

Identifikasi Mutasi Gen β Globin Ekson 1 Pada Pembawa Thalassemia

NIKEN SATUTI NUR HANDAYANI¹, ANDIKA TRIPRAMUDYA ONGGO²

¹Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Selatan Sekip Utara Sleman Yogyakarta 55281
email: niken_satuti@ugm.ac.id

²Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Selatan Sekip Utara Sleman Yogyakarta 55281
email: tripramudyaandika@gmail.com

ABSTRACT

Thalassemia is an autosomal recessive genetic mutation disorder with symptoms similiar to anemia that causes deficiency synthesis of the globin chains (hemoglobin component inside erythrocytes). Thalassemia is classified based on secondary protein structure abnormalities in α globin protein or β globin protein. Based on data from Indonesian Thalassemia Foundation (YTI) in Indonesia, people with thalassemia, especialy β thalassemia is constantly increasing 8 to 10% per year, so it is very impotant to have a strategy that reduce the increasing number in the population. Genetic examination on the individual is very effective to detect quickly the person with thalassemia trait carrier, to reduce the number of thalassemia carrier population. Identification of 1st exon β globin gene mutations with sequencing method is one of the way to know the specific mutation in thalassemia carriers. Identification results can be used as a reference for the rapid detection of thalassemia trait carrier. This study aims to determine the type of mutation and location of nucleotide mutations in 1st exon β globin gene on carrier of thalassemia and the changes of amino acid translated by the mutant gene. The study was conducted by isolating the genome from the β thalassemia carrier blood, amplifying and sequencing the 1st exon β globin gene. The location of point mutation analysis and the changes of amino acid, was analyzed using computational method by comparative alignment using normal β globin gene as a comparison. The results of the research showed there is a point mutation in the 59th nucleotide caused by transition (T to C) and 147th nucleotide caused by transversion (G to C). The mutation type found on this study was a silent mutation because there is no change in the translated amino acid.

Keywords: β globin, exon 1, mutation, thalassemia

PENDAHULUAN

Thalassemia merupakan kelainan genetik akibat mutasi gen yang bersifat autosomal resesif yang disebabkan kekurangan sintesis rantai globin pembentuk hemoglobin darah dengan gejala mirip anemia (Galanello & Origa, 2010). Penyandang thalassemia memiliki hemoglobin (Hb) dalam sel darah merah (eritrosit) yang tidak dapat mengikat oksigen dengan baik. Dengan kondisi yang demikian maka penyandang thalassemia sering merasa lemas karena kekurangan oksigen terlarut dalam darah.

Thalassemia diklasifikasikan berdasar kelainan molekul sekunder protein α globin atau protein β globin. Thalassemia α memiliki kelainan pada protein α globin, sedangkan

thalassemia β , pada protein β globin (Guyton & Hall, 2010). Di Indonesia, penyandang thalassemia, menurut Ketua Umum Yayasan Talasemia Indonesia (YTI), Rinie Amaludin, terus meningkat 8 hingga 10% per tahun, sehingga diperlukan penelitian dan strategi untuk menekan jumlah penyandang dalam populasi (Ansari & Shamsi, 2010).

Pemeriksaan terhadap pembawa thalassemia sangat efektif untuk menekan jumlah populasi penyandang, melalui pemeriksaan hematologis, yang dilanjutkan dengan deteksi letak mutasi. Thalassemia β terjadi karena mutasi gen HBB pada kromosom nomor 11 sehingga identifikasi mutasi gen β globin ekson 1 pada gen HBB kromosom nomor 11, dengan metode

sekuensing merupakan cara efektif mengetahui mutasi spesifik pada pembawa thalassemia yang dapat digunakan sebagai acuan untuk deteksi cepat pembawa sifat thalassemia.

Penelitian ini untuk mempelajari dan mengetahui jenis mutasi apakah yang terjadi di

gen β globin ekson 1 pada pembawa thalassemia; serta mempelajari dan mengetahui letak mutasi nukleotida yang terjadi pada gen β globin ekson 1 dan perubahan asam amino yang disandi pada pembawa thalassemia.

METODE

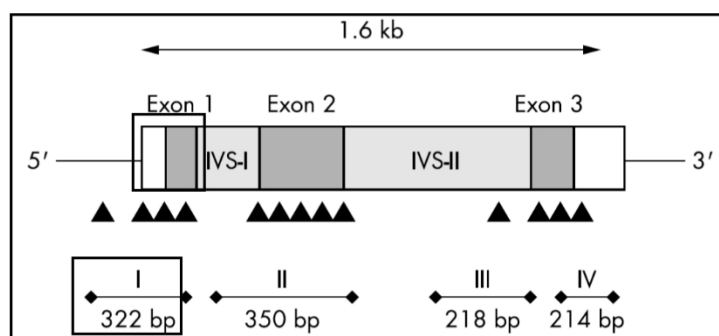
Tabel 1. Rekapitulasi hasil uji hematologis dan uji PCR-SSCP sampel darah

Kode Subjek Penelitian	Hasil Uji Hematologis				Hasil Uji PCR-SSCP			
	CBC	MC	GDT	HPLC	Region I	Region II	Region III	Region IV
P4	+	+	+	+	+	-	-	-
P13	+	+	+	+	+	-	-	-
P14	+	+	+	+	+	-	-	-
P15	+	+	+	+	+	+	-	-
P16	+	+	+	+	+	-	-	+
P17	+	+	+	+	+	+	-	+
P18	+	+	+	+	+	-	-	+
P19	+	+	+	+	+	-	-	-
P20	+	+	+	+	+	-	-	+
P21	+	+	+	+	+	-	-	-

Keterangan: CBC: *Cell Blood Count*, MC: *Mean Corpuscular*, GDT: *Gambaran Darah Tepi*, HPLC: *High Performance Liquid Chromatography*, P4-P21: Subjek penelitian terduga pembawa sifat thalassemia β , tanda *plus* (+) menunjukkan adanya kondisi abnormalitas pada masing-masing parameter, tanda *minus* (-) menunjukkan kondisi normal pada masing-masing parameter (Priyambodo, 2014).

Tabel 2. Sekuen primer untuk amplifikasi gen β globin ekson 1 (Gupta & Argawal, 2003)

Primer	Sekuen	Ukuran amplikon
Primer F	5' CCAAGGACAGGTACGGCTGTCATC 3'	322bp
Primer R	5' CTATTGGTCTCCTAAACCTGTCTTG 3'	



Gambar 1. Representasi gen β -globin dan lokasi primer, daerah amplifikasi dan ukuran amplikon (bp). IVS, *intervening sequence* (intron)

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah 10 sampel darah yang berasal dari subyek penelitian sebelumnya oleh Priyambodo pada 2014, yang sudah dideteksi memiliki mutasi gen β globin ekson 1, dengan kondisi hematologis dan hasil PCR-SSCP ditunjukkan pada Tabel 1, DNA Ladder

Vivantis 100 bp, PCR master mix *KAPA 2G™ Fast Ready Mix*, ethidium bromide (EtBr), gel agarosa *Biotechnology Grade*, akuades, buffer Tris-Borat EDTA (TBE) 10x, EDTA, pewarna *Good View* dan primer spesifik (Tabel 2) untuk amplifikasi segmen gen β , sehingga amplikon sesuai dengan target pada Gambar 1,

mencakup seluruh ekson 1. Penelitian ini dimulai dengan mengisolasi genom DNA dari *whole blood* pembawa thalassemia β sampel penelitian pendahulu yang dideteksi memiliki mutasi di region 1 (Priyambodo, 2014). Isolasi genom dilakukan dengan kit produk *GeneAid*. DNA Genom yang didapat diperiksa kualitasnya dengan elektroforesis di agarose gel 1%. Gen β globin ekson 1 diamplifikasi dengan *Thermocycler* menggunakan primer (Tabel 2). Amplifikasi menggunakan 25 μ l *reaction mixture* dengan komposisi 12,5 μ l *PCR Mix KAPA 2G™ Fast Ready Mix*, 3 μ l *DNA template*, 1,25 μ l forward primer (10 pmol), 1,25 μ l reverse primer (10 pmol) & 7 μ l ddH₂O. Suhu proses predenaturasi amplifikasi 95° C selama 3 menit. Denaturasi 95° C selama 15 detik, *annealing* 54° C selama 30 detik, *elongasi* 72° C selama 45 detik, dari denaturasi hingga *elongasi* diulangi sebanyak 35 *cycle*. Pasca *elongasi* 72° C selama 5 menit & pendinginan 4° C selama 5 menit.

Amplikon yang didapat, diperiksa kualitasnya dengan elektroforesis di agarose gel 1%, kemudian disekuensing oleh perusahaan *1stBase* dengan alat *sequencer ABI3730XL*. Hasil sekuensing dibandingkan dengan *database* gen normal β globin (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/, dengan *Reference Sequence Accession: NC_000011.10*), sehingga dapat diketahui mutasinya. *Software* yang digunakan: *Chromas* untuk mengecek hasil sekuensing & *software MEGA* untuk *alignment* serta melihat hasil translasi digunakan.

HASIL

Hasil sekuensing ekson 1 dari sampel dibandingkan dengan *database* gen β globin dari NCBI dengan cara disejajarkan menggunakan *software MEGA 6.0*. Tabel 3 menunjukkan hasil *alignment* urutan nukleotida ke 1 hingga ke 150 gen normal penyandi protein β globin dari *database* gen NCBI dengan sampel yang diteliti. Gen β globin ekson 1 adalah urutan nukleotida ke 1 hingga ke 142 sehingga urutan nukleotida ke 143 hingga ke 150 merupakan intron. Hasil

alignment pada urutan nukleotida ke 1 hingga ke 50 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nukleotida sama sekali, sehingga disimpulkan bahwa pada urutan nukleotida ke 1 hingga ke 50 tidak ada mutasi yang terjadi. Urutan nukleotida ke 1 hingga ke 50 merupakan ekson 1 gen β globin tetapi bukan merupakan CDS (*Coding Sequences*), sehingga urutan nukleotida ke 1 hingga ke 50 tidak ditranslasikan menjadi asam amino untuk gen β globin.

Alignment urutan nukleotida ke 51 hingga ke 100 menunjukkan bahwa ada perbedaan nukleotida gen pada 7 sampel (sampel 14, 16, 17, 18, 19, 20 dan 21), yaitu pada *site* ke 59. Mutasi yang terjadi adalah timin menjadi sitosin. Perbedaan nukleotida (tabel 3) ditandai dengan format blok berwarna abu-abu dan huruf *Italic*, menunjukkan adanya mutasi di ekson 1 gen β globin. Urutan nukleotida ke 51 hingga ke 100 merupakan CDS, sehingga ikut ditranslasikan menjadi asam amino untuk gen β globin.

Alignment pada urutan nukleotida ke 101 hingga ke 150 menunjukkan bahwa terdapat perubahan nukleotida guanin menjadi sitosin pada urutan nukleotida ke 147 pada sampel 14, 16, 17, 18, 20 dan 21. Bagian dari ekson utama dari nukleotida ke 101 hingga ke 142 tidak ada mutasi yang terjadi sama sekali. Urutan nukleotida ke 101 hingga ke 142 merupakan bagian CDS (*Coding Sequences*), sehingga urutan nukleotida ke 101 hingga ke 142 ikut ditranslasikan menjadi asam amino untuk gen β globin, sedangkan nukleotida 143 hingga ke 150 tidak ditranslasikan.

Tabel 4 menunjukkan *alignment* translasi kodon gen menjadi rantai asam amino. Bagian paling atas (nomor 1) merupakan urutan asam amino normal yang didapat dari NCBI. Hasil menunjukkan urutan asam amino protein hasil translasi kodon sampel tidak ada perbedaan dengan urutan asam amino normal. Mutasi titik pada penelitian ini tidak menunjukkan/mengakibatkan perubahan asam amino sama sekali karena satu asam amino dapat disandi lebih dari satu macam kodon yang lain, artinya mutasi gen ini adalah mutasi diam.

Tabel 3. *Alignment* sekuens Nukleotida urutan ke 1 hingga ke 150 dari gen normal β globin ekson 1 dari *database* NCBI dan sekuens gen β globin ekson 1 dari sampel

Subjek Penelitian	Urutan Nukleotida ke 1 hingga ke 50	
	1...	...50
Data NCBI	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 4	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 14	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 16	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 17	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 18	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 19	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 20	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Sampel 21	ACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACC	
Subjek Penelitian	Urutan Nukleotida ke 51 hingga ke 100	
	51...	...100
Data NCBI	ATGGTGCATCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 4	ATGGTGCATCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 14	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 16	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 17	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 18	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 19	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 20	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Sampel 21	ATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGG	
Subjek Penelitian	Urutan Nukleotida ke 101 hingga ke 150	
	101...	...150
Data NCBI	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGGTAT	
Sampel 4	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGGTAT	
Sampel 14	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGGTAT	
Sampel 16	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGGTAT	

Sampel 17	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGCTAT
Sampel 18	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGCTAT
Sampel 19	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGGTAT
Sampel 20	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGCTAT
Sampel 21	CAAGGTGAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAGGCCCTGGGCAGGTTGCTAT

Tabel 4. *Alignment* urutan asam amino hasil translasi gen normal dari *database* NCBI dan urutan asam amino hasil translasi gen β ekson 1 globin sampel

No.	Subjek Penelitian	Urutan Asam Amino ke 1 hingga ke 30
1.	Hasil translasi gen normal β globin ekson 1 dari NCBI	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
2.	Sampel 4	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
3.	Sampel 14	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
4.	Sampel 16	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
5.	Sampel 17	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
6.	Sampel 18	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
7.	Sampel 19	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
8.	Sampel 20	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG
9.	Sampel 21	MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALG

PEMBAHASAN

Penelitian menggunakan sampel yang telah diuji hematologis dan uji PCR-SSCP oleh Priyambodo pada 2014 (Tabel 1). Pembawa sifat thalassemia dapat dilihat dengan parameter hematologis meliputi pengecekan MCV (*Mean Corpuscular Volume*), MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*), GDT (Gambaran Darah Tepi) dan HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*). (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Pada Tabel 1 diketahui bahwa seluruh sampel yang digunakan dalam penelitian ini memiliki mutasi di gen β globin region 1 dan juga memiliki kondisi hematologis yang positif pembawa sifat thalassemia. Penelitian ini fokus mengidentifikasi mutasi spesifik nukleotida pada gen β globin ekson 1 yang tercakup dalam region 1. Gen yang menyandi protein β globin tersusun dari 3 ekson pokok dalam 3 region yang berbeda dan dipisahkan oleh intron. Pada penelitian dilakukan *alignment* yaitu penjajaran basa-basa nukleotida yg telah terbaca dari hasil sekuensing dengan gen β globin normal dari *database* gen NCBI. Saat dibandingkan

dengan gen normal, jika terdapat mutasi maka akan terlihat dengan mudah perbedaan nukleotida yang terjadi.

Sekuens yang diambil dari *database* NCBI gen normal *Human B globin* kromosom 11 (Gambar 2), menunjukkan bahwa nukleotida nomor 1 hingga ke 142 akan ditranslasikan menjadi mRNA untuk ekson 1 dari β globin. Nukleotida ke 273 hingga ke 495 akan ditranslasikan menjadi mRNA untuk ekson 2 dari β globin, sedangkan nukleotida 1346 hingga nukleotida ke 1606 akan ditranslasikan menjadi mRNA untuk ekson 3. Di luar dari daerah tersebut adalah intron. Secara umum intron biasanya mempunyai *repeat sequences* untuk melindungi ekson dari mutasi. *Database* tersebut terdapat *Coding Sequences* (CDS) yang identik untuk mengkode kodon protein, yaitu nukleotida ke 51 hingga ke 142 untuk ekson 1 (pada bagian yang diblok dengan warna abu-abu), nukleotida 273 hingga ke 495 untuk translasi ekson 2 dan nukleotida ke 1346 hingga ke 1474 untuk ekson 3. Penelitian ini difokuskan pada ekson 1 sehingga hanya data sekuens dari nukleotida ekson 1 yang digunakan.

```

1 acatttgctt ctgacacaa tgtgttcaat agcaacctca aacagacacc atgggtgcatc
61 tgactcctca ggagaagtct gcccttaact cccctgtggg caaggtgaac gtggatgaag
121 tgggtggta ggccctgggc agtgggtgat caagtraca agacaggttt aagggaacca
181 acagaacctg ggcctgtgga gacagagaag acctctgggt tctctgatag cactgactct
241 ctctgcatat tggctatttt tccaccortt agcgtgtg tggctaaccc tgggaccocg
301 aggttctttg agctcttttg ggaatctcc acctcgtatg ctgttatggg caacctcaag
361 gtgaagcttc argacaaga agtgcctcgt gcccttagtg atgacctgac toacctggac
421 aacctcaagg gcaaccttgc caoactgagt gagctgact gtgacaagt gcactgtgat
481 ctgacaactc toaggtgag tctatgggac gctttagctt ttctttcccc ttctttctta
541 tggtaagtct catgtctatg gaagggata agtaacaggg tacagtttag aatgggaacc
601 agacaaatga ttgactcagt gtggaagctc caggtatgct ttatgtttct ttatttggct
661 tcaataacaa tggttttctt tggtttaatt ctgtctctct tttttttctc tctccgcaat
721 ttttctattt atacttaagt ccttaacttt ggtataaca aaaggaata tctctgagat
781 acattaagta acttaaaaaa aaactttaca cagtctgctt agtacattac tatttggaat
841 atatgtgtgc ttatttgcatt atctataatc tccctacttt attttctttt atttttaa
901 gatacctaact catatatacat acttatggg taaggtgaa tgttttaata tgggtacaca
961 tatgtacaaa atcaggttaa ttttgcaatt gaaattttaa aaatgcttt ctcttttaa
1021 tacaattttt tggttatctt atctctatac ctctctctaa tctctctctc toagggcaat
1081 aatgatataa tgtatctatg ctctttgcaac cattctaaag aataacagtg ataattctg
1141 ggttaaggca atagcaatat ctctgcaatc aaatattctc gaatataaat tgttaactgat
1201 gtaagaggtt tcatattgct aatagcaatc aaatccagc tacactcttg cttttatctt
1261 atgtgtggga taaggttgya ttattctgag tccagctag gcccttttgc taatcatgct
1321 catacctctt atctctctcc caagctctct ggcaacgtg ctggtctgtg tgtctgcca
1381 tcactttggc aaagaattca ccccaacctg gcaagctgoc tatcagaag tgggtgcttg
1441 tgtggtcaat gccctgtccc acaagatca ctaagctgoc tttctctgtg tcaattctt
1501 ataaaggtt cctctgtctc ctaagctca ctaataactc ggggtttatt atgaagggcc
1561 ttgactctc tggctctgoc taataaaaa catttattt catctg

```

Gambar 2. Sekuens gen normal *Human B globin* kromosom 11 dari *database NCBI*

Alignment keseluruhan dari urutan nukleotida ke 1 hingga ke 150 (Tabel 3) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nukleotida yang terletak pada *site* ke 59 dan ke 147. Perbedaan nukleotida tersebut menunjukkan adanya mutasi di ekson 1 gen β globin. Terdapat 7 sampel (sampel 14, 16, 17, 18, 19, 20 dan 21) di penelitian ini yang memiliki mutasi pada intron gen β globin di *site* ke 59, sedangkan mutasi pada *site* ke 147 hanya terjadi pada 6 sampel (sampel 14, 16, 17, 18, 20 dan 21). Mutasi pada nukleotida pada *site* ke 59 sering ditemukan di wilayah Thailand, yang merupakan satu wilayah Asia Tenggara bersama Indonesia (Cao & Galanello, 2010).

Mutasi yang terjadi & teramati dipenelitian ini adalah pada nukleotida ke 59 & nukleotida ke 147 gen β globin ekson 1. Mutasi ini sangat spesifik berupa perubahan satu basa nukleotida. Mutasi bertipe transisi terjadi pada nukleotida ke 59 dengan perubahan T (timin) berubah menjadi C (sitosin). Mutasi di nukleotida ke 147 berupa perubahan nukleotida dari G (guanin) berubah menjadi C (sitosin) di bagian intron. Mutasi pada *site* nukleotida ini berupa transversasi, yaitu nukleotida purin berubah menjadi nukleotida pirimidin atau sebaliknya. Mutasi titik pada penelitian ini tidak menunjukkan/mengakibatkan perubahan asam amino sama sekali (Tabel 4), artinya mutasi gen ini adalah mutasi diam (*silent mutation*). Satu mutasi yang lainnya terjadi di intron. Sebelum gen ditranslasikan intron dipotong, dipisahkan dari ekson. Perubahan pada intron pada beberapa

kasus dapat mengakibatkan kesalahan pada saat *splicing*, yang mengakibatkan kesalahan penyandian asam amino (Cao & Galanello, 2010), sehingga diduga bahwa pada penelitian ini walaupun secara *in silico* pada hasil sandi asam amino tidak ada perubahan, namun secara *in vivo* saat *splicing* dapat terjadi kesalahan *splicing*. Berikut ini adalah hasil translasi gen β globin ekson 1 normal maupun mutan di dalam penelitian: "MVHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGG EALG". Hasil translasi yang diperoleh dengan analisis menggunakan *software MEGA 6.0* adalah bahwa alel mutan tidak menyebabkan perubahan asam amino yang dikode, maka analisis struktur tiga dimensi tidak dilakukan.

Penelitian ini adalah rintisan pertama identifikasi mutasi gen β globin ekson 1 di Indonesia sehingga penelitian lanjut untuk mengetahui jenis mutasi di luar ekson 1 perlu dilakukan, selain itu perlu diadakan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* pada saat *splicing* sehingga diketahui apakah mutasi pada intron gen β globin ekson 1 mengakibatkan kesalahan *splicing*.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini terjadi mutasi berjenis *silent mutation*. Perubahan nukleotida yang terjadi di gen β globin ekson 1 adalah di nukleotida ke 59 secara transisi (T berubah menjadi C) serta nukleotida ke 147 secara transversasi (G berubah menjadi C).

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada: Dr. Niken Satuti Nur Handayani, M.Sc., Dra. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc., Ph.D & Dr. biol. hom. Nastiti Wijayanti, M.Si., Kedua orangtua & adik saya, Tanoto Foundation yang membantu pendanaan penelitian & publikasi, YTI & POPTI yang menyediakan sampel penelitian dan membantu penelitian ini, serta seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang telah membantu pelaksanaan penyusunan naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ansari SH and Shamsi TS. 2010. *Thalassemia Prevention Programme*. Karachi: National

Institute of Blood Disease and Bone Marrow Transplantation.

Cao A and Galanello R. 2010. B-thalassemia. GeneTest Review. *Genetics in Medicine*. vol 12 (2): 1.

Galanello R and Origa R. 2010. B Thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. vol 5 (1): 1-15.

Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. 2006. Essential Haematology Fifth Edition. Massachusetts: Blackwell Science, Inc.

Huang SZ, Zhou XD, Zhu H, Ren ZR, Zeng YT. 1989. Detection of β -thalassemia Mutations in Chinese Using Amplified DNA from Dried Blood Specimens. *Hum. Genet.* vol 84: 129-131.

Priyambodo. 2014. Deteksi Molekular Pembawa Sifat β -Thalassemia di Daerah Istimewa Yogyakarta [Tesis]. Yogyakarta: Program Pascasarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.