

**IDENTIFIKASI VARIASI GEN *FTO* rs9939609
SEBAGAI FAKTOR RISIKO OBESITAS DI
POPULASI BALI**

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



**RIA HASNITA
3425136431**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2017**

PERSETUJUAN PANITIA UJIAN SKRIPSI

IDENTIFIKASI VARIASI GEN *FTO* rs9939609 SEBAGAI FAKTOR
RISIKO OBESITAS DI POPULASI BALI

Nama : Ria Hasnita

No. Reg : 3425136431

Nama

Tanda Tanggal

Tangan

Penanggung Jawab
Dekan

: Prof. Dr. Suyono, M.Si.
NIP. 19671218 199303 1 005



Wakil Penanggung Jawab
Wakil Dekan I

: Dr. Muktiningsih, M.Si.
NIP. 19640511 198903 2 001

Ketua

: Dr. Yulia Iridayanti, M.Si.
NIP. 19650723 200112 2 001

Yulia Iridayanti 23/8 - 2017

Sekretaris / Penguji I

: Dr. Rusdi, M.Biomed
NIP. 19650917 199203 1 001

Rusdi 23/8/2017

Anggota
Pembimbing I

: Dr. Rini Puspitaningrum, M.Biomed
NIP. 19681004 200112 2 001

Rini Puspitaningrum 23/8/2017

Pembimbing II

: drh. Safarina G. Malik, MS, Ph.D

Safarina G. Malik 23/8/2017

Penguji II

: drh. Atin Supiyani, M.Si
NIP. 19780914 200604 2 001

Atin Supiyani 23/8/2017

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 16 Agustus 2017

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul **“Identifikasi variasi gen *FTO* rs9939609 sebagai faktor risiko obesitas di populasi Bali”** yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh dari penulis lain yang telah dipublikasikan dan disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam Daftar Pustaka sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Jika dikemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, Juli 2017



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh,

Segala Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Identifikasi Variasi Gen *FTO* rs9939609 sebagai Faktor Risiko Obesitas di Populasi Bali”**. Tujuan pembuatan skripsi ini adalah untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Penulis banyak mendapat bimbingan, dukungan dan bantuan baik moril maupun materil serta motivasi dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan penghargaan dan rasa terima kasih kepada Ibu Dr. Rini Puspitaningrum, M.Biomed (Universitas Negeri Jakarta) dan Ibu drh. Safarina G. Malik, MS, Ph.D (Lembaga Biologi Molekuler Eijkman) selaku dosen pembimbing yang telah berkenan meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, masukan, saran serta motivasi dalam penyusunan skripsi ini dengan baik. Ibu Sukma Oktavianthi, M.Biomed dan Kak Lidwina Priliani, M.Si yang telah banyak membantu penulis baik saat pengambilan data maupun penyusunan skripsi ini. Bapak Dr. Rusdi, M.Biomed dan Ibu drh. Atin Supiyani, M.Si selaku dosen penguji serta Ibu Dr. Yulia Irnidayanti M.Si selaku ketua sidang yang telah meluangkan waktu serta memberikan saran demi perbaikan skripsi ini.

Ibu Dr. Reni Indrayanti, M.Si sebagai Ketua Program Studi, Bapak Prof. Dr. Suyono, M.Si sebagai Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta. Ibu Dr. Elsa Lisanti, S.Pt, M.Si sebagai Pembimbing Akademik, Bapak dan Ibu dosen, beserta seluruh staf Program Studi Biologi, terkhusus Bu Eni yang telah membantu administrasi dan surat-menyurat.

Bapak Prof. Amin Soebandrio, dr. Ph.D, Sp.MK sebagai Direktur LBM Eijkman dan Ibu Prof. dr. Herawati Sudoyo, MS, Ph.D sebagai Wakil Bidang Penelitian Fundamental. Seluruh staf LBM Eijkman lainnya (khususnya staf Laboratorium Keanekaragaman Genom dan Penyakit): Bu Tari, Kak Asha, Kak

Ibel, Kak Sinta, Kak Berta, dan Kak Jessica atas semangat, motivasi, ilmu, pengetahuan serta bantuan yang telah diberikan kepada penulis.

Mama Nur Baini, Ayah Hasan, Kakak dan Adik penulis yang telah memberikan kasih sayang, nasehat serta dukungan secara moril maupun materil yang diberikan kepada penulis. Terkhusus Suami, Muhammad Rayhan yang telah banyak memberikan dukungan, kasih sayang, motivasi, doa, nasihat kepada penulis selama penelitian dan penulisan skripsi ini.

Teman-teman mahasiswa di LBM Eijkman, Widi (University of Brighton), Luke (University of Exeter), Artricia (University of Cambridge), Onk (Universitas Teknologi Sumbawa), Rut (Universitas Kristen Satya Wacana), Feby, Faris (Institut Teknologi Bandung), Lois, Pebe (Surya University) atas semangat dan keceriaan yang diberikan kepada penulis.

Gilang Silmaulidia, Safila S. Maulida, Marsha Hanin, Septiani Mapikasari, Nadia Fitria, Faradilla Nurmayanti, Dea Hillary, Abdul Karim, Muhammad Fadli yang telah memberikan kasih sayang, doa, dan semangat bagi penulis, beserta teman-teman lainnya yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Teman-teman, adik-adik dan kakak-kakak dari Scholars Bazma Pertamina yang telah memberikan kasih sayang, nasihat, semangat dan doa. Teman-teman biologi terkhusus angkatan 2013 yang telah memberikan kasih sayang, nasihat, semangat dan doa serta dukungan secara moril. Pihak-pihak yang berkontribusi langsung maupun tidak langsung, yang memberikan doa.

Penulis menyadari skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran agar penulis dapat memperbaiki dan menyempurnakan kekurangan-kekurangan yang terjadi pada kemudian hari.

Jakarta, Agustus 2017

Ria Hasnita

ABSTRAK

RIA HASNITA. Identifikasi Variasi Gen *FTO* rs9939609 sebagai Faktor Risiko Obesitas pada Populasi Bali. Dibawah Bimbingan RINI PUSPITANINGRUM, SAFARINA G. MALIK.

Obesitas telah mencapai proporsi epidemik secara global. Peningkatan prevalensi obesitas dihubungkan dengan perubahan gaya hidup. Populasi Bali telah terpapar perubahan gaya hidup selama tiga dekade terakhir karena perkembangan pariwisata, menyebabkan tingginya prevalensi obesitas. Polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) gen *fat mass and obesity associated (FTO)* rs9939609 dilaporkan memiliki asosiasi dengan obesitas pada banyak populasi, meskipun memiliki prevalensi yang berbeda-beda. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan asosiasi varian rs9939609 dengan obesitas pada populasi Bali. Studi dilakukan pada 574 spesimen tersimpan berasal dari empat desa (Legian, Penglipuran, Nusa Ceningan, dan Pedawa). Klasifikasi obesitas berdasarkan indeks massa tubuh (IMT) dan obesitas sentral berdasarkan lingkar pinggang (LP) mengikuti klasifikasi WHO untuk orang Asia: $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$ baik pada pria dan wanita, $LP \geq 90 \text{ cm}$ untuk pria dan $LP \geq 80 \text{ cm}$ untuk wanita. Genotipe rs9939609 ditentukan menggunakan sistem amplifikasi mutasi refrakter (ARMS). Analisis asosiasi varian rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral dilakukan dengan uji regresi logistik ordinal dengan penyesuaian usia dan jenis kelamin. Frekuensi alel minor varian rs9939609 sebesar 0.43, dan distribusi genotipe tidak menyimpang dari kesetimbangan Hardy-Weinberg ($p = 0.396$). Varian rs9939609 berasosiasi dengan obesitas pada model dominan (koefisien = 0.44, $p = 0.040$). Tidak terdapat asosiasi antara varian rs9939609 dengan obesitas sentral. Variasi gen *FTO* rs9939609 berasosiasi dengan obesitas pada populasi Bali.

Kata Kunci: ARMS PCR, IMT, Lingkar pinggang, *Rural, Urban*.

ABSTRACT

RIA HASNITA. Identification of *FTO* gene rs9939609 Variation as obesity factors in Balinese Population. Under Supervised by RINI PUSPITANINGRUM, SAFARINA G. MALIK.

Obesity has reached epidemic proportions globally. Increased prevalence of obesity has been linked to changes in lifestyle. The Balinese has been exposed to lifestyle changes for the last three decades due to tourism development, resulting in high prevalence of obesity. The rs9939609 single nucleotide polymorphism (SNP) of the *fat mass and obesity associated (FTO)* gene was reported to associate with obesity in many populations, despite having different prevalences. This study aimed to determine the association of rs9939609 polymorphism with obesity in the Balinese. 574 archived specimens collected previously from four villages (Legian, Penglipuran, Nusa Ceningan, and Pedawa) in Bali were employed. Classification for obesity based on body mass index (BMI) and central obesity based on waist circumference (WC) adhered to WHO classification for Asian: BMI ≥ 25 kg/m² for both male and female, WC ≥ 90 cm for male and WC ≥ 80 cm for female. The rs9939609 genotypes were determined using PCR amplification refractory mutation system (ARMS) technique. Association analysis of rs9939609 SNP with obesity and central obesity were performed by ordinal logistic regression test with adjustments for age and gender. The minor allele frequency of rs9939609 SNP was 0.43, and the genotype distribution did not depart from Hardy-Weinberg equilibrium ($p = 0.396$). The rs9939609 SNP was associated with obesity in dominant model (coefficient = 0.44, $p = 0.040$). There was no association of rs9939609 SNP with central obesity. The rs9939609 of the *FTO* gene is associated with obesity in the Balinese population.

Keywords: ARMS PCR, BMI, *Rural*, *Urban*, Waist Circumference.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
E. Hipotesis	3
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
A. Obesitas.....	4
B. Genetika Obesitas	8
C. <i>Gen fat mass and obesity associated (FTO)</i>	8
D. Varian Gen <i>FTO</i> rs9909609	9
E. <i>Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction (ARMS-PCR)</i>	11
F. Prevalensi Obesitas di Provinsi Bali.....	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	14
B. Metode Penelitian	14
1. Alat dan Bahan	14
2. Prosedur Penelitian	16
2a. Koleksi Sampel	16
2b. Isolasi DNA	16
2c. Kuantifikasi DNA	17

2d. Amplifikasi DNA	18
2e. Elektroforesis Gel	19
C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	19
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. HASIL	20
1. Karakteristik Subjek Penelitian	20
2. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral	20
3. Frekuensi genotipe dan alel	22
4. Asosiasi SNP <i>FTO</i> rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral	22
B. PEMBAHASAN	24
1. Karakteristik Subjek Penelitian	24
2. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral	24
3. Frekuensi genotipe dan alel	26
4. Asosiasi SNP <i>FTO</i> rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral	27
BAB V KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN	
A. KESIMPULAN	30
B. IMPLIKASI	30
C. SARAN	30
DAFTAR PUSTAKA	31
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Klasifikasi berat badan berdasarkan IMT orang dewasa Asia.....	7
2. Batas ambang lingkaran pinggang untuk kelompok etnis yang berbeda.....	8
3. Sekuens, panjang basa dan suhu primer rs9939609.....	12
4. Karakteristik Subjek Penelitian	21
5. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral pada <i>urban</i> dan <i>rural</i>	20
6. Frekuensi genotip penduduk <i>urban</i> dan <i>rural</i>	22
7. Model asosiasi <i>FTO</i> rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral	23

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Lokasi varian rs9939609 pada gen <i>FTO</i>	11
2. Prinsip ARMS PCR	12
3. Pengaturan amplifikasi DNA dengan teknik PCR.....	18

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat Persetujuan Etik Penelitian	40
2. Proporsi status gizi penduduk dewasa (>18 tahun) berdasarkan Katagori IMT menurut Kabupaten/Kota di Bali (Riskesdas 2007)	41
3. Proporsi status gizi penduduk dewasa (>18 tahun) berdasarkan Katagori IMT menurut Kabupaten/Kota di Bali (Riskesdas 2013)	41
4. Prevalensi obesitas sentral pada penduduk umur ≥ 15 Tahun menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali, Riskesdas 2007	42
5. Proporsi obesitas sentral pada penduduk umur ≥ 15 Tahun menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali, Riskesdas 2013	42
6. Hasil visualisasi elektroforesis gel	43
7. R skrip uji hipotesis distribusi data	44
8. R skrip uji kesetimbangan Hardy-Weinberg	46
9. R skrip asosiasi gen <i>FTO</i> dengan obesitas dan obesitas sentral	47

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Obesitas telah mencapai proporsi epidemik secara global, dengan lebih dari satu miliar orang dewasa mengalami *overweight* dan 300 juta diantaranya mengalami obesitas yang merupakan kontributor utama beban global penyakit kronik dan disabilitas (WHO, 2003). Obesitas dan *overweight*, adalah dua istilah yang sering digunakan untuk menyatakan adanya kelebihan berat badan. Kedua istilah ini sebenarnya mempunyai pengertian yang berbeda. Obesitas didefinisikan sebagai suatu keadaan yang ditandai dengan penimbunan jaringan lemak tubuh secara berlebihan, sedangkan *overweight* adalah kelebihan berat badan dibandingkan dengan berat ideal yang dapat disebabkan oleh penimbunan jaringan lemak atau non lemak, misalnya pada seorang atlet binaragawan, kelebihan berat badan dapat disebabkan oleh hipertrofi otot (Suryani, 2009).

Obesitas merupakan kondisi yang kompleks di negara-negara berkembang yang berstatus nutrisi rendah, dengan dimensi sosial dan psikologis yang serius, mempengaruhi hampir semua usia dan kelompok sosial ekonomi (WHO, 2003). Sejak lebih dari 15 tahun yang lalu, terdapat bukti prevalensi obesitas seluruh dunia mengalami kenaikan yang pesat (Popkin, 2002).

Prevalensi obesitas pada populasi Asia melebihi 30% pada orang dewasa dan dikaitkan dengan peningkatan risiko masalah kesehatan yang serius seperti penyakit jantung, diabetes mellitus (DM) tipe 2, dan berbagai jenis kanker (Ingelsson *et al.*, 2007). Obesitas juga terkait dengan peningkatan risiko kematian dini pada orang dewasa dengan usia kurang dari 65 tahun.

Berdasarkan Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) di Provinsi Bali pada tahun 2007 dan 2013, terdapat bukti prevalensi obesitas dan obesitas sentral penduduk Bali mengalami peningkatan. Pada penduduk *urban* peningkatan obesitas dan obesitas sentral lebih tinggi dibandingkan pada penduduk *rural* (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2009 & 2013).

Diperkirakan 40-70% dari variasi indeks massa tubuh (IMT) dapat dijelaskan oleh faktor genetik secara langsung maupun tidak langsung. Predisposisi genetik merupakan salah satu faktor penting dalam patogenesis obesitas (Hebebrand, 2001). Sedangkan untuk obesitas sentral, 30-50% variasi fenotip dapat dijelaskan oleh faktor genetik (Rosmond, 2003). Penelitian terbaru telah mengidentifikasi beberapa gen yang mempengaruhi faktor risiko obesitas. Salah satunya adalah gen *fat mass and obesity associated (FTO)* (Frayling *et al.*, 2007).

Data terbaru memberikan fakta bahwa obesitas mungkin sebuah gangguan *neurobehavioral* yang diturunkan melalui peran gen *FTO* dan diimplikasikan dalam kontrol asupan makanan (Church *et al.*, 2010 dan Lombard *et al.*, 2012). Efek *FTO* pada tubuh dan konsekuensinya terhadap obesitas dan *overweight* telah ditemukan juga pada anak-anak (Dina *et al.*, 2007 dan Frayling *et al.*, 2007).

Varian *FTO* rs9939609 menjadi perhatian karena dilaporkan memiliki asosiasi yang kuat dengan peningkatan IMT dan fenotip yang terkait obesitas pada populasi Kaukasia (Frayling *et al.*, 2007). Selain itu, varian gen *FTO* rs9939609 juga berasosiasi dengan populasi Asia seperti populasi Korea (Cha *et al.*, 2008) dan populasi Asia Timur dan Selatan, termasuk orang Cina, Jepang, Vietnam, Malaysia dan India (Li *et al.*, 2012).

B. Perumusan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab pertanyaan:

1. Apakah ada perbedaan prevalensi obesitas dan obesitas sentral pada penduduk *urban* dibandingkan penduduk *rural* di populasi Bali?
2. Berapa frekuensi alel minor varian gen *FTO* rs9939609 di populasi Bali?
3. Apakah terdapat asosiasi antara varian gen *FTO* rs9939609 sebagai faktor risiko genetik dengan obesitas di populasi Bali?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui perbedaan prevalensi obesitas dan obesitas sentral pada penduduk *urban* dibandingkan penduduk *rural* di populasi Bali.

2. Mengetahui frekuensi alel minor varian gen *FTO* rs9939609 di populasi Bali
3. Mempelajari asosiasi antara varian gen *FTO* rs9939609 sebagai faktor risiko genetik dengan obesitas di populasi Bali.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai frekuensi alel varian gen *FTO* rs9939609 dan perannya terhadap obesitas di populasi Bali.
2. Dapat digunakan sebagai dasar pemikiran awal untuk penelitian lanjutan.

E. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral pada penduduk *urban* lebih tinggi dibandingkan pada penduduk *rural*.
2. Frekuensi alel minor varian gen *FTO* rs9939609 di populasi Bali sebesar 0.17.
3. Terdapat asosiasi antara varian gen *FTO* rs9939609 sebagai faktor risiko genetik dengan obesitas di populasi Bali.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Obesitas

Obesitas adalah kelebihan lemak dalam tubuh, yang umumnya tertimbun dalam jaringan subkutan (bawah kulit), sekitar organ tubuh dan kadang terjadi perluasan ke dalam jaringan organ (Misnadiarly, 2007). Menurut WHO (2016) obesitas dan *overweight*, yang akhir-akhir ini meningkat prevalensinya, didefinisikan sebagai keadaan abnormal tubuh dengan akumulasi lemak berlebih yang menyebabkan risiko bagi kesehatan. Obesitas menunjukkan ketidakseimbangan antara tinggi dan berat badan akibat jaringan lemak berlebihan dalam tubuh sehingga terjadi kelebihan berat badan yang melampaui ukuran ideal berdasarkan perhitungan indeks massa tubuh (IMT) (Sumanto, 2009). Terjadinya obesitas lebih ditentukan oleh makanan yang berlebihan, aktivitas atau latihan fisik yang kurang, maupun kombinasi keduanya (Misnadiarly, 2007).

Obesitas dan *overweight* menimbulkan risiko bagi penyakit kronis (penyakit tidak menular; PTM), termasuk DM tipe 2, penyakit kardiovaskular, hipertensi, stroke, dan kanker. Konsekuensi kesehatan berkisar peningkatan risiko kematian dini, hingga kondisi kronis serius yang mengurangi kualitas hidup secara keseluruhan (WHO, 2003).

Selain obesitas umum berdasarkan IMT, terdapat pula obesitas sentral berdasarkan lingkaran pinggang (*waist circumference*). Menurut WHO (2000), obesitas sentral merupakan kondisi kelebihan lemak yang terpusat pada daerah perut (*intra-abdominal fat*). Beberapa penelitian sebelumnya menemukan bahwa peningkatan risiko kesehatan lebih berhubungan dengan obesitas sentral dibandingkan dengan obesitas umum. Wildman *et al.* (2004) menemukan, laki-laki dan perempuan yang mengalami obesitas sentral mempunyai tekanan darah sistolik dan diastolik, kolesterol total, gula darah, kolesterol LDL, dan triasilgliserol rata-rata tinggi, serta kolesterol HDL dan adiponektin yang lebih rendah. Begitu pula dengan penemuan pada orang lansia berpenyakit jantung koroner (Gotera *et al.*, 2006).

Lofgren *et al.* (2004) menemukan bahwa ukuran lingkaran pinggang berhubungan dengan kadar insulin, leptin, tekanan darah diastol, trigliserida plasma, dan apolipoprotein-C. Perempuan dengan lingkaran perut ≥ 88 cm memiliki konsentrasi leptin, tekanan darah diastol, trigliserida plasma, dan apolipoprotein-C lebih tinggi.

Menurut Loors dan Bouchard (2008) obesitas adalah gangguan multifaktorial, dan etiologinya dipengaruhi oleh interaksi latar belakang genetik dan faktor lingkungan. Papalia *et al.* (2007) mengatakan penyebab obesitas dan obesitas sentral adalah faktor fisiologis, yaitu faktor yang muncul dari berbagai variabel, baik yang bersifat herediter maupun non herediter. Faktor lain yang menyebabkan obesitas adalah ketidakseimbangan pola makan atau jenis makanan yang dikonsumsi dan jenis kegiatan serta aktivitas yang dilakukan. Pada era modern seperti sekarang ini, ketidakseimbangan asupan makanan dapat jauh lebih tinggi dari aktivitas fisik, karena jenis pekerjaan yang tersedia kebanyakan hanya memerlukan aktivitas fisik minimal.

Jumlah lemak dalam tubuh (adipositas) merupakan bagian dari proses homeostasis energi yang teregulasi, dimana diperlukan keseimbangan antara asupan makanan dengan pengeluaran energi (metabolisme dan olahraga) dan ukuran massa lemak (Woods dan Seeley, 2002). Organ utama yang mengatur sistem ini adalah otak, meskipun beberapa sistem organ berpartisipasi dalam proses tersebut. Sinyal adipositas masuk ke otak pada tingkat hipotalamus. Sinyal saraf dari sistem pencernaan dan hati memberikan informasi tentang makanan yang sedang dimakan, seperti rasa makanan, berapa besar perut mengembang, dan kandungan kimia dari makanan. Sinyal kenyang ini dikirim ke otak belakang. Otak merespon sinyal hormon melalui jalur neuropeptida yang terintegrasi, mengarah ke sejumlah output yang secara langsung berhubungan dengan homeostasis energi diantaranya aktivasi neuroendokrin dari kelenjar di bawah otak, perilaku motorik (makan, olahraga, dan lain-lain) dan aktivitas otonom (Schwartz *et al.*, 2000).

Jaringan adiposa disadari sebagai organ endokrin penting yang menghasilkan beberapa hormon protein. Namun, tingginya akumulasi lemak, terutama pada daerah perut (*intra-abdominal fat*) memicu jaringan adiposa

menghasilkan hormon dalam jumlah yang tidak normal, seperti tingginya sekresi insulin, tingginya level testoteron dan androstenedion bebas, rendahnya level progesteron pada perempuan dan testoteron pada laki-laki, tingginya produksi kortisol, dan rendahnya level hormon pertumbuhan. Ketidaknormalan produksi hormon ini diduga meningkatkan risiko kesehatan (WHO, 2000).

Dalam beberapa tahun terakhir diketahui bahwa sistem saraf otonom memiliki dampak yang lebih besar pada banyak proses dasar metabolisme, termasuk lipolisis, sekresi insulin dan glukagon dari pankreas, sintesis glukosa dan sekresi dari Hati. Pengeluaran energi cenderung menurun dengan bertambahnya usia, terutama karena tidak adanya aktivitas kerja dan aktivitas fisik yang ekstrim, sementara asupan energi tidak cenderung menurun pada tingkat yang sama. Dengan adanya ketidakseimbangan antara asupan dan penggunaan energi, mengakibatkan kecenderungan berat badan meningkat dari waktu ke waktu (Schwartz *et al.*, 2000).

Negara-negara yang memiliki banyak penduduk obesitas, presentase lemak pada makanan sehari-hari cukup tinggi, terhitung kurang lebih 40% pemasukan energi. Alasan memilih makanan dengan kandungan lemak tinggi dikarenakan rasa yang lebih gurih (Ostman *et al.*, 2004). Kelebihan pemasukan energi sebesar 9,3 kalori, disimpan oleh tubuh sebagai lemak kurang lebih 1 gram (Guyton dan Hall, 2006). Selain lemak, alkohol memiliki kandungan energi yang cukup tinggi, meskipun kandungan energi alkohol lebih rendah daripada lemak, namun dua kali lebih banyak daripada protein dan karbohidrat (Karbohidrat = 17kJ/4 kcal, Alkohol = 29 kJ/7 kcal, Lemak = 38 kJ/9 kcal). Terdapat bukti bahwa konsumsi alkohol menyebabkan obesitas dan obesitas sentral (Ostman *et al.*, 2004).

Faktor penting lain yang berpengaruh pada kejadian obesitas yaitu faktor budaya, hal ini berkaitan dengan ketersediaan dan komposisi dari makanan dan perubahan tingkat aktivitas fisik (Fauci *et al.*, 2008). Pada lingkungan industri misalnya, obesitas banyak terjadi pada wanita dengan golongan ekonomi menengah kebawah, sedangkan di negara yang belum berkembang, obesitas banyak dijumpai pada wanita yang sosial ekonominya menengah keatas. Sedangkan pada anak-anak obesitas berhubungan dengan intensitas anak menonton televisi. Faktor risiko lain

pada obesitas yaitu waktu tidur. Berkurangnya waktu tidur dapat menyebabkan peningkatan obesitas (Fauci *et al.*, 2008).

Salah satu penentuan kriteria obesitas adalah dengan menghitung indeks massa tubuh (IMT), yaitu berat badan seseorang (dalam kilogram) dibagi dengan kuadrat dari tinggi badannya (dalam meter). Seseorang dengan IMT 30 atau lebih umumnya dikategorikan obes sedangkan seseorang dengan IMT sama atau lebih dari 25 dikategorikan *overweight* (WHO, 2016).

Pada tahun 1993, komite ahli WHO mengusulkan batas ambang IMT yang dapat digunakan sebagai kriteria obesitas dan *overweight* bagi negara-negara Asia (WHO 2000, James 2002). Revisi batas ambang IMT untuk orang Asia diajukan berdasarkan temuan bahwa prevalensi DM tipe 2 dan faktor resiko kardiovaskular pada sebagian orang Asia memiliki rerata IMT 25 kg/m², lebih rendah dari batas ambang untuk orang Kaukasia. Selain itu, beberapa penelitian juga melaporkan bahwa IMT, proporsi lemak tubuh, dan distribusi lemak tubuh berbeda antar populasi Asia dibandingkan Kaukasia. Beberapa populasi Asia mempunyai proporsi lemak tubuh lebih tinggi dibandingkan pada populasi Eropa (WHO, 2000; James 2002).

Tabel 1. Klasifikasi berat badan berdasarkan IMT orang dewasa Asia (WHO, 2000)

Klasifikasi	IMT (kg/m ²)	Risiko ko-morbid
Berat badan kurang	<18.5	Rendah (tapi berisiko meningkat masalah kesehatan lainnya).
Normal	18.5-22.9	Sedang
Berat badan berlebih	≥23.0	
Berisiko	23.0-24.9	Meningkat
Obes I	25.0-29.9	Moderat
Obes II	≥30.0	Berat

Penentuan kriteria obesitas sentral dapat dilakukan dengan pengukuran lingkaran pinggang. *International Diabetes Federation* (IDF) merekomendasikan batas ambang lingkaran pinggang berdasarkan jenis kelamin, populasi dan geografi tertentu (IDF, 2006 dalam WHO, 2008). Rekomendasi tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Batas ambang lingkaran pinggang untuk kelompok etnis yang berbeda (IDF, 2006)

Populasi	Pria (cm)	Wanita (cm)
Eropa	>94	>80
Asia Selatan, China dan Jepang	>90	>80

B. Genetika Obesitas

Obesitas terjadi sebagai akibat dari interaksi antara faktor lingkungan dan genetik. Penelitian *genome wide association* (GWA) mengidentifikasi lebih dari 40 varian genetik terkait dengan obesitas dan distribusi lemak. Namun, berbagai varian ini tidak sepenuhnya menjelaskan heritabilitas obesitas, faktor epigenetik juga harus dipertimbangkan karena berperan penting dalam manifestasi obesitas (Herrera, 2011). Berbagai kombinasi studi ini telah melaporkan keterlibatan lebih dari 50 lokus yang terkait dengan obesitas (Fan *et al.*, 2006). Meskipun demikian, belum banyak penelitian yang mempelajari interaksi antara faktor genetik dan lingkungan terhadap manifestasi klinis obesitas, terutama dalam keterbatasan untuk menentukan periode seseorang terpapar faktor *obesogenic* dan kemunculan peningkatan berat badan. (Lindi *et al.*, 2002).

Polimorfisme pada gen kandidat obesitas telah dipelajari dalam beberapa penelitian berbasis populasi, diantaranya mengevaluasi 41 kandidat SNP terkait obesitas dari 18 gen yang berbeda, salah satunya gen *FTO* (Knuppel *et al.*, 2013), polimorfisme-polimorfisme pada gen receptor beta3-adrenergic (*ADRB3*) dan gen uncoupling protein 2 (*UCP2*) (Malik *et al.*, 2011; Oktavianthi *et al.*, 2012) dan meta-analisis 18 kandidat gen obesitas *overweight* (Tang *et al.*, 2014).

C. Gen *fat mass and obesity associated* (*FTO*)

Gen *FTO* pada manusia (*OMIM* no. 610966) berlokasi di kromosom 16q12.2 yang terdiri dari 9 ekson dan memiliki panjang 410,507 pasang basa (Kawajiri *et al.*, 2012). Hingga saat ini, fungsi dari gen *FTO* masih belum diketahui dengan jelas. Namun, studi fungsional menunjukkan bahwa gen *FTO* menyandi enzim 2-oksoglutarat-dependent asam nukleat demetilase yang terdapat dalam

banyak jaringan, namun sebagian besar melimpah di hipotalamus, pusat kendali keseimbangan energi (Gerken *et al.*, 2007). Oleh karena itu, *FTO* diduga berperan penting dalam regulasi nafsu makan dan berat badan.

Konsisten dengan data manusia, mRNA *FTO* tikus terdeteksi ada pada semua jaringan, dengan ekspresi paling tinggi pada otak, khususnya di hipotalamus yaitu area yang memainkan peran dalam mengontrol keseimbangan energi. Hibridisasi *in situ* dari sayatan hipotalamus, memperlihatkan bahwa mRNA *FTO* diekspresikan berlebih pada nukleus arkuata (ARC), paraventricular (PVN), dorsomedial (DMN), and ventromedial (VMN), Situs2 penting untuk mengontrol keseimbangan energi (Stratigopoulos *et al.*, 2018).

Pada manusia, hipotalamus merupakan pusat pengendalian asupan makan. Nukleus lateral dari hipotalamus berfungsi sebagai pusat makan dan nukleus ventromedial berfungsi sebagai pusat kenyang. Nukleus paraventricular, dorsomedial dan arkuata juga turut berpengaruh pada regulasi makan (Fauci *et al.*, 2008). Nukleus arkuata memiliki dua macam neuron yang penting dalam nafsu makan dan pengendalian energi yaitu: (1) neuron *pro-opiomelanocortin* (POMC) yang memproduksi *α-melanocyte stimulating hormone* (α-MSH) dan *cocaine-and-amphetamine transcript* (CART) dan (2) neuron yang memproduksi *orexigenic substance neuropeptide Y* (NPY) dan *agouti-related protein* (AGRP) (Fauci *et al.*, 2008).

D. Varian gen *FTO* rs9939609

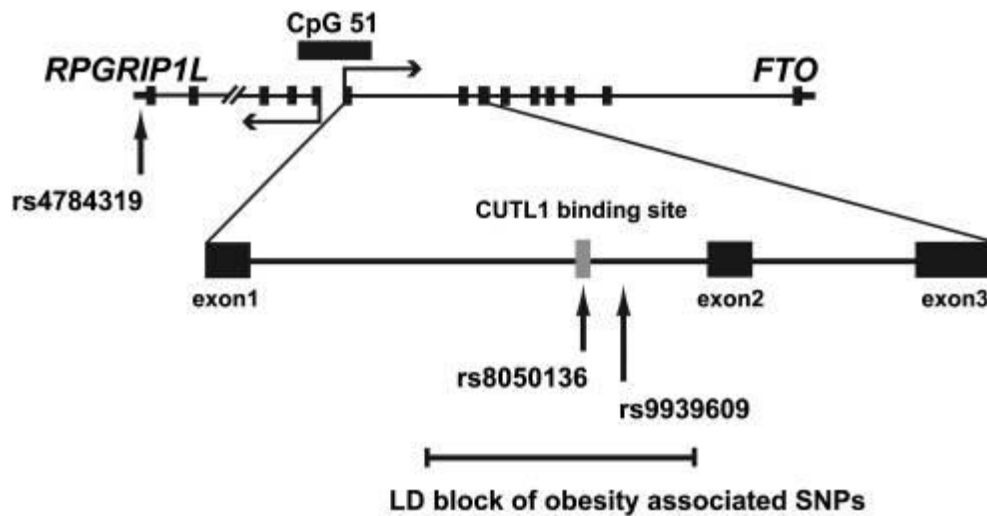
Varian gen *FTO* yang paling banyak dan konsisten dilaporkan terkait dengan peningkatan berat badan adalah *FTO* rs9939609 (Mei *et al.*, 2010). Varian rs9939609 menjadi perhatian sejak ditemukan terkait dengan obesitas melalui studi independen populasi besar Kaukasia (Frayling *et al.*, 2007; Groop, 2007; Scott *et al.*, 2007). Varian gen *FTO* rs9939609 terletak pada posisi nukleotida “53.786.615”, diidentifikasi dengan perubahan basa dari T ke A (Gu *et al.*, 2010), terdapat pada intron pertama dari gen *FTO* (Basit *et al.*, 2008). Hingga saat ini mekanisme varian rs9939609 dalam mempengaruhi risiko obesitas belum banyak diketahui, namun diduga mempengaruhi tingkat ekspresi gen *FTO*.

Penelitian Church *et al.* (2010) dan Berulava *et al.* (2010) menunjukkan bahwa pembawa homozigot untuk alel-A dari rs9939609 memiliki ekspresi *FTO* yang lebih tinggi dibandingkan pembawa genotipe-TT, menunjukkan bahwa obesitas terkait dengan peningkatan ekspresi gen *FTO*. Beberapa studi menunjukkan bahwa pembawa alel minor-A rs9939609 (genotipe AA dan AT) memiliki berat badan lebih tinggi dari pembawa alel mayor-T heterozigot (genotipe TT) (Frayling *et al.*, 2007; Mei *et al.*, 2010; Pausova *et al.*, 2009; Scuteri *et al.*, 2007).

Anak-anak dan orang dewasa pembawa setidaknya satu alel risiko-obesitas *FTO* rs9939609 (alel-A) dilaporkan memiliki asupan energi rata-rata lebih besar dibandingkan dengan pembawa homozigot (TT) (Speakman *et al.*, 2008). Penelitian yang melibatkan anak-anak berusia 4-5 tahun, menunjukkan bahwa pembawa genotipe AA/AT memiliki asupan makanan yang lebih banyak dibandingkan pembawa genotipe TT (Wardle *et al.*, 2009).

Varian terkait dengan adipositas adalah bagian dari blok *linkage disequilibrium* yang mencakup bagian dari *FTO* intron 1, ekson 2 dan bagian dari intron 2 (Gambar 1). Karena tidak ada varian sekuens fungsional pada ekson 2, tampaknya mungkin SNP tersebut mengubah elemen pengaturan kontrol transkripsi (Baker *et al.*, 2009). Retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1 (*RPGRIP1L*) yang terletak ~100 pb dari 5' *FTO* dan dalam orientasi transkripsi berlawanan dengan *FTO* juga berasosiasi dengan adipositas. *RPGRIP1L* adalah komponen tubuh basal dari silia primer dan mungkin berpartisipasi dalam homeostasis energi manusia berdasarkan fenotip obesitas pada sindrom Bardet-Biedl dan Alstrom, yaitu semua gen terlibat mengkodekan komponen dari silia primer (Baker *et al.*, 2009).

Ekspresi *RPGRIP1L* hipotalamus, seperti pada *FTO*, menurun saat berpuasa, konsisten dengan peran dalam homeostasis energi (Stratigopoulos *et al.*, 2011). Selain itu, *FTO* dan *RPGRIP1L* diatur oleh CUTL1 dari situs dalam wilayah DNA yang terkait dengan obesitas (Gambar 1). Oleh karena itu, baik fungsi dari *FTO* dan *RPGRIP1L* mungkin akan terpengaruh pada individu yang membawa alel risiko-obesitas (Stratigopoulos *et al.*, 2011).

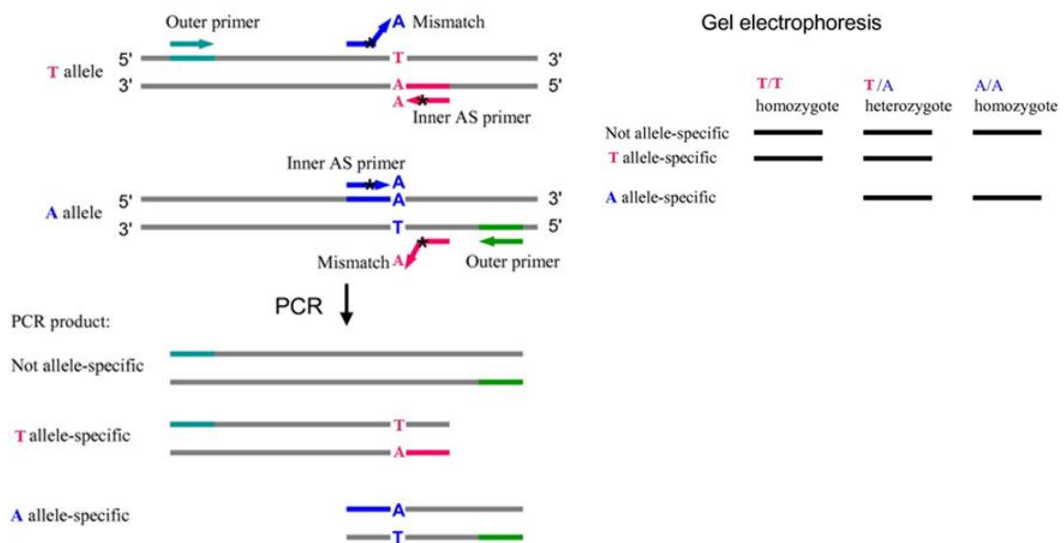


Gambar 1. Lokasi varian rs9939609 pada gen *FTO*. Varian rs9939609 pada *linkage disequilibrium* (LD) dengan rs8050136 terkait dengan IMT dan terletak pada blok LD 47-kb. *RPGRIP1L* adalah komponen tubuh basal silia. Leptin (LEPR) dan *hormon melanin concentrating receptor 1* (MCHR1) melokalisasi ke silia neuronal. CUTL1, yang mengikat pada rs8050136 mengatur *FTO* dan ekspresi *RPGRIP1L* dari sebuah situs yang terletak di wilayah asosiasi dalam intron 1 *FTO* (Stratigopoulos *et al.*, 2011).

E. Amplification Refractory Mutation System Polymerase Chain Reaction (ARMS-PCR)

Amplification refractory mutation system/sistem amplifikasi mutasi refrakter (ARMS) adalah teknik biologi molekular berbasis PCR yang dapat mendeteksi varian secara cepat dibandingkan dengan teknik konvensional lainnya, seperti *PCR-restriction fragment length polymorphism* (RFLP). Teknik ARMS memerlukan dua set primer untuk menghasilkan produk alel-spesifik (Newton, 1989).

ARMS didasarkan pada penggunaan primer spesifik pada reaksi PCR yang memungkinkan amplifikasi DNA hanya terjadi ketika alel sasaran terdapat dalam sampel (Gambar 2). Oleh karena itu pada reaksi ARMS ada atau tidaknya produk PCR merupakan diagnostik untuk ada atau tidak adanya alel sasaran (Little, 2001). Primer yang digunakan terdiri dari dua pasang primer seperti dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 2. Prinsip ARMS PCR (digambar ulang dari Ye *et al.*, 2001). Deteksi varian menggunakan alel *mismatch* dengan 2 pasang primer, primer luar dan dalam. Primer dalam spesifik hanya akan melekat pada alel spesifik dan hasilnya adalah fragmen dengan panjang yang berbeda (You *et al.*, 2008).

Tabel 3. Sekuens, panjang basa dan suhu primer rs9939609 (Fawwad *et al.*, 2015)

Primer Name	Sequence (5'-3')	Length (base)	Tm (°C)
rs9939609	Fin TAGGTCCTTGCGACTGCTGTGAATATA	28	66
	Rin GAGTAACAGAGACTATCCAAGTGCATCTCA	30	66
	Fout GTTCTACAGTTCCAGTCATTTTTGACAGC	29	65
	Rout AGCCTCTCTACCATCTTATGTCCAAACA	28	66

F. Prevalensi obesitas di Provinsi Bali

Provinsi Bali terdiri dari beberapa pulau yaitu pulau Bali sebagai pulau terbesar, pulau Nusa Penida, Nusa Ceningan dan Nusa Lembongan di sisi tenggara pulau Bali, pulau Serangan yang terletak di sekitar kaki pulau Bali dan pulau Menjangan yang terletak di bagian barat pulau Bali. Provinsi Bali secara geografis

terletak pada posisi antara 114° 25' 53" -8° 50' 48" Lintang selatan dan 114° 25' 53" – 115° 42' 40" bujur timur dan berbatasan dengan provinsi Jawa Timur yang dibatasi oleh selat Bali pada bagian barat sedangkan pada bagian timur berbatasan dengan pulau Lombok dengan dibatasi oleh selat Lombok. Pada bagian utara terdapat laut Jawa dan bagian selatan terdapat samudera Indonesia.

Pulau Bali merupakan salah satu pusat tujuan pariwisata yang terkenal dan telah menarik minat kunjungan wisatawan dari seluruh dunia. Perkembangan pariwisata yang pesat diduga berdampak pada perubahan gaya hidup tradisional menjadi gaya hidup modernisasi yang kemudian dapat berkontribusi pada peningkatan prevalensi obesitas dan penyakit kronik metabolik.

Berdasarkan Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang diselenggarakan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes) tahun 2007 dan 2013 di bawah Kementerian Kesehatan, diketahui prevalensi obesitas di Provinsi Bali dan juga provinsi lain di Indonesia mengalami peningkatan. Meningkatnya prevalensi obesitas ini disamping disebabkan perubahan lingkungan dan gaya hidup, juga diperburuk dengan adanya faktor risiko genetik.

Suastika *et al.* (2011) melaporkan bahwa diantara desa-desa di Bali, Desa Legian dan Ubud yang merupakan tujuan wisata populer di Bali memiliki prevalensi obesitas sentral sebesar 61.2% pada Desa Legian dan 70,1% pada desa Ubud, jauh lebih tinggi dibandingkan desa-desa lainnya. Kecenderungan tingginya prevalensi obesitas pada daerah *urban* (51%) dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan daerah *rural* (24%) (Malik *et al.*, 2011).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Keanekaragaman Genom dan Penyakit, Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, Jakarta. Penelitian dilakukan selama 6 bulan yaitu dari bulan Januari hingga bulan Juni 2017.

B. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif analitik untuk mengetahui keterkaitan antara polimorfisme gen *FTO* dengan obesitas di penduduk Bali. Isolasi DNA menggunakan protokol Chelex-100 (Bereckzky *et al.*, 2005) dan penentuan genotipe gen *FTO* rs9939609 menggunakan *Amplification Refactory Mutation System* (ARMS) PCR. Sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan sampel DNA arsip koleksi LBM Eijkman yang telah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dan Komisi Etik Riset Lembaga Eijkman (Malik *et al.*, 2011) (Terlampir). Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah frekuensi alel dan genotipe varian *FTO* rs9939609, status klinis obesitas ($IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$) dan obesitas sentral ($LP \geq 90 \text{ cm}$ pada pria dan $LP \geq 80 \text{ cm}$ pada wanita). Asosiasi antara varian gen *FTO* rs9939609, status klinis obesitas dan obesitas sentral dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji regresi logistik ordinal dengan penyesuaian usia dan jenis kelamin.

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari Mikropipet (volume 0.5-10, 2-200 dan 100-1000) μL [Biohit, Helsinki, Finlandia], tips mikropipet (volume 0.5-10, 2-200 dan 100-1000) μL [Axygen[®], Union City, California, Amerika Serikat], tabung mikrosentrifus 1,5 mL [Axygen[®], Union City, California, Amerika Serikat], tabung PCR 0,2 mL [Molecular BioProduct, San Diego, Amerika

Serikat], tabung falcon 50 mL [Biologix, Kansas City, Amerika Serikat], mesin mikrosentrifus [GreenLiV Mini Centrifuge Mini-6K], vorteks [Thermo Scientific, Wilmington, Amerika Serikat], inkubator *water bath* [Eppendorf Thermomixer Comfort], mesin *freezer* [Thermo Scientific Jewett -30 Plasma Freezer], mesin *thermal cycler* GeneAmp® PCR System 9700 [Applied Biosystem, Foster City, Amerika Serikat], spektrofotometer NanoDrop® ND-1000 [Thermo Scientific, Wilmington, Amerika Serikat], *laminar airflow* [Thermo Scientific, Wilmington, Amerika Serikat], *molecular imager*® Gel Doc™ XR System [BioRad, California, Amerika Serikat], aparatus elektroforesis [Bio-Rad, California, Amerika Serikat], *microwave oven* NN-GT353M [Panasonic, Osaka, Jepang], Sanyo Medicoool Freezer MDF-U333 [Sanyo, Osaka, Jepang], Sanyo Medicoool Freezer MPR-311D(H) [Sanyo, Osaka, Jepang].

Penelitian ini menggunakan 574 sampel DNA arsip milik LBM Eijkman, yang dikoleksi dari empat desa di Provinsi Bali. Sampel tersebut berasal dari 280 individu *urban* (desa Legian) dan 294 individu *rural* (107 individu dari desa Penglipuran, 141 individu dari desa Pedawa, dan 46 individu dari desa Nusa Ceningan). Penduduk *urban* adalah penduduk yang berasal dari desa yang mendapat pengaruh modernisasi di Bali seperti perkembangan industri dan pariwisata, sedangkan penduduk *rural* adalah penduduk yang berasal dari desa yang masih bersifat tradisional. Meskipun demikian, baik *urban* dan *rural* memiliki latar belakang genetik yang sama. Kriteria sampel yang akan diikutsertakan dalam analisis adalah dalam kondisi baik serta memiliki data IMT dan lingkar pinggang yang lengkap.

Bahan untuk isolasi DNA adalah saponin 0.5%, 1X PBS (phosphate buffered saline), larutan Chelex-100 20% [Bio-Rad, California, Amerika Serikat], dan TE steril. Bahan untuk reaksi PCR [Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Serikat] yang terdiri dari 6.4 µL ddH₂O, 3 µL 5X PCR buffer KAPA, 1 µL 25 mM MgCl₂, 0.45 µL 10 mM dNTP (terdiri dari dATP, dGTP, dTTP, dCTP) [Boehringer Mannheim], primer (Rin, Fin, Rout, Fout) masing-masing 0.5 µL, dan 0.15 µL 25µg/mL KAPA taq pol. Primer untuk mendeteksi rs9939609 adalah primer Fin (5'-TAGGTTCCCTTGCGACTGCTGTGAATATA-3'), primer Rin (5'-

GAGTAACAGAGACTATCCAAGTGCATCTCA-3'), primer Fout (5'-GTTCTACAGTTCCAGTCATTTTTGACAGC-3'), primer Rout (5'-AGCCTCTCTACCATCTTATGTCCAAACA-3') (Fawwad, *et al.*, 2015). Bahan untuk elektroforesis gel agarosa adalah bubuk agarosa [Lonza, Basel, Switzerland], ethidium bromida (EtBr) [Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Serikat], penanda ukuran DNA sebesar 100 bp [Geneaid, New Taipei, Taiwan], dan 1X buffer Tris-Borat-EDTA (TBE). TBE terdiri dari EDTA [Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Serikat], asam borat [Merck, Jakarta, Indonesia], dan tris [Invitrogen, California, Amerika Serikat].

2. Prosedur Penelitian

2a. Koleksi Sampel

Sampel DNA yang digunakan telah diisolasi sebelumnya dari *bloodspot* dan darah perifer. Apabila sampel yang berasal dari *bloodspot* tidak mencukupi, maka akan dilakukan isolasi DNA ulang.

2b. Isolasi DNA

DNA sebagai alat bantu identifikasi tidak lepas dari kelemahan misalnya kerusakan DNA karena ada paparan dari lingkungan seperti pH, temperatur dan lain sebagainya. Oleh karena itu perlu penanganan yang tepat dan cepat dalam mengolah sampel salah satunya terkait pada proses isolasi. Selain itu tidak jarang ditemukan DNA dengan jumlah dan kualitas terbatas sehingga perlu metode isolasi DNA yang efektif dan efisien seperti metode *Chelex* (Butler, 2005). Kelebihan metode ini yaitu cepat, tahapan singkat serta mengurangi kemungkinan kontaminasi sampel satu ke sampel yang lainnya (Butler, 2005).

Larutan *Chelex* yang digunakan terdiri dari *styrene divinylbenzene copolymer* yang berisi pasangan *ion-ion iminodiacetate* yang bertindak sebagai *chelating group* yang berikatan dengan *ion* Mg^{2+} . *Chelex* akan melindungi DNA dari DNase. Bila *chelating resin* ini terlarut pada hasil isolasi DNA sehingga mengikat komponen Mg^{2+} sebagai kofaktor enzim DNA *polymerase*, akibatnya tanpa ion ini enzim *polymerase* pada PCR tidak dapat bekerja (Butler, 2001).

Chelex-100 salah satu yang paling sering digunakan terutama dalam aplikasi forensik (Phillips *et al.*, 2012) meskipun resin pengkhat ini juga digunakan dalam formalin dan parafin untuk merekatkan jaringan (De Armas *et al.*, 2006), darah (Leruez-Ville, 2013) dan sampel *swab* (Edberg *et al.*, 2009) untuk pengujian mikrobiologi.

Isolasi DNA dari *bloodspot* dilakukan menggunakan metode Chelex sesuai dengan kepustakaan Bereckzky *et al.* (2005). Sampel darah kering pada kertas saring digunting menjadi potongan-potongan yang lebih kecil (kira-kira berdiameter 1 cm) dan dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1.5 ml. Sebanyak 1 mL 0.5% saponin ditambahkan ke dalam tabung. Tabung kemudian dibolak-balikkan beberapa kali, kemudian di inkubasi semalaman pada suhu 4°C.

Tabung disentrifus pada 12.000 rpm selama 30 detik dan supernatan dibuang menggunakan pipet. Sebanyak 1 mL 1X PBS (*Phosphat buffered Saline*) ditambahkan dan dibalikkan beberapa kali, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 4°C. Tabung disentrifus pada 12.000 rpm selama 5 detik dan supernatan dibuang menggunakan pipet. Langkah ini diulangi sebanyak 3 kali tanpa melakukan tahapan inkubasi. Sebanyak 50 µl larutan Chelex-100 ditambahkan menggunakan tips dengan ujung dipotong, lalu ditambahkan 100 µL bufer TE steril. Tabung diinkubasi menggunakan thermo mixer pada suhu 100°C selama 10 menit, kemudian di vortex selama 1-2 menit. Sampel diletakkan pada suhu 4°C selama beberapa menit hingga dingin, lalu di sentrifus pada 12.000 rpm selama 30 detik. Secara hati-hati pindahkan supernatan yang berisi DNA ke dalam tabung mikrosentrifus 1.5 mL yang baru, lalu di sentrifuse pada 12.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus 1.5 mL yang baru.

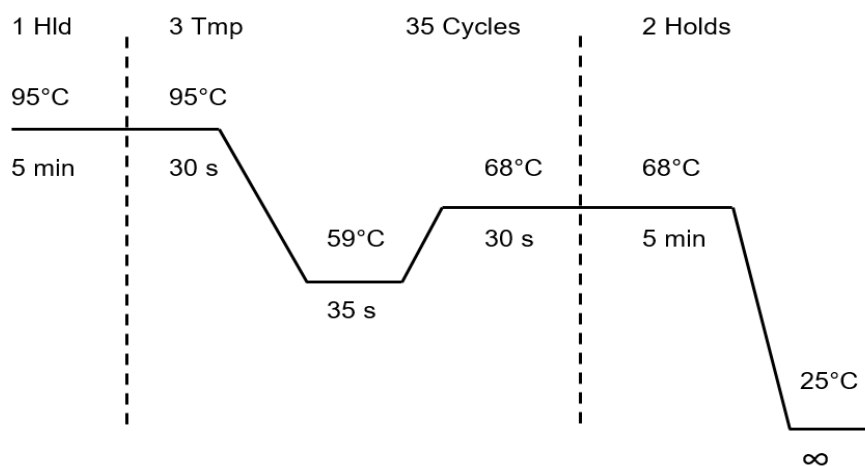
2c. Kuantifikasi DNA

DNA hasil isolasi dikuantifikasi dengan teknik spektrofotometri menggunakan alat Spektrofotometer NanoDrop® ND-1000 [Thermo Scientific, Wilmington, Amerika Serikat]. Sebelum dilakukan pengukuran sampel, terlebih dahulu dilakukan kalibrasi alat dan pengukuran blanko menggunakan 1 µL ddH₂O [Applied Biosystem, Foster City, Amerika Serikat]. Selanjutnya sampel DNA hasil

isolasi sebanyak 1 μL diukur absorbansinya pada panjang gelombang 260 nm, dengan perhitungan 1 nilai absorbansi sebanding dengan konsentrasi DNA 50 ng/ μL . Kemurnian DNA hasil isolasi ditentukan melalui rasio absorbansi pada panjang gelombang 260/280 untuk kemurnian terhadap kontaminasi protein dan 260/230 untuk kemurnian terhadap kontaminasi garam, etanol, dan fenol.

2d. Amplifikasi DNA

Penentuan genotipe rs9939609 dilakukan menggunakan ARMS PCR seperti telah dijabarkan oleh You *et al.* (2008). Perekasi PCR [Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Serikat] dengan total volume reaksi 15 μL terdiri atas 6.4 μL ddH₂O, 1X PCR buffer KAPA, 1.7 mM MgCl, 0.3 mM dNTP (terdiri dari dATP, dGTP, dTTP, dCTP) [Boehringer Mannheim], primer (Rin, Fin, Rout, Fout) masing-masing 0.5 μL , 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ KAPA taq pol dan 3.3 ng/ μL DNA sampel. PRC dilakukan menggunakan *thermal cycler* GeneAmp® PCR System 9700 [Applied Biosystem, Foster City, Amerika Serikat]. Setelah master mix dibuat, berikutnya amplifikasi dilakukan dengan pengaturan seperti yang terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaturan amplifikasi DNA dengan teknik PCR. Denaturasi awal dilakukan pada temperatur 95°C selama 5 menit, denaturasi pada temperatur 95°C selama 30 detik, *annealing* pada temperatur 50°C selama 35 detik, *extension* pada temperatur 68°C selama 5 menit, *post extension* pada temperatur 68°C pada selama 5 menit dan *cooling* pada suhu 25°C. Amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus.

2e. Elektroforesis Gel

Visualisasi hasil ARMS PCR dilakukan dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 2%. Gel agarosa 2% dibuat dengan melarutkan 1.4 gram bubuk agarosa [Lonza, Basel, Switzerland] dalam 70 mL *buffer* TBE 1X menggunakan *microwave*. Setelah selesai, larutan ditunggu beberapa saat hingga sedikit mendingin, lalu 7 μ L etidium bromida (EtBr) ditambahkan ke dalam gel. Gel agarosa dituang ke dalam cetakan agar, lalu sisir dipasang untuk membuat sumur, kemudian dibiarkan selama setengah jam hingga gel mengeras.

Cetakan agarosa dimasukan ke dalam apparatus elektroforesis [Bio-Rad, California, Amerika Serikat] hingga cetakan terendam TBE 1X. Sampel-sampel DNA hasil PCR dimasukan ke dalam sumur-sumur dengan sumur pertama untuk marka DNA. Lalu apparatus elektroforesis dijalankan pada 70 V selama 48 menit. Setelah itu dilakukan visualisasi hasil dengan menggunakan *molecular imager*[®] Gel Doc[™] XR System [BioRad, California, Amerika Serikat].

C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan software R versi 3.3.1 menggunakan paket Stat, Graphic, Psych, dan Genetics. Normalitas dari variabel kontinyu diuji menggunakan Shapiro-Wilk. Variabel kontinyu dengan distribusi tidak normal dideskripsikan sebagai median (kisaran interkuartil, Q_1 - Q_3) dan dibandingkan dengan menggunakan uji non parametrik Wilcoxon-Mann Whitney U. Perbandingan variabel kategori yaitu gen *FTO* akan dilakukan menggunakan uji Chi-Square Pearson. Penyimpangan frekuensi genotipe dari kesetimbangan Hardy-Weinberg $p^2 + 2PQ + q^2 = 1$ dianalisis dengan menggunakan uji Chi-Square.

Hubungan antara variabel terikat dan dua atau lebih variabel bebas akan dianalisis dengan menggunakan regresi logistik ordinal dengan penyesuaian umur dan jenis kelamin. Analisis asosiasi genetik dilakukan dengan model genetik kodominan, dominan dan resesif. Dalam penelitian ini variabel terikat adalah varian *FTO* rs9939609 dan variabel bebas adalah usia, tinggi badan dan berat badan. *P*-value kurang dari 0.05 dianggap signifikan secara statistik.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik subjek penelitian disajikan pada (Tabel 4). Secara umum penduduk *urban* memiliki tinggi badan ($p = 1.5 \times 10^{-12}$), berat badan ($p < 2.2 \times 10^{-16}$), indeks massa tubuh (IMT, $p < 2.2 \times 10^{-16}$) dan lingkaran pinggang (LP, $p < 2.2 \times 10^{-16}$) yang lebih tinggi dibandingkan penduduk *rural*.

2. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral

Prevalensi obesitas dan obesitas sentral baik pada subjek pria dan wanita di penduduk *urban* lebih tinggi daripada penduduk *rural*. Prevalensi obesitas pria *urban* 2 kali lebih tinggi dibandingkan dengan pria *rural* (58,6% untuk *urban* dan 24,4% untuk *rural*), begitu pula dengan obesitas sentralnya (54,1% untuk *urban* dan 25,9% untuk *rural*). Prevalensi obesitas pada wanita *urban* 1,7 kali lebih tinggi dibandingkan dengan wanita *rural* (39,6% untuk *urban* dan 24,1% untuk *rural*), sedangkan obesitas sentral wanita *urban* 1,5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan wanita *rural* (70,8% untuk *urban* dan 45,7% untuk *rural*) (Tabel 5).

Tabel 5. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral pada *urban* dan *rural*

Variabel	Obesitas (%)	Obesitas Sentral (%)
<i>Urban, n</i>	144	169
Pria	58.6	54.1
Wanita	39.6	70.8
<i>Rural, n</i>	67	104
Pria	23.4	25.9
Wanita	22.1	45.7

Tabel 4. Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	Urban				Rural				<i>p</i> (Urban vs Rural)
	Total	Non-obes	Obes	<i>p</i> (Non-obes vs Obes)	Total	Non-obes	Obes	<i>p</i> (Non-obes vs Obes)	
<i>Total, n</i>	280	136	144		294	227	67		
Usia	44.0 (39.0-52.0)	44.0 (39.0-50.3)	44.0 (39.8-52.0)	0.594	49.0 (40.0-61.0)	49.0 (39.0-64.5)	48.0 (40.0-53.3)	0.261	< 0.001
Tinggi Badan	162.2 (156.0-169.0)	161.2 (155.5-168.0)	163.0 (156.0-169.0)	0.155	156.8 (151-163)	157.0 (151.0-163.8)	156.0 (150.0-162.0)	0.275	1.5 x 10⁻¹²
Berat Badan	65.9 (58.4-76.1)	58.8 (54.2-64)	75.7 (67.9-81.5)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	54.0 (47.0-61.5)	51.0 (45.2-57.5)	69.0 (61.5-74.3)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	< 2.2 x 10⁻¹⁶
IMT	25.2 (22.9-27.8)	22.8 (21.6-23.7)	27.7 (26.3-30.2)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	22.02 (19.2-24.7)	21.0 (18.8-22.8)	27.7 (26.2-29.5)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	< 2.2 x 10⁻¹⁶
LP	87.0 (81.0-96.0)	82.0 (78.0-86.3)	95.3 (87.2-101)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	79.8 (71.3-88)	75.0 (70.0-83.0)	92.0 (89.0-97.2)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	< 2.2 x 10⁻¹⁶
<i>Pria, n</i>	174	72	102		154	118	36		
Usia	44.5 (39.0-51.0)	45.0 (39.0-51.2)	44.0 (39.0-51.0)	0.968	49 (38.3-61)	48.5 (36-64.7)	49.0 (40.0-51.5)	0.626	0.024
Tinggi Badan	167.0 (162.0-171.2)	167.6 (162.0-171.3)	166.2 (162.0-171.0)	0.689	162.5 (157.6-166.5)	163 (158-167)	161.1 (156.9-165.0)	0.239	2.7 x 10⁻⁸
Berat Badan	71.5 (64.0-79.2)	63.5 (58.1-67.4)	77.5 (73.0-85.5)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	58.9 (50.5-68.5)	55 (49.1-60)	72.8 (68.9-78.1)	1.7 x 10⁻¹⁵	< 2.2 x 10⁻¹⁶
IMT	25.5 (22.9-28.6)	22.57 (21.4-23.5)	28.0 (26.4-30.5)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	21.6 (19.4-24.7)	20.7 (18.9-22.5)	28.0 (26.4-29.6)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	1.6 x 10⁻¹⁴
LP	91.0 (83.0-98.0)	83.0 (78.0-87.0)	97.0 (92.0-101.0)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	81 (73-90)	78 (72-83)	94.0 (91.0-98.0)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	9.5 x 10⁻¹⁴
<i>Wanita, n</i>	106	64	42		140	109	31		
Usia	44.0 (40.0-52.0)	43.0 (39.7-50.0)	44.5 (40.5-52.0)	0.374	49.0 (40.0-61.0)	51.0 (40.0-63.0)	46.0 (40.0-55.0)	0.274	0.008
Tinggi Badan	155.0 (152.0-159.0)	155.5 (152.4-160.0)	154.8 (151.6-158.0)	0.375	151.1 (147.0-154.6)	151.1 (148.0-155.5)	151.0 (145.8-153.3)	0.212	5.9 x 10⁻⁸
Berat Badan	59.6 (54.1-64.3)	55.1 (49.9-59.2)	66.2 (62.5-70.7)	5.9 x 10⁻¹³	50.5 (44.0-57.3)	47.6 (41.3-53.3)	61.5 (58.5-67.4)	2.6 x 10⁻¹³	1.9 x 10⁻¹⁰
IMT	24.3 (22.6-26.4)	23.01 (21.6-23.9)	27.1 (26.3-29.01)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	22.2 (19.03-24.7)	21.3 (18.5-23.1)	27.4 (25.9-29.3)	< 2.2 x 10⁻¹⁶	3.1 x 10⁻⁶
LP	83.0 (79.0-89.5)	80.0 (76.8-85.0)	87.60 (83.2-94.0)	8.9 x 10⁻⁸	78.1 (69.5-86.2)	74.0 (68.5-82.0)	91.0 (86.0-95.1)	5.1 x 10⁻¹²	6.5 x 10⁻⁵

Urban: Desa Legian. *Rural*: Desa Penglipuran, Pedawa, Nusa Ceningan. IMT: Indeks Massa Tubuh, LP: Lingkar Pinggang. Data digambarkan dalam median (Q1-Q3). *p*-value signifikan menggunakan uji Wilcoxon-Mann Whitney U disajikan dengan angka tebal.

3. Frekuensi Genotipe dan Alel

Frekuensi alel minor pada seluruh sampel sebesar 0.43 dan menunjukkan frekuensi alel tidak menyimpang dari kesetimbangan Hardy-Weinberg ($p = 0.396$). Frekuensi alel minor rs9939609 pada *urban* sebesar 0.44 ($p = 0.226$) dan frekuensi alel minor rs9939609 pada *rural* sebesar 0.43 ($p = 0.017$) dapat dilihat pada (Tabel 6). Persentase penduduk *urban* yang memiliki genotipe TT dan AA lebih tinggi daripada penduduk *rural*, namun persentase penduduk *urban* yang memiliki genotipe TA lebih sedikit dibandingkan penduduk *rural* ($p = 0.033$).

Tabel 6. Frekuensi genotipe penduduk *urban* dan *rural*

Genotipe	Total (%)	Urban (%)	Rural (%)	<i>p</i> (Urban vs Rural)
TT	31.3	33.2	29.6	0.033
TA	50.9	45.7	55.8	
AA	17.8	21.1	14.6	
Frekuensi alel minor	0.43	0.44	0.43	
Kesetimbangan Hardy-Weinberg	0.396	0.226	0.017	

Frekuensi alel minor dan Kesetimbangan Hardy-Weinberg dianalisis menggunakan uji Chi-Squared. *P*-value signifikan disajikan dengan angka tebal.

4. Asosiasi *FTO* rs99939609 dengan obesitas dan obesitas sentral

Analisis regresi logistik digunakan untuk menguji asosiasi genotipe gen *FTO* rs9939609 dengan kenaikan IMT dan lingkaran pinggang. Pengujian dilakukan dengan penyesuaian usia dan jenis kelamin sebagai faktor perancu. Baik pada model kodominan (koefisien = 0.96, $p = 0.024$) dan model dominan (koefisien = 0.73, $p = 0.039$), asosiasi alel A dengan obesitas hanya terlihat pada subjek *rural*. Terlepas dari alel yang dimiliki, obesitas dipengaruhi oleh usia dan jenis kelamin sedangkan obesitas sentral hanya dipengaruhi oleh jenis kelamin (Tabel 7).

Tabel 7. Model asosiasi *FTO* rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral

Model Kodominan															
Variabel	Total					Urban					Rural				
	Obesitas		Obesitas Sentral			Obesitas		Obesitas Sentral			Obesitas		Obesitas Sentral		
	f	Koef.	p	Koef.	p	f	Koef.	p	Koef.	p	f	Koef.	p	Koef.	p
TA	0.51	-0.14	0.481	-0.11	0.571	0.46	-0.30	0.279	-0.29	0.305	0.56	0.34	0.314	0.25	0.379
AA	0.18	0.36	0.157	0.12	0.624	0.21	-0.08	0.811	0.11	0.742	0.15	0.96	0.024	0.009	0.981
Usia		-0.01	0.052	-0.01	0.095		0.001	0.901	0.01	0.607		-0.01	0.171	-0.008	0.295
Pria		0.52	0.003	-0.66	< 0.001		0.77	0.002	-0.75	0.005		0.06	0.835	-0.89	< 0.001
Model Dominan															
Variabel	Total					Urban					Rural				
	Obesitas		Obesitas Sentral			Obesitas		Obesitas Sentral			Obesitas		Obesitas Sentral		
	f	Koef.	p	Koef.	p	f	Koef.	p	Koef.	p	f	Koef.	p	Koef.	p
A	0.82	0.45	0.045	0.19	0.390	0.79	0.09	0.750	0.28	0.351	0.85	0.73	0.039	-0.15	0.662
Usia		-0.01	0.053	-0.01	0.096		0.002	0.842	0.06	0.549		-0.01	0.175	-0.01	0.290
Pria		0.52	0.003	-0.66	< 0.001		0.76	0.002	-0.74	0.005		0.05	0.847	-0.89	< 0.001
Model Resesif															
Variabel	Total					Urban					Rural				
	Obesitas		Obesitas Sentral			Obesitas		Obesitas Sentral			Obesitas		Obesitas Sentral		
	f	Koef.	p	Koef.	p	f	Koef.	p	Koef.	p	f	Koef.	p	Koef.	p
A	0.69	-0.01	0.970	-0.05	0.789	0.67	-0.23	0.371	-0.16	0.532	0.71	0.48	0.137	0.20	0.465
Usia		-0.01	0.040	-0.01	0.091		0.001	0.921	0.006	0.639		-0.01	0.182	-0.008	0.287
Pria		0.53	0.003	-0.65	< 0.001		0.77	0.002	-0.71	0.006		0.05	0.841	-0.89	< 0.001

Analisis regresi logistik ordinal, asosiasi rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral dengan penyesuaian usia dan jenis kelamin. Kriteria obesitas ($IMT \geq 25$ kg/m^2) dan obesitas sentral ($LP \geq 90$ cm pada pria, $LP \geq 80$ cm pada wanita). f = frekuensi, p-value signifikan menggunakan uji Wald digambarkan dengan angka tebal.

B. PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan dua kelompok masyarakat di provinsi Bali yaitu *urban* dan *rural*. Kelompok *urban* berasal dari desa Legian di kabupaten Badung, yang merupakan tempat destinasi wisata paling populer di Bali dan membuat desa Legian mendapatkan pengaruh kebudayaan asing yang lebih besar diantara desa-desa lainnya. Kelompok *rural* berasal dari desa Penglipuran di kabupaten Bangli, Pedawa di kabupaten Buleleng, dan Nusa Ceningan di kabupaten Klungkung. Kelompok *rural* relatif lebih sedikit mendapatkan pengaruh kebudayaan asing dan masih mempertahankan kearifan tradisionalnya.

1. Karakteristik Subjek Penelitian

Secara umum penduduk *urban* memiliki tinggi badan, berat badan, indeks masa tubuh, lingkar pinggang yang lebih tinggi dibandingkan dengan penduduk *rural*. Menurut Dubois *et al.* (2011) tinggi badan, berat badan dan indeks massa tubuh dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Tinggi badan yang lebih tinggi pada penduduk *urban* dapat disebabkan oleh faktor genetik, lingkungan maupun nutrisi. Faktor genetik salah satunya terlibat dalam cara kerja hormon tubuh seperti hormon pertumbuhan. Lingkungan prenatal juga mempengaruhi tinggi badan yaitu ibu hamil yang mendapat nutrisi tepat, menghindari merokok, tidak minum alkohol dan memiliki gaya hidup sehat akan memberikan semua yang dibutuhkan oleh janin agar tumbuh sehat. Nutrisi yang baik dapat mempengaruhi tinggi badan dengan baik, sebaliknya nutrisi yang buruk terutama kekurangan protein dapat menyebabkan penyakit pada masa kanak-kanak yang dapat disebabkan oleh infeksi dan menyebabkan pertumbuhan tinggi badan terganggu (Bozzoli *et al.*, 2009).

2. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral pada *urban* dan *rural*

Prevalensi obesitas pada kelompok *urban* lebih besar dibandingkan dengan kelompok *rural* akibat perubahan gaya hidup *urban* lebih tinggi dibandingkan *rural*. Popkin (2002) mengatakan urbanisasi yang cepat pada negara berkembang mengakibatkan perubahan gaya hidup. Hal tersebut menyebabkan perubahan pola

makan yaitu meningkatkan asupan lemak, kolesterol dan kalori yang tinggi serta menurunkan aktifitas fisik. Berdasarkan laporan Riskesdas tahun 2007 dan 2013, terjadi peningkatan prevalensi obesitas dan obesitas sentral di provinsi Bali sekitar 1.5 kali. Namun khusus di daerah *urban*, seperti kabupaten Badung, kenaikannya mencapai lebih dari 2.0 kali (Lampiran 2,3,4 dan 5).

Prevalensi obesitas lebih tinggi pada pria dibandingkan wanita baik pada *urban* maupun *rural*, kemungkinan hal tersebut dipengaruhi oleh jenis pekerjaan yang dimiliki. Penduduk *urban* mengalami perubahan jenis pekerjaan dari bidang pertanian yaitu sebagai petani menjadi bidang perindustrian (pegawai di kantor, pegawai di hotel, menjaga toko dan lain-lain) (Heider, 2007). Hal tersebut mengakibatkan kurangnya aktifitas fisik yang dilakukan dan akan meningkatkan terjadinya obesitas.

Prevalensi obesitas sentral lebih tinggi pada wanita dibandingkan pria baik pada *urban* maupun *rural*, hal tersebut dikarenakan perbedaan proses sosiokultur pada wanita dan pria. Menurut Willer *et al.* (2015), secara keseluruhan stres psikososial terlihat memiliki dampak lebih besar pada wanita dibandingkan dengan pria. Sebagian besar penduduk wanita di Provinsi Bali bekerja. Suyadnya (2006) menjelaskan wanita Bali tidak hanya menjalankan peran rumah tangga mereka tetapi juga peran produksi yang menghasilkan sejumlah uang untuk keluarga mereka, disamping itu wanita yang bekerja dianggap lebih baik daripada wanita yang hanya tinggal dirumah. Menurut Nakatani (2004), wanita Bali memiliki tiga peran, yaitu peran dalam keluarga, pencari nafkah dan dalam adat istiadat. Stress yang tinggi menjadi penyebab dari meningkatnya obesitas sentral pada wanita di Provinsi Bali.

Wanita memiliki hormon esterogen yang berperan dalam pertumbuhan, perkembangan dan fungsi reproduksi, selain itu juga terlibat dalam homeostasis energi (Weigt, 2012). Penurunan kadar estrogen pada wanita selama masa transisi menopause dikaitkan dengan kenaikan berat badan. Selain itu, penambahan bobot badan dan perubahan komposisi tubuh (rasio tinggi lemak/ otot) mengarah pada tingginya insiden obesitas viseral, resistensi insulin, dan DM tipe 2 (Rolland *et al.*, 2007). Penelitian tentang efek terapi penggantian hormon (HRT) pada wanita pasca

menopause menunjukkan penurunan obesitas sentral, lebih rendahnya insiden DM tipe 2 dan peningkatan metabolisme lipid (Willer *et al.*, 2015).

3. Frekuensi Genotip dan Alel

Frekuensi alel minor dari varian gen *FTO* rs9939609 pada keseluruhan sampel sebesar 0.43, lebih besar dari yang telah dilaporkan Lear *et al.* (2011) sebesar 0.17 pada populasi Asia. Beberapa frekuensi alel minor populasi Asia diantaranya Chinese Singapura sebesar 0.13, Chinese sebesar 0.15, Malay Singapura sebesar 0.25, Malaysia sebesar 0.19, Jepang sebesar 0.18 dan India sebesar 0.35. (Apalasyam *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2013, Chey *et al.*, 2013, Vasam *et al.*, 2012 dan Xi *et al.*, 2011). Menurut Kafaret *et al.*, 2005 secara genetik populasi Bali mendapatkan pengaruh dari kromosom Y populasi India sebesar 19%. Oleh karena itu, bisa saja frekuensi alel minor pada populasi Bali tidak berbeda jauh dengan populasi India. Perbedaan frekuensi alel minor pada populasi Eropa sebesar 0.48 (Woehning *et al.*, 2013) dengan Asia kemungkinan disebabkan oleh perbedaan latar belakang genetik. Distribusi genotipe pada keseluruhan sampel ($p = 0.396$) maupun pada penduduk *urban* ($p = 0.226$) tidak menyimpang dari kesetimbangan Hardy-Weinberg, menunjukkan tidak adanya faktor perancu yang dapat merubah frekuensi alel dan genotipe seperti perkawinan antar populasi, aliran gen, *genetic drift* dan lain-lain. Penduduk Bali cenderung menikah dengan sesama penduduk Bali, yang dapat mempengaruhi frekuensi alel dan genotipe penduduk Bali dari satu generasi ke generasi cenderung konstan, namun berbeda pada penduduk *rural* yang memiliki distribusi genotipe yang menyimpang dari kesetimbangan Hardy-Weinberg. Desa Penglipuran salah satunya, memiliki tradisi adat perkawinan yang ketat.

Menurut artikel pada situs Pemerintah Kabupaten Bangli, masyarakat Penglipuran disamping pantang untuk berpoligami juga pantang untuk menikahi tetangga disebelah kanan, kiri juga depan dari rumahnya karena tetangga-tetangganya tersebut sudah dianggap sebagai keluarga sendiri (Dinas Kebudayaan dan Pariwisata Kabupaten Bangli, 2008). Bagi warga yang ingin menikah dengan orang di luar Penglipuran, terdapat beberapa ketentuan yaitu bila mempelai laki-

laki dari Penglipuran maka mempelai perempuan yang dari daerah lain harus masuk menjadi bagian dari adat Penglipuran, namun bila mempelai perempuan dari desa Penglipuran dan laki-lakinya dari adat yang lain, maka bisa saja laki-laki tersebut masuk ke dalam adat Penglipuran dan hidup di desa Penglipuran tetapi dengan konsekuensi laki-laki tersebut dianggap wanita oleh warga lainnya. Artinya tugas-tugas adat yang dilaksanakan adalah tugas untuk para wanita bukan tugas para lelaki (Dinas Kebudayaan dan Pariwisata Kabupaten Bangli, 2008). Pengaruh sosial budaya tersebut menyebabkan penduduk di Desa Penglipuran cenderung menikah dengan sesama penduduk di desa tersebut yang dapat menyebabkan *genetic drift* dan mengakibatkan *gen pool* pada desa Penglipuran tidak mewakili *gen pool* pada populasi yang besar.

4. Asosiasi *FTO* rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral

Asosiasi varian *FTO* rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral dilakukan dengan uji regresi logistik ordinal menggunakan tiga model genetik. Model kodominan digunakan untuk sifat-sifat yang dikontrol oleh sepasang alel kodominan sehingga dengan mudah membedakan individu yang bergenotipe homozigot dominan, heterozigot dan homozigot resesif. Pada model kodominan asosiasi *FTO* rs9939609 dengan kenaikan berat badan ($IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$) terlihat pada penduduk *rural*, namun tidak terlihat pada penduduk *urban*. Hal tersebut kemungkinan terjadi karena faktor lain di luar faktor genetik menutupi pengaruh varian rs9939609 terhadap obesitas sehingga asosiasinya tidak terlihat, meskipun memiliki persentase alel A yang lebih tinggi dari *rural* (Tabel 6). Faktor lingkungan diluar faktor genetik yang dapat mempengaruhi kejadian obesitas antara lain perubahan pola makan dan gaya hidup akibat adanya pengaruh modernisasi.

Model dominan digunakan untuk menganalisis asosiasi genetik yang berhubungan dengan alel dominan. Kelompok pembanding adalah genotipe homozigot *wildtype* dengan alel positif (penggabungan heterozigot dan homozigot untuk variannya). Pada model dominan asosiasi rs9939609 dengan obesitas di *urban* dan *rural* memiliki kecenderungan yang sama dengan model kodominan,

walaupun pada analisis gabungan sampel *urban* dan *rural* menunjukkan adanya asosiasi rs9939609 dengan obesitas ($p = 0.045$).

Model resesif digunakan untuk menganalisis asosiasi genetik yang berhubungan dengan alel resesif. Kelompok pembanding adalah genotipe heterozigot dengan homozigot mutan. Pada model resesif tidak terlihat adanya asosiasi genotipe dengan obesitas dan obesitas sentral baik pada subjek *urban* maupun *rural*.

Obesitas berasosiasi dengan jenis kelamin pria dan berasosiasi negatif dengan usia, yaitu subjek yang mengalami obesitas pada penelitian ini rata-rata berusia muda, seperti menurut Fan *et al.* (2016) bahwa IMT berasosiasi dengan pria pada usia muda, dan asosiasi tersebut akan menurun dengan bertambahnya usia. Carter *et al.* (2011) menunjukkan bahwa kurang tidur yang memadai usia muda dikaitkan dengan peningkatan IMT, pengamatan ini tidak tergantung pada variabel perancu lainnya (misalnya aktivitas fisik). Lebih lanjut menurut Archbold *et al.* (2012) bahwa selama periode 5 tahun IMT meningkat di antara anak-anak di atas 6 sampai 11 tahun dikaitkan dengan peningkatan tekanan darah sistolik dan diastolik, serta waktu tidur berkurang. Pada obesitas sentral terlihat asosiasi obesitas sentral dengan jenis kelamin pria. Eyben *et al.* (2003) melaporkan pria memiliki jaringan adiposa intra-abdominal yang lebih besar dibandingkan wanita.

Provinsi Bali sebagai salah satu destinasi wisata yang populer di Indonesia cenderung mengalami perubahan gaya hidup akibat adanya modernisasi, terutama di desa Legian. Hal tersebut menyebabkan prevalensi obesitas pada desa Legian (*urban*) lebih tinggi dibandingkan desa-desa lainnya (*rural*). Penduduk di desa Legian beralih jenis profesi dari petani atau nelayan menjadi pekerja di toko, kantor, hotel dan lain-lain, menyebabkan kurangnya aktivitas fisik yang dilakukan. Selain itu peningkatan taraf ekonomi penduduk Legian menyebabkan tingginya konsumsi karbohidrat, lemak dan kolesterol.

Beberapa kepustakaan menyebutkan bahwa lingkungan *urban* dapat meningkatkan risiko genetik obesitas dari rs9939609 di India (Taylor *et al.*, 2011; Vasan *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian sebelumnya didapatkan bahwa dengan IMT yang sama persentase lemak tubuh orang India lebih tinggi dibandingkan

orang Cina dan Malay, termasuk juga orang Indonesia yang didominasi populasi Malay (Deurenberg-yap *et al.*, 2000). Oleh karena itu tidak terlihat asosiasi antara gen *FTO* dengan obesitas di *urban*. Faktor lain diluar genetik seperti tingginya asupan kolesterol, lemak dan karbohidrat serta konsumsi alkohol, kurangnya aktifitas fisik dan lingkungan yang menyebabkan stress pada penduduk *urban* mungkin menyebabkan tertutupnya asosiasi gen *FTO* rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral secara genetik.

Tidak terlihatnya asosiasi gen *FTO* rs9939609 dengan obesitas dan obesitas sentral perlu diinterpretasikan secara hati-hati, disamping kemungkinan ada faktor lingkungan yang menutupi asosiasi ini juga dikarenakan jumlah sampel yang kecil. Hal tersebut merupakan keterbatasan dari penelitian ini. Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengkonfirmasi peran variasi gen *FTO* rs9939609 sebagai faktor risiko genetik obesitas di Bali dan daerah lain di Indonesia. Penelitian awal ini diharapkan dapat memberi landasan berpikir awal bagi penelitian serupa di masa depan.

BAB V

KESIMPULAN, IMPLIKASI, DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Prevalensi obesitas dan obesitas sentral pada penduduk *urban* lebih tinggi dibandingkan penduduk *rural* di populasi Bali.
2. Frekuensi alel minor varian gen *FTO* rs9939609 dalam penelitian ini sebesar 0.43.
3. Asosiasi varian *FTO* rs9939609 dengan obesitas hanya terlihat pada penduduk *rural*. Obesitas dan obesitas sentral pada penduduk *urban* cenderung terjadi pada subjek pria, sedangkan pada penduduk *rural* hanya obesitas sentral yang terlihat pada subjek pria. Obesitas berasosiasi negatif dengan usia dan berasosiasi dengan jenis kelamin.

B. IMPLIKASI

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya untuk mendeteksi asosiasi varian *FTO* dengan obesitas secara molekuler sebagai faktor risiko obesitas, serta berguna dalam menyediakan informasi prevalensi obesitas di Provinsi Bali.

C. SARAN

Hasil analisis menunjukkan indikasi asosiasi varian gen *FTO* rs9939609 dengan obesitas pada penduduk *rural*, namun untuk studi lanjutan diperlukan jumlah sampel darah yang lebih banyak untuk menginformasi hasil yang didapat. Juga diperlukan untuk mempelajari varian gen *FTO* lain yang terkait dengan rs9939609. Disamping itu perlu dilakukan penelitian lebih mendalam terhadap faktor-faktor risiko lain di luar faktor risiko genetik.

DAFTAR PUSTAKA

- Apalاسamy YD., Ming MF., Rampal S., Bulgiba A., Mohamed Z. 2012. Genetic association of SNPs in the *FTO* gene and predisposition to obesity in Malaysian Malays. *Braz J Med Biol Res.* 45(12):1119-1126. doi: 10.1590/S0100-879X2012007500134
- Archbold KH., Vasquez MM., Goodwin JL., Quan SF. 2012. Effects of sleep patterns and obesity on increases in blood pressure over a 5-year period: Report from the Tucson Childrens Assessment of Sleep Apnea Study. *J Pediatr.* 161(1): 26–30. doi:10.1016/j.jpeds.2011.12.034.
- [ADA] American Diabetes Association. 2008. Diagnosis and Clasification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care*, 31(1).
- [Balitbangkes] Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI. 2009. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Provinsi Bali*. Jakarta: Balitbangkes Kemenkes RI.
- _____. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Balitbangkes Kemenkes RI.
- Baker, K., Beales, PL. 2009. Making sense of cilia in disease : the human ciliopathies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 151C(4): 281–295. doi: 10.1002/ajmg.c.30231.
- Basit, A., Shera, AS. 2008. Prevalence of Metabolic syndrome in Pakistan. *Metab Syndr Relat Disord.* 6(3): 171-175. doi: 10.1089/met.2008.0005.
- Berezky, S., Martensson, A., Gil, JP., Farnert. 2005. A: Short report: rapid DNA extraction from archive blood spots on filter paper for genotyping of *Plasmodium falciparum*. *Am J Trop Med Hyg.* 72: 249–251
- Berulava, T. and Horsthemke, B. 2010. The obesity-associated SNPs in intron 1 of the *FTO* gene affect primary transcript levels. *European Journal of Human Genetics.* 18: 1054-1056.
- Bozzoli, C., Deaton, A. and Quintana-Domeque, C. 2009. Adult height and childhood disease. *Demography.* 46, 647–669.
- Butler, J.M. 2005. *Short tandem repeat analysis for human identity testing. STR Typing current protocols in human genetic unit*. New York, NY: Elsevier Academic Press: p. 1-37.

- _____. 2001. *Forensic DNA typing*. United Kingdom: Elsevier Academic Press: p. 13-55.
- Carter PJ., Taylor BJ., Williams SM., Taylor RW. 2011. Longitudinal analysis of sleep in relation to BMI and body fat in children: The FLAME study. *BMJ*. 342: d2712.
- Cha, SW., Choi, SM., Kim, KS., Park, BL., Kim, JR., Kim, JY., Shin, HD. 2008. Replication of genetic effects of FTO polymorphisms on BMI in a Korean population. *Obesity*. 16: 2187–2189. doi:10.1038/oby.2008.314.
- Chen, L., Maqliano, DJ., Zimmet, PZ. 2011. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus-present and future perspective. *Nat Rev Endocrinol*. 8(4): 228-236.
- Chey WW., Fan SH., Say YH. 2013. Association of Fat Mass and Obesity-Associated (FTO) Gene rs9939609 Variant with Obesity Among Multi-Ethnic Malaysians in Kampar, Perak. *Sains Malaysiana*. 42(3):365-371.
- Church, C., Moir, L., McMurray, F., Girard, C., Banks, GT., Teboul, L., Wells S., *et al.* 2010. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat Genet*. 42(12): 1086-1092. doi:10.1038/ng.713.
- Cox, EM. and Elelman, D. 2009. Test for screening and diagnosis of type 2 diabetes. *Clin Diabetes*. 4(27): 132-138 .
- De Armas, Y., Capo, V., Gonzalez, E., Mederos, L., Diaz, R. 2006. DNA extraction from paraffin embedded tissues by Chelex-100. *Rev Esp Patol*. 39: 171-174.
- Deurenberg-Yap M., Schmidt G., Staveren van WA., Deurenberg P. 2000. The paradox of low body mass index and high body fat percentage among Chinese, Malays and Indians in Singapore. *International Journal of Obesity*. 24: 1011–1017.
- Dina, C., Meyre, D., Gallina, S., Durand, E., Körner, A., Jacobson, P., Carlsson LM., *et al.* 2007. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet*. 39: 724–726.
- [Disbudpar] Dinas Pariwisata dan Kebudayaan Kabupaten Bangli. 2008. “Desa Adat Peglipuran”. Diambil di <https://disbudpar.banglikab.go.id/index.php/bacaartikel/156/disbudpar.kalbarprov.go.id/>. 24 Juli 2017 (09.20-09.30).
- Edberg, A., Aronsson, F., Johansson, E., Wikander, E., Ahlqvist, T., Fredlund, H. 2009. Endocervical swabs transported in first void urine as combined specimens in the detection of Mycoplasma genitalium by real-time PCR. *J Med Microbiol*. 58: 117-120.

- Eyben von FE., Mouritsen E., Holm J., Montvilas P., Dimcevski G., Suci G., Helleberg I., *et al.* 2003. Intra-abdominal obesity and metabolic risk factors: a study of young adults. *International Journal of Obesity*. 27: 941-949.
- Fan, JB., Chee, MS., Gunderson, KL. 2006. Highly parallel genomic assays. *Nat Rev Genet*. 7(8): 632–644.
- Fan H., Li X., Zheng L., Chen X., Lan Q., Wu H., Ding X., *et al.* 2016. Abdominal obesity is strongly associated with Cardiovascular Disease and its Risk Factors in Elderly and very Elderly Community-dwelling Chinese. *Scientific reports*. 6: 21521. Doi: 10.1038/srep21521
- Fauci, AS., Kasper DI., Longo DL., Braunwald E., Hauser SI., Jameson JL. 2008. Harrison's Principles of Internal Medicine 17th Edition. USA: McGraw-Hill. p 1594-1552.
- Fawwad, A., Siddiqui, IF., Zeeshan, NF., Shahid, SM., Basit, A. 2015. Association of SNP rs9939609 in FTO gene with metabolic syndrome in type 2 diabetic subjects, recruited from a tertiary care unit of Karachi, Pakistan. *Pak J Med Sci*. 31(1): 140-145.
- Frayling, TM., Timpson, NJ., Weedon, MN., Zeggini, E., Freathy, RM., Lindgren, C.M., Perry JRB., *et al.* 2007. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and Predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 316(5826): 889–894. doi: 10.1126/science.1141634.
- Genuth, S., Alberti, KG., Bennett, P., Bennett, P., Buse, J., DeFronzo, R., Kitzmiller J., *et al.* 2003. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 26: 3160–3167.
- Gerken, T., Girard, CA., Tung, Y-CL., Webby, CJ., Saudek, V., Hewitson, KS., Yeo GSH., *et al.* 2007. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science*. 318(5855): 1469-1472. Doi:10.1126/science.1151710.
- Gotera, Wira., Suka Aryana., Ketut Suastika., *et al.* 2006. Hubungan Antara Obesitas Sentral Dengan Adiponektin Pada Pasien Geritari Dengan Penyakit Jantung Koroner. Denpasar: FK Unud/RSUP Sanglah. (Diakses tanggal 12 Juli 2017).
- Groop, L. 2007. From fused toes in mice to human obesity. *Nature Genetics*. 39: 706-707. Doi:10.1038/ng0607-706.
- Gu, HF., Alvarsson, A., Brismar, K. 2010. The Common FTO Genetic

- Polymorphism rs9939609 is Associated with Increased BMI in Type 1 Diabetes but not with Diabetic Nephropathy. *Biomarker Insights*. 5: 29-32. Doi: 10.4137/BMIS4599.
- Guyton AC, Hall JE. 2006. Textbook of Medical Physiology 11th Edition. USA: Elsevier Saunders. p 865-873.
- Hebebrand, J., Sommerlad, C., Geller, F., Gorg, T., Hinney, A. 2001. The genetics of obesity: practical implications. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 25: 10-17.
- Heider, K.G. 2007. Seeing Anthropology: Cultural Anthropology Through Film. Boston, MA:Pearson. Chapters 1 through 3.
- Herrera, BM., Keildson, S., Lindren, MC. 2011. Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas*. 69(1): 41–49. Doi: 10.1016/j.maturitas.2011.02.018
- Hotta K., Nakata Y., Matsuo T., Kamohara S., Kotani K., Komatsu R., Itoh N., *et al.* 2008. Variations in the FTO gene are associated with severe obesity in the Japanese. *J Hum Genet*. 53:546-553. Doi 10.1007/s10038-008-0283-1
- [IDF] International Diabetes Federation. 2006. *The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome*. International Diabetes Federation (IDF).
- Ingelsson, E., Sullivan, LM., Fox, CS., Murabito, JM., Benjamin, EJ., Polak, JF., Meigs JB., *et al.* 2007. Burden and prognostic importance of subclinical cardiovascular disease in overweight and obese individuals. *Circulation*. 116: 375-384. Doi:10.1161/ CIRCULATIONAHA.107.688788.
- James, WPT., Chen, C., Inoue, S. 2002. Appropriate Asian body mass indices? *Obesity Rev*. 3: 139.
- Kafaret, TM., Lansing JS., Redd AJ., Watkins JC., Surata SPK., Arthawiguna WA., Mayer L., *et al.* 2005. Balinese Y-Chromosome Perspective on the Peopling of Indonesia: Genetic Contributions from Pre-Neolithic Hunter-Gatherers, Austronesian Farmers, and Indian Treaders. *Human Biology*. 77(1): 93–113
- Kawajiri, T., Osaki, Y., Koshimoto, T. 2012. Association of Gene Polymorphism of the Fat Mass and Obesity Associated Gene with Metabolic Syndrome: A Retrospective Cohort Study in Japanese Workers. *Yonago Acta Medica*. 55: 29-40.
- Kelly, T., Yang, W., Chen, CS., Reynolds, K., He, J. 2008. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)*. 32: 1431-1437.

- Knuppel S., Rohde K., Drohan D., Holzhutter H-G., Boeing H., Fisher E. 2013. Evaluation of 41 Candidate Gene Variants for Obesity in the EPIC-Postdam Cohort by Multi-Locus Stepwise Regression. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068941> [17 April 2017].
- Lear S.A., Deng W.Q., Pare G., Sulistyoningrum D.C., Loors R.J.F., Devlin A. 2011. Associations of the FTO rs9939609 variant with discrete body fat depots and dietary intake in a multi-ethnic cohort. *Genet. Res., Camb.* 93: 419-426. Doi:10.1017/S001667231100036X.
- Li, H., Kilpelainen, TO., Liu, C., Zhu, J., Liu, Y., Hu, C., Yang Z., *et al.* 2012. Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes with data from 96,551 East and South Asians. *Diabetologia.* 55: 981–995. Doi 10.1007/s00125-011-2370-7.
- Lin Y., Ueda J., Yagyu K., Ishii H., Ueno M., Egawa N., Nakao H., *et al.* 2013. Association between variations in the fat mass and obesity-associated gene and pancreatic cancer risk: a case–control study in Japan. *BMC Cancer.* 13:337.
- Lindi, VI., Unsitupa, IJM., Lindstrom, J., Louheranta, A., Eriksson, GJ., Valle, TT. 2002. Association of the Pro12Ala polymorphism in the PPAR-gamma2 gene with 3-year incidence of type 2 diabetes and body weight change in the finnish diabetes prevention study. *Diabetes.* 51: 2581–2586.
- Little, S. 2001. Amplification-refractory mutation system (ARMS) analysis of point mutation. *Curr Protoc Hum Genet.* 9: 98. Doi:10.1002/0471142905.hg0908s07.
- Lofgren I., Herron K., Zern T., West K., Patalay M., Shachter NS., Koo SI., *et al.* 2004. Waist Circumference Is a Better Predictor than Body Mass Index of Coronary Heart Disease Risk in Overweight Premenopausal Women. *J Nutr.* 134(5): 1071-6
- Lombard, Z., Crowther, NJ., Van der Merwe, L., Pitember, P., Norris, SA., Ramsay, M. 2012. Appetite regulation genes are associated with body mass index in black South African adolescents: a genetic association study. *BMJ Open.* 2: e000873. Doi:10.1136/bmjopen-2012-000873.
- Loors, RJ. and Bouchard, C. 2008. FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes Rev.* 9: 246–250.
- Lowell BB and Bachman ES. 2003. Adrenergic receptors, diltiazem-induced thermogenesis, and obesity. *J Biol Chem.* 278: 29385-29388

- Malik, GS., Saraswati, RM., Suastika, K., Trimarsanto, H., Oktavianthi, S., Sudoyo, H. 2011. Association of beta3-adrenergic receptor (ADRB3) Trp64Arg gene polymorphism with obesity and metabolic syndrom in Balinese: a pilot study. *BMC Research Notes*. 4: 167.
- Mei, H., Chen, W., Srinivasan, S.R., Jiang, F., Schork, N., Murray, S., So J.D, *et al.* 2010. *Hum Genet*. 128(6): 589-596. Doi: 10.1007/s00439-010-0883-7.
- Misnadiarly. 2007. *Obesitas sebagai Faktor Resiko beberapa Penyakit*. Jakarta: Pustaka Obor Populer.
- Moyer, VA. 2012. U.S. Preventive Services Task Force. Screening for and management of obesity in adults. *Ann Intern Med*. 157(5): 373-378.
- [NIDDK] National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. (2014). Insulin Resistance and Prediabetes. NIH Publication No. 14-4893.
- Nakatani, A. 2004. "Perempuan Bali dalam Tiga Peran" in: *Majalah Mingguan Tokoh*. No. 298/Tahun VI, 29 Agustus-4 September, pp. 23-29.
- Newton, C. 1989. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res*. 17: 2503-2516
- Oktavianthi S., Trimarsanto H., Febinia C.A., Suastika K., Saraswati M.R., Dwipayana P., Arindrarto W., *et al.* 2012. Uncoupling protein 2 gene polymorphisms are associated with obesity. *Cardiovascular Diabetology*. 11: 41.
- Ostman J, Britton M, Jonsson E. 2004. Treating and Preventing Obesity An Evidence Based Review. Weinheim: Wiley. p 15-25.
- Papalia, DE., Sterns, HL., Feldman, .D., Camp, CJ. 2007. *Adult Development and Aging* (3rd Edition). New York, NY: McGraw-Hill.
- Pausova, Z., Syme, C., Abrahamowicz, M., Xiao, Y., Leonard, G.T., Perron, M., Richer L., *et al.* 2009. A Common Variant of the FTO Gene Is Associated With Not Only Increased Adiposity but Also Elevated Blood Pressure in French Canadians. *Circ Cardiovasc Genet*. 2: 260-269.
- Patlak M. 2002. New weapons to combat an ancient disease: treating diabetes. *FASEB J*. 16(14): 1853.
- Phillips, K., McCallum, N., Welch, L. 2012. A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100® and the QIAGEN DNA Investigator Kit (manual and automated). *Forensic Sci Int Genet*. 6: 282-285.

- Popkin, B.M. 2002. The shift in stages of the nutrition transition in the developing world differs from past experiences!. *Public Health Nutr.* 5: 205–214.
- Rosmond, R. 2003. Association studies of genetic polymorphisms in central obesity: a critical review. *International Journal of Obesity.* 27: 1141-1151.
- Schwartz MW., Woods SC., Porte D. Jr., Seeley RJ., Baskin DG. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 404:661 – 671.
- Scott, LJ., Mohlke, KL., Bonnycastle, LL., Willer, CJ., Li, Y., Duren, WL., Erdos MR., *et al.* 2007. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science.* 316(5829): 1341–1345. Doi:10.1126/science.1142382.
- Scuteri, A., Sanna, S., Chen, W-M., Uda, M, Albai, G., Stait, J., Najjar S., *et al.* 2007. Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the FTO Gene Are Associated with Obesity-Related Traits. *PloS Genetics.* 3: 1200-1210.
- Speakman, JR., Rance, A., Johnstone, AM. 2008. Polymorphisms of the FTO gene are associated with variation in energy intake, but not energy expenditure. *Obesity.* 16: 1961–1965.
- Stratigopoulos, G., LeDuc, CA., Cremona, ML., Chung, WK., Leibel, RL. 2011. Cut-like homeobox 1 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIP1L) genes and coordinates leptin receptor signaling. *J Biol Chem.* 286(3): 2155-2170. Doi: 10.1074/jbc.M110.188482.
- Stratigopoulos, G., Padilla S., LeDuc, CA., Watson E., Hattersley AT., McCarthy MI., Zeltser LM., *et al.* 2008. Regulation of *Fto/Ftm* gene expression in mice and humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 294(4): R1185–R1196. doi:10.1152/ajpregu.
- Suastika, K., Dwipayana, P., Saraswati, IMR., Gotera, W., Budhiarta, AAG., Sutanegara, IND, Gunadi IGN, *et al.* 2011. Prevalence of obesity, metabolic syndrome, impaired Fasting Glycemia, and diabetes in selected villages of Bali, Indonesia, *Journal of the ASEAN Federation of Endocrine Societies.* 26(2): 159–162. Doi: 10.15605/jafes.026.02.14.
- Sumanto, Agus. 2009. *Tetap Langsing dan Sehat dengan Terapi Diet.* Jakarta: ArgoMedia Pustaka.

- Suryani, Anita. 2009. Prevalensi Obesitas pada Anak Taman Kanak-kanak di Kelurahan Cikini, Kecamatan Menteng, DKI Jakarta, dan Hubungannya dengan Konsumsi ASI. Jakarta: FK-UI
- Suyadnya IW. 2006. Balinese Women and Identities: Are They Trapped in Traditions, Globalization of Both?. Malang: Brawijaya University.
- Tang L., Ye H., Hong Q., Chen F., Wang Q., Xu L., Bu S., et al. 2014. Meta-analyses between 18 candidate genetic markers and overweight/obesity. *Diagnostic Pathology*. 9:56.
- Taylor AE., Sandeep MN., Janipalli CS., Giambartolomei C., Evans D.M., Kumar MVK., Vinay DG., et al. 2011. Associations of *FTO* and *MC4R* Variants with Obesity Traits in Indians and the Role of Rural/Urban Environment as a Possible Effect Modifier. *Journal of Obesity*. 7.
- Vasan SK., Fall T., Neville MJ., Antonisamy B., Fall CH., Geethanjali FS. Gu H.F., et al. 2012. Association of Variants in *FTO* and Near *MC4R* with Obesity Traits in South Asian Asia. *Obeisty*. 20: 2268-2277. doi:10.1038/oby.2012.64
- Wardle, J., Lewellyn, C., Sanderson, S., Plomin, R. 2009. The *FTO* gene and measured food intake in children. *International Journal of Obesity*. 33: 42–5.
- Wildman RP., Gu D., Reynolds K., Duan X., He J. 2004. Appropriate body mass index and waist circumference cutoffs for categorization of overweight and central adiposity among Chinese adults. *Am J Clin Nutr*. 80:1129 –36.
- Willer AK., Harreiter J., Pacini G. 2015. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine Review*. 0163-769X. doi: 10.1210/er.2015-1137.
- Woehning A., Schultz J-H., Roeder E., Moeltner A., Isermann B., Nawroth PP., Wolfrum C, et al. 2013. The A-allele of the common *FTO* gene variant rs9939609 complicates weight maintenance in severe obese patients. *International Journal of Obesity*. 37: 135-139.
- Woods SC. and Seeley RJ. 2002. Understanding the physiology of obesity: review of recent developments in obesity research. *International Journal of Obesity*. 26, Suppl 4: S8-S10.
- [WHO] World Health Organization. 2000. The Asia-Pacific perspective: redefining obesity and its treatment. Melbourne: Health Communications Australia. ISBN 0-9577082-1-1.
- _____. 2003. Global strategy on diet, physical activity and health: obesity and overweight. Switzerland: WHO.

_____. 2000. The Asia-Pacific perspective: Redefining Obesity and its Treatment. World Health Organization, International Obesity Task Force, International Association for the Study of Obesity. Hong Kong.

_____. 2008. Waist Circumference and Waits-Hip Ratio. Report of a WHO Expert Consultation. Geneva: WHO.

_____. 2016. “*Obesity*”. <http://www.who.int/topics/obesity/en/>. [11 Oktober 2016].

Xi B., Wang C., Wang R., Huang Y. 2011. *FTO* gene polymorphisms are associated with obesity and type 2 diabetes in East Asian Populations: An Update. *Journal of obesity*. 18(2).

You, FM., Hou, N., Gu, YG., Lou, M-C., Ma, Y., Hane, D., Anderson, O.D. 2008. BatchPrimer3: A high throughput web application for PCR and sequencing primer design. *BMC Bioinformatic*. 9: 253. Doi:10.1186/1471-2105-9-253.

Lampiran 1. Surat Persetujuan Etik Penelitian



MINISTRY OF RESEARCH, TECHNOLOGY AND HIGHER EDUCATION
EIJKMAN INSTITUTE FOR MOLECULAR BIOLOGY
Jalan Diponegoro 69, Jakarta 10430, Indonesia
Telp +62 21 3917131/3148695 | Fax + 62 21 3147982
www.eijkman.go.id | info@eijkman.go.id

THE EIJKMAN INSTITUTE FOR MOLECULAR BIOLOGY

Project Number
(For Official Use Only)

1	0	7
---	---	---



EIJKMAN INSTITUTE RESEARCH ETHICS COMMISSION

ETHICAL APPROVAL

Eijkman Institute Research Ethics Commission (EIREC) has convened a meeting on 3rd February 2017 as requested by the Director of Eijkman Institute for Molecular Biology, to review the proposal entitled: **“Interaction between genetic predisposition, mitochondrial epigenetic, telomere length and lifestyle on the pathogenesis of non-communicable diseases”** with Sukma Oktavianthi, SSI. **M.Biomed** as the Principal Investigator.

After considering the ethical aspects of there search project, EIREC has decided to give the ethical approval for the above study for 2 (two) years from the date this approval is given.

Jakarta, 6th February 2017

Prof. Dr. R. Sjamsuhidajat
Chairman

Lampiran 2. Proporsi status gizi penduduk dewasa (>18 Tahun) berdasarkan kategori IMT menurut Kabupaten/kota di Bali (Balitbangkes, 2007)

Kabupaten	Obesitas (%)
Jembrana	8,7
Tabanan	12,6
Badung	9,6
Gianyar	9,0
Klungkung	9,0
Bangli	6,4
Karang Asem	6,3
Buleleng	7,0
Kota Denpasar	15,2
Provinsi Bali	9,8

Keterangan: Kategori obesitas ≥ 27 kg/m².

Lampiran 3. Proporsi status gizi penduduk dewasa (>18 Tahun) berdasarkan kategori IMT menurut Kabupaten/kota di Bali (Balitbangkes, 2013)

Kabupaten	Obesitas (%)
Jembrana	17,9
Tabanan	17,6
Badung	22,6
Gianyar	10,8
Klungkung	13,2
Bangli	11,0
Karang Asem	10,4
Buleleng	12,3
Kota Denpasar	17,6
Provinsi Bali	15,5

Keterangan: Kategori obesitas ≥ 27 kg/m²

Lampiran 4. Prevalensi obesitas sentral pada penduduk umur ≥ 15 tahun menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali (Balitbangkes, 2007)

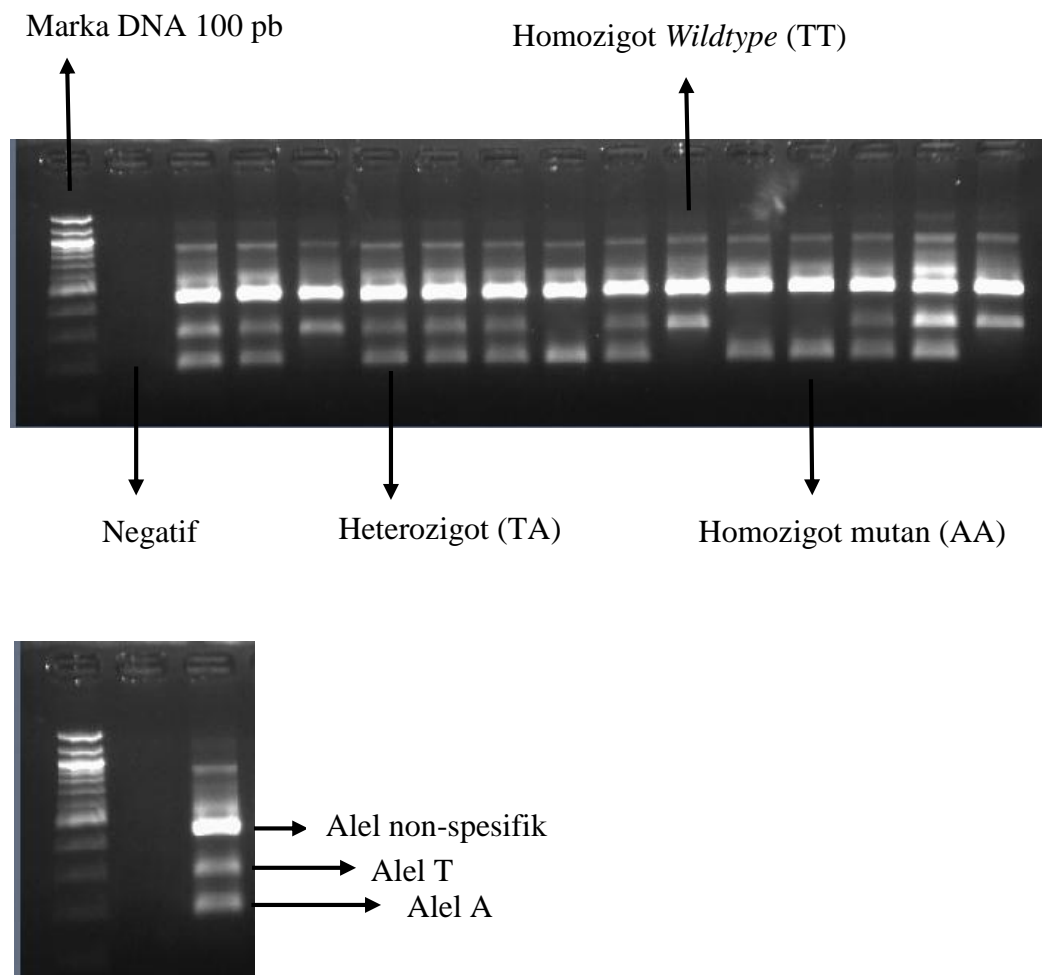
Kabupaten/Kota	Obesitas Sentral (LP;L>90, P>80) *
Jembrana	17,2
Tabanan	18,2
Badung	14,4
Gianyar	18,0
Klungkung	14,1
Bangli	11,8
Karang Asem	11,6
Buleleng	12,8
Denpasar	24,3
Provinsi Bali	16,4

Keterangan: *) LP=Lingkar perut; L=Laki-laki; P=Perempuan; unit satuan=cm

Lampiran 5. Proporsi obesitas sentral pada penduduk umur ≥ 15 tahun menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali (Balitbangkes, 2013)

Kabupaten/Kota	Obesitas Sentral (LP;L>90, P>80) *
Jembrana	29
Tabanan	28,2
Badung	32,2
Gianyar	17,2
Klungkung	24,5
Bangli	21,6
Karang Asem	17,2
Buleleng	21,5
Denpasar	24,2
Provinsi Bali	24,2

Keterangan: *) LP=Lingkar perut; L=Laki-laki; P=Perempuan; unit satuan=cm

Lampiran 6. Hasil visualisasi elektroforesis gel.

Keterangan: Hasil visualisasi gel agarosa. Konsentrasi gel agarosa sebesar 2%. Marka DNA yang digunakan sebesar 100 pb. Panjang amplicon untuk alel non-spesifik rs9939609 sebesar 436 pb, alel T sebesar 293 pb dan alel A sebesar 201 pb.

Lampiran 7. R skrip uji hipotesis distribusi data

```

#Deklarasi variabel
setwd("C:\\Users\\Ria Hasnita\\Documents\\R")
data1<-read.csv(file="E:\\SKRIPSI\\SPS\\Excell\\data_sampel_fiks.csv",
                sep = ";", header = TRUE, quote = "", dec = ",")
library(psych)
describeBy(data1,group = data1$population)
describeBy(data1,group = data1$sex)

#Pengelompokan jenis kelamin
male <- subset(data1, data1$sex == "M")
female <- subset(data1, data1$sex == "F")
data1$height_m <- data1$h*0.01

#Pengelompokan IMT
data1$cBMI [data1$BMI <25] <- 1
data1$cBMI [data1$BMI >=25] <- 2
data1$cBMI <- as.factor(data1$cBMI)
Normal <- subset (data1, data1$cBMI == "1")
Obese <- subset (data1, data1$cBMI == "2")

#Uji Normalitas
shapiro.test (Normal$age)
shapiro.test (Normal$h)
shapiro.test (Normal$w)
shapiro.test (Normal$BMI)
shapiro.test (Normal$wc)

shapiro.test (Obese$age)
shapiro.test (Obese$h)

```



```
shapiro.test (Obese$w)
```

```
shapiro.test (Obese$BMI)
```

```
shapiro.test (Obese$wc)
```

```
#Uji Non-Parametrik
```

```
wilcox.test(Normal$age, Obese$age)
```

```
wilcox.test(Normal$h, Obese$h)
```

```
wilcox.test(Normal$w, Obese$w)
```

```
wilcox.test(Normal$BMI, Obese$BMI)
```

```
wilcox.test(Normal$wc, Obese$wc)
```

```
summary(data1)
```

Lampiran 8. R skrip uji kesetimbangan Hardy-Weinberg

```
#Deklarasi variabel
setwd("C:\\Users\\Ria Hasnita\\Documents\\R")
data1<-read.csv(file="E:\\SKRIPSI\\SPS\\Excell\\data_sampel_fiks.csv",
                sep = ";", header = TRUE, quote = "", dec = ",")

#Pengelompokkan alel
wildtype <- subset(data1, data1$allele == "TT")
hetero <- subset(data1, data1$allele == "TA")
homo <- subset(data1, data1$allele == "AA")

library(HardyWeinberg)
rs993 <- genotype(data1$allele, sep="")

HWE.exact(rs993)
summary(rs993)
```

Lampiran 9. R skrip asosiasi gen *FTO* dengan obesitas dan obesitas sentral

```
#Deklarasi variabel
```

```
setwd("C:\\Users\\Ria Hasnita\\Documents\\R")
```

```
data1<-read.csv(file="E:\\SKRIPSI\\SPS\\Excell\\data_sampel_fiks.csv",
                sep = ";", header = TRUE, quote = "", dec = ",")
```

```
Normal <- subset (data1, data1$BMI == "0")
```

```
Obese <- subset (data1, data1$BMI == "1")
```

```
data1$central_ob <- as.numeric(ifelse(data1$sex=="M", data1$wc >=90, data1$wc
>=80))
```

```
noncentral_obes <- subset (data1, data1$central_ob == "0")
```

```
central_obes <- subset (data1, data1$central_ob == "1")
```

```
data1$central_ob <- as.factor(data1$central_ob)
```

```
#Pengelompokkan alel kodominan
```

```
data1$allele_codom[data1$allele == "TT"] <- "1"
```

```
data1$allele_codom[data1$allele == "TA"] <- "2"
```

```
data1$allele_codom[data1$allele == "AA"] <- "3"
```

```
#Pengelompokkan alel dominan
```

```
data1$allele_dom[data1$allele == "TT"] <- "1"
```

```
data1$allele_dom[data1$allele == "TA"] <- "1"
```

```
data1$allele_dom[data1$allele == "AA"] <- "2"
```

```
#Pengelompokkan alel resesif
```

```
data1$allele_rec[data1$allele == "TT"] <- "1"
```

```
data1$allele_rec[data1$allele == "TA"] <- "2"
```

```
data1$allele_rec[data1$allele == "AA"] <- "2"
```

```
data1$allele_codom <- as.factor(data1$allele_codom)
data1$allele_dom <- as.factor(data1$allele_dom)
data1$allele_rec <- as.factor(data1$allele_rec)

#Uji regresi logistik ordinal
library(rms)
print( lrm(cBMI ~ allele_codom + age + sex, data=data1) )
print( lrm(cBMI ~ allele_dom + age + sex, data=data1) )
print( lrm(cBMI ~ allele_rec + age + sex, data=data1) )

print( lrm(central_ob ~ allele_codom + age + sex, data=data1) )
print( lrm(central_ob ~ allele_dom + age + sex, data=data1) )
print( lrm(central_ob ~ allele_rec + age + sex, data=data1) )
```

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Ria Hasnita, lahir di Jakarta pada tanggal 17 April 1993, Putri keenam dari Bapak Hasan dan Ibu Nur Baini. Bertempat tinggal di Jatiwaringin, Jakarta Timur. Penulis memulai pendidikan formal di SD Negeri 12 Petang, Jakarta Timur dan lulus pada tahun 2005. Melanjutkan di SMP Negeri 109 Jakarta dan lulus pada tahun 2008, kemudian melanjutkan di SMA Negeri 61 Jakarta dan lulus pada tahun 2011. Pada tahun 2013, penulis diterima di prodi Biologi, Universitas Negeri Jakarta melalui jalur SBMP (Seleksi Bersama Masuk Perguruan).

Penulis telah mengikuti berbagai studi lapangan, yaitu Cakrawala Biologi (CABI) dan Studi Ilmiah Biologi (SIMBOL). Selama masa perkuliahan, penulis pernah mendapatkan penghargaan dari Jurusan Biologi UNJ atas keberhasilan memperoleh Indeks Prestasi Tertinggi ke-3 pada tahun 2015. Penulis mendapatkan Beasiswa Karya Salemba Empat pada tahun 2014-2015 dan Beasiswa Bazma Pertamina pada tahun 2015-2017.

Penulis telah melakukan Praktik Kerja Lapangan di Lembaga Biologi Molekuler Eijkman selama 4 bulan dari Agustus 2017 hingga Desember 2017 serta telah mengikuti berbagai seminar yang terkait dengan bidang penelitian. Pada tahun 2017, penulis berkesempatan menjadi Poster Presenter yang berjudul “The *FTO* rs9939609 Polymorphism is Associated with Obesity in the Balinese” pada acara 6th International Eijkman Conference.