

SKRIPSI

**ANALISIS POLIMORFISME *GENE SOLUTE CARRIER
FAMILY 2, FACILITATED GLUCOSE TRANSPORTER
MEMBER 4* DENGAN TEKNIK PCR-RFLP**



**Kemenkes
Poltekkes Denpasar**

Oleh:

**PUTU DIVA LARASATI
NIM. P07134221068**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2025**

SKRIPSI

**ANALISIS POLIMORFISME *GENE SOLUTE CARRIER
FAMILY 2, FACILITATED GLUCOSE TRANSPORTER*
MEMBER 4** DENGAN TEKNIK PCR-RFLP

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Menyelesaikan Pendidikan Sarjana Terapan
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Program Studi Sarjana Terapan**

Oleh:

**PUTU DIVA LARASATI
NIM.P07134221068**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2025**

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI

**ANALISIS POLIMORFISME *GENE SOLUTE CARRIER
FAMILY 2, FACILITATED GLUCOSE TRANSPORTER
MEMBER 4* DENGAN TEKNIK PCR-RFLP**

Oleh:

PUTU DIVA LARASATI
NIM.P07134221068

TELAH MENDAPAT PERSETUJUAN

Pembimbing Utama :



Burhannuddin, S.Si., M.Biomed.
NIP. 198602282009121003

Pembimbing Pendamping :



I Nyoman Jirna, SKM., M.Si
NIP. 197205211997031001

MENGETAHUI

**KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR**



I Gusti Ayu Sri Dhyana Putri, S.KM., M.PH.
NIP. 197209011998032003

SKRIPSI DENGAN JUDUL :

**ANALISIS POLIMORFISME *GENE SOLUTE CARRIER
FAMILY 2, FACILITATED GLUCOSE TRANSPORTER
MEMBER 4* DENGAN TEKNIK PCR-RFLP**

Oleh:

PUTU DIVA LARASATI
NIM.P07134221068

TELAH DIUJI DIHADAPAN TIM PENGUJI

PADA HARI : JUMAT

TANGGAL : 16 MEI 2025

TIM PENGUJI:

1. Apt. Gusti Ayu Made Ratih K.R.D., S.Farm., M.Farm (Ketua Penguji)
2. Burhannuddin, S.Si., M.Biomed. (Anggota Penguji)
3. Ida Ayu Made Sri Arjani, S.IP.M., Erg (Anggota Penguji)



MENGETAHUI

**KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR**


I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.PH.
NIP.197209011998032003

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putu Diva Larasati
NIM : P07134221068
Program Studi : Sarjana Terapan
Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis
Tahun Akademik : 2021/2022
Alamat : Perum Padang Lestari P/13

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi dengan judul Analisis Polimorfisme *Gene Solute Carrier Family 2, Facilitated Glucose Transporter Member 4* dengan Teknik PCR-RFLP adalah benar karya sendiri atau bukan plagiat hasil karya orang lain.
2. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa Skripsi ini bukan karya saya sendiri atau plagiat hasil karya orang lain, maka saya sendiri bersedia menerima sanksi sesuai Peraturan Mendiknas RI No.17 Tahun 2010 dan ketentuan perundang-undangan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Denpasar, 07 Mei 2025

Yang membuat pernyataan



Putu Diva Larasati

NIM. P07134221068

LEMBAR PERSEMBAHAN

Puji syukur dan terima kasih saya panjatkan ke hadapan Ida Sang Hyang Widhi Wasa, karena atas asung kertha nugraha-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik hingga tahap akhir.

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua tercinta, yang selalu memberikan kasih sayang, doa, dukungan, dan semangat tanpa henti selama masa perkuliahan hingga proses penyusunan skripsi ini.

Saya juga menyampaikan terima kasih kepada keluarga besar yang turut mendoakan dan memberi motivasi selama perjalanan akademik saya.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada Bapak/Ibu dosen pengajar, khususnya dosen pembimbing saya, yang selama ini dengan sabar membimbing, mengarahkan, dan mendukung penyusunan skripsi ini hingga selesai, meskipun hasilnya masih jauh dari kata sempurna.

Ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya saya sampaikan kepada diri saya sendiri, yang telah bertahan, berjuang dengan tegar, dan terus melangkah menghadapi berbagai tantangan selama masa perkuliahan hingga skripsi ini selesai. Terima kasih telah berusaha keras dan bertanggung jawab menyelesaikan setiap proses, meskipun tidak selalu mudah.

Saya juga berterima kasih kepada teman-teman yang telah menjadi penghibur di saat-saat sulit, dengan caranya masing-masing membantu saya untuk sejenak rehat dan kembali bersemangat.

RIWAYAT PENULIS



Penulis yang memiliki nama lengkap Putu Diva Larasati, lahir di Denpasar pada tanggal 24 Februari 2003. Penulis adalah anak pertama dari empat bersaudara, buah hati dari pasangan I Komang Onny Indrayoga dan Ni Made Purbasari. Riwayat pendidikan penulis dimulai dari jenjang taman kanak-kanak di TK Saraswati 1 Denpasar pada tahun 2007 hingga 2009. Setelah itu, penulis melanjutkan pendidikan ke sekolah dasar di SD Saraswati 2 Denpasar dari tahun 2009 hingga 2015, lalu meneruskan ke jenjang SMP di SMPN 3 Denpasar dari tahun 2015 hingga 2018. Setelah menamatkan pendidikan tingkat pertama, penulis melanjutkan ke SMAN 7 Denpasar dengan jurusan MIPA yang ditempuh dari tahun 2018 hingga 2021. Kemudian pada tahun 2021, penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Poltekkes Kemenkes Denpasar pada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Program Studi Sarjana Terapan.

ANALYSIS OF SOLUTE CARRIER FAMILY 2, FACILITATED GLUCOSE TRANSPORTER MEMBER 4 GENE POLYMORPHISM USING PCR- RFLP TECHNIQUE

ABSTRACT

Background: The SLC2A4 gene encodes the GLUT4 protein that plays an important role in insulin-triggered glucose uptake. Polymorphisms of this gene may affect GLUT4 expression and function, thus contributing to insulin resistance and the pathogenesis of type II diabetes mellitus. **The aim** of the study was to detect SLC2A4 gene polymorphisms in type II DM and non-DM patients using specially designed SLC2A4 gene-specific primers containing EcoRI recognition sites by PCR-RFLP technique. **Methods:** descriptive study on 20 blood samples (10 type II DM, 10 non-DM) obtained by purposive sampling at Puskesmas II North Denpasar and Denpasar Polytechnic Laboratory. DNA was extracted with Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega), amplified with forward primer 5'-CTCATTCCCCTCGTGTGACTCT-3' and reverse primer 5'-ATACATTTAGTACAACCGACCTTTGGT-3', EcoRI digested, and separated on 1.5% agarose. **Results:** univariate analysis showed that in the DM group 70% of samples were homozygous wild type (712 bp and 288 bp) and 30% showed no bands, while in the non-DM group 90% were homozygous wild type, while 10% were heterozygous (1,000 bp, 712 bp, 288 bp). **In conclusion,** the PCR-RFLP technique with SLC2A4 gene primers containing EcoRI recognition sites is able to detect SLC2A4 gene polymorphisms. The homozygous wild type genotype was dominant in both groups and the heterozygous variant was detected in only one non-DM sample.

Keywords: SLC2A4, GLUT4, gene polymorphism, PCR–RFLP

ANALISIS POLIMORFISME *GENE SOLUTE CARRIER FAMILY 2, FACILITATED GLUCOSE TRANSPORTER MEMBER 4* DENGAN TEKNIK PCR-RFLP

ABSTRAK

Latar Belakang: Gen SLC2A4 mengkode protein GLUT4 yang berperan penting dalam penyerapan glukosa yang dipicu insulin. Polimorfisme gen ini dapat memengaruhi ekspresi dan fungsi GLUT4, sehingga berkontribusi pada resistensi insulin dan patogenesis diabetes melitus tipe II. **Tujuan** penelitian untuk mendeteksi polimorfisme gen SLC2A4 pada pasien DM tipe II dan non-DM dengan menggunakan primer spesifik gen SLC2A4 yang dirancang khusus mengandung situs pengenalan *EcoRI* dengan teknik PCR-RFLP. **Metode:** penelitian deskriptif pada 20 sampel darah (10 DM tipe II, 10 non-DM) yang diperoleh secara *purposive sampling* di Puskesmas II Denpasar Utara dan Laboratorium Poltekkes Denpasar. DNA diekstraksi dengan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega), diamplifikasi dengan primer *forward* 5'-CTCATTCCCCTCGTGTGACTCT-3' dan primer *reverse* 5'-ATACATTTAGTACAACCGACCTTTGGT-3', dicerna *EcoRI*, dan dipisahkan pada agarosa 1,5%. **Hasil:** analisis univariat menunjukkan bahwa pada kelompok DM 70% sampel homozigot *wild type* (712 bp dan 288 bp) dan 30% tidak menunjukkan pita, sedangkan pada kelompok non-DM 90 % homozigot *wild type*, sementara 10% heterozigot (1.000 bp, 712 bp, 288 bp). **Kesimpulannya,** teknik PCR-RFLP dengan primer gen SLC2A4 yang mengandung situs pengenalan *EcoRI* mampu mendeteksi polimorfisme gen SLC2A4. Genotipe homozigot *wild type* dominan pada kedua kelompok dan varian heterozigot terdeteksi hanya ditemukan pada satu sampel non-DM.

Kata kunci: SLC2A4, GLUT4, polimorfisme gen, PCR-RFLP

RINGKASAN PENELITIAN

ANALISIS POLIMORFISME *GENE SOLUTE CARRIER FAMILY 2, FACILITATED GLUCOSE TRANSPORTER MEMBER 4* DENGAN TEKNIK PCR-RFLP

Oleh: Putu Diva Larasati (P07134221068)

Tingginya angka kejadian diabetes mellitus tipe II di Indonesia mendorong perlunya pemahaman terhadap peran faktor genetik, khususnya polimorfisme pada gen Solute Carrier Family 2, Facilitated Glucose Transporter Member 4 (SLC2A4) yang mengkode protein GLUT4. Variasi nukleotida pada gen ini diduga mengubah ekspresi atau fungsi GLUT4 sehingga memengaruhi penyerapan glukosa ke dalam sel otot dan jaringan adiposa, berkontribusi pada resistensi insulin dan patogenesis DM tipe II.

Penelitian ini bertujuan mendeteksi polimorfisme gen SLC2A4 pada pasien DM tipe II dan membandingkannya dengan individu non-DM menggunakan teknik Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR–RFLP). Secara khusus, penelitian ini juga merancang primer spesifik untuk amplifikasi fragmen gen SLC2A4 yang mengandung situs pemotongan *EcoRI*, serta mengoptimasi kondisi PCR yaitu mulai dari suhu denaturasi, annealing, hingga ekstensi untuk menghasilkan fragmen target sepanjang sekitar 1.000 bp.

Jenis penelitian ini bersifat deskriptif dengan teknik *purposive sampling*. Sampel darah dari 20 subjek (10 DM tipe II dan 10 non-DM) diperoleh di Puskesmas II Denpasar Utara dan diproses di Laboratorium Terpadu Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar selama periode Desember 2024 hingga April 2025. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega). Primer spesifik untuk gen SLC2A4 dirancang secara *in silico* menggunakan platform NCBI dan Benchling. Amplifikasi gen dilakukan dengan program termal PCR: denaturasi awal pada 95 °C selama 3 menit, diikuti oleh 35 siklus denaturasi pada 95 °C selama 30 detik, annealing pada 60 °C selama 45 detik, ekstensi pada 72 °C selama 1 menit, dan ekstensi akhir pada 72 °C selama 5 menit. Produk PCR kemudian dicerna dengan

enzim restriksi *EcoRI* dan hasilnya dipisahkan melalui elektroforesis gel agarosa 1,5% untuk visualisasi pola pita DNA.

Hasil analisis desain primer secara *in silico* dengan Primer-BLAST menunjukkan bahwa *primer forward* memiliki panjang 22 basa dengan suhu leleh (T_m) sebesar 61,47°C dan kandungan GC sebesar 54,55%, sedangkan *primer reverse* memiliki panjang 27 basa dengan suhu leleh (T_m) sebesar 60,47°C dan kandungan GC sebesar 37,04%. Amplifikasi PCR menghasilkan pita DNA tunggal spesifik gen SLC2A4 dengan berat molekul sekitar 1.000 *bp* pada seluruh sampel, baik kelompok DM maupun non-DM (100%). Pada kelompok DM tipe II, tujuh sampel (70%) menunjukkan pola *wild type* dengan dua pita berukuran 712 *bp* dan 288 *bp*, sedangkan tiga sampel (30%) tidak menunjukkan pita fragmen, yang disebabkan oleh salah satu dari tiga faktor, yaitu mutasi pada situs pengenalan enzim, degradasi kualitas DNA, atau kondisi reaksi restriksi yang kurang optimal. Di kelompok non-DM, sembilan sampel (90%) menunjukkan pola *wild type*, sementara satu sampel (10%) menunjukkan pola heterozigot dengan tiga pita berukuran 1.000 *bp*, 712 *bp*, dan 288 *bp*.

Berdasarkan temuan tersebut, teknik PCR–RFLP berhasil digunakan untuk mendeteksi polimorfisme gen SLC2A4. Dominasi alel *wild type* dan rendahnya frekuensi alel varian menunjukkan bahwa variasi genetik ini ada dalam populasi, meski dengan prevalensi terbatas. Polimorfisme gen SLC2A4 berpotensi dijadikan marker genetik dalam skrining risiko DM tipe II, meskipun diperlukan studi lanjutan untuk mengeksplorasi interaksi antara faktor genetik dan lingkungan.

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan melakukan sekuensing DNA pada sampel bermutan atau tidak terbaca untuk memverifikasi perubahan nukleotida spesifik, mengoptimasi protokol RFLP (buffer, konsentrasi enzim, kondisi elektroforesis), mengeksplorasi penggunaan enzim restriksi tambahan guna mendeteksi varian genetik lain pada gen SLC2A4, serta memperluas jumlah dan keragaman sampel untuk memperkuat validitas statistik dan generalisasi temuan.

Daftar bacaan: 43 (tahun 2010-tahun 2024)

KATA PENGANTAR

Atas asung kertha wara nugraha Ida Sang Hyang Widi Wasa, saya panjatkan puji Syukur ke hadapan-Nya, karena atas Rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Analisis Plomiorfisme *Gene Solute Carrier Family 2, Facilitated Glucose Transporter Member 4*** dapat diselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan. Dalam proses penyusunannya, penulis mendapatkan banyak bantuan, arahan, serta dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tulus kepada:

1. Ibu Dr. Sri Rahayu, S.Tr, Keb, S.Kep, Ners, M.Kes, selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Denpasar, atas kesempatan dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis untuk mengikuti Pendidikan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
2. Ibu I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.P.H., selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan selama penulis menempuh studi, khususnya dalam penyusunan skripsi.
3. Bapak Heri Setiyo Bkti, S.ST., M.Biomed selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, atas segala ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama masa studi.

4. Bapak Burhannuddin, S.Si., M.Biomed. sebagai Pembimbing Utama yang telah membimbing dengan penuh kesabaran serta memberikan masukan yang sangat berharga dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak I Nyoman Jirna, SKM., M.Si sebagai Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Ibu Apt. Gusti Ayu Made Ratih K.R.D., S.Farm., M.Farm., selaku Ketua Penguji, atas dedikasi, waktu, dan masukan konstruktif yang sangat berharga dalam penyempurnaan skripsi ini.
7. Ibu Ida Ayu Made Sri Arjani, S.IP.M., Erg., sebagai Anggota Penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran-saran berharga demi kesempurnaan skripsi ini.
8. Keluarga penulis tercinta yang selalu memberikan dukungan, doa serta motivasi tanpa henti hingga penulis mampu menyelesaikan skripsi tepat pada waktunya.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini mungkin masih terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna, sehingga penulis memohon maaf atas segala kekurangan yang ada. Oleh karena itu, penulis sangat menghargai kritik dan saran dari pembaca untuk perbaikan dan peningkatan di masa yang akan datang.

Denpasar, 07 Mei 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT	v
LEMBAR PERSEMBAHAN.....	vi
RIWAYAT PENULIS	vii
RINGKASAN PENELITIAN	x
KATA PENGANTAR.....	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah Penelitian.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Definisi dan Klasifikasi Diabetes Mellitus.....	6
B. Gen <i>Solute Carrier Family 2, Facilitated Glucose Transporter Member 4</i> ...	7
C. Teknik <i>Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length</i> <i>Polymorphism</i> (PCR-RFLP).....	9
D. Elektroforesis Gel Agarosa	11
BAB III KERANGKA KONSEP	13
A. Kerangka Konsep	13
B. Variabel dan Definisi Operasional	14
BAB IV METODE PENELITIAN	16
A. Jenis Penelitian.....	16
B. Alur Penelitian	16

C. Tempat dan Waktu Penelitian	17
D. Subjek dan Sampel Penelitian.....	17
E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data	18
F. Pengolahan dan Analisis Data.....	29
G. Etika Penelitian.....	30
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. Hasil Penelitian.....	32
B. Pembahasan	38
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	49
A. Simpulan.....	49
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Definisi Operasional.....	15
Tabel 2 Komponen <i>Mix</i> PCR.....	23
Tabel 3 Protokol Siklus PCR.....	27
Tabel 4 Hasil Pasangan Primer Spesifik Gen SLC2A4	33
Tabel 5 Analisis Pola Pita DNA Gen SLC2A4 pada Sampel Dm	36
Tabel 6 Analisis Pola Pita DNA Gen SLC2A4 pada Sampel non-DM.....	37
Tabel 7 Hasil Amplifikasi Gen SLC2A4 dengan Teknik PCR	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka Konsep	13
Gambar 2. Alur Penelitian.....	16
Gambar 3. Hasil NCBI Primer-BLAST secara In Silico	33
Gambar 4. Hasil Elektroforesis Amplifikasi Gen SLC2A4 pada sampel DM (D1-D10) dan non-DM (N1-N10)	34
Gambar 5. Hasil digesti enzim restriksi EcoRI gen SLC2A4 sampel D1-D10.....	35
Gambar 6. Hasil digesti enzim restriksi EcoRI gen SLC2A4 sampel N1-N10.....	37

DAFTAR SINGKATAN

bp	: <i>base pair</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DM	: Diabetes Mellitus
EcoRI	: <i>Escherichia coli</i> restriction enzyme 1
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid</i>
GDP	: Gula Darah Puasa
GLUT4	: <i>Glucose Transporter 4</i>
Kemenkes	: Kementerian Kesehatan
MgCl ₂	: Magnesium Klorida
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i>
NFW	: <i>Nuclease-Free Water</i>
PCR-RFLP	: <i>Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SLC2A4	: <i>Solute Carrier Family 2, Facilitated Glucose Transporter Member 4</i>
UPTD	: Unit Pelaksana Teknis Daerah
UV-DOC	: <i>UV Documentation</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Surat Persetujuan Etik Penelitian.....	56
Lampiran 2: Surat Permohonan Izin Penelitian.....	57
Lampiran 3: Surat Balasan Izin Penelitian dari Dinas Kesehatan	58
Lampiran 4: Surat Peminjaman Laboratorium	59
Lampiran 5: Surat Pernyataan Persetujuan Publikasi Repository	60
Lampiran 6: Sertifikat Hasil Uji Kualitatif	61
Lampiran 7. Lembar <i>Informed Consent</i>	64
Lampiran 8: Lembar persetujuan setelah penjelasan	65
Lampiran 9: Lembar Persetujuan Responden	66
Lampiran 10: Lembar Kuesioner.....	67
Lampiran 11: Rekapitulasi Hasil Penelitian	68
Lampiran 12: Hasil Amplifikasi Gen SLC2A4	69
Lampiran 13: Dokumentasi Penelitian.....	71
Lampiran 14. Validasi SIAK	72
Lampiran 15: Hasil Turnitin.....	73