

## Identifikasi *Single Nucleotide Variation* (SNV) -1082 A/G (rs1800896) Gen Interleukin 10 (IL-10) pada Penderita Tuberkulosis Menggunakan Metode ARMS-PCR

*Identification of Single Nucleotide Variation (SNV) -1082 A/G Gen Interleukin  
10 (IL-10) in Tuberculosis Patients Using ARMS-PCR Method*

Aninda Hana Nurhidayah<sup>1</sup>, Dewi Saroh<sup>2\*</sup>

<sup>1,2</sup>)Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional  
Jl. Solo Baki Kwarasan, Sukoharjo, Indonesia.

\*Corresponding author : [dewisaroh@stikesnas.ac.id](mailto:dewisaroh@stikesnas.ac.id)

### ABSTRAK

DOI:  
[10.30595/jrst.v10i1.26435](https://doi.org/10.30595/jrst.v10i1.26435)

#### Article information:

Received:  
03/05/2025

Revised:  
08/09/2025

Accepted:  
11/12/2026

Tuberkulosis (TB) merupakan masalah kesehatan global yang signifikan dan masih menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas tinggi. Variasi genetik pada gen interleukin-10 (IL-10), khususnya SNV -1082 A/G (rs1800896), berperan penting dalam regulasi respon imun terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui distribusi genotipe dan alel SNV -1082 A/G (rs1800896) gen IL-10 pada pasien tuberkulosis dan individu sehat. Penelitian dilakukan secara deskriptif dengan total 12 sampel darah (6 pasien TB aktif dari Puskesmas Delanggu Klaten dan 6 individu sehat sebagai kontrol). Identifikasi SNV dilakukan menggunakan metode ARMS-PCR, dilanjutkan dengan elektroforesis dan analisis pita DNA. Hasil menunjukkan bahwa genotipe A/A lebih banyak ditemukan pada pasien TB, sedangkan genotipe A/G lebih banyak pada individu sehat. Alel A lebih dominan pada pasien TB, sementara alel G lebih banyak pada kelompok sehat. Hasil ini memberikan gambaran awal distribusi genotipe dan alel pada populasi terbatas. Namun, jumlah sampel yang sangat kecil menjadi keterbatasan utama penelitian ini, sehingga temuan hanya dapat dianggap sebagai data awal (*preliminary*) dan belum dapat digeneralisasi. Penelitian lanjutan dengan jumlah sampel lebih besar sangat diperlukan untuk mengonfirmasi hasil ini.

**Kata Kunci:** Tuberkulosis, ARMS-PCR, Single Nucleotide Variation, IL-10.

### ABSTRACT

*Tuberculosis (TB) is a significant global health problem and remains one of the leading causes of high morbidity and mortality worldwide. Genetic variation in the interleukin-10 (IL-10) gene, particularly SNV -1082 A/G (rs1800896), plays an important role in regulating the immune response to Mycobacterium tuberculosis. This study aimed to determine the distribution of genotypes and alleles of SNV -1082 A/G (rs1800896) in the IL-10 gene among tuberculosis patients and healthy individuals. A descriptive study was conducted using a total of 12 blood samples (6 active TB patients from Puskesmas Delanggu Klaten and 6 healthy individuals as controls). Identification of the SNV was performed using the ARMS-PCR method, followed*

by electrophoresis and DNA band analysis. The results showed that the A/A genotype was more frequently observed in TB patients, while the A/G genotype was more frequent in healthy individuals. The A allele was more dominant in TB patients, whereas the G allele was more common in the healthy group. These findings provide a preliminary overview of genotype and allele distribution in a limited population. However, the very small sample size represents a major limitation of this study, and therefore the findings should only be considered preliminary and cannot be generalized. Further studies with larger sample sizes are required to confirm these results.

**Keywords:** Tuberkulosis, SNV -1082 A/G, ARMS-PCR, Interleukin 10 (IL-10), rs1800896.

## 1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis masih menjadi masalah utama kesehatan dunia terhadap kesehatan yang buruk bagi jutaan orang setiap tahunnya. Tuberkulosis adalah penyakit menular kronis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Meskipun kebanyakan infeksi TB terjadi di paru-paru dan menyebabkan tuberkulosis paru, bakteri MTB juga dapat menyerang organ tubuh lainnya, yang dikenal sebagai tuberkulosis ekstrapulmona (Kemenkes RI, 2019).

Menurut data WHO, jumlah kasus TB pada tahun 2021 sebanyak 10,6 juta kasus. Jumlah kematian akibat tuberkulosis mencapai 1,6 juta orang meninggal akibat tuberkulosis (WHO, 2022). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melaporkan sebanyak 717.941 kasus tuberkulosis pada tahun 2022. Jumlah tersebut meningkat 61,98% dibandingkan tahun sebelumnya. Data kasus TB di Provinsi Jawa Tengah dilaporkan 42.148 kasus, di Kota Surakarta tercatat 786 kasus TB pada tahun 2022 (BPS, 2022). Temuan kasus TB di Kabupaten Klaten terus menunjukkan peningkatan dari tahun 2021 ditemukan sebanyak 1.011 kasus dan sebanyak 1.315 kasus pada tahun 2022 (Dinas Kesehatan Kabupaten Klaten, 2022).

Tuberkulosis dapat mudah tertular dari manusia ke manusia lain secara droplet. Seseorang yang terinfeksi secara droplet dari penderita tuberkulosis menyebabkan MTB masuk ke saluran pernafasan hingga menuju ke alveolus. Selanjutnya, terjadi proses fagositosis oleh makrofag dan sel neutrofil. Jika sistem kekebalan tubuh baik maka bakteri akan tereliminasi, namun jika bakteri lolos, maka MTB akan berproliferasi dan menghancurkan makrofag. Respon imun berperan mengontrol infeksi TB dengan berbagai respon elemen seluler terutama sel makrofag dan limfosit T *cluster differentiation 4+* (CD4+) melalui interaksi

mediator sitokin yang dihasilkan sehingga bakteri dapat tereliminasi. Progresifitas TB laten menjadi TB aktif dikaitkan dengan peranan respon imun *innate* dan adaptif serta mediator pro-inflamasi dan anti-inflamasi. Sitokin pro-inflamasi berperan menghasilkan sistem imun dalam pertahanan dan melawan bakteri penyebabnya sedangkan, sitokin anti-inflamasi berperan penting mengatasi proses peradangan yang berlebihan (Wahyu, 2019).

Sitokin adalah protein yang diproduksi oleh beberapa sel yang berbeda dan berperan dalam pertumbuhan serta diferensiasi sel. Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin anti-inflamasi yang berperan dalam mencegah patologi inflamasi dan autoimun. Gen pengkode IL-10 terletak pada kromosom 1 (1q31-1q32) berukuran sekitar 4,7 kb. Polimorfisme pada promotor gen interleukin 10 dikaitkan dengan ketahanan, respon imun, dan kerentanan terhadap tuberkulosis. Polimorfisme adalah variasi urutan DNA yang terjadi ketika satu nukleotida dalam urutan genom berubah. Perubahan ini disebut sebagai mutasi titik. Mutasi titik merupakan perubahan pada basa nukleotida dari DNA atau RNA (Lusiastuti *et al.*, 2015).

Polimorfisme IL-10 meliputi dua *polimorfisme repeat microsatellite* dan tiga *Single Nucleotide Variation* (SNV). *Polimorfisme repeat microsatellite* terdiri IL-10.G dan IL-10.R. *Single Nucleotide Variation* terdapat pada lokus -1082 G/A (rs 1800896), -819T/C (rs 1800871) dan -592 A/C (rs 1800872). Studi penelitian Wedad *et al.*, (2021), menjelaskan bahwa pada SNV -1082 alel A lebih umum di antara kelompok kontrol dibandingkan kelompok pasien TB, sehingga alel A bersifat protektif sementara, kerentanan genetik terhadap infeksi meningkat pada SNV -1082 alel G. Genotipe IL-10 GG dan AG dianggap sebagai risiko dari TB-MDR. Namun, penelitian yang dilakukan di Cina menjelaskan sebaliknya, bahwa polimorfisme gen IL-10 (-1082) alel A secara signifikan lebih umum pada pasien TB dibandingkan pada subjek orang sehat (Hu *et al.*,

2015).

*Amplification Refractory Mutation System* PCR (ARMS-PCR) merupakan metode diagnosis penyakit genetik. Teknik ini memiliki aplikasi dalam mendeteksi *Single Nucleotide Variation* (SNV) dan *genotype*. Metode ini melibatkan penggunaan primer spesifik alel yang dirancang untuk amplifikasi fragmen DNA yang berbeda tergantung pada keberadaan. Ujung 3' primer dimodifikasi sehingga satu primer dapat memperkuat alel mutan, sementara yang lain dapat memperkuat alel normal. Proses ARMS-PCR meliputi denaturasi, pelekatan dan pemanjangan (Chung *et al.*, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase genotip dan alel dari *Single Nucleotide Variation* (SNV) -1082 A/G (rs1800896) Gen IL-10 pada sampel darah pasien tuberkulosis aktif dengan menggunakan metode *Amplification Refractory Mutation System* PCR (ARMS-PCR). Penelitian ini hanya melibatkan jumlah sampel yang sangat terbatas, yaitu 6 pasien TB aktif dari Puskesmas Delanggu Klaten dan 6 individu sehat sebagai kontrol, sehingga hasil penelitian ini bersifat deskriptif dan hanya memberikan gambaran awal, bukan representasi populasi secara luas.

## 2. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian menggunakan desain penelitian deskriptif. Pengambilan sampel dalam penelitian ini diambil sebanyak 6 sampel dari pasien tuberkulosis aktif di Puskesmas Delanggu Klaten dan 6 kontrol sehat (*non* TBC) yang diambil dari populasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memenuhi kriteria inklusi dengan menggunakan teknik *purposive sampling*. Responden tersebut, telah bersedia mengisi *informed consent* dan kuesioner sebelum dilakukan tindakan pengambilan darah. Identifikasi *Single Nucleotide Variation* (SNV) -1082 A/G (rs1800896) Gen IL-10 pada sampel darah dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Laboratorium Bahan Alam Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan metode ARMS-PCR. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etika Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Purwokerto dengan nomor KEPK/UMP/53/VIII/2023.

### 2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan diantaranya, spuit, vacum tube, tabung, *microcentrifuge*, mikropipet, *tip*, *collection tube*, *spin down*, *vortex*, erlenmeyer, aluminium foil, Bio-Rad™ *Gel Doc EZ Imager Gel Documentation System*, *ultra low temperature freezer*, *waterbath*, *cryogenic box*, PCR tube, refrigerator, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1280, monitor, *Central Processing Unit* (CPU), chamber elektroforesis, Bio-Rad T100-*Thermal Cycler*. Bahan yang digunakan diantaranya sampel darah, Geneaid™ *Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell)* Lot No. FJ26209, agarose *Biototechnology Grade* 1<sup>st</sup> BASE Lot. 1a0623VK14397, *Water for Injection* (PT Ikharmindo Putramas Tbk No. Reg: GKL7209321243A1), TBE 1X, GB *buffer*, *Tris Borate* EDTA (TBE) 10X 1<sup>st</sup> BASE Lot. 1a0323ME14167, etanol absolut No. Lot 1A0722NA13289, *aquabidest*, *loading dye*, RBC *lysis buffer*, *gel red*, *DNA ladder*, *Nucleas Free Water* Clear Band Cat.No DW010L, *generic primer antisense* IL-10 (-1082) : 5'CAGCCCTTCCATTTTACTTTC-3', primer *sense* IL-10 (-1082) G : 5'TACTAAGGC TTCTTTGGGAG-3', primer *sense* IL-10 (-1082) A : 5'CTACTAAGGCTTCTTTGGGAA-3', *internal control primer antisense human growth hormone* (*accession number* M13438) : 5'TCACGGATTT CTGTTGTGT TTC-3', *internal control primer sense human growth hormone* (*accession number* M13438) : 5'GCCTTCCCAACCATTCCCTTA-3'

### 2.2. Ekstraksi DNA

Proses ekstraksi DNA menggunakan prosedur yang sesuai dengan Geneaid™ *DNA Isolation Kit (Blood)* meliputi persiapan sampel, *cell lysis*, *DNA binding*, *wash*, dan *DNA elution*.

### 2.3. Uji Kualitas isolat DNA

Uji kualitas DNA dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa 1,5%. *Running* pada tegangan 90 volt, 400 mAh selama 30 menit. Visualisasi dilakukan dengan instrumen Bio-Rad™ *Gel Doc EZ Imager Gel Documentation System*, pita DNA yang tervisualisasi diamati.

### 2.4. Uji Kuantitas isolat DNA

Uji kuantitatif DNA dilakukan dengan menggunakan instrumen *Spektrofotometer Uv-Vis* pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Uji kuantitas DNA dilakukan dengan menggunakan pengenceran sebesar 200x. Komponen yang

diperlukan pada tahap ini meliputi, isolat DNA sebanyak 20 µl dan 3980 µl aqubidest. Hasil nilai absorbansi pada tiap panjang gelombang 260 nm dan 280 nm diamati. Hitung nilai kemurnian dan konsentrasi DNA sebagai berikut :

$$\text{Kemurnian DNA} = \frac{\text{abs. 260 nm} \times 50 \times \text{faktor pengencer}}{\text{abs. 280 nm} \times 50 \times \text{faktor pengencer}}$$

$$\text{Konsentrasi DNA} = \text{abs. 260 nm} \times 50 \times \text{faktor pengencer}$$

### 2.5. Amplifikasi SNV -1082 A/G

Amplifikasi DNA menggunakan tiga primer yaitu primer *antisense* IL-10 (-1082) : 5'CAGCCCTTCCATTTTACTTTC-3', primer *sense* IL-10 (-1082) G : 5'TACTAAGGCTTCTTTGGGAG-3', primer *sense* IL-10 (-1082) A : 5'CTACTAAGGCTTCTTTGGGAA-3', *internal control* primer *antisense human growth hormone* (accession number M13438) : 5'TCACGGATTTCTGTTGTGTTTC-3', *internal control primer sense human growth hormone* (accession number M13438): 5'GCCTTCCCAACCATTCCTTA-3'.

Pemipetan dilakukan dengan memasukkan 12 µl *master mix*, 1 µl primer *antisense*, 1 µl primer *sense* IL-10 (-1082) A/G, 1 µl *internal control antisense*, 1 µl *internal control sense*, 4 µl *nuclease free water*, dan 5 µl *template DNA*. Suhu program PCR diatur, pre denaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti 35 siklus denaturasi 95°C selama 1 menit, *annealing* 60°C selama 1 menit, dan *extension* 72°C selama 1 menit. Dilanjutkan proses *final extension* 72°C selama 7 menit dan *final hold* pada suhu 4°C. Selanjutnya, hasil ampikon diproses ke tahap elektroforesis gel agarosa 1,5%. *Running* pada tegangan 90 volt, 400 mA selama 60 menit. Visualisasi dilakukan dengan instrumen Bio-Rad™ *Gel Doc EZ Imager Gel Documentation System*, pita DNA yang tervisualisasi diamati.

### 2.6. Analisis Hasil

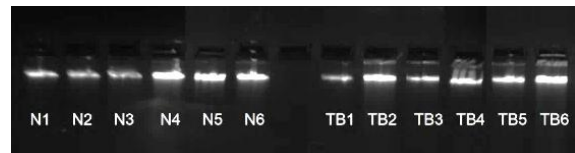
Hasil ampikon dibaca pada instrumen Bio-Rad™ *Gel Doc EZ Imager Gel Documentation System* dan tervisualisasi pita DNA. Pita band DNA kemudian dianalisis terkait dengan genotipe dan alel SNV -1082 A/G (rs1800896) yang muncul pada sampel tersebut secara analitik dengan menghitung persentase genotipe dan alel. Hasil produk PCR pada alel G adalah 551 bp, alel A 552 bp, dan *internal control* 426 bp.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Responden yang memenuhi kriteria dilakukan pengambilan darah sebanyak 3ml. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan Geneaid™ *DNA Isolation Kit (Blood)* meliputi persiapan sampel, *cell lysis*, *DNA binding*, *wash*, dan *DNA elution*.

### 3.1. Uji Kualitas isolat DNA

Hasil ekstraksi DNA dapat dilihat melalui uji kualitas DNA dengan elektroforesis gel agarosa 1,5%. Komponen yang diperlukan pada tahapan uji kualitatif DNA diantaranya, isolat DNA, *gel red*, dan *loading dye*. Untuk melihat keberhasilan ekstraksi DNA diamati dengan instrumen Bio-Rad™ *Gel Doc EZ Imager Gel Documentation System*. DNA yang berhasil terekstraksi ditandai dengan terbentuknya pita DNA. Hasil uji kualitas DNA dapat dilihat pada (Gambar 1) yaitu terbentuknya pita DNA dari sampel TB dan *non TB* yang berhasil terekstraksi.



Gambar 1. Hasil Uji Kualitas DNA yang Tervisualisasi

Keterangan :  
Sampel Tuberkulosis (TB) dan *non Tuberkulosis* (N)

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel darah pasien TB di Puskesmas Delanggu Klaten dan *non TB* di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional. Pemilihan sampling menggunakan teknik *purposive sampling* yang telah memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengisi *informed consent*.

Penelitian dimulai dengan tahap isolasi DNA menggunakan Geneaid™ *DNA Isolation Kit (Blood)*. Keberhasilan dari isolasi DNA dapat diketahui dengan melakukan uji kualitas isolat DNA. Uji kualitas DNA bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya DNA yang terekstraksi. Hasil visualisasi dapat dilihat pada (Gambar 1), hasil tersebut menunjukkan DNA pada semua sampel telah terekstraksi, ditandai adanya pita DNA yang tervisualisasi dengan jelas.

**3.2. Uji Kuantitas isolat DNA**

Uji kuantitas DNA dilakukan dengan menggunakan instrument *Spektrofotometer UV VIS* Shimadzu 1280. Isolat DNA dilakukan dengan pengenceran sebanyak 200x. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada  $\lambda$ 260 dan  $\lambda$ 280 di *Spektrofotometer UV VIS* Shimadzu 1280. Hasil uji kuantitatif DNA dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Kuantitatif DNA

No	Konsentrasi DNA	Kemurnian DNA
TB1	167	1,4
TB2	148	1,2
TB3	181	1,2
TB4	188	1,3
TB5	137	2,0
TB6	150	1,7
N1	144	1,6
N2	143	1,4
N3	206	1,5
N4	177	1,1
N5	182	1,1
N6	104	1,0

Keterangan :

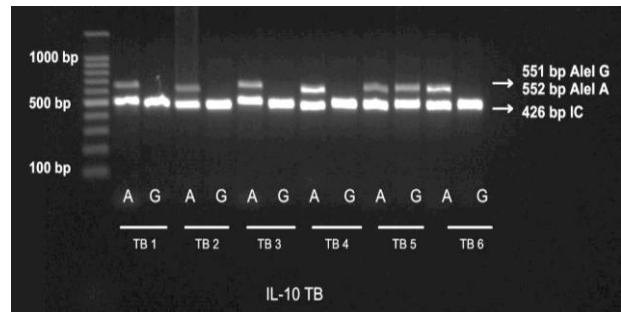
Sampel Tuberkulosis (TB) dan non Tuberkulosis (N)

Uji kuantitatif DNA dilakukan untuk mengetahui nilai konsentrasi dan kemurnian DNA. Berdasarkan hasil analisa kuantitatif DNA pada tabel 1 dengan menggunakan *instrument spektrofotometer UV-Vis*, didapatkan nilai konsentrasi tertinggi 206 ng/ $\mu$ l, sedangkan nilai kemurnian DNA dari 12 sampel yang diperiksa dapatkan satu sampel yang hanya memenuhi kriteria dalam kemurnian DNA. DNA yang baik memiliki konsentrasi diatas 100 ng/ $\mu$ l sedangkan nilai kemurnian DNA yaitu diantara 1,8-2,0 (Dewanata *et al.*, 2021). Sehingga disimpulkan bahwa isolat DNA memiliki konsentrasi yang baik, tetapi memiliki nilai kemurnian yang rendah. Hasil kemurnian DNA dengan nilai absorbansi kurang dari 1,8 menunjukkan sampel DNA terkontaminasi oleh protein sedangkan, kemurnian DNA dengan nilai absorbansinya yang lebih dari 2,0 artinya sampel DNA terkontaminasi oleh RNA (Ningsih *et al.*, 2018). Meskipun sebagian besar sampel memiliki konsentrasi DNA yang baik, nilai kemurnian yang rendah menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi protein. Hal ini dapat disebabkan oleh proses ekstraksi yang tidak optimal, seperti pencucian yang tidak sempurna atau kesalahan saat tahap elusi. Ketidakmurnian ini berpotensi memengaruhi efisiensi PCR, karena protein dapat menghambat aktivitas enzim DNA polimerase,

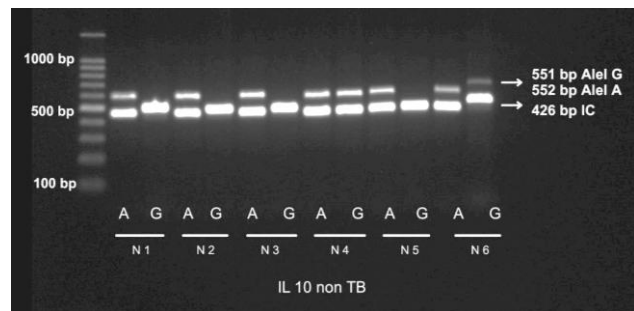
meningkatkan risiko hasil amplifikasi non-spesifik, atau menurunkan sensitivitas deteksi. (Dorado *et al.*, 2019).

**3.3. Amplifikasi SNV -1082 A/G Gen IL-10**

Amplifikasi SNV -1082A/G gen IL-10 dilakukan dengan menggunakan metode ARMS-PCR. Hasil ampikon, kemudian di elektroforesis dengan gel agaros pada 90 volt, 400 mAh, selama 60 menit dan dilakukan pembacaan dengan *instrument gel doc* dan hasil dibandingkan pada DNA ladder. Hasil visualisasi pada sampel TB dapat dilihat pada (Gambar 2) dan sampel orang sehat (*non TB*) dapat dilihat pada (Gambar 3). Pita DNA dari SNV -1082 A/G gen IL-10 tervisualisasi jelas. *Internal control* tervisualisasi pada semua sampel baik TB maupun *non TB* pada 426 bp. Ukuran spesifik produk alel A yang tervisualisasi pada SNV -1082A/G Gen IL-10 berada pada 552 bp sedangkan, spesifik alel G tervisualisasi pada 551 bp.



**Gambar 2.** Amplifikasi SNV -1082 A/G Gen IL-10 pada Sampel Tuberkulosis dengan ARMS-PCR



**Gambar 3.** Amplifikasi SNV -1082 A/G Gen IL-10 pada Sampel Non Tuberkulosis dengan ARMS-PCR

**Tabel 2.** Hasil Identifikasi SNV -1082 A/G (rs1800896)

Sampel	Kode Sampel	Hasil Genotip
Tuberkulosis	TB1	A/A
	TB2	A/A
	TB3	A/A
	TB4	A/A
	TB5	A/G
	TB6	A/A
Non Tuberkulosis	N1	A/A
	N2	A/A
	N3	A/A
	N4	A/G
	N5	A/A
	N6	A/G

**Tabel 3.** Persentase Genotip dan Alel SNV -1082 A/G (rs1800896)

	Kontrol Sehat	Pasien TB
<b>Genotip</b>		
A/A	66,7 %	83,3%
A/G	33,3 %	16,7%
G/G	0 %	0 %
<b>Alel</b>		
A	83,3 %	92%
G	16,7 %	8%
<b>Total</b>	100 %	100 %

Penelitian dilanjutkan dengan amplifikasi SNV -1082A/G dengan metode ARMS-PCR. Hasil dari amplifikasi kemudian dilakukan elektroforesis dengan gel agaros dan dilakukan pembacaan dengan *instrument Bio-Rad UV Trasilluminator Gel Documentation*. Hasil visualisasi pada sampel TB dapat dilihat pada (Gambar 2) dan sampel orang sehat (*non TB*) dapat dilihat pada (Gambar 3). Pita DNA dari SNV -1082 A/G gen IL-10 tervisualisasi jelas. *Internal control* tervisualisasi pada semua sampel baik TB maupun *non TB* pada 426 bp. Ukuran spesifik produk alel A yang tervisualisasi pada SNV -1082A/G Gen IL-10 berada pada 552 bp sedangkan, spesifik *alel G* tervisualisasi pada 551 bp.

Hasil penelitian yang telah dilakukan, mengenai identifikasi SNV -1082 A/G (rs1800896) gen IL-10 pada pasien tuberkulosis dapat teridentifikasi genotipe dan alel dengan menggunakan metode ARMS-PCR. Frekuensi genotipe A/A lebih banyak pada kelompok TB 83,3% (5/6) dibandingkan kelompok orang sehat 66,7% (4/6) sedangkan, frekuensi genotipe A/G lebih banyak ditemukan pada kelompok orang

sehat 33,3% (2/6) dibandingkan pada kelompok TB 16,7% (1/6). Alel A pada kasus TB ditemukan lebih banyak 92% dibandingkan orang sehat 83,3%, sedangkan frekuensi alel G 16,7% ditemukan pada orang sehat dan 8% ditemukan pada kasus TB.

Keberhasilan metode ARMS-PCR dalam penelitian ini sangat bergantung pada desain primer yang spesifik dan validasi *in silico*. Oleh karena itu, (Gambar 4) hingga (Gambar 8) disajikan untuk memperlihatkan posisi serta spesifisitas primer yang digunakan. Pada (Gambar 4), ditampilkan posisi *generic primer antisense IL-10 (-1082)* dan primer sense IL-10 (-1082) dengan menggunakan perangkat lunak *SnapGene*. Posisi ini menunjukkan bahwa primer telah didesain secara spesifik untuk membedakan antara alel A dan alel G pada lokus -1082. Hal ini krusial, karena perbedaan satu basa nukleotida (A atau G) pada posisi tersebut akan menentukan pola amplifikasi, sehingga memungkinkan identifikasi genotipe A/A, A/G, maupun G/G secara akurat.

Sementara itu, (Gambar 5) menunjukkan posisi *internal control primer* yang berasal dari gen *Human Growth Hormone (hGH)*. Primer kontrol internal ini berfungsi untuk memastikan bahwa proses PCR berjalan dengan baik. Kehadiran pita internal control berukuran 426 bp pada elektroforesis menjadi indikator bahwa sistem amplifikasi bekerja optimal. Dengan adanya kontrol internal, interpretasi hasil amplifikasi gen IL-10 menjadi lebih valid, karena kegagalan munculnya pita target dapat dipastikan bukan akibat kegagalan teknis PCR, melainkan benar-benar karena variasi genetik.

Validasi lebih lanjut dilakukan menggunakan analisis BLAST pada NCBI. (Gambar 6) menunjukkan hasil BLAST untuk primer IL-10 (-1082) yang spesifik terhadap alel G. Hasil tersebut mengonfirmasi bahwa primer sense G hanya berikatan pada urutan DNA dengan alel G, sehingga mengurangi kemungkinan amplifikasi non-spesifik. Hal serupa ditunjukkan pada (Gambar 7), di mana hasil BLAST primer sense IL-10 (-1082) A terbukti hanya mengikat pada alel A. Hal ini memperkuat keyakinan bahwa primer mampu membedakan secara jelas antara kedua alel meskipun perbedaannya hanya satu nukleotida.



Gambar 4. Posisi generic Primer Antisense IL-10 (-1082) dan Primer Sense IL-10 (-1082) dengan Software SnapGene



Gambar 5. Posisi Internal Control Primer (human growth hormone) Sense dan Antisense dengan Software SnapGene

Primer pair 1						
	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CAGCCCTTCCATTTTACTTTC	21	55.09	47.86	0.00	0.00
Reverse primer	TACTAAGGCTCTTTGGGAG	20	54.06	45.00	0.00	0.00
Products on target templates						
>U76720.1 Homo sapiens Interleukin 10 (IL10) gene, complete cds						
product length = 551						
Forward primer: 1	CAGCCCTTCCATTTTACTTTC	21				
Template:	3471 .....	3451				
Reverse primer: 1	TACTAAGGCTCTTTGGGAG	20				
Template:	2521 .....	2540				

Gambar 6. Hasil Blast NCBI Generic Primer Antisense IL-10 (-1082) dan Primer Sense IL-10 (-1082) G

Primer pair 1						
	Sequence (5'>3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CAGCCCTTCGATTTTACTTTTC	21	55.09	42.00	2.00	0.00
Reverse primer	CTACTAAGGCTTCTTTGGGAA	21	54.90	42.00	5.00	1.00

Products on target templates  
 >JN359072.1 Homo sapiens clone MCHL10P3 interleukin 10 (IL10) gene, promoter region

product length = 153  
 Forward primer 1 CAGCCCTTCGATTTTACTTTTC 21  
 Template 1588 ..... 1568

Reverse primer 1 CTACTAAGGCTTCTTTGGGAA 21  
 Template 1037 ..... 1057

Gambar 7. Hasil Blast NCBI *Generic Primer Antisense* IL-10 (-1082) dan *Primer Sense* IL-10 (-1082) A

Primer pair 1						
	Sequence (5'>3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GGCTTGGAAAGGATTGGCTTA	20	57.47	50.00	2.00	2.00
Reverse primer	TCAAGGATTTCTGTGTGTTTC	22	57.45	40.91	4.00	0.00

Products on target templates  
 >CP068761.1 Homo sapiens isolate CH118 chromosome 17

product length = 478  
 Forward primer 1 GGCTTGGAAAGGATTGGCTTA 20  
 Template 6478189 ..... 6478109

Reverse primer 1 TCAAGGATTTCTGTGTGTTTC 22  
 Template 64786772 ..... 64786795

Gambar 8. Hasil Blast NCBI *Internal Control (Human Growth Hormone) Primer Antisense* dan *Internal Control (Human Growth Hormone) Primer Sense*.

Selain itu, (Gambar 8) menunjukkan hasil BLAST untuk primer internal control (hGH). Hasilnya memperlihatkan bahwa primer ini hanya berikatan dengan gen *Human Growth Hormone*, sehingga benar-benar dapat digunakan sebagai kontrol internal universal untuk setiap sampel manusia. Keberadaan kontrol ini memberikan kepastian bahwa setiap sampel yang diuji telah melalui proses amplifikasi yang benar, sehingga validitas hasil amplifikasi IL-10 semakin terjamin.

Dengan demikian, Gambar 4–8 menegaskan bahwa primer yang digunakan dalam penelitian ini telah dirancang dan divalidasi secara tepat. Validasi ini mendukung interpretasi hasil pada (Gambar 2&3) dan (Tabel 2&3), di mana amplifikasi spesifik berhasil mengidentifikasi genotipe A/A lebih dominan pada pasien TB, sedangkan genotipe A/G lebih banyak pada individu sehat. Secara keseluruhan, desain primer yang spesifik dan kontrol internal yang valid menjadi kunci utama keberhasilan metode ARMS-PCR dalam penelitian ini, serta memberikan dasar

ilmiah yang kuat bagi analisis distribusi genotipe dan alel pada pasien tuberkulosis maupun individu sehat.

Persentase alel dan genotipe yang diperoleh pada penelitian ini, sejalan dengan studi penelitian yang dilakukan oleh Hu *et al.*, (2015) pada populasi di Cina, hasil menunjukkan bahwa genotipe AA secara signifikan lebih terwakili pada pasien TB dibandingkan subjek kontrol yang sehat. Frekuensi homozigot -1082A lebih tinggi pada kelompok TB dibandingkan kelompok kontrol dan menunjukkan peningkatan risiko dibandingkan dengan homozigot -1082G. Namun, persentase alel dan genotipe pada penelitian ini berbeda dengan penelitian di Mesir terhadap penderita TB-MDR, TB-Non MDR, dan kontrol hasil menunjukkan frekuensi genotip AA secara signifikan lebih tinggi pada kelompok kontrol dibandingkan pada kelompok pasien, disimpulkan bahwa alel A bersifat protektif sementara kerentanan genetik terhadap infeksi meningkat dengan polimorfisme alel G. Genotipe IL-10 (-1082) GG dan AG dianggap sebagai risiko

dari TB-MDR (Wedad *et al.*, 2021).

Frekuensi alel G pada penelitian ini sebanyak 12%, jumlah tersebut lebih rendah dari populasi Eropa (45%), Afrika (31%), Amerika (30%), dan Asia Selatan (24%) namun, lebih tinggi dari populasi Asia Timur (5%) (<https://www.ensembl.org>). Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa genotipe AA, yang paling banyak ditemukan pada kelompok pasien dengan kasus TB dibandingkan dengan orang sehat (*non TB*) sedangkan, genotipe AG yang paling banyak ditemukan pada kelompok orang sehat (*non TB*) dibandingkan dengan kelompok pasien TB. Kelompok subjek orang sehat (*non TB*) ditemukan lebih banyak alel G, sedangkan pada subjek pasien TB ditemukan lebih banyak alel A.

Hal tersebut disebabkan, karena alel G dan genotipe AG (*mutant type*) pada posisi -1082 yang memiliki efek kecil dalam menurunkan regulasi Th1 yang mendorong sitokin pro-inflamasi dan lebih sedikit terhadap gangguan respons imun pejamu. Selanjutnya, sitokin pro-inflamasi meningkatkan respon imun dan melawan mikroorganisme TBC. Sebaliknya, alel A dan genotipe AA (*wild type*) pada posisi -1082 menyebabkan penurunan sitokin penggerak Th1, penonaktifan makrofag dan mencegah pelepasan ROIs/RNI (Adane *et al.*, 2021) sedangkan, pada alel G dan genotipe GG pada posisi -1082 menyebabkan tingkat ekspresi IL-10 yang lebih tinggi dengan konsekuensi risiko TB-MDR. Keberadaan alel G pada posisi -1082 berkorelasi dengan produksi IL-10 yang lebih tinggi pada pasien TB aktif. Produksi IL-10 yang berlebihan dapat menyebabkan kegagalan dalam mengendalikan infeksi yang menyebabkan penyakit tuberkulosis semakin meluas (Laboy, 2021).

Penelitian Wedad *et al.*, (2021) peningkatan kadar IL -10 pada sampel serum didapatkan hasil signifikan secara statistik pada alel G. Oleh karena itu, pada kondisi IL-10 yang meningkat secara berlebihan dapat menghambat maturasi fagosom sehingga memfasilitasi kelangsungan hidup dan perkembangan MTB dalam perkembangan penyakit TBC.

Seseorang yang mengkonsumsi obat dapat memengaruhi kadar IL-10, yang merupakan protein anti-inflamasi dalam tubuh. Beberapa obat seperti antiinflamasi nonsteroid (OAINS) maupun obat immunosupresan memiliki dampak terhadap respons imun. OAINS bekerja dengan

menghambat enzim siklooksigenase (COX), terlibat dalam sintesis prostaglandin, yang merupakan mediator peradangan. Dengan mengurangi prostaglandin. Obat antiinflamasi nonsteroid dapat membantu mengurangi peradangan dan memungkinkan terjadi regulasi terhadap sitokin IL-10 oleh sistem imun. Sama halnya dengan pasien TB yang menjalani terapi pengobatan OAT (Obat Anti Tuberkulosis) (Laboy, 2021).

Beberapa penelitian telah menemukan bahwa kadar IL-10 menurun setelah pasien menjalani pengobatan fase intensif selama 2 bulan, namun meningkat pada akhir terapi dalam 6 bulan. Penurunan kadar IL-10 pada bulan kedua pengobatan terjadi karena sistem kekebalan tubuh masih memerlukan kerja dari proses peradangan. Interleukin-10 adalah jenis sitokin anti-inflamasi yang berperan dalam menekan aktivitas sitokin pro-inflamasi, menghambat proses fagositosis, dan mengurangi pembunuhan mikroba dengan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan intermediate nitrogen. Kadar interleukin yang meningkat hingga akhir terapi dalam 6 bulan disebabkan penurunan respon terhadap infeksi patogen intraseluler sehingga terjadi penurunan resistensi terhadap infeksi (Laboy, 2021).

Riwayat penyakit juga menjadi faktor yang dapat mempengaruhi kondisi imunologis setiap masing-masing individu terutama penyakit yang melibatkan kelainan sistem imun. Penyakit tersebut, merupakan kompleks penyakit yang mempengaruhi banyak sistem organ yang melibatkan kelainan imun multipel termasuk fungsi abnormal sel B yang terus menerus membentuk antibodi dan membentuk sel T yang autoreaktif. Sehingga pada kondisi tersebut respons inflamasi mengaktifkan produksi berbagai mediator pro-inflamasi terutama sitokin, kemokin, dan adipositokin. Terutama peningkatan produksi IL-10 untuk mengendalikan peradangan yang berlebihan (Pramana *et al.*, 2021).

Peningkatan kadar IL-10 juga dapat dipicu setelah seseorang melakukan vaksinasi. Mekanisme kerja vaksin adalah dengan mempengaruhi respon imun, termasuk produksi IL-10 sebagai bagian dari respons imun. Vaksinasi biasanya dirancang untuk merangsang respons kekebalan tubuh tanpa menyebabkan penyakit. Perubahan dalam kadar IL-10 dapat

terjadi sebagai respons normal terhadap vaksinasi. Sehingga merangsang makrofag untuk memfagosit patogen kondisi ini adalah bagian dari proses yang mengatur inflamasi dan respons imun tubuh terhadap pathogen (Pramana *et al.*, 2021).

Genetika inang tetap menjadi faktor utama dalam kerentanan dan resistensi terhadap penyakit menular termasuk tuberkulosis. Dengan demikian, risiko terhadap infeksi TBC dikaitkan dengan beberapa polimorfisme gen. Gen yang mengkode mediator pengatur sistem imun dan mediator sitokin Th1 memungkinkan memainkan peran penting dalam kerentanan pejamu terhadap tuberkulosis, karena interaksi antara mediator-mediator inilah yang dapat menentukan status imunologi setiap individu yang bersangkutan. Selain interaksi variasi gen sitokin, kerentanan TB juga dieksplorasi pada kelompok etnis yang berbeda dengan menghasilkan hasil yang berbeda (Adane *et al.*, 2021).

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian terhadap identifikasi SNV -1082 A/G Gen IL-10 pada penderita tuberkulosis dengan metode ARMS-PCR dapat disimpulkan bahwa penelitian ini berhasil mengidentifikasi keberadaan SNV -1082 A/G gen IL-10 pada sampel pasien tuberkulosis dan individu sehat menggunakan metode ARMS-PCR, sesuai dengan ukuran produk spesifik 426 bp pada *internal control*, 551 bp pada primer (-1082) G, dan 552 bp pada primer (-1082) A. Dari total 12 sampel (6 pasien TB dan 6 kontrol sehat) di Puskesmas Delanggu Klaten, ditemukan bahwa genotipe A/A lebih banyak pada kelompok TB, sedangkan genotipe A/G lebih banyak pada kelompok sehat. Meskipun demikian, jumlah sampel yang sangat terbatas menyebabkan hasil penelitian ini bersifat deskriptif dan belum dapat digeneralisasi ke populasi yang lebih luas. Oleh karena itu, temuan ini hanya dapat dianggap sebagai data awal (*preliminary data*) yang menunjukkan kemungkinan perbedaan distribusi alel antara pasien TB dan individu sehat. Penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar sangat diperlukan untuk memperkuat validitas statistik dan membandingkan hasil secara lebih komprehensif dengan studi di populasi lain.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak terkait yang telah membantu dan telah memberi dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adane, G., Lemma, M., Geremew, D., Sisay, T., Tessema, M. K., Damtie, D., & Ayelign, B. (2021). Genetic Polymorphism of Tumor Necrosis Factor-Alpha, Interferon-Gamma and Interleukin-10 and Association With Risk of Mycobacterium Tuberculosis Infection. *Journal of evidence-based integrative medicine*, 26, 1-7. doi:<https://doi.org/10.1177/2515690X211006344>
- BPS. (2022). *Data Kasus Tuberkulosis Tahun 2022*. Surakarta: Badan Pusat Statistik. Retrieved from <https://surakartakota.bps.go.id/indicator/30/350/1/jumlah-kasus-penyakit-menurut-kecamatan-dan-jenis-penyakit.html>
- Chung, T., Nelly Lam, Y.Y., Lau, L.T. (2019). *Alleles*. In: Gu, D., Dupre, M. (eds) *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging*. Springer Cham. doi:[https://doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2\\_925-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_925-1)
- Dewanata, P. A., & Mushlih, M. (2021). Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and Nanodrop Spectrophotometer in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Indonesian Journal of Innovation Studies*, Vol. 15,1-10. *Differences in DNA Purity Test Using UV-Vis Spectrophotometer and NanoIndonesian Journal of Innovation Studies*, 15, 1-10. doi:<https://doi.org/10.21070/ijins.v15i.553>
- Dinas Kesehatan Kabupaten Klaten. (2022). *Data Kasus Tuberkulosis Pada Tahun 2022*. Klaten: Dinas Kesehatan Kabupaten Klaten.
- Dorado, G., Besnard, G., Unver, T., & Hernández, P. (2019). Polymerase Chain Reaction (PCR). *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, 1(6), 473-492.

- doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.08997-2>
- Hu, Y., Wu, L., Li, D., Zhao, Q., Jiang, W., & Xu, B. (2015). Association between cytokine gene polymorphisms and tuberculosis in a Chinese population in Shanghai: a case-control study. *BMC immunology*, 16(8), 1-10. doi:<https://doi.org/10.1186/s12865-015-0071-6>
- Kemendes RI. (2019). *Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kemendes RI. (2022). *Data Kasus Prevalensi Tuberkulosis Indonesia 2022*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Laboy, N. (2021). Literature Review : Pengaruh Pemberian Pengobatan Obat Anti Tuberkulosis Terhadap Kadar Interleukin 10 pada Tuberkulosis. *Skripsi*. Retrieved from <http://digilib.unisayogya.ac.id/id/eprint/6195>
- Lusiastuti, A., Seeger, H., Sugiani, D., Mufidah, T., & Novita, H. (2015). Deteksi Polymorphisme dengan Substitusi Nukleotida Tunggal pada *Streptococcus agalactiae* Isolat Lokal Indonesia. *Jurnal Media Akuakultur*, 10(2), 91-95.
- Ningsih, T. Y., Wahyono, D. J., & Gumilas, N. S. A. (2018). Deteksi Gen Litik BRLF1 Epstein-Barr Virus pada Penderita Karsinoma Nasofaring. *Jurnal Biosfera*, 35(1), 29-36.
- Pramana, H., Marry, E., Hudari, H., Bahar, E. . (2021). Korelasi Interleukin-10 Serum dengan Kualitas Hidup Pasien HIV-AIDS di Rumah Sakit Dr. Mohammad Hoesin Palembang. . *Sriwijaya Journal of Medicine*, 4(3), 194-201.
- Wahyu, R. (2019). Analisis Kadar Interleukin-10 pada Penderita Tuberkulosis Aktif dan Tuberkulosis Laten. *Karya Akhir*. Retrieved from <http://repository.unhas.ac.id:443/id/eprint/4825>
- Wani, B. A., Shehjar, F., Shah, S., Koul, A., Yusuf, A., Murtaza, M., Singh, R., Althobaiti, F., Aldhahrani, A., & Afroze, D. (2021). Association of IFN-gamma and IL-10 gene variants with the risk of extrapulmonary tuberculosis. *Saudi journal of biological sciences*, 28( 8), 4210-4216. doi:10.1016/j.sjbs.2021.06.029
- Wedad M, A., Zenhom, N., E. Hassan, A., Fatah, A. (2021). The Role of Interleukin-10 and Interferon-Gamma Single Nucleotide Polymorphisms in Multi-Drug Resistant Tuberculosis. *International Medical Journal*, 28(1), 20-23.
- WHO. (2022). *Global Tuberculosis Report*. World Health Organization.