



**DETEKSI MUTASI GEN Tmprss 6 MENGGUNAKAN METODE T-ARMS PCR
PADA KASUS *STUNTING* DENGAN KADAR HEMOGLOBIN
RENDAH DI PUSKEMAS BENU-BENUA**

Titi Purnama¹, Nada Fitra Nur Auliyah²

D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Mandala Waluya

Email: nadafitra.2001@gmail.com

ABSTRAK

Standar angka kasus *stunting* nasional menurut SSGI (Studi Status Gizi Indonesia) tahun 2021 hanya mencapai 24,4 %. Sulawesi Tenggara termasuk dalam salah satu dari 12 provinsi dengan prevalensi angka kasus *stunting* tertinggi di Indonesia, dan menduduki posisi kelima tingkat nasional dengan kasus mencapai 30,2 %. *Stunting* merupakan indikator terjadinya malnutrisi akibat kurangnya asupan zat gizi. Salah satu asupan zat gizi yang diperlukan adalah zat besi. Oleh karena itu, anak yang mengalami *stunting* beresiko akan mengalami anemia. Anemia disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya diakibatkan oleh mutasi gen. Mutasi pada gen Tmprss 6 merupakan inidikator seseorang mengalami anemia. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi mutasi gen Tmprss 6 pada kasus *stunting* anak dengan kadar hemoglobin rendah di Puskesmas Benu – Benua.

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian kualitatif dengan desain penelitian case control study. Populasi dalam penelitian ini balita dengan kasus *stunting* di wilayah kerja Puskesmas Benu – Benua dengan jumlah sampel sebanyak 9 responden dideteksi secara molecular menggunakan metode T-ARMS PCR.

Hasil penelitian ini menunjukkan seluruh responden mengalami penurunan kadar hemoglobin (<12 gr/dl) dan hasil PCR menunjukkan mutasi gen Tmprss 6 yang membawa genotip CT terdapat pada sampel 1, 2, 6, 7, 8, 9, dan pada sampel 10 sebagai kontrol, ditandai dengan terbentuknya pita berukuran 331 bp, 225 bp, dan 151 bp. Mutasi gen Tmprss 6 yang membawa genotip TT terdapat pada sampel 4 ditandai dengan terbentuknya pita berukuran 331 bp, dan 151 bp, sedangkan sampel 3 dan 5 menunjukkan pola genotip yang tidak jelas karena hanya menghasilkan pita berukuran 151 bp.

Kata Kunci : *Stunting*, Hemoglobin, Anemia, Tmprss 6, T-ARMS PCR



PENDAHULUAN

Masa balita merupakan masa penting pertumbuhan anak. Untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan balita, pemilihan jenis makanan menjadi sangat penting untuk memenuhi kebutuhan zat gizi. Secara umum terdapat 6 zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh yaitu karbohidrat, lemak, protein, vitamin, mineral seperti diantaranya zat besi (Fe) dan seng (Zn). Karbohidrat dalam tubuh manusia bermanfaat sebagai sumber energi utama yang diperlukan untuk beraktivitas, karbohidrat yang berlebihan dalam tubuh akan disimpan dalam bentuk lemak sebagai cadangan sumber energi. Lemak dalam tubuh bermanfaat sebagai sumber energi dan melarutkan vitamin sehingga dapat mudah diserap oleh usus. Protein merupakan zat yang membantu untuk membangun sel tubuh sehingga sangat penting bagi balita yang berada dalam tahap pertumbuhan dan perkembangan. Selain itu protein berfungsi sebagai pengganti sel tubuh yang rusak. Mineral dan vitamin merupakan zat gizi yang diperlukan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan balita. Hal tersebut menunjukkan pentingnya asupan nutrisi yang adekuat. (Azmy dan Mundiastuti, 2018).

Masalah Kekurangan gizi yang mendapat banyak perhatian saat ini adalah masalah kurang gizi kronis dalam bentuk anak pendek yang biasa disebut dengan *stunting*, dan kurang gizi akut dalam bentuk anak kurus disebut *wasting* (Djauhari, 2018). Indonesia berada diposisi

peringkat kelima dengan prevalensi *stunting* terbesar di dunia.

Menurut laporan hasil studi status gizi Indonesia (SSGI) pada tahun 2021, balita di Indonesia yang mengalami *stunting* mencapai angka 24,4 %. Berdasarkan peninjauan yang dilakukan SSGI pada tahun tersebut, Sulawesi Tenggara termasuk dalam salah satu dari 12 provinsi dengan prevalensi angka kasus *stunting* tertinggi di Indonesia, dan menduduki posisi kelima tingkat nasional dengan kasus mencapai 30,2 %. Berdasarkan hasil tersebut, Sulawesi Tenggara masih berada di atas rata-rata nasional, menurut SGGI tahun 2021 standar angka kasus *stunting* nasional hanya mencapai 24,4 %.

Stunting merupakan indikator terjadinya malnutrisi akibat kurangnya asupan zat gizi. Salah satu asupan zat gizi yang diperlukan adalah zat besi. Oleh karena itu anak yang mengalami *stunting* beresiko 2,7 kali lebih besar akan mengalami anemia. Defisiensi zat besi menjadi masalah umum yang terjadi di dunia dan menjadi penyebab utama terjadinya anemia defisiensi zat besi yang dialami oleh seperempat penduduk dunia. Defisiensi zat besi akan menurunkan produksi eritrosit dan menyebabkan anemia yang akan mengakibatkan *deficit* fungsi kognitif. (Flora dkk., 2019). Penelitian di



Venezuela dalam Roziqo dan Nuryanto (2016) menunjukkan bahwa skor TB/U bergeser kekiri pada balita anemia, dibandingkan dengan balita non-anemia. Hal ini menunjukkan bahwa *stunting* merupakan salah satu faktor penyebab anemia.

Anemia disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain akibat kekurangan zat besi (defisiensi besi) dan akibat mutasi gen pada hemoglobin (Hb). Kekurangan zat besi membuat tubuh tidak mampu menghasilkan hemoglobin (Hb). Kondisi ini bisa terjadi akibat kurangnya asupan zat besi dalam makanan, atau karena tubuh tidak mampu menyerap zat besi. Anemia dapat terjadi tidak hanya disebabkan oleh gangguan pada proses masuknya ataupun keluarnya zat besi namun juga dapat terjadi karena adanya mutasi gen Tmprss 6. Mutasi ini dapat mengakibatkan penurunan kadar besi, diduga merupakan kelainan bersifat resesif sehingga dapat mempengaruhi kerja enzim metripase-2 yang memiliki fungsi sebagai regulator negatif pada transkripsi dari *hepcidin*. Jika terjadi peningkatan kadar *hepcidin* maka akan menghambat proses penyerapan zat besi (Fikry (2015) dalam Gusnadin, (2022) ; Perdana dan Jacobus, (2015)). Mutasi atau cacat pada gen Tmprss 6 terjadi akibat penyakit anemia mikrositik hipokromik, saturasi transferrin rendah, dan nilai *hepcidin* tinggi (De Falco, dkk. 2013).

Perlu dilakukan pendekatan molekuler

untuk mengidentifikasi mutasi gen Tmprss 6 yang mengakibatkan anemia pada kasus *stunting*. Salah satu teknik identifikasi molekuler yang dapat digunakan sebagai sarana diagnosis penyakit adalah teknik amplifikasi DNA. Teknik ini mampu melipatnggandakan untai DNA sampel sehingga dapat dianalisis dengan lebih jelas. Teknik amplifikasi DNA yang digunakan adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Feranisa, 2016).

Tetra-ARMS PCR merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi mutasi atau polimorfisme pada suatu DNA. Pada metode ARMS PCR digunakan empat buah primer dengan salah satu primer akan mengenali secara spesifik keberadaan suatu alel. Ujung 3' dari primer spesifik akan menempel pada DNA cetakan yang mengalami mutasi. Sampel yang mengalami mutasi akan menghasilkan dua fragmen dengan ukuran yang berbeda, sedangkan sampel normal hanya akan menghasilkan satu fragmen. Metode ARMS PCR dapat digunakan untuk mendiagnosis suatu penyakit yang disebabkan oleh mutasi pada suatu gen (Badriyya dan Achyar, 2020).

Oleh karena itu, dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui adanya mutasi gen Tmprss 6 pada kasus *stunting* dengan kadar Hb rendah. Hal ini diharapkan bisa menjadi salah satu bentuk deteksi dini



dan upaya pencegahan terhadap faktor-faktor malnutrisi yang disebabkan oleh kasus *stunting* pada balita dan anak.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian kualitatif dengan desain penelitian *case control study* untuk mendeteksi mutasi gen TMRSS 6 pada kasus *stunting* dengan kadar hemoglobin rendah di Puskesmas Benu-Benua.

HASIL

Telah dilakukan penelitian deteksi mutasi gen TMRSS 6 menggunakan metode T-ARMS PCR pada kasus *stunting* dengan kadar haemoglobin rendah di Puskesmas Benu-Benua pada tanggal 29 Mei 2023 – 6 Juni 2023 di laboratorium Puskesmas Benu – Benua dan Laboratorium Diagnostik Molekuler Prodi D-IV TLM Universitas Mandala Waluya.

1. Karakteristik responden

a. Umur

Berdasarkan data hasil observasi penelitian yang dilakukan, distribusi frekuensi responden berdasarkan umur ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Distribusi frekuensi responden berdasarkan umur di Puskesmas Benu – Benua

No	Rentang umur	n	%
1.	12-23 bln	2	22.2
2.	24-59 bln	7	77.8
	Total	9	100

(Sumber data primer, 2023)

Berdasarkan data tabel 1, umur yang dimaksud adalah lama waktu hidup responden sejak dilahirkan sampai penelitian ini dilakukan dalam satuan bulan. Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa responden yang berumur 12 – 23 bulan berjumlah 2 responden dengan presentase (22.2 %), responden yang berumur 24 – 59 bulan berjumlah 8 responden dengan presentase (77.8 %).

b. Jenis kelamin

Pada saat penelitian berlangsung diperoleh jumlah responden yang berjenis kelamin perempuan lebih banyak dibandingkan jumlah responden laki-laki.

Tabel 2. Distribusi frekuensi responden berdasarkan jenis kelamin di Puskesmas Benu – Benua

No	Jenis kelamin	n	%
1.	Perempuan	3	33.3
2.	Laki-laki	6	66.7
	Total	23	100

(Sumber data primer, 2023)

Berdasarkan tabel 2 di atas, dapat dilihat bahwa responden yang berjenis kelamin perempuan frekuensinya lebih tinggi yaitu berjumlah 6 responden dengan presentase (66.7 %) dan responden dengan jenis kelamin laki-laki sebanyak 4 responden dengan presentase (33.3 %).

c. Status Stunting

Berdasarkan data hasil observasi



penelitian yang dilakukan, jumlah responden berdasarkan status *stunting* ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Distribusi frekuensi responden berdasarkan status *stunting* di Puskesmas Benu – Benua

No	Status Stunting	n	%
1.	Sangat Pendek	2	22.2
2.	Pendek	7	77.8
3.	Normal	-	-
Total		9	100

(Sumber data primer, 2023)

Berdasarkan data diatas, status *stunting* yang dimaksud adalah status gizi balita yang ditentukan melalui pengukuran tubuh keadaan tinggi badan (TB) seseorang yang tidak sesuai dengan umur, yang penentuannya dilakukan dengan menghitung skor Z-indeks tinggi badan menurut umur (TB/U). Berdasarkan tabel 8 dapat diketahui bahwa responden dengan status *stunting* sangat pendek berjumlah 2 responden dengan presentase (22.2 %), responden dengan status *stunting* pendek berjumlah 7 responden dengan presentase (77.8 %).

d. Hemoglobin

Berdasarkan data hasil observasi penelitian yang dilakukan, distribusi frekuensi responden berdasarkan kadar hemoglobin ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Distribusi frekuensi responden berdasarkan hemoglobin di Puskesmas Benu – Benua

No	Status Stunting	n	%	Nilai HB anak
----	-----------------	---	---	---------------

(mg/dL)				
1.	Rendah	2	22.2	<12
2.	Normal	7	77.8	12-14
3.	Tinggi	-	-	>14
Total		9	100	

(Sumber data primer, 2023)

2. Hasil Uji Kualitas dan Kuantitas DNA

Hasil pengukuran konsentrasi DNA sampel responden balita *stunting* yang memiliki hemoglobin rendah di Puskesmas Benu-Benua dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Kualitas dan Kuantitas DNA

Kode	Konsentrasi			Ratio (A260/A280)
	DNA (µg/mL)	A260	A280	
1	19.41	7.765	7.380	1.056
2	19.38	7.752	7.367	1.056
3	19.42	7.696	7.313	1.056
4	19.15	7.662	7.279	1.056
5	19.15	7.662	7.280	1.057
6	19.08	7.633	7.250	1.057
7	18.98	7.595	7.211	1.056
8	18.94	7.578	7.195	1.056
9	18.88	7.553	7.170	1.057
10	18.83	7.534	7.151	1.056

(Sumber data primer, 2023)

3. Hasil Deteksi Mutasi Gen TMRSS 6

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil deteksi mutasi gen TMRSS 6 menggunakan metode T-ARMS PCR pada kasus *stunting*



dengan kadar hemoglobin rendah dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis: Ket: 1-9 = sampel,10 = kontrol, M = marker (100 bp Ladder TianGen).

Berdasarkan gambar 1 dapat diketahui bahwa pada sampel 1, 2, 6, 7, 8, 9, dan 10 terbentuk pita DNA yang berukuran 151 bp, 225 bp, dan 331 bp. Sampel 4 terbentuk pita DNA yang berukuran 151 bp dan 331 bp, serta sampel 3 dan 5 terbentuk pita DNA yang berukuran 151 bp.

Tabel 6. Hasil deteksi mutasi gen Tmprss6 menggunakan metode T-ARMS PCR pada kasus *stunting* dengan kadar hemoglobin rendah.

Hasil PCR	Kode Sampel	n	%
CC	-	-	-
CT	1, 2, 6, 7, 8, 9	6	66.7
TT	4	1	11.1

(Sumber data primer, 2023)

Berdasarkan tabel 6. dapat diketahui bahwa hasil mutasi gen Tmprss6 yang membawa genotip CT terdapat pada sampel 1, 2, 6, 7, 8, 9 dengan presentase (66.7 %), mutasi gen Tmprss6 yang membawa genotip TT

terdapat pada sampel 4 dengan presentase (11.1 %).

PEMBAHASAN

Stunting atau postur tubuh pendek adalah kondisi tinggi badan (TB) anak yang tidak ideal dengan usianya, dimana penentuannya dilakukan dengan menghitung skor Z-indeks tinggi badan menurut umur (TB/U). *Stunting* merupakan masalah kurang gizi kronis yang disebabkan oleh zat gizi yang kurang dalam jangka lama akibat pasokan makanan yang tidak sesuai dengan kebutuhan gizi (Sutarto dkk., 2018).

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mendeteksi mutasi gen Tmprss6 menggunakan metode T-ARMS PCR (*Tetraprimer Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction*) pada kasus *stunting* dengan kadar hemoglobin rendah di wilayah kerja puskesmas Benu-Benu. Penelitian ini dimulai dengan mengumpulkan data kasus balita *stunting* di wilayah kerja Puskesmas Benu – Benu, kemudian peneliti meminta persetujuan orang tua/wali dari responden, setelah itu dilakukan pengambilan sampel dan diperiksa kadar hemoglobinnya secara *automatic*, sampel yang memenuhi kriteria inklusi kemudian dilanjutkan ke tahap pemeriksaan secara molekuler menggunakan metode T-



ARMS PCR.

Responden pada penelitian ini adalah anak yang berusia dibawah 5 tahun (Balita). Karena pada anak usia balita mengalami resiko *stunting* lebih tinggi dibandingkan anak yang berusia di atas 5 tahun (Mzumara dkk., 2018). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada tabel 1 menunjukkan bahwa mayoritas responden yang mengalami *stunting* berusia 24 – 59 bulan dengan persentase (77.8 %) dibanding responden yang berusia 12 – 23 bulan dengan persentase (22.2 %). Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian dari Sujianti dan Suko (2021), dimana balita yang mengalami *stunting* paling banyak terjadi diusia 25 – 59 bulan. *Stunting* pada anak bisa mulai terjadi saat janin masih dalam kandungan dan akan terlihat bila anak telah menginjak usia 2 tahun. Hal ini terjadi karena seluruh organ penting dan sistem tubuh mulai terbentuk sempurna setelah 1000 hari pertama kehidupan (1000 HPK). Menurut Nasikhah (2012) balita dibawah usia 2 tahun dapat melakukan kejar tumbuh maka akan ada kesempatan balita tersebut dapat tumbuh dengan tinggi badan normal. Pernyataan tersebut sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Wanimbo dan Minarni (2020) menunjukkan dominan *stunting* terjadi pada balita diusia >13 bulan dibanding balita yang berusia <13 bulan.

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa responden terbanyak adalah yang berjenis kelamin perempuan dengan persentase (66.7 %) dibandingkan responden laki-laki yang

hanya memiliki persentase (33.3 %). Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Murti dkk. (2020), dimana kasus terbanyak balita *stunting* adalah yang berjenis kelamin perempuan dengan persentase (68.8 %). Hal ini juga sependapat dengan penelitian Habibzadeh dkk. (2015) yang berkesimpulan bahwa prevalensi kegagalan pertumbuhan pada bayi perempuan lebih tinggi dibanding laki-laki, hasil penelitiannya juga menyatakan bahwa kegagalan tersebut terjadi karena adanya diskriminasi terhadap *gender*.

Balita *stunting* dengan kadar hemoglobin rendah merupakan subjek dalam penelitian ini. Berdasarkan tabel 4 dapat dilihat bahwa seluruh responden dengan kasus *stunting* memiliki kadar hemoglobin yang rendah dengan persentase (100 %). Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Yustia (2022) yang menyimpulkan bahwa balita *stunting* lebih banyak mengalami penurunan kadar hemoglobin dengan persentase (60 %). *Stunting* menjadi indikator malnutrisi asupan zat gizi di dalam tubuh, ada beberapa zat gizi yang diperlukan untuk tumbuh kembang anak, salah satu asupan zat gizi yang diperlukan adalah zat besi. Apabila terjadi kekurangan zat besi, maka tubuh akan gagal memproduksi hemoglobin (Hb) dalam jumlah yang diperlukan. Penurunan kadar hemoglobin di dalam



tubuh akan mengakibatkan kurangnya oksigen dalam darah akibat gangguan pada proses pengikatan oksigen, hal ini ditandai dengan penurunan kadar Hb yang menyebabkan seorang anak *stunting* mengalami anemia. Menurut Flora dkk. (2019) mengatakan bahwa anak yang mengalami *stunting* beresiko 2,7 kali lebih besar akan mengalami anemia. Anemia pada seseorang dapat ditentukan dengan pendekatan kinetik yang didasarkan pada mekanisme yang berperan dalam turunnya hemoglobin (Oehadian, 2012). Pendapat dari Muzayyarah dan Suyati (2018) kadar hemoglobin merupakan parameter yang paling mudah digunakan dalam menentukan status anemia, jika kadar hemoglobin rendah dapat dipastikan seseorang akan mengalami anemia.

Sampel yang memenuhi kriteria inklusi kemudian langsung dilanjutkan pada pemeriksaan molekuler dihari yang sama untuk mempertahankan stabilitas sampel. Stabilitas sampel merupakan kemampuan sampel dalam mempertahankan nilai awal yang diukur secara kuantitatif pada waktu tertentu apabila disimpan dalam kondisi yang telah ditentukan (Aliviameita, 2022). Suhu 4°C direkomendasikan sebagai suhu yang ideal untuk penundaan selama 12 jam, dan apabila penundaan dilakukan tanpa disimpan di lemari pendingin maka sampel harus dianalisis paling lama 24 jam (Ozmen dan Ozarda, 2021).

Sampel kemudian dilanjutkan pada deteksi molekuler menggunakan metode T-

ARMS PCR. Tujuan digunakan metode ini adalah metode tersebut dapat digunakan untuk mendeteksi adanya mutasi pada suatu fragmen DNA. Ada beberapa tahap pada pemeriksaan molekuler yang dilakukan, antara lain proses isolasi, proses pengukuran kemurnian DNA, proses amplifikasi DNA, serta proses elektroforesis. Proses isolasi DNA pada penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi atau mengeluarkan DNA dari inti sel serta untuk memisahkan DNA murni dari komponen sel lainnya seperti protein, karbohidrat dan lemak. Menurut Harahap (2017) prinsip utama dari proses isolasi DNA terbagi menjadi 3 yaitu penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan dari bahah padat lain seperti selulosa dan protein, serta yang terakhir adalah pemurnian DNA.

Setelah tahapan akhir isolasi DNA, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran uji kualitas dan kuantitas DNA menggunakan alat spektrofotometer. Berdasarkan hasil pengukuran kemurnian DNA pada tabel 5, sampel dalam penelitian ini mempunyai interval nilai rasio berkisar antara 1.056-1.057, yang menandakan bahwa semua sampel memiliki kontaminan RNA. Hal ini dikarenakan pada proses isolasi dalam penelitian ini tidak menggunakan zat yang dapat menghilangkan RNA (RNase). Hal ini sejalan dengan penelitian Atiq (2022) yang menyatakan bahwa konsentrasi DNA yang



memiliki nilai di bawah rasio ($<1,8$) menandakan isolat DNA terkontaminsi oleh RNA dan yang memiliki nilai di atas rasio ($>2,0$) menandakan isolat DNA terkontaminasi oleh protein.

Nilai konsentrasi DNA pada tabel 5 menunjukkan bahwa sampel 3 memiliki konsentrasi DNA yang paling tinggi yaitu sebesar $19.42 \mu\text{g/mL}$ dan konsentrasi yang terendah adalah sampel 10 dengan nilai $18.83 \mu\text{g/mL}$. Menurut Gusnadin (2022) ada beberapa faktor yang akan mempengaruhi nilai konsentrasi isolat DNA, salah satunya adalah suhu inkubasi, sampel yang telah di campurkan dengan larutan *lysis buffer* di inkubasi pada suhu tertentu. Jika suhu inkubasi yang digunakan terlalu tinggi maka dapat merusak DNA, sedangkan jika suhu terlalu rendah maka membran serta jaringan sel tidak dapat hancur yang mengakibatkan DNA di dalam sel tidak keluar. Meskipun demikian, hal ini tidak menjadi suatu masalah dikarenakan salah satu kelebihan dari metode PCR adalah tidak mengharuskan sampel memiliki tingkat konsentrasi DNA yang tinggi oleh karena itu meskipun dengan tingkat kemurnian DNA yang terbilang rendah, DNA tersebut masih dapat digunakan dan di amplifikasi.

Tahap amplifikasi DNA pada penelitian ini adalah proses duplikasi atau memperbanyak DNA secara *in vitro* menggunakan alat *thermal cycler*. Hasil dari isolasi DNA pada penelitian ini masih dapat teramplifikasi, walaupun tingkat

kemurnian DNA terukur rendah hal ini dikarenakan pada penelitian ini juga menggunakan primer spesifik yang didesain khusus untuk untuk memperkuat gen target. Pada penelitian ini tahap amplifikasi DNA digunakan 4 primer untuk melihat mutasi gen TMPRSS 6 yaitu primer FO (5' GAA TAG AGA ACA GGG GCT CCA GGC TC 3') sebagai *primer forward outer*, primer RI (5' CGT GGC GTC ACC TGG TAG CGA TAG A 3') sebagai *primer reserve outer*, primer FIC (5' ACA GGA CCT GTG CAG CGA GGC 3') sebagai *primer forward inner* dan primer RIT (5' TAG GGG TGG CCA TCA CCA CCT TGC 3') sebagai *primer reserve inner*. Primer *outer* akan membaca bagian terluar dari gen target sedangkan primer *inner* akan membaca bagian dalam dari gen target. Primer forward akan menempel pada ujung sekuens bergerak dengan arah 5' – 3' pada untai *antisense strand* sedangkan primer reserve akan bergerak dengan arah 3' – 4' pada untai *sense strand*. Setelah masing-masing primer menempel pada posisi komplemennya, *enzim polymerase* akan mensintesis molekul DNA baru.

Hasil elektroforesis gel agarose yang telah divisualisasi menggunakan UV *transluminator* dapat dilihat pada gambar 1. Diperoleh hasil deteksi mutasi gen TMPRSS 6 yaitu sampel yang membawa genotip CT berada pada sampel 1, 2, 6, 7, 8, 9, dan 10



yang ditandai munculnya pita DNA yang berukuran 331 bp, 225 bp, dan 151 bp. Sampel 4 membawa genotip TT yang ditandai munculnya pita DNA yang berukuran 331 bp dan 151 bp. Sedangkan genotip CC (alel normal) tidak ditemukan pada penelitian ini. Alel T yang muncul pada pita DNA menunjukkan bahwa terjadi mutasi pada suatu fragmen DNA dimana alel C pada genotip normal berubah menjadi alel T, hal ini yang berpengaruh terhadap anemia ditandai dengan kadar hemoglobin yang rendah pada responden. Hal ini sejalan dengan penelitian Gusnadin (2022) yang menyatakan bahwa alel T pada rs855791 merupakan faktor risiko terjadinya anemia.

Hasil deteksi mutasi gen Tmprss6 (gambar 2) pada sampel 3 dan 5 menunjukkan pola genotip yang tidak jelas untuk dikatakan CC, CT, maupun TT karena hanya menghasilkan pita DNA yang berukuran 151 bp. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Millah dkk. (2010) pita DNA yang tidak muncul dapat disebabkan oleh kegagalan amplifikasi molekul DNA untai ganda menjadi untai tunggal, primer yang tidak dapat menempel pada DNA target, DNA polymerase yang gagal memperpanjang daerah target, dan kemungkinan urutan basa nukleotida dari primer bukan merupakan komplemen dari basa nukleotida pada cetakan DNA target, hal ini menyebabkan primer tidak dapat mengamplifikasi fragmen DNA. Selain itu, bisa jadi terdapat mutasi pada daerah terluar gen sehingga primer tidak mengenali daerah

target. Hal ini dapat divalidasi melalui proses sekuensing.

Sampel 10 pada penelitian ini merupakan kontrol dengan kadar hemoglobin normal, dimana hasil deteksi mutasi gen (Tabel 11) menunjukkan bahwa terjadi mutasi gen Tmprss6 dengan genotip CT. Hal ini menandakan responden tersebut membawa alel T meskipun memiliki kadar hemoglobin normal. Hal ini bisa terjadi karena alel T pada responden tidak terekspresi. Gen yang terekspresi bergantung pada faktor eksternal (lingkungan) dan internal (genetik). Menurut penelitian terbaru ekspresi gen mengacu pada peristiwa suatu protein terbentuk dari hasil instruksi suatu gen pada tubuh seseorang, perubahan *epigenetic* (perubahan ekspresi genetika) mempengaruhi ekspresi gen untuk mengaktifkan ataupun menonaktifkan gen karena dipengaruhi oleh lingkungan (pola hidup) dan perilaku sehari-hari. Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Abdulmannan (2015) yang menyimpulkan bahwa tidak semua responden yang mengalami mutasi pada gen Tmprss6 memiliki kadar hemoglobin yang rendah.

Ekspresi gen pada setiap manusia berbeda-beda karena manusia memiliki variasi genetik yang disebut dengan polimorfisme genetik. Polimorfisme genetik



mengacu pada variasi dalam urutan DNA di antara individu-individu dalam populasi yang dapat mempengaruhi karakteristik fisik dan biologis mereka, termasuk ekspresi gen. Ada beberapa alasan mengapa ekspresi gen berbeda antara manusia, yang pertama adalah variasi genetic, setiap individu memiliki kombinasi unik dari alel (varian gen) pada lokus tertentu di dalam genom mereka. Alel-alel ini dapat berinteraksi dan mempengaruhi bagaimana gen diekspresikan dan bagaimana organisme berfungsi. Kedua adalah faktor lingkungan, Lingkungan juga dapat mempengaruhi ekspresi gen. Misalnya, paparan terhadap polutan, nutrisi, infeksi, atau stres dapat merubah cara gen diekspresikan. Yang ketiga regulasi genetik, proses regulasi genetik kompleks mempengaruhi ekspresi gen. Beberapa gen dapat diaktifkan atau dinonaktifkan dalam respon terhadap sinyal internal dan eksternal. Kemudian faktor epigenetic, epigenetika adalah mekanisme yang mengatur ekspresi gen tanpa mengubah urutan DNA. Modifikasi epigenetik dapat mempengaruhi bagaimana gen "dinyalakan" atau "dimatikan" pada sel-sel individu. Selanjutnya replikasi sel, selama pembelahan sel, kesalahan dapat terjadi dalam proses replikasi DNA, menghasilkan variasi dalam ekspresi gen antar sel anak. Yang terakhir adalah pengaturan waktu, ekspresi gen juga dapat berubah seiring waktu, seperti selama perkembangan embrio, penuaan, atau dalam respon terhadap perubahan hormonal.

Kombinasi dari faktor-faktor di atas menyebabkan variasi ekspresi gen yang kaya dan unik di antara setiap individu manusia. Perbedaan ini adalah salah satu alasan mengapa setiap orang memiliki ciri-ciri fisik, kognitif, dan kesehatan yang berbeda-beda.

Stunting yang terjadi pada responden mengindikasikan terjadinya malnutrisi di dalam tubuh. Zat besi menjadi salah satu zat yang diperlukan tubuh sebagai komponen utama dalam pembentukan hemoglobin, malnutrisi yang terjadi pada kasus *stunting* mengakibatkan pasokan zat tersebut menjadi berkurang. Hal ini dibuktikan dengan dengan hasil penelitian yang menunjukkan seluruh responden dengan kasus *stunting* mengalami penurunan kadar hemoglobin. Kemudian hasil dari deteksi secara molekuler, 8 dari 10 responden membawa genotip alel T yang berpengaruh terhadap kejadian anemia.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Responden dengan kadar hemoglobin dibawah 12 mg/dL sebanyak 9 responden dan kadar hemoglobin normal sejumlah 1 responden sebagai kontrol.
2. Hasil mutasi gen *TMPRSS 6* yang membawa genotip CT terdapat pada



sampel 1, 2, 6, 7, 8, 9, dan 10 ditandai dengan terbentuknya pita berukuran 331 bp, 225 bp, dan 151 bp. mutasi gen Tmprss 6 yang membawa genotip TT terdapat pada sampel 4 ditandai dengan terbentuknya pita berukuran 331 bp, dan 151 bp, sedangkan sampel 3 dan 5 tidak menunjukkan pola genotip yang jelas karena hanya menghasilkan pita di 151 bp

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulmannan, A. F. 2015. *Skrining Gen Tmprss6 pada SNP ss8296198 pada Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta Angkatan 2012–2014 Menggunakan Teknik High Resolution Melting*. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Aliviameita, A. 2022. Stabilitas Sampel Darah Terhadap Profil Hematologi Dengan Metode Otomatis. *Jurnal Teknologi Laboratorium Medis Muhammadiyah* , 5 (1).
- Atiq, K. 2022. Deteksi Molekuler Bakteri Endofit Tumbuhan Lamun Penghasil Antibakteri terhadap Multidrug-resistant Organism (MDROs) Menggunakan Metode PCR. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Mandala Waluya. Kendari
- Azmy, U. dan Mundiastuti, L., 2018. Konsumsi zat gizi pada balita *stunting* dan *non-stunting* di kabupaten bangkalan. *Amerta Nutrition*, Vol 2 (3)
- Badriyya, E. dan Achyar, A., 2020. Primer Construction to detect SNP rs11196205 Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) Using Amplification Refractory Mutation System (ARMS) PCR to detect Type-2 Diabetes Mellitus. *Bioscience*, Vol 4 (2).
- De Falco, L., Sanchez, M., Silvestri, L., Kannengiesser, C., Muckenthaler, M.U., Iolascon, A., Gouya, L., Camaschella, C. and Beaumont, C., 2013. Iron refractory iron deficiency anemia. *haematologica*, 98(6).
- Djauhari, T. 2017. Gizi dan 1000 HPK. *Saintika Medika*, Vol 13 (2).
- Feranisa, A. 2016. Komparasi Antara Polymerase Chain Reaction (Pcr) dan Loopmediated Isothermal Amplification (Lamp) dalam Diagnosis Molekuler. *ODONTO: Dental Journal*, Vol 3 (2).
- Flora, R., Zulkarnain, M., Faisya, A. F., Fajar, N. A., Nurlaily, N., Ikhsan, I., ... dan Tanjung, R. 2019. Kadar Zat Besi Serum dan Hemoglobin pada Anak *Stunting* dan Tidak *Stunting* di Kabupaten Seluma



- (Similarity): Seminar Nasional Kabupaten Gunung Kidul. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Keperawatan*, 16 (2).
- MIPAKES Universitas Muhammadiyah Riau.
- Gusnadin L. O., 2022. Deteksi Mutasi Gen TMRSS 6 pada Ibu Hamil yang Memiliki Kadar Haemoglobin Rendah di Puskesmas Lepo-Lepo. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Mandala Waluya. Kendari.
- Habibzadeh, H., Jafarizadeh, H., & Didarloo, A. 2015. Penentu gagal tumbuh (FTT) di antara bayi usia 6-24 bulan: Sebuah studi kasus-kontrol. *Journal of Preventive Medicine and hygiene*, (56) 5.
- Harahap, H., Budiman, B., dan Widodo, Y. 2018. Gangguan pertumbuhan dan perkembangan pada anak usia 0, 5-1, 9 tahun terkait dengan asupan makanan dan pengasuhan yang kurang. *Gizi Indonesia*, Vol 41 (1).
- Millah, M. I., Habibah, N. A., Suwarni, E., & Rertoningsih, A. 2012. Analisis Keanekaragaman Genetika dan Diferensiasi Jati Jawa dan Madura Berdasarkan Marka Mikrosatelit untuk Mendukung Fingerprinting Jati. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 4(2).
- Murti, FC, Suryati, S., & Oktavianto, E. 2020. Hubungan Berat Badan Lahir Rendah (Bblr) Dengan Kejadian *Stunting* Pada Balita Usia 2-5 Tahun Di Desa Umbulrejo Kecamatan Ponjong
- Mzumara, B. 2018. Faktor yang terkait *stunting* di antara anak-anak di bawah usia lima tahun di Zambia: bukti dari Zambia 2014 survei demografi dan kesehatan. *BMC Nutrition*, 1-8.
- Mzumara, B. 2018. Faktor yang terkait *stunting* di antara anak-anak di bawah usia lima tahun di Zambia: bukti dari Zambia 2014 survei demografi dan kesehatan. *BMC Nutrition*, 1-8.
- Nasikhah R, Margawati A. 2012. Faktor Risiko Kejadian *Stunting* Pada Balita Usia 24-36 Bulan Di Kecamatan Semarang Timur. *Journal of Nutrition College*, 1 (1).
- Oehadian, A. 2012. Pendekatan klinis dan diagnosis anemia. *Continuing Medical Education*, Vol 39 (6).
- Ozmen, S. U., & Ozarda, Y. 2021. Stability Of Hematological Analytes During 48 Hours Storage At Three Temperatures Using Cell-Dyn Hematology Analyzer. *J Med Biochem*, 40(3).
- Perdana, W. Y., dan Jacobus, D. J. 2015. Hepcidin dan Anemia Defisiensi Besi. *Cermin Dunia Kedokteran*, Vol 42 (12).



Roziqo, I.O. dan Nuryanto, N., 2016. *Hubungan Asupan Protein, Zat Besi, Vitamin C Dan Seng Dengan Kadar Hemoglobin Pada Balita Stunting*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro

Sujianti, S., & Pranowo, S. 2021. Analisis Faktor yang Berhubungan dengan *Stunting* pada Usia Todler. *Indonesian Journal of Nursing Health Science*, 6(2).

Sutarto, S. T. T., Mayasari, D., dan Indriyani, R. 2018. *Stunting*, Faktor Resiko dan Pencegahannya. *Agromedicine Unila*, Vol 5 (1).

Wanimbo, E., & Wartiningsih, M. 2020. Hubungan karakteristik ibu dengan kejadian *stunting* baduta (7-24 bulan). *Jurnal Manajemen Kesehatan Yayasan RS Dr. Soetomo*, 6(1).

Yustia, I., S., 2022. Analisis Kadar Hemoglobin dan Kadar Leukosit pada Balita Penderita *Stunting* di Puskesmas Lepo-Lepo. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Mandala Waluya. Kendari.