

**PERBAIKAN PROFIL GEN *Hnf1 α* MELALUI PEMBERIAN
PROTEIN CSN1S2 SUSU KAMBING PERANAKAN ETHAWAH
PADA TIKUS MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2**

SKRIPSI

oleh
AYU RACHMA WARDHANI
145090100111020



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PERBAIKAN PROFIL GEN *Hnf1 α* MELALUI PEMBERIAN
PROTEIN CSN1S2 SUSU KAMBING PERANAKAN ETHAWAH
PADA TIKUS MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi**

**oleh
AYU RACHMA WARDHANI
145090100111020**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**PERBAIKAN PROFIL GEN *Hnfla* MELALUI PEMBERIAN
PROTEIN CSN1S2 SUSU KAMBING PERANAKAN
ETHAWAH PADA TIKUS MODEL DIABETES MELITUS
TIPE 2**

**AYU RACHMA WARDHANI
145090100111020**

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 10 Januari 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui
Pembimbing

Prof. Dra. Fatchiyah, M.Kes., Ph.D.
NIP. 19631127 198903 2 001

Mengetahui
Kepala Program Studi S-1 Biologi
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Rodliyati Azraningsih, S.Si., M.Sc., PhD.
NIP. 19700128 199412 2 001

BAWA SAMA PERUSAHAAN

Perusahaan Terbuka (Public Company) adalah perusahaan yang sahamnya diperdagangkan di bursa efek. Perusahaan ini memiliki struktur organisasi yang kompleks dan terdistribusi di berbagai lokasi. Contoh perusahaan terbuka adalah PT Bank Rakyat Indonesia (BRI), PT Bank Mandiri (Mandiri), dan PT Bank Central Asia (BCA).

Perusahaan Terbuka (Public Company)

Perusahaan Terbuka (Public Company)

PERMITS/REGULATORY/INFORM

Review of the Department's work plan and other documents
concerning the proposed project, including the proposed
action plan, the proposed project, and the proposed
action plan, shall be reviewed and approved by the
Department.

Perbaikan Profil Gen *Hnf1 α* Melalui Pemberian Protein CSN1S2 Susu Kambing Peranakan Ethawah pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2

Ayu Rachma Wardhani, Fatchiyah
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya
2018

ABSTRAK

Mutasi yang terjadi pada gen *hepatocyte nuclear factor 1 α* (*Hnf1 α*) menjadi salah satu faktor dalam mekanisme patogenesis penderita diabetes melitus tipe 2 (DMT2). Penggunaan nutrisi alami diperlukan untuk memperbaiki kerusakan tingkat gen pada penderita DMT2. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian protein CSN1S2 dari susu kambing Ethawah dalam menghambat mutasi gen *Hnf1 α* exon 2 dan 4 menggunakan tikus model DMT2. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan tikus (*Rattus norvegicus* strain Wistar) yang dibagi menjadi 2 kelompok utama dengan 3 ulangan yaitu kontrol dan kelompok diabetes yang telah diinduksi *streptozotocin* (STZ) pada dosis 25 mg/kg BB. Perlakuan protein CSN1S2 diberikan pada 3 dosis yaitu 375 mg/kg BB; 750 mg/kg BB; 1500 mg/kg BB. Produk isolasi DNA total dari organ pankreas diamplifikasi untuk mendapatkan sekuen target yaitu gen *Hnf1 α* exon 2 dan 4. Hasil amplifikasi disekuensing lalu dilakukan analisis menggunakan *BioEdit*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan STZ dapat menginduksi mutasi yang mengarah pada DMT2 pada gen *Hnf1 α* exon 4 yaitu insersi T₉₉ → C₉₉. Mutasi tersebut dapat dihambat oleh protein CSN1S2 pada penggunaan dosis 375 dan 750 mg/kg, sedangkan pada dosis 1500 mg/kg BB terjadi mutasi baru yaitu insersi T₉₀ → G₉₀ dan insersi A₄₁₅ → T₄₁₅. Sehingga penggunaan dosis aman untuk kelompok DMT2 adalah 375 dan 750 mg/kg BB.

Kata kunci: CSN1S2, DMT2, Ethawah, *Hnf1 α* , STZ

Improving Genetic Profile of *Hnf1α* Rat Model Type 2 Diabetes Mellitus through Giving Protein CSN1S2 Ethawah Goat Milk

Ayu Rachma Wardhani, Fatchiyah

Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Science,
Brawijaya University
2018

ABSTRACT

Mutations in the hepatocyte nuclear factor 1α gene (*Hnf1α*) become one of the factors which cause type 2 diabetes mellitus (T2DM), by using CSN1S2 protein from PE goat milk is expected to improve the defect at genomic level in T2DM patients. The aim of this study to analyze the effect of protein CSN1S2 Ethawah goat milk for minimize the mutations in *Hnf1α* exon 2 and 4 of rat (*Rattus norvegicus* Wistar strain) T2DM model. This research focus in two main groups model with three repetitions, there are normal group and diabetic group which induced by streptozotocin (STZ). All groups were given CSN1S2 protein in three doses: 375 mg/kg BW, 750 mg/kg BW and 1500 mg/kg BW. After all treatment, *Hnf1α* gene was extracted from pancreas then amplified with specific primer. The results of amplification are sequenced using ABL PRIMS 3700 DNA Sequencer and analyzed using BioEdit. The results showed the induction of STZ can cause mutations that lead to T2DM in *Hnf1α* gene exon 4 and does not occur in exon 2. The type of mutation is insertion T₉₉ → C₉₉. Mutations in exon 4 were minimized after given CSN1S2 protein at 375 and 750 mg/kg BW doses. Whereas at doses 1500 mg/kg BW cause new mutation, that is insertion T₉₀ → G₉₀ and insertion A₄₁₅ → T₄₁₅. Accordingly, the safe dosage for T2DM is 375 and 750 mg/kg BW.

Keywords: CSN1S2, Ethawah, *Hnf1α*, STZ, T2DM

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di bidang Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

Tak lupa beribu ucapan terimakasih disampaikan kepada:

1. Prof. Dra. Fatchiyah, M.Kes., Ph.D selaku pembimbing skripsi atas *support* baik moril maupun materil
2. Prof. Dr. Ir. Estri Laras Arumingtyas, M.Sc. selaku dosen pembimbing akademik selama masa perkuliahan
3. Alm. Zainil, Ahcmad Siaman dan Sri Kanti selaku orang tua, kakek nenek, adik-adik (Saivi-Lusiana) serta kerabat dekat yang terus memberikan motivasi untuk menyelesaikan studi di Malang
4. Dr. Sri Widyarti, M.Si selaku penguji 1
5. Dr. Sri Rahayu, M.Kes selaku penguji 2
6. Hibah Penelitian Unggulan PTN Kemenristek Dikti 2015
7. Rista Nikmatu Rohmah, M.Si, Lidwina Faraline T, M.Si dan seluruh teman-teman WG SMONAGENES

Penulisan skripsi ini merupakan upaya optimal penulis sebagai sarana terbaik dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk menjadikan karya ini sangat bermanfaat.

Malang, 10 Januari 2018

Ayu Rachma

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2).....	4
2.2 <i>Hepatocyte Nuclear Factor 1α</i> (<i>Hnf1α</i>).....	5
2.3 Protein CSN1S2 pada Susu Kambing Peranakan Ethawah	8
2.4 Kerangka Konsep.....	9
BAB III METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Kelaikan Etik.....	11
3.3 Isolasi Protein CSN1S2 dari Susu Kambing PE	11
3.4 Pembuatan Hewan Coba DMT2	11
3.5 Perlakuan Hewan Coba DMT2	12
3.6 Ekstraksi DNA Pankreas.....	12
3.7 Uji Kuantitatif dan Kualitatif.....	13
3.8 Amplifikasi Gen Target.....	14
3.9 Purifikasi Produk PCR	15
3.10 Sekuensing dan Analisis Data Sekuen	15
3.11 Kerangka Operasional.....	16

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Uji Kuantitatif dan Kualitatif DNA.....	17
4.2 Amplifikasi Gen <i>Hnf1α</i>	19
4.3 Sekuen Gen <i>Hnf1α</i> Exon 2 dan Exon 4.....	21
4.4 Perbaikan Kerusakan Gen <i>Hnf1α</i> oleh Protein CSN1S2	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	26
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1	Kelompok perlakuan hewan coba.....	12
2	Urutan desain primer dari setiap exon 2 dan 4.....	14
3	Kemurnian dan konsentrasi sampel DNA.....	17

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	GLUT2 merupakan protein transport molekul glukosa ke dalam sel	5
2	Jalur mekanisme patofisiologi DMT2 dengan melibatkan kerusakan pada gen <i>Hnf1α</i>	6
3	Gen <i>Hnf1α</i> terdiri atas 3 domain fungsional yang dikode oleh masing-masing exon.....	8
4	Rancangan konsep penelitian.....	10
5	Kerangka operasional dalam pelaksanaan penelitian.	16
6	Produk isolasi total DNA yang divisualisasi menggunakan gel agarosa 1%.....	18
7	Pita spesifik DNA hasil amplifikasi tampak pada visualisasi menggunakan gel agarosa 1,5%	20
8	Sekuen gen <i>HNF1α</i> exon 2 menunjukkan kesamaan sekuen dari masing-masing kelompok.....	21
9	Susunan basa exon 4 menunjukkan adanya insersi....	22

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Pembuatan reagen dan desain primer	33
2	Hasil penyejajaran sekuen gen <i>Hnf1α</i>	39

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
CSN1S2	α s2-kasein
DM	diabetes melitus
DMT2	diabetes melitus tipe 2
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
EtBr	etodium bromide
GLUT	<i>glucose transporter</i>
GLUT2	<i>glucose transporter 2</i>
<i>Hnf1a</i>	<i>hepatocyte nuclear factor 1a</i>
IAPP	<i>islet Amyloid Polipeptide</i>
MODY	<i>maturity onset of diabetes young</i>
mRNA	<i>messenger RNA</i>
NAD ⁺	<i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>
NaOAc	sodium asetat
NCBI	<i>national center for biotechnology information</i>
NIDDM	<i>non-insulin dependent diabetes mellitus</i>
PARP	<i>poli (ADP-ribose) polymerase</i>
PCI	<i>phenol:chloroform:isoamil alcohol</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
PDX1	<i>pancreatic and duodenal homeobox 1</i>
PE	peranakan ethawah
Pro-K	proteinase-k
RA	<i>rheumatoid arthritis</i>
ROS	<i>reactive oxygen species</i>
STZ	<i>streptozotocin</i>
TBE	tris-Cl, <i>boric acid</i> , EDTA
TE	tris-Cl, EDTA
WHO	<i>world health organization</i>
XRCC1	<i>x-ray repair cross complementing protein1</i>

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
°C	derajat celcius
μ l	mikroliter
BB	berat badan
bp	<i>base pair</i>

g/mol	gram per molar
kb	<i>kilo base pair</i>
kg	kilogram
M	molaritas
mg	miligram
mg/dl	miligram per desiliter
ml	mililiter
ng/μl	nanogram per mikroliter
rpm	<i>revolution per minute</i>
α	alfa
β	beta