



**PEMUTASIAN GEN PENGKODE *human SEPIAPTERIN*
REDUCTASE (hSR) PADA ASAM AMINO KE-150
DARI ARGININ MENJADI GLISIN**

SKRIPSI

Oleh

**Mokhamad Aswin Bahar
NIM 062010101029**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2009**



**PEMUTASIAN GEN PENGKODE *human SEPIAPTERIN*
REDUCTASE (hSR) PADA ASAM AMINO KE-150
DARI ARGININ MENJADI GLISIN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Fakultas Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Mokhamad Aswin Bahar
NIM 062010101029

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2009

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Tuhanku yaitu Allah S.W.T.
2. Orangtua tercinta, Ayahanda Sucipto dan Ibunda Siti Juwaroh yang senantiasa memberikan doa dan kasih sayangnya tiada henti, serta yang telah mendidik dan menjadikanku menjadi manusia yang lebih baik. Senyum dan kebahagiaan kalian adalah harapan terbesarku.
3. Kakak dan adik tercinta, Ida dan Mohammad Alvin Nuril Hidayat, yang senantiasa memberikan semangat serta saran-saran terbaik dalam menentukan perjalanan hidupku selama ini. Terima kasih telah mencurahkan kasih sayang dan perhatian yang tiada henti kepadaku.
4. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember Prof. dr. H. Bambang Suhariyanto, Sp.KK(K) yang membimbing dan mengayomi selama menuntut ilmu.
5. Pembimbing I kami dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D. yang membantu dalam penelitian di Pusat Penelitian Biologi Molekuler UNEJ
6. Pembimbing II kami dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc. yang mengevaluasi agar menjadi lebih baik
7. Dosen kami terhormat dr. Supangat M.Kes., Ph.D., dr. Cholis Abrori M.Kes., M.Ked., DR. Tri Handoyo, SP., dr. Aris Prasetyo, M.Kes. yang selalu membimbing kami dari awal pembuatan skripsi ini.
8. Teman-teman Angkatan 2006 dan Lab Biologimolekular yang saya sayangi.
9. Almamater yang saya banggakan.

MOTO

Berikan yang terbaik untuk orang lain, maka kebahagiaanlah yang akan engkau dapatkan.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : MOKHAMAD ASWIN BAHAR

NIM : 062010101029

Menyatakan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: *Pemutasian Gen Pengkode human Sepiapterin Reductase (hSR) pada Asam Amino ke-150 dari Arginin Menjadi Glisin* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 Oktober 2009

Yang menyatakan,

MOKHAMAD ASWIN BAHAR
NIM 062010101029

SKRIPSI

**PEMUTASIAN GEN PENGKODE *human SEPIAPTERIN*
REDUCTASE (hSR) PADA ASAM AMINO KE-150
DARI ARGININ MENJADI GLISIN**

Oleh

Mokhammad Aswin Bahar
NIM 062010101029

Pembimbing

Dosen Pembimbing I : dr. Al Munawir, M.Kes.,Ph.D.
Dosen Pembimbing II : dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc.

PENGESAHAN

Penelitian berjudul *Pemutasian Gen Pengkode human Sepiapterin Reductase (hSR) pada Asam Amino ke-150 dari Arginin Menjadi Glisin* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari : Jum'at
tanggal : 30 Oktober 2009
tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Susunan Tim Penguji

Ketua,

dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D.
NIP 196909011999031003

Anggota I,

Anggota II,

dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc.
NIP 198002182005011001

DR. Tri Handoyo, SP.
NIP 197112021998021001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Jember,

Prof. dr. H. Bambang Suhariyanto, Sp.KK(K)
NIP 194701211983031001

RINGKASAN

Pemutasian Gen Pengkode *human Sepiapterin Reductase* (hSR) pada Asam Amino ke-150 dari Arginin Menjadi Glisin. Mokhammad Aswin Bahar (NIM 062010101029), dr. Al Munawir, M.Kes.,Ph.D. sebagai Pembimbing I dan dr. M. Ihwan Narwanto, M.Sc. sebagai Pembimbing II.

Human Sepiapterin Reductase (hSR) adalah koenzim yang berperan dalam terbentuknya BH₄, yang merupakan kofaktor dalam pembentukan nitrit oksida, tirosin, serotonin, dan dopamin. Kekurangan enzim ini menyebabkan gangguan motorik seperti tremor, parkinson, dan alzheimer. Gangguan koenzim ini dapat disebabkan mutasi pada satu atau beberapa asam aminonya salah satunya pada *exon 2* pada asam amino ke-150 dari arginin menjadi glisin. Efek mutasi dapat menurunkan kerja koenzim ini sampai 62% dibandingkan dengan yang normal. Penelitian kali ini bertujuan untuk membuat mutasi secara invitro, agar lebih mudah mempelajari proses mutasi dari hSR.

Metode yang digunakan dalam pemutasian *hSR* adalah *Site Directed Mutagenesis*. DNA dimutasikan dengan menggunakan PCR, primer yang digunakan yaitu H1F 5 CCTGGCCTCAACGGAACCGTGGTTAAC 3 untuk *forward* dan H2B 5 GTTAACCACGGTTCCGTTGAGGCCAGG 3 untuk *reverse*. Program PCR dijalankan dengan *pre denaturation* 95°C selama 30 detik, *denaturation* pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 1 menit, *elongation* pada suhu 68°C selama 6 menit 30 detik, *final elongation* pada suhu 68°C selama 5 menit dan pendinginan pada suhu 4°C, sebanyak 18 siklus. Fragmen DNA yang sudah diperoleh dari PCR, kemudian di ligasi dengan enzim *Dpn-1* dan kemudian ditransformasikan dalam *E.coli* strain *XL-1 Blue*.

Transformasi gen hSR R150G memberikan gambaran koloni *E.coli* strain *XL-1 Blue* berwarna biru dan kontrol berwarna putih. Berdasarkan *Manual Stratagen Site Directed Mutagenesis* dapat disimpulkan bahwa proses pemutasian telah berhasil.

PRAKATA

Puja dan puji syukur atas karunia yang diberikan oleh Allah SWT sehingga skripsi yang berjudul *Pemutasian Gen Pengkode human Sepiapterin Reductase (hSR) pada Asam Amino ke-150 dari Arginin Menjadi Glisin* dapat terselesaikan dengan baik.

Penyusun mengucapkan terima kasih terhadap berbagai pihak yang telah membantu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua, ilmu pengetahuan, dan masyarakat.

Penyusun menyadari tetap ada kekurangan terhadap skripsi ini. Oleh karena itu, kami memohon kritik yang bersifat membangun sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.

Jember, 30 Oktober 2009

MOKHAMAD ASWIN BAHAR
NIM 062010101029

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Enzim <i>Sepiapterin Reductase</i>	5
2.2 <i>Site Directed Mutagenesis</i>	10
BAB 3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.2 Rancangan Penelitian	14
3.3 Definisi Operasional	14
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	15

3.5 Prosedur Penelitian	15
3.5.1 Metode Pembuatan Primer DNA	15
3.5.2 Metode Isolasi Plasmid DNA.....	15
3.5.3 Metode Pembuatan Kompetent sel.....	16
3.5.4 Metode Pemutasian DNA hSR R150G	16
3.6 Alur Penelitian	18
3.7 Penyajian Data	18
3.8 Masalah Etik	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Hasil penelitian	19
4.2 Pembahasan	26
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	28
DAFTAR PUSTAKA	29

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Model dua dimensi enzim hSR dan lokasi mutasi (Thony <i>et al.</i> , 2000)..	6
2.2 Model urutan rantai kimia BH4 dan hSR (Auerbach, 1997).	6
2.3 Model ikatan karbon dan patofisiologi gangguan hSR (Supangat, 2005).	7
2.4 Model tiga dimensi hSR (Yang <i>et al.</i> , 2006).	8
2.5 Proses reaksi <i>Site Directed Mutagenesis</i>	12
3.1 Alur Penelitian.	18
4.1 Peta <i>restriktion site</i> Pet 28a.....	20
4.2 Gambar elektroforesis DNA Hsr.....	22
4.3 Gambar <i>blue white selectioan E. Coli XL-1 Blue</i> pada media LB agar	26

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Gambar Elektroforesis penuh DNA	33
3. Daftar data estimasi kandungan DNA..	34
3. Grafik estimasi kandungan DNA kontrol..	35
4. Grafik estimasi kandungan DNA <i>hSR</i>	36