

**DISTRIBUSI DAN FREKUENSI POLIMORFISME  
C677T GEN *MTHFR* PADA PENDERITA GANGGUAN  
SPEKTRUM AUTIS NON SINDROMIK DI JAWA**

*DISTRIBUTION AND FREQUENCY OF MTHFR GENE C677T  
POLYMORPHISM FROM  
NON SYNDROMIC AUTISM SPECTRUM DISORDERS PATIENTS  
IN JAVA*



**TESIS**

**untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2**

**Magister Ilmu Biomedik**

**Bremmy Laksono**

**G4A009011**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2013**

**TESIS**

**DISTRIBUSI DAN FREKUENSI POLIMORFISME C677T GEN *MTHFR*  
PADA PENDERITA GANGGUAN SPEKTRUM AUTIS NON SINDROMIK  
DI JAWA**

**Bremmy Laksono**

**G4A009011**

**Menyetujui Pembimbing :**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Prof. dr. Sultana MH Faradz, PhD  
NIP 19520202 197901 2 001**

**Dr. dr. Syarief Taufik, SpOG-KFER  
NIP 19641014 199011 1 002**

**Mengetahui  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro**

**Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, Mkes.  
NIP 19590527 198603 2 001**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa thesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Januari 2013

Bremmy Laksono.

## KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur kehadirat Allah SWT, karena atas ridho dan barokahNya tesis yang berjudul “Distribusi dan Frekuensi Polimorfisme C677T Gen *MTHFR* Pada Penderita Gangguan Spektrum Autis Non Sindromik di Jawa” telah dapat diselesaikan. Tesis ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat sarjana S-2 Program Magister Ilmu Biomedik Konsentrasi Konseling Genetika pada Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Terima kasih kepada Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, Mkes selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Terima kasih dan rasa hormat saya sampaikan kepada Prof. dr. Sultana MH Faradz, PhD selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Konsentrasi Konseling Genetika, dan sebagai Pembimbing Utama yang telah mendidik, membimbing dan memberi semangat serta perhatiannya tidak hanya bagi penulisan tesis ini tetapi selama penulis belajar di Universitas Diponegoro.

Terima kasih saya sampaikan kepada Prof George Yeo sebagai guru dan pembimbing saya di Fetomaternal Department KK Hospital, Singapura beserta dr Shephali, dr Lim May Li, dr Vassa. Terima kasih untuk guru saya di Paediatric Department KK Hospital, Singapura, dr Angie dan Ms Breanna.

Dr. dr. Syarief Taufik, SpOG-KFER sebagai pembimbing kedua yang telah berkenan memberikan bimbingan dan arahan dalam pembuatan tesis dari awal hingga akhir penulisan tesis ini. Terima kasih dan hormat untuk guru saya dr. Tri Indah Winarni, M.Si.Med, yang telah membimbing dan mendidik dari awal program S-2 serta bantuan dan dukungannya terhadap penelitian dan penulisan tesis.

Dr. dr. Andrew Johan, M.Si selaku tim penguji yang telah banyak memberikan masukan, arahan dan saran mulai dari awal penyusunan proposal hingga penulisan tesis ini. Dr Ani Melani Maskoen, drg., Mkes, yang telah memberikan dukungan dan bantuannya terhadap penelitian.

Terimakasih kepada Dirjen Dikti Kemendikbud yang telah membantu pendanaan pendidikan S2 saya ini melalui beasiswa BPPS. Bapak Abe Susanto yang telah banyak membantu dalam pendanaan pendidikan saya selama di Singapura,

dengan beasiswa unggulan dari Biro Perencanaan dan Kerjasama Luar Negeri Kemendikbud.

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran Prof. Dr. H. Eky S. Soeria Soemantri, drg., Sp.Ort.(K) serta Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Prof. Dr. med. Tri Hanggono Achmad, dr., yang telah memberikan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan.

Libby Virdhitya Suseno istri tercinta dan Saarah Alyssa Maharani ananda tersayang serta orang tua, kakak-kakakku tercinta yang telah dengan setia dan sabar memberikan doa, motivasi dan semangat.

Lusi Suwarsi, Wiwik Lestari, AMD., Rita Indriati, SKM., Dwi Kustiani, Evi Nurwulan, ST., Ardina Aprilani, S.Sos., dan Intus Apriasa, AMD yang telah banyak membantu dalam penelitian di laboratorium CEBIOR dan selama program S-2.

Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan penelitian dan tesis ini.

Semoga penelitian ini bermanfaat dan semoga Allah SWT menjadikan semua usaha dan karya ini sebagai amal kebaikan bagi kita kita semua, Amin.

Semarang, Januari 2014

Bremmy Laksono



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Tingkat penurunan aktifitas enzim MTHFR berdasarkan polimorfismenya.....	3
<b>Gambar 2.</b> Siklus Folat.....	11
<b>Gambar 3.</b> Mekanisme terjadinya disfungsi endotel.....	12
<b>Gambar 4.</b> Hubungan antara <i>homocystein</i> dan ADMA.....	13
<b>Gambar 5.</b> Metabolisme <i>Homocystein</i> .....	13
<b>Gambar 6.</b> Transpor folat dalam cairan <i>cerebrospinal</i> .....	14
<b>Gambar 7.</b> Formasi neural crest pada proses neurulasi.....	15
<b>Gambar 8.</b> Hasil PCR-RFLP sampel penderita gangguan spektrum autis non sindromik .....	30
<b>Gambar 9.</b> Hasil PCR-RFLP sampel kontrol normal .....	31

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.1</b> Keaslian Penelitian.....	5
<b>Tabel 2.1</b> Daftar semua varian <i>MTHFR</i> yang telah dilaporkan.....	16
<b>Tabel 5.1</b> Karakteristik Sampel.....	28
<b>Tabel 5.2</b> Distribusi polimorfisme C677T gen <i>MTHFR</i> .....	29
<b>Tabel 5.3</b> Analisis polimorfisme C677T gen <i>MTHFR</i> .....	29
<b>Tabel 5.4</b> Analisis Alel C dan T 677 gen <i>MTHFR</i> .....	30



## DAFTAR SINGKATAN

1. *ADD* = *Attention Deficit Disorder*
2. *ADHD* = *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*
3. *cDNA* = *Complementary DNA*
4. *DNA* = *Deoxyribonucleic Acid*
5. *DSM* = *The diagnostic and statistical manual of mental disorder*
6. *dNTP* = *Deoxyribonucleotide triphosphate*
7. *EEG* = *Electroencephalogram*
8. *HCl* = *Hidrogen Chlorida*
9. *ICD* = *Internasional Classification of Diseases*
10. *KCl* = *Kalium Chlorida*
11. *MRI* = *Magnetic Resonance Imaging*
12. *MTHF* = *Methyltetrahydrofolate*
13. *MTHFR* = *Methylenetetrahydrofolate Reductase*
14. *PCR* = *Polymerase Chain Reaction*
15. *RFLP* = *Restriction Fragment Length Polymorphism*
16. *SAM* = *S-adenosyl-methionine*
17. *SAH* = *S-adenosylhomocysteine*
18. *TBE* = *Tris/Borate/EDTA*

## ABSTRACT

### **DISTRIBUTION AND FREQUENCY OF MTHFR GENE C677T POLYMORPHISM FROM NON SYNDROMIC AUTISM SPECTRUM DISORDERS PATIENTS IN JAVA**

**Backgrounds:** *The folate metabolism as one of the suspected pathway from non-syndromic autism spectrum disorders. Methylenetetrahydrofolate reductase enzyme has the key role in folate metabolism. MTHFR gene has two polymorphism that could reduce the effectiveness of the enzyme, one of them is C677T polymorphism.*

**Objectives:** *The aim of this research was to observe the distribution and frequency of MTHFR gene C677T polymorphism from non-syndromic autism spectrum disorder patients in Java.*

**Method:** *Thirty four DNA samples were taken from each group. PCR mixture was consisting of 1 $\mu$ L DNA, 2.5 $\mu$ L PCR buffer, 0.5 $\mu$ L dNTP, 1.5 $\mu$ L MgCl<sub>2</sub>, 0.125 $\mu$ L Taq enzyme, 0.5 $\mu$ L of forward and reverse primer and aquabidest to reach 25 $\mu$ L volume. The cycles profile were initiation 95°C 3min, denaturation 94°C 1min, annealing 61°C 1min, elongation 72°C 1min. Cycles were done in 35 times and final elongation 72°C 7min. The PCR product was 198bp, and then digested by the Hinfl enzyme 16 hours at 37 °C, loaded in 2% agarose gel and then electrophoresed 90 minutes.*

**Result:** *Non-syndromic autism spectrum disorders samples showed no 677TT polymorphism (175 and 23bp), 3 samples (8.8%) 677CT polymorphism (198, 175 and 23bp) and 31 samples (91.2%) were wild type 677CC (198bp). Meanwhile, normal population showed the 677 TT polymorphism 1 sample (2.9%), 9 samples 677CT polymorphism (26.5%) and 24 samples of wild type 677CC (70.6%).*

**Conclusion:** *TT genotype was not in non-syndromic autism spectrum disorders samples. The frequency of MTHFR C677T gene polymorphism from patients with non-syndromic autism spectrum disorders and controls were not significantly different.*

**Keywords:** *Non-syndromic autism spectrum disorder, Polymorphism, MTHFR C677T.*

## ABSTRAK

### DISTRIBUSI DAN FREKUENSI POLIMORFISME C677T GEN *MTHFR* PADA PENDERITA GANGGUAN SPEKTRUM AUTIS NON SINDROMIK DI JAWA

**Latar Belakang:** Metabolisme folat salah satu mekanisme yang berpengaruh terhadap terjadinya gangguan spektrum autisme non sindromik. Enzim metylenetetrahydrofolate reductase memiliki peran kunci pada metabolisme folat. Gen *MTHFR* memiliki dua polimorfisme yang bisa mengurangi efektivitas enzim, salah satunya adalah polimorfisme C677T.

**Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui distribusi dan frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* pada penderita gangguan spektrum autisme non sindromik di Jawa.

**Metode:** Tiga puluh empat sampel DNA diambil dari tiap kelompok. Campuran PCR terdiri dari: 1µL DNA, 2,5µL PCR *buffer*, 0,5µL dNTP, 1,5µL MgCl<sub>2</sub>, 0,125µL enzim *Taq* serta 0,5µL dari primer *forward* dan *reverse* ditambahkan *aquabidest* hingga volumenya 25µL. Profil siklus : inisiasi 95°C 5menit, denaturasi 94°C 1menit, *annealing* 55°C 45detik, *elongasi* 72°C 30detik. Siklus dilakukan 35 kali dan *elongasi* akhir 72°C 5menit. Produk PCR sebesar 198pb, kemudian dicerna oleh enzim *Hinfl* selama 16 jam pada suhu 37°C, ditanam pada gel *agarose* 2%, selanjutnya dielektroforesis 30 menit pada 100volt.

**Hasil:** Kelompok gangguan spektrum autisme non sindromik tidak terdapat polimorfisme 677TT (175 dan 23pb), 3 sampel (8,8%) polimorfisme 677CT (198, 175 dan 23pb) serta 31 sampel (91,2%) *wild type* 677CC (198 pb). Kontrol normal terdapat 1 sampel polimorfisme 677TT (2,9%), 9 sampel polimorfisme 677CT (26,5%) dan 24 sampel *wild type* 677CC (70,6%).

**Kesimpulan:** Tidak ditemukan genotip TT pada sampel penderita gangguan spektrum autisme non sindromik. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada frekuensi polimorfisme C677T gen *MTHFR* antara penderita gangguan spektrum autisme non sindromik dan kontrol normal.

**Kata kunci:** Gangguan Spektrum Autisme non Sindromik, Polimorfisme, *MTHFR* C677T.

## **DAFTAR RIWAYAT HIDUP**

Bremmy Laksono, lahir di Pontianak pada tanggal 19 Februari 1976. Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan pada tahun 1988 di SD Angkasa II Bandung, Sekolah Menengah Pertama diselesaikan pada tahun 1991 di SMPN 9 Bandung dan pada tahun 1994 menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 2 Bandung. Pada tahun 1999 menyelesaikan program sarjana dan pada tahun 2003 menyelesaikan program profesi, keduanya di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran Bandung.

Tahun 2010 mulai mengikuti program S2 Konseling Genetik di Universitas Diponegoro, pada tahun 2011 mengikuti program belajar di KK Hospital, Singapura sebagai bagian dari program S2 di Konseling Genetik Universitas Diponegoro.

Riwayat pekerjaan, mulai maret 2003 berdinasi di Komando Pasukan Khusus TNI-AD hingga maret 2006. Maret 2006 menjadi PNS di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran. Sejak bulan april 2007 penulis ditempatkan di Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.