

Identifikasi Polimorfisme Gen N-Asetiltransferase 2 (NAT2) Pada Suku Batak

Ezra Pasaribu¹, Jason Merari Paranginangin², Lucia Vita Inandha Dewi³

¹Farmasi, Farmasi, Universitas Setia Budi, Indonesia; ezrapasaribu449@gmail.com

²Farmasi, Farmasi, Universitas Setia Budi, Indonesia; jason.merari@yahoo.com

³Farmasi, Farmasi, Universitas Setia Budi, Indonesia; vitainandha@gmail.com

*(Korespondensi e-mail: ezrapasaribu449@gmail.com)

ABSTRAK

Indonesia memiliki berbagai macam suku yang tersebar dari Sabang sampai Merauke yang terdiri lebih dari 300 etnik. Penelitian tentang TB pada suku Jawa (40%) Sunda (15,50%), Melayu (3,7%), Batak (3,6%), Madura (3%) dan Betawi (2,88%). Tujuannya untuk mengetahui adanya polimorfisme pada gen *NAT2* subyek sehat suku Batak beserta tipe polimorfisme dan jenis tipe asetilatornya. Dampak polimorfisme *NAT2* yaitu toksisitas obat, neuropati perifer.

Metode menggunakan metode RFLP dengan pengambilan sampel 10 suku Batak. Sampel darah di isolasi DNA menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* kemudian dilakukan PCR RFLP dengan menggunakan enzim restriksi : *Taq1*, *Kpn1*, *BamH1* dan dielektroforesis.

RFLP enzim restriksi *Kpn1* menggunakan marker berukuran 100bp. *Taq1* didapatkan *NAT2*4* dan alel mutan *NAT2*6A*. *BamH1* didapatkan *NAT2*4* dan alel mutan *NAT2*7B*. Terdapat polimorfisme gen *NAT2* pada suku Batak yaitu *NAT2*4/*5B*, *NAT2*4/*6A*, *NAT2*4/*7B*, *NAT2*5B/*5B* dan *NAT2*7B/*7B* dan tipe polimorfisme gen *NAT2* pada suku Batak yaitu asetilator sedang *NAT2*4/*5B* (20%), *NAT2*4/*6A* (33,3%) dan pada *NAT2*4/*7B* (20%), asetilator lambat *NAT2*5B/*5B* (13,3%) dan *NAT2*7B* (13,3%). Tipe asetilator pada suku Batak provinsi Sumatra Utara yaitu asetilator sedang dan lambat.

Kata Kunci : Suku Batak; Polimorfisme; N-asetyltransferase 2 (*NAT2*); Tipe asetilator sedang dan lambat.

Abstract

Indonesia has various ethnic groups spread from Sabang to Merauke consisting of more than 300 ethnic groups, Research on the TB gene in Javanese (40%) Sundanese (15.50%), Malay (3.7%), Batak (3.6%), Madura (3%) and Betawi (2.88%). The aim is to determine the presence of polymorphisms in the *NAT2* gene of healthy Batak subjects along with the types of polymorphisms and types of acetylators. The impact of *NAT2* polymorphisms are drug toxicity, peripheral neuropathy.

The method uses the RFLP method with a sample of 10 Batak tribes. Blood samples were isolated by DNA using the *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* then RFLP PCR using restriction enzymes: *Taq1*, *Kpn1*, *BamH1* and electrophoresis.

The RFLP of the *Kpn1* restriction enzyme used a 100bp marker. *Taq1* obtained *NAT2*4* and the mutant allele *NAT2*6A*. *BamH1* obtained *NAT2*4* and the mutant allele *NAT2*7B*. There are *NAT2* gene polymorphisms in the Batak tribe, namely *NAT2*4/*5B*, *NAT2*4/*6A*, *NAT2*4/*7B*, *NAT2*5B/*5B* and *NAT2*7B/*7B* and the type of *NAT2* gene polymorphism in the Batak tribe. namely medium acetylator *NAT2*4/*5B* (20%), *NAT2*4/*6A* (33.3%) and in

*NAT2**4/*7B (20%), slow acetylator *NAT2**5B/*5B (13,3%) and *NAT2**7B (13.3%). The types of acetylators in the Batak tribe of North Sumatra province are medium and slow acetylators.

Keywords : Batak tribe; Polymorphism; N-acetyltransferase 2 (*NAT2*); acetylator type intermediat and slow.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah rumah bagi berbagai macam suku, dari Sabang sampai Merauke, dan setiap suku memiliki adat yang kaya dan budaya yang berbeda tergantung pada lokasi geografis dan norma-norma yang berlaku di wilayah tersebut. Pada dasarnya adalah Indonesia memiliki latar belakang daerah dan keragaman ini adalah kekayaan budaya negara. Penelitian TB pada suku Jawa (40%) Sunda (15,50%), Melayu (3,7%), Batak (3,6%), Madura (3%) dan Betawi (2,88%). Mengingat keragaman etnis yang luas di Indonesia, studi tentang gen *NAT2* penting untuk membuat kelompok etnis yang beragam di populasi Indonesia lebih sadar akan risiko genetik. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengeksplorasi polimorfisme *NAT2* pada etnis lain, khususnya suku Batak (Susilowati *et al.*, 2017).

Isoniazid adalah turunan dari hidrazin hepatotoksik. Ada dua metabolit isoniazid, hidrazin dan asetilhidrazin, yang terutama terlibat dalam mekanisme hepatotoksitas yang diinduksi isoniazid. Jalur metabolik yang diusulkan adalah hidrolisis isoniazid menjadi hidrazin dan *acid isonicotinic* dan asetilasi isoniazid menjadi asetilisoniazid oleh *NAT2*. Peran *NAT2* selanjutnya adalah asetilasi hidrazin menjadi asetilhidrazin (monoasetilhidrazin). Hidrazin dan asetilhidrazin dikenal sebagai zat beracun, oleh karena itu harus diasetilasi menjadi zat tidak beracun. Asetilhidrazin dimetabolisme menjadi zat antara asilasi reaktif, yang dapat mengikat secara kovalen ke makromolekul jaringan dan dapat menyebabkan hepatotoksitas yang diinduksi Isoniazid (Wahyudi, A. D., & Soedarsono, S. 2019).

Selain INH dari obat TB adapun penyakit yang berhubungan dengan gen *NAT2* yaitu penyakit kanker lambung yang merupakan jenis neoplasia paling umum keempat di seluruh dunia dan kanker payudara memiliki insiden tertinggi dan merupakan penyebab utama kematian wanita. Di Brasil kanker lambung mewakili jenis tumor kelima yang paling umum di antara populasi pria dan kanker payudara adalah yang paling umum kedua di antara populasi wanita. Studi kerentanan genetik terhadap kanker menggunakan polimorfisme nukleotida tunggal (SNPs) dari gen yang mengkodekan enzim yang bertanggung jawab untuk biotransformasi agen karsinogenik dapat mengidentifikasi populasi yang berisiko dan membantu untuk memperjelas etiologi yang diberikan (Fernandes *et al.*, 2013).

N-asetiltransferase (NAT) adalah enzim metabolisme fase II yang mengkatalisis N- atau O-asetilasi dari obat dan xenobiotika yang mengandung amina aromatik, amina heterosiklik, atau gugus hidrazin (misalnya, isoniazid dan sulfametoksazol). NAT juga berperan dalam katalisis transformasi amine heterosiklik dan aromatik yang berasal dari lingkungan. Enzim *N-Asetiltransferase* (NAT) disandi oleh gen *N-asetiltransferase* 1 (*NAT1*) dan *N-asetiltransferase* 2 (*NAT2*) (Katzung *et al.*, 2013). Polimorfisme gen *N-asetiltransferase* 2 (*NAT2*) terbukti memiliki asosiasi dengan toksisitas obat dan/atau karsinogenesis pada beberapa jaringan. Polimorfisme pada asetilasi ini dapat mempengaruhi dosis pemberian obat, dan resiko yang dapat ditimbulkan akibat konsumsi obat (Rio Rahardjo *et al.*, 2008).

Latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui adanya tipe

polimorfisme serta jenis fenotip dari polimorfisme pada suku Batak. Penelitian ini merupakan mapig awal karena memiliki keterbatasan sampel. Penelitian pendahuluan polimorfisme pada suku Batak dengan metode penelusuran diatas belum pernah dikerjakan sebelumnya sehingga penelitian yang merupakan awal dari identifikasi tipe polimorfisme pada suku Batak ini menarik dilakukan karena dapat mengetahui fenotip dari macam-macam etnis dalam suatu populasi di Indonesia. Penelitian ini juga digunakan sebagai masukan bagi pengobatan tuberkulosis yaitu INH, penyakit kanker agar mendapatkan pengobatan yang optimal.

METODE

Alat dan Bahan

Alat: serangkaian alat gelas berupa gelas beker, gelas ukur, erlenmeyer, micro pipet, pengaduk, sampel dan reagen, *microcentrifuge tube* (microtube) 1,5 mL sebagai tempat penyimpanan sampel, mikropipet untuk mengambil sampel dan bahan dalam skala microliter, inkubator sebagai tempat inkubasi, *microwave* untuk pembuatan gel agarose, lemari pendingin sebagai tempat penyimpanan bahan, *thermometer*, neraca analitik untuk menimbang bahan, erlenmeyer untuk tempat pencampuran bahan, vortex mixer untuk homogenasi larutan, sentrifuge untuk memisahkan komponen larutan berdasar berat jenis, *Vacutainer* EDTA, holder *vacutainer*, PCR merk ESCO, tabung PCR merk Axygen, *thermocycler* untuk amplifikasi DNA, maestronano untuk mengukur konsentrasi sampel.

Bahan: 10 sampel darah subyek sehat suku batak disimpan dalam *tube BD vacutainer* EDTA dan meliputi Enzim *NAT2*, enzim restriksi *BamH1*, *Kpn1*, *Taq1*, akuades steril, *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*, PCR master mix *KAPA 2G fast ready mix*, primer *forward* dan *reverse* spesifik untuk pada gen *NAT2*, *DNA loading dye*, *Hyperladder100bp plus DNA ladder*, *fluorose* digunakan untuk pewarna, gel agarosa 2%, Isopropanolol, etanol absolut 70%, *buffer*, Tris Borat EDTA (TBE), *loading buffer* (campuran *bromo phenol blue*, *formamide*, *EDTA*, *gliserol*).

1.1 Cara Kerja

Isolasi DNA

Isolasi DNA sampel dilakukan dengan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* ekstraksi sesuai dengan protokol kit. Langkah-langkah isolasi DNA sebagai berikut :

Lisis Sel. Sebanyak 300µL sampel darah diambil dan dimasukkan dalam tabung microtube 1,5 ml dan menambahkan 900µL lisis cell dan diinkubasi pada suhu kamar 10 menit, kemudian disentrifuge kecepatan 12.500 rpm selama 5 menit kemudian supernatant dibuang. Lisis nukleat 300µL dan pengendapan protein campur dan dihomogenkan.

Pengendapan protein. Pada tahap ini volume dari atas larutan di campur, lisis sel nukleat 300 uL yang ditambahkan larutan pengendap protein 100µL di vortex selama 20 detik kemudian sentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 12.500 rpm.

Pengendapan DNA. Tahap ini supernatant dimasukkan ke dalam tabung baru ditambahkan isopropanolol 300uL, kemudian dihomogenkan. Sentrifugasi

selama 5 menit dengan kecepatan 12.500 rpm buang supernatant dan ditambahkan etanol 70% untuk proses pengeringan sebanyak 300 μ L lalu disentrifugasi lagi selama 5 menit dengan kecepatan 12.500 rpm. Didiamkan selama 10-15 menit sampai kering kemudian tambahkan DNA rehydration 100 μ L, diinkubasi selama 1 jam pada suhu 60°C atau semalam pada suhu 4°C. *Penentuan konsentrasi DNA & Penentuan kemurnian DNA. Penentuan konsentrasi dan kemurnian dengan menggunakan alat maestrogen dengan isi komponen yaitu DNA 2 μ L, kemudian blanko yang digunakan reagen DNA precipitat.*

Tahapan PCR

Suhu denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit dilanjutkan ke suhu →

1. Denaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, 2. Annealing pada suhu 52°C selama 40 detik. 3. Ekstensi pada suhu 72°C selama 40 detik. Tahapan ini dilakukan selama 35 siklus dan dilanjutkan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit.

Pembuatan gel

Larutan gel disiapkan dengan Erlenmeyer 250ml yang terdiri atas gel agarosa 2g dilarutkan dalam 100ml TBE 0,5x di microwave selama 2 menit didiamkan sampai suhu menurun lalu dimasukkan flurosafe 1 μ L untuk 100ml sebagai pewarna. Segera dituangkan kedalam cetakan. Sisir dipasang pada cetakan dan gel dibiarkan selama 20 menit.

Penyiapan sampel untuk di Elektroforesis

Sebanyak 2 μ L produk PCR dari masing-masing NAT2 N4 dan NAT2 N5 ditambahkan sampel DNA 2 μ L ditambahkan H₂O 11 μ L ditambahkan master mix 12,5 μ L kemudian di vortex selama 30 detik. Kemudian di PCR kemudian Elektroforesis untuk melihat hasil primer.

Analisis DNA

Analisis DNA terdiri dari Isolasi DNA dan PCR-RFLP. DNA diisolasi dari darah dengan menggunakan prosedur Kit Isolasi DNA dari *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*, kemudian 2 μ L DNA digunakan sebagai template untuk PCR. Primers yang digunakan untuk NAT2 adalah: Forward NAT2 N5 (5'-TCAGCCTCAGGTGCCTTGCA-3') dan yang kedua NAT2 N4 (5'-AGCATGAATCACTCTGCTTC-3'). Tabung berisi campuran PCR dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan kondisi PCR sebagai berikut: denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, dilanjutkan ke siklus suhu yang terdiri dari: (1) Denaturasi pada suhu 95°C selama 40 detik; (2) Annealing pada suhu 52°C selama 40 detik; (3) Ekstensi pada suhu 72°C selama 40 detik. Tahapan tersebut dilakukan selama 35 siklus dan dilanjutkan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit. Pemeriksaan RFLP untuk polimorfisme NAT2 dengan menggunakan enzim NAT2 N4 DAN NAT2 N5. Campuran enzim restriksi untuk polimorfisme BamH1 gen sebanyak 0,3 μ L, H₂O 2,7 μ L produk pcr 3 μ L buffer NE 1 μ L total volume 7 μ L. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Hasil inkubasi dilakukan elektroforesis. Campuran enzim restriksi untuk polimorfisme *Taq1* gen sebanyak 0,3 μ L produk PCR, H₂O 2,7 μ L, product pcr 3 μ L, Buffer 1 μ L total volume 7 μ L. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Hasil inkubasi dilakukan elektroforesis. Kpn1 produk PCR 4 μ L, H₂O 4,5 μ L, enzim *Kpn1* 0,3 μ L, Buffer 1 μ L volume 9,0 μ L. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Hasil inkubasi dilakukan elektroforesis.

Jenis Penelitian

Penelitian pendahuluan polimorfisme genetika gen NAT2 pada subyek sehat

suku Batak merupakan penelitian eksperimental bersifat deskriptif dengan menggunakan sampel darah dari subyek sehat suku Batak.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini berlokasi di Universitas Gadjah Mada. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2021-April 2022.

Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel dengan kriteria inklusi. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah subyek sehat dan berasal dari suku Batak dengan jumlah 10 sampel.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah subyek sehat suku Batak dan merupakan penelitian secara eksperimental. Bagian dari populasi yang memenuhi syarat kriteria inklusi dan eksklusi.

PEMBAHASAN & HASIL

Identifikasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel darah subyek sehat suku Batak di Surakarta dengan prosedur pengambilan sampel memenuhi kelayakan etik atau *Clearance*. Identifikasi *Ethical Clearance* digunakan untuk memenuhi kelayakan etik dalam penggunaan sampel melibatkan makhluk hidup yang menyatakan bahwa suatu penelitian layak untuk dilakukan. Sampel darah diambil dari responden yang bersedia diambil darahnya, sebanyak 10 subyek. Penelitian ini telah mendapatkan surat kelayakan etik dengan No. 3512/B.1/KEPK-FKUMS/IV/2021.

Proses pengambilan sampel waktu dari Oktober 2021-Desember awal 2021. Setelah sampel darah terkumpul disimpan dalam lemari es dengan suhu 1°C untuk menjaga suhu sampel agar tidak rusak dan tidak terjadi lisis. Untuk memastikan subyek benar-benar suku Batak dilakukan dengan metode wawancara untuk mengkaji data. Adapun kriteria responden adalah sebagai berikut :

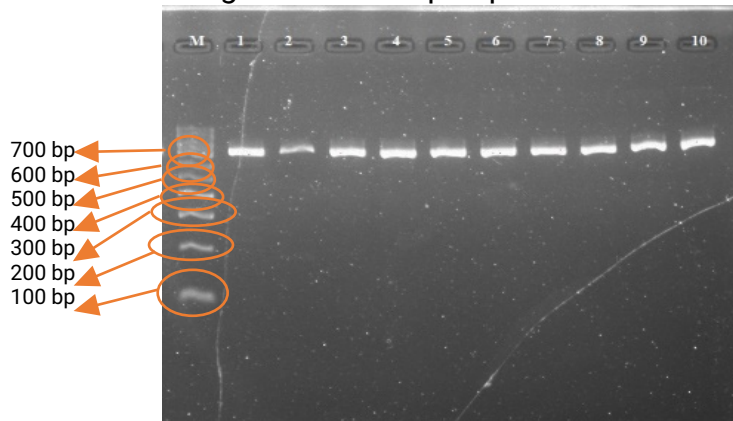
Tabel 1. Kriteria responden

No. Sampel	Umur	Klinis
1.	25	Sehat
2.	23	Sehat
3.	20	Sehat
4.	25	Sehat
5.	25	Sehat
6.	30	Sehat
7.	26	Sehat
8.	20	Sehat
9.	23	Sehat
10.	23	Sehat

Hasil isolasi DNA

Isolasi DNA 10 sampel penelitian ini menggunakan *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*. Isolasi DNA dilakukan dengan mengisolasi DNA dari darah yang di simpan pada tabung EDTA. Pada elektroforensis DNA yang dilakukan pada sepuluh

sampel seluruhnya didapatkan pita DNA yang terlihat jelas pada semua sampel yang menunjukkan keberadaan DNA dan keberhasilan dari isolasi DNA yang telah dilakukan setelah itu dilakukan pembacaan konsentrasi pada setiap sampel didapatkan hasil konsentrasi tidak terlalu besar nilainya. DNA pada sampel menunjukkan konsentrasi yang bervariasi sesuai dengan ketebalan pita pada elektroforensis.



Gambar 1. Hasil isolasi DNA dengan PCR

Keterangan : M : marker 100bp; 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 : nomor sampel penelitian.

Tabel 2. Kadar DNA suku Batak

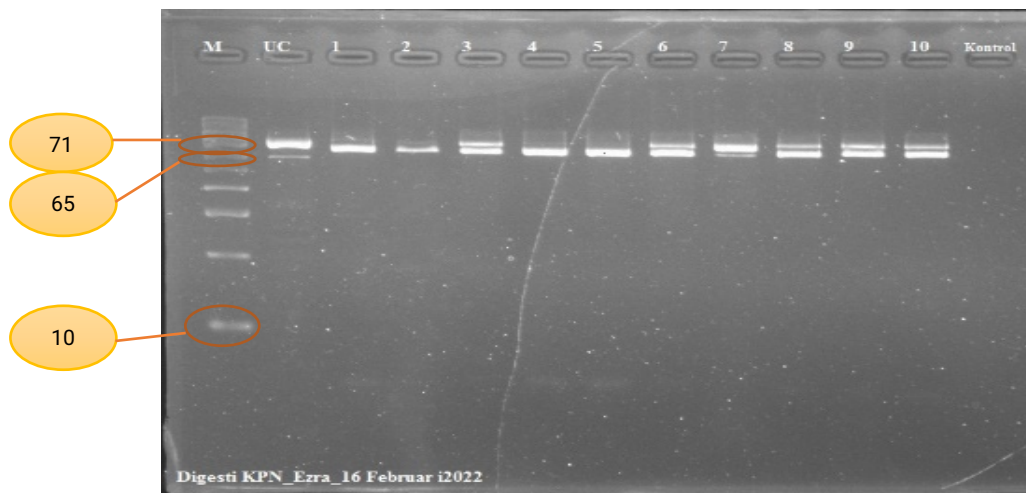
Sampel	Konsentrasi	A260/280
1	0,864	1,895
2	37,016	1,846
3	13,732	1,822
4	47,412	1,916
5	38,819	1,916
6	35,372	1,943
7	10,162	1,958
8	18,711	1,986
9	20,113	1,915
10	23,182	1,952

Adanya variasi konsentrasi DNA mungkin disebabkan oleh perbedaan kualitas darah. Karena ukuran DNA yang besar, hasil elektroforesis pita DNA sampel ditampilkan jauh di atas penanda (marker), dan setiap sampel menunjukkan pita dengan ketebalan yang berbeda berdasarkan konsentrasi DNA yang diperoleh dari pemisahan yang dilakukan. Pita tebal dan terang menunjukkan tingkat DNA terisolasi yang tinggi, dan pita tipis dan terang menunjukkan tingkat DNA yang rendah atau lebih sedikit. Tujuan pemurnian isolasi DNA yaitu untuk memisahkan DNA dengan protein dan selulosa. Hasil di dapatkan dengan memakai alat maestrogen dengan bahan DNA 2 μ L dan blanko yaitu reagen DNA precipitat. A260/A280 merupakan panjang gelombang nm, indikator kontaminasi protein yang baik bila $> 1,8$ yang menunjukkan sampel isolasi DNA murni sampel didapatkan hasil 1,8-1,9

RFLP menggunakan Enzim Restriksi Kpn1

Penelitian ini menggunakan enzim *N-asetiltransferase 2* dengan enzim restriksi

Kpn1 menggunakan metode PCR RFLP. Hasil dari uji enzim *Kpn1* yang dilakukan dengan didapatkan hasil sebagai berikut :



Gambar 2. Hasil RFLP menggunakan Enzim Restriksi *Kpn1*.

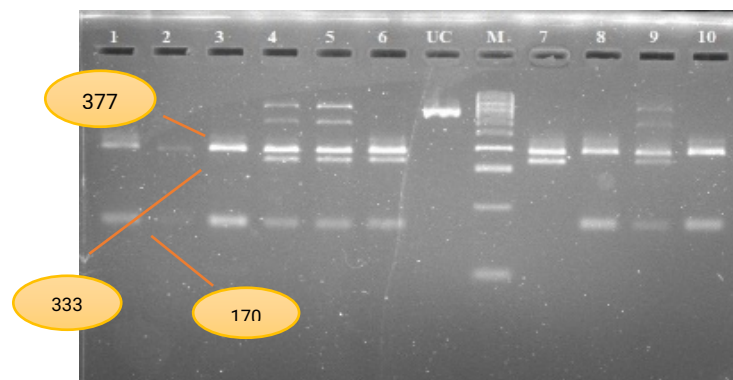
Keterangan : M : *marker* 100bp; 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 : nomor sampel penelitian,
K : control, UC : *un cut*.

Tabel 3. Hasil pembacaan RFLP enzim restriksi *Kpn1*

No Urut	Kode	Ukuran Band(BP)	Tipe	Ket
1	1	710	NAT2*5B	Mutan
2	2	710	NAT2*5B	Mutan
3	3	710, 655	NAT2*4/*5B	Mutan
4	4	710	NAT2*5B	Mutan
5	5	710	NAT2*5B	Mutan
6	6	710. 655	NAT2*4/*5B	Mutan
7	7	710, 655	NAT2*4/*5B	Mutan
8	8	710, 655	NAT2*4/*5B	Mutan
9	9	710, 655	NAT2*4/*5B	Mutan
10	10	710, 655	NAT2*4/*5B	Mutan

Terdapat 2 tipe yaitu wild tipe *NAT2*4* dan alel mutan *NAT2*5B* ditentukan dengan adanya pita masing-masing 655bp dan 710bp dari hasil tabel diatas menunjukkan setiap sampel terjadi mutasi alel *NAT2*4/*5B* dan *NAT2*5B*.

RFLP menggunakan Enzim Restriksi *Taq1*

Gambar 3. Hasil RFLP menggunakan Enzim Restriksi *Taq1*.

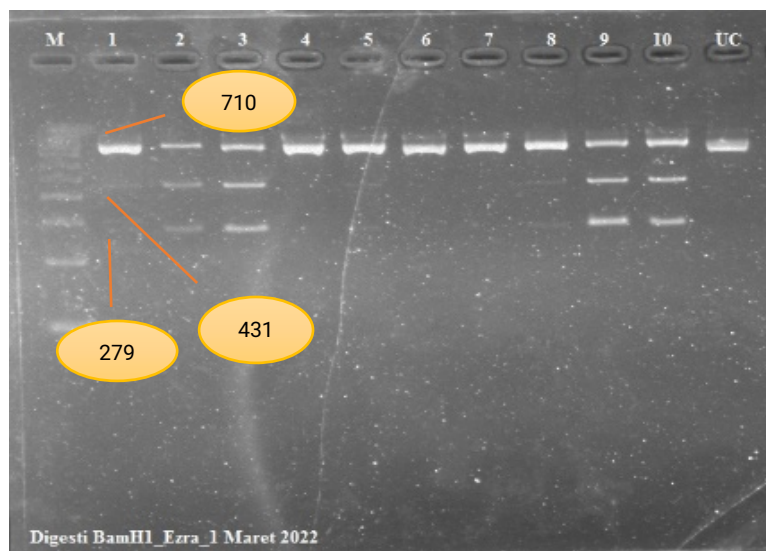
Keterangan : M : *marker*; 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 : nomor sampel penelitian,
UC : *un cut*.

Tabel 4. Hasil pembacaan RFLP enzim restriksi *Taq1*

No Urut	Kode	Ukuran Band (BP)	Tipe	Ket
1	1	377,170	NAT2*4/*6A	Mutan
2	2	377,170	NAT2*4/*6A	Mutan
3	3	377,170	NAT2*4/*6A	Mutan
4	4	377, 333, 170	NAT2*4/*6A	Mutan
5	5	377, 333, 170	NAT2*4/*6A	Mutan
6	6	377, 333, 170	NAT2*4/*6A	Mutan
7	7	377	NAT2*4/*6A	Mutan
8	8	377,170	NAT2*4/*6A	Mutan
9	9	377, 333, 170	NAT2*4/*6A	Mutan
10	10	377,170	NAT2*4/*6A	Mutan

Hasil tabel diatas didapatkan 2 jenis ukuran yaitu *Taq1* NAT2*4 ditentukan oleh adanya 3 pita tumpang tindih 377bp, 170bp dan 163bp dan alel mutan NAT2*6A ditentukan oleh adanya pita 377 bp dan 333 bp dari hasil tabel diatas menunjukan setiap sampel terjadi mutasi alel NAT2*4/*6A.

RFLP menggunakan Enzim Restriksi *BamH1*



Gambar 4. Hasil RFLP menggunakan Enzim Restriksi *BamH1*.

Keterangan : M : *marker 100bp*; 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 : nomor sampel penelitian, UC : *Un Cut*.

Tabel 5. Hasil pembacaan RFLP enzim restriksi *BamH1*

No Urut	Kode	Ukuran Band(BP)	Tipe	Ket
1	1	710, 431, 279	NAT2*4/*7B	Mutan
2	2	710, 431, 279	NAT2*4/*7B	Mutan
3	3	710, 431, 279	NAT2*4/*7B	Mutan
4	4	710	NAT2*7B	Mutan
5	5	710	NAT2*7B	Mutan
6	6	710	NAT2*7B	Mutan
7	7	710	NAT2*7B	Mutan
8	8	710, 431, 279	NAT2*4/*7B	Mutan
9	9	710, 431, 279	NAT2*4/*7B	Mutan
10	10	710, 431, 279	NAT2*4/*7B	Mutan

Hasil tabel diatas didapatkan pada *bamH1*, *NAT2*4* ditentukan dengan adanya pita 431bp dan 279 bp dan alel mutan *NAT2*7B* ditentukan dengan adanya pita 710 bp. terdapat 2 tipe yaitu alel mutan *NAT2*7B* dan *NAT2*7B*.

Berdasarkan tabel 1, 2, 3 dapat dilihat bahwa hasil pengujian isolat DNA menggunakan metode dengan teknik PCR dari 10 sampel yang diperiksa, 10 sampel untuk masing-masing enzim restriksi *Kpn1*, *Taq1* dan *BamH1* semuanya dengan hasil mutan. Mutasi adalah perubahan yang terjadi pada materi genetik (DNA dan RNA), baik pada tingkat sekuens gen (disebut mutasi titik) maupun pada tingkat kromosom. Mutasi pada tingkat kromosomal biasa disebut aberasi. Mutasi gen dapat menyebabkan munculnya alel baru, memberikan dasar bagi pendukung evolusi munculnya variasi spesies baru. Mutasi genetik disebabkan oleh perubahan urutan nukleotida dari perubahan genotipe. Zat yang menyebabkan mutasi disebut mutagen. Di sisi lain, individu yang sifatnya (fenotipe) telah diubah oleh mutasi disebut mutan. Mutan umum dibandingkan dengan individu yang tidak mengalami perubahan sifat (*individu tipe cepat* atau "*wild type*") (Suzuki *et al.*, 2004).

Distribusi global *NAT2* 15–40% populasi dunia diketahui memiliki haplotipe *NAT2*6A* sebagai asetilator lambat, dan sekitar 50–60% populasi Kaukasia

merupakan asetilator lambat. Selanjutnya, 50% populasi Asia Timur, termasuk Jepang, Korea Selatan dan Cina, ditemukan sebagai asetilator cepat dengan haplotipe *NAT2*4*. Haplotipe ini jarang terjadi pada populasi Eropa. Penyelidikan lebih lanjut dari populasi Asia Tenggara mengungkapkan bahwa sebagian besar orang Thailand adalah asetilator cepat, sedangkan penduduk Indonesia bagian barat (khususnya Sunda, Jawa, dan Betawi) adalah asetilator yang lambat daripada asetilator cepat (Zabost *et al.*, 2013).

Tipe Polimorfisme *NAT2*

Tipe polimorfisme *NAT2* pada metabolisme obat yang berbeda dapat menyebabkan respon farmakologi pada setiap obat pada setiap individu yang berbeda. Gen *NAT2* merupakan salah satu farmakogenetika yang di kenal paling awal sebagai lanjutan metabolisme obat isoniazid, sulfamethazine (sulfadimidine), sulfonamida (sulfamethazine), kanker, Diabetes Mellitus dan terdapat 3 jenis asetilator yaitu asetilator cepat, sedang dan lambat.

Tabel 6. Tipe polimorfisme *NAT2*

	Tipe		Jumlah	Frekuensi (%)
Asetilator Sedang	<i>NAT2*4/*5B</i>	<i>KpnI</i>	6	20%
	<i>NAT2*4/*6A</i>	<i>TaqI</i>	10	33,3%
	<i>NAT2*4/*7B</i>	<i>BamHI</i>	6	20%
	Subtotal		22	73,3
Asetilator Lambat	<i>NAT2*5B/*5B</i>	<i>KpnI</i>	4	13,3%
	<i>NAT2*7B/*7B</i>	<i>BamHI</i>	4	13,3%
	Subtotal		8	26,3
	Total		30	100

Genotipe *NAT2* diklasifikasikan menjadi 3 fenotipe yaitu asetilator cepat, asetilator sedang dan asetilator lambat. Tidak ditemukan subyek dengan asetilator cepat dikarenakan keterbatasan sampel dalam penelitian ini. Asetilator lambat diduga lebih rentan terhadap reaksi merugikan terhadap beberapa obat dan lebih rentan terhadap penyakit tertentu. Penelitian terdahulu dari populasi Jepang terhadap kanker lambung yaitu genotipe asetilator lambat *NAT2* memberikan peningkatan risiko kanker urothelial. Fenotipe yang diprediksi diklasifikasikan sebagai "cepat" (kombinasi homozigot dari gen tipe *NAT2*4*), "perantara" (kombinasi heterozigot dari gen tipe liar dan gen bermutasi (*NAT2*7A*, *NAT2*7B*, *NAT2*6A*, *NAT2*6B*, *NAT2*5A*, dan *NAT2*5B*), dan asetilator "lambat" (kombinasi homozigot atau heterozigot dari gen bermutasi) (Kinzig-Schippers *et al.*, 2005).

Gen *NAT2* dipengaruhi oleh polimorfisme genetik. Perbedaan fenotip gen *NAT2* yaitu kemampuan asetilasi dari masing-masing individu dalam populasi manusia adalah hasil polimorfisme gen *NAT2*. Polimorfisme genetik *NAT2* mempengaruhi aktivitas enzimatis *NAT2* yang membedakan manusia kepada tiga kelompok asetilator : cepat, sedang dan lambat. Individu dengan asetilator lambat memiliki rata-rata waktu eliminasi INH selama 3,14 jam dibanding 1,59 jam pada asetilator cepat. Polimorfisme *NAT2* membagikan fenotip asetilator cepat, sedang, lambat dengan variasi ras etnik yang sangat luas. Sebagai contoh asetilasi cepat terdapat pada orang Jepang, asetilasi lambat pada orang Kaukasian dan orang yang berkulit putih di Afrika Utara (Wattanapokaykit S *et al.*, 2016).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan metabolisme INH antara asetilator asetilasi lambat, sedang dan cepat menentukan konsentrasi obat dan metabolitnya. Oleh karena itu, bioavailabilitas obat antara asetilator cepat dan asetilator sedang jauh lebih rendah daripada asetilasitilator lambat, dan kisaran terapi anti-tuberkulosis INH hanya dapat dipertahankan untuk waktu yang singkat. Gejala yang berhubungan dengan akumulasi dan efek toksik obat lebih sering terjadi pada asetilator lambat. Oleh karena itu, asetilator lambat harus dipantau untuk menghindari efek samping (Wattanapokaykit S *et al.*, 2016).

Variabilitas dalam farmakokinetik INH pada pasien tuberkulosis mengikuti dosis standar, karakteristik demografis mereka, dan hubungannya dengan varian genetik di *NAT2*. Selain itu, menunjukkan bahwa total paparan INH secara tidak langsung sebanding dengan jumlah alel *NAT2* yang sangat aktif, yang konsisten dengan hasil uji klinis baru-baru ini. Genotipe pembawa *NAT2**4/*4 (dua alel *NAT2* yang sangat aktif) telah dilaporkan menunjukkan konsentrasi INH yang lebih rendah 3 jam pasca-dosis dibandingkan dengan genotipe *NAT2* lainnya (Leiro Fernandez *et al.*, 2011).

Mutasi pada gen *NAT2* telah terbukti menjelaskan sebagian besar fenotipe asetilasi lambat pada manusia (*NAT2**5, *NAT2**6 dan *NAT2**7). Studi sebelumnya tentang karakterisasi fungsional *NAT2* SNP menunjukkan bahwa mekanisme molekuler yang berbeda mendasari perubahan fenotipe asetilasi lambat dan aktivitas enzimatis *NAT2* antara alel yang berbeda. Pasien dengan *NAT2** genotipe 4/4 (dua alel *NAT2* yang sangat aktif) telah dilaporkan menunjukkan konsentrasi INH yang lebih rendah dibandingkan dengan genotipe *NAT2* lainnya. Pada 3 dan 6 jam pasca-dosis, konsentrasi INH dari asetilator lambat adalah 2 sampai 7 kali lebih tinggi dari asetilator cepat (Leiro Fernandez *et al.*, 2011).

Meski populasi asetilator lambat di kawasan Asia Tenggara lebih tinggi daripada Asia Timur, namun resiko kejadian hepatotoksik pada asetilator lambat di Indonesia dan Thailand lebih rendah daripada populasi di China (Chelouti H *et al.*, 2017), (Chamorro J.G. *et al.* 2017) ,(Santos *et al.*, 2013). Meski begitu, populasi asetilator lambat di Indonesia 3 kali lebih besar daripada seluruh populasi di negara yang diteliti (Suhuyanly, N *et al.*, 2017),(Perwitasari *et al.*, 2014). Berdasarkan frekuensi kejadian hepatotoksik, *NAT2* asetilator lambat di Indonesia berkisar 48,9-73,9% (Chelouti H *et al.*, 2017), (Chamorro J.G. *et al.* 2017),(Pramono A *et al.*, 2017). Jumlah kejadian pada rentang tersebut juga terjadi pada populasi di Aljazair (53%) (Khalili, H *et al.*, 2019), Argentina (53,6%) (Guaoua, S *et al.*, 2014)), Iran (63,4%) (Pasipanodya, J. G *et al.*, 2012), Maroko (70%) (Ahmad R *et al.*, nd) . Penelitian terdahulu dari (Susilowati,R.W *et al.*, 2017) dari suku melayu sumatera Selatan mendapatkan tipe asetilator trimodal yaitu 10% asetilator cepat, 52% asetilator intermediet, dan 38% asetilator lambat.

Asetilator lambat dibanding dengan asetilator cepat dikaitkan dengan peningkatan asetilasi kapasitas enzim *NAT2*, sehingga menurunkan obat tingkat dan menunjukkan kemanjuran obat yang buruk di beberapa laporan. Hal ini menyebabkan kemungkinan bakteriologis lebih lambat tingkat konversi, mengakibatkan kegagalan pengobatan, lebih tinggi risiko kekambuhan dan resistensi obat (Zabost *et al.*, 2013). Asetilator lambat memungkinkan lebih banyak obat untuk terakumulasi dan mengungkapkan efek toksik dari molekul obat yang tidak termetabolisme dengan lebih jelas. Asetilator yang lebih cepat harus diberikan dalam dosis yang lebih tinggi dan lebih sering untuk mempertahankan obat terapeutik yang efektif dan adekuat (Ahmad *et al.*, nd).

KESIMPULAN

1. Terdapat polimorfisme gen *NAT2* pada subyek sehat suku Batak yaitu *NAT2*4/*5B*, *NAT2*4/*6A*, *NAT2*4/*7B*, *NAT2*5B/*5B* dan *NAT2*7B/*7B*.
2. Tipe polimorfisme gen *NAT2* pada subyek sehat suku Batak yaitu asetilator sedang sebanyak 22 sampel dan didapatkan tiga alel yaitu *NAT2*4/*5B* sebanyak 20%, *NAT2*4/*6A* sebanyak 33,3% dan pada *NAT2*4/*7B* sebanyak 20%, asetilator lambat sebanyak 8 sampel dan didapat alelnya *NAT2*5B/*5B* sebanyak 13,3% dan *NAT2*7B* sebanyak 13,3%.
3. Terdapat tipe asetilator sedang dan lambat pada subyek sehat suku Batak.

SARAN

Bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penggunaan sampel yang lebih besar pada suku Batak dan dikaitkan dengan penyakit-penyakit lain serta bila dikaitkan dengan pengobatan TB dengan penanganan yang tepat dengan penyakit tersebut dan dilanjutkan dengan metode sequencing untuk mengetahui lebih jelas pada mutasi alelnya.

KEKURANGAN KAJIAN

Di penelitian saya kali ini kekurangan ada dalam jumlah sampel. Untuk itu bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penggunaan sampel yang lebih besar pada suku Batak.

PERNYATAAN

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada kedua orang tua saya, kepada kedua pembimbing saya Bapak Dr. apt. Jason Merari P., M.M., M.Si dan Ibu Dr. apt. Lucia Vita Inandha D., M.Sc dan partner saya Lutfi dan teman2 saya yang saya kasihi serta almamater saya yang saya banggakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Susilowati, R. W., Prayuni, K., Razari, I., Bahri, S., & Yuliwulandari, R. (2017). High frequency of *NAT2* slow acetylator alleles in the Malay population of Indonesia: An awareness to the anti-tuberculosis drug induced liver injury and cancer. *Medical Journal of Indonesia*, 26(1), 7–13. <https://doi.org/10.13181/mji.v26i1.1563>
- Wahyudi, A. D., & Soedarsono, S. (2019). Farmakogenomik Hepatotoksisitas Obat Anti Tuberkulosis. *Jurnal Respirasi*, 1(3), 103. <https://doi.org/10.20473/jr.v1-i.3.2015.103-108>
- Fernandes, M. R., De Carvalho, D. C., Dos Santos, A. K. C. R., Dos Santos, S. E. B., De Assumpção, P. P., Burbano, R. M. R., & Dos Santos, N. P. C. (2013). Association of slow acetylation profile of *NAT2* with breast and gastric cancer risk in Brazil. *Anticancer Research*, 33(9), 3683–3690.
- Katzung, Betram G., M. Susan B., T. A. J. (2013). *Farmakologi Dasar & Klinik Edisi 12 Volume 1. EGC, Jakarta, Indonesia*, hal: 57-58.

Rio Rahardjo. (2008). *Kumpulan Kuliah Farmakologi. Ed 2. EGC. Jakarta. Hal: 306.*
<https://books.google.co.id/books?id>

Yuliwulandari, R., Sachrowardi, Q., Nishida, N., Takasu, M., Batubara, L., Susmiarsih, T. P., Rochani, J. T., Wikaningrum, R., Miyashita, R., Miyagawa, T., Sofro, A. S. M., & Tokunaga, K. (2008). Polymorphisms of promoter and coding regions of the arylamine N-acetyltransferase 2 (NAT2) gene in the Indonesian population: Proposal for a new nomenclature. *Journal of Human Genetics*, 53(3), 201–209.
<https://doi.org/10.1007/s10038-007-0237-z>

Warmadewi, D. A. (2017). Buku Ajar Mutasi Genetik. *Mutasi Genetik*, 15–16(Mutasi), 1–53.

Pramono, A. A., Penggoam, S., Sahiratmadja, E., Utami, N. V., Achmad, T. H., & Panigoro, R. (2017). Status Asetilator Gen NAT2 pada Pasien Tuberkulosis dan Tuberkulosis dengan Diabetes Melitus di Kupang, Nusa Tenggara Timur. *Majalah Kedokteran Bandung*, 49(1), 61–66. <https://doi.org/10.15395/mkb.v49n1.989>

Suzuki, S., Muroishi, Y., Nakanishi, I., & Oda, Y. (2004). Relationship between genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes (CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, and NAT2), drinking habits, histological subtypes, and p53 gene point mutations in Japanese patients with gastric cancer. *Journal of Gastroenterology*, 39(3), 220–230.
<https://doi.org/10.1007/s00535-003-1281-x>

Zabost, A., Brzezińska, S., Kozińska, M., Błachnio, M., Jagodziński, J., Zwolska, Z., & Augustynowicz-Kopeć, E. (2013). Correlation of N-acetyltransferase 2 genotype with isoniazid acetylation in polish tuberculosis patients. *BioMed Research International*, 2013(Figure 1), 5–10. <https://doi.org/10.1155/2013/853602>

Kinzig-Schippers, M., Tomalik-Scharte, D., Jetter, A., Scheidel, B., Jakob, V., Rodamer, M., Cascorbi, I., Doroshyenko, O., Sörgel, F., & Fuhr, U. (2005). Should we use N-acetyltransferase type 2 genotyping to personalize isoniazid doses? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(5), 1733–1738.
<https://doi.org/10.1128/AAC.49.5.1733-1738.2005>

Wattanapokayakit, S., Mushiroda, T., Yanai, H., Wichukchinda, N., Chuchottawon, C., Nedsuwan, S., Rojanawiwat, A., Denjanta, S., Kantima, T., Wongyai, J., Suwankesawong, W., Rungapiromnan, W., Kidkeukarun, R., Bamrungram, W., Chaiwong, A., Suvichapanich, S., Mahasirimongkol, S., & Tokunaga, K. (2016). NAT2 slow acetylator associated with anti-tuberculosis drug-induced liver injury in Thai patients. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 20(10), 1364–1369.
<https://doi.org/10.5588/ijtld.15.0310>

Leiro-Fernandez, V., Valverde, D., Vázquez-Gallardo, R., Botana-Rial, M., Constenla, L., Agúndez, J. A., & Fernández-Villar, A. (2011). N-acetyltransferase 2 polymorphisms and risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Caucasians. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 15(10), 1403–1408.
<https://doi.org/10.5588/ijtld.10.0648>

Santos, N. P. C., Callegari-Jacques, S. M., Dos Santos, A. K. C. R., Silva, C. A., Vallinoto,

A. C. R., Fernandes, D. C. R. O., De Carvalho, D. C., Santos, S. E. B., & Hutz, M. H. (2013). N-acetyl transferase 2 and cytochrome P450 2E1 genes and isoniazid-induced hepatotoxicity in Brazilian patients. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 17(4), 499–504. <https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0645>

Suhuyanly, N., Bakri, S., Yusuf, I., & Nasrum, M. (2017). N-Acetyl Transferase (NAT) 2 Polymorphisms and Susceptibility to Antituberculosis Drug-induced Hepatotoxicity in Indonesia. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)*, 33(1), 313–322.

Perwitasari, D. A., Atthobari, J., & Wilffert, B. (2014). *Farmakogenetik hepatotoksitas yang diinduksi isoniazid*. 2532, 1–7.

Chelouti, H., & Khelil, M. (2017). Arylamine N-acetyltransferase 2 gene polymorphism in an Algerian population. *Annals of Human Biology*, 44(6), 531–536. <https://doi.org/10.1080/03014460.2017.1311373>

Chamorro, J. G., Castagnino, J. P., Aidar, O., Musella, R. M., Frías, A., Visca, M., Nogueras, M., Costa, L., Perez, A., Caradonna, F., & De Larrañaga, G. F. (2017). Effect of gene-gene and gene-environment interactions associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity. *Pharmacogenetics and Genomics*, 27(10), 363–371. <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000300>

Khalili, H., Fouladdel, S., Sistanizad, M., Hajiabdolbaghi, M., & Azizi, E. (2011). Association of N-Acetyltransferase-2 Genotypes and Anti-Tuberculosis Induced Liver Injury: First Case-Controlled Study from Iran. *Current Drug Safety*, 6(1), 17–22. <https://doi.org/10.2174/157488611794479946>

Guaoua, S., Ratbi, I., Laarabi, F. Z., Elalaoui, S. C., Jaouad, I. C., Barkat, A., & Sefiani, A. (2014). Distribution of allelic and genotypic frequencies of NAT2 and CYP2E1 variants in Moroccan population. *BMC Genetics*, 15(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12863-014-0156-x>

Pasipanodya, J. G., Srivastava, S., & Gumbo, T. (2012). Meta-analysis of clinical studies supports the pharmacokinetic variability hypothesis for acquired drug resistance and failure of antituberculosis therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 55(2), 169–177. <https://doi.org/10.1093/cid/cis353>

Ahmad, R., Musyawir, R., Raja, B., & Malek, A. (n.d.). *Polimorfisme N-Asetiltransferase Tipe 2 (NAT2) terhadap Kecepatan Asetilasi dan Toksisitas Isoniazid (Isonicotinic Acid Hydrazide , INH)*. 2(Gambar 1), 1–12.

Mathieu, D., Marroni, A., & Kot, J. (2017). Tenth European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine: recommendations for accepted and non-accepted clinical indications

and practice of hyperbaric oxygen treatment. *Diving and hyperbaric medicine*, 47(1), 24–32. doi:10.28920/dhm47.1.24-32.

Mortensen, C. R. (2008). Hyperbaric oxygen therapy. *Current Anaesthesia & Critical Care*, 19(5-6), 333–337.

SUPLEMEN

Volumen 15, Suplemen, 2023

<https://myjurnal.poltekkes-kdi.ac.id/index.php/hijp>

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84. *functional imaging*, 23(5), 237-246.

Zhou, Q., Huang, G., Yu, X., & Xu, W.

(2018). A Novel Approach to Estimate ROS Origination by Hyperbaric Oxygen Exposure, Targeted Probes and Specific Inhibitors. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 47(5), 1800-1808. doi:10.1159/000491061.