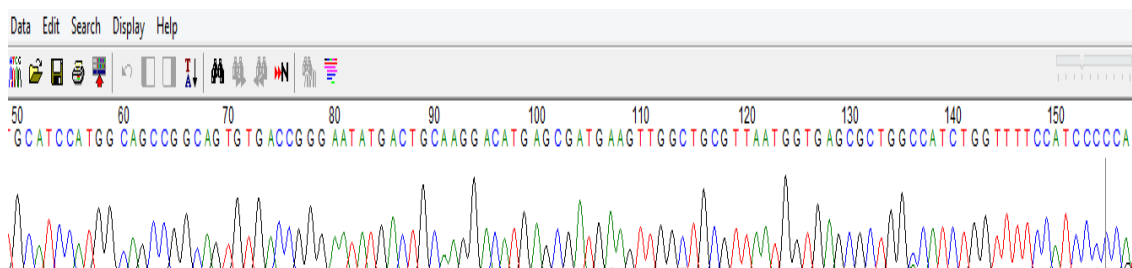
Amplifikasi yang dilakukan menggunakan primer *forward* dan *reverse* dikatakan berhasil dibuktikan dengan adanya pita pada proses elektroforesis. Produk yang diinginkan akan berhasil apabila primer yang menempel pada gen target sesuai. Produk amplifikasi yang dihasilkan berupa pita (band) DNA yang berukuran 1010 pb. Pita DNA hasil elektroforesis untuk daerah Intron 5 ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pita DNA hasil elektroforesis produk PCR pada daerah Intron 5. Keterangan (1) DNA marker 1 kb (2) Byak-1 (3) Byak-2 (4) Nduga-1 (5) Nduga-2 (6) Aruisai (7) Onate.

Sekuensing ampikon

Hasil sekuensing daerah Intron 5 diperlihatkan dalam bentuk elektroforegram untuk urutan basa-basa nukleotida DNA yang berupa puncak-puncak. Warna yang berbeda di perlihatkan untuk masing-masing puncak dimana warna tersebut menunjukkan kandungan basa nitrogen yang dihasilkan. Warna hijau untuk Adenin (A), warna merah untuk Timin (T), warna hitam untuk Guanin (G) dan warna biru untuk Sitosin (C). Fragmen elektroforegram daerah Intron 5 ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Fragmen Elektroforegram Daerah Intron 5

Hasil pensejajaran sekuens konsesus produk amplifikasi terhadap sekuensi referensi *Genbank* dengan nomor akses FJ525879.1 menunjukkan bahwa produk amplifikasi tidak hanya mengandung basa nukleotida intron 5 yang terdiri dari 704 pb, namun juga mengandung beberapa basa nukleotida daerah ekson 5 (153 pb) dan ekson 6 (153 pb). Hasil urutan basa nukleotida yang di peroleh dari ke enam sampel menunjukkan hasil yang sama. Urutan basa ke enam sampel dapat dilihat pada Gambar 3.

```
(1)GTGAGCGCTGGCCATCTGGTTTTCCATCCCCATTCTCTGTGCCTTGCTGCTTGCAAATGATTTGTGAAGCCAGAGG  
GCGCTTCCCTGGTCAGCTCTGCACCAGCTGTGCGTCTGTGGGCAAGTGACTTGACTTCTCAGAGCCTCACTCCTTTTG  
TTTTGAGACGGAGTCTCGCTCTGACACCCAGGCTGGAGTGCTGTGGCACAATCACAGCTCACGGCAGCCTCTGCCTCT  
GATGTCCAGTGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTAGCTGAGATTAAGGCGTATACCACCACGCCCGGCTAATTTT  
TTGATTTTTATTAGAGACAGGGTTTTCTCCATGTTGGCCAGGCTGGTCTTGAACCTCGGTCTCAGGTGATCCACCCGC  
CTCGGCCTCCCAAAGTGCTAGGATTACAGGTGTGAGCCACTGCGCCAGGCCTAATTTTTTGTATTTTAGTAGAGAT  
GCGGTTTTGCCATATTGCCAGGCTGGTCTCGAACTCTGGGCTCAAGCGATCTGCCTGCCTTGGCCTCCCAAAGTGC  
TGGGATTACAGGCACAAACCACCGTGCCCGACGCTTTCTTAATGAATCCATTGTCATGCGTCTTATGTGAATAAA  
CTATTATATGAATGAGTGCCAAGCAAACCTGAGGCTCAGACACACCTGACCTTCTCCTTCTCTCTGGCTCTCACA  
G(704)
```

Gambar 3. Susunan basa-basa nukleotida Intron 5

Berdasarkan hasil Sekuensing dapat ditentukan komposisi nukleotida pada daerah Intron 5. Pada seluruh individu yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan persentase yang sama yakni komposisi nukleotida Timin (T) yaitu 28.7%, pada sitosin (C) 28.6%, pada Adenin (A) 19.0% dan pada Guanin (G) yaitu 23.7%. Rata-rata komposisi nukleotida A+T yaitu 47.7% lebih rendah dibandingkan dengan jumlah nukleotida G+C secara keseluruhan yaitu sebesar 52%. Hasil analisis Komposisi nukleotida daerah Intron 5 Gen *LDLR* dari setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Nukleotida Daerah Intron 5

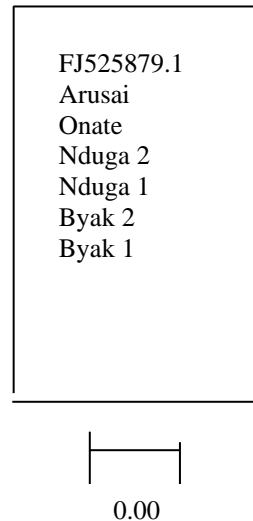
No	ID Sampel	Jumlah nukleotida (pb)	Komposisi nukleotida (%)					
			T(U)	C	A	G	A+T	G+C
1	Byak 1	704.0	28.7	28.6	19.0	23.7	47.7	52
2	Byak 2	704.0	28.7	28.6	19.0	23.7	47.7	52
3	Nduga 1	704.0	28.7	28.6	19.0	23.7	47.7	52
4	Nduga 2	704.0	28.7	28.6	19.0	23.7	47.7	52
5	Aruisai	704.0	28.7	28.6	19.0	23.7	47.7	52
6	Onate	704.0	28.7	28.6	19.0	23.7	47.7	52
Rata-Rata			28.7	28.6	19.0	23.7	47.7	52

Berdasarkan hasil sekuensing dapat ditentukan jarak genetik. Jarak genetik antar individu di dalam penelitian ini menunjukkan nilai sebesar 0,000 (0%). Hal ini menunjukkan bahwa keseluruhan individu adalah sama berdasarkan basa nukleotida intron 5. Jarak genetik individu penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Jarak Genetik Pada Individu Penelitian Ini

No	ID Sampel	1	2	3	4	5
1	Aruisai					
2	Onate	0.000				
3	Nduga 2	0.000	0.000			
4	Nduga 1	0.000	0.000	0.000		
5	Byak 2	0.000	0.000	0.000	0.000	
6	Byak 1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Dari hasil jarak genetik dapat dibuat pohon filogenik. Pohon filogenik adalah gambaran tentang pola genetik yang menghubungkan individu (*species*) satu dengan individu lainnya. Pohon filogenik berdasarkan daerah Intron 5 menghasilkan satu kelompok yang sama. Kelompok tersebut yaitu semua individu yang digunakan baik sebagai sampel maupun pembanding. Pohon filogenik antara individu penelitian ini dengan sampel pada *Genbank* ditunjukkan dengan nomor referensi . Pada hasil jarak genetik Ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Pohon filogenik antara individu yang digunakan pada penelitian dengan individu pada *Genbank*.

KESIMPULAN

Jumlah dan susunan basa-basa nukleotida dari ke enam sampel yang diteliti adalah sama. Jumlah nukleotida untuk daerah intron 5 gen *LDLR* adalah sebesar 704 pb, terdiri dari T=28.7%, C=28.6%, G=23.7% dan A=19.0%.

DAFTAR PUSTAKA

- BPS. 2018. Statistik Politik 2017. Jakarta-Indonesia: Badan Pusat Statistika
- Campbell, A., Jane, B. R., Michael, L. C., Steven, A. W., Peter, V. M., and Robert, B. J. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan*. Erlangga. Jakarta.
- Doherty, G. J., McMahon, H. T. 2009. *Mechanisms of endocytosis. Annual review of biochemistry*, 78, 857-902.
- Goldstein, J. L., Hobbs, H. H., Brown, M. S. 2001. *Familial hypercholesterolemia. In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disorders*. Sciver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. Childs B, Kinder KW, editors. 8th ed. New York: Mc Graw-Hill. pp 2863-2914.
- Gunder, L., Martin, S. 2011. *Essentials of medical genetics for health professionals*: Jones & Bartlett Learning.
- Hobbs, H. H., Russell, D. W., Brown, M. S, Goldstein, J.L. 1990. *The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutation analysis of a membran protein*. Annu. Rev. Genet. 24: 133-170.

- Munir, M. 2018. *Analisis Keragaman Genetik Daerah 3' untranslated region Gen LDLR dari Sampel Darah Mahasiswa UNIPA asal Kabupaten yang berbeda*. Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNIPA. Manokwari.
- Ngili, Y., Palit, E. I. Y., Suaka, I. Y., Noer, A. S. 2008. *Mitochondrial DNA diversity in indigenous populations of Northern Papua and its implications on native Papuan haplogroups*. *Proceeding of The International Seminar on Chemistry 2008* (pp. 621-627), Jatinangor, 30-31 October 2008. ISBN 978-979-18962-0-7.
- Palit, E. I. Y., Bolly, H. M. B., Ngili, Y. 2010. *Polymorphisms of Human Mithochondrial DNA Analysis in Papua Populations*. *Proceedings of the Third International Conference on Mathematics and Natural Sciences (ICMNS 2010)*.
- Sudhof, T. C., Goldstein, J. L., Brown, M. S., Russell, D. W 1985. *The LDL receptor gene: a mosaic of exons shared with different proteins*. *Science* (New York, NY), 228(4701), 815-822.
- Triwibowo, Yuwono. 2005. *Biologi Molekuler*. Yogyakarta: Penerbit Erlangga.
- Taher A, Solihin DD, Sulistiyani, Sajuthi D, Astuti DA. 2016. *Single nucleotide polymorphism within the LDLR gene and responsiveness of cynomolgus macaque (Macaca fascicularis) to atherogenic diet*. *Biodiversitas*. 17(2):430-434.