

Amplifikasi *Enhancer* Gen Renin C-5312T pada Pasien Hipertensi di Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang

Aditya Kurniawan ^{1)*}, Widodo ²⁾

¹⁾ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

Aditya Kurniawan: ditya.mail@gmail.com

ABSTRAK

Hipertensi, keadaan tekanan darah sistole lebih dari 140 mmHg dan tekanan diastole lebih dari 90 mmHg, merupakan salah satu masalah kesehatan utama yang terjadi di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengamplifikasi enhancer gen renin pasien hipertensi di Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang yang di dalamnya terdapat SNP C-5312T. Pengambilan DNA dari sel darah putih pasien hipertensi menggunakan kit *Purelink® Genomic DNA Kits – Invitrogen*. Selanjutnya DNA yang sudah diekstraksi dilakukan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Selanjutnya dilakukan PCR dengan primer yang digunakan adalah primer *forward* 5'-GTAGTGCCATTTTGTAGGAAC-3' dan primer *reverse* yaitu 5'-AACACCAAAGCAGGCTTAA-3'. Produk PCR diuji secara kualitatif pada gel agarosa 1,5%. Hasil PCR yang diperoleh menunjukkan bahwa amplifikasi enhancer gen renin memiliki panjang pasangan basa sebesar 254 bp.

Kata Kunci: Hipertensi, PCR, Renin

ABSTRACT

Hypertension, systolic blood pressure of circumstances more than 140 mmHg and diastolic pressure over 90 mmHg, is a major health problem in Indonesia. The objectives of this research is to amplify the renin gene enhancer in hypertensive patients at Dr. Saiful Anwar hospital which. DNA taken from white blood cells of patients with hypertension using a kit *Purelink® Genomic DNA Kits - Invitrogen*. Furthermore, DNA has been extracted conducted PCR (*Polymerase Chain Reaction*). The PCR forward primer 5'-GTAGTGCCATTTTGTAGGAAC-3' and reverse primer 5'-AACACCAAAGCAGGCTTAA-3'. PCR products were qualitatively tested on a 1.5% agarose gel. The results obtained showed that the PCR amplification of the renin gene enhancer has a length of 254 bp.

Keywords : Hypertension, PCR, Renin

PENDAHULUAN

Tekanan darah dipengaruhi oleh beberapa sistem, salah satunya *Renin Angiotensin System* (RAS). Ketidakseimbangan RAS dapat menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah yang berakibat pada terjadinya hipertensi [1]. Peningkatan enzim renin yang mengubah angiotensinogen menjadi angiotensin I berhubungan dengan terjadi hipertensi [2]. Angiotensin I akan berubah menjadi angiotensin II dengan bantuan ACE (*Angiotensin Converting Enzyme*). Angiotensin II akan diterima oleh *Angiotensin 2 Receptor 1* (AT₁), reseptor inilah yang berfungsi dalam vasokonstriksi pembuluh darah [3].

Penyebab peningkatan enzim renin dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya peningkatan ekspresi gen renin karena adanya polimorfisme pada titik C-5312T [4]. *Single*

Nucleotide Polymorphism (SNP) pada *enhancer* C-5312T dapat meningkatkan ekspresi enzim renin. Pada individu yang memiliki alel T memiliki kadar plasma renin yang lebih tinggi dibandingkan individu yang tidak memiliki alele T [5]. Selain itu terdapat variasi respon obat hipertensi *Angiotensin I Receptor Blocker* (ARB) pada beberapa pasien. Seseorang dengan varian T pada titik SNP C-5312T memiliki respon yang buruk pada obat ini [6], sedangkan pada seseorang dengan varian C memiliki respon yang baik. Sehingga pasien hipertensi dengan varian C pada SNP C-5312 lebih mudah disembuhkan menggunakan obat jenis ARB [7].

Hingga saat ini, masih belum ada data di Indonesia mengenai amplifikasi gen enhancer gen renin ini.

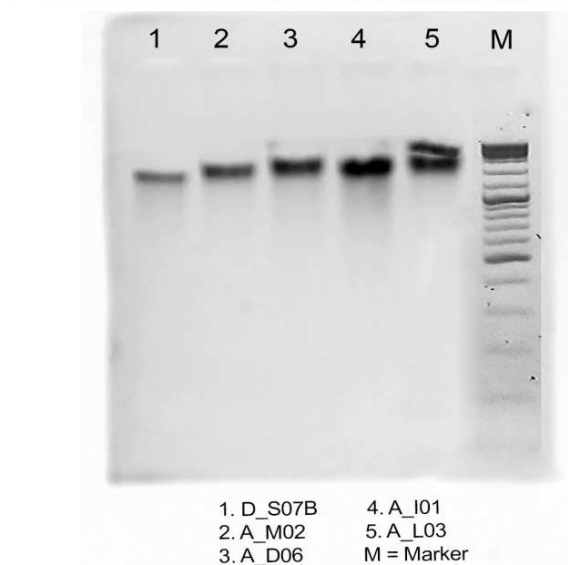
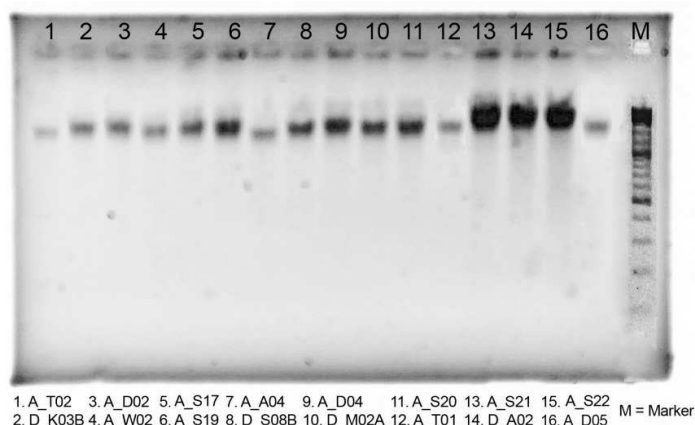
METODE PENELITIAN

Populasi Penelitian. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2013 – April 2014. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Jurusan Biologi, Universitas Brawijaya, Malang. Seluruh prosedur pengambilan darah dan pengujian yang dilakukan pada penelitian ini sudah disetujui oleh Komisi Etik dari RSSA. Populasi dalam penelitian ini adalah pasien hipertensi primer dengan terapi ARB yang datang ke Poliklinik Jantung RSSA. Tekanan darah sistole pada pasien hipertensi harus di atas 140 mmHg dan tekanan darah diastole harus di atas 90 mmHg. Pasien hipertensi juga tidak memiliki penyakit yang lain seperti stroke dan diabetes melitus. Teknik *sampling* yang digunakan adalah *random sampling*. Jumlah subyek hipertensi pada penelitian ini adalah 21 subyek.

Amplifikasi Daerah Promotor gen BK2R. DNA didapatkan melalui proses ekstraksi menggunakan *Purelink® Genomic DNA Kits - Invitrogen*. Primer untuk amplifikasi *polymerase chain reaction* (PCR) adalah sebagai berikut *Forward* 5'-CGTAGTGCCATTTTGTAGGAAC-3' dan primer *reverse* yaitu 5'-AACACCAAAGCAGGCTTAA-3' [8]. Total volume reaksi adalah 20 µL terdiri atas 7 µL ddH₂O, 10 µL PCR *mix* (*Kapa2G Robust HotStart ReadyMix*), primer *forward* sebanyak 1 µl dan primer *reverse* sebanyak 1 µl, masing – masing konsentrasinya adalah 20 pmol, dan 1 µL DNA murni. Kondisi siklus PCR sebagai berikut pre denaturasi 95°C selama 3 menit, denaturasi 95°C selama 15 detik, annealing 64°C selama 20 detik, *extension* 72°C selama 1 menit, dan *post extension* 72°C selama 10 menit, untuk 35 siklus [9].

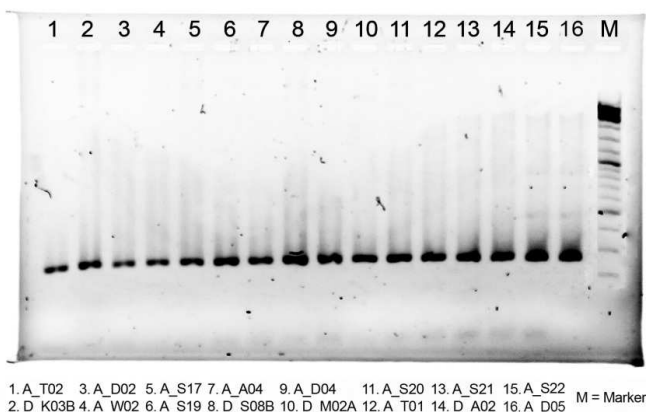
HASIL DAN PEMBAHASAN

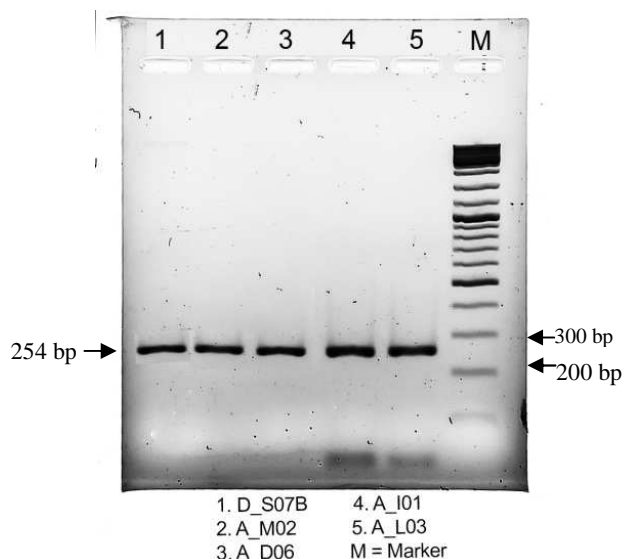
Isolasi DNA. Penelitian ini menggunakan 21 subjek penelitian pasien hipertensi. Hasil isolasi DNA dari darah kemudian dilakukan elektroforesis menggunakan agarosa 1%. DNA ke-21 pasien telah terisolasi dengan ditunjukkannya pita pada agarose. Hasil isolasi DNA berada pada bagian atas marker, karena memiliki jumlah 50.000.000 hingga hingga 300.000.000 pasangan basa [10].



Gambar 1. Hasil isolasi DNA dengan total 21 subjek penelitian

Amplifikasi Enhancer Gen Renin C-5312T. Primer enhancer gen renin telah mengamplifikasi dengan tepat enhancer gen Renin C-5312T. Hasil yang didapatkan dari uji kualitatif menggunakan agarose 1,5% *band* memiliki panjang basa antara 200 bp hingga 300bp. Hasil ini juga sesuai dengan BLAST, primer ini mengamplifikasi 254 bp.





Gambar 2. Hasil PCR dengan total 21 subjek penelitian

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dari 21 subyek penelitian, didapatkan bahwa gen enhancer C-5312T telah teramplifikasi dengan baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Tim Kardiovaskular dan Hipertensi Universitas Brawijaya dan didanai oleh Bantuan Operasional Perguruan Tinggi Negeri, Universitas Brawijaya, Malang.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Brewster, U.C & Mark A Perazella. 2004. Cardiorenal Effects of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System. *Turner White Communications*. Vol 40:11-20.
- [2] Mifetika, L , Jayarani F.P, Muladefi C, Mohammad S.R, & Nashi W. 2013. Genetic Variant of C-5312T Can Change Binding Pattern of Sp1 to Renin Enhancer that are Very Likely to Affect Renin Gene Expression. *Bioinformatics*. 9(20): 1010-1012
- [3] Baradero, M , Mary W.D & Yakobus S. 2008. Klien Gangguan Kardiovaskular seri asuhan keperawatan. EGC. Jakarta
- [4] Moore, N, Patrick D, John K, Milos S, Ronan M, Conroy A.T, Eoin O, Alice V.S. 2007. Renin Gene Polymorphisms and Haplotypes, Blood Pressure and Responses to Renin-Angiotensin System Inhibition. *Hypertension*. 2007;50:340-347

- [5] Fuchs, S , Josette P, Stephane G, Flavie M, Xavier J, Pierre C & Florence P. 2002. Functionality of Two New Polymorphisms in the Human Renin Gene Enhancer Region. *Journal of Hipertension*. 20:2391-2398
- [6] Vangjeli, C, Niamh C, Ursula Q, Patrick D, Orna T, Clara H, Eoin O, Alice V.S. 2010. Confirmation That the Renin Gene Distal Enhancer Polymorphism REN-5312C/T Is³⁰⁰ bp Associated With Increased Blood Pressure. *Circ Cardiovasc Genetics*. 3:53-59.
- [7] Santos, P.C.J.L, Jose E.K, Alexandre C.P. 2012. Renin-Angiotensin System, Hypertension, and Chronic Kidney Disease: Pharmacogenetic Implications. *J Pharmacol Sci*. 120, 77 – 88.
- [8] Konoshita, T , Norihiro K, Sebastien F dkk. 2009. Genetic Variant of the Renin-Angiotensin System and Diabetes Influences Blood pressure response to angiotensin receptor blockers. *Diabetes care*. 32:8.
- [9] Kapabiosystems. 2014. Kapa 2G Robust HotStart ReadyMix PCR Kit. www.kapabiosystems.com. Diakses tanggal 22 Juni 2014
- [10] National Human Genome Research Institute. 2010. *The Human Genome Project Completion*. <http://www.genome.gov/11006943> Diakses 20 Juni 2014