

DETEKSI GEN TNNT2 SEBAGAI PENANDA PENYAKIT JANTUNG PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2 MENGGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Sanatang^{1*} · Titi Purnama² · Rhiza Febriyanti³

^{1,2,3} D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala
Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia
e-Mail: chemist_ana82@yahoo.com
No Tlp WA : 081230373273

Abstract

Diabetes Mellitus is a group of metabolic diseases characterized by increased blood sugar levels. Type 2 diabetes is one of the risk factors for heart failure. The TnnT2 gene encodes the formation of the tropomyosin protein. This study aims to detect the TnnT2 gene in people with type 2 diabetes which can increase the risk of heart failure. This research method is in the form of DNA isolation, DNA concentration measurement, TnnT2 DNA amplification, and DNA visualization with a gene target of 220 bp. Based on the results of the research conducted from 12 serum samples of DM 2 patients, they had a > DNA ratio of 1.8. Meanwhile, the results of amplification of the TnnT2 gene using the PCR method obtained 2 samples detected with the TnnT2 gene with the formation of a 220 bp DNA band, namely in the R5 and R6 code samples, which means that there is a risk of heart failure and 10 samples without the formation of a 220 bp DNA band. The conclusion of this study is that diabetes mellitus can be a risk factor for heart disease. From the results of this study, it is hoped that patients with DM 2 can control glucose levels in order to prevent complications such as cardiovascular diseases.

Keywords : *Diabetes Melitus Tipe 2, TnnT2 Gene, Cardio Disease, PCR*

Abstrak

Diabetes Mellitus adalah golongan penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar gula dalam darah. DM tipe 2 merupakan salah satu faktor resiko terjadinya gagal jantung. Gen TnnT2 mengkode terbentuknya protein tropomyosin. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen TnnT2 pada penderita DM tipe 2 yang dapat meningkatkan resiko terjadinya gagal jantung. Metode penelitian ini berupa isolasi DNA, pengukuran konsentrasi DNA, amplifikasi DNA TnnT2, serta visualisasi DNA dengan target gen sebesar 220 bp. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh dari 12 sampel serum pasien DM 2 memiliki ratio DNA > dari 1,8. Sedangkan hasil amplifikasi gen TnnT2 dengan menggunakan metode PCR diperoleh 2 sampel terdeteksi gen TnnT2 dengan terbentuknya pita DNA berukuran 220 bp yaitu pada sampel kode R5 dan R6 yang berarti dapat beresiko terhadap gagal jantung dan 10 sampel tidak terbentuk pita DNA berukuran 220 bp. Kesimpulan pada penelitian ini adalah penyakit diabetes melitus dapat menjadi faktor resiko terjadinya penyakit jantung. Dari hasil penelitian ini diharapkan kepada penderita DM 2 dapat mengontrol kadar glukosa agar dapat mencegah terjadinya komplikasi seperti penyakit kardiovaskuler.

Kata Kunci : *Diabetes Melitus Tipe 2, Gen TnnT2, Penyakit Jantung, PCR*

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit kronik yang disebabkan karena pankreas tidak mampu memanfaatkan insulin yang dihasilkan pankreas dengan baik, baik secara tidak mencukupi maupun berlebihan (Murtiningsih et al., 2021). Diabetes mellitus ditandai dengan gejala seperti

meningkatnya nafsu makan, rasa lelah, capek, kesemutan, gatal, dan penglihatan kabur (Nurarif & Kusuma, 2015). Data Dinas Kesehatan Kota Kendari melaporkan bahwa tahun 2022 terdapat 1.825 kasus orang menderita penyakit DM dan pada tahun 2023 sebanyak 1.044 kasus.

Penanganan penyakit DM tipe 2 dengan tidak baik dapat menyebabkan berbagai komplikasi baik komplikasi akut atau komplikasi kronis. Kualitas hidup penderita DMT2 dapat menurun akibat komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler. Namun, Komplikasi vaskuler yang sangat berpengaruh terhadap kematian penderita DMT2. Beberapa yang tergolong dalam komplikasi makrovaskular berupa kelainan pada pembuluh darah besar (Edwina et al., 2015). Prevalensi kematian penderita DMT2 akibat komplikasi kronis seperti gagal jantung, jantung koroner ataupun stroke mencapai 65 % kasus (Purwandari et al., 2022).

Salah satu indikator pemeriksaan fungsi jantung adalah dengan mengukur kadar protein troponin dalam darah penderita DMT2. Fungsi dari Troponin T adalah untuk mengikat komponen troponin untuk tropomiosin. Kenaikan kadar troponin T dalam plasma dapat menjadi indikator kerusakan pada otot jantung serta dapat digunakan sebagai pendeteksi penyakit jantung koroner (Hamdani & Andina, 2017). Tingginya prevalensi disfungsi ventrikel sistolik dan diastolik serta hipertrofi ventrikel kiri di antara pasien diabetes dapat menjadi penyebab peningkatan kadar troponin yang kronis dan berkelanjutan (Bluroa et al., 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kaviarasan & Mohammed (2022) mendapatkan bahwa mutasi pada gen TnnT2 dapat mengganggu stabilitas kompleks dan hubungan timbal balik antara tropomiosin dan troponin T, sehingga mempengaruhi interaksi aktif. Varian gen TnnT2 terbukti mengganggu kerentanan kompleks terhadap Ca^{2+} , sehingga menurunkan kekuatan kontraktile miokardium. Oleh karena itu, berdasarkan dampak mutasi pada kekuatan kontraktile miokardium jantung, mutasi pada berbagai protein mungkin terkait dengan pola penyakit jantung. Penyakit DMT2 merupakan salah satu faktor resiko yang dapat menyebabkan penyakit jantung sehingga pada penelitian ini akan mendeteksi kemungkinan penyakit jantung pada penderita DMT2 dengan menggunakan parameter molekuler gen TnnT2.

BAHAN DAN METODE

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh pasien penderita DMT2 di wilayah Puskesmas Poasia Kota Kendari selama bulan Oktober-Desember 2023 dengan jumlah sampel sebanyak 12 responden. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung darah, tabung ependorff, serum, kit isolasi DNA (Geneaid), Master mix (Geneaid), Gel Red (Biorad), gel agarose, buffer TAE 1X, primer TnnT2 (primer forward: (5'-GCTACTGACAGTGTTTCCTGTTGC-3'), primer Reverse: (5'-CCCAGGATTTCCACATTGCTGAGC-3')) (Komamaru et al, 2004).

1. Pengambilan dan pemisahan sampel serum pasien DMT2

Pengambilan sampel darah pasien dilakukan dengan mengikuti sop flebotomi dan darah disimpan dalam *cool box* sebelum dibawa ke laboratorium. Untuk memperoleh serum, darah disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

2. Isolasi DNA dari serum

Proses isolasi DNA mengikuti manual kit pada kit isolasi DNA (*geneaid*).

3. Pengukuran Konsentrasi DNA

DNA hasil isolasi diukur konsentrasinya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV double beam. Kuvet diisi dengan ddH₂O sebanyak 2970 µl dan 30 µl DNA hasil isolasi. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 280 nm dan 260 nm.

4. Amplifikasi Gen TnnT2

Komponen campuran dalam setiap tabung PCR berisi 25 µl master mix, primer forward dan primer reversenya masing-masing 1 µl, ddH₂O 18 µl dan sampel 5 µl. Proses amplifikasi dilakukan dalam mesin thermal cycler menggunakan profil termal sebagai berikut; denaturasi awal 94 °C selama 9 menit, denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 56.5 °C selama 1 menit, extension pada suhu 72 °C selama 1 menit, dan final extension pada suhu 72 °C selama 6 menit siklus PCR dilakukan sebanyak 35 kali (Komamura et al., 2004).

5. Analisis Hasil PCR dengan Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan dengan menggunakan gel agarose 1,5 % dengan menggunakan buffer TAE 1X dan di running dengan menggunakan 80 V, arus

45 selama 60 menit. Gel yang telah dielektroforesis diamati pita-pita DNANYa dengan menggunakan UV transilluminator.

HASIL

1. Pengukuran Konsentrasi DNA TnnT2

DNA yang telah diisolasi pada serum pasien DMT2 diukur konsentrasi dan ratio nya dengan menggunakan alat spektrofotometer double beam. Adapun hasil pengukurannya dapat dilihat pada tabel 1.

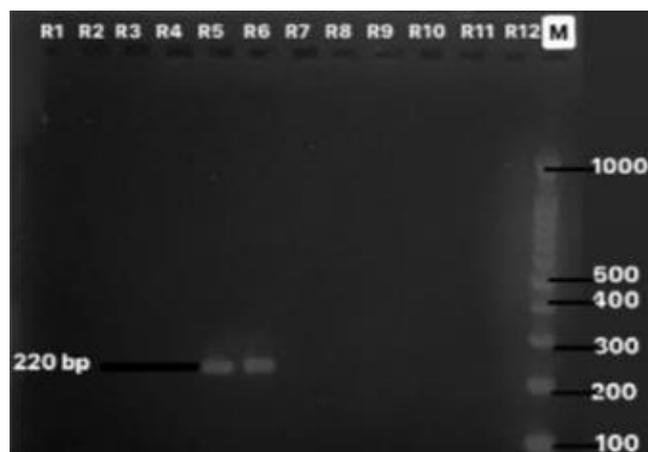
Tabel 1. Hasil pengukuran konsentrasi dan rasion DNA hasil isolasi

No	Sampel	Absorbansi λ 260 nm	Absorbansi λ 280 nm	Ratio (λ 260 nm/ λ 280 nm)	Konsentrasi DNA
1.	R1	3,458	3,452	1,002	80,09
2.	R2	6,719	6,491	1,041	165,2
3.	R3	6,712	6,441	1,049	167,2
4.	R4	6,669	6,366	1,055	167,5
5.	R5	6,564	6,340	1,041	161,9
6.	R6	6,687	6,400	1,052	167,4
7.	R7	6,773	6,520	1,045	167,1
8.	R8	6,883	6,596	1,050	173,2
9.	R9	7,051	6,760	1,049	178,0
10.	R10	7.126	6,916	1,034	177,5
11.	R11	7,320	7,334	0,998	174,6
12.	R12	7,565	7,214	1,055	194,4

Dari hasil pengukuran konsentrasi DNA dapat dilihat rata-rata konsentrasi DNA sebesar 164,5 sedangkan rata-rata ratio kemurnian DNA < 1,8.

2. Hasil Visualisasi Gen TNNT2

Penelitian ini menggunakan 12 sampel pasien DMT2. Hasil visualisaasi Gen TNNT2 yang telah dielektroforesis diperoleh 10 sampel negatif (83,33 %) tidak terbentuk pita berukuran 220 bp dan 2 sampel positif (16,67 %) terbentuk pita 220 bp dapat dilihat pada gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Hasil Visualisasi Gen TNNT2 (R1-R12: Sampel, M: Marker)

DISKUSI

Diabetes Mellitus merupakan kelainan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah sebagai akibat dari penurunan sekresi insulin, produksi insulin, atau keduanya (Kusumaningrum et al., 2022). Jenis diabetes mellitus yang paling umum di kalangan masyarakat umum adalah diabetes tipe 2 karena jenis penyakit ini semakin terkait dengan pilihan gaya hidup dan kebiasaan makan (Sutomo dan Nasrul, 2023).

Penelitian ini bertujuan mendeteksi keberadaan gen TnnT2 pada penderita diabetes mellitus tipe 2. DMT2 merupakan salah satu faktor resiko terjadinya gagal jantung (Balamba et al., 2017). Parameter pemeriksaan jantung salah satunya adalah pemeriksaan kadar troponin dalam darah. Kadar protein troponin dapat diproduksi oleh gen troponin, jenis troponin yang paling banyak berperan adalah jenis troponin T yang berperan dalam kontraksi otot jantung dan rangka. Troponin T akan dikeluarkan dari sirkulasi bila terjadi kerusakan otot jantung. TnnT2 merupakan gen yang berperan penting pada otot jantung manusia. Gen TnnT2 terletak pada kromosom 1q32 dan mengkode "troponin T2 jantung", gen TnnT2 mempengaruhi kontraksi otot jantung melalui perannya sebagai subunit tropomiosin binding dari kompleks troponin (Liu et al., 2023).

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel serum penderita diabetes mellitus tipe 2 untuk mendeteksi keberadaan gen TnnT2. Pertimbangan dalam pengambilan sampel penderita dengan melihat durasi lama menderita yaitu 5 tahun, hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Fortuna et al

(2023) yang menyatakan bahwa durasi ini lebih berisiko mengalami komplikasi dibandingkan pasien dengan durasi menderita diabetes dibawah 5 tahun.

Analisis kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer. Prinsip metode spektrofotometer sinar absorbansi UV adalah pemanfaatan panjang gelombang tertentu yang dapat ditangkap oleh molekul DNA (Prayoga et al.,2020). Hasil isolasi DNA pada penelitian ini didapatkan semua sampel isolasi DNA tidak memenuhi syarat karena dibawah kisaran 1,8 (Tabel 1). Tingkat kemurnain DNA hasil isolasi adalah jika ratio absorbansinya berada pada 1,8 - 2,0. Jika ratio absorbansinya kurang dari 1,8 menunjukkan bahwa sampel DNA terkontaminasi oleh protein dan polisakarida sedangkan jika ratio nilai absorbansinya kurang dari 2,0 maka DNA hasil isolasi terkontaminasi oleh RNA (Dewanata & Mushlih, 2021).

Proses pengerjaan tahap isolasi DNA sangat berpengaruh terhadap hasil konsentrasi serta kemurnian DNA. Hal-hal yang kemungkinan tersebut berupa tahapan pemindahakan supernatan dari tabung ependroff ke *colection tube*, waktu inkubasi sampel serta proses pengeringan isolat pada saat sentrifuse. Selain itu, penggunaan alat dan bahan harudijaga agar tetap steril sebelum proses isolasi DNA sehingga kontaminasi dapat diminimalisir (Nugroho, 2015).

Hasil amplifikasi pada 12 sampel serum penderita diabetes mellitus tipe 2 diperoleh 2 sampel positif terdapat gen TnnT2 yang terbentuk pita DNA dengan ukuran 220 bp hal tersebut menunjukkan bahwa kedua sampel ini berpotensi terhadap gagal jantung dan 10 sampel negatif tidak terdapat gen TnnT2 yang menandakan bahwa 10 sampel ini berasal dari pasien DM 2 yang tidak berpotensi menderita gagal jantung (Gambar 1). Pada sampel yang terdeteksi positif dengan kode sampel R5 dan R6 dapat dikaitkan dengan beberapa kondisi selain faktor lama menderitanya, patofisiologi gagal jantung pada pasien DM 2 yaitu terjadi karena gangguan metabolik seperti hiperglikemia, displidemia, akumulasi asam glikasi lanjut, obesitas dan peradangan yang dapat menyebabkan oksidasi stress, gangguan homeostatis kalsium, neuropati otonom dan aktivasi system renin-angiotensin. Efek negatif ini pada akhirnya akan menyebabkan disfungsi endotel, ateroklerosis, fibrosis jantung dan disfungsi jantung sehingga memicu gagal jantung (Sabbour & Ahmad, 2023).

Jika kadar glukosa tinggi maka dapat merusak pembuluh darah dan sirkulasi

darah di seluruh tubuh, termasuk jantung. Mengontrol kadar glukosa dapat membantu mencegah dan menunda gagal jantung (Febrinasari, 2020). Untuk mengontrol penyakit diabetes mellitus dan mencegah komplikasi penyakit jantung, pengaturan pola hidup penting untuk menjaga kadar glukosa dan lemak darah tetap normal (Darmono, 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa dari 12 sampel terdapat gen TnnT2 pada 2 sampel (16,67%) penderita DM 2 dengan panjang pita DNA berukuran 220 bp dan 10 sampel (83,33%) lainnya tidak terbentuk pita dengan ukuran 220 bp.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada pihak Dinas Kesehatan Kota Kendari dan Puskesmas Poasia dalam memberikan izin untuk pengambilan data dan sampel serta kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

- Balamba, M. K., Arie, S. M. L., & Brave, A. S. (2017). Animasi 3 Dimensi Penyakit Jantung Koroner Pada Manusia. *E-Journal Teknik Informatika*, 11 (1).
- Bluroa, I. M., Jesica, Y., Fernández, M., Pizarroa, R., & Nereo, A. M. (2021). *Endokrinologi ,Diabetes Dan Nutrisi*. 68, 321-328.
- Darmono. (2005). *Pengaturan Pola Hidup Penderita Diabetes untuk Mencegah Komplikasi Kerusakan Organ- Organ Tubuh*. Thesis. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Dewanata, P. A., & Mushlih, M. (2021). Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*, 15, 1-10.
- Dinas Kesehatan Kota Kendari. (2023). *Laporan Survey Kasus PTM 2023*. Provinsi Sulawesi Tenggara

- Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara. (2022). Profil Kesehatan Sulawesi Tenggara 2022. Provinsi Sulawesi Tenggara
- Edwina, D. A., Manaf, A., & Efrida, E. (2015). Pola Komplikasi Kronis Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Rawat Inap Di Bagian Penyakit Dalam Rs. Dr. M. Djamil Padang Januari 2011 - Desember 2012. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(1), 102-106.
- Febrinasari, R. P., Sholikah, T. A., Pakha, D.N., & Putra, S. E. (2020). Pentingnya Patuh Pengobatan Diabetes Melitus Dan Komplikasi. In *Buku Saku Diabetes Melitus Untuk Awam*. UNS Press.
- Fortuna, T. A., Hidayah, K., Desti, P., & Devi, E. P. (2023). Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Komplikasi pada Pasien Diabetes Mellitus di RSUD Dr. Moewardi. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 20 (1).
- Hamdani, I., & Andina, M. (2017). Hubungan Troponin T , Derajat Sumbatan Pembuluh Darah Dan Lama Rawatan Rumah Sakit Pada Pasien Post Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty (Ptca) Relationship Of Troponin T , Degree Of Blood Vessel Blockage And Length Of Hospi. *Buletin Farmatera*, 2(3), 140-145.
- Kaviarasan, V., Vajagathali, M., Dan Ramakrishnan, V. 2022. Genetic Predisposition Study Of Heart Failure And Its Association With Cardiomiopaty. *The Egyptian Heart Journal*, 74:5
- Komamura, K., Iwai, N., Kokame, K., Yasumura, Y., Kim, J., Yamagishi, M., Morisaki, T., Kimura, A., Tomoike, H., Kitakaze, M., & Miyatake, K. (2004). The Role Of A Common Tnnt2 Polymorphism In Cardiac Hypertrophy. *Journal Of Human Genetics*, 49(3), 129-133.
- Kusumaningrum, S, T., Isza, M., Dwina Putri, S., & Keperawatan UMRI Jl Tuanku Tambusai No, P. (2022). the Effectiveness of Health Education Demonstration of Diabetes Foot Exercises on Increasing Knowledge of Diabetes Mellitus Patients. *Jurnal Menara Medika*, 4(2), 157.
- Liu, Y., Meng, Z., Niu, J., Tian, L., Chen, Y., Meng, Q., Zhou, Z., & Liu, Y. (2023). Cardiac Troponin T (Tnnt2) Plays A Potential Oncogenic Role In Colorectal Carcinogenesis. *Cancer Cell International*, 23(1), 1-11.
- Murtiningsih, M. K., Pandelaki, K., & Sedli, B. P. (2021). Gaya Hidup Sebagai Faktor Risiko Diabetes Melitus Tipe 2. *E-Clinic*, 9(2), 328.
- Nugroho, S. (2015). Pencegahan Dan Pengendalian Diabetes Melitus Melalui Olahraga. *Medikora*, 9 (1).
- Prayoga, F.A., Anto, B., Kusumaningrum, H.P., Wijanarka, W., Agung, S. & Nurhayati, N. (2020). Metagenomic Applications In Exploration And Development Of Novel Enzymes From Nature: A Review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 18:39

Purwandari, C. A. A., Wirjatmadi, B., & Mahmudiono, T. (2022). Faktor Risiko Terjadinya Komplikasi Kronis Diabetes Melitus Tipe 2 Pada Pra Lansia. *Amerta Nutrition*, 6(3), 262-271.

Sutomo & Nasrul, H, P. (2023). Pengaruh Konsumsi Tisane Daun Belimbing Wuluh Terhadap Perubahan Kadar Gula Dalam Darah Pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Keperawatan*, 1-15.