

ISBN 978-623-7763-03-1



Prosiding

Kongres Nasional dan Temu Ilmiah Nasional
Konsorsium Ilmu Biomedik Indonesia (KIBI) 2019

Current advanced in biomedical sciences
for better understanding of
non-communicable diseases

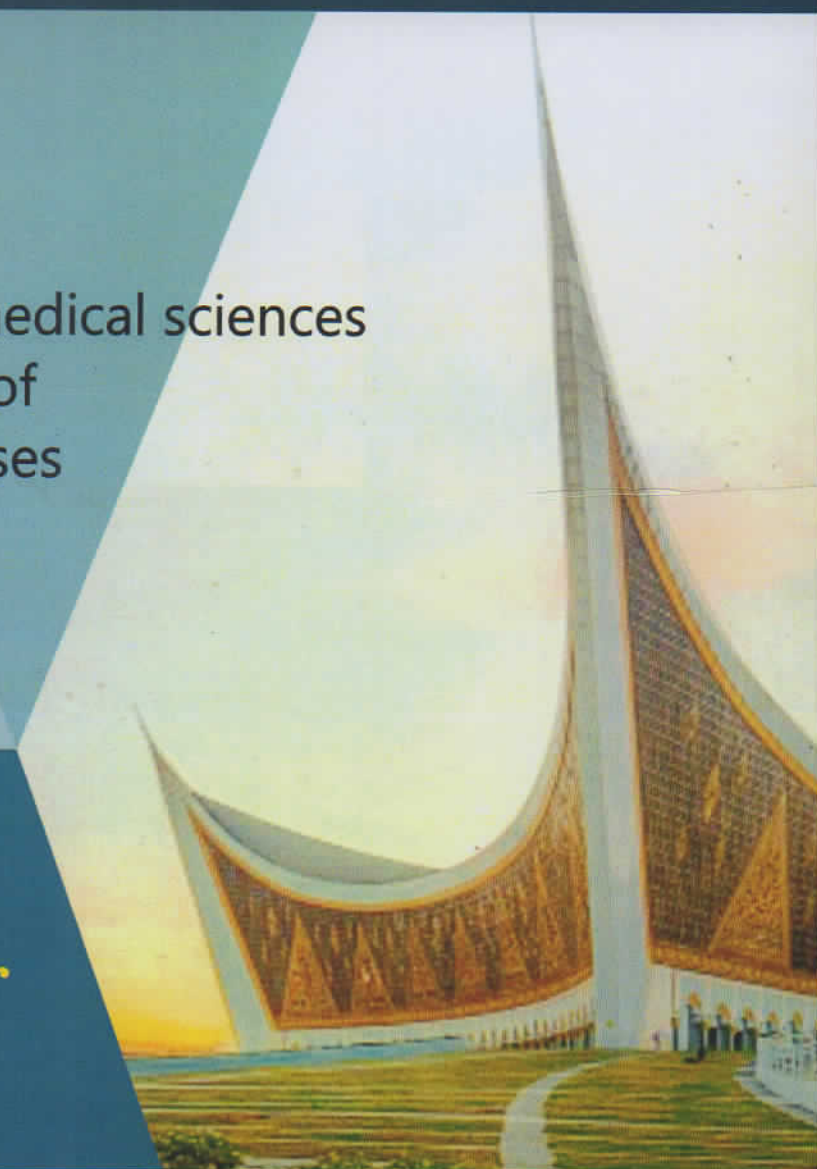
Padang

31 Oktober - 2 November

2019



**Konsorsium Ilmu Biomedik Indonesia
Fakultas Kedokteran Universitas Andalas**



PROSIDING
KONGRES NASIONAL, TEMU ILMIAH NASIONAL,
WORKSHOP DAN PENGABDIAN MASYARAKAT

KONSORSIUM ILMU BIOMEDIK INDONESIA (KIBI) 2019

*“Current Advance in Biomedical Science for Better Understanding
of Non-Communicable Disease”*

Padang, Convention Hall , Kampus Universitas Andalas, Limau Manih ,
31 Oktober – 2 November 2019

FAKULTAS KEDOKTERAN
S2 DAN S3 ILMU BIOMEDIK FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS
KONSORSIUM ILMU BIOMEDIK INDONESIA (KIBI)
Padang, 2019



**PANITIA PELAKSANA KONAS, TEMILNAS DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
KONSORSIUM ILMU BIOMEDIK INDONESIA (KIBI)**

Penanggung Jawab

Dr.dr. Wirisma Arif Harahap, Sp.B(K)-Onk

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Pengarah

Dr.re.physiol.dr. Septelia Inawati Wanandi (Ketua KIBI)

Prof. dr. Soemarno

Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)

Panitia Pelaksana		
Ketua	:	Prof. dr. Nur Indrawaty Lipoeto, MSc, SpGK, PhD
Wakil Ketua	:	Dr. dr. Rosfita Rasyid, M.Kes
Sekretaris	:	Dr. dr. Afriwardi, SH, SpKO, MA
Wakil Sekretaris	:	dr. Ilmiawati, PhD
Bendahara	:	Dr. dr. Efrida, SpPK (K)
Seksi Publikasi		
Koordinator	:	Dr. dr. Sukri Rahman, SpTHT-KL (K), FICS, FACS
Wakil	:	dr. Husnil Kadri, M. Kes
Seksi Ilmiah		
Koordinator	:	Prof. Dr. dr. Yanwirasti, PA(K)
Wakil	:	dr. Rauza Sukma Rita, PhD
Anggota	:	dr. Husna Yetti, PhD
	:	Dr. Dessy Arisanty, SSi, MSc
	:	Dr.dr. Desmawati, M. Gizi
	:	dr. Dewi Rusnita, MSc
	:	dr. Gestina Aliska, SpFK
	:	dr. Yose Ramda Hamdani SpJP
Seksi Acara		
Koordinator	:	Dr. dr. Roni Eka Sahputra, SpOT(K)
Wakil	:	dr. Nita Afriani, M. Biomed
Anggota	:	dr. Eka Novita, M. Biomed
	:	dr. Linosefa, Sp.MK
	:	dr. Restu Susanti, Sp.S, M.Biomed

Seksi Perlengkapan		
Koordinator	:	Dr. dr. Defrin, SpOG (K)
Wakil	:	Dr. Gusti Revila, M. Kes
Anggota		Dora Amelia Yoma, SS
Seksi Dana	:	Prof. Dr. dr. Yusrawati, SpOG (K)
	:	Dr. dr. Daan Khambri, SpB(K)-Onk, M. Kes
Seksi Transportasi dan Dokumentasi		
Koordinator	:	Dr. Endrinaldi, MS
Wakil	:	dr. Mohamad Reza, PhD
Anggota	:	Zaiful Netra, ST, MSi
		Suhel Tabrani, SH
Seksi Pengabdian Masyarakat		
Koordinator	:	dr. Ilmiawati, PhD
Wakil	:	Dra. Elmatris, MS
Anggota	:	dr. Nur Afrainin Syah, M.Med.Ed, PhD
		dr. Siti Nurhajjah, M.Si.Med
Sekretariat	:	Marsyafrizar
		Dian Susila Nelmi

Editorial Prosiding

Chief Editor	:	Dr. dr. Sukri Rahman, SpTHT-KL (K), FICS, FACS
Reviewer	:	Prof. Dr. dr. Yanwirasti, PA(K)
		dr. Rauza Sukma Rita, PhD
		Dr. Dessy Arisanty, SSi, MSc
		dr. Husna Yetti, PhD
		Dr.dr. Desmawati, M. Gizi
		dr. Yose Ramda Hamdani SpJP

Dicetak dan diterbitkan oleh :

Andalas University Press

Jl. Situjuh No. 1, Padang 25129

Telp/Faks. : 0751-27066

email : cebitunand@gmail.com

Hak Cipta Pada Penulis © 2019

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku tanpa izin tertulis dari penerbit.



SAMBUTAN KETUA PANITIA ACARA KONGRES DAN TEMU ILMIAH KIBI 2019 FAKULTAS KEDOKTERAN UNAND

Bismillahirrahmanirrahim,

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh,

Puji syukur mari kita panjatkan Kehadirat Allah SWT teriring doa semoga kita senantiasa dalam lindungan-Nya dan dilimpahkan keberkahan serta curahan nikmat yang tak terhingga. Atas nama panitia Kongres Nasional Konsorsium Ilmu Biomedik Indonesia (KIBI) tahun 2019, yang juga bersamaan dengan Temu Ilmiah Nasional dan Pengabdian Masyarakat kami mengucapkan selamat datang kepada semua Peserta dan Pembicara.

Kongres Nasional Konsorsium Ilmu Biomedik Indonesia (KIBI) adalah kegiatan organisasi yang rutin diselenggarakan setiap 2 tahun, sedangkan Pertemuan Ilmiah Nasional diselenggarakan setiap tahun. Kongres Nasional KIBI kali ini yang merupakan Kongres yang ke-3 yang akan diselenggarakan di Padang pada tanggal 31 Oktober 2019 yang akan diikuti oleh 18 Prodi Magister dan Doktor Biomedik sebagai anggota pendiri KIBI serta Anggota baru KIBI. Bersamaan dengan itu akan dilaksanakan Pertemuan Ilmiah Tahunan yang akan diselenggarakan di Convention Hall Universitas Andalas.

Pada pertemuan ini mengangkat tema **“Current advance in biomedical sciences for better understanding of non-communicable diseases”** Kegiatan ilmiah ini tentunya menjadi sarana bagi pakar, mahasiswa, dosen, dan alumni program studi Biomedik seluruh Indonesia untuk mendapatkan informasi terkini Ilmu Biomedik yang mendukung pemahaman berbagai fenomena terutama Bioinformatika Ilmu dan teknologi Biomedik yang akan berdampak pada penanganan untuk masalah kesehatan. Pada acara ilmiah ini mendatangkan pakar baik Internasional maupun nasional yang akan memberikan materi pada sesi simposium. Kongres ini juga menerima artikel makalah bebas dalam bentuk Presentasi oral dan poster yang meliputi topik-topik keilmuan bidang biomedik.

Terima kasih kami sampaikan kepada semua penulis yang telah menyumbangkan makalahnya dalam prosiding ini. Terima kasih pula kami sampaikan kepada seluruh dosen dan mahasiswa S2 dan S3 ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang telah terlibat dalam perencanaan dan penyelenggaraan kongres dan telminas ini serta telah bekerja keras dalam pembuatan prosiding ini baik dari segi naskah agar memenuhi kaidah penulisan ilmiah dan ejaan bahasa Indonesia yang disempurnakan maupun dari segi tampilan yang disajikan secara apik. Kami mohon maaf bila terdapat kekeliruan dalam penerbitan prosiding ini. Kami berharap dengan adanya seminar dan prosiding ini kiranya dapat berguna memberikan manfaat.

Harapan kami dengan mengikuti Kongres di Padang ini, akan banyak manfaat dan kenangan yang bisa didapat oleh para peserta. Aamiin.

Padang, 2 Oktober 2019

Prof. dr. Nur Indrawaty Lipoeto, M.Sc, PhD, Sp. GK
Ketua Panitia



SAMBUTAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS

Bismillahirrahmanirrahim,

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh,

Pertama-tama, marilah kita ucapkan puji syukur kepada Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga kegiatan **Kongres Nasional Konsorsium Ilmu Biomedik Indonesia (KIBI), Temu Ilmiah, Workshop Bioinformatika dan Pengabdian Masyarakat tahun 2019** dengan tema “*Current advance in biomedical sciences for better understanding of non-communicable*” di Kedokteran Universitas Andalas, berkenankan saya menyampaikan Selamat Datang di kampus Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, kepada pembicara tamu kita Prof. Osamu Ohneda, MD, PhD dari Tsukuba University, Japan, Assoc. Prof. Dr. Bimo A. Tejo dari UCSI University, Malaysia, dan Prof. Dr. dr Mohamad Sadikin, D.Sc dari Universitas Indonesia sebagai Keynote Speaker, para pemakalah dan peserta dari luar Universitas Andalas guna mengikuti seminar ini. Saya menyambut gembira kegiatan Kongres dan Temu Ilmiah ini yang telah mendapatkan perhatian yang besar dari kalangan akademisi dan profesional dari institusi pendidikan, peneliti serta mahasiswa pascasarjana, sehingga terkumpul 50+ makalah yang sudah dipresentasikan dalam acara ini. Untuk itu, saya mengucapkan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Bapak dan Ibu pemakalah. Saya yakin bahwa dari kegiatan ilmiah ini akan dihasilkan ide-ide, konsep-konsep, dan terobosan baru yang inovatif dalam pengembangan teknologi yang nantinya akan diaplikasikan dalam dunia industri di masa yang akan datang. Kongres dan Temu Ilmiah ini tidak akan terselenggara dengan baik tanpa dukungan dari berbagai pihak dan kontribusi dari pemakalah dan peserta. Untuk itu, saya menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya. Secara khusus, saya menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada panitia penyelenggara atas jerih payah, kerja keras, ketekunan dan kesabarannya dalam mempersiapkan dan menyelenggarakan Kongres dan Temu Ilmiah ini sehingga dapat berjalan dengan baik, lancar dan sukses. Akhirnya, melalui Kongres dan Temu Ilmiah ini, marilah kita senantiasa perkuat dan perluas jejaring serta kerjasama antar semua akademisi dan peneliti di bidang ilmu biomedik yang ada di Indonesia, guna bekal pengetahuan dan teknologi bagi pengembangan SDM Indonesia untuk mampu bersaing menghadapi persaingan global dan mampu menghasilkan riset dan produk inovatif dalam ilmu dan teknologi Biomedis.

Padang, November 2019

Dekan Fakultas kedokteran Universitas Andalas

Dr.dr.Wirsma Arif Harahap, Sp.B (K)-Onk

ORGANISASI PENDUKUNG



FAKULTAS KEDOKTERAN UNAND

S3 ILMU BIOMEDIK



FAKULTAS KEDOKTERAN
UNAND

S2 BIOMEDIK



FAKULTAS KEDOKTERAN
UNAND

Susunan Acara**KONAS, TELMINAS KIBI DAN PENGABDIAN MASYARAKAT TAHUN 2019 PADANG**

“Current advance in biomedical sciences for better understanding of non-communicable diseases” dilaksanakan pada 30 Oktober – 2 November 2019 mulai pukul 08.00 – 17.00 di Gedung convention Hall Kampus Unand Limau Manih, Pauh Padang

Day 1 - Thursday, 31 st October 2019	
Time	Event
07.00-16.00	Community services Location . Sungai Pisang
Day 2 - Friday, 1 st November 2019	
Time	Event
07.00-08.00	1. Registration
	2. Pre-ceremony music and traditional dance
08.00-08.40	Opening ceremony
08.40-09.00	Coffee break
<i>Symposium Session I. The molecular process of aging</i>	
09.30-10.15	Prof. Osamu Ohneda, MD, PhD (Tsukuba University, Japan)
	<i>Title. The molecular process of aging</i>
10.15- 10.45	Prof. Dr. dr. Delmi Sulastri, MS, Sp. GK (Andalas University, Indonesia)
	<i>Title. Nutritional genomics for disease prevention</i>
	<i>Moderator : Prof. Dr.rer.Physiol. dr.Septilia Inawati Wanandi.</i>
10.45 - 11.15	<i>Discussion</i>
11.15 -11.15	<i>Closing Session I</i>
11.30 -13.00	Lunch Break
13.30-15.30	<i>Oral Presentation Parallel Session I</i>
13.30 – 17.00	<i>Workshop Bioinformatika: Computer-Aided Structure-Based Drug Design</i>
14.00 -17.00	KONGRES NASIONAL III KIBI

19. 00-21.30	Welcome dinner Location : Governor's Residence Hall
Day 3 - Saturday, 2nd November 2019	
Time	Event
<i>Symposium Session II . Understanding the role of bioinformatics in advancing biomedicine</i>	
09.00-09.30	Assoc. Prof. Dr. Bimo A. Tejo (UCSI University, Malaysia)
	<i>Title. Rational design of therapeutic peptides</i>
09.30-10.00	Dr. dr. Andani Eka Putra, M.Sc (Andalas University, Indonesia)
	<i>Title. Molecular characteristics and immunogenicity of recombinant protein and epitop immunodominant of PE-PGRS 24 and 35 of local isolate of M. tuberculosis</i>
	<i>Moderator : Dr.dr.Syukri rahman, Sp.THT</i>
10.00-10.20	Discussion
10.20-10.30	Closing Session II
<i>Symposium Session III . Mitochondria in health and disease</i>	
10.30-11.00	Prof. Dr. Mohamad Sadikin, D.Sc (University of Indonesia)
	<i>Title. Mikondria. organel pusako bundo kanduang</i>
11.00-11.20	Prof. Dr. dr. Eryati Darwin (Andalas University, Indonesia)
	<i>Title. Mitochondria and immunity in non-communicable diseases</i>
11.20-11.40	Dr. dr. Afriwardi, Sp. KO, MA (Andalas University, Indonesia)
	<i>Title. Improving performance. Optimizing mitochondrial processes by physical exercise</i>
	<i>Moderator : Dr.dr. Nur Arfian Ph.D.</i>
11.40-12.00	Discussion
12.00-12.10	Closing Session III
12.10-13.00	Lunch Break
13.30-15.30	<i>Oral Presentation Parallel Session II</i>
14.00-17.00	KONGRES NASIONAL III KIBI

TOPIK KONGRES DAN TEMU ILMIAH

1. The molecular process of aging
2. Understanding the role of bioinformatics in advancing biomedicine
3. Mitochondria in health and disease

KEYNOTE SPEAKERS

1. Prof. Osamu Ohneda, MD, PhD (Tsukuba University, Japan)
2. Prof. Dr. dr. Delmi Sulastri, MS, Sp. GK (Andalas University, Indonesia)
3. Assoc. Prof. Dr. Bimo A. Tejo (UCSI University, Malaysia)
4. Dr. dr. Andani Eka Putra, M.Sc (Andalas University, Indonesia)
5. Prof. Dr. Mohamad Sadikin, D.Sc (University of Indonesia)
6. Dr. dr. Afriwardi, Sp. KO, MA (Andalas University, Indonesia)

TOPIK WORKSHOP

Bioinformatika : *Computer-Aided Structure-Based Drug Design*

SUSUNAN ACARA PRESENTASI ORAL PADA PARALLEL SESSION

Jumat, 1 November 2019

RUANG 1				
Sesi 1 : 13.30 – 14.20				
Moderator : Dr.Dra.GustiRevila, MS				
No	Waktu	Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO102	Mustarim	Analisis Interleukin 1 β rs1143643 sebagai Polimorfisme Gen Sitokin dengan Sepsis Neonatorum
2	13.40 -13.50	BIO103	Hasmiwati	Deteksi Mutasi Knock down resisten (kdr), S989P dan V1016G pada <i>Aedes aegypti</i> di Sumatera Barat
3	13.50 – 14.00	BIO104	Syukri Rahman	Hubungan DNA Virus Epstein-Barr dengan Kejadian Karsinoma Nasofaring pada Etnik Minangkabau
4	14.00 – 14.10	BIO469	Sri Wahyuni Handayani, S.Si.,M.Biomed	Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi <i>Cryptosporidium</i> sp.(diare/non-diare) pada Penderita HIV/AIDS dengan CD4 $\leq$ 200 sel/ml di RS. M. Djamil Padang tahun 2017
	14.10 – 14.20	Diskusi		
Sesi 2 : 14.30 – 15.20				
Moderator : Dr.Dra.GustiRevila, MS				
1	14.30 – 14.40	BIO105	Goldha Faroliu	Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi <i>cryptosporidium</i> sp. pada Penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat Secara Mikroskopis dan PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
2	14.40 – 14.50	BIO106	Dwitya Elvira	Hubungan antara Kadar <i>Interferon-γ-inducible protein-10</i> (IP-10) Urine dengan Kadar CD4 Serum Penderita Ko-infeksi Tuberkulosis-HIV
3	14.50 - 15.00	BIO107	Zahra Frizki Asty	Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi <i>Giardia Lamblia</i> pada Penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat
4	15.00 – 15.10	BIO108	Avin Ainur Fitrianiingsih	Protein Adhesi subunit Omp 28 kDa <i>Shigella flexneri</i> mampu meningkatkan kadar Antimicrobial peptide β defensin pada serum mencit Balb-c
	15.10 – 15.20	Diskusi		

RUANG II**Sesi 1 : 13.30 – 14.20****Moderator : dr.Nur Afraininsyah, M.Med.Ed, Ph.D**

No	Waktu	Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO209	Azizah Hikma Safitri	Porang Glucomannan Superiority Compare to Psyllium in Controlling Inflammatory Process on Metabolic Syndrome Rats
2	13.40 -13.50	BIO210	Rauza Sukma Rita	Efek Kronik Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i> L.) Terhadap Kadar Trigliserida dan Kolesterol Total Serum pada Tikus Diabetes Melitus
3	13.50 – 14.00	BIO211	Husna Yetti	Asam Eikosapentanoat Meningkatkan Protein Anti-apoptosis pada Tikus Model Non-alcoholic steatohepatitis
4	14.00 – 14.10	BIO212	Siti Sarah Bintang	Efek latihan fisik terhadap ekspresi gen <i>Pgcl</i> dan tingkat stres oksidatif pada hewan model penuaan yang diinduksi D-galaktosa
	14.10 – 14.20	Diskusi		

Sesi 2 : 14.30 – 15.20**Moderator : dr.Nur Afraininsyah, Ph.D**

1	14.30 – 14.40	BIO213	Wahyu Pengestuti Lestari	Efektivitas Oktal Galat dalam Menurunkan Prostaglandin E2 (PGE2), Interleukin-10 (IL-10), dan Ukuran Kista pada Tikus Model Endometriosis
2	14.40 – 14.50	BIO214	Puspita Eka Wuyung	Gambaran Histopatologik, Ekspresi ER α dan ARID1A pada Model Tikus <i>Endometriosis Associated Ovarian Carcinoma</i> (EAOC)
3	14.50.15.00	BIO215	Cicilia Febriani Hayuningrum	Efek Anti-Inflamasi Oktal Galat terhadap Kadar Nuclear Factor- κ B (NF- κ B) Non-Fosforilasi dan Cyclooxygenase-2 (COX-2) pada Tikus Model Endometriosis
4	15.00 – 15.10	BIO216	Dedy Syahrizal	<i>Hyperbaric Oxygen Therapy</i> (HBOT) Menurunkan Proses Peradangan Pada Jaringan Peritoneum Mencit Model Endometriosis
	15.10 – 15.20	Diskusi		

RUANG III				
Sesi 1 : 13.30 – 14.30				
Moderator : dr. Siti Nurhajah, M.Si. Med				
No	Waktu	Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO317	Isma Nur Azzizah	Mitochondrial function of keloid fibroblasts on suppression of cytoglobin expression with siRNA
2	13.40 -13.50	BIO318	Fathurrohlim	Struktur dan Ekspresi Antigen Rekombinan gp125-gp36 HIV-2 untuk Deteksi Antibodi Antivirus HIV-2
3	13.50 – 14.00	BIO319	Steven Arianto	Profil Heparan Sulfat dan Dermatan Sulfat Urin Berdasarkan Jenis Mutasi Gen <i>Iduronat-2-Sulfatase</i> Pasien Mukopolisakaridosis II Di Indonesia
4	14.00 – 14.10	BIO320	Elman Boy	Efek Sholat Terhadap Kualitas Hidup Lansia
5	14.10 – 14.20	BIO468	Rony Rustam	Judul Diagnostic Value of Immunohistochemistry for The Detection of The B-RAFV600E Mutation in Papillary Thyroid Carcinoma in predicting Central Neck Lymph Node Metastasis.
	14.20 – 14.30	Diskusi		
Sesi 2 : 14.40 – 15.30				
Moderator : dr. Siti Nurhajah, M.Si. Med				
1	14.40 – 14.50	BIO321	I Made Jawi	Effects of Combination Simvastatin and Purple Sweet Potato Extract Capsules on the Blood Lipid Profile and Oxidative Stress in Dyslipidemic Patients
2	14.50 – 15.00	BIO322	Mohd Fadzelly Abu Bakar	Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Selected Medicinal Plants Ethnomedically Used for Gout Treatment
3	15.00.15.10	BIO323	Armaini	Efek nutraceutical polisakarida dari mikroalga <i>scenedesmus dimorphus</i> sebagai anti-aging dan anti-oksidan terhadap tikus wistar
4	15.10 – 15.20	BIO324	Devi Maulina	Analisis Farmakokinetik Nanopartikel Mangiferin Kitosan-Alginat
	15.20 – 15.30	Diskusi		

RUANG IV**Sesi 1 : 13.30 – 14.30****Moderator : dr. Ilmiawati, Ph.D**

No	Waktu	Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO425	Rizki Rahmadian	Efektifitas Gentamisin- Bone Cement Polymethyl Methacrylate (PMMA) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara <i>In Vitro</i>
2	13.40 -13.50	BIO426	Ndaru Andri Damayanti	Persentasi <i>Blastocystis hominis</i> pada anak usia sekolah dan kelompok dewasa di dua lingkungan berbeda
3	13.50 – 14.00	BIO427	Bantari Wisynu Kusuma Wardhani	<i>CRISPR-Cas9 System</i> untuk penyuntingan gen TMEPAI
4	14.00 – 14.10	BIO428	Eryati Darwin	Mitokondria dan respon imun pada penyakit tidak menular
	14.20 – 14.30	Diskusi		

Sesi 2 : 14.30 – 15.30**Moderator : dr. Ilmiawati, Ph.D**

1	14.30 – 14.40	BIO366	Sri Yusfinah Masfah Hanum	Hubungan antara Kadar Serum Malian target of Rapamycin Complex 1 dengan derajat Keparahan Akne Vulgaris
2	14.40 – 14.50	BIO429	Roni Eka Sahputra	Pengaruh Sel Punca Mesenkimal pada Scaffold Primo terhadap Kadar MMP-8 yang Dilakukan Cervical Laminoplasti
3	14.50.15.00	BIO430	Retno A S Soemawoto	Hubungan Kadar Epidermal Growth Factor dengan Kadar Eosinofil pada Pasien PPOK
4	15.00 – 15.10	BIO431	Zulkarnain	Refolding and Recovery of Recombinant Human Thyroid Stimulating Hormone Receptor (hTSHR-169) from Inclusion Bodies Expressed by E.coli BL21(DE3)
5	15.10 – 15.20	BIO432	Dovy Djanas	Correlation between Cyclo-oxygenase-2 and Progesterone Receptor-A/ Progesterone Receptor-B Ratio at Preterm and Term Labor
	15.20 – 15.30	Diskusi		

Sabtu , 2 November 2019

RUANG I				
Sesi 1 : 13.30 – 14.20				
Moderator : dr. Eka Novita, M.Biomed				
No	Waktu	Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO133	Miftahul Zannah	Pengaruh Polimorfisme Gen Reseptor vitamin D <i>FOK1</i> dan Kadar Vitamin D Plasma Darah Terhadap Resiko Terjadinya Psoriasis
2	13.40 -13.50	BIO134	Fitriyanti	Hubungan Kadar Immunoglobulin-m Anti <i>Phenolic Glycolipid 1</i> , dan <i>Matrix Metalloproteinase 9</i> dengan Tingkat Keparahan Penyakit Kusta
3	13.50 – 14.00	BIO135	Nanda Rachmad Putra Gofur	Periodontitis Associated With Lymphocytes CD28- and IL-10 in Systemic Lupus Erythematosus Patients
4	14.00 – 14.10	BIO136	Atina Husaana	Efek fotoproteksi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (<i>Hylocereus Polyrhizus</i>) Topikal pada Kulit Mencit yang Diinduksi Radiasi UVB Akut
	14.10 – 14.20	Diskusi		
Sesi 2 : 14.30 – 15.30				
Moderator : dr. Eka Novita, M.Biomed				
1	14.30 – 14.40	BIO137	Jajang Sinardja	Hubungan <i>Soluble Interleukin 6 Receptor</i> dengan Penyakit Jantung Koroner Usia Muda
2	14.40 – 14.50	BIO138	Dwi Yulia	Small Dense LDL As Predicted Cardiovascular Disease
3	14.50 - 15.00	BIO139	Al Hafiz	Penggunaan Biomaterial Amnion pada Operasi Pembedahan dan Plastik Rekonstruksi di Bidang THT-KL . Serial Kasus
4	15.00 – 15.10	BIO140	Ade Asyari	Gambaran <i>Helicobacter Pylori</i> dengan menggunakan <i>Rapid Urease Test</i> dan Giemsa Modifikasi pada penderita Tonsilitis Kronis
5	15.10-15.20	BIO101	Dita Hasni	Identification of Gene Polymorphism GSTP1 In Chronic Obstruction Pulmonary Disease Patients (COPD) In Padang, West Sumatera
	15.20 – 15.30	Diskusi		

RUANG II**Sesi 1 : 13.30 – 14.20****Moderator : dr. Rauza Sukmarita, Ph.D**

No		Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO241	Anandia Putriyuni	Analisis Ekspresi Her-2/Neu Adenokarsinoma Prostat dengan Skor Gleason Berdasarkan ISUP 2014/WHO 2016
2	13.40 -13.50	BIO242	Afdal	Perbedaan Ekspresi Transforming Growth Factor Beta-1, Interleukin-8 dan Interleukin-18 antara Jaringan Hyperplasia Prostat dengan Kanker Prostat
3	13.50 – 14.00	BIO243	Nafisatuzzamrudah	Potensi Fraksi Ekstrak Etil Asetat <i>Streptomyces hygroscopicus</i> Sebagai Agen Antikanker Melalui Penurunan Persentase Ekspresi DNA Nukleus <i>Cell Line</i> Kanker Kolorektal
4	14.00 – 14.10	BIO244	Anik Listiyana	Pengaruh Pemberian Ekstrak <i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr. terhadap Kolon dan Hepar Mencit BAL-B/c Model <i>Colitis-Associated Colon Cancer</i>
	14.10 – 14.20	Diskusi		

Sesi 2 : 14.30 – 15.20**Moderator : dr. Rauza Sukmarita, Ph.D**

1	14.30 – 14.40	BIO245	Elvira Sari Dewi	Potensi Manipulasi In Vitro Sel Natural Killer Menggunakan Platelet Rich Plasma Autologus untuk Inovasi Baru Terapi Lupus
2	14.40 – 14.50	BIO246	Moch Hanas Arif	Laporan Kasus . Laki-Laki 51 Tahun dengan Kaki Diabetik
3	14.50 - 15.00	BIO247	Dani Rosdiana	<i>IL-10</i> Gene Promoter Polymorphism and Complications in A Type 2 Diabetes Mellitus Patient in Pekanbaru, Indonesia. Case Report
4	15.00 – 15.10	BIO248	Andi Muh. Maulana	Hiperurisemia Meningkatkan Ekspresi Gen Endothelin-1 (ET-1) pada Jantung Mencit (<i>Mus musculus</i>)
	15.10 – 15.20	Diskusi		

RUANG III

Sesi 1 : 13.30 – 14.20

Moderator : dr. Husna Yetti, Ph.D

No		Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO349	Dina Fatmawati	Mekanisme Antidiabetik Kombinasi Metformin dan Inulin dari <i>Dioscorea esculenta</i> pada Tikus Model Diabetes Tipe II
2	13.40 -13.50	BIO350	Elly Usman	Hubungan antara SNP Gen SLC22A1, Kadar Glukosa Darah Puasa, Umur, BMI, dan Umur Diagnosis Diabetes Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 yang Mendapat Terapi Metformin
3	13.50 – 14.00	BIO351	Cimi Ilmiawati	Green coffee extract modulates serum lipids and inflammation marker in obese rats
4	14.00 – 14.10	BIO352	Eti Yerizel	Hubungan Glycosylation of Haemoglobin (HbA1c) dengan Intracellular Adhesive Molecules-1 (iCAM-1) pada Penderita DM Tipe 2
	14.10 – 14.20	Diskusi		

Sesi 2 : 14.30 – 15.20

Moderator : dr. Husna Yetti, Ph.D

1	14.30 – 14.40	BIO353	Indah Permata Sari	Efek Latihan Fisik Terhadap Kadar MDA dan Ekspresi Gen VEGF yang Diinduksi dengan D-Galaktosa
2	14.40 – 14.50	BIO354	Delima Engga Maretha	How High Intensity Interval Training (HIIT) Accelerates Energi Metabolism and Protein Contractil in Young Adult Wistar Rat
3	14.50 - 15.00	BIO356	Afriwardi	Korelasi Antara Kadar Gula Darah dengan Tekanan Darah pada Wanita Etnik Minangkabau
4	15.00 – 15.10	BIO364	Helmi Rizal Helmi	Uji Fitokimia, Kapasitas Antioksidan dan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Berenuk (<i>Crescentia cujete</i>) terhadap Kadar MDA Otak dan Darah Tikus Sprague-Dawley yang Diinduksi Hipoksia Normobarik Sistemik Kronis
	15.10 – 15.20	Diskusi		

RUANG IV**Sesi 1 : 13.30 – 14.30****Moderator : dr. Restu Susanti, Sp.S**

No	Waktu	Kode	Presentant	Judul
1	13.30 – 13.40	BIO457	Lailan Nasution	Hipoksia dan Perbedaan Adaptasi Mitokondria pada Adiposit Kelompok Tikus Gemuk Dewasa yang Berbeda Status Gizi pada Masa Pertumbuhan
2	13.40 -13.50	BIO458	I Gusti Putu Suka Aryana	Myokine Serum Sebagai Prediktor Luaran Populasi Lanjut Usia di Desa Pedawa, Buleleng, Bali
3	13.50 – 14.00	BIO459	Pratiwi Kristianti	Analysis of <i>Ageratum conyzoides</i> L. Leaves Extract Potency on Acceleration of Incision Wound Healing Process of Male White Mice (<i>Mus musculus</i>)
4	14.00 – 14.10	BIO460	Chodidjah	Efek Pemberian ekstrak n-Heksan Terhadap Penghambatan Siklus Sel Pada Sel T47D
5	14.10 – 14.20	BIO467	Harnavi Harun	Potensi Dadiah Aie Dingin-Solok Yang Mengandung Probiotik Untuk Meningkatkan Keseimbangan Mikrobiota dan Absorpsi Usus Sebagai <i>Anti-Aging Kidney</i> pada <i>Rattus norvegicus</i> Galur Wistar
	14.20 – 14.30	Diskusi		

Sesi 2 : 14.30 – 15.20**Moderator : dr. Restu Susanti, Sp.S**

1	14.30 – 14.40	BIO461	Endang Purwaningsih	Konsentrasi TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) pada Sel Leukosit Penderita Hepatitis
2	14.40 – 14.50	BIO462	Indri Windarti	Hubungan Ekspresi Akt dan mTOR dengan Faktor Prognosis Klinis pada Kanker Payudara Her-2 positif
3	14.50.15.00	BIO463	Titiek Sumarawati	Efek pemberian ekstrak etil asetat <i>Curcuma zedoaria</i> terhadap persentase sel kanker payudara T47D yang mengalami apoptosis
4	15.00 – 15.10	BIO463	Dessy Arisanty	Pengaruh Transfeksi miRNA 10b Terhadap Proliferasi Kanker Payudara secara in vitro
	15.10 – 15.20	Diskusi		

DAFTAR ISI

Sambutan Ketua Pelaksana Kegiatan	I
Sambutan Dekan Fakultas Kedokteran Unand	ii
Organisasi Pendukung	iii
Susunan Panitia Pelaksana Konas, Temilnas dan Pengabdian Masyarakat	iv
Susunan Acara	vi
Dewan Prosiding	viii
Topik Seminar	viii
Keynote Speaker	viii
Topik Workshop	viii
Susunan Acara Presentasi Oral Pada Parallel Session	ix
Daftar Isi	xv
 Artikel Ilmiah	
Analysis of <i>Ageratum conyzoides</i> L. Leaves Extract Potency on Acceleration of Incision Wound Healing Process of Male White Mice (<i>Mus musculus</i>) Pratiwi Kristianti, Mega Ayu Lestari, Amanah Amanah, Ariestya Indah Permata Sari Edial Sanif, Tissa Octavira Permatasari	1
Correlation between Cyclo-oxygenase-2 and Progesterone Receptor-A/ Progesterone Receptor-B Ratio at Preterm and Term Labor Dovy Djanas, Eryati Darwin, Johannes C. Moose, Jamsari	11
Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi <i>Cryptosporidium sp.</i> (Diare/Non-diare) pada Penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang. Sri Wahyuni Handayani, Nuzulia Irawati, Aziz Djamal.	16
Bagaimana HIIT (Latihan Interval Intensitas Tinggi) Mempercepat Metabolisme Energi dan Protein Kontraktil pada Tikus Wistar Dewasa Muda Delima Engga Maretha, Dewi Sukmawati, Sri Widia A Jusman, Ermita I. Ibrahim Ilyas.	25
<i>IL-10</i> Gene Promoter Polymorphism in a Diabetic Patient with Grave's disease in Pekanbaru, Indonesia: Case Report Dani Rosdiana, Rahmat Azhari Kemal, Mukhyarjon, Hendra Asputra	35
Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi <i>Giardia Lamblia</i> pada Penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat Zahra Frizki Asty, Nuzulia Irawati, Netti Suharti	41
Analisis Interleukin 1 β rs1143643 sebagai Polimorfisme Gen Sitokin dengan Sepsis Neonatorum Mustarim dan Seruni Estari	46
Hubungan Jumlah Sel CD4 dan Riwayat Diare dengan Infeksi <i>Cryptosporidium sp.</i> pada Penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat Goldha Faroliu, Nuzulia Irawati, Netti Suharti	51
Hubungan Kadar Immunoglobulin-M Anti Phenolic Glycolipid-1 dan Matrix Metalloproteinase 9 dengan Tingkat Keparahan Penyakit Kusta. Fitriyanti, Yanwirasti, Jamsari dan Pamudji R.	56
Hubungan Antara Kadar Serum <i>Mammalian Target of Rapamycin Complex-1</i> dengan Derajat Keparahan Akne Vulgaris Sri Yusfinah Masfah Hanum, Ellyza Nasrul, Nelva Karmila Jusuf, Eti Yerizal	67

The Effects of Combination of Simvastatin and Purple Sweet Potato Extract Capsules on Blood Lipid Profile and Oxidative Stress in Dyslipidemic Patients I Made Jawi, I W.P Sutirta-Yasa	78
Pengaruh Sel Punca Mesenkimal pada Scaffold Primo terhadap Kadar MMP-8 yang dilakukan Laminoplasti. Roni Eka Sahputra	84
Hubungan Kadar epidermal Growth Factor dengan Kadar Neutrofil dan Eosinofil pada Pasien PPOK Retno A S Soemarwoto, Jamsari, Yanwirasti, Andika Chandra Putra, Syazili Mustofa	91
Identification of Gene Polymorphism GSTP1 In Chronic Obstruction Pulmonary Disease Patients (COPD) In Padang, West Sumatera Dita Hasni dan Nilas Warlem	97
Efektifitas Gentamisin- Bone Cement Polymethyl Methacrylate (PMMA) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> secara In Vitro Rizki Rahmadian , Fajar Satria Pratama	103
Asam Eikosapentanoat Meningkatkan Protein Anti-Apoptosis pada Tikus Model <i>Non-alcoholic Steatohepatitis</i> Husna Yetti, Tamie Nakajima	109
Persentasi <i>Blastocystis hominis</i> pada Anak Usia Sekolah dan Kelompok Dewasa di Dua Lingkungan Berbeda Ndaru Andri Damayanti, Ananda Umica Ressapati, Bella Bonita	116
Perbedaan Ekspresi Transforming Growth Factor Beta-1, Interleukin-8 dan Interleukin-18 antara jaringan Hyperplasia Prostat dengan Kanker Prostat Afdal	121
Peningkatan Performan : Optimalisasi Proses di Mitokondria Dengan Latihan Fisik Afriwardi	137
Mitokondria dan Respon Imun pada Penyakit Tidak menular Eryati Darwin	147
Hiperurisemia Meningkatkan Ekspresi Gen Endothelin-1 (ET-1) pada Jantung Mencit (<i>Mus musculus</i>) Andi Muh. Maulana, Nur Arfian, Muhammad Mansyur Romi	153
Analisis Ekspresi Her-2/Neu Adenokarsinoma Prostat dengan Skor Gleason Berdasarkan ISUP 2014/WHO 2016 Anandia Putriyuni, RZ Nizar	158
Hubungan <i>Glycosylation of Haemoglobin</i> (HbA1c) dengan <i>intracellular adhesive molecules-1</i> (ICAM-1) pada Penderita DM Tipe 2 Eti Yerizel, Asman Manaf	163
Concentration of TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) in Hepatitis Leukocyte Cells Endang Purwaningsih, Tripanjiasih Susmiarsih, Yenni Zulhamidah, Achmad Sofwan	168
Hubungan Ekspresi Akt dan mTOR dengan Faktor Prognosis Klinis pada Kanker Payudara Her-2 positif Indri Windarti, Wirsma Arif Harahap, Primariadewi Rustamadji, Eti Yerizel, Alimuddin Tofrizal	171

Kode Makalah : EngBio 001

Analysis of *Ageratum conyzoides* L. Leaves Extract Potency on Acceleration of Incision Wound Healing Process of Male White Mice (*Mus musculus*)

**Pratiwi Kristianti¹, Mega Ayu Lestari¹, Amanah Amanah^{1,2}, Ariestya Indah Permata Sari^{1,4}
Edial Sanif^{1,3}, Tissa Octavira Permatasari¹**

1 Faculty of Medicine, Universitas Swadaya Gunung Djati

2 Department of Immunology, Faculty of Medicine, Universitas Swadaya Gunung Djati

3 Department of Cardiovascular Diseases, Faculty of Medicine, Universitas Swadaya Gunung Djati

4 Department of Human Genetics, Faculty of Medicine, Universitas Swadaya Gunung Djati

ABSTRACT

Background: Wound healing is a complex process consists of three phases; inflammation, proliferation or granulation, and tissue remodeling. Wound treatment using traditional medicine has been known widely in various countries in the world. *Ageratum conyzoides* L. leaf containing flavonoid, tannin and saponin, is widely popular as traditional plant used to treat wound due to its anti-inflammatory effect.

Aim: To analysis potential effect of *Ageratum conyzoides* L. leaves extract on acceleration of wound healing process; fibroblast density, re-epithelialization thickness, and healing speed, of incision wound of male white mice (*Mus musculus*).

Methods: This post-test only control group design experimental study used 35 male white mice strain Swiss Webster (*Mus musculus*) which were randomly divided into five groups, i.e. negative control group K(-), positive control group K(+) (10% povidone iodine), and treatment group P1, P2, and P3 that were each given billy-goat weed leaf with increasing dose (15%, 30%, and 45% respectively). On each day, the length of the incision was measured by a ruler. After 7 days, the mice were terminated, the wound area was cut to measure re-epithelialization thickness and to prepare H&E stained histopathological sections to observe fibroblast density. Non-parametric analyses using Kruskal-Wallis and Mann Whitney test were used to compare the wound length Day 7, re-epithelialization thickness, and fibroblasts density.

Results: Lengths of incision wound between all pairs of groups at the 7th day are significantly different ($p < 0.05$, CI 95%) with group P3 showed the shortest one. Group P2 and P3 have thicker re-epithelialization compared to K(-), K(+), and P1 ($p < 0.05$, CI 95%). Significant differences were also observed in fibroblasts density between group K(-) and K(+), K(-) and P1, K(-) and P2, K(-) and P3, K(+) and P3, P1 and P3, P2 and P3 ($p < 0.05$, CI 95%) with group P3 showed the highest density among all groups.

Conclusion: *Ageratum conyzoides* L. leaves extract 45% is the most effective in accelerating healing process.

Keywords: *Ageratum conyzoides* L., incision wound, fibroblasts density, re-epithelialization-thickness, healing process

Corresponding author:**Amanah Amanah**

Dept. of Immunology

Faculty of Medicine, Universitas Swadaya Gunung Jati

Jl. Terusan Pemuda No. 1A, Kota Cirebon, West Java, Indonesia

E-mail: ama.darmawikarta@gmail.com

INTRODUCTION

Wound is the loss of tissue continuity which can be caused by either sharp or dull trauma, temperature changes, chemical substances, explosion, electric shock, or animal bite.^{1,2} The body will response to this tissue damage by both cellular and vascular in order to repair the loss. Wound healing process can be divided into 4 phases which are inflammation, hemostasis, proliferation or granulation, and remodeling phase.¹ The target of biological process of the body in compensating wound is the components that act in wound healing phases. Fibroplasia is an important phase in wound healing process involving connective tissue repair which has four components: formation of new blood vessels, migration and proliferation of fibroblasts, deposition of extracellular matrix (ECM), and maturation as well as fibrous tissues organization (remodeling).^{2,3}

Wound healing is a body normal response yet there are medicaments which can be used to accelerate its process such as normal saline and povidone iodine.^{1,4} However, *povidone-iodine* can affect negatively on the healing process. *Povidine-iodine* can be a toxic on the undamaged cell; it can damage the granulation tissue which then retards the wound healing process. Because there are several negative sides of using this method, other alternative substances and method of treatments are needed in order to maximize the result of the treatment.⁴

Ancient Indonesians often use traditional herbs to treat a wound. One of those used is *Ageratum conyzoides* L. (billygoat-weed, chickweed, white weed) leaves.⁵ It contains flavonoid, tannin, and saponin which are believed can stop bleeding and accelerate healing process.^{6,7} Study by Afrianti R et al. revealed that *Ageratum conyzoides* L. leaves extract could improve healing percentage and the density of collagen fibers of hyperglycemic wound.⁸

This research was conducted to analyze the potential activity of *Ageratum conyzoides* L. leaves extract on incision wound healing process of white male mice (*Mus musculus*) in term of fibroblast density, re-epithelialization thickness, as well as wound length and the effective dose.

MATERIALS AND METHODS

This was an experimental study with post-test only control group design using male white mice (*Mus musculus*) as research subjects. The study was conducted in the Food and Nutrition PAU Laboratory and Pathology Anatomy Laboratory of Universitas Gadjah Mada. Thirty-five male white mice (*Mus musculus*) of 20-40 grams of weight and 8 weeks of age were randomly divided into 5 groups, i.e 2 control groups and 3 treatment groups. At first, all the mice were wounded by 2 cms length incision at the back of the mice which previously administered with 1 cc of ketamin anesthesia intraperitoneally. Control groups consist of negative control group K(-) which was without any treatment and positive control group K(+) treated with 10% povidone iodine topically. Meanwhile the 3 treatment groups consist of group P1 which was administered by 15% *Ageratum conyzoides* L. leaves extract topically, group P2 with 30% of the extract, and group P3 with 45% of the extract.

The treatment was done for 7 days (twice a day), and on each day, the length of incision wound was measured by a ruler and the healing process was analyzed visually. At the 7th day, all mice were terminated by cervical dislocation. The wound area was excised and fixated by formalin 10%. Hematoxylin and Eosin (H&E) stained sections were prepared for all mice groups according to the laboratory protocols. Histologic analysis was performed by using binocular light microscope Olympus CX23 with ocular lens 100x and 400x. Fibroblasts were counted in 5 viewing fields for each section slide of each group. The histopathology blood smear was observed by using binocular ray microscope with the objective enlargement as much as 40x and 400x. The epithelia thickness was measured by using ocular micrometer for each blood smear observed in five viewing fields. Data were analyzed by using Kruskal-Wallis Test continued by post hoc Mann-Whitney test.

RESULTS

Macroscopic Incision Length Analysis

All incision wounds were measured each day for 7 days and the lengths of incision at the 7th day from all groups were compared. Table 1 shows length comparison from each day of all groups.

Table 1. Incision Length Measured Each Day

Group	Day	Incision Length of Mouse (cm)							Mean Length (cm)
		1	2	3	4	5	6	7	
K(-)	0	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	2	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	4	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	6	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	7	1,98	2,00	2,00	2,00	1,99	2,00	2,00	1,995
K(+) Povidone Iodine	0	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	2	1,98	1,94	1,97	1,99	1,98	1,98	1,98	1,947
	4	1,83	1,80	1,77	1,79	1,82	1,80	1,81	1,802
	6	1,43	1,38	1,40	1,37	1,33	1,37	1,35	1,376
	7	1,09	1,12	1,03	0,99	1,09	1,03	0,98	1,047
P1 (15% of extract)	0	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	2	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	4	1,98	1,98	1,99	1,94	1,97	1,90	1,98	1,963
	6	1,87	1,90	1,90	-	1,90	1,90	1,88	1,892
	7	1,80	1,83	1,87	-	1,84	1,86	1,82	1,837
P2 (30% of extract)	0	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	2	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	4	1,88	1,90	1,84	1,82	1,87	1,90	1,87	1,868
	6	1,58	1,62	1,76	1,70	1,75	-	1,80	1,702
	7	1,58	1,62	1,76	1,70	1,75	-	1,80	1,702
P3 (45% of extract)	0	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
	2	1,90	1,94	1,92	1,95	1,93	1,92	1,95	1,930
	4	1,77	1,79	1,80	1,81	1,81	1,79	1,80	1,795
	6	1,38	1,40	1,37	1,35	1,30	1,34	1,30	1,348
	7	0,98	1,00	0,95	0,92	0,89	0,90	0,90	0,934

From the incision length observation on each day, it has been revealed that group K(+), P1, P2, and P3 showed a remarkable healing process compared to group K(-). At the 7th day, wound length in mice group P3 was the shortest among all groups (Fig. 1.).

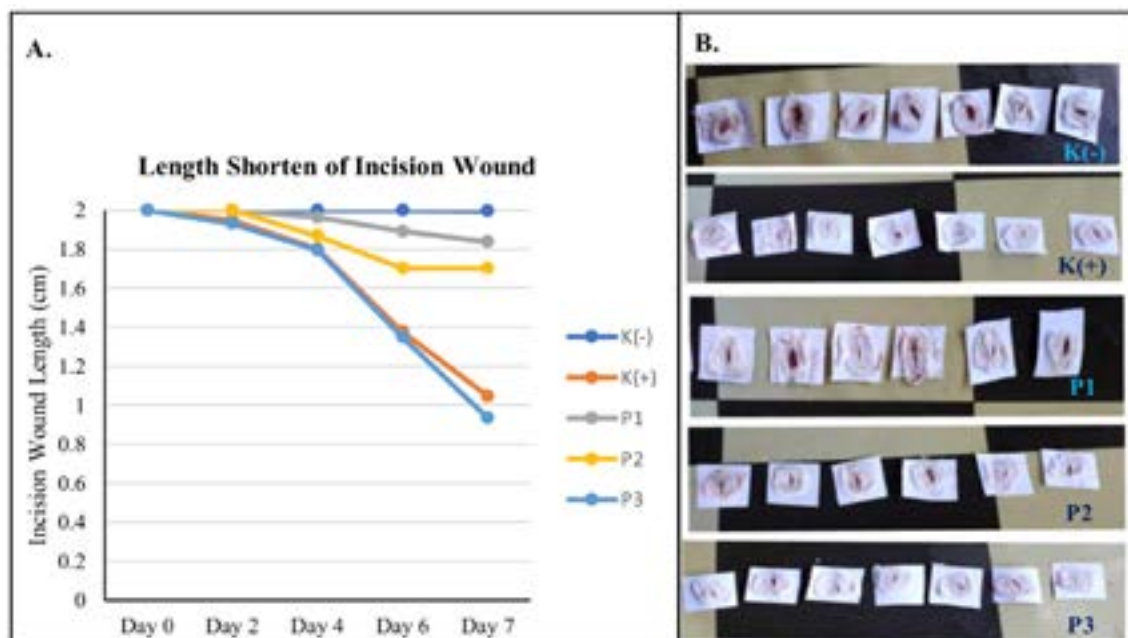


Figure 1. Macroscopic observation on incision wound. **A.** Graph showing length shorten of incision wound measured day by day using a ruler. Group P3 showed the fastest shorten of incision length among all groups, followed by group K(+). **B.** Incision wound of all groups taken after 7 days of treatment. Incision length in group P3 and K(+) reduced almost half of the initial length which can be seen from group K(-). K(-) is negative control group, K(+) is positive control group treated by povidone iodine topically, P1 was treated by treatment group 1 with 15% *Ageratum conyzoides* L. leaves extract topically, P2 treated with 30% of the extract, and P3 treated with 45% of the extract.

Mean length of incision wound at the 7th day of all mice group were compared by using non-parametric Kruskal-Wallis analysis. With Confidence Interval (CI) 95%, p value = 0.000 has shown that there are at least 2 groups which have significant difference in the length of incision on day 7. Thus, post-hoc Mann-Whitney test was performed to see which pair groups have the significant difference (Table 2). The statistic analysis has shown that the lengths of incision wound between all pairs of groups at the 7th day are significantly different.

Table 2. Mann Whitney test of 7th day incision length

	K (-)	K (+)	P1	P2	P3
K (-)	#				
K (+)	0,001*	#			
P1	0,001*	0,001*	#		
P2	0,001*	0,001*	0,002*	#	
P3	0,001*	0,002*	0,001*	0,001*	#

* shows significant difference ($p < 0.05$)

Microscopic Analysis: Re-epithelialization Thickness and Fibroblasts Density

This study revealed that *Ageratum conyzoides* L. leaves extract increased re-epithelialization process. Fig. 2 showed a histogram of mean of re-epithelialization thickness. Group K(-) showed the thinnest (19 μ m) epithelia among all groups and P3 was the thickest (42,2429 μ m) ($p < 0.05$, CI 95%).

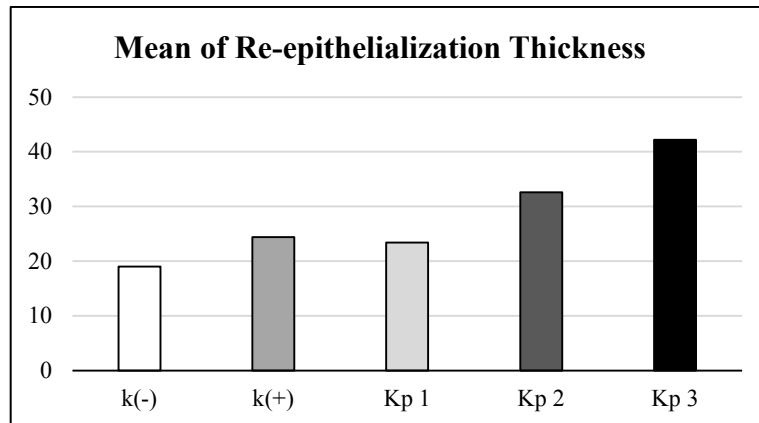


Figure 2. Mean of Re-epithelialization Thickness.

Graphic showing the mean of re-epithelialization. Kruskal-Wallis test continued by post hoc Mann Whitney test was used to compare fibroblasts density of all groups. *shows significant difference ($p < 0.05$) between two groups indicated by the top brackets. K(-) is negative control group, K(+) is positive control group treated by povidone iodine topically, P1 was treated by treatment group 1 with 15% *Ageratum conyzoides* L. leaves extract topically, P2 treated with 30% of the extract, and P3 treated with 45% of the extract.

Besides, microscopic analysis was done as well by counting fibroblasts density in 5 viewing fields of each H&E stained sections prepared from all groups (Fig. 3.). The fibroblasts observed in all groups were counted and compared by using statistical analysis.

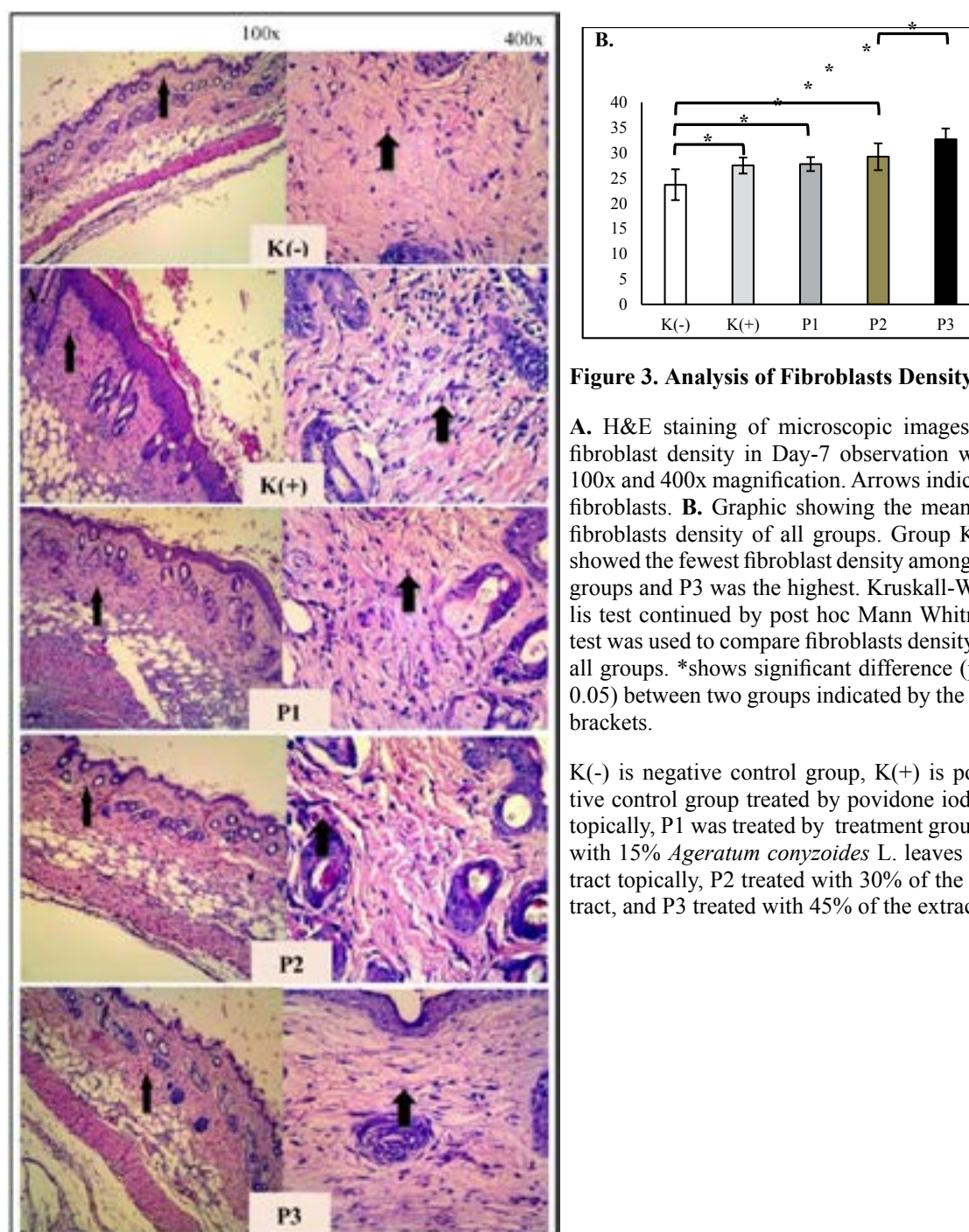


Figure 3. Analysis of Fibroblasts Density.

A. H&E staining of microscopic images of fibroblast density in Day-7 observation with 100x and 400x magnification. Arrows indicate fibroblasts. **B.** Graphic showing the mean of fibroblasts density of all groups. Group K(-) showed the fewest fibroblast density among all groups and P3 was the highest. Kruskal-Wallis test continued by post hoc Mann Whitney test was used to compare fibroblasts density of all groups. *shows significant difference ($p < 0.05$) between two groups indicated by the top brackets.

K(-) is negative control group, K(+) is positive control group treated by povidone iodine topically, P1 was treated by treatment group 1 with 15% *Ageratum conyzoides* L. leaves extract topically, P2 treated with 30% of the extract, and P3 treated with 45% of the extract.

Non-parametric statistical analysis (Kruskal-Wallis test) was used to see whether there is significant different in fibroblasts density among five groups. With Confidence Interval (CI) 95%, p value = 0.000 has shown that there are at least 2 groups which have significant difference in fibroblasts density. Thus, post-hoc Mann-Whitney test was performed to see which pair groups have the significant difference. Mann-Whitney analysis of fibroblast density has shown that there is significant difference in fibroblasts density between group K(-) and K(+), K(-) and P1, K(-) and P2, K(-) and P3, K(+) and P3, P1 and P3, P2 and P3 (p value < 0.05 , CI 95%).

DISCUSSION

***Ageratum conyzoides* L. Application on Incision Wound of Male White Mice (*Mus musculus*) Accelerate Healing Process.**

This study showed that wound healing acceleration in group with povidone iodine and 15%, 30%, and 45% billy-goat weed leaves extract showed significant differences compared to negative control group. It was also observed that the accelerating effect increases in concert with the given concentration of the extract. Wound healing duration difference was more significant in 45% billy-goat weed group compared to those that were given 15% and 30% billy-goat weed leaves extract. Billy-goat weed leaf extract with 45% dose had better effect from positive control group of povidone iodine 10% as positive control. This means that the length of incision wound in group P3 showed the fastest healing process compared to all other groups. Billy-goat weed leaves extract contains alkaloid, flavonoid, saponin, *p*-hydroquinone, terpenoid, steroid, beta-sitosterol, saponin, tannin, and coumarin, which were effective in affecting wound healing duration by increasing cell proliferation, collagen synthesis, and epithelialization in wounds.^{9,10} This study is in concordance with other previous study by Agyare et al. which revealed that *Ageratum conyzoides* L. leaves extract healed wound faster than other plant extracts.

***Ageratum conyzoides* L. Increases Re-epithelialization Thickness and Fibroblasts Density of Incision Wound of Male White Mice (*Mus musculus*)**

Microscopically, potential effect of *Ageratum conyzoides* L. leaves extract in enhancing the healing process can be observed from re-epithelialization thickness and also the fibroblasts density of the wound. It was shown that mice group treated by *Ageratum conyzoides* L. leaves extract 30% and 45% could increase the thickness of re-epithelialization more than those treated by povidone iodine 10% as positive control. Besides, this study also revealed that mean fibroblast density in (-) control group was lower compared to povidone iodine (+) control group with mean difference of 3.80 cells. Even though povidone iodine can increase fibroblast density, previous study conducted by Bigliardi showed that excessive use of povidone iodine can increase allergic reaction and, in the study conducted by Nurdiantini, povidone iodine is irritative and toxic if they went through blood vessels, and excessive use can inhibit wound granulation.^{12,13} Mean fibroblast density of (-) control group was lower compared to treatment group P1, P2, and P3.

The result of this study is in concordance with previous study conducted by Anggraeni R which showed that the administration of billy-goat weed (*Ageratum conyzoides* L.) with 2% and 4% concentration on Day 3 showed that billy-goat weed leaf gel extract significantly affect the increased number of fibroblasts post-extraction in wistar rats.¹⁴ Kaur R and Dogra NK stated that billy-goat weed leaves extract contained alkaloid, flavonoid, saponin, *p*-hydroquinone, terpenoid, steroid, beta-sitosterol, saponin, tannin, and coumarin, which were effective in affecting wound healing duration by increasing cell proliferation, collagen synthesis, and epithelialization in wounds.^{9,10} Flavonoid can prevent or prolong the onset of cell death, especially fibroblast, in line with vascularization increase in wound, thus reducing lipid peroxidation. When fibroblast is protected, then it can migrate to wound area, thus increasing fibroblast density.¹⁵ Saponin can increase monocytes proliferation, therefore it can increase the number of macrophages. Macrophages will secrete growth factors such as platelet derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor (TGF- β) which can attract more fibroblasts to wound area, thus increasing fibroblast density.¹⁶ The same goes for billy-goat weed leaves extract that contains tannin, saponin, and flavonoid which can increase fibroblast density.

The role of fibroblast in this study is undergoing repairing phase, in which fibroblast is responsible in the preparation of protein structure product which will be used during tissue reconstruction process. Fibroblast in normal state, as in this study, will perform fibroblast division which is rarely seen. However, during cell wound, fibroblast is more active in producing extracellular matrices. Fibroblast proliferation in wound healing process will naturally stimulated by interleukin-1b (IL-1b), platelet derived growth factor (PDGF), and fibroblast growth factor (FGF). Furthermore, Kanzaki *et al.* revealed that fibroblast migration in wound area is stimulated by transforming growth factor (TGF), which is growth factor produced by granulation tissues formed during inflammatory process.¹⁷ Wound healing process in this study was highly affected by the role of fibroblast migration and proliferation in wound area. Besides fibroblast, there were also collagens which served more specifically in producing connective tissue matrix and with the release of substrates by fibroblast, it gives sign that macrophages, new blood vessels and fibroblasts in unity can enter wound area.¹⁷⁻¹⁹

This study did not use single active ingredient, therefore other active ingredients contained in billy-goat weed (*Ageratum conyzoides* L.) leaves extract can affect the results of this study. There was no test on active ingredients, thus the amount of active ingredients that give favorable effect was not known. Toxicity level in billy-goat weed (*Ageratum conyzoides* L.) leaves extract was also not analyzed. It is recommended to analysis which active compounds favor the healing process for further analysis.

CONCLUSION

Ageratum conyzoides L. leaves extract 45% is the most effective in accelerating the healing process compared to povidone iodine. The extract enhances the re-epithelialization and fibroblasts density microscopically and accelerates wound closure macroscopically which was observed from the wound length.

CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.

REFERENCES

1. Usman AR, Salikunna NA. Pengaruh lendir bekicot (*Achatina fulica*) terhadap waktu penutupan luka sayat (*Vulnus scissum*) pada mencit (*Mus musculus*). *Med TADULAKO, J Ilm Kedokt.* 2015;2(1):31–9.
2. Wilson L. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit*. 6th ed. Jakarta: EGC; 2013. Vol 1.
3. Masir O, Manjas M, Putra AE, Agus S. Pengaruh cairan kultur filtrate fibroblas (CFF) terhadap penyembuhan luka; Penelitian eksperimental pada *Rattus Norvegicus* galur Wistar. *J Kesehat Andalas.* 2012;1(3):112–7.
4. Dewi SP. Penggunaan bahan pada perawatan luka di RSUD Dr. Djasamen Saragih Pematang Siantar. *J Keperawatan Klin.* 2012;2(1).
5. Dinkes RI. *Kebijakan Obat Tradisional Nasional Tahun 2007*. 2007.
6. Sugara TH, Irawadi TT, Suprpto IH, Hanafi M. Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun tanaman Bantotan (*Ageratum conyzoides* L.). *J Ilm Ibnu Sina.* 2016;1(1):88–96.

7. Sabudak T, Guler N, Trifolium L. A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Phyther Res.* 2009;
8. Afrianti R, Nofiandi D, Dira D, Ulfa W. Pengujian efektivitas penyembuhan luka mencit Diabetes Melitus yang diberikan sediaan krim ekstrak etanol daun Bandotan. *Scientia.* 2016;6(1):50–8.
9. Dalimartha S (dr). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya; 2006.
10. Kaur R, Dogra NK. A Review on Traditional Uses , Chemical Constituents and Pharmacology of *Ageratum conyzoides* L . (Asteraceae). *Int J Phaemaceutical Biol Arch.* 2014;5(5):33-45.
11. Agyare C. Medicinal Plants and Natural Products with Demonstrated Wound Healing Properties. 2016. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/46845>
12. Bigliardi PL, Alsagoff SAL, El-Kafrawi HY, Pyon JK, Wa CTC, Villa MA. Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. *Int J Surg.* 2017;44:260-268. doi:10.1016/j.ijssu.2017.06.073
13. Nurdiantini I. Perbedaan Efek Penggunaan Povidine Iodine 10% Dengan Minyak Zaitun Terhadap Penyembuhan Luka Robek (Laceratum Wound). 2017;1:223-233.
14. Anggraeni R. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar. 2013:5.
15. Vicari K. Wound Healing. *Nat Biotechnol.* 2013.
16. Jatana Samreen DLA. Understanding Engineered Nanomaterial Skin Interactions and the Modulatory Effects of Ultraviolet Radiation Skin Exposure. 2014.
17. Sumbayak EM. Fibroblas : Struktur dan Peranannya dalam Penyembuhan Luka. (6).
18. Fawcett DW. *Buku Ajar Histologi*. 12th ed. (Tambayong ABJ, ed.). Jakarta: EGC; 2002.
19. M.S Y. Efektivitas Penggunaan Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) dalam Proses Percepatan Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi. *Bagian Ilmu Bedah Mulut Fak Kedokt Gigi Univ Hasanudin Makassar.* 2014.

Kode Makalah : EngBio 002

Correlation between Cyclo-oxygenase-2 and Progesterone Receptor-A/ Progesterone Receptor-B Ratio at Preterm and Term Labor

¹ Dovy Djanas, ² Eryati Darwin, ³ Johannes C. Moose, ⁴ Jamsari

¹Fetomaternal Division, Obstetrics and Gynecology Department, Medical Faculty, Andalas University, West Sumatera, Indonesia. ²Histology Department, Medical Faculty, Andalas University, West Sumatera, Indonesia. ³Fetomaternal Division, Obstetrics and Gynecology Department, Medical Faculty, Padjajaran University, West Java, Indonesia. ⁴Agriculture Faculty, Andalas University, West Sumatera, Indonesia.

Corresponding Author: Dovy Djanas,
email: dovy.djanas@yahoo.com

ABSTRACT

Backgrounds: Preterm labor is one of the important problems in obstetrics. This study aimed to associate correlation between cyclo-oxygenase and progesterone receptor-A/progesterone receptor-B ratio (PRA/PRB ratio) at preterm and term labor.

Methods: This study using cross sectional comparative study design, in Obstetrics and Gynecology Departement of Dr. M. Djamil General Hospital Padang in May-July 2017. Population in this study were all patients who had preterm labor or gestational age between 28 (+0 days) and 36 (+6 days) weeks gestation, and controls were women who had term labor (>37 weeks) with total 38 sample in two groups. Sampling technique using consecutive sampling which use ELISA for COX-2 and realtime PCR tested for PRA/PRB ratio analyze in biomedical laboratory. Normality test using Shapiro-Wilk, bivariate analysis using independent t-test, and multivariate analysis using regression binary logistic.

Results: The mean COX-2 level in preterm labor 11.02 ± 3.33 ng/ml, and 8.77 ± 1.36 ng/dl at term labor ($p < 0.05$), mean PRA/PRB ratio 10 and 7.58 for preterm and term labor ($p > 0.05$). Dominant factor for preterm labor is COX-2 (OR 1.1).

Conclusion: There were significant difference in mean COX-2 levels with preterm and term labor. COX-2 is dominant factor for preterm labor.

Keywords: *Preterm labor*; cyclo-oxygenase-2; progesterone receptor

ABSTRAK

Latar belakang: Persalinan preterm merupakan salah satu masalah penting dibidang obstetri. Penelitian ini bertujuan untuk menilai korelasi antara *cyclo-oxygenase* dan rasio progesteron reseptor-A/progesteron reseptor-B (rasio PRA/PRB) pada persalinan preterm dan aterm.

Metode: Penelitian ini menggunakan desain *cross sectional study*, di Departemen Obstetri dan Ginekologi RSUP Dr. M. Djamil Padang pada bulan Mei-Juli 2017. Populasi penelitian ini adalah semua pasien dengan persalinan preterm atau usia kehamilan antara 28 (+0 hari) hingga 36 (+6 hari) minggu, dan kontrol adalah pasien dengan usia persalinan aterm (>37 minggu) dengan total 38 sampel untuk kedua kelompok. Teknik pengambilan sampel menggunakan *consecutive sampling* yang menggunakan analisis ELISA untuk COX-2 dan PCR realtime untuk rasio PRA/PRB yang dilakukan di laboratorium biomedik. Normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk, analisis bivariat menggunakan *independent t-test*, dan analisis multivariat menggunakan regresi logistik biner.

Hasil: Nilai rata-rata COX-2 pada persalinan preterm $11,02 \pm 3,33$ ng/ml, dan $8,77 \pm 1,36$ ng/dl pada persalinan aterm ($p < 0,05$), rerata rasio PRA/PRB 10 dan 7,58 untuk persalinan preterm dan aterm ($p > 0,05$). Faktor dominan untuk persalinan preterm adalah COX-2 (OR 1,1).

Kesimpulan: Terdapat perbedaan signifikan nilai rata-rata COX-2 antara persalinan preterm dan aterm. COX-2 merupakan faktor dominan untuk persalinan preterm.

Kata kunci: Persalinan preterm, cyclo-oxygenase-2; reseptor progesteron

Introduction

One of the important problems in obstetrics is preterm labor. World Health Organization (WHO) data every year 15 million babies born preterm and 1.1 million preterm newborns died due to complications¹. According to data 41% of preterm births are responsible for neonatal death. The incidence of preterm has to do with the subclinical inflammatory response of the maternal or fetal tissues². The most common cause of spontaneous preterm labor is a bacterial infection. Invasion of the choriodesidua bacteria through the release of endotoxin and fetal activating exotoxins results in a number of cytokines, including Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α), Interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, granulocyte colony stimulant factors. TNF- α will bind TNF α cell membrane receptors which will then stimulate Nuclear Factor Kappa Beta (NF-kB) activity. NF-kB is a transcription factor of the inflammatory cytokine regulatory factor^{3,4}.

Infection or inflammation that occurs in pregnancy will activate a pathway of proinflammatory cytokines, one of which is IL-6. IL-6 has a major role in hematopoiesis, immune, and acute infection. In the intrauterine acute infection process, the fetus will produce IL-6. Activation of proinflammatory cytokines can stimulate myometrial contractions that can increase Cyclo-oxygenase-2 (COX-2) levels, which in turn will increase prostaglandin levels. The inherited myometrium contains many lymphocyte infiltrations which can induce PGF2 α and other inflammatory cytokines to the threshold that can lead to functional progesterone discharge and initiate labor cascade, in this condition will cause a change in progesterone receptor A (PRA) and progesterone receptore B (PRB) that will stimulate prostaglandin increase, in this process will trigger an increase in matrix metalloproteinase that degrades the membrane and also causes cervical dilatation, resulting in preterm labor⁴⁻⁶.

Materials and methods

Study design and research sample

The research using cross sectional comparative study design, in the Obstetrics and Gynecology Departement Hospital Network and Dr. M. Djamil General Hospital Padang in May-July 2017. The population in this study were all patients who had preterm labor or gestational age between 28 (+ 0 days) week and 36 (+ 6 days) weeks gestation. The controls were women who had normal labor (>37 weeks) with a sample of 38 people in two groups. Sampling technique with consecutive sampling.

Research procedure

Examination of COX-2 level by ELISA method and Progesterone Receptor-A/Progesterone Receptor-B ratio (PRA/PRB ratio) with realtime PCR tested in the Biomedical laboratory of Faculty of Medicine Unand.

Data analysis

Normality data test with Shapiro-Wilk test and bivariate analysis with independent t-test and multivariate analysis with regression binary logistic. Data analysis with STATA program.

Results

The results of the study were to see the mean difference of COX-2 and progesterone receptor A and progesterone receptor B (PRA / PRB) ratio with preterm and term using independent sample t test. The mean COX-2 was higher at preterm labor 11.02 ± 3.33 ng/ ml compared to term labor 8.77 ± 1.36 ng/ml, statistic test result p value = 0.012 (p value < 0.05) then there is significant mean difference COX-2 levels between preterm labor and term birth (Table 1).

Table 1. Mean Difference of COX-2 between Preterm and Term Labor

Variable	Group		<i>p value</i>
	Preterm Labor (Mean $\pm$ SD)	Term Labor (Mean $\pm$ SD)	
COX-2 (ng/ml)	11,02 $\pm$ 3,33	8,77 $\pm$ 1,36	0,012

The progesterone receptor-A/progesterone receptor-B ratio at preterm labor 10.00 higher than term labor 7.58. However, in the statistical test results $p = 0,526$ (p value > 0,05) there is no mean difference between progesterone receptor-A/progesterone receptor-B ratio at preterm and term labor (Table 2).

Table 2. Mean Difference of Progesterone Receptor-A/Progesterone Receptor-B (PRA/PRB) Ratio between Preterm and Term Labor

Variable	Group		<i>p value</i>
	Preterm Labor (Mean)	Term Labor (Mean)	
P R A / P R B ratio	10,00	7,58	0,526

Mean COX-2 level and PRA/PRB ratio higher in preterm labor than term labor (Figure 1).

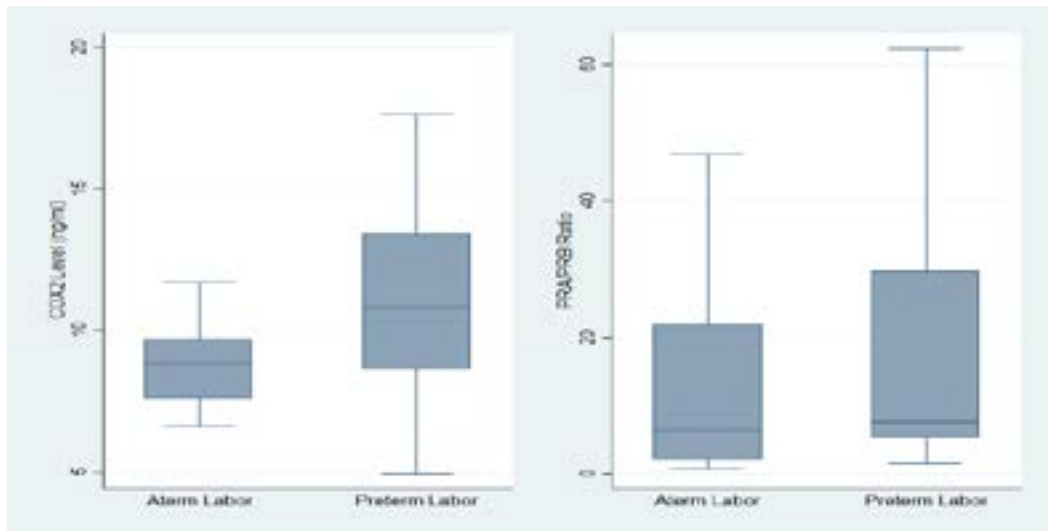


Figure 1. The Mean COX-2 Level and PRA/ PRB in Preterm and Term Labor

Multivariate analysis using regression binary logistic test was known that the dominant factor with preterm labor is COX-2 with OR 1.1 (Table 3).

Table 3. Multivariate Analysis Factors Associated for Preterm Labor

Variable	B	Exp (B)	p value	95% CI
NF-kB level (ng/ml)	-0,162	0,851	0,410	0,579-1,250
COX-2 level (ng/ml)	-0,356	1,100	0,047	1,493-2,995

Discussion

The result of the research showed that COX-2 level was higher at preterm labor than term labor. COX-2 levels in preterm labor were 16.13 ± 4.71 ng/ml higher than term labor 10.11 ± 5.69 ng/ml. There is a difference in COX-2 levels in preterm and term labor. The mean COX-2 in preterm labor was 88.75% compared with 46% in normal labor. This is consistent with that obtained from this study, that there is a mean difference COX-2 between preterm labor and term labor with significant differences in statistical tests, where the COX-2 level was higher in preterm labor⁷.

Progesterone in a low term pregnancy will stimulate the formation of cortisol. Increased cortisol will increase the production of protein A surfactants and phospholipids. As proinflammatory cytokines it will be able to stimulate myometrium contractions through increased TNF- α synthesis which will then increase COX-2 levels. COX-2 converts arachidonic acid into prostaglandin, and subsequent labor initiation occurs through uterine contractions, cervical dilatation and rupture of the membranes⁸. Cortisol can also increase the state of fetal stress and oxidative stress, which in turn can increase COX-2 levels, which in turn will increase prostaglandin levels resulting in labor⁵.

From the result of research known that the progesterone receptor-A/ progesterone receptor-B ratio at preterm labor higher than term labor, but there is no significant mean difference between progesterone receptor-A/ progesterone receptor-B ratio at preterm labor and term labor.

Progesterone receptor (PR) is a protein that acts as a transcription factor when binding to progesterone. Two PR isoforms are expressed in the human myometrium and PRA is a more dominant transrepressor than PRB in myometrial cells. Increased PRA/ PRB ratios have been implicated in functional progesterone discharge, in which the PRA/PRB protein ratio increases in myometrium after delivery⁹.

The highest PRA/PRB ratio in the preterm labor group (2.10 ± 0.32) ($p < 0.05$), followed by the term labor group (1.40 ± 0.51) ($p < 0.05$). These results suggest that the PRA/PRB ratio plays an important role in the mechanisms that regulate preterm and term labor. This is not in accordance with the results of the researchers, where there is no significant mean difference between PRA/PRB in preterm and term labor¹⁰.

There were differences in the results of the hypothesis conclusions obtained by the researchers compared with the previous researchers, however, there was a difference in the PRA/PRB ratio which was higher in the preterm labor group than term labor, but statistically the researchers found no significant mean difference. Some of the things that can lead to differences in the results of this study are the previous studies using experimental study design while the researchers used cross-sectional comparative study design¹⁰⁻¹². The research design plays an important role in answering the research question, when viewed the PRA/PRB ratio has the ability to answer the better hypothesis by using experimental design, because with the progesterone exposure intervention given, the researcher can follow up and see the effect on PRA/PRB ratio, this is certainly different from the research design when using cross sectional comparative study, which can only measure the PRA/PRB ratio one time.

Conclusion

There were significant difference in mean COX-2 levels with preterm and term labor. COX-2 is dominant factor for preterm labor.

References

1. WHO. 2016. Preterm Birth. Fact Sheet. Available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>.
2. UNICEF. 2012. Country Profile: Indonesia. Maternal, Newborn, and Child Survival. Statistics and Monitoring Section / Policy and Practice.
3. Tornblom SA, Klimaviciute A, Bystrom B, Chromek M, Brauner A, Ekman-Ordeberg G. 2005. Non-infecter preterm parturition is related to increased concentrations of IL-6, IL-8 and MCP-1 in human cervix. *Reproductive Biology and Endocrinology* 3:39.
4. Allport VC, Pieber D, Slater DM, Newton, White JO, et al. 2001. Human Labour is Associated With Nuclear factor-kB Activity Which Mediates Cyclo-oxygenase-2 Expression and is Involved With The 'Functional Progesterone Withdrawal'. *Molecular Human Reproduction* 7(6):581-6.
5. Gross G, Imamura T, Vogt SK, Wozniak DF, Nelson DM, Sadovsky Y, Muglia LJ. 2000. Inhibition of Cyclooxygenase-2 Prevents Inflammation-mediated Preterm Labor in The Mouse. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 278:1415-23
6. Agrawal V, Emmet H. 2012. Intrauterine Infection and Preterm Lanor. *Semin Fetal Neonatal Med* 17(1):12-9.

7. Loudon JA, Elliott CL, Hills F, Bennett PR. 2003. Progesterone represses interleukin-8 and cyclo-oxygenase-2 in human lower segment fibroblast cells and amnion epithelial cells. *Biol Reprod* 69(1):331-7.
8. Zarghi A. 2011. Selective COX-2 Inhibitors: A Review of Their Structure-Activity Relationships. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10 (4): 655-683.
9. Astle S, Slater. 2003. The Involvement of progesterone in the onset of human labor. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*:108:177-81.
10. Ziyang J, Huaibin R, Xiaotian MA, Guangtong S, Xiagging C, Zijian D et al. 2010. Regulation of progesterone receptor A and B expression in human preterm, term, and postterm placental villi. *Acta Obstetricia et Gynecologica* 89: 705–711.
11. Dong X, Shylnova O. 2005. Identification and characterization of the protein associated splicing factor as a negative co-regulator of the progesterone receptor. *J Biol Chem*; 280(14): 13329-40.
12. Condon JC, Hardy DB, Kovaric K, Mendelson CR. 2006. Up-Regulation of the Progesterone Receptor (PR)-C Isoform in Laboring Myometrium by Activation of Nuclear Factor- κ B May Contribute to the Onset of Labor through Inhibition of PR Function. *Mol Endocrinol* 20(4):764-75.

Kode Makalah : IndBio 003**Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi *Cryptosporidium* sp. (Diare/Non-diare) pada Penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang****Sri Wahyuni Handayani¹, Nuzulia Irawati², Aziz Djamil³**¹ STIKes Syedza Saintika, ² Bagian Parasitologi FK UNAND, ³ Bagian Mikrobiologi FK Unand**ABSTRAK**

Cryptosporidium adalah protozoa parasit intraseluler obligat yang menyerang epitel saluran pencernaan dengan gejala klinis diare. Infeksi protozoa ini merupakan infeksi oportunistik gastrointestinal yang paling penting pada penderita HIV/AIDS yang menyebabkan diare kronis 4 bulan/lebih bahkan menahun, menurunkan kualitas hidup dan mempersingkat kehidupan pasien AIDS karena dehidrasi dan malnutrisi sehingga dapat meningkatkan mortalitas dan morbiditas penderita HIV/AIDS. Prevalensinya di negara berkembang dua kali lipat dibandingkan di negara maju, terutama pada penderita dengan jumlah sel CD4 yang rendah. Penelitian baru-baru ini menemukan bahwa *Cryptosporidium* sp. terdapat pada penderita HIV/AIDS dengan diare maupun non-diare. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui hubungan jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium* sp. (diare/non-diare) pada penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang. Penelitian observasional dengan desain *cross sectional* dilakukan pada 42 sampel feses penderita HIV/AIDS dengan jumlah sel CD4 ≤ 200 sel/ μ l dari bulan April-Juni 2017. Pemeriksaan *Cryptosporidium* sp. dilakukan dengan pewarnaan Ziehl Neelsen di Laboratorium Parasitologi dan ELISA di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, jumlah sel CD4 didapatkan dari rekam medis dan analisa data menggunakan uji Chi Square. Hasil penelitian, tidak terdapat hubungan signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium* sp. dengan pewarnaan Ziehl Neelsen ($p > 0,05$), nilai $p = 0,137$ dan tidak terdapat hubungan signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium* sp. dengan ELISA ($p > 0,05$), nilai $p = 0,243$. Namun secara angka ada kecenderungan semakin rendah jumlah sel CD4 semakin tinggi infeksi *Cryptosporidium* sp. Kesimpulan, secara statistik tidak terdapat hubungan signifikan, namun secara angka ada kecenderungan semakin rendah jumlah sel CD4 semakin tinggi infeksi *Cryptosporidium* sp. baik diare maupun non-diare.

Kata kunci : *Cryptosporidium*, HIV/AIDS, sel T CD4, infeksi oportunistik gastrointestinal.**ABSTRACT**

Cryptosporidium is a protozoan obligate intracellular parasite which attacks the epithelium of digestive tract with clinical symptoms of diarrhea. This protozoal infection is the most important gastrointestinal opportunistic infection in people with HIV / AIDS and caused chronic diarrhea for 4 months or more, decreases quality of life and shortens the lifespan of AIDS patients due to dehydration and malnutrition so as to increase the mortality and morbidity of HIV / AIDS patients. Prevalence in developing countries doubled compared in developed countries, especially in patients with low CD4 cell count. Recent research has found that *Cryptosporidium* sp. is present on HIV / AIDS patient with diarrhea and non diarrhea. The purpose of this study was to know the association between the CD4 cells count with *Cryptosporidium* sp. infection on HIV/AIDS patients at Dr. M. Djamil Hospital Padang. This was an observational study with cross sectional design on 42 samples of HIV/AIDS fecal patients with CD4 cell count ≤ 200 cells / μ l from April to June 2017. The *Cryptosporidium* sp. was examined by oocyst detection with Ziehl Neelsen staining in the Laboratory of Parasitology and antigens detection by ELISA in the Laboratory of Microbiology, Faculty of Medicine Andalas University, CD4 cells count obtained from medical record and data analysis were using Chi Square test. Results of the study, there was no significant relationship between CD4 cell count and *Cryptosporidium* sp. infection on Ziehl Neelsen stain ($p > 0,05$) with the p value = 0,137 and there were no significant correlation between CD4 cell count and *Cryptosporidium* sp. infection on ELISA examination ($p > 0,05$) with the p value =

0,243. But there were a trend that the lower CD4 cells count with the higher *Cryptosporidium sp.* infection. Conclusion, there is no statistically significant relationship, but is the lower CD4 cells count the higher the risk of *Cryptosporidium sp.* infection both diarrhea and non-diarrhea.⁴

Keywords: *Cryptosporidium*, HIV/AIDS, CD4 T cells, gastrointestinal opportunistic infections.

Afiliasi penulis :

Korespondensi : Sri Wahyuni Handayani

email: yunibiomedik@gmail.com, Telp: 081363459859

PENDAHULUAN

Penderita HIV/AIDS meningkat setiap tahunnya dengan mortalitas dan morbiditas yang tinggi. Sel Limfosit T CD4 merupakan sel target infeksi HIV, dimana penurunan jumlah dan fungsi sel T CD4 akibat efek sitopatik infeksi HIV mengakibatkan kegagalan fungsi imun spesifik dan non spesifik dan kerentanan terhadap berbagai infeksi.

Infeksi *Cryptosporidium sp.* dilaporkan sebagai infeksi oportunistik gastrointestinal yang paling penting pada penderita HIV/AIDS. Menyebabkan diare kronis 4 bulan/lebih bahkan menahun, sehingga dapat meningkatkan mortalitas dan morbiditas penderita HIV/AIDS terutama penderita dengan jumlah sel CD4 yang rendah < 200 sel/ μ l.^{1,2,3}

Cryptosporidium sp. adalah protozoa parasit intraseluler obligat yang menyerang epitel saluran pencernaan. Menyelesaikan siklus hidup dalam satu host secara aseksual dan seksual. Menghasilkan dua morfologi ookista, yaitu ber dinding tipis (autoinfeksi) dan ber dinding tebal (feses). Ookista berukuran 4-6 μ m, hidup di dalam sel, tapi di luar sitoplasma yang berkontribusi pada resistensi terhadap pengobatan.^{2,3,4}

Cryptosporidiosis ditularkan melalui jalur fecal-oral dengan menelan air/makanan yang terkontaminasi atau melalui hubungan langsung manusia-manusia (antropontik) atau kontak hewan-manusia (zoonosis). Dosis menular tergantung pada strain yang menginfeksi, dengan 10 ookista sudah cukup untuk menyebabkan infeksi.⁵ Cryptosporidiosis sebagian besar merupakan infeksi yang ditularkan melalui air, karena ookista dapat bertahan di lingkungan selama periode yang lama dan bertahan terhadap klorinasi rutin, karena dindingnya yang tebal.^{2,3,5,6}

Prevalensi cryptosporidiosis pada pasien HIV/AIDS di dunia dilaporkan 3-4% di Amerika, 3,5%-22,4% di Brazil, sekitar 50% di Afrika dan Haiti, di Asia dilaporkan 3,6% di China, 8,5-85% di India.⁷ 22,2% di Nigeria,⁸ 50,8% di Ethiopia.⁹ Di Indonesia dilaporkan 11,6-36,8%.¹⁰

Tidak ada antiparasit yang efektif terhadap *Cryptosporidium* pada pasien dengan jumlah sel limfosit T CD4 yang rendah, terutama < 200 sel/ μ l dan mengakibatkan diare kronis yang fatal.^{1,5,9,11}

Penelitian baru-baru ini melaporkan adanya infeksi *Cryptosporidium sp.* yang ditemukan pada penderita HIV/AIDS dengan diare dan non-diare. Salah satu penelitian yang dilakukan Masarat *et al.* (2012), mendapatkan 80% infeksi *Cryptosporidium sp.* pada penderita HIV/AIDS non-diare.⁷

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* (diare/non-diare) pada penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain *Cross Sectional* yang dilakukan pada bulan April-Juni 2017 pada 42 orang penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang.

Pemeriksaan *Cryptosporidium sp.* dilakukan dengan pewarnaan Ziehl Neelsen dan pemeriksaan ELISA pada sampel feses penderita. Data sekunder didapat dari rekam medis yaitu jumlah sel CD4, faktor risiko penularan HIV dan sudah mendapat ARV/belum. Data sosio-demografi seperti usia, jenis kelamin, diare/tidak, jenis air yang dikonsumsi, hewan peliharaan/sekitar rumah didapatkan melalui kuisioner. Dan analisa data dilakukan dengan uji Chi

HASIL

Distribusi responden pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1., yaitu responden terdiri dari 88,1% laki-laki dengan kategori usia responden tertinggi adalah dewasa akhir 38,1% dan dewasa awal 35,7%, dengan rentang usia 26-45 tahun. Responden dengan jumlah sel CD4 < 100 sel/ μ l 52,4% dan $\geq$ 100 sel/ μ l 47,6%. Responden dengan gejala klinis diare hanya 28,6%.

Data kuisioner tentang faktor resiko infeksi parasit ini diantaranya yaitu sumber air yang dikonsumsi adalah 69,0% air galon isi ulang. Kucing merupakan hewan peliharaan/sekitar paling banyak yaitu 21,4%. Penularan HIV tertinggi adalah lelaki suka lelaki (LSL) sebanyak 50% yang juga merupakan faktor risiko infeksi parasit ini.^{12,13} Dan 73,8% responden sudah mendapat antiretroviral terapi, dan sisanya merupakan pasien baru.

Tabel 1. Distribusi Responden Berdasarkan Karakteristik Responden

Karakteristik Responden	f (n = 42)	(%)
Jenis Kelamin:		
Laki-laki	37	88,1
Perempuan	5	11,9
Usia:		
Kanak-kanak (5-11 tahun)	1	2,4
Remaja akhir (17-25 tahun)	6	14,3
Dewasa awal (26-35 tahun)	15	35,7
Dewasa akhir (36-45 tahun)	16	38,1
Lansia awal (46-55 tahun)	2	4,8
Lansia akhir (56-65 tahun)	2	4,8
Jumlah CD4:		
< 100 sel/ μ l	22	52,4
$\geq$ 100 sel/ μ l	20	47,6
Diare/Non-diare:		
Diare	12	28,6
Non-diare	30	71,4
Konsumsi Air:		
Air galon	29	69,0
Air Masak	13	31,0

Hewan Peliharaan/Sekitar:

Anjing	2	4,8
Ayam	3	7,1
Ayam, Burung	1	2,4
Kucing	9	21,4
Kucing, Anjing	1	2,4
Kucing, Ayam	4	9,5
Kucing, Ayam, Kambing	1	2,4
Lele	1	2,4
Sapi, Ayam	1	2,4
Tidak ada	19	45,2

Faktor Risiko HIV:

Ibu	1	2,4
Heteroseksual	15	35,7
LSL	21	50,0
Penasun	5	11,9

ARV:

ARV	31	73,8
Non ARV	11	26,2

Tabel 2 menunjukkan bahwa total positif *Cryptosporidium sp.* 52,4% dan tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* ($p > 0,05$), dimana nilai $p = 0,137$.

Tabel 2 Total *Cryptosporidium sp.* Positif dengan Pewarnaan Ziehl Neelsen dan Hubungannya dengan Infeksi *Cryptosporidium sp.*

Kriteria pasien	Pewarnaan Ziehl Neelsen		Total (%)	p	OR	95 % CI
	Positif (%)	Negatif (%)	n = 42			
CD4 < 100 sel/ μ l	9 (40,9)	13 (59,1)	22 (100)	0,137	0,373	0,107 -1,303
CD4 $\geq$ 100 sel/ μ l	13 (65,0)	7 (35,0)	20 (100)			
Total	22 (52,4)	20 (47,6)	42 (100)			

*Nilai p didapat dari uji Chi Squar

Tabel 3 Total *Cryptosporidium sp.* Positif dengan ELISA dan Hubungan antara Jumlah CD4 dengan Infeksi *Cryptosporidium sp.*

Kriteria pasien	ELISA		Total (%) n = 42	p	OR	95 % CI
	Positif (%)	Negatif (%)				
CD4<100 sel/ μ l	6 (27,3)	16 (72,3)	22 (100)	0,243	0,296	0,052 -1,682
CD4 $\geq$ 100 sel/ μ l	2 (10,0)	18 (90,0)	20 (100)			
Total	8 (19,0)	34 (81,0)	42 (100)			

*Nilai *p* didapat dari uji *Chi Square*

Tabel 3 menunjukkan bahwa total positif *Cryptosporidium sp.* 19,0% dan tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* ($p > 0,05$), dimana nilai $p = 0,243$.

PEMBAHASAN

Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi *Cryptosporidium sp.* (diare/non-diare)

a. Pewarnaan Ziehl Neelsen

Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* (diare/non-diare) pada penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang pada pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan Ziehl Neelsen $p = 0,137$ ($p > 0,05$). Dimana 65,0% ookista lebih banyak ditemukan pada penderita dengan jumlah CD4 ≥ 100 sel/ μ l, dan 59,1% (13/22) positif adalah penderita HIV/AIDS non-diare.

b. ELISA

Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* (diare/non-diare) pada penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang pada pemeriksaan ELISA ($p > 0,05$), nilai $p = 0,243$.

Secara statistik jumlah sel CD4 tidak berpengaruh signifikan terhadap kejadian infeksi *Cryptosporidium sp.* Namun secara angka ada kecenderungan, semakin rendah jumlah sel CD4 semakin tinggi infeksi *Cryptosporidium sp.* ditemukan, dimana dari 19,0% total positif *Cryptosporidium sp.*, 75% (6/8) adalah penderita dengan jumlah CD4 ≤ 100 sel/ μ l, dan 62,5% (5/8) penderita non-diare.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tejashree *et al.*, yang mendapatkan 5% positif *Cryptosporidium sp.* dengan pewarnaan Ziehl Neelsen dan 9 % positif dengan ELISA.¹⁴ Wahdini *et al.*, mendapatkan 11,6% positif dengan pewarnaan Ziehl Neelsen dan 36,8% dengan ELISA.¹⁰ Parghi *et al.*, menemukan 11,3% dengan pewarnaan Ziehl Neelsen dan 17,7% dengan ELISA dan Rashmi & Ravi, mendapatkan 16,7% dengan pewarnaan Ziehl Neelsen, 18,9% ELISA.^{15,16}

Hal ini dapat terjadi karena adanya positif palsu pada pemeriksaan mikroskop dengan pewarnaan Ziehl Neelsen, dimana ookista berwarna pink hingga fuschia, berbentuk bulat menyerupai oval dengan ukuran 4-6 μ m harus dapat dibedakan dari organisme lain yang juga dapat terwarnai dengan pewarnaan ini seperti *Cyclospora* dan *Isospora* yang berukuran lebih besar 8-10 μ m.³ Untuk memastikan ookista *Cryptosporidium sp.*, harus dilakukan pengukuran ookista pada preparat dengan mikroskop yang dilengkapi mikrometer.

Pada pemeriksaan mikroskopik juga dapat terjadi negatif palsu karena ookista tidak ditemukan. Hal ini berkaitan dengan masa prepaten yaitu waktu antara tertelannya ookista matang (infeksi) dan keluarnya ookista bersama feses yang berkisar 5-21 hari. Lama pengeluaran pada individu imunokompeten sebulan, namun pada individu imunokompromais jauh lebih lama.³ Sementara, waktu infeksi awal sulit ditentukan karena manifestasi klinis yang bervariasi tergantung spesies atau sub tipe yang menginfeksi.⁵ Maka, ookista yang tidak ditemukan kemungkinan karena pasien tidak sedang mengeluarkan ookista pada saat sampel feses dikumpulkan.²

Pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan Ziehl neelsen merupakan cara terbaik untuk diagnosis etiologi cryptosporidiosis dengan identifikasi ookista, yang membutuhkan pengalaman dan keterampilan tenaga laboratorium.^{3,5,17}

Hasil pemeriksaan yang terbatas ini membutuhkan pemeriksaan tambahan untuk mengkonfirmasi yaitu deteksi antigen dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) terutama pada pasien yang dicurigai dan berisiko tinggi terinfeksi *Cryptosporidium sp.* yaitu penderita HIV/AIDS dengan jumlah sel CD4 < 200 sel/ μ l.

Hasil pemeriksaan ELISA didapatkan total positif *Cryptosporidium sp.* hanya 19,0%, sementara dengan pewarnaan Ziehl Neelsen didapatkan 52,4%. Hasil ini sesuai dengan penelitian Jayalakshmi *et al.*, yang mendapatkan 10 positif dengan ELISA dari 11 positif dengan pewarnaan Ziehl Neelsen, dimana terdapat 1 yang positif dengan Ziehl Neelsen namun negatif dengan ELISA.¹⁸

Sementara Silva *et al.*, mendapatkan masing-masing 1 sampel yang salah diidentifikasi sebagai positif palsu dan negatif palsu oleh uji ELISA.¹⁹ Hal ini terjadi karena ookista pada sampel kurang dari lima per 0,01 mL feses konsentrat, sehingga ELISA gagal mendeteksi karena antigen tidak dapat diakses atau tidak dikenali oleh antibodi poliklonal yang mendeteksi.²⁰

Penelitian ini menggunakan human fecal cryptosporidium elisa kit Diagnostic Automation/Cortez Diagnostic, Inc (USA) dengan nilai *cut off Optical Density* (OD) 0,08 unit. Pembacaan hasil dilakukan berdasarkan nilai *cut off*, dimana hasil pemeriksaan ELISA paling banyak < 0,08 dan hasil dibaca negatif.

Berdasarkan penelitian eksperimental yang dilakukan oleh Newman *et al.*, bahwa specimen positif ELISA akan kehilangan antigenitasnya dan memberikan hasil negatif palsu hingga 37 hari (paling awal) sampai 158 hari (terbaru) setelah minimal tiga siklus pencairan beku.²¹

Hasil positif palsu juga dapat terjadi pada pemeriksaan dengan ELISA, yaitu pasien yang baru sembuh dari cryptosporidiosis, dimana mungkin antigenya masih ada pada feses tanpa adanya ookista keseluruhan saat integritas parasit terganggu.¹⁹

Kehadiran parasit usus lainnya dalam sampel feses tidak mengubah hasil ELISA untuk antigen Cryptosporidial.^{17,22}

Tingginya kecenderungan cryptosporidiosis pada penderita HIV/AIDS dengan jumlah sel CD4 yang lebih rendah merupakan masalah yang sangat memprihatinkan. Sebuah investigasi yang dilakukan Swathirajan *et al.*, antara Januari 2002 dan Desember 2014 menemukan 90% kasus *Cryptosporidium sp.* dari semua infeksi parasit intestinal pada pasien HIV/AIDS dengan jumlah sel CD4 < 200 sel/ μ l.²³

Nsagha *et al.*, menemukan tidak ada perbedaan signifikan Infeksi *Cryptosporidium sp.* pada pasien yang telah mendapat antiretroviral dan yang belum.²³

Kegagalan untuk mendiagnosis awal cryptosporidiosis pada pasien dapat mengganggu prosedur terapeutik, yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi.²⁴

Penelitian pada pasien HIV/AIDS menunjukkan bahwa infeksi *C. hominis* dikaitkan dengan durasi gejala yang lebih lama, infeksi asimtomatik yang lebih tinggi, dan jumlah sel CD4 yang lebih rendah dibandingkan dengan *C. parvum*. Pasien HIV/AIDS yang terinfeksi oleh spesies *Cryptosporidium* zoonosis lebih mungkin mengalami diare dan demam dari pada yang terinfeksi *C. hominis*. Di negara berkembang *C. hominis* adalah spesies yang paling banyak diidentifikasi.⁵

ELISA dengan sensitivitas tinggi 60-92,6% dan spesifisitas 90-100%, dan tidak bergantung pada keterampilan teknis untuk mendeteksi morfologi dan identifikasi ookista yang merupakan alternatif diagnostik untuk mikroskop langsung yang sulit.^{5,22,25} Namun pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan Ziehl Neelsen tetap merupakan *gold standard* untuk diagnosis klinis dan merupakan pemeriksaan yang tersedia secara umum dan lebih terjangkau.^{5,17}

KESIMPULAN

Secara statistik tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* (diare/non-diare) pada penderita HIV/AIDS di RS. Dr. M. Djamil Padang, namun secara angka ada kecenderungan semakin rendah jumlah sel CD4 semakin tinggi infeksi *Cryptosporidium sp.*

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala dan perawat poliklinik VCT RS. Dr. M. Jamil Padang yang telah mengizinkan pasiennya turut serta dalam penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Kepala dan Staf Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Mikrobiologi FK-Unand yang telah membantu pemeriksaan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tuli L, Gulati AK, Sundar S and Mohaputra TM. Correlation between CD4 count of HIV patients and enteric protozoan in different seasons-an experience of a tertiary care hospital in Varansi (India). BMC Gastroenterology;2008;8:36.
2. Cabada, MM. Cryptosporidiosis: background, etiology and pathophysiology, epidemiology. Medscape Reference Drugs, Diseases & Procedures. 2015.
3. Sutanto I, Ismid IS, Sjarifuddin PK, Sungkar S. Buku Ajar Parasitologi Kedokteran. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Edisi Keempat Cetakan ke-2. 2009.
4. Patenburg B, Dann SM, Wang HC, Robinson P, Gonzales AC, Lewis DE and White Jr. A. Clinton. Intestinal immune response to human *Cryptosporidium sp.* infection. Infection and Immunity. 2008.
5. O'Connor, Roberta M, Shaffie, Rehaan, Kang, Gagandeep, Ward, Honorine D. Cryptosporidiosis in patients with HIV/AIDS. AIDS. 13 March 2011;25(5):549–60.
6. Iqbal A, Lim YA, Mahdy MAK, Dixon BR. and Surin J. Epidemiology of Cryptosporidiosis in HIV-infected individuals: A global perspective. Open acces scientific reports. 2012. <http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.431>.

7. Masarat S, Ahmad F, Chisti M, Sofi B. Ahmad. Prevalence of *Cryptosporidium* species among HIV positive asymptomatic immigrant population in Kashmir, India. Iranian Journal of Microbiology Volume 4 Number 1 (March 2012) 34-38.
8. Akinbo FO, Okaka CE, Omoregie R. Prevalence of intestinal parasites in relation to CD4 counts and anaemia among HIV-infected patient in Benin City, Edo State, Nigeria. Tanzania Journal of Health Research. 2011.
9. Assefa S, Erko B, Medhin G, Assefa Z and Shimelis T. Intestinal parasitic infection in relation to HIV/AIDS status, diarrhea and CD4 T-cell count. BMC Infectious Diseases. 2009;9:155.
10. Wahdini S, Kurniawan A, Yuniastuti E. Deteksi koproantigen *Cryptosporidium* sp. pada pasien HIV/AIDS dengan diare kronis. eJKI. 2016 April 1;4(1).
11. Cama VA, Ross JM, Crawford S, Kawai V, Valdez RC, Vargas D, *et al.* Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtype 1 HIV-infected persons. The journal of infectious diseases. 2007 sept ;16(5):684-91.
12. Tejashree, Pooja PB and Babu KS. Comparative evaluation of microscopy and ELISA in diagnosis of Cryptosporidiosis in HIV and non-HIV patients. Int. J. Curr. Microbiol.App. Sci(2017);6(1):232-39.
13. Hunter PR, Nicchols G. Epidemiology and clinical features of Cryptosporidium infection in immunocompromised patients. Clin. Microbiol. Rev. Januari 2002;15(1):145-54.
14. Wumba R, Longo-Mbenza B, Mandina M, Kintoki F, Situakibanza NH, Kakicha MK, *et al.* Epidemiology, clinical, immune, and molecular profiles of microsporidiosis and cryptosporidiosis among HIV/AIDS patients. Int J Gen Med. 2012;5:603-611.
15. Parghi E, Dash L, Shastri J. Evaluation of different modifications of acid-fast staining techniques and stool enzyme-linked immunosorbent assay in detecting fecal Cryptosporidium in diarrheic HIV seropositive and seronegative patients. Trop parasitol. 2014 Jul-dec;4(2):99-104.
16. Rashmi KS and Ravi Kumar KL. Intestinal Cryptosporidiosis and the profile of the CD4 counts in a cohort of HIV infected patients. [J Clin Diagn Res](#). 2013 Jun;7(6):1016-20.
17. Arjun W, Patil SS, Jangale NP, Ramteerthkar MN, Kulkarni VA, Kuruthukulangara MR, *et al.* Study of enteric parasites in HIV infected patients with diarrhea. International J. Of Healthcare and Biomedical Research. 2016;04:16-20.
18. Jayalakshmi J, Appalaraju B, Mahadevan K. Evaluation of an enzyme-linked immunoassay for the detection of Cryptosporidium antigen in fecal specimens of HIV/AIDS patients. Indian J Pathol Microbiol. 2008 Jan-Mar;51(1):137-8.
19. Silva CV, Ferreira MS, Gonzales-Pires MDO R, Costa-Cruz JM. Detection of cryptosporidium-specific coproantigen in human immunodeficiency syndrome patients by using a commercially available Immunoenzymatic assay. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003;98:1097-9.
20. Ungar BL. Enzyme-linked immunoassay for detection of Cryptosporidium antigens in fecal specimens. J Clin Microbiol. 1990;28:2491-5.
21. Newman RD, Jaeger KL, Wuhib T, Lima AA, Guerrant RL, Sears CL. Evaluation of an antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Cryptosporidium oocysts. J Clin Microbiol. 1993;31:2080-4.
22. Mehta P. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. J Postgrad Med. 2002;48:217.

23. [Swathirajan CR](#), [Vignesh R](#), [Pradeep A](#), [Solomon SS](#), [Solomon S](#), [Balakrishnan P](#). Occurrence of enteric parasitic infections among HIV-infected individuals and its relation to CD4 T-cell counts with a special emphasis on coccidian parasites at a tertiary care centre in South India. [Indian J Med Microbiol](#). 2017Jan-Mar;35(1):37-40.
24. [Nsagha DS](#), [Njunda AL](#), [Assob NJ](#), [Ayima CW](#), [Tanue EA](#), [Kibu OD](#), [Kwenti TE](#). Intestinal parasitic infections in relation to CD4(+) T cell counts and diarrhea in HIV/AIDS patients with or without antiretroviral therapy in Cameroon. [BMC Infect Dis](#). 2016 Jan 11;16:9.
25. Khalil S, Mirdha BR, Sinha S, Panda A, Sigh Y, Joseph A, Deb M. Intestinal parasitosis in relation to anti-retroviral therapy, CD4⁺ T-cell count and diarrhea in HIV patients. *Korean J Parasitol*. 2015;53(6):705-12.

Kode Makalah : IndBio 004

**Bagaimana HIIT (Latihan Interval Intensitas Tinggi) Mempercepat
Metabolisme Energi dan Protein Kontraktil pada
Tikus Wistar Dewasa Muda**

Delima Engga Maretha¹, Dewi Sukmawati², Sri Widia A Jusman³, Ermita I. Ibrahim Ilyas^{4*}

¹Raden Fatah State Islamic University¹, ²Department of Histology, ³Department of Biochemistry
and Molecular Biology, ⁴Department of Physiology Faculty of Medicine
Universitas Indonesia Jln. Salemba Raya No. 6 -10430, Jakarta, Indonesia

ABSTRACT

Background: Sedentary lifestyle productive age influences the quality of life can cause a decrease in function and muscle mass or sarcopenia. One approach to maintaining the quality of life is physical exercise. High intensity interval training (HIIT) are known to be able to maintain and improve quality of life. This study aims to determine the effect of HIIT to prevent sarcopenia in the aging process of experimental animals.

Methods: This study was using 15 Male young adults (6 months) Wistar rats, treated with HIIT for 8 weeks. Each age group was divided randomly into 3 groups, : Control 1 (6 month; (C2, HIIT; 8 month). At the end of the 8th week Troponin T levels were examined, PGC-1 α (ELISA); lactic acid levels (spectrophotometry).

Results: Troponin-T levels and PGC-1 α of HIIT groups were higher than C2. There were no differences in blood lactic acid levels in the HIIT compared to C2.

Conclusion: HIIT for 8 weeks in young adult rats can maintain levels of Troponin T and PGC-1 α which are important for energy metabolism and contraction of skeletal muscles. The application of these exercises in young adult rats does not increase blood lactate levels that exceed the normal threshold. This research shows that HIIT can be applied in young adult rats and are useful in preventing sarcopenia.

Keywords: HIIT, sarcopenia, troponin-T, PGC-1 α , lactate.

ABSTRAK

Latlar belakang: Gaya hidup sedenter dapat mempengaruhi kualitas hidup dan menyebabkan penurunan fungsi dan massa otot atau sarcopenia. Salah satu pendekatan untuk menjaga kualitas hidup adalah latihan fisik. Latihan interval intensitas tinggi (HIIT) diketahui mampu mempertahankan dan meningkatkan kualitas hidup. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh HIIT untuk mencegah sarcopenia dalam proses penuaan pada hewan coba.

Metode: Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan 15 ekor (usia 6 bulan) diberi HIIT selama 8 minggu. Tiap kelompok dibagi secara acak menjadi 3 kelompok, yaitu Kontrol 1/K1 (6 bulan; (K2, HIIT; 8 bulan). Pada akhir minggu ke 8 kadar Troponin T diperiksa, PGC-1 α (ELISA), kadar asam laktat (spektrofotometri).

Hasil: Kadar Troponin-T dan PGC-1 α kelompok HIIT lebih tinggi dari K2. Tidak ada perbedaan dalam kadar asam laktat darah HIIT dibandingkan dengan K2.

Kesimpulan: HIIT selama 8 minggu pada tikus dewasa muda dapat meningkatkan kadar Troponin T dan PGC-1 α yang penting untuk metabolisme energi dan kontraksi otot rangka. Penerapan latihan ini pada tikus dewasa muda tidak meningkatkan kadar laktat darah yang melebihi ambang normal. Penelitian ini menunjukkan bahwa HIIT dapat diterapkan pada tikus dewasa muda dan berguna dalam mencegah sarcopenia.

Kata kunci: HIIT, sarcopenia, troponin-T, PGC-1 α , laktat.

PENDAHULUAN

Pada proses penuaan terjadi penurunan kapasitas fungsional sistem tubuh secara bertahap dan *irreversible* sampai pada tingkat kegagalan dan kematian. Penurunan kapasitas fungsional tersebut terjadi mulai dari tingkat molekul, sel, jaringan bahkan pada tingkat organ sehingga memberikan dampak negatif terhadap tubuh. Proses penuaan berlangsung melalui interaksi komponen genetik, kimiawi tubuh, fisiologi dan perilaku.^{1,2} Penurunan fungsi otot akibat penurunan massa otot dan berkurangnya kekuatan otot dikenal sebagai sarkopenia. Sarkopenia dapat menyebabkan kelemahan tubuh dan akan meningkat seiring berjalannya waktu. Sarkopenia akan menyebabkan penurunan aktivitas fisik, penurunan mobilitas, cara berjalan yang lambat, dan ketahanan fisik yang rendah.^{3,4} Proses terjadinya sarkopenia dapat disebabkan oleh penurunan massa otot yang telah dimulai setelah usia 30 tahun sebesar 0,5-1%/tahun dan diketahui akan terus mengalami penurunan dengan bertambahnya usia.^{5,6} Penurunan massa otot pada proses penuaan diketahui dapat mempengaruhi kecepatan dan kekuatan kontraksi serta relaksasi otot. Seiring dengan meningkatnya usia terjadi penurunan massa otot rangka dipengaruhi oleh sintesis protein kontraktile otot rangka yang berperan pada kontraksi otot.^{7,8} Pada kontraksi otot berperan antara lain molekul troponin, tropomiosin, aktin dan miosin. Sejauh ini komponen protein kontraktile otot rangka pada proses penuaan khususnya peranan troponin T masih sedikit diteliti.

Latihan fisik diketahui dapat meningkatkan aktivitas metabolisme otot rangka. PGC-1 α merupakan regulator biogenesis mitokondria. Mitokondria diketahui berperan utama pada metabolisme aerobik. Pada proses penuaan terjadi disfungsi mitokondria yang ditandai dengan penurunan kadar PGC-1 α . Penurunan biogenesis mitokondria berperan dalam penurunan fungsi otot rangka sehingga dapat menyebabkan kelemahan (*frailty*) pada sarkopenia.⁹ Salah satu cara untuk dapat hidup sehat dan mandiri adalah melalui konsep menua sehat (*Healthy Aging*). Menua sehat dapat dicapai antara lain dengan berolahraga.¹⁰ Olahraga berperan dalam upaya promotif, preventif dan rehabilitatif pada berbagai jenis gangguan kesehatan. Latihan fisik yang dilakukan pada usia lebih awal dapat mencegah terjadinya sarkopenia dan penurunan fungsi kardiovaskuler.¹¹

Latihan fisik intensitas tinggi dengan interval (*High Intensity Interval Training/hiit*) juga bermanfaat untuk kesehatan.^{12,13} HIIT merupakan bentuk latihan dengan strategi latihan intensitas tinggi dengan durasi pendek, disertai dengan waktu istirahat atau interval. Durasi HIIT bervariasi mulai dari 60 detik-20 menit dengan intensitas 90-100% MHR.^{14,15} HIIT memiliki antara lain: durasi latihan yang lebih singkat dan intensitas yang lebih tinggi, dapat dilakukan pada masyarakat dengan tingkat kesibukan yang tinggi, dapat menurunkan lemak tubuh, meningkatkan kapasitas kardiometabolik yang lebih cepat dan efisien, meningkatkan daya tahan (*endurance*). Penelitian mengenai HIIT sampai saat ini masih sangat terbatas. Penelitian yang telah ada selama ini hanya mengukur pengaruh HIIT terhadap metabolisme karbohidrat dan lemak, efeknya pada fungsi sistem kardiovaskuler, dan pengukuran protein miofibril pria sedenter usia 67 tahun.¹⁶ Akan tetapi, belum ada yang menilai bagaimana pengaruh HIIT terhadap metabolisme otot rangka, protein yang mempengaruhi kontraksi otot rangka.

Salah satu kelemahan latihan dengan intensitas tinggi adalah dapat menyebabkan peningkatan metabolisme anaerob sehingga terjadi peningkatan kadar asam laktat. Peningkatan kadar asam laktat dalam otot dan darah dapat mempengaruhi aktivitas seluler akibat terganggunya kerja sejumlah enzim yang bekerja pada pH netral/basa, selain itu kondisi asam dalam sel juga akan memicu kerusakan sel.¹⁷ Adanya fase istirahat (interval) pada HIIT, memungkinkan terjadinya penurunan kadar asam laktat yang terbentuk saat fase latihan intensitas tinggi (anaerob). Oleh

karena itu, durasi yang lebih singkat dan adanya interval pada HIIT, diharapkan mengurangi kelemahan/kerugian di atas, sehingga dapat dilaksanakan secara teratur dan terus menerus pada usia dewasa dengan kesibukan yang tinggi.

Penelitian ini dilakukan pada dua kelompok tikus Wistar jantan usia dewasa muda (6 bulan, analog usia 18 tahun pada manusia)¹⁸ Hal ini dilakukan untuk mengetahui manfaat dan kelebihan HIIT pada tikus usia dewasa muda.

Bahan dan Metode

Subjek penelitian

Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus (*Rattus novergicus*) strain *Wistar* jantan yang sehat fisik ditandai dengan gerakan aktif berusia 6 bulan (BB 300-400 g) mewakili kelompok usia dewasa muda.¹⁸ Penelitian ini merupakan penelitian dengan studi eksperimental menggunakan hewan coba tikus (*Rattus novergicus*) strain *Wistar* jantan yang diperoleh dari PT. Biofarma Persero Bandung. Pada penelitian ini digunakan tikus dengan dua kelompok usia, yaitu dewasa muda = 6 bulan. Perlakuan latihan fisik HIIT selama 8 minggu. Hewan coba dibagi secara acak dalam 3 kelompok yaitu:

Kelompok dewasa muda:

1. Kelompok kontrol 1 (K1-M): dekapitasi pada hari 1 penelitian
2. Kelompok kontrol 2 (K2-M): dekapitasi pada minggu ke-8 penelitian
3. Kelompok HIIT (*High Intensity Interval Training*) (HIIT-M): diberikan perlakuan HIIT selama 8 minggu.
- 4.

Tempat dan Waktu Penelitian

Eksperimen dilaksanakan di Laboratorium Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Litbangkes Departemen Kesehatan RI Jakarta. Pemeriksaan asam laktat di laboratorium Biokimia Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler FKUI. Pemeriksaan PGC-1 α dan Troponin T dengan metode ELISA dilakukan di Laboratorium Terpadu FKUI. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan September 2016-Maret 2017.

Prosedur penelitian

Aklimatisasi hewan coba dilakukan selama 1 minggu, untuk penyesuaian tikus dengan kondisi lingkungan tempat penelitian baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Untuk kelompok perlakuan, tikus diperkenalkan pada alat *treadmill* dengan cara melatih tikus berlari di atas *treadmill* setiap hari selama 5 hari dengan kecepatan dan waktu yang ditingkatkan secara bertahap.

Tikus diberi makanan pelet standar (diet standar) dan minuman (*ad libitum*) yang secara bebas mendapatkan akses. Kandang dijaga kebersihannya serta diatur 12 jam terang dan 12 jam gelap. Suhu lingkungan dijaga pada suhu 23°C. Pemeliharaan dilakukan selama penelitian ini sesuai dengan kode etik komisi penanganan dan penggunaan hewan coba. Sebelum perlakuan, berat badan tikus ditimbang terlebih dahulu.

Prosedur latihan kelompok HIIT sebagai berikut: Tikus berlari di atas *treadmill* selama 4 menit, diikuti dengan interval istirahat selama 1 menit. Prosedur ini dilakukan sebanyak 4x. Tikus berlari di atas *treadmill* dengan kecepatan dari 16 m/menit pada minggu pertama ditingkatkan sampai 25 m/menit pada minggu ke-8. Sebelum dan sesudah HIIT, dilakukan pemanasan-pendinginan selama 5 menit, tikus berlari di atas *treadmill* dengan kecepatan 6 m/menit. Keseluruhan prosedur perlakuan dilakukan selama 5 hari per minggu selama 8 minggu berturut-turut.

Metode Pengukuran

Pengukuran Kadar Troponin T (TnT) dengan Metode ELISA (menggunakan Kit ELISA dari Elabscience, nomor katalog *Rat Tn-T ELISA Kit*, E-EL-R0054).¹⁹

Pemeriksaan ini menggunakan prinsip *Sandwich ELISA*. *Microtiter Plate* dilapisi oleh *capture antibody* yang spesifik terhadap TnT. Sementara itu *detection antibody* TnT pada kit dikonjugasikan dengan *Horseradish Peroxidase* (HRP). Sampel, standar dan *detection antibody* TnT ditambahkan ke dalam *Microtiter Plate*.

Pengukuran Kadar PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α (PPARGC-1 α)) dengan Metode ELISA (menggunakan Kit ELISA dari CusaBio, nomor katalog CSB-ELO18425RA).²⁰

Pemeriksaan ini menggunakan prinsip *Sandwich ELISA*. *Microtiter Plate* dilapisi oleh *capture antibody* yang spesifik terhadap PGC-1 α . Sementara itu *detection antibody* PGC-1 α pada kit dikonjugasikan dengan *Horseradish Peroxidase* (HRP). Sampel, standar dan *detection antibody* PGC-1 α ditambahkan ke dalam *Microtiter Plate*.

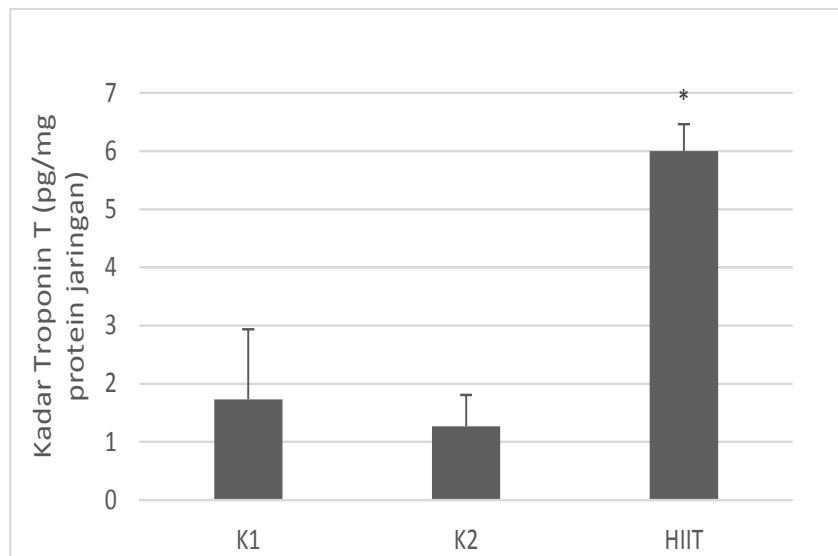
Pengukuran Kadar Asam Laktat dengan Spektrofometri (menggunakan Kit Laktat dari Randox, LC2389).²¹

Pengukuran asam laktat dilakukan menggunakan kit Laktat dari Randox. Standar Laktat (4,34 mmol/L). Kurva standar dibuat dengan mengencerkan berbagai konsentrasi S1, S2 S3, S4, S5 dengan NaCl 0.9%. Diambil 10 μ L masing-masing standar yang sudah di encerkan dengan NaCl 0,9% kemudian ditambahkan 1 mL *lactate assay buffer*. Untuk mengukur laktat plasma ditambahkan 10 μ L plasma ditambahkan 1 mL *lactate assay buffer*. Selanjutnya diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Hasil dibaca dengan spektrofotometer pada λ 550 nm.

Hasil dan Diskusi

Kadar Troponin T

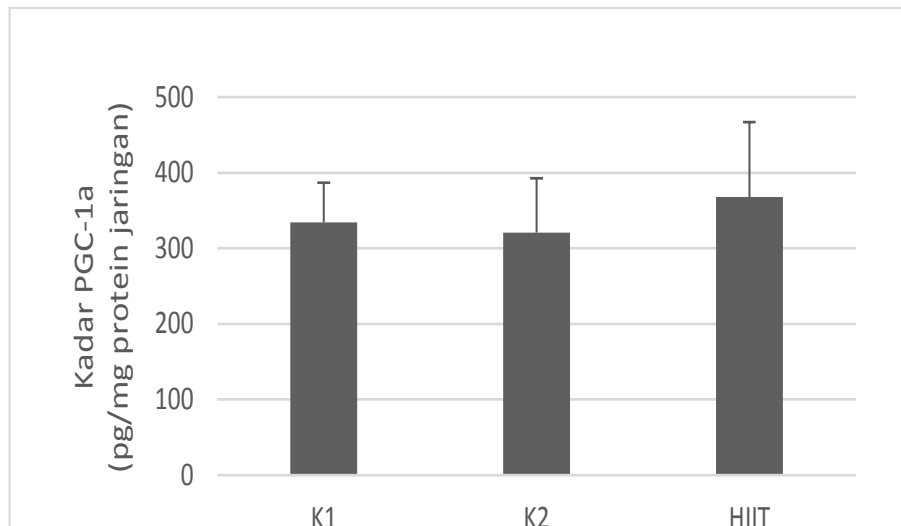
Pada Gambar 1 kadar Troponin T pada kontrol dewasa muda (K1-M) adalah $1,73 \pm 1,21$ pg/mg protein jaringan; K2-M = $1,27 \pm 0,54$ pg/mg protein jaringan. Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar Troponin T antara K2-M dan K1-M ($p=0,463$). HIIT selama 8 minggu menunjukkan bahwa HIIT-M lebih tinggi bermakna dibandingkan K2-M ($6,00 \pm 0,46$; $p=0,000$).



Gambar 1. Troponin T pada otot gastroknemius. Kelompok HIIT menunjukkan kadar Troponin T lebih tinggi bermakna dibandingkan kelompok K2 ($p=0,000$; $\pm SD$; T-Test, $*p<0,05$)

Kadar PGC-1 α

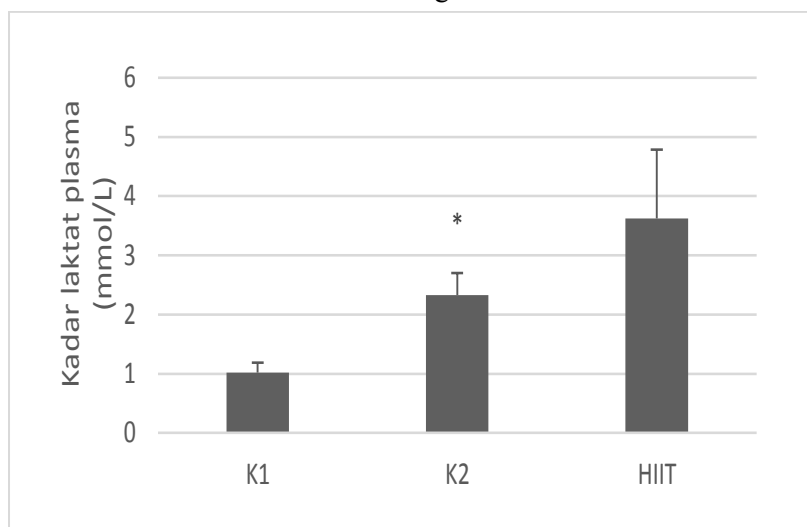
Pada Gambar 2 tampak kadar PGC-1 α pada kontrol dewasa muda (K1-M) adalah $334,10 \pm 52,57$ pg/mg protein jaringan; K2-M = $320,65 \pm 72,02$ pg/mg protein jaringan. Kadar PGC-1 α setelah perlakuan HIIT selama 8 minggu $368,23 \pm 98,97$ pg/mg protein jaringan, menunjukkan bahwa kadar PGC-1 α pada dewasa muda tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara HIIT-M dibandingkan K2-M.



Gambar 2. PGC-1 α pada otot gastroknemius. Kelompok HIIT menunjukkan kadar PGC-1 α lebih tinggi dibandingkan kelompok K2 tetapi tidak bermakna ($\pm SD$; T-Test, $*p<0,05$)

Kadar Laktat plasma

Pada Gambar 3 tampak kadar laktat plasma pada kontrol dewasa muda (K1-M) adalah $1,02 \pm 0,17$ mmol/L; K2-M $2,33 \pm 0,37$ mmol/L. Terdapat perbedaan bermakna kadar laktat plasma antara K2-M dan K1-M ($p=0,009$). Kadar laktat plasma setelah perlakuan HIIT selama 8 minggu $3,62 \pm 1,17$ mmol/L, menunjukkan bahwa kadar laktat plasma pada dewasa muda tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara HIIT dibandingkan K2.



Gambar 3. Kadar Laktat Plasma. Kelompok K2-M menunjukkan kadar laktat plasma lebih tinggi bermakna dibandingkan kelompok K1-M ($p=0,009$; $\pm$ SD; T-Test, $*p<0,05$)

Pada penelitian ini rerata kadar Troponin T (TnT) pada K2-M lebih rendah dibandingkan dengan K1-M tidak bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi perubahan kadar TnT seiring dengan pertambahan usia. Pertambahan usia menyebabkan terjadinya penurunan massa otot rangka disertai dengan penurunan kekuatan kontraktile yang cukup besar. Ohlendick menyatakan bahwa pada proses penuaan terjadi perubahan serat otot tipe cepat (tipe glikolitik) ke serat tipe lambat (tipe oksidatif), dan terjadi penurunan ekspresi berbagai protein kontraktile otot termasuk TnT pada serat otot tipe cepat (*Fast TnT*).²²

Kadar TnT setelah HIIT pada tikus dewasa muda lebih tinggi bermakna dibandingkan K2-M. Tampaknya aktivitas fisik, baik HIIT pada tikus usia dewasa muda dapat meningkatkan sintesis protein otot, termasuk TnT. Hal ini dikemukakan oleh Ohlendick²² dan Bell⁷ bahwa aktivitas fisik dapat mengubah profil protein serat otot, melalui peningkatan kaskade pensinyalan pada serat otot untuk sintesis protein antara lain TnT. Latihan menstimulasi sintesis protein melalui beberapa jalur sinyal yang mengaktivasi *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1) yang merupakan regulator penentu sintesis protein otot. Aktivasi mTORC1 akan mengaktifkan faktor-faktor translasi antara lain *4E-binding protein* (4E-BP1), *p70 ribosomal protein S6 kinase 1* (P70S6K1) yang akan menginisiasi sintesis protein.²³

Pada penelitian ini, pada HIIT pada tikus usia dewasa muda ditemukan peningkatan kadar TnT otot dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan (sedenter). Hal ini menunjukkan bahwa latihan fisik dapat mencegah penurunan TnT, yang berperan dalam mempengaruhi kecepatan kontraksi otot, akibat pertambahan usia.

Pada penelitian ini rerata kadar PGC-1 α kelompok kontrol K2-T lebih rendah secara bermakna dibandingkan dengan K1-T, sedangkan pada K2-M juga lebih rendah dibandingkan dengan K1-M tetapi tidak bermakna. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan bermakna pada kadar PGC-1 α tikus dewasa tua seiring meningkatnya usia (K2-T dibandingkan K1-T). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Meshikova *et al* bahwa penuaan berkaitan dengan penurunan jumlah dan fungsi mitokondria.²⁴

Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar PGC-1 α antara HIIT pada usia dewasa muda. PGC-1 α , dianggap sebagai “master regulator” dari biogenesis mitokondria di otot. PGC-1 α berperan penting dalam regulasi transkripsi gen metabolik mitokondria yang dikode oleh DNA nukleus dan mitokondria. Protein PGC-1 α pada otot rangka meningkatkan fungsi mitokondria dan ekspresi substrat protein transporter.²⁵ Salah satu penyebab meningkatnya PGC-1 α setelah HIIT adalah karena peningkatan transkripsi (ekspresi mRNA) setelah latihan HIIT akut.²⁶ Menurut Gibala HIIT akan mengaktifkan AMPK dan *p38 mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Kedua sinyal kinase yang responsif saat HIIT ini terlibat dalam fosforilasi secara langsung dan akan mengaktifkan PGC-1 α . Peningkatan jumlah PGC-1 α di dalam nukleus setelah HIIT dihipotesiskan akan mengaktifkan faktor transkripsi (TF) untuk meningkatkan transkripsi gen mitokondria, yang pada akhirnya akan meningkatkan jumlah protein-protein mitokondria sehingga menyebabkan terjadinya biogenesis mitokondria.²⁷

Kadar laktat pada kelompok K2 lebih tinggi bermakna pada usia dewasa muda usia dewasa tua dibandingkan K1, tetapi tidak melebihi ambang batas normal laktat darah yaitu 4,0 mmol/L. Peningkatan kadar laktat seiring dengan bertambahnya usia yang cukup tinggi pada tikus disebabkan karena terjadinya penurunan berbagai proses fungsi fisiologis tubuh secara bertahap. Proses penurunan fungsi tersebut bersifat kompleks dan multifaktorial. Banyak faktor yang mempengaruhi, yakni faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi radikal bebas, genetik dan hormon yang berkurang, sedangkan faktor eksternal meliputi pola hidup tidak sehat, stres serta polusi lingkungan.²⁸ Berdasarkan hasil penelitian Kaczor terjadi penurunan kemampuan aerobik seiring dengan pertambahan usia. Diketahui seiring dengan pertambahan usia terjadi peningkatan ROS. ROS akan mempengaruhi kinerja mitokondria dalam metabolisme secara aerob yang menyebabkan penurunan enzim-enzim mitokondria seperti CPT (*carnitine palmytoil transferase*) untuk mentransport asam lemak ke dalam mitokondria untuk oksidasi β dan *2-oxoglutarate dehydrogenase* (OGDH) yang merupakan enzim daur Krebs.²⁹

Kadar laktat pada kelompok HIIT dan MIT tikus dewasa muda lebih rendah dibandingkan K2. Kadar laktat pada kelompok HIIT lebih rendah bila dibandingkan K2, disebabkan HIIT adalah suatu jenis latihan intensitas tinggi yang membutuhkan energi yang cepat dalam waktu singkat, namun tidak dapat dilakukan secara kontinu untuk durasi waktu yang lama. Dengan adanya interval istirahat, akan dibentuk kembali ATP secara aerobik sehingga latihan dapat dilanjutkan kembali. Pada HIIT saat fase intensitas tinggi akan terjadi peningkatan produksi laktat ketika otot berkontraksi, melalui proses glikogenolisis dan glikolisis pada otot. Pada fase istirahat aktif laktat tersebut akan diubah kembali menjadi piruvat oleh laktat dehidrogenase (LDH). Selanjutnya melalui aktivitas *pyruvate dehydrogenase* (PDH) dalam mitokondria, piruvat diubah menjadi asetil ko-A dan dioksidasi melalui daur Krebs dan rantai pernafasan menjadi CO₂, H₂O dan ATP. Oleh karena itu terjadi penurunan kadar laktat setelah HIIT.³⁰

Kesimpulan

Kami menyimpulkan bahwa HIIT dapat mengaktifkan otot rangka dengan meningkatkan kekuatan kontraksi otot ditunjukkan melalui peningkatan Troponin T pada otot rangka, kadar PGC-1 α yang cukup tinggi dibandingkan kontrol tetapi tidak signifikan berperan sebagai regulator dalam metabolisme energi. Kadar laktat plasma pada HIIT selama 8 minggu tidak mengalami peningkatan, hal ini menunjukkan bahwa HIIT dapat dilakukan pada usia dewasa muda dengan aman tanpa menyebabkan peningkatan kadar laktat plasma. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa dengan HIIT dapat meningkatkan fungsi kontraksi otot dan metabolisme energi sehingga dapat dilakukan dalam pemeliharaan kesehatan pada usia dewasa muda seiring pertambahan usia.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini di dukung oleh Hibah PITTA (Hibah Publikasi Internasional Terindeks untuk tugas akhir mahasiswa) No. 233/UN2.R3.1/PPM.00.2018 Number 389 Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Daftar Pustaka

1. Hansakul P. Cellular aging. *Thammasat Med J*. 2010 Jul;10(3):311-19.
2. Masoro EJ and Austand SN. *Handbook of the Biology of Aging* 7th. Elsevier. 2011;238-265.
3. Kalinkovich A, Livshits G. Sarcopenia-The search for emerging biomarkers. *Ageing Res Rev*. 2015 Jul;22:58-71.
4. Marzetti E, Lees HA, Wohlgemuth SE, Leeuwenburgh C. Sarcopenia of aging: underlying cellular mechanisms and protection by calorie restriction. *Biofactor*. 2009 Jan-Feb;35(1):28-35.
5. Saxon SV, Etten MJ and Perkins EA. *Physical Change and Aging*. (6th Ed). New York. Springer Publishing Company. 2015;15-40.
6. Turana Y. Pendekatan khusus dalam menangani permasalahan medis pada lansia. Jakarta. Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya. 2015;11-21.
7. Bell EK, Seguin C, Parise G, Baker SK, Philips SM. Day-to-day changes in muscle protein synthesis in recovery from resistance, aerobic and high intensity interval training exercise in older man. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2015 Aug;70(8):1024-9.
8. Egerman MA, Glass DJ. Signaling pathways controlling skeletal muscle mass. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2014 Jan-Feb;49(1):59-68.
9. Marzetti E, Privitera G, Similli V, Wohlgemuth SE, Aulisa L, Pahor M, Leewenburgh C. Multiple pathways to the same end: mechanism of myonuclear apoptosis in sarcopenia of aging. *Scient World J*. 2010 Feb;19(10):340-9.
10. Darmojo BR, Martono HH. *Buku ajar geriatri (Ilmu kesehatan usia lanjut)*. Jakarta. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1990;149-299.
11. Fiatarone MA, O'Neill EF, Ryan ND, Clements KM, Solares GR, Nelson ME, Roberts SB, Kehayias JJ, Lipsitz LA, Evans WJ. Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people. *N Engl J Med*. 1994 Jun;330(25):1769-75.
12. Mijwel S. High-intensity interval training in combination with aerobic or resistance training for patients with breast cancer HIIT to counteract detrimental effects of chemotherapy. Thesis. Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. 2018;1-70.
13. Guiraud T, Nigam A, Juneau M, Meyer P, Gayda M, Bosquet L. Acute responses to high-intensity intermittent exercise in CHD patients. *Med Sci Sports Exerc*. 2011 Feb;43(2):211-7.
14. MacLaren D, Morton J. *Biochemistry for sport and exercise metabolism*. Liverpool, UK. Wiley-Blackwell. 2012;30-67.
15. Perry CG, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet LL. High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. [Appl Physiol Nutr Metab](#). 2008 Dec;33(6):1112-23.
16. Barclay, G. Clinical benefits of high intensity interval training. *Australian Fam Physic*. 2012 Dec;960-962.
17. Andany AM, Ojen LM, Calderon FR, Rodriquez AE, Garcia DC, Altesor VM, Seijas RJ. Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion*. 2014 Jul;17:76-100.
18. Sengupta P. A scientific review of age determination for a laboratory rat: how old is it in comparison with human age. *Biomedicine Int*. 2011;(2):81-89.

19. Cusabio. (2016). Rat peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PPARGC1A) ELISA kit CSB-EL018425RA. Retrieved from <http://www.cusabio.com>
20. Elabscience. (2016). Rat TnT (Troponin T) ELISA kit E-EL-R0054. Retrieved from <http://www.elabscience.com>.
21. Randox. (2016). Lactate kit, LC 2389 based on spectrophotometric colorimetric. Retrieved from <http://www.randox.com>.
22. Ohlendieck K. Proteomic profiling of fast-to-slow muscle transitions during aging. *Front Physiol.* 2011;(2):105.
23. Brook MS, Wilkinson DJ, Phillips BE, Schindler JP, Philp A, Atherton PJ. Skeletal muscle homeostasis and plasticity in youth and ageing: impact of nutrition and exercise. *Acta Physiol.* 2016 Jan;216(1):15–41.
24. Meshikova EV, Ritov VB, Fairfull L, Ferrell RE, Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med.* 2006 Jun;61(6):534-40.
25. Kang C, Ji L L. Role of PGC-1 α in muscle and aging. *J Sport and Health Science.* 2013;2(2):81-86.
26. Brandt N, Dethiefsen MM, Bangsbo J, Pilegaard H. PGC-1 α and exercise intensity dependent adaptations in mouse skeletal muscle. *PLoS One.* 2017 Oct;12(10):e0185993.
27. Burgomaster KA, Hughes SC, Heigenhauser GJ, Bradwell SN, Gibala MJ. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol.* 2005 Jun;98(6):1985-90.
28. Beas-Jimenez JD, Lluch GL, Martinez S, Jimenez JA, Bies ER, Navas P. Sarcopenia: implications of physical exercise in its pathophysiology, prevention and treatment. *Rev Andal Med Deporte.* 2011 Dec;4(4):158-166.
29. Kaczor JJ, Ziolkowski W, Tarnopolsky MA, Antosiewicz J, Popinigis J. The Effect of aging on anaerobic and aerobic enzyme activities in human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006 Apr;61(4):339–44.
30. Hoshino D, Kitaoka Y, Hatta H. High-intensity interval training enhances oxidative capacity and substrate availability in skeletal muscle. *J Phys Fit Sport Med.* 2016;5(1):13–23.

Kode Makalah : EngBio 005

***IL-10* Gene Promoter Polymorphism in a Diabetic Patient with Grave's disease in Pekanbaru, Indonesia: Case Report**

Dani Rosdiana¹, Rahmat Azhari Kemal², Mukhyarjon¹, Hendra Asputra¹

¹Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Riau / Arifin Achmad General Hospital, Pekanbaru. ²Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Riau
Corresponding email: dr.danirosdiana123@gmail.com

ABSTRACT

Indonesia faces an increasing health burden from type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its complications. Allele G in *IL-10* gene promoter, corresponding to -1082 A/G (rs1800896) polymorphism, was found to contribute to the risk of T2DM and the development of complications. The allele also contributes to the risk of Graves' disease. Here we present a male patient with GG genotype, which is relatively rare among East and Southeast Asian populations. Patient was diagnosed for diabetes since 2016 after previously being treated for Graves' disease since 2014. On September 2019, patient achieved therapeutic target of HbA1c 5.4% and has not developed chronic complications such as neuropathy, microalbuminuria, and peripheral arterial disease (PAD) but erectile dysfunction was appeared. This is a preliminary report from an ongoing study analysing relationship between rs1800896 polymorphism and clinical & complication profile of T2DM patients in Pekanbaru.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, Graves' disease, diabetic complication, IL-10, polymorphism,

Kode Makalah : EngBio 005

Polimorfisme Promoter Gen *IL-10* pada Pasien Diabetes dengan *Grave's disease* di Pekanbaru, Indonesia: Laporan Kasus

Dani Rosdiana¹, Rahmat Azhari Kemal², Mukhyarjon¹, Hendra Asputra¹

¹Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Riau / Arifin Achmad General Hospital, Pekanbaru, ²Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Riau
Corresponding email: dr.danirosdiana123@gmail.com

ABSTRAK

Permasalahan kesehatan berupa diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) dan komplikasinya semakin meningkat di Indonesia. Faktor genetik memiliki peran penting pada penyakit multifaktorial seperti DMT2 dan komplikasinya. Polimorfisme pada promoter gen *IL-10*, -1082 A/G (rs1800896), berkontribusi pada risiko DMT2 dan kejadian komplikasi pada DM2. Kami melaporkan seorang pasien laki-laki yang memiliki genotipe GG yang relatif langka pada populasi Asia Timur dan Tenggara. Pasien didiagnosis menderita DMT2 sejak tahun 2016 setelah sebelumnya diterapi untuk Graves' disease sejak 2014. Terapi DMT2 yang diberikan yaitu metformin 1700 mg / 24 jam dan acarbose 300 mg / 24 jam. Pada September 2019, pasien tercapai target terapi yaitu HbA1c 5.4% dan belum terdeteksi komplikasi kronis berupa: nefropati, neuropati, maupun *peripheral arterial disease* (PAD) namun dijumpai risiko disfungsi ereksi sedang. Laporan kasus ini merupakan laporan awal dari penelitian mengenai hubungan polimorfisme rs1800896 dengan profil klinis dan komplikasi pasien DMT2 di Pekanbaru yang sedang berlangsung.

Kata kunci: diabetes mellitus tipe 2, penyakit Grave's, komplikasi diabetes, *IL-10*, polimorfisme

Introduction

Indonesia faces an increasing health burden from type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its complications. As a multifactorial disease, genetic plays an important factor in predisposition of T2DM and its complications. The concordance of type DM in identical twin is between 70 and 90%. A polymorphism in *IL-10* gene promoter, -1082 A/G (rs1800896), was found to contribute to the risk of T2DM and the development of complications especially nephropathy diabetic.

Indonesia faces an increasing health burden from type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its complications. As a multifactorial disease, genetic plays an important factor in predisposition of T2DM and its complications. The concordance of type DM in identical twin is between 70 and 90% (1) A single nucleotide polymorphism (SNP) in *IL-10* gene promoter, -1082 A/G (rs1800896), was found to contribute to the risk of T2DM and the development of complications especially nephropathy diabetic (2) The same SNP was also studied for its association with plasma TSH or iodothyronine levels. (3)

Case Presentation

We present a male, 52 years old, T2DM patient with a comorbid of Graves' disease in euthyroid condition. The patient was initially admitted into hospital in 2014 with hyperthyroid heart disease whereas he had normal blood pressure. The patient showed weight loss, tremor, diffuse struma, and exophthalmos. The laboratory test showed TSH of <0.05 ng/dL, free T4 of 91.59 ng/dL, and random blood glucose of 109 mg/dl. The USG of thyroid glands showed that both glands

had diffused enlargement, no nodule was found. Cardiomegaly and elongation aortae found in the chest x-rays. Patient was treated with propylthiouracil (PTU) 100 mg/8 hours, propranolol 10 mg/8 hours and diuretics. The patient was discharged from the hospital after the congestive heart failure symptoms had been relieved. The patient was discharged from the hospital after the congestive heart failure symptoms had been relieved. In 2015 (after 6 months treatment), signs, symptoms and laboratory finding TSH : 3,57 ng/dL (normal range: 0,70-1,48) showed improvement. Thus he was prescribed maintenance therapy of PTU 100 mg/8 hours and propranolol 10 mg/8 hours. His bodyweight raised 16 kg (from 65 kg to 81 kg).

In 2016, patient came back with recurrent weight loss and pneumonia. Laboratory test showed hyperglycaemia (random blood glucose 360 mg/dL, 250 mg/dL respectively 1 week later), and TSH of <0,05 ng/dL, Free T4: 65,74. The patient was treated for T2DM with metformin 1700 mg/24 hours and glimeperid 1 mg/24 hours, additional to his Graves' disease therapy with thyrosol 10 mg/24 hours.

On September 2019, patient participated in a city-wide study regarding diabetic chronic complication profile. He has chief complains of numbness and mild lethargy, body weight 98 kg and waist circumference 120 cm. The laboratory result (Table 1) showed that the patient has achieved therapeutic target of HbA1c (5.4%). The Diabetic chronic complications screening (Table 2) did not show peripheral arterial disease (PAD), neuropathy, mild cognitive impairment, and microalbuminuria, but we find moderate erectile dysfunction.

Table 1. The profile of laboratory test result

Parameters	Value	Normal range
Hb g/dL	15,4	13.0 -16.0
Ht %	45,2	40 – 54
Leucocyte rb/mm ³	5.4	4 -11
Thrombocyte rb/mm ³	124.000	150-400
Urea	18	15-39 mg/dl
Creatinine	0.62	0.60-1.3 mg/dl
HbA1c	5,4%	< 7%
Total cholesterol	143	
LDL	86	
HDL	52	
Triglyceride	76	
Uric acid	6.9	

Table 2. Screening of Diabetic chronic complications

Chronic complication	Finding	Interpretation
Ankle Brachial index (ABI)	1,4	Normal, low risk PAD
Minimental state examination (MMSE)	Normal	Normal, no mild cognitive impairment
Scoring of Erectile Dysfunction	Moderate	Risk of moderate erectile dysfunction
Monofilament test	9,5	Low risk of neuropathy
Albumin-creatinine ratio (ACR)	10,47	No microalbuminuria (normal)
Electrocardiography (ECG)	Normo sinus rhythm No ischemic finding	Normal

As part of the study, the patient was genotyped for his rs1800896 polymorphism. The analysis was conducted adapting Perrey et al., (1999) (4). The analysis showed that he harbours GG genotype (Figure).

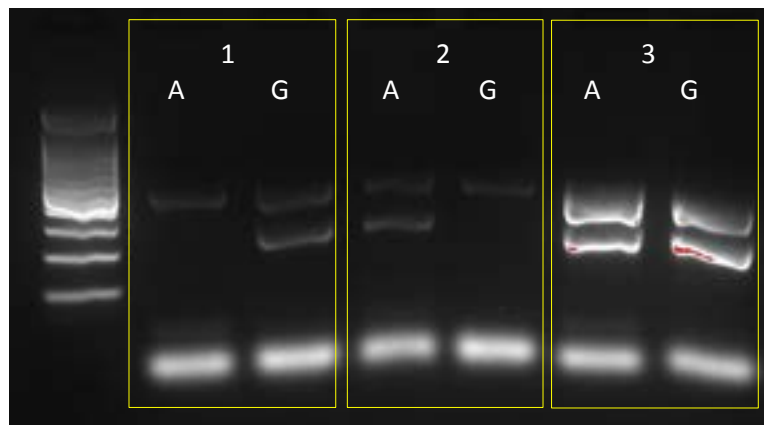


Figure. Representative band profiles showing the genotype of (1) GG, (2) AA, and (3) AG respectively. The patient's band pattern (1) showed GG pattern.

Discussion

When the patient was admitted into hospital, majority of hyperthyroidism clinical symptoms were found such as weight loss, tremor, palpitation, sweating, as well as diffuse struma and exophthalmos. The patient also has complication from Graves', hyperthyroid heart disease. In addition of PTU, the patient was also treated with propranolol in order to control heart rate as well as to inhibit T4 conversion into T3. Epidemiology of Graves' disease accounts for 60–80% of thyrotoxicosis. The disorder rarely begins before adolescence and typically occurs between 20 and 50 years of age. The prevalence varies among populations, reflecting genetic factors and iodine intake. Polymorphisms in HLA-DR, the immunoregulatory genes (e.g. CTLA-4, CD25, PTPN22), as well as the TSH-R, contribute to Graves' disease susceptibility (1) The Anamnesis showed that the patient's male cousin also suffers from Graves' disease, strengthening the genetic influence on the disease.

In patients with Graves' disease, hyperthyroidism plays a central role in the aggravation of glycemic control. Increased intestinal glucose uptake and/or increased target tissue's insulin resistance might induce or aggravate T2DM after the onset of Graves' disease. Reports have

shown that thyroid dysfunction could lead to disturbance of glycemic control in T2DM patient with initially good glycemic control (Takai et al., 2018) (5) Thyroid Hormone modulates hepatic insulin sensitivity, especially important for the suppression of hepatic gluconeogenesis.(6) In our case, the patient initially had good glycemic control upon admission for Graves' disease. In his disease progression, the patient developed hyperglycaemia and typical diabetes symptoms such as numbness, therefore he was additionally treated as diabetic patient. Based on diabetes mellitus classification, the patient was classified into T2DM due to the adulthood onset and did not suffer the absolute insulin deficiency complication.

DM's pillars of treatment include lifestyle education, exercise, and pharmacotherapy. Metformin was chosen for therapy because of biguanides being the first line choice for T2DM, especially with obesity comorbid. This is shown by the achievement of blood glucose control using the prescribed oral hypoglycemic regiment combination. Additionally, the patient has not shown microvascular complication. This might due in part to the DM onset of less than 5. However, waist circumference and body mass index (BMI) are still not optimal. As stated in DM treatment guideline from Indonesian Endocrinology Society (*Perkumpulan Endokrinologi Indonesia*, PERKENI), (7) patient's waist circumference and BMI are difficult to control. This raises the question whether, in our case, it is caused by thyrosol treatment, which has anabolic effect thus increasing body weight? It is worth to study this relationship due to the negative effect of obesity of T2DM.

Association between DM and Graves' disease has been discussed. An array of complex intertwining biochemical, genetic, and hormonal malfunctions have mirrored this pathophysiological association. 5' adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK) is a central target for modulation of insulin sensitivity and feedback of thyroid hormones associated with appetite and energy expenditure. A meta-analysis reported a frequency of 11% in thyroid dysfunction in the patients of diabetes mellitus. (8) Vice versa, Graves' disease Asian patients were also shown to be more likely to have diabetes (Chen et al., 2014) (9). The relation between T2DM and thyroid dysfunction has been a less explored arena which maybe hold answers to various metabolic syndromes.

In Graves' disease, high level of IL-10 mRNA and serum protein level can serve as biomarker (Liang et al., 2015) (10). Additionally, IL-10 deficiency was shown to attenuate induction anti-TSH receptor antibodies and hyperthyroidism in mouse Graves' model (Ueki et al., 2011) (11). Polymorphism A/G on -1082 site of *IL-10* gene promoter (rs1800896) can affect expression level thus serum IL-10 protein level. Allele G increases transcription level compared to its allele A counterpart. Therefore, person with GG genotype will be high producer of IL-10. Based on molecular analysis, our patient was shown to harbour GG genotype based on rs1800896 polymorphism. The genotype is relatively rare among East and Southeast Asian populations (Gonzalez-Galarza et al., 2015) (12). Allele G has also been studied for its association with autoimmune thyroid disease as well as Graves' disease (Hung et al., 2016) (13). This allele was also shown to be significantly correlated with the risk of T2DM in all ethnicity as well as Asian ethnicity (Shu et al., 2018) (2). On contrary, meta-analysis showed that IL-10 serum level is decreased in T2DM patients when compared to healthy controls (Qiao et al., 2016) (14). Intertwined malfunctions have been observed to be underlying pathophysiological association between DM and thyroid dysfunction. Therefore, rs1800896 polymorphism and IL-10 level becomes interesting target in DM and Graves' disease.

Conclusion

We report an adult male patient with Graves' disease and diabetes who has GG genotype in *IL-10* gene promoter polymorphism, rs1800896. The polymorphism might contribute to co-occurrence of Graves' disease and T2DM. This is a preliminary report from an ongoing study analysing relationship between rs1800896 polymorphism and clinical & complication profile of T2DM patients in Pekanbaru.

Financial Support

This case report is part of researches funded by Faculty of Medicine Universitas Riau on T2DM complications (No. B/34/UN19.5.1.1.8/PT.01.05/UPPM/2019) as well as IL-10 gene promoter polymorphism (No. B/59/UN19.5.1.1.8/PT.01.05/UPPM/2019).

Acknowledgement

We thank Olivia Makmur, Nisa Faradisa Hernita, Ridhola Fitbriansyah, and Prayogo for their assistance in patients' diagnosis during T2DM complications research. We also thank Rahmi Putri Ferdiyani for her administrative assistance.

Conflict of Interest

None.

References

1. Powers AC. Diabetes Mellitus: Diagnosis, Classification, and Pathophysiology. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 19 th ed. 2015. p. 2399–407.
2. Shu Y, Chen Y, Luo H, Li H, Tang J, Liang Y, et al. The Roles of IL-10 Gene Polymorphisms in Diabetes Mellitus and Their Associated Complications : A Meta-Analysis Characteristics of included studies. *Endocr Care*. 2018;8–12.
3. Peeters RP, Toor HVAN, Klootwijk W, Rijke YBDE, Kuiper GGJM, Uitterlinden AG, et al. Polymorphisms in Thyroid Hormone Pathway Genes Are Associated with Plasma TSH and Iodothyronine Levels in Healthy Subjects. 2003;88(6):2880–8.
4. Perrey C, Turner SJ, Pravica V, Howell WM, Hutchinson I V. ARMS-PCR methodologies to determine. 1999;3274(99):127–8.
5. Anno T. Aggravation of type 2 diabetes mellitus triggered by acute exacerbation of chronic thyroiditis (Hashimoto ' s disease). *J Diabetes Investig*. 2018;9:226–7.
6. Mullur R, Liu Y, Brent GA. OF METABOLISM THYROID HORMONE ACTION. 2019;(27):355–82.
7. Soelistijo SA, Novida H, Suastika K SP. Pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di indonesia 2015 [Internet]. 2015. Available from: <https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2019/01/4.-Konsensus-Pengelolaan-dan-Pencegahan-Diabetes-melitus-tipe-2-di-Indonesia-PERKENI-2015.pdf>
8. Wang C. The Relationship between Type 2 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res*. 2013;

9. Chen H, Yeh S, Lin C, Chang S, Kao C. Increased depression , diabetes and diabetic complications in Graves ' disease patients in Asia. *QJ Med.* 2014;(March):727–33.
10. Liang C, Du W, Dong Q, Liu X, Li W, Wang Y, et al. Expression levels and genetic polymorphisms of interleukin-2 and interleukin-10 as biomarkers of Graves ' disease. *Exp Ther Med.* 2015;9:925–30.
11. Ueki I, Abiru N, Kawagoe K, Nagayama Y. Interleukin 10 deficiency attenuates induction of anti-TSH receptor antibodies and hyperthyroidism in a mouse Graves ' model. *J Endocrinol.* 2011;209:353–7.
12. Takeshita LYC, Santos EJM, Kempson F, Helena M, Maia T, Luciana A, et al. Allele frequency net 2015 update : new features for HLA epitopes , KIR and disease and HLA adverse drug Andr e. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(November 2014):784–8.
13. Jung JH, Song GG, Kim J, Choi SJ. Association of Interleukin 10 Gene Polymorphisms with Autoimmune Thyroid Disease : Meta-Analysis. 2016;272–7.
14. Qiao Y, Shen J, He L, Hong X, Tian F, Pan Y, et al. Changes of Regulatory T Cells and of Proinflammatory and Immunosuppressive Cytokines in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus : A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Diabetes Res.* 2016;2016.

Kode Makalah : IndBio 006

Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi *Giardia Lamblia* pada Penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat

Zahra Frizki Asty*. Nuzulia Irawati, Netti Suharti

Laboratorium Parasitologi, Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang

Korespondensi: zahrafrizki.asty@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi oportunistik (IO) adalah infeksi yang terjadi karena penurunan sistem kekebalan tubuh yang biasanya tidak bersifat invasif, namun dapat menyebabkan kondisi yang serius pada orang dengan sistem imun yang rendah seperti pada penderita HIV/AIDS. *Giardia lamblia* merupakan salah satu protozoa usus oportunistik yang terdapat pada manusia dan hewan, dimana pada individu dengan imunodefisiensi dapat mengakibatkan diare kronis, sehingga menjadi dehidrasi dan malnutrisi yang dapat meningkatkan mortalitas dan morbiditas pada penderita HIV. Penelitian observasional dengan desain *cross sectional* pada 50 sampel feses penderita HIV/AIDS dengan jumlah sel CD4 ≤ 350 sel/ μ L. Pemeriksaan *Giardia lamblia* dilakukan secara mikroskopis dengan modifikasi pewarnaan Ziehl Neelsen di Laboratorium Parasitologi dan secara molekuler dengan PCR di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, jumlah sel CD4 diperoleh dari rekam medis dan analisa data menggunakan uji *Chi Square*. Diperoleh hasil 1 responden (2%) (CD4 ≤ 200 sel/ μ L) positif terinfeksi *Giardia lamblia* dengan nilai $p=1,000$ ($p>0,05$), dan responden dengan jumlah sel CD4 ≤ 200 sel/ μ L 0,960 kali lebih berisiko terinfeksi *Giardia lamblia* dibandingkan dengan pasien dengan jumlah sel CD4 >200 sel/ μ L. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan ($p=1,000$) antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Giardia lamblia*.

Kata Kunci: *Giardia lamblia*, HIV/AIDS, sel T CD4.

ABSTRACT

Opportunistic infections (OIs) are infections that occur due to an immune system that does not involve invasive, but can affect conditions that occur in people with a low immune system in people with HIV / AIDS. *Giardia lamblia* is one of the opportunistic intestinal protozoa that exist in humans and animals, whereas in individuals with immunodeficiency, it can be chronic diarrhea, thus becoming dehydrated and malnourished which can increase mortality and morbidity in HIV patients. Observational study with cross-sectional design on 50 fecal samples of HIV / AIDS patients with CD4 counts ≤ 350 cells / μ L. *Giardia lamblia* research was carried out microscopically with modified Ziehl Neelsen staining in the Parasitology Laboratory and molecularly with PCR in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Medicine, Andalas University, CD4 cell counts were obtained from medical records and data analysis using the Chi Square test. 2% (CD4 ≤ 200 cells / μ L) positive results obtained infected with *Giardia lamblia* with a value of $p = 1,000$ ($p > 0.05$), and respondents with a CD4 cell count ≤ 200 cells / μ L 0.960 times more risk of being infected with *Giardia lamblia* compared with patients with a CD4 cell count >200 cells / μ L. From the results of this study it can be concluded that there is a significant relationship ($p = 1,000$) between CD4 cell counts with *Giardia lamblia* infection.

Keywords: *Giardia lamblia*, HIV/AIDS, CD4 T cells.

PENDAHULUAN

Infeksi oportunistik (IO) adalah infeksi yang terjadi karena penurunan sistem kekebalan tubuh, biasanya tidak bersifat invasif, tetapi dapat berakibat fatal pada orang dengan sistem imun yang rendah seperti pada orang yang terinfeksi HIV/AIDS.¹ HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) merupakan virus yang dapat menyebabkan *acquired immunodeficiency syndrome*, atau dikenali sebagai AIDS. Target infeksi HIV adalah sel limfosit T CD4, maka akan terjadi penurunan jumlah dan fungsi sel T CD4 akibat efek sitopatik infeksi HIV, yang menyebabkan kegagalan fungsi imun spesifik dan non spesifik pada penderitanya, serta menghasilkan kerentanan terhadap berbagai infeksi dari berbagai mikroorganisme.²

Data dari WHO dan UNAIDS tercatat bahwa telah terjadi peningkatan kasus HIV/AIDS di dunia. Pada tahun 2017 ditemukan sekitar 36,9 juta kasus dengan penderita HIV baru sebanyak 1,8 juta pasien, dan 940.000 pasien meninggal akibat AIDS.^{3,4} Untuk laporan kasus infeksi HIV di Indonesia juga mengalami peningkatan salah satunya di Sumatera Barat. Menurut Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat dari tahun 2002-2015 tercatat sebanyak 1435 kasus dan AIDS sebanyak 1346 kasus. Pada tahun 2017 tercatat sebanyak 418 kasus HIV dan AIDS sebanyak 151 kasus, dan terhitung dari tahun 2002 sampai tahun 2018 tercatat sudah 1890 orang yang terinfeksi HIV/AIDS di Sumatera Barat.⁵

Peningkatan kasus HIV/ AIDS diikuti dengan meningkatnya jumlah kasus infeksi oportunistik. Salah satu manifestasi klinis infeksi oportunistik yang masih menyebabkan tingginya angka morbiditas dan mortalitas pada penderita HIV/ AIDS adalah diare. Berdasarkan laporan surveilans AIDS Departemen Kesehatan RI dari tahun 1987 sampai Juni 2017, kasus infeksi oportunistik tertinggi adalah TBC sebesar 48%, kemudian diikuti dengan diare sebesar 38% dan kandidiasis sebesar 14%.⁶ Salah satu agen utama penyebab diare pada pasien HIV/ AIDS adalah parasit intestinal. Protozoa usus yang sering menyebabkan penyakit pada pasien HIV adalah *Entamoeba histolytica*, dan *Giardia lamblia*.⁷ Berdasarkan klasifikasi menurut WHO, bahwa penderita HIV dengan jumlah $CD4 \leq 350$ sudah memasuki stadium lanjut dan sudah menimbulkan infeksi oportunistik dan asimtomatik.³

Giardia lamblia adalah protozoa yang memiliki flagella dengan dua bentuk: trofozoit dan kista. Bentuk infeksi dan tahan lingkungan adalah kista.⁸ Infeksi *Giardia lamblia* dilaporkan adalah kejadian yang sering di antara pasien AIDS, terutama pada tahap penyakit yang paling lanjut pada penelitian orang dewasa.⁹ Penelitian pada orang dewasa yang terinfeksi HIV dari beberapa negara bahwa risiko infeksi *Giardia* dan tingkat keparahan penyakit akan meningkat dengan meningkatnya penekanan kekebalan dan jumlah CD4 yang lebih rendah.¹⁰

Seiring dengan peningkatan kasus HIV/AIDS di Indonesia dan diare kronis sebagai salah satu infeksi oportunistik yang paling sering ditemukan, kejadian infeksi *Giardia lamblia* perlu mendapat perhatian khususnya di Sumatera Barat. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti hubungan jumlah sel CD4 dengan infeksi *Giardia lamblia* pada penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah observasional dengan desain *cross sectional* study untuk mengetahui hubungan jumlah sel CD4 dan infeksi parasit *Giardia lamblia* pada penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat. Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Juli 2019 dan pengambilan sampel dilakukan di RSUP Dr. M.Djamil Padang. Jumlah sampel yang termasuk kriteria inklusi dan eksk-

lusi adalah 50 sampel. Sampel diperiksa dengan pemeriksaan secara mikroskopis dan molekuler. Pemeriksaan secara mikroskopis dilakukan di Laboratorium Parasitologi, dan pemeriksaan secara molekuler di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan modifikasi pewarnaan Ziehl Neelsen, dimana ada modifikasi zat warna dan waktu pada prosedur kerja. Sampel feses yang dikumpulkan dilakukan pewarnaan dan diperiksa dibawah mikroskop untuk mendeteksi *Giardia lamblia*. Pemeriksaan dilakukan dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak emersi. Kemudian pemeriksaan secara molekuler dilakukan dengan PCR. Primer yang digunakan adalah MAH433F dan MAH592R dengan ukuran hasil amplifikasi PCR yang digunakan 218 bp.

HASIL DAN DISKUSI

Pada penelitian ini didapatkan data dari Poli VCT RSUP Dr. M.Djamil bahwa dari 50 responden sebagian besar laki-laki dengan jumlah responden 37 orang (74%), jumlah $CD4 \leq 200$ sel/ μL sebanyak 25 orang (50%) dan >200 sel/ μL sebanyak 25 orang (50%). Responden dengan gejala diare 4 orang (8%) dengan riwayat diare dalam 2 minggu terakhir sebanyak 11 orang (22%).

Tabel 1. Jumlah dan Rata-rata CD4 Responden

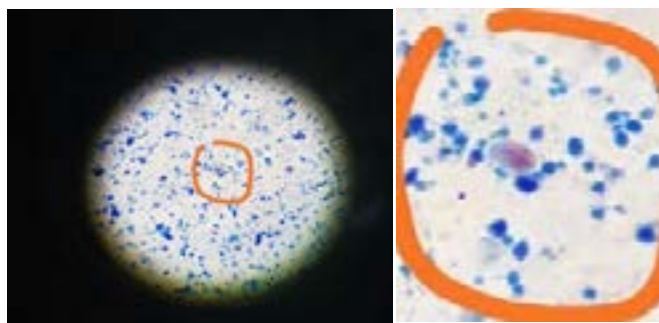
Karakteristik	Mean $\pm$ SD	Minimal	Maksimal
CD4 (sel/ μL)	204,52 $\pm$ 108,967	5	350

Dari table diatas menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel CD4 responden adalah 204,52 $\pm$ 108,967 sel/ μL , dengan jumlah sel CD4 terendah 5 sel/ μL dan tertinggi 350 sel/ μL .

Tabel 2. Hubungan Jumlah CD4 dengan infeksi *Giardia lamblia* secara Mikroskopis

Kriteria Pasien	Hasil		Total (%) n = 50	P	OR	95%CI
	Positif (%)	Negatif (%)				
CD4 ≤ 200 sel/ μL	1 (2%)	24 (48%)	25 (50%)	1,000	0,960	0,886 – 1,040
CD4 >200 sel/ μL	0 (0%)	25 (50%)	25 (50%)			
Total	1 (2%)	49 (98%)	50 (100%)			

Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan, pemeriksaan *Giardia lamblia* secara mikroskopis (Tabel 2 dan Gambar 1) didapatkan total positif 1 responden (2%) dengan jumlah sel CD4 ≤ 200 sel/ μL . Uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Giardia lamblia*, didapatkan OR=0,960 yang dimana pasien dengan jumlah sel CD4 ≤ 200 sel/ μL 0,960 kali lebih berisiko terinfeksi *Giardia lamblia* dibandingkan dengan pasien dengan jumlah sel CD4 >200 sel/ μL .

Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Positif *Giardia lamblia*Tabel 3. Hubungan Jumlah CD4 dengan infeksi *Giardia lamblia* secara Molekuler

Kriteria Pasien	Hasil		Total (%) n = 50
	Positif (%)	Negatif (%)	
CD4 $\leq$ 200 sel/ μ L	0 (0%)	25 (50%)	25 (50%)
CD4 >200 sel/ μ L	0 (0%)	25 (50%)	25 (50%)
Total	0 (0%)	50 (100%)	50 (100%)

Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan, pemeriksaan *Giardia lamblia* secara molekuler (Tabel 3) tidak ditemukannya hasil yang positif. Pada tahap PCR menggunakan primer MAH433F MAH592R, pemilihan primer ini berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya mengatakan primer ini merupakan primer yang dapat mendiagnosis *Giardia lamblia* dimana akan terlihat pita DNANYa pada 218bp.¹¹ Sebanyak 5 sampel terlebih dahulu diamplifikasi menggunakan primer MAH433F MAH592R.¹¹ Hasil yang diperoleh yaitu tidak adanya sampel yang positif *Giardia lamblia* pada 218bp. Hal ini dicurigai karena komponen master mix yang dibuat adalah setengah reaksi, sehingga pada pemeriksaan selanjutnya menggunakan komponen satu reaksi. Selanjutnya dilakukan amplifikasi menggunakan komponen master mix satu reaksi. Namun hasil yang diperoleh yaitu tidak adanya sampel yang positif *Giardia lamblia* pada 218bp. Kembali dicurigai pada suhu annealing yang kurang tepat, sehingga dilanjutkan dengan PCR *Gradient* untuk melihat suhu yang tepat untuk amplifikasi DNA.

Pada tahap PCR *Gradient* menggunakan volume komponen yang sama dengan PCR sebelumnya, dan suhu annealing diatur 50-60°C selama 35 siklus. Setelah selesai dilakukan PCR *Gradient* selanjutnya hasil amplifikasi dielektroforesis. Namun hasil yang diperoleh yaitu tetap tidak adanya terlihat pita pada hasil elektroforesis. Sehingga hal ini dicurigai adanya pengaruh dari master mix PCR yang digunakan.

Negatif palsu juga dapat terjadi karena konsentrasi master mix yang berbeda,. Sesuai dengan penelitian Rochelle yang melakukan optimasi deteksi *Giardia lamblia* pada sampel air, penelitian tersebut menggunakan variasi jumlah kista per reaksi dan variasi jumlah MgCl₂ pada master mixnya. Hasil penelitian tersebut terlihat adanya perbedaan hasil dengan variasi tersebut, dimana reaksi dengan jumlah kista yang tertinggi akan terlihat pita DNA nya, sedangkan konsentrasi yang hanya berbeda sedikit tidak terlihat pita DNA nya. Variasi MgCl₂ pada master mix juga sangat berpengaruh. Maka hasil negatif yang diperoleh bisa dapat terjadi karena konsentrasi kista yang

rendah dikarenakan hanya 1 kista yang ditemukan melalui pemeriksaan mikroskopis dan kurang sensitifnya primer, sehingga akan sulit dilakukan walaupun dengan konsentrasi template DNA yang tinggi sekalipun dan perlu adanya pengulangan berulang dengan komponen master mix yang berbeda-beda, serta optimasi suhu yang berulang.

KESIMPULAN

Jumlah sel CD4 terendah 5 sel/ μ L dan tertinggi 350 sel/ μ L pada penderita HIV/AIDS dengan rerata $204,52 \pm 108,967$ sel/ μ L. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Giardia lamblia*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agarwal, S.G., Powar, R.M., Tankhiwale, S., Rukadikar, A. Study of opportunistic infections in HIV-AIDS patients and their co-relation with CD4+ cell count. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2015; 4(6):848-61.
2. Mandal K, Edmund G, Edward G, Richard T. 2010. Penyakit Infeksi . Edisi ke enam . Jakarta : Erlangga 199-203.
3. WHO. 2018. HIV and AIDS: WHO
4. UNAIDS. 2018. United Nations Programme on HIV and AIDS
5. Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. 2018. Profil HIV/AIDS Sumatera Barat
6. Departemen Kesehatan RI .2018. *Profil HIV di Indonesia*. Jakarta: Depkes
7. Deb M, Joseph A, Khalil S, Mirdha BR, Panda A, Sinha SSY. 2015. Intestinal parasitosis in relation to ART, CD4 T-cell count and diarrhea in HIV patients. *Korean J Parasitol*. 2015;53(6): 705-712.
8. Erickson MC, Ortega YR. Inactivation of protozoan parasites in food, water, and environmental systems. *J Food Prot*. 2006;69(11):2786-2808.
9. Bachur TP, Vale JM, Coelho IC, Queiroz TR, Chaves Cde S. Enteric parasitic infections in HIV/AIDS patients before and after the highly active antiretroviral therapy. *Braz J Infect Dis*. 2008;12(2):115-122.
10. Daryani A, Sharif M, Meigouni M, et al. Prevalence of intestinal parasites and profile of CD4+ counts in HIV+/AIDS people in north of Iran, 2007-2008. *J Biol Sci*. 2009;12(18):1277-1281
11. Rochelle PA, Leon RD, Stewart MH, Wolfe RL. 1997. Comparison of Primers and Optimization of PCR Conditions for Detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in Water. *Appl Environ Microbiol*; 63(1): 106-114

Kode Makalah : IndBio 007**ANALISIS INTERLEUKIN 1 β rs1143643 SEBAGAI POLIMORFISME GEN
SITOKIN DENGAN SEPSIS NEONATORUM****Mustarim¹, Seruni Estari²**

RSUD Raden Mattaher Jambi – Fakultas Kedokteran Universitas Jambi

Abstrak

Sepsis neonatorum merupakan permasalahan dalam bidang kesehatan karena menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang serius di unit perawatan neonatus. Kerentanan neonatus untuk mengalami sepsis berasal dari imaturitas perkembangan sistem imunitas dan faktor risiko lingkungan yang dapat menyebabkan infeksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan hubungan IL1 β rs1143643 dengan kejadian sepsis neonatorum. Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain penelitian potong lintang menggunakan sampel DNA genomik bayi sepsis dan nonsepsis yang disimpan berdasarkan standar penyimpanan material genetik di Laboratorium Biomedik FK UNAND. Material penelitian ini merupakan bagian dari penelitian sebelumnya oleh Dr. dr. Prambudi. Metode penelitian yang dilakukan meliputi pemeriksaan PCR, sekuensing dan analisis bioinformatika. Hasil penelitian ini menunjukkan polimorfisme gen IL1 β rs1143643 C>T berhubungan dengan kejadian sepsis neonatorum [$p = 0.017$; OR 2.78 (1.29-5.21)] dan signifikan secara statistik. Hampir separuh polimorfisme gen adalah CT (heterozigot) (48.33%), TT (homozigot) (26.67%) dan CC (*wild type*) (25.00%). Kesimpulan penelitian ini adalah polimorfisme gen IL1 β rs1143643 C>T berhubungan dengan insidensi sepsis neonatorum, dan hasil ini berpotensi digunakan sebagai biomarker suatu populasi yang memungkinkan diagnosis dini dan rencana tatalaksana spesifik untuk prediksi akurat prognosis pasien.

Kata kunci : sepsis neonatorum, *single nucleotide polymorphism*, IL1 β , polimorfisme gen

Pendahuluan

Sepsis neonatorum merupakan masalah dalam bidang kesehatan, karena menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang cukup serius pada unit perawatan intensif neonatus. Kerentanan neonatus yang terjadi akibat imaturitas perkembangan respon imun maupun akibat faktor risiko maternal dan lingkungan dapat menimbulkan infeksi, serta bayi yang sangat prematur (<32 minggu usia gestasi) juga berisiko terkena infeksi akibat rawat inap rumah sakit yang berkepanjangan maupun akibat regulasi imun yang imatur.¹ *World Health Organization* (WHO) memperkirakan 1 juta kematian tiap tahunnya akibat sepsis neonatorum dan 42% dari kematian tersebut terjadi dalam minggu pertama kehidupan.² Jumlah kematian neonatus di Indonesia karena infeksi sangat besar. Berdasarkan estimasi angka kelahiran 4,5 juta/tahun, angka kematian 19/1000 lahir hidup, dan proporsi kematian karena infeksi 15% (sepsis neonatorum 11% dan pneumonia 4%) maka kematian karena infeksi adalah 128.250 neonatus/tahun, yang terdiri dari kematian karena sepsis neonatorum 94.050 neonatus dan pneumonia 34.200 neonatus.³

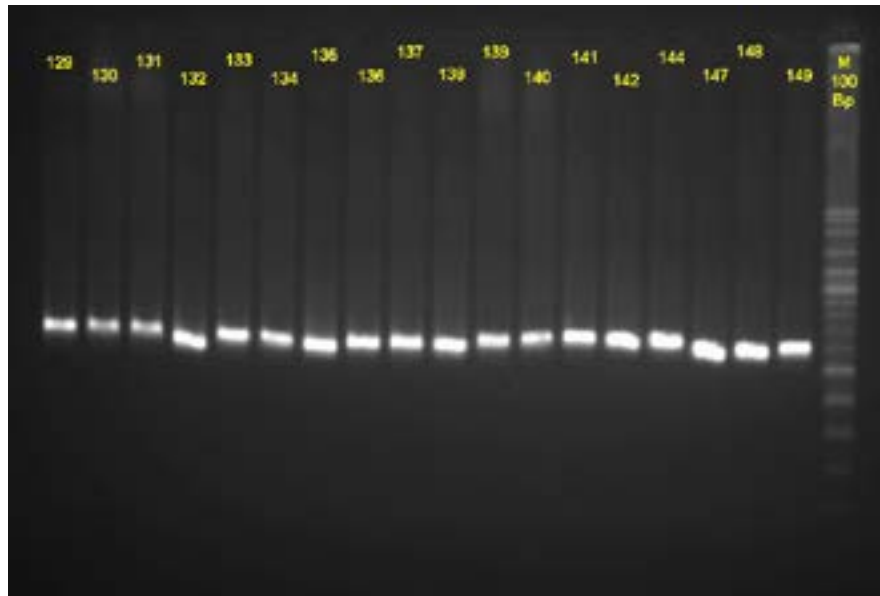
Sepsis neonatorum diklasifikasikan menjadi sepsis neonatorum awitan dini (SNAD) dan sepsis neonatorum awitan lambat (SNAL) berdasarkan usia awitan dan waktu episode sepsis. Manifestasi klinis SNAD biasanya muncul dalam waktu 72 jam pertama kehidupan, diperoleh sebelum atau selama kelahiran dan biasanya menunjukkan adanya transmisi vertikal antara ibu dan bayi. SNAL muncul setelah kelahiran, atau lebih dari 3 hingga 7 hari, dan merupakan akibat dari organisme yang diperoleh dari interaksi dari lingkungan rumah sakit atau dari komunitas.⁴ Respons terhadap infeksi bervariasi antar individu. Meskipun mendapatkan terapi yang sama masing-masing individu memberikan respon yang berbeda, ada yang mengalami kesembuhan dan sebaliknya. Hal ini dipengaruhi oleh virulensi kuman, banyaknya kuman penyebab dan ketepatan waktu pemberian obat. Sebuah hipotesis *genetic make up host*/faktor genetik berperan penting dalam kerentanan terhadap sepsis. Hal ini menyebabkan bayi baru lahir memiliki risiko untuk terjadinya sepsis/sepsis berat. Mengidentifikasi variasi genetik pada gen yang terlibat pada respon sel yang terinduksi bakteri dan hal-hal yang berkaitan dengan patogenesis sepsis dapat membantu mengklarifikasi patofisiologi dari sepsis pada kelompok pasien risiko tinggi. Hal ini bermanfaat untuk pengembangan alat diagnostik baru, dan rencana tatalaksana spesifik dari prediksi yang lebih akurat pada prognosis pasien.¹

Dalam rangka mencari solusi penanganan kejadian sepsis neonatorum maka perlu dilakukan studi lebih lanjut terhadap aspek-aspek sistem imun terutama terkait dengan proses inflamasi. Beberapa gen dianggap berkaitan dengan hal tersebut dan belum pernah diteliti khususnya di Indonesia, salah satunya adalah *Interleukin 1 Beta* (IL1 β) Rs1143643. Sitokin IL1 β merupakan mediator proinflamasi selama kejadian infeksi yang banyak diproduksi oleh sel mononuklear dan dapat mempengaruhi organ secara langsung atau secara tidak langsung melalui mediator sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan IL1 β rs1143643 dengan kejadian sepsis neonatorum

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain *cross-sectional comparative study*. Populasi dari penelitian ini adalah ekstraksi DNA genomik bayi sepsis yang tersimpan sesuai standar penyimpanan material genetik di Laboratorium Biomedik FK UNAND. Bahan penelitian ini merupakan bagian dari penelitian terdahulu oleh Dr. dr. Prambudi terhadap bayi dengan dugaan sepsis, dan sebagai kontrol diambil dari ekstraksi DNA dari bayi non sepsis. Pada tahap awal penelitian dilakukan kegiatan analisis lebih lanjut dilakukan kontrol/verifikasi terhadap kualitas DNA sampel menggunakan metode elektroforesis.

Sampel yang digunakan adalah sampel dengan ekstraksi DNA yang masih baik, memiliki data klinis yang lengkap dan memiliki pita DNA yang masih baik. Sampel yang sudah rusak dieksklusikan dari penelitian. Setelah dilakukan pemilihan sampel menggunakan *simple random sampling*, diperoleh 30 sampel neonatus yang terbukti sepsis neonatorum dan 30 sampel neonatus yang tidak terbukti sepsis neonatorum (kontrol).



Pada penelitian ini dilakukan analisis modelling protein/struktur 3 dimensi pada IL1 β dan prediksi binding protein, dimana dari hasil tersebut tidak terjadi perubahan asam amino meskipun terdapat perubahan nukleotida, sehingga bentuk proteinnya tetap sama.



Gambar 3. Hasil analisis modelling protein/struktur 3 dimensi IL1 β . Permukaan biru mewakili sifat hidrofilik. Permukaan merah mewakili sifat hidrofobik. Selain itu bersifat netral. Garis hijau terang mewakili daerah binding.

Tabel 1. Hubungan polimorfisme gen IL1 β rs1143643 C>T dengan sepsis neonatorum

IL1β rs1143643 C>T	Kelompok				<i>P</i>	OR (95% CI)
	Tidak Sepsis		Sepsis			
	Frekuensi	%	Frekuensi	%		
Wild Type	12	80,00	3	20,00	0,017	2.78 (1.29-5.21)
Mutan	18	40,00	27	60.00		

Pada Tabel 1 terlihat bahwa dari keseluruhan subjek, 20,00% subjek mengalami sepsis dan tidak mengalami mutasi gen IL1 β rs1143643 C>T, dan 60,00% mengalami sepsis dan mutasi gen IL1 β rs1143643 C>T, dan secara statistik terdapat hubungan yang signifikan antara mutasi gen IL1 β rs1143643 C>T dengan kejadian sepsis neonatorum, ditunjukkan dengan nilai $p=0,017$ (p value <0.05; OR 2.78 [1.29-5.21]).

Interleukin 1 β merupakan sitokin pro-inflamasi kunci yang diproduksi secara dini sebagai respon terhadap invasi mikroba dan memainkan peran penting dalam patogenesis sepsis dan syok sepsis. Molekul tersebut menstimulasi produksi prostaglandin dan nitrit oksida, dua mediator vasodilatasi yang ditemukan pada sepsis. Genotipe CT dan TT gen IL1 β rs1143643 berhubungan dengan peningkatan risiko keseluruhan terjadinya sepsis yang signifikan. Tiga polimorfisme IL1 β rs1143634, rs1143633 dan rs1143643 berhubungan dengan risiko asma alergi ($p=0.034$, OR=1.523; $p=0.024$, OR=1.471; $p=0.044$, OR=1.420).⁵ Namun dalam penelitian lain, tidak ditemukan adanya hubungan antara polimorfisme gen IL1 β dengan terjadinya sepsis.⁶ Ketidaksesuaian ini bisa jadi karena perbedaan definisi sepsis dan keparahannya, dan pada beberapa karakteristik umum subyek disertakan meliputi etnis dibandingkan dengan yang digunakan di penelitian sebelumnya

Kesimpulan

Penelitian ini menemukan adanya hubungan yang bermakna secara statistik antara polimorfisme gen IL1 β rs1143643 dengan kejadian sepsis neonatorum, diduga ada bagian tertentu di sepanjang molekul IL1 β yang kemungkinan juga mengalami perubahan dari tipe liar (*wild*). Namun penelitian ini hanya melakukan analisis pada satu lokus yakni lokus rs1143643, sedangkan 14 lokus lainnya dari gen IL1 β tidak dianalisis. Bisa jadi, SNP yang memberikan dampak yang berhubungan nyata dengan kejadian *sepsis neonatorum* terjadi pada salah satu dari 14 lokus yang tidak dianalisis dalam penelitian ini. Untuk menyelidiki lebih lanjut mengenai hal tersebut, disarankan untuk dilakukan penelitian berikutnya yang menyelidiki lokus gen IL1 β mana yang berhubungan nyata dengan kejadian sepsis neonatorum.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada seluruh pihak dan instansi yang sangat membantu selesainya penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Esposito S, Zampiero A, Pugni L et al. Genetic Polymorphism and sepsis in premature neonates. Plos One. 2014. Vol 9:7.
2. Edmond K, Zaidi A. New Approach to Preventing, Diagnosing, and Treating Neonatal Sepsis. PloS Medicine. 2010. Vol 7: issue 3
3. Wandita S. Problem Infeksi Pada Neonatus Di Indonesia 2017. Dalam Update On Management Of Neonatal Infection. Lampung. 2017. h2-3
4. Shane LA, Sanchez JP, Stoll JB. Neonatal Sepsis. The Lancet. 2017. p1-11.
5. Zhang A, Pan W, Gao J, et al. 2014. Associations between interleukin-1 gene polymorphisms and sepsis risk : a meta-analysis. BMC Medical genetics. 15:8.
6. Abu-maziad A, Schaa K, Bell E, et al. 'Role of polymorphic variants as genetic modulators of infection in neonatal sepsis'. *Pediatric research*. 2010 68(4), 323-329.

Kode Makalah : IndBio 008

HUBUNGAN JUMLAH SEL CD4 DAN RIWAYAT DIARE DENGAN INFEKSI *Cryptosporidium* sp. PADA PENDERITA HIV/AIDS DI SUMATERA BARAT

Goldha Faroliu^{1*}, Nuzulia Irawati¹, Netti Suharti²

¹Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang ²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang

*Corresponding author: goldhavaroliu@gmail.com, Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang

ABSTRACT

Infeksi oportunistik adalah infeksi yang terjadi akibat adanya penurunan sistem kekebalan tubuh. Infeksi ini dapat berakibat fatal pada orang dengan system kekebalan tubuh yang lemah terutama penderita HIV/AIDS. *Cryptosporidium* sp. merupakan salah satu protozoa usus oportunistik yang pada umumnya asimtomatik dan bersifat self limited pada individu imunokompeten, namun pada individu dengan defisiensi imun seringkali mengakibatkan diare kronis, sehingga menyebabkan dehidrasi dan malnutrisi yang dapat meningkatkan mortalitas dan morbiditas pada penderita HIV. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan jumlah sel CD4 dan riwayat diare dengan infeksi *Cryptosporidium* sp pada penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat. Penelitian observasional dengan desain *cross sectional* pada 50 sampel feses penderita HIV/AIDS. Pemeriksaan *Cryptosporidium* sp. dilakukan dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen* dan pemeriksaan molekuler menggunakan PCR, dan analisa data menggunakan uji *Chi Square*. Hasil menunjukkan 2 responden (4%) positif terinfeksi *Cryptosporidium* sp., tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium* sp. $p=0,490$ ($p>0,05$). Adanya perbedaan yang signifikan antara rata-rata jumlah sel CD4 pada responden yang positif terinfeksi dengan responden tidak terinfeksi, $p=0,001$ ($p>0,05$). Adanya hubungan yang signifikan antara infeksi *Cryptosporidium* sp. dengan riwayat diare, $p=0,045$ ($p>0,05$).

Kata Kunci: *Cryptosporidium* sp., HIV/AIDS, sel T CD4.

ABSTRAK

Opportunistic infections are infections that occur due to a decrease in the immune system. This infection can be fatal in people with weakened immune systems, especially people with HIV/AIDS. *Cryptosporidium* sp. is one of the opportunistic intestinal protozoa that is generally asymptomatic and is self-limited in immunocompetent individuals, but in individuals with immune deficiency often results in chronic diarrhea, causing dehydration and malnutrition which can increase mortality and morbidity in HIV patients. This study aims to examine the association of amount of CD4 cell and history of diarrhea with *Cryptosporidium* sp infection in HIV/AIDS patients in West Sumatera. Observational study with cross sectional design on 50 fecal samples of HIV/AIDS patients. *Cryptosporidium* sp. performed by Ziehl Neelsen staining and molecular examination using PCR, and data analysis using Chi-Square test. The results obtained 2 respondents (4%) positive infected with *Cryptosporidium* sp., There was no significant relationship between CD4 cell counts with *Cryptosporidium* sp. infection, $p\text{-value} = 0.490$ ($p > 0.05$). There was a significant difference between the average number of CD4 cells in respondents who were positively infected and those who were not infected, $p\text{-value}=0.001$ ($p > 0.05$). There is a significant relationship between *Cryptosporidium* sp. with a history of diarrhea, $p\text{-value}=0.045$ ($p > 0.05$).

Keywords: *Cryptosporidium* sp., HIV/AIDS, CD4 T cells.

PENDAHULUAN

Infeksi oportunistik adalah infeksi yang terjadi akibat adanya penurunan system kekebalan tubuh.¹ Infeksi tersebut umumnya tidak menyebabkan penyakit pada orang dengan system kekebalan tubuh yang normal, namun dapat berakibat fatal pada orang dengan system kekebalan tubuh yang lemah seperti pada penderita HIV/AIDS. HIV adalah sejenis virus yang menyerang system kekebalan tubuh manusia. Sel limfosit T CD4 merupakan sel target infeksi HIV, penurunan jumlah dan fungsi sel T CD4 akibat efek sitopatik infeksi HIV, dengan menurunnya status imun (CD4) maka berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan protozoa cenderung tumbuh dan berkembangbiak menimbulkan infeksi sekunder bahkan infeksi jamur.²

Menurut data dari UNAIDS terjadi peningkatan kasus HIV/AIDS di dunia. Pada tahun 2017 ditemukan sekitar 36,9 juta kasus, dengan penderita HIV baru sebanyak 1,8 juta pasien, dan 940.000 pasien meninggal akibat AIDS. Angka kejadian HIV/AIDS di kawasan Asia Pasifik tercatat pada tahun 2017 sebanyak 5,2 juta kasus, dengan penderita HIV baru sebanyak 280.000 pasien, dan 170.000 pasien meninggal akibat AIDS. Jumlah kumulatif infeksi HIV di Indonesia yang dilaporkan sampai dengan Juni 2018 sebanyak 640.443 jiwa, 49.000 pasien merupakan penderita baru dan 39.000 dilaporkan meninggal akibat AIDS, jumlah ini mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan 10 tahun terakhir, sementara Sumatera Barat berada pada urutan kesebelas. Laporan kasus infeksi HIV oleh Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat sampai dengan tahun 2015 sebanyak 1435 kasus dan 1346 diantaranya mengidap AIDS, sedangkan pada tahun 2017 tercatat sebanyak 563 kasus dan AIDS sebanyak 267 kasus. Total penderita HIV di Sumatera Barat sampai dengan tahun 2018 yaitu 1890 pasien. Berdasarkan laporan Dinas Kesehatan Kota Padang tahun 2018, pada tahun 2017 ditemukan kasus HIV sebanyak 370 kasus, jumlah kasus HIV/AIDS meningkat jika dibandingkan tahun 2016 yaitu sebanyak 300 kasus dan 30% dari kasus tersebut disebabkan oleh Lelaki Seks Lelaki (LSL). Kasus AIDS sebanyak 93 kasus dan juga mengalami peningkatan dari tahun sebelumnya sebanyak 56 kasus.^{3,4}

Saat ini HIV memiliki jumlah kematian yang tinggi, dimana yang dapat mengancam hidup penderita HIV tidak hanya dari virus sendiri, namun infeksi oportunistik tetap menjadi penyebab utama dari morbiditas dan mortalitas penderitayang terinfeksi HIV. Infeksi oportunistik dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit.⁵

Kriptosporidiosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh parasit dari genus *Cryptosporidium* yang merupakan organisme patogen. *Cryptosporidium sp.* dapat menyebabkan diare akut pada manusia atau hewan dengan cara menginfeksi usus halus. Pada individu dengan defisiensi imun seringkali mengakibatkan gejala ringan sampai berat mengakibatkan diare kronis dan peningkatan angka kematian penderita HIV karena berperan dalam infeksi oportunistik pada penderita AIDS.⁶

Pada penelitian Wahdini dkk (2016), *Cryptosporidium sp.* merupakan parasit terbanyak yang ditemukan pada feses pasien HIV. Pada penelitian Masarat (2012) ditemukan 80% kasus kriptosporidiosis pada pasien HIV. Pada tahun 2017 pemeriksaan *Cryptosporidium sp.* pada pasien HIV/AIDS di RSUP Dr. M. Djamil Padang mengenai hubungan jumlah CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* melalui pemeriksaan mikroskopis didapatkan sebanyak 22 dari 42 sampel terdeteksi ookista *Cryptosporidium sp.* Dari penelitian tersebut juga didapatkan kecenderungan terjadinya infeksi tersebut berbanding lurus dengan semakin rendahnya jumlah CD4.^{7,8,9} Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan jumlah sel CD4 dan riwayat diare dengan infeksi *Cryptosporidium sp* pada penderita HIV/AIDS di Sumatera Barat.

Metode

Sampel feses pasien HIV/AIDS RSUP Dr. M. Djamil Padang, metanol, carbolfuchsin pekat, asam alkohol 3%, malachite 2,5%, QIAamp Fast DNA Stool Mini kit Qiagen®, Etanol 96%, Cry-15 Cry-9 primer, Air bebas Nuklease, GoTaq® Green Master Mix Promega, Agarose, TBE Buffer, Biotium® Gel Green Nucleic Acid Stain, Thermo Scientific® Loading die, dan Thermo Scientific® Gene Ruler 100bp DNA Ladder.

Pemeriksaan mikroskopis dengan Ziehl Neelsen: Preparat disapukan ke objek glass, difiksasi dengan methanol selama 5 menit. Carbolfuchsin pekat ditetaskan selama 15 menit lalu cuci dengan air mengalir, larutan asam alkohol (HCl-metanol) ditetaskan selama 3 menit. Larutan malachite selama ditetaskan 30 detik. Preparat dicuci kembali dengan air mengalir, dikeringkan, dan diperiksa di bawah mikroskop. Ookista akan tampak berwarna merah muda hingga merah dengan ukuran 4-6 μm .

Pemeriksaan molekuler dengan PCR dengan tahapan : isolasi DNA menggunakan QIAamp Fast DNA Stool Mini kit, lalu isolate DNA diamplifikasi menggunakan PCR (denaturasi awal 94°C 5 menit; denaturasi 94°C 50 detik; Annealing 52°C 30 detik; Extension 72°C 50 detik, 30 siklus), lalu elektroforesis selama 30 menit dengan kekuatan 200 volt dan kecepatan 72 ampere.

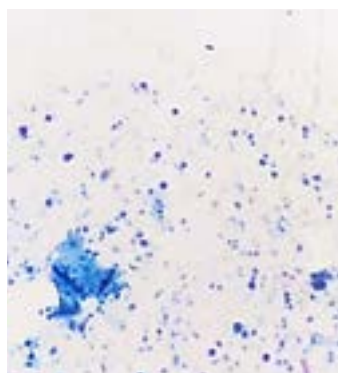
Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini telah diperoleh 50 responden penderita HIV/AIDS dari Poli VCT RSUP Dr. M. Djamil Padang. Distribusi pasien dengan jumlah CD4 ≤ 200 sel/ μL sebanyak 25 orang (50%) dan >200 sel/ μL sebanyak 25 orang (50%), dengan jumlah CD4 terendah yaitu 5 sel/ μL , responden dengan gejala diare sebanyak 4 orang (8%), dan dengan riwayat diare dalam 2 minggu terakhir sebanyak 11 orang (22%). Pada penelitian ini, responden yang positif infeksi *Cryptosporidium sp.* memiliki riwayat diare dalam 2 minggu terakhir.

Pada penelitian ini diperoleh hasil pemeriksaan *Cryptosporidium sp.* Secara mikroskopis (gambar 1, Tabel 1) didapatkan total positif 2 responden (4%) dengan jumlah sel CD4 ≤ 200 sel/ μL . Uji statistik menunjukkan tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.*, pasien dengan jumlah sel CD4 ≤ 200 sel/ μL 0,920 kali lebih berisiko terinfeksi *Cryptosporidium sp.* dibandingkan dengan pasien dengan jumlah sel CD4 >200 sel/ μL .

Tabel 1. Hubungan Jumlah CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.*

Kriteria Pasien	Hasil		Total (%) n = 50	P	OR	95%CI
	Positif (%)	Negatif (%)				
CD4 ≤200 sel/μL	2 (4%)	23 (46%)	25 (50%)	0,490	0,920	0,820 – 1,033
CD4 >200 sel/μL	0 (0%)	25 (50%)	25 (50%)			
Total	2 (4%)	48 (96%)	50 (100%)			

**Gambar 1.** Hasil Mikroskopis Positif infeksi *Cryptosporidium sp.***Tabel 2.** Hubungan Infeksi *Cryptosporidium sp.* dengan Riwayat Diare

Hasil	Riwayat Diare		Total (%) n = 50	P	OR	95%CI
	Ada	Tidak Ada				
Positif (%)	2 (4%)	0 (0%)	2 (4%)	0,045	0,818	0,619 – 1,081
Negatif (%)	9 (18%)	39 (78%)	48 (96%)			
Total	11 (22%)	39 (78%)	50 (100%)			

Pada penelitian ini, responden yang memiliki riwayat diare dalam 2 minggu terakhir positif terinfeksi *Cryptosporidium sp.*, 2 dari 50 responden (4%) pada pasien dengan riwayat diare (<2 minggu) positif terinfeksi *Cryptosporidium sp.* (Tabel 2), berdasarkan uji statistik menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara infeksi *Cryptosporidium sp.* Dengan riwayat diare, dan responden yang terinfeksi *Cryptosporidium sp.* akan 0,818 kali lebih berisiko memiliki riwayat diare dalam 2 minggu terakhir dibandingkan dengan responden yang tidak terinfeksi *Cryptosporidium sp.*

Kesimpulan

Rata-rata jumlah sel CD4 pada pasien HIV/AIDS di Sumatera Barat adalah $202,52 \pm 108,967$ sel/ μ L, dengan jumlah sel CD4 terendah 5 sel/ μ L dan tertinggi 350 sel/ μ L. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara jumlah sel CD4 dengan infeksi *Cryptosporidium sp.* Adanya hubungan yang signifikan antara infeksi *Cryptosporidium sp.* dengan riwayat diare.

Daftar Pustaka

1. Agarwal, S.G., Powar, R.M., Tankhiwale, S., Rukadikar, A. 2015. Study of opportunistic infections in HIV-AIDS patients and their co-relation with CD4+ cell count. *Int J Curr Microbiol App Sci* 4(6): 848-61.
2. Mandal, A. 2008. AIDS Pathophysiology. *News Medical Life Sciences* : 10 -13.
3. [UNAIDS] United Nations Programme on HIV and AIDS. 2018
4. [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan RI. 2018. Hari AIDS Sedunia, Momen STOP Penularan HIV: SayaBerani, SayaSehat!. Jakarta: KementrianKesehatan RI.
5. Ministry of Health and Family Welfare Government of India. 2007. Guidelines for Prevention and Management of Common Opportunistic Infections/Malignancies among HIV-infected Adult and Adolescent. NACO.
6. Prasetyo, H. 2015. Infeksi Parasit Usus Oportunistik. <http://repository.unair.ac.id/55064/>
7. Wahdini, S., Kurniawan, A., dan Yuniastuti, E. 2016. Deteksi Kopro antigen *Cryptosporidium sp* pada Pasien HIV / AIDS dengan Diare Kronis. 4(1):49–53.
8. Masarat, S., Ahmad, F., Chisti, M., Sofi, B., and Ahmad. 2012. Prevalence of *Cryptosporidium* species among HIV positive asymptomatic immigrant population in Kashmir, India. *Iranian Journal of Microbiology* 4 (1):34-38.
9. Handayani, S.W. 2017. Hubungan Jumlah Sel CD4 dengan Infeksi *Cryptosporidium sp.* (diare/non-diare) pada Penderita HIV/AIDS di Rumah Sakit Dr. M. Djamil. [Tesis]. Padang: Universitas Andalas.

Kode Makalah : IndBio 009

HUBUNGAN KADAR IMUNOGLOBULIN-M ANTI PHENOLIC GLYCOLIPID-1 DAN MATRIX METALLOPROTEINASE 9 DENGAN TINGKAT KEPARAHAN PENYAKIT KUSTA

¹ Yanwirasti, ^{1,2} Fitriyanti, ³ Jamsari dan ⁴ Pamudji R

Email: pipit_ikkk@yahoo.co.id

¹ Prodi Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas² Bagian Ilmu Penyakit Kulit & Kelamin RSUD Raden Mattaher Jambi³ Fakultas Pertanian Universitas Andalas⁴ Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

Kusta adalah penyakit infeksi granulomatosa kronik disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, terutama mengenai kulit dan saraf perifer serta menyebabkan kecacatan dan kerusakan fisik yang jelas. Identifikasi dini kusta menjadi prioritas utama dalam mengontrol penyakit ini, serta merupakan strategi memutuskan rantai penularan dan mencegah kecacatan fisik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar Immunoglobulin-M anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *Matrix Metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan penyakit kusta. Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain potong lintang. Sampel diambil dari darah vena penderita kusta multibasiler sebanyak 32 orang dan narakontak serumah > 5 tahun sebanyak 32 orang. Pemeriksaan laboratorium hapusan sayatan kulit diperlukan untuk mengetahui nilai Indeks Bakteri (IB). Kadar IgM anti PGL-1 dan MMP-9 diperiksa dengan teknik ELISA. Hasil penelitian menunjukkan terdapat hubungan bermakna antara kadar IgM anti PGL-1 dengan tingkat keparahan kusta yaitu narakontak dengan nilai IB ≥ 3 dengan nilai $p < 0,05$ dan nilai IB < 3 dengan nilai IB ≥ 3 yang memiliki nilai $p < 0,05$. Hasil penelitian juga menunjukkan hubungan bermakna antara kadar MMP-9 dengan tingkat keparahan kusta. Peranan IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan MMP-9 dalam kejadian kusta bermakna secara statistik dengan nilai $p < 0,05$, namun nilai p IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* < dibandingkan MMP-9. Kesimpulan penelitian adalah bahwa semakin tinggi nilai IB maka kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* semakin meningkat dan kadar serum MMP-9 semakin menurun. Faktor yang paling berperan dalam tingkat keparahan kusta adalah IgM anti PGL-1.

Kata kunci Tingkat keparahan kusta, indeks bakteri, IgM anti PGL-1, MMP-9

ABSTRACT

Leprosy is a chronic granulomatous infection caused by *Mycobacterium leprae*, affected skin and peripheral nerves and cause disability and obvious physical damage. Early identification of leprosy is still a mayor priority in controlling this disease, and become a strategy to break the transmission chain and prevent physical disability. This study aims to determine the relationship between Immunoglobulin-M anti *Phenolic Glycolipid-1* and *Matrix Metalloproteinase 9* serum level with leprosy severity. This study is an observational study with a cross-sectional design. Samples were taken from venous blood of 32 multibacillary leprosy patients and 32 household contact. Slit Skin smear is required to determine Bacterial Index (BI) value. IgM anti PGL-1 and MMP-9 level were examined by ELISA technique. The results showed a significant correlation between IgM anti PGL-1 level and leprosy severity; household contact with IB ≥ 3 (p value < 0.05) and IB < 3 with IB ≥ 3 (p value < 0.05). The results also showed a significant relationship between MMP-9 level and the severity of leprosy. The role of IgM anti-phenolic Glycolipid-1 and MMP-9 in the incidence of leprosy was statistically significant with p value < 0.05 , but the p value of IgM anti-phenolic Glycolipid-1 smaller than MMP-9. It can be concluded that the higher bacterial index value, serum level of IgM anti-phenolic Glycolipid-1 will increase and MMP-9 serum level will decrease. The most important factor in the severity of leprosy is anti-PGL-1 IgM.

Keywords: leprosy severity, bacterial Index, anti PGL-1 IgM, MMP-9

Pendahuluan

Kusta masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di berbagai negara.¹ Infeksi mikrobial ini bersifat endemik pada lebih dari 15 negara dan dilaporkan sekitar 250.000 kasus kusta baru setiap tahun dari seluruh dunia.^{2,3} Selama tahun 2012 dilaporkan kasus kusta baru sebanyak 232.857 kasus dan diperkirakan akan mencapai 4 juta kasus pada tahun 2020. Pada tahun 2013, Indonesia menempati urutan ketiga di dunia setelah India dan Brazil dengan jumlah kasus kusta baru sebanyak 16.856 kasus dan jumlah kecacatan tingkat 2 di antara penderita baru sebanyak 9,86%.^{1,4} Pada tahun 2015 dilaporkan 17.202 kasus baru kusta dengan 84,5% kasus di antaranya merupakan tipe Multibasiler (MB). Angka cacat tingkat 2 pada tahun 2015 sebesar 6,60 per 1 juta penduduk.⁵

Kusta adalah penyakit infeksi granulomatosa kronik disebabkan oleh basil obligat intraseluler *Mycobacterium leprae* (*M leprae*), terutama mengenai kulit dan saraf perifer serta dapat menyebabkan kecacatan dan kerusakan fisik yang jelas.³ Kriteria diagnosis kusta menurut *World Health Organization* (WHO) berdasarkan pada tiga gejala kardinal yaitu makula eritema atau hipopigmentasi yang mati rasa, penebalan saraf perifer serta apusan basil tahan asam atau biopsi kulit yang positif. Klasifikasi menurut WHO membedakan gambaran klinis kusta menjadi Kusta Multibasiler (MB) ditandai dengan jumlah lesi kulit lebih dari lima dan Kusta Pausibasiler (PB) dengan jumlah lesi kulit kurang dari lima.³ Kusta multibasiler timbul pada penderita dengan respon imun seluler yang rendah terhadap *M leprae*, sehingga memiliki beban basiler yang tinggi dan menjadi sumber infeksi.⁶ Penderita kusta multibasiler terutama bertanggung jawab untuk penularan *M leprae* pada daerah yang endemis. Narakontak dengan kasus multibasiler dan tinggal serumah memiliki risiko empat kali lipat untuk menderita kusta dibandingkan dengan kontak dengan kasus pausibasiler.⁷

Identifikasi dini kasus kusta masih tetap menjadi prioritas utama dalam mengontrol penyakit ini, serta merupakan strategi untuk memutuskan rantai penularan dan mencegah kecacatan fisik.^{2,4} *Mycobacterium leprae* tidak dapat dikultur secara *in vitro*; sehingga menemukan basil tahan asam (BTA) dengan mikroskop tetap merupakan teknik diagnostik standard.⁸ Tetapi, teknik BTA memerlukan setidaknya 10^4 organisme per gram jaringan agar bisa terdeteksi.⁹

Phenolic-glycolipid 1 (PGL-1) sudah diketahui merupakan faktor virulensi yang sangat penting. Biosintesis PGL ini melibatkan penambahan tiga basic sugar yaitu Rhamnosa, Rhamnosa dan Glukosa yang dikatalisis oleh enzim metiltransferase.¹⁰ Phenolic-glycolipid 1 (PGL-1) mampu memodulasi respon imun awal dari host yang dimediasi oleh domain trisakarida melalui mekanisme yang belum sepenuhnya diketahui.¹¹ Keberadaan antigen PGL-1 akan merangsang pembentukan antibodi immunoglobulin M (IgM) anti PGL-1, antibodi inilah yang akan bereaksi dengan antigen PGL-1 yang baru terbentuk. IgM anti PGL-1 berkaitan dengan banyaknya bakteri *M leprae* pada penderita dan dapat berguna sebagai penentu diagnosis kusta.¹²

Aktivitas MMP-9 yang diinduksi oleh TNF α dapat memicu kerusakan *blood-nerve barrier* dan menarik makrofag ke dalam endoneurium.¹³ Kadar serum MMP-9 yang tinggi telah digunakan sebagai biomarker aktivitas penyakit.¹⁴ Peningkatan ekspresi MMP-9 ditemukan pada kondisi peningkatan fungsi makrofag dan sel epiteloid spektrum kusta kutub tuberkuloid; imunoreaktivitas menurun ke arah spektrum kusta kutub lepromatosa yang ditandai oleh adanya kerusakan fungsi histiosit dan reaktivitas akan meningkat kembali pada fibroblast di sekitar vaskulitis pada reaksi eritema nodosum leprosum.¹⁵

Berdasarkan latar belakang di atas maka penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kadar IgM Anti Phenolic Glycolipid-1 dan Matriks Mettalooprotein-9 dengan tingkat keparahan penyakit kusta.

Metode

Penelitian dilaksanakan di Rumah Sakit Kusta Dr. Rivai Abdullah dan puskesmas Sukajadi Kabupaten Banyuasin Propinsi Sumatera Selatan selama 4 bulan (Desember 2017-Maret 2018). Penelitian ini sudah dilakukan uji kaji etik di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang dan Lolos Kaji Etik (No: 531/KEP/FK/2017) pada 20 Desember 2017

Sampel diambil dari darah vena penderita kusta multibasiler dan narakontak yang tinggal serumah lebih dari 5 tahun. Pasien yang diambil darah nya harus memenuhi diagnosis pasien kusta sesuai kriteria WHO dan anggota keluarga yang tinggal serumah minimal 5 tahun. Berusia 18 - 60 tahun dan bersedia mengikuti penelitian ini, yang dinyatakan dengan menandatangani *informed consent* setelah diberi penjelasan tentang prosedur penelitian. Penderita tidak sedang dalam keadaan sakit berat, tidak hamil dan menyusui, tidak ada riwayat asma, tuberculosi, penyakit paru obstruktif kronik, Lupus Eritematosus dan Diabetes Melitus. Pada penelitian ini diperoleh 32 subjek kusta Multibasiler dan 32 subjek narakontak yang tinggal serumah. Sebanyak 17 subjek kusta multibasiler didapatkan dari Rumah Sakit Kusta Dr. Rivai Abdullah dan 15 subjek dari puskesmas Sukajadi Kabupaten Banyuasin, begitu juga untuk subjek narakontak. Pada penelitian ini tingkat keparahan kusta dinilai dengan indeks bakteri (IB). Narakontak yang diikutsertakan dalam penelitian ini mempunyai nilai IB = 0.

Pemeriksaan kadar MMP-9 dilakukan menggunakan *Human Matrix Metalloproteinase 9 ELISA kit produksi Bioassay Technology Laboratory*. Kit antibodi IgM anti PGL 1 dibuat oleh Leprosy Lembaga Penyakit Tropik Universitas Airlangga. Pemeriksaan laboratorium hapusan sayatan kulit diperlukan untuk memeriksa adanya Basil tahan asam (BTA), digunakan dalam penelitian ini untuk mendiagnosis kusta sesuai dengan kriteria WHO. Pemeriksaan dilakukan pada dua tempat pada penderita kusta, yaitu pada lesi kulit dan pada cuping telinga, dan kemudian hasilnya dibagi rata. Dari hasil sayatan tersebut kemudian dilakukan pemeriksaan untuk mengetahui Indek Bakteri (BI) dan Indek Morfologi (MI) melalui pewarnaan dengan menggunakan metode Ziehl Nielsen. BI dihitung secara semi kuantitatif untuk menilai kepadatan BTA tanpa membedakan bentuk bakteri solid ataupun non solid pada sebuah sediaan dengan nilai 0 – 6+ menurut skala Ridley. Penilaian menurut skala logaritma Ridley adalah sebagai berikut : (Depkes, 2007)

Tabel 1 Indeks bakteri menurut skala Ridle

n	Skala	Interpretasi
1	0	tidak ada BTA dalam 100 lapangan pandangan (LP)
2	1+	1 – 10 BTA dalam 100 LP
3	2+	1 – 10 BTA dalam 10 LP
4	3+	1 – 10 BTA dalam 1 LP
5	4+	11 – 100 BTA dalam 1 LP
6	5+	101 – 1000 BTA dalam 1 LP
7	6+	> 1000 BTA dalam 1 LP

Data dianalisis secara komputerisasi. Data yang tidak normal, ditransformasi menggunakan Log 10. Hasil data yang normal akan dianalisis dengan uji parametrik sedangkan data yang tidak normal dilakukan uji non parametrik. Analisis bivariat dianalisis dengan *independent T-test*, sedangkan analisis multivariat dianalisis dengan uji regresi logistik.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik subjek penelitian

Penelitian ini menggunakan responden penderita kusta tipe MB sebanyak 32 orang dan nara-kontak 32 orang yang terbagi ke dalam beberapa karakteristik yaitu umur, jenis kelamin, tingkat pendidikan, pekerjaan. Adapun data karakteristik responden tersebut dapat dijelaskan pada tabel 2 berikut ini :

Tabel 2. Karakteristik demografi subjek penelitian

Karakteristik Subjek penelitian	Narakontak f (%)		Penderita f (%)		Total f (%)	
Umur						
< 20 tahun	1	3,1	5	15,6	9	6 9,4
21 – 30 tahun	7	21,9		28,1	1	6 25,0
31 – 40 tahun	8	25,0	10	31,3	18	28,1
41 – 50 tahun	9	28,1	6	18,8	15	23,4
> 50 tahun	7	21,9	2	6,3	9	14,1
Status pernikahan						
Menikah	28	87,5	16	50,0	44	68,8
Tidak menikah	4	12,5	16	50,0	20	31,3
Jenis kelamin						
Laki-laki	10	31,3	26	81,3	36	56,3
Perempuan	22	68,8	6	18,8	28	43,8
Tingkat pendidikan						
SD	25	78,1	16	50,0	41	64,1
SMP	1	3,1	8	25,0	9	14,1
SMA	6	18,8	8	25,0	14	21,9
Pekerjaan						
Tidak bekerja	1	3,1	4	12,5	5	7,8
Ibu rumah tangga	14	43,8	1	3,1	15	23,4
Buruh	3	9,4	9	28,1	12	18,8
Petani	9	28,1	11	34,4	20	31,3
Swasta	4	12,5	6	18,8	10	15,6
Pelajar	1	3,1	1	3,1	2	3,1
Riwayat kontak						
Suami/istri	14	43,8	0	0,0	14	21,9
Orang tua/anak	5	15,6	8	25,0	13	20,3
Lainnya	13	40,6	24	75,0	37	57,8

Kelompok umur terbanyak penderita kusta adalah 31 – 40 tahun yaitu 10 orang (31,3%) sedangkan pada narakontak 41 – 50 tahun yaitu 9 orang (28,1%). Status menikah lebih banyak ditemukan pada narakontak sebanyak 28 orang (87,5%), sementara pada kelompok penderita status pernikahan sama banyak antara menikah dan tidak menikah yaitu 16 orang (50%). Jenis kelamin laki-laki lebih banyak pada kelompok penderita yaitu 26 orang (81,3%), sedangkan pada kelompok narakontak jumlah perempuan lebih banyak yaitu 22 orang (68,8%). Subjek penelitian dengan tingkat pendidikan SD lebih banyak pada kedua kelompok masing-masing 25 orang (78,1%) dan 16 orang (50,0%). Pekerjaan petani terbanyak didapatkan pada kelompok penderita yaitu 11 orang (34,4%), sedangkan pekerjaan narakontak terbanyak adalah ibu rumah tangga 14 orang (43,8%). Narakontak yang terbanyak adalah suami/istri sebanyak 14 orang (43,8%) dan paling sedikit adalah orang tua/anak sebanyak 5 orang (15,6%).

Karakteristik berdasarkan pemeriksaan

Dalam penelitian ini karakteristik dilakukan juga berdasarkan pemeriksaan yaitu, indeks bakteri (IB). Adapun data karakteristik responden tersebut dapat dijelaskan pada tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik Indeks Bakteri subjek penelitian

Tingkat keparahan	Kelompok		Total
	Narakontak	Penderita kusta	
0	32 (100,0%)	0 (0,0%)	32 (100,0%)
< 3	0 (0,0%)	14 (100,0%)	14 (100,0%)
≥ 3	0 (0,0%)	18 (100,0%)	18 (100,0%)
Total	32 (50%)	32 (50%)	64 (100,0%)

Tabel 3 memperlihatkan bahwa sebanyak 32 orang narakontak (100%) memiliki nilai IB = 0. Sedangkan penderita kusta multibasiler sebanyak 14 orang (100%) memiliki nilai IB = < 3 dan 18 orang (100%) memiliki nilai IB ≥ 3.

Uji normalitas variabel-variabel yang diteliti

Sebelum dilakukan pengujian pengaruh antara variabel independen terhadap variabel dependen maka perlu dilakukan uji normalitas yang bertujuan untuk mengetahui apakah data mempunyai sebaran yang normal. Berdasarkan uji normalitas yang telah dilakukan, distribusi data tidak normal, sehingga dilakukan transformasi data. Hasil uji normalitas setelah di transformasi, data IgM anti PGL-1 memiliki sebaran yang normal, dengan nilai $p > 0,05$. Sementara data MMP-9 masih tidak normal, sehingga digunakan uji non parametrik.

Hubungan antara Kadar Serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dengan Tingkat Keparahan Penyakit Kusta

Hasil penelitian yang memperlihatkan perbedaan antara kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *matrix metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan kusta berdasarkan nilai indeks bakteri dapat dilihat pada tabel 4 berikut:

Tabel 4. Perbedaan kadar IgM anti PGL-1 dan *matrix metalloproteinase 9* antara subjek penelitian dengan nilai Indeks Bakteri

Variabel	Kelompok	Rerata $\pm$ SD	<i>p</i>
IgM anti PGL-1 (u/ml)	Narakontak	249,03 $\pm$ 295,27	0,001
	IB < 3	829,00 $\pm$ 677,80	
	IB $\geq$ 3	13949,55 $\pm$ 23960,71	
MMP-9 (ng/L)	Narakontak	2744,34 $\pm$ 1092,84	0,006
	IB < 3	2377,36 $\pm$ 991,2	
	IB $\geq$ 3	1814,28 $\pm$ 445,20	

Tabel 4 memperlihatkan bahwa semakin tinggi nilai indeks bakteri, maka kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* semakin meningkat secara bermakna dengan nilai $p < 0,05$. (Uji Posthoc Bonferroni). Tabel 5.7 memperlihatkan bahwa semakin tinggi nilai indeks bakteri, maka kadar serum *matrix metalloproteinase 9* semakin menurun. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa terdapat hubungan bermakna antara kadar serum *matrix metalloproteinase 9* dengan tingkat keparahan penyakit kusta dengan nilai $p < 0,05$ (Uji Kruskal-Wallis).

Peranan IgM anti PGL-1 dengan MMP-9 pada tingkat keparahan penyakit Kusta

Untuk mengetahui faktor yang paling berperan antara kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dan *Matrix Metalloproteinase 9* dalam tingkat keparahan penyakit kusta dilakukan uji statistik Logistic Regression..

Tabel 5. Hasil uji statistik regresi *Logistic Regression*

Variabel	Nilai <i>p</i>
IgM anti PGL-1	0,006
MMP-9	0,042

Tabel 5 memperlihatkan hasil yang didapat dari uji Logistic Regression yaitu IgM anti PGL-1 lebih berperan dalam tingkat keparahan penyakit kusta daripada MMP-9.

Karakteristik subjek penelitian

Hasil penelitian memperlihatkan 26 laki-laki (81,3%) dan 6 perempuan (18,8%) pada kelompok penderita serta 10 laki-laki (31,3%) dan 22 perempuan (68,8%) pada kelompok narakontak. Penelitian ini hampir sama dengan penelitian di Brazil, dimana distribusi jenis kelamin laki-laki pada penderita kusta MB sebesar 51,28% dan perempuan sebanyak 48,71%. Begitu juga dengan kelompok narakontak, distribusi perempuan lebih banyak yaitu 83,3% dibandingkan laki-laki 16,7%.¹⁶ Hal ini dapat dijelaskan karena laki-laki lebih banyak berinteraksi dalam kegiatan sosial di luar rumah sehingga memiliki risiko yang lebih tinggi terpapar dengan penyakit kusta. Sedangkan perempuan, sebagian besar tidak banyak berinteraksi dengan masyarakat, lebih banyak berdiam diri, dan tidak mampu mengemukakan masalah kesehatannya kepada komunitas sekitar. Hal ini terutama disebabkan karena adanya stigma sosial, ketergantungan status ekonomi dan sosial yang rendah, stigma pribadi dan insensitivitas gender.¹⁷

Subjek penderita kusta MB banyak pada rentang usia 31-40 tahun yaitu 10 orang (31,3%) dan narakontak 41-50 tahun yaitu 9 orang (28,1%). Karakteristik usia antara kedua kelompok menunjukkan bahwa rentang usia pada kedua kelompok hampir sama yaitu antara 30-50 tahun. Silva 2017 juga melaporkan hasil yang serupa, bahwa penderita kusta kasus baru rata-rata berusia 40 tahunan dengan rentang usia 15-44 tahun sebanyak 51,28% dan narakontak sebanyak 44,4%.¹⁶ Kusta terutama mengenai individu pada periode aktif secara ekonomi yaitu rentang usia 20-60 tahun. Martin 2016 melaporkan bahwa penderita kusta sebanyak 54% berada dalam rentang usia tersebut. Kecenderungan penderita kusta pada usia dewasa tua kemungkinan disebabkan oleh berkurangnya paparan *M leprae* pada anak dan periode masa inkubasi kusta MB yang lama. Selain itu, terdapat peranan perubahan imun terkait usia dan peningkatan kerentanan terhadap penyakit infeksi berupa penurunan fungsi monosit dan netrofil, kapasitas fagosit, presentasi antigen dan perubahan profile sitokin dari Th-1 ke arah Th-2.¹⁸

Tingkat pendidikan kelompok penderita dan narakontak paling banyak adalah sekolah dasar. Kelompok penderita kusta MB sebanyak 16 orang (50%) dan kelompok narakontak sebanyak 25 orang (78,1%). Karakteristik tingkat pendidikan subjek penelitian kedua kelompok memperlihatkan bahwa tingkat pendidikan kedua kelompok pada penelitian ini sama rendah. Karakteristik tingkat pendidikan penelitian ini sesuai dengan yang didapat pada penelitian lain, dimana penderita kusta banyak diderita oleh individu dengan pendidikan rendah, sosial ekonomi lemah dan kondisi kesehatan dasar yang kurang.¹⁸

Pekerjaan penderita kusta terutama adalah petani sebanyak 11 orang (34,4%) sedangkan pekerjaan narakontak sebagian besar adalah ibu rumah tangga sebanyak 14 orang (43,8%). Di dalam memenuhi kebutuhan petani bekerja jauh lebih berat dan mobilitas yang tinggi sehingga imunitas rendah akibatnya mudah terkena kusta tipe MB.¹²

Kelompok narakontak sebagian besar adalah suami atau istri dari penderita kusta MB sebanyak 14 orang (43,8%). Fakta ini sesuai dengan hasil penelitian Fabri 2015 di Brazil bahwa sebagian besar narakontak adalah pasangan, orang tua atau saudara kandung. Penelitian lain di Brazil juga melaporkan bahwa narakontak yang sangat dekat dengan kasus kusta MB memiliki prevalensi nilai pemeriksaan *seropositive* yang paling tinggi karena intensitas paparan dengan penderita yang memiliki beban basiler yang tinggi lebih sering.¹⁹

Tingkat keparahan kusta berdasarkan nilai Indeks Bakteri (IB)

Mycobacterium leprae tidak dapat dikultur secara *in vitro*; sehingga menemukan BTA dengan mikroskop tetap merupakan teknik diagnostik standar. Jumlah basil dalam setiap lapangan mikroskop atau indeks bakteri dihitung menurut indeks Ridley untuk apusan kulit (*ear lobe* dan lesi kulit). Klasifikasi menurut WHO (1988) memasukkan semua penderita kusta dengan indeks bakteri positif dalam kelompok Multibasiler. Pada kusta lepromatosa, hasil IB selalu positif > 2 jika disertai globus pada pemeriksaan mikroskopis.⁸ Pemeriksaan *Slit-Skin Smear* merupakan prosedur *skrining* esensial untuk semua penderita yang diduga menderita kusta. Selain menegakkan diagnosis, klasifikasi penyakit (pausibasiler dan multibasiler) dan pengamatan lanjutan respon terapi, SSS juga sangat membantu dalam mempelajari distribusi *M leprae* pada kulit dan memastikan derajat infeksius dan keparahan penyakit. *Mycobacterium leprae* biasanya terdapat dalam jumlah besar di dermis penderita kusta MB. Karena memerlukan setidaknya 10^4 basil/gr jaringan untuk memberikan hasil SSS positif, SSS biasanya memberikan hasil negatif pada kusta pausibasiler yang hanya memiliki basil dalam jumlah sedikit.²⁰ Pada penelitian ini tingkat keparahan kusta dibagi berdasarkan nilai IB menjadi narakontak (nilai IB = 0), penderita kusta dengan nilai IB < 3 sebanyak 14 orang dan penderita kusta dengan nilai IB ≥ 3 sebanyak 18 orang.

Diskusi

Pada penelitian ini dari 64 subjek sampel penelitian didapatkan peningkatan kadar serum rerata IgM PGL-1 seiring dengan peningkatan jumlah basil pada penderita yang diperlihatkan dengan nilai indeks bakteri. Kadar serum rerata narakontak adalah 249,03 u/ml, penderita kusta dengan nilai IB < 3 sebesar 829,00 dan penderita kusta dengan nilai IB ≥ 3 sebesar 13949,55u/ml.

Hal ini menjelaskan bahwa kusta multibasiler timbul pada penderita dengan respon imun seluler yang rendah terhadap *M leprae*, sehingga memiliki beban basiler yang tinggi dan menjadi sumber infeksi.⁶ Hasil pemeriksaan apusan kulit memberikan hasil positif sesuai dengan jumlah basil disertai peningkatan kadar antibodi IgM spesifik *M leprae*.²¹ Penderita kusta multibasiler terutama bertanggung jawab untuk penularan *M leprae* pada daerah yang endemis.⁷ Hasil uji serologis yang positif pada narakontak dapat menjadi indikator potensial perkembangan penyakit kusta, karena narakontak masih mengalami periode proliferasi basil yang cukup lama sebelum onset gejala klinis timbul.¹⁹ Dari hasil uji statistik didapatkan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan bermakna antara kadar IgM anti PGL-1 serum dengan tingkat keparahan kusta berdasarkan nilai indeks bakteri.

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Schuring 2006 dan Fabri 2015 yang menyatakan bahwa terdapat korelasi positif antara titer antibodi dengan indeks bakteri penderita kusta. Schuring (2006) melaporkan bahwa kadar seropositive meningkat sesuai dengan nilai IB yaitu *Adjusted Odds Ratio* (aOR) pasien dengan IB ≤ 2 adalah 6,33 (95% CI 2,42-16,5) dan aOR pasien dengan IB > 2 adalah 59,0 (95% CI 25,0-139) dibandingkan dengan IB pasien yang negatif.²¹ Hasil penelitian ini memperlihatkan semakin tinggi nilai indeks bakteri maka kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* akan semakin meningkat. Hasil uji statistik memperlihatkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara kadar serum IgM anti *Phenolic Glycolipid-1* dengan setiap tingkat keparahan kusta yaitu antara narakontak dengan nilai IB ≥ 3 dengan nilai $p = 0,002$ ($p < 0,05$) dan antara nilai IB < 3 dengan nilai IB ≥ 3 yang memiliki nilai $p = 0,015$ ($p < 0,05$).

Meskipun pada awalnya *matriks metalloproteinase* merupakan *matrix-degrading enzyme*, namun kini telah diketahui bahwa MMP memiliki peranan dalam berbagai proses biologi antara lain migrasi seluler, imunomodulasi, angiogenesis dan *matrix remodelling*. Pada kulit, MMP-9 diproduksi oleh keratinosit, monosit dan makrofag. Pada respon imun normal terhadap infeksi, keberhasilan eradikasi infeksi oleh host memerlukan *influx* sel efektor, mengeliminasi pathogen, resolusi inflamasi dan akhirnya *matrix remodelling*. Proses migrasi sel dendritik dan sel T telah diketahui tergantung pada MMP-9. *Matriks metalloproteinase-9* merupakan penanda banyaknya *functioning macrophage*, formasi granuloma epiteloid dan efek destruktif potensial saraf perifer pada pasien kusta pausibasiler. Selain itu, kadar MMP-9 juga memiliki peranan pada terjadinya reaksi ENL.¹⁵

Matrix metalloproteinase 9 juga diproduksi oleh sel Schwann dan makrofag endoneural dan berperan penting dalam kerusakan neurologikal manusia dengan cara degradasi *neurovascular barrier* dan memfasilitasi migrasi sel imun dan demielinasi.²²

Pada penelitian ini dari 64 subjek sampel penelitian didapatkan penurunan kadar serum rerata *matrix metalloproteinase 9* seiring dengan peningkatan jumlah basil pada penderita yang diperlihatkan dengan nilai indeks bakteri. Kadar serum rerata narakontak adalah 2744,34 ng/L, penderita kusta dengan nilai IB <3 sebesar 2377,36 ng/L dan penderita kusta dengan nilai IB ≥ 3 sebesar 1814,28 ng/L. Kadar MMP-9 dalam serum yang rendah pada penderita kusta MB kemungkinan disebabkan oleh banyaknya infiltrat makrofag yang difus dan penuh dengan basil dan tidak ada respon imun seluler spesifik terhadap *M leprae*.¹⁴

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian Teles dkk yang melaporkan bahwa kadar serum MMP-9 pada kusta lepromatosa lebih rendah (169±29,3 ng/ml) daripada kontrol sehat (389±84 ng/ml) dan kusta tuberkuloid (205±29 ng/ml). Namun kadar serum MMP-9 akan meningkat lebih tinggi pada keadaan reaksi, baik saat reaksi ENL (563±52,2 ng/ml) ataupun reaksi reversal (Teles, 2010). Pemeriksaan MMP-9 dari sampel serum menggunakan reagen *R&D System* dan untuk mendeteksi antibodi digunakan *Quantikine kit (DMP900)*. Penemuan ini mengindikasikan bahwa MMP-9 merupakan penanda banyaknya *functioning macrophage*, formasi granuloma epiteloid dan efek destruktif potensial saraf perifer pada pasien kusta pausibasiler. Selain itu, kadar MMP-9 juga memiliki peranan pada terjadinya reaksi ENL.¹⁵

Hasil penemuan ini dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi nilai IB, berarti beban basiler juga semakin besar dan respon CMI semakin lemah sehingga kadar serum MMP-9 akan semakin rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Teles dkk (2007) melaporkan hasil yang hampir serupa, yaitu imunoreaktivitas MMP-9 lebih banyak ditemukan pada *pure neurotic leprosy* dengan hasil biopsi basil tahan asam yang negatif.²³

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara kadar *matrix metalloproteinase 9* yang rendah dengan tingkat keparahan kusta yang memiliki nilai indeks bakteri yang tinggi dengan nilai $p = 0,006$ ($p < 0,05$).

Hasil yang didapat dari uji *Logistic Regression* adalah nilai p IgM anti PGL-1 = 0,006 dan MMP-9 = 0,042 ($p < 0,05$). Artinya IgM anti PGL-1 dan MMP-9 secara statistik terbukti memiliki kemaknaan namun IgM anti PGL-1 lebih berperan dalam kejadian kusta. Hasil uji statistik ini sesuai dengan penjelasan bahwa PGL-1 merupakan bagian dari *M leprae* yang sangat spesifik, bersifat sangat antigenik dan mampu menginduksi tingginya titer antibodi IgM pada pasien kusta lepromatosa karena adanya keunikan kesatuan 3,6-di-O-methyl-b-D-glucosyl pada non-reducing

terminus dari molekul trisaccharide. *Phenolic Glycolipid-1* juga memiliki tropism terhadap sel schwan, melalui ikatan spesifik pada laminin dan berperan penting dalam menyebabkan downregulation respon imuninflamasi dan menghambat maturasi serta aktivasi sel dendritic. Keseluruhan proses tersebut akan memfasilitasi persistensi penyakit kusta.²⁴

Kesimpulan

Pada penelitian ini didapatkan kadar serum IgM anti PGL-1 lebih tinggi pada penderita kusta dibandingkan dengan narakontak, sementara kadar serum MMP-9 subjek penderita kusta lebih rendah daripada narakontak. Subjek penderita kusta dengan nilai IB < 3 mempunyai kadar serum IgM anti PGL-1 lebih rendah daripada penderita kusta dengan nilai IB ≥ 3, sedangkan subjek penderita kusta dengan nilai IB < 3 mempunyai kadar serum MMP-9 lebih tinggi daripada penderita kusta dengan nilai IB ≥ 3. Variabel yang lebih berperan dalam tingkat keparahan penyakit kusta adalah IgM PGL-1.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pasien yang telah mendonasikan darah mereka dan memberikan semua informasi untuk kepentingan penelitian ini, semua staf medis di RS Kusta Rivai Abdullah dan Puskesmas Sukajadi Kabupaten Banyuasin Propinsi Sumatera Selatan atas kerjasama dan dukungan yang luar biasa mulai dari memilih sampel sampai pengambilan dan pengelolaan darah sampel. Penelitian ini dilakukan menggunakan dana pribadi tanpa ada *conflict of interest*.

Daftar pustaka

1. Hongsheng W, Weijing L, 2015. Detection of antibodies to both M. Leprae PGL-1 and MMP-II to recognize leprosy patients at an early stage of disease progression. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 1-4
2. Paula B, Jose E, 2013. Anti-PGL 1 salivary IgA/IgM, serum IgG/IgM, and Nasal Mycobacterium leprae DNA in individuals with household contact with leprosy. *International Journal of Infectious Diseases* 17: e1005-e1010.
3. Eichelmann K, Gonzalez S.E, Salas-Alanis J.C, Ocampo-Candiani J, 2013. Leprosy. An Updates: Definition, Pathogenesis, Classification, Diagnosis and treatment. *Actas Dermosifiliograficas* 104(7):554-563
4. Kemenkes RI, 2015. Menkes Canangkan Resolusi Jakarta Guna Hilangkan Stigma dan Diskriminasi Kusta. www.depkes.go.id. 1-3
5. Kemenkes RI, 2016. Profil Kesehatan Indonesia tahun 2015. Jakarta: Kemenkes RI : 175-178
6. Nobre M L, Illarramendi X, Dupnik K M, Hacker M, 2017. Multibacillary leprosy by population groups in Brazil: Lessons from an observational study. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11(2):1-14
7. Sales A M, Leon A P, Duppre N C, Hacker M, 2011. Leprosy among Patient Contact: A Multilevel Study of Risk Factors. *PLOS Negl Trop Dis* 5 (3):e1013: 1-6
8. Reibel F, Cambau E, Aubry A, 2015. Update on the epidemiology, diagnosis and treatment of leprosy. *Medecine et maladies infectieuses* 45:383-393
9. Turankar R P, Pandey S, Lavania M, Singh Itu, et al, 2015. Comparative evaluation of PCR amplification of RLEP, 16S rRNA, rpoT and Sod A gene targets for detection of M. Leprae DNA from clinical and environmental samples. *International Journal of Mycobacteriology* 4: 54-59
10. Berg S, Kaur D, Jackson M, Brennan P, 2007. The glycosyltransferases of Mycobacterium tuberculosis-roles in the synthesis of arabinogalactan, lipoarabinomannan and other glycoconjugates. *Glycobiology* 17:6:35R-56R

11. Arbues A, Lugo G, Neyrolles et al, 2014. Playing hide-and-seek with host macrophages through the use of mycobacterial cell envelope phthiocerol dimycocerosates and phenolic glycolipids. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 4:173:1-7
12. Hamzah Syafei M, 2016. Hubungan Transforming Growth Factor- β dengan Eritema Nodosum Leprosum Berulang berdasarkan Immunoglobulin-M anti Phenolic-Glycolipid-1 dan Kortisol, Thesis, Pascasarjana Universitas Andalas, Padang.
13. Oliveira A, Antunes S, Teles R, 2010. Schwann cells Producing Matrix
14. Metalloproteinase under *Mycobacterium leprae* stimulation may play role in the outcome of Leprosy Neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 69;1; 27-39
15. Teles Rosane M.B, Teles Rose B, Amadeu Thais, Moura Danielle F, et al, 2010. High Matrix Metalloproteinase Production Correlates with Immune Activation and Leukocyte Migration in Leprosy Reactional Lesions. *Infection and Immunity*, 78;3;1012-21
16. Youssef Sahar S, Attia Enas AS, Awad Nahla M, Mohamed Ghada F, 2009. Expression of Matrix Metalloproteinases (MMP-3 and MMP-9) in Skin Lesions of Leprosy Patients. *J Egypt Women Dermatol Soc* 6;80-87
17. Silva A R, Queiroz M F, Ishikawa E A, Silvestre M, Xavier M, 2017. Evaluation of agreement
18. between tests for diagnosis of leprosy. *J Bras Patol Med Lab* 53;2;100-107
19. Price Victoria Grace, 2017. Factors preventing early case detection for women affected by leprosy; a review of the literature. *Global Health Action* 10; 1-10
20. Martin R, Carloni M, Moimaz S, Garbin C, 2016. Sociodemographic and epidemiological profile of leprosy patients in an endemic region in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 46;6;777-780
21. Carvalho A P M, Fabri A C O, Oliveira R C, Lana F C F, 2015. Factors associated with anti-phenolic glycolipid-I seropositivity among the household contacts of leprosy cases. *BMC Infectious disease* 15:219: 1-8
22. Mahajan VK, 2013. Slit-skin smear: lest we forget it! *Indian J Lepr* 85;177-183.
23. Schuring R P, Moet F J, Pahan D, Richardus J H, et al 2006. Association between anti-PGL-I and clinical and demographic parameters in leprosy. *Lepr Rev* 77:343-355
24. Shubayev V, Angert M, Dolkas J, 2006. TNF- α induced MMP-9 promotes macrophage recruitment into injured peripheral nerve. *Mol Cell Neurosci* 31(3);407-415
25. Teles R M B, Antunes S L G, Jardim M R, Oliveira A L et al, 2007. Expression of metalloproteinases (MMP-2, MMP-9 and TACE) and TNF- α in the nerves of leprosy patients. *Journal of the Peripheral Nervous System* 12: 195-204.
26. Spencer Jhon, Brennan Patrick, 2011. The Role of *Mycobacterium leprae* Phenolic Glycolipid I (PGL-I) in Serodiagnosis and in the Pathogenesis of Leprosy. *Lepr Rev* 82, 344 – 357

Kode Makalah : IndBio 010

HUBUNGAN ANTARA KADAR SERUM *MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN COMPLEX 1* DENGAN DERAJAT KEPARAHAN AKNE VULGARIS

¹ Sri Yusfinah Masfah Hanum, ² Ellyza Nasrul, ³ Nelva Karmila Jusuf, ⁴ Eti Yerizal

¹ Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran Universitas Jambi, sriymhpardede@gmail.com

² Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, ellyza_nasrul@yahoo.com

³ Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, nelva_jusuf@yahoo.com

⁴ Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, ety_yerizel@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar belakang: *Mammalian target of rapamycin complex 1* adalah protein kinase yang meregulasi pertumbuhan dan proliferasi seluler, sintesis lipid dan translasi protein. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *mammalian target of rapamycin complex-1* berperan dalam patofisiologi akne vulgaris, namun bukti langsung pada manusia masih kurang.

Tujuan: Untuk mengetahui hubungan kadar serum *mammalian target of rapamycin complex-1* dengan derajat keparahan akne vulgaris

Metode: Sampel darah vena dari masing-masing penderita AV ringan yang berjumlah 20 orang, AV sedang berjumlah 20 orang dan AV berat berjumlah 20 orang, dilakukan pemeriksaan ELISA untuk melihat kadar serum *mammalian target of rapamycin complex-1*

Hasil: Kadar serum *mammalian target of rapamycin complex-1* meningkat seiring dengan peningkatan derajat keparahan AV. Hasil uji statistik menunjukkan $p < 0,05$

Kesimpulan: Kadar serum *mammalian target of rapamycin complex-1* berhubungan dengan peningkatan derajat keparahan akne vulgaris

Kata kunci: Akne vulgaris, *mammalian target of rapamycin complex-1*, derajat keparahan

PENDAHULUAN

Akne vulgaris (AV) merupakan penyakit inflamasi kronik unit folikulopilosebacea dan merupakan penyakit kulit yang paling sering kedua ditemukan di seluruh dunia.^{1,2} Akne vulgaris paling sering ditemukan dermatologis di Amerika Serikat, penyakit ke tigapuluh paling sering ditemukan selain dermatologis, dan penyakit kedua paling sering dirujuk ke dermatologis.³ Survei di Australia melaporkan 10% pasien baru AV datang ke praktik dermatologis. Penelitian di Asia didapatkan 19,6% pasien AV diantara semua pasien baru yang berkunjung ke rumah sakit.⁴

Berdasarkan laporan kunjungan pasien poliklinik Divisi Dermatologi Kosmetik Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin (IKKK) Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI)/Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta, pada tahun 2010 jumlah kasus baru 30,37%.⁵ Studi retrospektif di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) H. Adam Malik Medan, proporsi pasien AV periode Januari 2010-Desember 2012 ditemukan 1,10%.⁶ Data dari rekam medis poliklinik Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Raden Mattaher Jambi didapatkan kasus baru AV pada tahun 2014 sebanyak 140 dari 3213 kunjungan, tahun 2015 sebanyak 63 dari 2119 kunjungan, tahun 2016 sebanyak 44 dari 1217 kunjungan, dan tahun 2017 sebanyak 32 dari 1447 kunjungan.

Akne vulgaris adalah suatu penyakit kronis yang perjalanan penyakitnya berlangsung lama, dan mengalami rekurensi.⁷ Meskipun tidak mengancam jiwa, AV menimbulkan efek psikologis negatif yang mendalam dan efek sosial pada kualitas hidup pasien.⁸ Sebagian pasien AV merasa malu (70%), malu dan cemas (63%), kurang nyaman (67%), gangguan kontak sosial (57%) dan menganggur.⁹ Gejala sisa seperti jaringan parut hipertrofik atau hipotrofik, hiperpigmentasi pasca inflamasi dapat menetap sehingga berdampak pada kualitas hidup pasien.⁷

Penyebab AV belum diketahui pasti, namun dikemukakan beberapa faktor yang diduga terlibat, terdiri atas faktor intrinsik (genetik, ras, hormonal) dan faktor ekstrinsik, antara lain dapat dicetuskan dan diperberat oleh radiasi ultraviolet dan faktor lingkungan lain,^{10,11} faktor makanan,^{12,13} merokok,¹⁴ stres dan gaya hidup modern.¹⁵

Patogenesis AV multifaktor, ada empat tahap mekanisme utama yang saling berhubungan dan melibatkan pengaruh hormonal dan imun, yaitu hiperproliferasi epidermis folikular, produksi sebum berlebihan, inflamasi dan *Propionibacterium acnes* (*P.acnes*). Urutan pasti perkembangan lesi AV tidak sepenuhnya diketahui. Tahap awal yang dipercaya adalah pembentukan mikrokomedo.¹⁶ Pembentukan mikrokomedo didorong oleh peningkatan produksi sebum karena stimulus pada kelenjar sebacea dan folikular keratinosit, khususnya karena androgen, biasanya sekitar saat pubertas.¹⁷ Aktivitas androgen dapat ditingkatkan oleh *insulin-like growth factor-1* (IGF-1)¹⁸

Insulin dan IGF-1, mengaktifasi *Akt kinase* (protein kinase B) dan *growth-related kinase* lain seperti *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) dan *ribosomal S6 kinase* (RSK) memfosforilasi TSC2, selanjutnya menghambat fungsi kompleks TSC1/TSC2. Inhibisi ini menimbulkan aktivasi *Rheb* yang akhirnya mengaktifasi mTORC1.^{19,20}

Penelitian Agamia *et al.* (2016) menemukan bahwa kadar IGF-1 serum yang tinggi ditemukan pada pasien AV, dan ekspresi mTORC1 sitoplasma dan inti secara signifikan lebih tinggi pada AV. *Mammalian target of rapamycin complex 1* adalah regulator dari pertumbuhan dan proliferasi seluler, sintesis lipid dan translasi protein.²¹ Pertumbuhan dan diferensiasi sel yang dikoordinasikan oleh mTORC1 merupakan bagian dari patogenesis AV, yang dicirikan oleh peningkatan proliferasi dari keratinosit akroinfundibulum, hiperplasia kelenjar sebacea dan peningkatan lipo-

genesis sebacea.²² Melnik mengintegrasikan sinyal mTORC1 ke dalam skenario kompleks dari patogenesis AV, namun, peran atau modulasi mTORC1 dalam patofisiologi AV, bukti langsung pada manusia masih kurang.²³

Diagnosis dan pengobatan yang tepat harus dilakukan untuk mencegah gejala sisa fisik dan psikologis.²² Penentuan derajat keparahan AV sangat penting untuk menentukan karakteristik dan klasifikasi pasien yang digunakan untuk evaluasi terapi serta penelitian epidemiologi. Klasifikasi untuk menentukan tipe atau gradasi AV yang dipakai saat ini yaitu gradasi ringan, sedang dan berat, adalah klasifikasi menurut Lehmann *et al.* (2002). Metode ini menghitung jumlah lesi komedo, lesi inflamasi dan total keseluruhan lesi.²⁴ Penggunaan obat secara rasional berdasarkan tipe dan derajat keparahan AV merupakan kunci keberhasilan pengobatan AV, dengan meningkatnya pemahaman tentang patofisiologi AV akan menghasilkan bahan dan regimen terapi anti-AV dimasa mendatang.²⁵

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka dilakukan penelitian tentang hubungan kadar *mammalian target of rapamycin complex-1* dengan derajat keparahan AV, karena *mammalian target of rapamycin complex-1* dapat mengaktifasi lipogenesis, namun bukti langsung pada manusia dalam patogenesis AV masih kurang.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Poliklinik Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Daerah Raden Mattaher Jambi dan salah satu klinik swasta di Jambi untuk pengambilan sampel dan pemeriksaan klinis. Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Populasi penelitian adalah semua pasien AV perempuan yang datang ke Poliklinik Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Raden Mattaher dan salah satu klinik swasta di Jambi.

Kriteria inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi adalah pasien berusia 14-35 tahun yang menyetujui dan menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi yaitu pasien AV yang hamil dan / atau menyusui, menderita penyakit sistemik seperti diabetes melitus, disfungsi tiroid, *Polycystic ovary syndrome*, asma, tuberkulosis paru, sirosis hati, rematoid arthritis, penyakit keganasan, lupus eritematosus sistemik, sklerosis sistemik, penyakit obstruksi saluran nafas, kolitis, penyakit *Crohn*, menderita penyakit kulit inflamasi lain seperti psoriasis, Morbus Hansen, dermatitis atopik, dermatitis kontak alergik, kandidiasis, pi-oderma, menggunakan obat glukokortikoid, insulin, obat oral hipoglikemik, obat kontrasepsi oral, merokok, mengalami stress, indeks massa tubuh tidak normal, mendapatkan terapi AV (topikal/sistemik) 4 minggu sebelum pemeriksaan, menggunakan antiinflamasi dan antibiotik dalam 8 minggu sebelum pemeriksaan, menggunakan isotretinoin oral 6 bulan sebelum pemeriksaan.

Sebelum melakukan penelitian, dimintakan persetujuan etik kepada Panitia Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Etika penelitian pada manusia berdasarkan protokol penggunaan manusia sebagai objek penelitian sesuai dengan ketentuan Deklarasi Helsinki dan disahkan oleh Komisi Etik Penelitian Nasional. Penelitian ini sudah dilakukan uji kaji etik di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang dan Lolos Kaji Etik pada 5 Februari 2018 (No: 084/KEP/FK/2018)

Sampel darah vena sebanyak 4 ml diambil dari pasien AV ringan, AV sedang, dan AV berat masing-masing 20 orang, dilakukan pemeriksaan ELISA untuk melihat kadar serum *mTORC1*. Pemeriksaan kadar *mTORC1* dengan metode ELISA menggunakan *Human RPTOR ELISA kit* dari *Fine Test*. (katalog no EH1810).

Di dalam protokol penelitian dilampirkan informasi Penjelasan Sebelum Persetujuan yang menerangkan tujuan dan manfaat penelitian serta alasan calon subyek diikutsertakan dalam penelitian. Setelah calon subyek penelitian menyatakan kesediannya ikut dalam penelitian, subyek penelitian menandatangani persetujuan (*informed consent*). Catatan medis yang berkaitan dengan penelitian bersifat rahasia.

Analisis Data

Karena terdapat tiga kelompok yang independen (kelompok AV ringan, AV sedang dan AV berat) dengan nilai positif yang bervariasi maka dilakukan uji statistik. Data dimasukkan ke dalam komputer dan dianalisis secara komputerisasi untuk dilakukan analisa statistik menggunakan *software* SPSS. Sebelum dilakukan pengujian pengaruh antara variabel bebas terhadap variabel terikat maka dilakukan uji normalitas untuk mengetahui apakah data mempunyai sebaran yang normal, dengan uji *Kosmogorov-Smirnov*. Bila berdistribusi normal dilakukan uji parametrik yaitu uji ANOVA. Bila distribusi tidak normal dilakukan transformasi. Tingkat signifikansi yang diterima apabila $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Subjek penelitian

Penelitian ini menggunakan subjek penelitian pasien AV perempuan sebanyak 60 orang yang memiliki beberapa karakteristik yaitu umur, pendidikan, dan pekerjaan. Adapun sebaran karakteristik subyek penelitian berdasarkan umur, pendidikan, pekerjaan dapat dilihat pada tabel 1.1. berikut ini :

Tabel 1.1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik subyek penelitian	AV ringan		AV sedang		AV berat		Total		p
	f	%	f	%	f	%	f	%	
Umur									
15-19 tahun	5	25	6	30	13	65	24	40	0,053
20-24 tahun	8	40	10	50	5	25	23	38,3	
25-30 tahun	7	35	4	20	2	10	13	21,7	
Pendidikan									
SMA/ sederajat	6	30	6	30	7	35	19	31,7	0,926
Perguruan Tinggi	14	70	14	70	13	65	41	68,3	
Pekerjaan									
Ibu rumah tangga	1	5	0	0	1	5	2	3,3	0,347
Pelajar	3	15	5	25	6	30	14	23,3	
Mahasiswi	5	25	9	45	10	50	24	40	
Swasta	8	40	5	25	2	10	15	25	
PNS	3	15	1	5	1	5	5	8,3	
Total	20	100	20	100	20	100	60	100	

Berdasarkan tabel 1.1 didapatkan bahwa subjek penelitian terbanyak pada kelompok umur 15 – 19 tahun (40%). Subyek penelitian dengan derajat AV berat terbanyak pada kelompok umur 15 – 19 tahun, derajat AV sedang dan derajat AV ringan keduanya ditemukan terbanyak pada kelompok umur 20 – 24 tahun. Nilai p yang didapat yaitu 0,053 artinya perbedaan ini tidak bermakna. Subjek penelitian dengan

tingkat pendidikan Perguruan Tinggi terbanyak didapatkan pada ketiga kelompok derajat AV ringan, derajat AV sedang dan derajat AV berat. Nilai p yang didapat yaitu 0,926 artinya perbedaan ini tidak bermakna. Subjek penelitian dengan pekerjaan mahasiswa terbanyak didapatkan pada kelompok AV sedang dan AV berat, sementara pekerjaan swasta terbanyak pada kelompok derajat AV ringan. Nilai p yang didapat yaitu 0,347 artinya perbedaan ini tidak bermakna.

Hubungan Kadar mTORC1 dengan Derajat Keparahan Akne vulgaris

Sebelum dilakukan pengujian hubungan antara variabel independen terhadap variabel dependen maka perlu dilakukan uji normalitas yang bertujuan untuk mengetahui apakah data mempunyai sebaran yang normal. Berdasarkan uji normalitas kadar serum mTORC1 diperoleh data tidak berdistribusi normal, maka data tersebut ditransformasi. Setelah data ditransformasi menggunakan Log 10, mTORC1 sudah memiliki sebaran yang normal. Selanjutnya variabel kadar mTORC1 dianalisis dengan uji parametrik.

Hasil penelitian yang memperlihatkan hubungan kadar mTORC1 dengan derajat keparahan akne vulgaris dapat dilihat pada tabel 1.2. Pada tabel 1.2 memperlihatkan rata-rata kadar mTORC1 meningkat dengan peningkatan derajat keparahan AV. Hasil uji statistik menunjukkan nilai $p < 0,05$, yang artinya bahwa terdapat hubungan yang bermakna dari rata-rata kadar mTORC1 dengan derajat keparahan AV.

Tabel 1.2. Hubungan Kadar mTORC1 dengan Derajat Keparahan Akne vulgaris

Derajat keparahan	n	mTORC1	p
		Rerata ± SD	
		(ng/ml)	
Ringan	20	0,06 ± 0,02	0,002
Sedang	20	0,09 ± 0,04	
Berat	20	0,55 ± 0,80	

Tabel 1.3. Uji *Post Hoc* Kadar mTORC1 dengan Derajat Keparahan Akne vulgaris

Derajat keparahan	Ringan	Sedang	Berat
Ringan	—	p = 1,000	p = 0,005
Sedang	p = 1,000	—	p = 0,009
Berat	p = 0,005	p = 0,009	—

Pada tabel 1.3 hasil uji *Post Hoc* Bonferroni menunjukkan bahwa kelompok yang berbeda signifikan adalah derajat AV ringan dengan AV berat dan derajat AV sedang dengan AV berat.

DISKUSI

Karakteristik Subyek Penelitian

Dalam penelitian yang dilakukan pada 60 subyek penelitian, didapatkan subyek penelitian secara keseluruhan terbanyak pada kelompok umur 15 – 19 tahun (40%). Subyek penelitian dengan derajat AV berat terbanyak pada kelompok umur 15 – 19 tahun (65%), derajat AV sedang dan AV ringan keduanya ditemukan terbanyak pada kelompok umur 20 – 24 tahun yaitu 50% dan 40%. Hasil uji statistik karakteristik subyek penelitian berdasarkan umur dengan derajat keparahan AV menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($p > 0,05$), yang berarti tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara kelompok derajat keparahan AV ringan, AV sedang dan AV berat berdasarkan umur, sehingga faktor umur tidak memengaruhi hasil penelitian.

Menurut Bhate dan William (2013) akne vulgaris mengenai hampir semua orang yang berusia antara 15 dan 17 tahun, dan 15%-20% adalah AV sedang sampai berat.²⁶ Akne vulgaris sedang-berat mengenai sekitar 20% usia muda dan beratnya AV berhubungan dengan kematangan pubertas. Akne vulgaris umumnya dimulai pada pubertas/prapubertas (12-15 tahun), mencapai puncak pada umur 14-19 tahun dengan puncak tingkat keparahan pada umur 17-21 tahun.²⁷

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Shen *et al.* (2012) yang menemukan prevalensi AV tertinggi pada umur 15-19 tahun yaitu 38%, diikuti umur 20-24 tahun 36%, hanya 1,4% subjek akne pada umur 40-44 tahun.²⁸ Penelitian oleh Fetoh *et al.* (2016) menemukan lebih dari sepertiga (38%) partisipan berumur 15-20 tahun, diikuti kelompok umur 20-25 tahun (35,5%), kelompok umur 25-30 tahun (10,2%), hanya 9,4% berumur ≤ 15 tahun dan 6,9% berumur lebih dari 30 tahun.²⁹

Tingkat pendidikan subyek penelitian yang paling banyak pada ketiga kelompok adalah pendidikan Perguruan Tinggi. Kelompok subyek penelitian dengan derajat AV ringan 70%, derajat AV sedang 70% dan subyek penelitian dengan derajat AV berat 65%. Penelitian oleh Fetoh *et al.* (2016) menemukan lebih dari sepertiga partisipan adalah mahasiswi (37,5%), 29,8% berpendidikan SMA dan hanya 6% yang berpendidikan SD.²⁹ Penelitian Ghodsi *et al.* (2009) memperlihatkan secara umum AV terjadi pada murid sekolah menengah atas (SMA) sebesar 93,3%.³⁰ Penelitian Zari dan Turkistani (2017) menunjukkan bahwa 35,8% pelajar mendapatkan pengobatan AV tanpa resep, yang paling mungkin adalah obat bebas.³¹ Akne vulgaris karena pemakaian kosmetik telah didiskusikan sebagai penyebab penting dari AV ringan dan sedang pada populasi perempuan.³²

Pekerjaan subyek penelitian terutama adalah mahasiswi, pada kelompok derajat AV berat 50% dan kelompok AV sedang 45%. Sedangkan pekerjaan kelompok derajat AV ringan adalah swasta (25%). Penelitian Fetoh *et al.* (2016) menemukan 56,2% mahasiswa mengalami AV.²⁹ Penelitian Ayudianti (2014) mendapatkan bahwa distribusi pekerjaan pasien baru AV adalah pelajar atau mahasiswa yaitu 39,1%.³³ Tuntutan untuk memiliki kulit wajah yang halus dan indah semakin meningkat, seiring dengan ketertarikan terhadap lawan jenis dan persaingan antar sesama kelompok perempuan menyebabkan tingginya tingkat kesadaran pasien terutama pelajar dan mahasiswa untuk segera mencari pengobatan.

Karakteristik subyek penelitian dari ketiga kelompok yang diteliti secara umum tidak berbeda secara bermakna sehingga tidak memengaruhi hasil penelitian atau tidak akan menimbulkan bias penelitian.

Hubungan Kadar mTORC1 dengan Derajat Keparahan Akne vulgaris

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 1.1, ditemukan rata-rata kadar mTORC1 meningkat dengan peningkatan derajat keparahan AV. Hal ini karena peningkatan aktivasi mTORC1 mampu mengaktifkan lipogenesis dan meningkatkan pertumbuhan dan proliferasi sel. *Mammalian target of rapamycin complex 1* secara positif mengatur aktifitas SREBP1, faktor transkripsi utama dari biosintesis lipid melalui pengendalian *lipin 1*.

Melalui fosforilasi dari *eukaryotic initiation factor 4-binding protein-1* (4E-BP1), aktivator *lipin1* dari SREBP1c dan S6K1, mTORC1 mampu meningkatkan sintesis protein dan lipid, begitu juga pertumbuhan dan proliferasi sel. Ini bisa diterjemahkan ke dalam proliferasi dari keratinosit akroinfundibulum dan peningkatan biosintesis lipid dalam kelenjar sebacea, yang menimbulkan seborea.²³

Mammalian target of rapamycin complex 1 mampu mengintegrasikan bermacam mediator intra dan ekstraseluler seperti faktor pertumbuhan (insulin, IGF-1), sinyal energi (glukosa, rasio AMP/ATP), dan mengontrol ketersediaan asam amino khususnya *leucine*. Setelah puncak pubertas, kadar serum IGF-1 menurun secara terus menerus. Selama pubertas, aktivasi mTORC1 yang dimediasi nutrisi *overlap* dengan aktivasi mTORC1 karena pubertas (androgen/IGF-1). Aktivasi berlebihan dari mTORC1 meningkatkan sekresi hormon androgen dan menambah sinyal mTORC1 dari folikel sebacea sehingga memacu epidemik AV.³⁴

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian oleh Agamia *et al.* (2016) yang menggunakan sampel darah dan biopsi jaringan dari lesi pasien AV dan kontrol sehat untuk mendeteksi imunohistokimia mTORC1 dan mengukur serum IGF-1, menemukan perbedaan signifikan ekspresi mTORC1 antara kelompok pasien AV dan kontrol sehat. *Mammalian target of rapamycin complex 1* lebih diekspresikan di sitoplasma dan inti pada pasien dengan serum IGF-1 yang tinggi. Pasien dengan konsumsi diet kandungan glikemik tinggi dan pasien dengan AV berat secara signifikan berhubungan dengan ekspresi mTORC1 sitoplasma yang lebih tinggi.²¹

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Monfrecola *et al.* (2015) yang menemukan bahwa pertambahan mTORC1 tidak berhubungan dengan beratnya AV. Penelitian Monfrecola *et al.* (2015) pada biopsi kulit dari lesi AV dan non lesi dari 10 pasien AV dan 10 kontrol sehat, menemukan ekspresi gen mTORC1 secara signifikan meningkat pada pasien AV baik pada lesi maupun non lesi dibandingkan kontrol sehat. Namun perbedaan peningkatan mTORC1 tidak signifikan dibandingkan antara lesi AV dan non lesi pada pasien AV.²³ *Phospho-S6 ribosomal protein* (PS6K1) meningkat pada lesi maupun non lesi pasien AV dibandingkan kontrol sehat. *Phospho-S6 ribosomal protein* adalah salah satu regulator *downstream* yang diaktifasi oleh mTORC1 dan mengontrol aktifitas SREBP1, yang selanjutnya meningkatkan lesi AV. *Phospho-S6 ribosomal protein* meningkat dalam kulit AV secara tidak langsung memungkinkan aktivasi mTORC1 dan dapat meningkatkan lipogenesis.²³

Hasil uji statistik menunjukkan terdapat hubungan yang bermakna dari rata-rata kadar mTORC1 dengan derajat keparahan AV ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini menunjukkan hubungan peningkatan mTORC1 dengan peningkatan derajat keparahan AV, maka mengurangi sinyal mTORC1 yang meningkat memungkinkan sebagai pengembangan strategi baru untuk pengobatan AV yang efektif. Dalam terapi AV, jalur yang menstimulasi aktivasi mTORC1 perlu diturunkan, baik melalui obat-obatan atau intervensi diet. Terapi nutrisi perlu dipertimbangkan dalam terapi AV selain terapi farmakologis karena sinyal mTORC1 mengontrol respon seluler terhadap ketersediaan nutrisi.

Isotretinoin menghambat mTORC1 melalui peningkatan sinyal FoxO-sestrin3-AMPK dan menurunkan sinyal *IGF-1-PI3K/Akt*. Sinyal mTORC1 yang hiperaktif dilemahkan oleh isotretinoin menyebabkan *autophagy* dan/atau apoptosis sebosit dengan penurunan sinyal SREBP1c. Metformin mengaktifasi AMPK menghasilkan inhibisi mTORC1. Metformin menghambat translokasi mTORC1 inaktif ke *Rheb* pada kompartemen membran lisosom, yang selanjutnya melemahkan sinyal mTORC1.¹⁹

Tetrasiklin, eritromisin dan makrolid lain melemahkan aktivasi mTORC1 dan menurunkan sinyal TNF- α . Eritromisin melemahkan aktifitas ERK1/2, selanjutnya meningkatkan aktifitas TSC2, yang menghambat mTORC1. Asam azeleat menurunkan mTORC1 melalui hambatan respirasi mitokondria, meningkatkan ROS seluler dan FoxO1. Anti androgen melemahkan mTORC1 melalui penekanan sinyal Akt/TSC2 yang dimediasi mTORC2. Jadi, cara kerja obat anti AV dalam pengobatan klinis dapat dijelaskan melalui penurunan mTORC1 langsung atau tidak langsung.³⁴

Perkembangan obat di masa depan dibutuhkan karena obat anti AV yang efektif secara terapi menunjukkan efek samping yang berat seperti efek teratogenik dari isotretinoin sistemik. Resveratrol yang berasal dari buah anggur dan anggur merah adalah suatu *polyphenolic flavonoid* yang menurunkan sinyal mTORC1. Resveratrol dalam suatu penelitian secara signifikan menurunkan jumlah mikrokomedo, papul, dan pustul. Resveratrol menghambat pertumbuhan *P. acnes* dan eradikasi pembentukan biofilm *P. acnes*. *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCC), *catechin* utama teh hijau, sebagai komponen aktif ekstrak teh hijau yang memiliki efek anti inflamasi dan anti proliferasi. *Epigallocatechin-3-gallate* berfungsi sebagai inhibitor mTORC1. *Epigallocatechin-3-gallate* diharapkan sebagai terapi dari sebosit karena mTORC1 mengatur aktifitas dan ekspresi dari SREBP1. Aktivasi AMPK yang dimediasi EGCC merupakan mekanisme lain inhibitor sinyal mTORC1-SREBP1, yang menjelaskan penekanan lipogenesis.^{35,36}

Generasi baru inhibitor mTORC, disebut *mTORkinib*, telah dikembangkan untuk menghambat mTORC1 secara lebih efektif. Inhibitor mTORC1 *torin1* menginduksi penghentian siklus sel dan menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel lebih efisien dari rapamycin. Inhibitor mTORC1 dengan berat molekul rendah diaplikasikan dengan dosis submaksimal memiliki potensi sebagai obat sintetik baru anti AV yang melemahkan peningkatan sinyal mTORC1.³⁷

Sinyal inflamasi dan nutrisi diintegrasikan oleh mTORC1. Pada AV, tidak hanya sebosit dan keratinosit akroinfundibular yang secara metabolik teraktifasi berlebihan tapi juga sel imun menciptakan lingkungan peradangan AV. Terbuktinya hubungan peningkatan mTORC1 dengan derajat keparahan AV menambah pemahaman patogenesis AV, yang menawarkan strategi terapi nutrisi dan farmakologis secara sinergis. Terapi nutrisi dan farmakologis pada AV tampaknya memiliki cara kerja dengan menurunkan sinyal mTORC1. Komponen diet alami yang menghambat mTORC1 dan aktivasi inflamasi adalah bahan yang menjanjikan untuk penyembuhan AV.

Terapi nutrisi yang ideal untuk AV harus berupa diet tipe paleolitik yang mengandung lebih sedikit karbohidrat insulinotropik dan mengurangi konsumsi susu dan produk susu untuk melemahkan aktifitas mTORC1 dan sebaiknya mengurangi asupan prekursor androgen yang tidak diinginkan yang ada dalam susu dan produk susu. Diet tipe paleolitik mengandung inhibitor alami mTORC1 yang berasal dari tumbuhan (EGCC, resveratrol dan polifenol alami lainnya) melalui konsumsi tinggi sayuran, buah dan teh hijau. Diet paleolitik meningkatkan konsumsi protein ikan, yang memiliki indeks insulinemia lebih rendah daripada protein susu dan merupakan sumber anti inflamasi asam lemak omega-3 yang menguntungkan.³⁷

KESIMPULAN

Kadar serum mTORC1 berhubungan dengan derajat keparahan akne vulgaris, dimana semakin meningkat derajat keparahan akne vulgaris maka kadar mTORC1 semakin meningkat.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian pada populasi yang memiliki pola gaya hidup yang hampir sama seperti pola diet, pola tidur dan hormonal.

ACNOWLEDGEMENT

Penelitian ini tidak disponsori oleh pihak manapun. Kami mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Klinik Prodia Jambi yang telah membantu pengambilan sampel dan penyimpanan sampel. Terimakasih kepada Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Terimakasih kepada dosen statistik Program S3 Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang yang telah memberikan waktunya untuk diskusi mengenai analisis statistik penelitian, serta semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Karimkhani C, Dellavalle RP, Coffeng LE, Flohr C, Hay RJ, Langan SM et al., 2017. Global skin disease morbidity and mortality an update from the Global Burden of Disease study 2013. *JAMA Dermatol* 153 (5): 405-12.
2. Vos T, Abojabir AA, Abbafati C, Abbas KM, Abate KH, Abd-Allah F et al., 2017. Global, regional and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2016. *Lancet* 390: 1211-59.
3. Wilmer EN, Gustafson CJ, Ahn CS, Davis SA, Feldman SR, Huang WW, 2014. Most common dermatologic conditions encountered by dermatologists and nondermatologists. *Cutis* 94(6): 285-292
4. Adityan B, Thappa DM, 2009. Profile of acne vulgaris-A hospital-based study from South India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 75: 272-8.
5. Sitohang IBS, 2011. Patogenesis terkini Akne vulgaris. *MDVI* 38: 112-52.
6. Angrenni O, Simanungkalit R, Jusuf NK, 2014. Studi retrospektif pasien akne vulgaris di RSUP H. Adam Malik Medan periode tahun 2010-2012. *Kongres Nasional XIV Perdoski, Bandung*
7. Tuchayi SM, Makrantonaki E, Ganceviciene R, Dessinoti C, Feldman SR, Zouboulis CS, 2015. Acne vulgaris. *Nature Reviews. Disease Primers* 1:1-20
8. Gollnick HP, Finlay AY, Shear N, 2008. Global Alliance to Improve Outcomes in Acne. Can we define acne as a chronic disease ? If so, how and when ? *Am J Clin Dermatol* 9: 279-284.
9. Archer CB, Cohen SN, Baron SE, 2012. Guidance on the diagnosis and clinical management of acne. *Clinical and Experimental Dermatology* 37(1): 1-6.
10. Valeyrie-Allanore L, Sassolas B, Roujeau JC, 2007. Drug induced skin, nail, and hair disorders. *Drug Saf* 30: 1011-1030

11. Ju Q, Fimmel S, Hinz N, Stahlmann R, Xia L, Zouboulis CC, 2011. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters sebaceous gland cell differentiation in vitro. *Exp. Dermatol* 20: 320-325
12. Melnik BC, John SM, Schmitz G, 2011. Over-stimulation of insulin/IGF-1 signaling by western diet may promote diseases of civilization: lesson learnt from Laron syndrome. *Nutr Metab (Lond.)*: 8-41
13. Mahmood SN, Bowe DP, 2014. Diet and acne update: carbohydrates emerge as the main culprit. *J Drugs Dermatol* 13: 428-435
14. Wolkenstein P, Misery L, Amici JM et al., 2015. Smoking and dietary factors associated to moderate-to-severe acne in French adolescents and young adults: results of a survey using a representative sample. *Dermatology* 230:34-39
15. Albuquerque RG, Rocha MA, Bagatin E, Tufik S, Andersen ML, 2014. Could adult female acne be associated with modern life? *Arch. Dermatol. Res.* 306: 683-688
16. Gollnick HPM, 2015. From new findings in acne pathogenesis to new approaches in treatment. *JEADV* 29 (Suppl.5):1-7.
17. Zaenglein AL, Graber EM, Thiboutot DM, 2012. Acne vulgaris and acneiform eruptions. In (Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K, eds) *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. 8th ed, vol 1. New York: McGraw-Hill, pp 897-917
18. Smith RN, Mann NJ, Braue A, Makelainen H, Varigos G, 2007. The effect of a high-protein, low glycaemic-load diet versus a conventional, high glycaemic-load diet on biochemical parameters associated with acne vulgaris: a randomized, investigator-masked, controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 57(2): 247-256
19. Melnik BC, 2012. Dietary intervention in acne. *Dermato-Endocrinology* 4(1):20-32.
20. Melnik BC, Zouboulis CC, 2013. Potential role of FoxO1 and mTORC1 in the pathogenesis of Western diet-induced acne. *Exp Dermatology* 22:311-5
21. Agamia NF, Abdallah DM, Sorour O, Mourad B, Younan DN, 2016. Skin expression of mammalian target of rapamycin and forkhead box transcription factor O1, and serum insulin-like growth factor-1 in patients with acne vulgaris and their relationship with diet. *Br J Dermatol.* 174:1299-1307
22. Danby FW, 2015. *Acne Causes and Practical Management*. Hoboken, NJ:Wiley Blackwell :31-53
23. Monfrecola G, Lembo S, Caiazza G et al., 2015. Mechanistic target of rapamycin (mTOR) expression is increased in acne patients' skin. *Experimental Dermatology* 25:151-64
24. Lehmann H, Andrews J, Holloway V, Goodman S, 2002. Acne therapy: a methodologic review. *J Am Acad Dermatol* 47:231-40.
25. Kurokawa I, Danby FW, Ju Q et al., 2009. New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. *Exp Dermatol* 18:821-32
26. Bhate K, Williams HC, 2012. Epidemiology of acne vulgaris. *British Journal of Dermatology* 168: 474-85.
27. Bernadette I, 2018. Patogenesis Akne vulgaris. Dalam (Wasitaatmadja SM, eds) *Akne*. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal. 1-8
28. Shen Y, Wang T, Zhou C, Wang X, Ding X, Tian S, et al. 2012. Prevalence of acne vulgaris in Chinese adolescents and adults : A Community-based study of 17,345 subjects in six cities. *Acta Derm Venereol* 92: 40-4.

29. Fetoh NMA, Alghamdi RS, Albarqi WA, Asiri SAM, Alruwaili NQ, 2016. Epidemiology of acne vulgaris in adolescent and young females in Riyadh city, Kingdom of Saudi Arabia. *Int J Adv Res* 4(12) : 589-98.
30. Ghodsi SZ, Orawa H, Zouboulis CC, 2009. Prevalence, severity, and severity risk factors of acne in high school pupils: a community-based study. *J Invest Dermatol* 129: 2136-41
31. Zari S, Turkistani A, 2017. Acne vulgaris in Jeddah Medical Students: prevalence, severity, self-report, and treatment practices. *J of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*. 7:67-76
32. Khunger N, Kumar C, 2012. A clinic-epidemiological study of adult acne: is it different from adolescent acne ? *Indian J of Dermatology Venereology and Leprology* 78(3): 336-41
33. Ayudianti P, Indramaya DM, 2014. Studi retrospektif : faktor pencetus Akne vulgaris. *Periodical of Dermatology and Venereology* 26(1): 41-7.
34. Melnik BC, 2013. Nutrient and growth factor signalling in acne sensed by FoxO1 and mTORC1. *World Clin Dermatol* 1(1):52-88
35. Melnik BC, 2016. Acne vulgaris: an inflammasopathy of the sebaceous follicle induced by deviated FoxO1/mTORC1 signalling. *Br J Dermatol* 174: 1179-1193
36. Melnik BC, 2016. Pro-inflammatory sebocyte growth and survival signalling in acne vulgaris are reversed by pro-apoptotic isotretinoin signalling. *Exp Dermatol* 25:676-677
37. Melnik BC, 2013. The role of mTORC1 in acne pathogenesis and treatment. *Expert Rev Dermatol* 8(6):617-22.

Kode Makalah : EngBio 011**The Effects of Combination of Simvastatin and Purple Sweet Potato Extract Capsules on Blood Lipid Profile and Oxidative Stress in Dyslipidemic Patients****I Made Jawi¹, I W.P Sutirta-Yasa²**¹Department of Pharmacology and Therapy, Faculty of Medicine,
Udayana University Denpasar, Indonesia.²Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine,
Udayana University, Denpasar, Indonesia

Correspondence author : I Made Jawi, email : made_jawi@yahoo.co.id

ABSTRACT

Solid preparations of purple sweet potato extract have been proven to improve the blood lipid profile of rats that given high cholesterol diet, but the clinical effects are unknown. The purpose of this study is to prove that purple sweet potato tuber extract capsules at a dose of 2 times 400 mg can improve the blood lipid profile of dyslipidemic patients compared to the standard drug simvastatin. This research is a limited clinical trial study with a randomized pre- & post -test control group design, with research subjects being mild to moderate dyslipidemic patients. Dyslipidemic patients who met the inclusion criteria were divided into 2 groups: control and treatment of 10 people each. The control group was given simvastatin for 4 weeks while the treatment group was given simvastatin and purple sweet potato tuber extract tablets at a dose of 2 times 400 mg/day for 4 weeks. Variables observed were lipid profile, MDA and SOD (Pre and post-test). The data obtained were analyzed using paired t test for pre- and post-test data for each group, and t test for pre- and post-test between groups. The results show a better improvement in lipid profile in patients given combination drugs, especially lower LDL and MDA levels, and high SOD activity ($p < 0.05$). From these findings, we conclude that the combination of simvastatin with purple sweet potato tuber extract capsules is better than simvastatin in improving lipid profile and attenuating oxidative stress of dyslipidemic patients.

Keywords: Dyslipidemia, lipid profile, oxidative stress, purple sweet potato extract capsules

Introduction

Purple sweet potato is one of the plants that has been studied since 2008 until now. In studies for 10 years, purple sweet potato tuber extract proved to be beneficial as an antioxidant both in animals and in humans^{1,2,3,4}. The disadvantage of liquid preparations is that they are not stable for a long time, so that alternatives are needed to improve the stability of the preparations. Research that has been done on animals has proven that purple sweet potato extract, in the form of tablet preparations, can reduce blood cholesterol levels and as an antioxidant in mice⁵. Tablets or capsules are a solid dosage form that is relatively more physically and chemically stable than liquid preparations. A study has proved that tablets containing various active ingredients from plants can last for three months and are still physically and chemically stable⁶. Drugs in the solid dosage form (tablets or capsules) can be regulated relatively of its active ingredients, with a small volume, can be packaged properly, easy to swallow and practical in transportation and storage⁷. To be applied in humans, clinical trials need to be carried out to prove whether purple sweet potato tuber extract capsules have hypolipidemic and antioxidant properties in dyslipidemic patients, which is better or not than simvastatin alone. Simvastatin is a drug that belongs to the statin class and is a first-line drug for hypercholesterolemia therapy, with a mechanism of action inhibiting the action of the HMG-CoA reductase enzyme which is a precursor of cholesterol synthesis.

RESEARCH METHOD

Research designs of this limited clinical trial was pre and post-test control group design. The subjects of the study were patients with mild to moderate adult dyslipidemia with inclusion criteria: age of 30-70 years, lipid profile abnormalities or dyslipidemia as evidenced by laboratory tests include levels of total cholesterol above 200 mg/dl or there are other lipid profile abnormalities such as LDL levels above 100 mg/dl or triglycerides above 150 g/dl, even though total cholesterol is below 200 mg/dl for both men and women. Exclusion criteria were patients who showed certain symptoms of illness, were known to use continuous drugs such as hypertension patients, diabetes mellitus, psychiatric disorders, alcoholic drinkers, or patients who showed analysis of high SGPT/SGOT levels or abnormal kidney function. Patients who met the inclusion criteria were divided into 2 groups constitutively according to arrival, namely as the combination group (group 1) or as simvastatin group (group 2). Group 1 was given a combination of purple sweet potato tuber extract capsules at a dose of 2 times 400 mg / day with simvastatin 20 mg/day at night. Group 2 was given only simvastatin alone at a dose of 20 mg/day. The duration of treatment is 4 weeks. After 4 weeks of treatment, laboratory tests such as lipid profile, MDA and SOD activated were conducted. The data obtained were analyzed by using paired t test and group t test with a significance level of 95%.

Purple sweet potato tuber extract capsules are made with the following procedure. A thick extract of purple sweet potato tuber mixed with lactosum in a blender in the ratio of 2 parts extract and 1 part of lactosum. Addition of lactosum was done until a solid dry mixture was achieved. The solid dry mixture was cut according to the dose of the capsule designed. This study designed a 400mg capsule, then 40gram thick extract plus 20gram lactosum was mixed until solid then cut into 100 parts. One part of the piece was inserted into capsule no 0, thus accommodating the establishment of dry extracts of the extract content as many as 400 mg/ capsule. The ready-made capsules are weighed again to ensure that they were at the same weight.

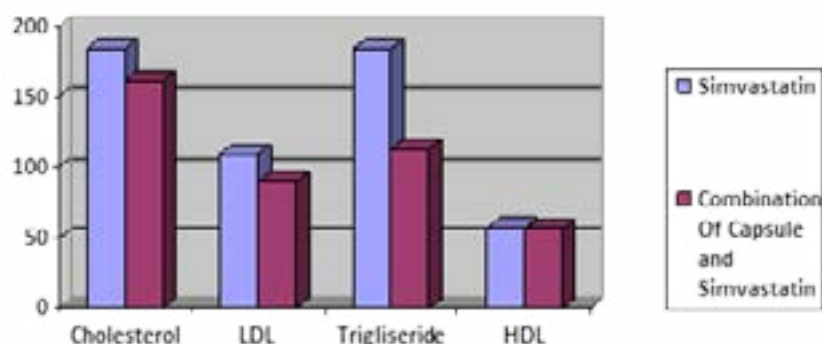
RESULTS

Results of post-test examination of lipid profile in patients given simvastatin showed a significant improvement in lipid profile compared to pre-test examinations ($p < 0.05$). The results of the post-test examination in patients who were given a combination of purple sweet potato tuber extract capsules and simvastatin to be a greater reduction in the lipid profile variable than patients who were given single simvastatin. The difference in decrease in lipid profiles between the two groups of patients is presented in graph 1.

The results of examining blood MDA levels and blood SOD activity of dyslipidemia patients who were given standard treatment with simvastatin 20 mg / day showed a decrease in blood MDA levels and a significant increase in SOD activity ($p < 0.05$) compared with MDA pre test levels.

In the group that was given a combination of the extracts of purple sweet potato capsule with the dose of 2 x 400 mg/day and simvastatin dose of 20 mg/day there was also a significant decrease in MDA levels and an increase in SOD activity compared with the pre-test ($p < 0.05$). Comparison of decreasing MDA and increasing SOD activity in the two groups is presented in graphs 2 and 3. The graph shows that the combination (extract with simvastatin) lower MDA levels compared to the simvastatin group and differ significantly ($p < 0.05$).

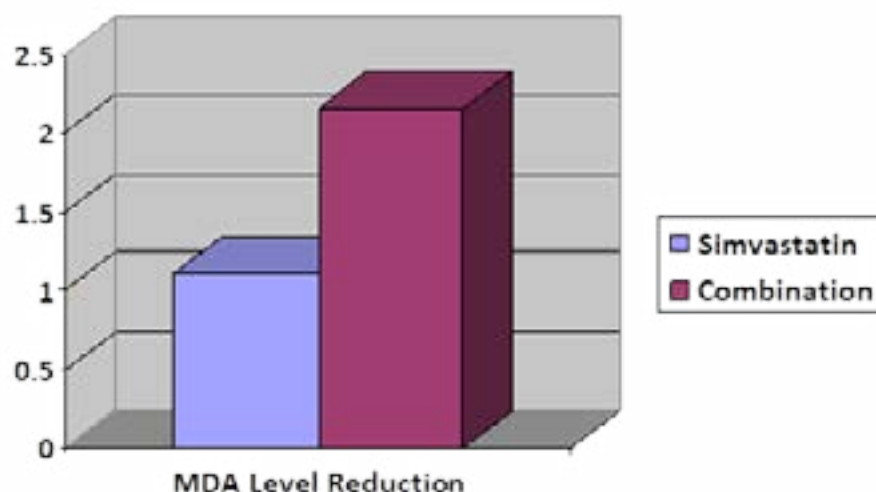
The same thing happened with different SOD activities. Combination administration increased SOD more than single simvastatin ($p < 0.05$)



Graph 1.

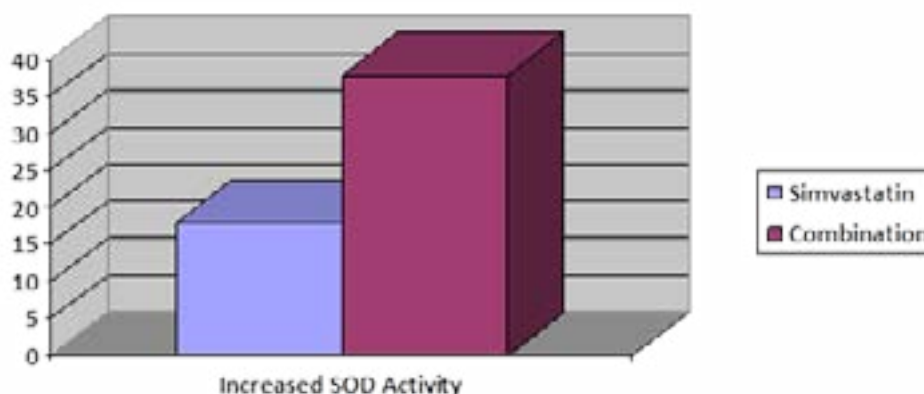
Comparison of Research Variables Between the Two Patient Groups

As presented in Figure 1, that a decrease in cholesterol, LDL and triglycerides is greater in patients who are given a combination of 2 x 400 mg sweet potato extract capsules and 20 mg daily simvastatin dose. Whereas HDL did not change in each group. The results of the statistics test, show that the difference in triglyceride reduction between the two groups was significant ($p < 0.05$), while the difference in cholesterol and LDL was not significant ($p > 0.05$). The results of this study indicate that the administration of purple sweet potato tuber extract capsules is better for improving the lipid profile and prevent oxidative stress, than simvastatin alone.



Graph 2

Comparison of Reduction in Blood MDA Level Between Simvastatin Group and Combination of Extract Capsule of Purple potato and Simvastatin



Graph 3

Comparison of Increase in SOD activity in the Blood Between Simvastatin Group and Combination Group

DISCUSSION

The decrease of lipid profile in patients that given a combination of purple sweet potato tuber extract capsules with simvastatin was greater than in patients given simvastatin only. Statistically this difference was significant, especially the decrease of triglycerides and LDL ($p < 0.05$). Simvastatin is one of the drugs used to improve the lipid profile of dyslipidemic patients by its mechanism of action as 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors (HMG CoA reductase inhibitors) through its competitive inhibition in the formation of L-mevalonate⁸. The results of this study indicate that simvastatin reduces cholesterol and also reduces LDL. The decrease of LDL due to simvastatin can be potentially related to the increase of LDL receptors on hepatocyte cells, resulting in an increase of LDL uptake in the blood which causes a decrease in the blood level of LDL⁸.

In this study, simvastatin administration of 20 mg/day reduced cholesterol and LDL but did not increase HDL and did not affect triglyceride levels. The combination of purple sweet potato extract capsules and simvastatin in this study showed decrease of cholesterol and LDL greater than a single simvastatin. The results showed that the flavonoids or anthocyanin of purple sweet potato to improve lipid profile greatly. Purple sweet potato extract contains quite high flavonoids or anthocyanins⁹, which has been proven that flavonoids from certain plants can improve lipid profile in mice through inhibition of FAS (fatty acid synthase), thus improving lipid profile^{10,11}. Although the types of flavonoids from purple sweet potato tuber extract are not same, there is a possibility that their effects are similar. It is suspected that flavonoids affect the transcription factor SREBP-2, which plays a role in increasing LDL receptor expression and regulating 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, so that flavonoids will affect the lipid profile¹². Flavonoids from some plants can also improve lipid profile through PPAR α activation which is a transcription factor for several enzymes that regulate lipid metabolism in the liver and muscles, resulting in an improvement in lipid profile, especially a decrease in LDL¹³. The results of this study indicate that the combination of simvastatin with purple sweet potato tuber extract capsules further enhances the effect of simvastatin, especially in reducing total cholesterol and reducing

LDL. Capsules containing purple sweet potato tuber extract will increase the inhibitory effect of simvastatin on the HMG-Co-A reductase enzyme so that the effect of reducing total cholesterol is more pronounced. The effect of LDL reduction is also greater in the combination of simvastatin with purple sweet potato tuber extract capsules because of the potentiation effect in increasing LDL receptors so that the cleansing effect of LDL increases, which causes a marked decrease in LDL.

MDA and SOD examination results turned out to show a decrease in MDA and a greater increase in SOD in patients given a combination of purple sweet potato tuber extract capsules with simvastatin. This happens because the flavonoids contained in the extract are indeed antioxidants with various mechanisms^{14,15} so that the decrease in MDA and the increase in SOD activity are more pronounced.

CONCLUSION

The combination of purple sweet potato extract capsule with simvastatin is better than simvastatin in improving the lipid profiles and attenuating oxidative stress of dyslipidemic patients.

REFERENCES

1. Jawi I M, Suprpta D N, Dwi S U, Wiwiek I. 2008. Ubi Jalar Ungu Menurunkan Kadar MDA dalam Darah dan Hati Mencit setelah Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Veteriner Jurnal Kedokteran Hewan Indonesia*. 9(2):65-72.
2. Jawi I M dan Budiasa K, 2011. Ekstrak air umbi ubi jalar ungu menurunkan total kolesterol serta meningkatkan total antioksidan pada darah kelinci. *Jurnal Veteriner, Jurnal Kedokteran Hewan Indonesia*. 12 (2); 120-125.
3. Jawi I M, Indrayani W, I G K Arijana I G K, Subawa A A N, Suprpta D N. 2015. Aqueous Extract of Purple Sweet Potato Increased SOD-2 and SOD-3 on Human Umbilical Vein Endothelial Cell in Vitro. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 6(2):103-110
4. Jawi I M, Sutirta-Yasa I W P, Subawa A A N, Suprpta D N. 2015. Comparison of Potential Antihypertensive and Antioxidant between Aqueous Extract of Purple Sweet Potato Tuber and Captopril in Hypertensive Patients. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5(14):128-133.
5. Jawi I M, Sutirta Yasa I W P, Astawa I P. 2017. Perbandingan efek sediaan cair dengan tablet ekstrak air umbi ubi jalar ungu terhadap profil lipid, kadar MDA dan SOD darah tikus yang diberikan pakan tinggi kolesterol. *Penelitian Litbang FK 2017 (Belum publikasi)???*
6. Kushwaha, S K; Kori M L. 2014. Development and Evaluation of Polyherbal Tablet from Some Hepatoprotective Herbs. *Sch. Acad. J. Pharm.*, 2014; 3(3): 321-326
7. Harbir K. 2012. Processing Technologies for Pharmaceutical Tablets: A Review. *International Research Journal of Pharmacy*. 3(7):20-23
8. McFarland A J Z, Anoopkumar-Dukie S, Arora D S, Grant G D, McDermott C M, Perkins A V, and Davey A K. 2014. Molecular Mechanisms Underlying the Effects of Statins in the Central Nervous System. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 20607-20637.
9. Suprpta, D.N., dkk 2004. Kajian Aspek Pembibitan, Budidaya dan Pemanfaatan umbi-umbian sebagai sumber pangan alternatif. Laporan Hasil Penelitian. Kerjasama BAPEDA Propinsi Bali dengan Fakultas Pertanian UNUD.

10. Bao L, Hu L, Zhang Y, Wang Y. 2016. Hypolipidemic effects of flavonoids extracted from *Lomatogonium rotatum*. *Exp Ther Med*.11(4): 1417–1424
11. Zeka K, Ruparella K, Arroo R R J, Budriesi R, and Matteo Micucci M.2017. Flavonoids and Their Metabolites: Prevention in Cardiovascular Diseases and Diabetes. *Diseases*. 5(3): 19-37.
12. Leopoldini, M.; Malaj, N.; Toscano, M.; Sindona, G.; Russo, N. 2010. On the inhibitor effects of bergamot juice flavonoids binding to the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR) enzyme. *J. Agric. Food Chem*. 58, 10768–10773.
13. Rigano D, Sirignano C, Taglialatela-Scafati O. 2017. The Potensial of Natural Product for Targeting PPAR α . *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 7(4):427-438.
14. Kangl H, Yeon-Gil K and Koppula S. 2014. Protective Effect of Purple Sweet Potato (*Ipomoea batatas* Linn, Convolvulaceae) on Neuroinflammatory Responses in Lipopolysaccharide-Stimulated Microglial Cells. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*; 13 (8): 1257-1263
15. Tokusoglu O, Yildirim Z. 2012. Effect of Cooking Methodes on the Anthocyanins Level and Antioxidant Activity of Local Turkish Sweet Potato [*Ipomoea batatas* (L.) LAM] Cultivar Hatay Kirmizi: Bolling, Steaming and Frying Effects. *Turkish Journal of Field Crops*, 17(1):87-90

Kode Makalah : IndBio 012**PENGARUH SEL PUNCA MESENKIMAL PADA SCAFFOLD PRIMO
TERHADAP KADAR MMP-8 YANG DILAKUKAN LAMINOPLASTI****RONI EKA SAHPUTRA**Divisi Orthopedi Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Andalas / RSUP Dr. M Djamil, Padang,
Sumatera Barat, Indonesia**ABSTRAK**

Kelainan pada tulang belakang khususnya stenosis spinal pada saat ini merupakan masalah yang sering terjadi dengan kisaran 65% dari seluruh populasi yang mengalami nyeri pinggang sehingga menyebabkan penurunan kualitas hidup. Seiring perkembangannya, berbagai metode Laminoplasti telah berkembang hingga penggunaan biomaterial sebagai pengganti *autograft* yang dikombinasikan dengan sel punca mesenkimal yang diduga akan memberikan hasil lebih baik dalam regenerasi jaringan. Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan disain *post test content group only*, dimana menggunakan 16 ekor kelinci sebagai sampel yang akan dibagi kedalam 4 group dan *scaffold* 3 dimensi dengan bahan polimer murni yang dilakukan dari Mei 2017 hingga Juli 2017. Pada Penelitian didapatkan kecenderungan peningkatan kadar MMP-8 dari perlakuan satu ke perlakuan berikutnya yang secara statistik peningkatan tersebut bermakna ($p < 0.05$). Dan dari penelitian ini menunjukkan bahwa reaksi jaringan menunjukkan peningkatan kadar MMP-8 dan *scaffold* dapat menjadi media sel punca untuk hidup sehingga proses differensiasi menjadi osteoblas menjadi optimal.

Kata kunci : Laminoplasti, *scaffold*, Sel Punca Mesenkimal, MMP-8**Latar Belakang**

Usia Harapan Hidup (UHH), diseluruh dunia mengalami kenaikan dari usia 67 tahun pada tahun 2009 menjadi 71 tahun pada tahun 2013. Indonesia diprediksi akan mengalami peningkatan populasi orang tua pada tahun 2025 sebanyak 301 % dari populasi orang tua pada tahun 1985.¹ Dengan bertambahnya populasi orang tua dapat dipastikan bahwa penyakit degeneratif akibat penuaan akan meningkat. Salah satu sistem organ tubuh yang terkena adalah sistem muskuloskeletal. Kolomna vertebralis merupakan salah satu yang terkena akibat penyakit degeneratif tulang belakang.

Kelainan pada tulang belakang pada saat ini merupakan masalah yang sering terjadi dengan insiden meningkat dari tahun ke tahun. Sekitar 65% dari seluruh populasi mengalami nyeri pinggang. Keadaan ini akan menyebabkan kualitas hidup menurun dan pengeluaran yang banyak sekali. Bagian yang sering terkena adalah pada tulang leher dan pinggang. Patologi dasar dari nyeri dapat berupa kelainan di dalam ataupun di luar tulang belakang. Tiap tahun 16,6% populasi dewasa mengeluh rasa tidak enak di leher, bahkan 0,6% berlanjut menjadi nyeri leher yang berat. Insiden nyeri leher meningkat dengan bertambahnya usia. Lebih sering mengenai pria daripada wanita dengan perbandingan 1,67:1.²

Tulang belakang merupakan struktur vital yang menyangga tubuh manusia yang merupakan integrasi dari dari tulang, ligamen, otot, saraf, dan pembuluh darah. Tulang-tulang ini tersusun sedemikian rupa dengan celah-celah yang merupakan tempat lewatnya saraf tulang belakang. Berbagai hal dapat menyebabkan celah ini menyempit (stenosis) sehingga menimbulkan jepitan bahkan cedera saraf sehingga menimbulkan morbiditas dan disabilitas dari kesemutan, baal, kelemahan otot, kelumpuhan sampai gangguan fungsi miksi dan defekasi.³

Stenosis spinal ini merupakan kasus terbanyak dalam proses degeneratif di tulang belakang seiring dengan bertambahnya usia. Stenosis dapat terjadi pada daerah central, lateral recess, ataupun di foramen tempat keluarnya radiks dari medulla spinalis.³ Berbagai upaya untuk membebaskan jepitan saraf telah banyak dilakukan dengan dekompresi, baik dengan pendekatan anterior maupun posterior. Pada stenosis yang multiple daerah cervical, teknik dekompresi dengan laminektomi saja tidak cukup bahkan sering menimbulkan kifosis karena berkurangnya kekuatan otot untuk memegang tulang-tulang cervical dan berkurangnya pergerakan leher akibat fusi. Namun dengan teknik laminoplasti, dekompresi dapat dicapai dengan tetap mempertahankan pergerakan leher.⁴

Laminoplasti merupakan teknik pembedahan untuk dekompresi medula spinalis dan neuroforamen dengan melakukan rekonstruksi arkus lamina melalui sisi posterior vertebra. Berbagai jenis teknik laminoplasti telah dilakukan. Pada teknik *Hirabayasi*, dilakukan rekonstruksi untuk membuat engsel dimana lamina diangkat tapi tidak dilepaskan. Teknik rekonstruksi lamina atau laminoplasti dengan mengangkat lamina pada satu sisi bertujuan untuk melepaskan penekanan pada medula spinalis (dekompresi).⁵ Teknik laminoplasti *Kurokawa* merupakan teknik rekonstruksi yang lebih simetris dimana celah yang dibuat berada di tengah-tengah dengan membelah prosesus spinosus dan membuat dua hinge di hemilamina kiri dan kanan (dua-pintu).⁶

Pada perkembangannya, beberapa teknik telah diusulkan untuk mengisi celah yang terbentuk dan melindungi medula spinalis, diantaranya dengan *autograft* prosesus spinosus yang difiksasi dengan kawat, *autograft* dari krista iliaka atau costae. *Autograft* menjadi standar emas dalam hal merangsang tercapainya osteogenesis, osteoinduktif, dan juga sebagai osteokonduktif. Namun dalam penggunaan *autograft* juga membawa morbiditas yang juga sangat mengganggu pada pasien. Kecukupan graft yang akan diambil terbatas juga morbiditas pada tempat pengambilan graft dan resiko terjadinya infeksi, sehingga ini yang menyebabkan keputusan beralih ke pilihan lain. Selanjutnya *allograft* telah digunakan namun efek osteoinduktif sangat minimal, ketersediaan terbatas dan dalam perkembangan terakhir mulai memikirkan dalam bentuk yang lain yaitu biomaterial seperti hidroksiapatit atau keramik. Ada yang fiksasi dengan benang, kawat, dan juga ada dengan pemakaian mini implant pada lamina yang dilakukan laminoplasti.⁷

Rekonstruksi dari tulang dan tulang rawan tidak dapat dilepaskan dari penggunaan bahan-bahan biomaterial, *autograft* atau *allograft* yang merupakan komponen dari rekayasa jaringan. Rekayasa jaringan tulang dan tulang rawan seperti halnya rekayasa jaringan lainnya mengupayakan pertumbuhan jaringan tubuh, mempertahankan atau meningkatkan fungsi jaringan dengan berbagai macam pendekatan. Prinsip dari pendekatan-pendekatan tersebut adalah dengan regenerasi jaringan insitu, implantasi sel yang telah dikultur atau *freshly isolated*, dan implantasi jaringan yang mirip tulang atau mirip tulang rawan yang disiapkan secara in vitro dari sel dan *scaffold*.⁸

Biomaterial menurut Park dan Bronzio adalah material sintetis yang digunakan untuk mengganti bagian sistem atau fungsi tubuh yang dihubungkan langsung dengan sel-sel hidup. Pada saat ini yang banyak digunakan adalah *scaffold*. Penggunaan *scaffold* atau wadah tiga dimensi sebagai biomaterial memberikan struktur pendukung untuk proliferasi dan diferensiasi sel. Rasionalisasi penggunaannya sendiri adalah untuk mengurangi potensi penolakan jaringan atau transmisi penyakit seperti pada penggunaan *allograft* serta mengurangi morbiditas yang ditimbulkan akibat pengambilan donor jaringan dari tempat lain di tubuh pasien (*autograft*). Beberapa jenis material *scaffold* telah banyak diteliti seperti hidroksiapatit (HA), polimer, keramik, komposit polimer, dan keramik, serta polimer natural seperti kolagen dan kitin.

Penelitian pendahuluan dengan uji biokompatibilitas baik secara langsung maupun tidak langsung, didapatkan bahwa *scaffold* yang berasal dari polimer lebih baik dari *scaffold* yang berasal dari keramik nano ataupun polimer nano. *Scaffold* dirancang untuk bersifat biokompatibel, biodegradasi, dapat direproduksi, mempunyai porositas tinggi dengan celah yang saling terhubung, dan properti mekanik yang mirip dengan jaringan inang serta tidak berpotensi menimbulkan reaksi imunologis dan reaksi rejeksi yang serius. Selain itu *scaffold* juga diharapkan dapat memediasi proliferasi dan diferensiasi sel, sekresi matriks ekstraseluler, dan membawa sinyal-sinyal biomolekuler untuk komunikasi sel. Penggunaan *scaffold* diharapkan dapat memediasi penyembuhan tulang.

Tindakan laminoplasti dan penanaman *scaffold* akan menimbulkan respon inflamasi. Respon inflamasi akut yang meningkat akan menyebabkan peningkatan pelepasan mediator kimia sitokin, seperti Interleukin 1 (IL-1), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF – α) yang diinisiasi oleh makrofag yang terbentuk sebagai respon inflamasi.⁹ Disamping pelepasan sitokin, inflamasi juga akan meningkatkan enzim proteolitik, seperti *alkaline phosphatase* dan *matrix metallo proteinase-8* (MMP-8) yang berkontribusi terhadap kerusakan jaringan.¹⁰

Alkaline phosphatase merupakan enzim intraseluler yang terdapat di sebagian jaringan dan organ, terutama tulang dan hati. Aktivitas yang meningkat akan menimbulkan proses destruksi tulang.¹⁰ *Alkaline phosphatase* juga berperan dalam pembaharuan tulang. *Matrix metallo proteinase-8* (MMP-8) berpotensi merusak jaringan dengan cara merusak kolagen tipe 1 sehingga terjadi degradasi matriks ekstraseluler.¹¹ Kesuma dalam penelitiannya mendapatkan bahwa terdapat hubungan antara kadar MMP-8 dengan penyakit periodontitis, sehingga berkontribusi menimbulkan kerusakan jaringan pada periodontal gigi.¹²

Beberapa molekul pembawa sinyal seperti *Bone Morphogenetic Protein* (BMP), *Transforming Growth Factor- β* , dan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) terlibat pada migrasi, proliferasi, dan diferensiasi sel punca mesenkimal (SPM) ditempat yang membutuhkan pembentukan tulang baru. *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) yang terbukti bersifat osteoinduktif dengan menginduksi diferensiasi SPM yang pluripoten menjadi berbagai sel dari keturunan osteoblastik melalui stimulasi *Alkaline phosphatase* (ALP) dengan aktivasi reseptor BMP, *Sma and Mad related proteins* (SMAD), dan ekspresi *Runt-related transcription factor 2* (Runx-2/Cbfa1).¹³

Proses penyembuhan tulang merupakan suatu pengulangan dari proses yang terjadi pada masa embrionik yakni pembentukan tulang secara endokondral. Proses tersebut secara histologis dapat dibagi menjadi dua yakni penyembuhan primer dan sekunder. Penyembuhan primer jarang terjadi dan dimungkinkan hanya bila tidak ada jarak antara fragmen (kontak absolut) atau dengan jarak minimal. Sedangkan penyembuhan tulang secara sekunder terjadi pada sebagian besar disrupsi tulang yang terdiri dari osifikasi baik intramembran maupun endokondral serta pembentukan kalus dan melibatkan aktivasi dari sel punca mesenkimal (SPM) yang berada baik di periosteum maupun endosteum.

Hampir semua jaringan dapat menjadi sumber SPM. Pada penyembuhan tulang sel ini dapat berasal dari periosteum, jaringan lunak sekitar tulang, sum-sum tulang, dan endosteum. Sel punca mempunyai kemampuan untuk memperbaharui dirinya sendiri untuk waktu lama tanpa merubah strukturnya secara signifikan dan dapat distimulasi untuk berdiferensiasi menjadi bermacam-macam tipe sel yang dikehendaki, membentuk jaringan tertentu untuk kepentingan terapi dengan struktur dan properti mekanik yang sesuai dengan kondisi fisiologis, serta dapat berintegrasi sempurna dengan jaringan sekitarnya. Oleh karena karakteristiknya tersebut, SPM terbukti efektif sebagai terapi pada cedera jaringan.¹⁴

Saat ini teknik laminoplasti yang dikerjakan di Indonesia khususnya di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (RSCM) menggunakan *allograft* yang berupa tandur tulang sintetik berbahan dasar hidroksiapatit (HA) yang di *import* dari luar negri. Pemakaian *allograft import* ini tentunya menambah beban biaya operasi secara signifikan terhadap prosedur laminoplasti sendiri yang menghabiskan biaya yang banyak. Di RS M.Djamil juga telah banyak kasus laminoplasti dengan menggunakan autograft dari prosesus spinosus.

Seiring dengan meningkatnya prevalensi stenosis kanalis spinalis yang mempunyai morbiditas tinggi dan mempengaruhi kualitas dan produktifitas hidup pasien yang tentu saja jumlah kasus yang dilakukan laminoplasti juga bertambah. Dengan memproduksi sendiri *spacer* untuk laminoplasti, diharapkan bentuk dapat lebih disesuaikan dengan ukuran pasien di Indonesia, mempercepat proses penyembuhan dengan menambahkan sel punca yang bersifat osteoinduktif seperti SPM. Sel punca mesenkimal yang berasal dari sumsum tulang memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi sel keturunan yang berbeda, termasuk osteoblas, kondrosit, adiposit, tenosit dan sel sumsum stroma sel.

Disamping itu, SPM juga akan meningkatkan sitokin anti inflamasi *transforming growth factor* (TGF- β) dengan menghambat sintesis sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6. Penurunan sitokin pro inflamasi ini akan menghambat prostaglandin sehingga pembentukan MMP-8 juga dihambat.¹⁴

Beberapa penelitian telah meneliti berbagai macam bahan *scaffold* begitu pula dengan SPM sebagai zat osteoinduktif, namun belum banyak literatur yang membandingkan bahan *scaffold* yang digunakan sebagai *spacer* pada prosedur laminoplasti.

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas dan penelitian pendahuluan mengenai materi *scaffold* maka penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh *scaffold* dengan SPM terhadap regenerasi tulang belakang.

Penelitian ini penting dilakukan untuk melihat bagaimana *scaffold* yang ditanami sel punca bisa menjadi penyangga yang kuat dan terjadi fusi yang baik pada level yang dilakukan laminoplasti, sehingga akan menurunkan angka kesakitan dan memperbaiki kualitas hidup penderita.

Material dan Metoda:

Sampel terdiri dari 16 ekor kelinci, masing – masing kelompok ditambahkan 2 ekor kelinci sebagai cadangan, dimana sampel penelitian merupakan kelinci dengan kisaran berat 1500 gram hingga 2500 gram. Terdapat 16 kelinci yang dilakukan tindakan Laminoplasti. Kelinci dibagi ke dalam 4 kelompok, yaitu kelompok pertama (K) adalah kelompok kelinci yang hanya dilakukan tindakan laminoplasti saja, kelompok kedua adalah (P₁) adalah kelinci yang dilakukan tindakan laminoplasti dengan pemasangan autograft, kemudian kelompok ketiga (P₂) adalah kelompok kelinci yang dilakukan tindakan laminoplasti dengan pemasangan *scaffolds* tanpa sel punca mesenkimal mesenkimal, sementara kelompok terakhir (P₃) adalah kelompok kelinci yang dilakukan tindakan laminoplasti dengan pemasangan *scaffolds* yang disertai sel punca mesenkimal mesenkimal di dalamnya. Dari keseluruhan sampel tidak ditemukan adanya kelinci dengan kelainan pada tulang belakang. Pengambilan darah untuk pemeriksaan MMP-8 dilakukan pada hari pertama sebelum tindakan pada kontrol dan 4 minggu setelah dilakukannya tindakan pada kontrol dan seluruh kelompok perlakuan.

Hasil

Dari hasil penelitian didapatkan adanya peningkatan kadar MMP-8 (terlihat dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan) dan terdapat kecenderungan meningkat dari perlakuan satu ke perlakuan selanjutnya. Secara statistik perbedaan tersebut bermakna ($p < 0,05$) sehingga dapat dilanjutkan dengan uji Post Hoc. Berdasarkan uji Post Hoc dapat dilihat bahwa perbedaan bermakna baru terjadi antara kelompok kontrol dengan kelompok Perlakuan 2 ($p < 0,05$)

Perbedaan Rata-rata Kadar MMP-8 Kelompok Perlakuan

Kelompok	MMP-8		95% Confidence Interval for Mean		P
	Mean	Std. Deviation	Lower Bound	Upper Bound	
Kontrol	0,10	0,029	0,05	0,1443	0,002
Perlakuan 1	72,51	39,22	10,10	134,92	
Perlakuan 2	156,28	49,46	77,58	234,98	
Perlakuan 3	106,53	56,39	16,79	196,27	

Hasil Uji Post Hoc (Bonferroni) antar Perlakuan terhadap MMP-8

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Kontrol		0,194	0,001	0,024
Perlakuan 1	0,194		0,096	1,00
Perlakuan 2	0,001	0,096		0,734
Perlakuan 3	0,024	1,00	0,734	

Pembahasan

MMP-8 (*Matrix Metalloproteinase-8*) dengan proses kolagenase bekerja dengan memecah kolagen tipe 1 melalui pemecahan triple Helix. Enzim MMP-8 mempunyai peranan penting dalam merusak jaringan selama proses inflamasi. MMP-8 juga berperan pada metabolisme peptidoglikan yang merupakan metabolit dari dinding sel pada bakteri gram positif dan negatif yang mengaktifkan komplemen, aktifitas immunosupresif, menstimulasi resorpsi tulang dan menstimulasi makrofag menghasilkan prostaglandin dan kolagenase.¹⁵

Dalam penelitian ini didapatkan peningkatan kadar MMP-8 dimana terdapat kecenderungan peningkatan dari perlakuan satu ke perlakuan selanjutnya, dan secara statistik peningkatan tersebut bermakna, hal ini tidak sesuai dengan teori Lozito (2011) dimana penggunaan SPM mengakibatkan penghambatan yang dimediasi TIMPs (*Tissue Inhibitor of Metalloproteinase*) sehingga sel punca mesenkimal dinyatakan sebagai sumber yang kuat untuk menghambat sekresi MMP. Namun Karsdall (2004) mengungkapkan bahwa MMP secara keseluruhan mempengaruhi terbentuknya osteoblas sehingga bukan hanya kadar MMP-8 saja yang mengalami perubahan.

Pada penelitian ini, tindakan laminoplasti akan memicu proses inflamasi sehingga akan meningkatkan kadar MMP-8 dan terlihat pada perlakuan 2 sangat meningkat dibandingkan dengan perlakuan 1 dan 3. Membuktikan efek inflamasi dari tindakan laminoplasti juga ditambah dengan penambahan *scaffold* akan menunjukkan bahwa reaksi jaringan terhadap peningkatan kadar MMP-8. Pada perlakuan 3 menunjukkan sedikit penurunan, membuktikan efektifitas sel punca dalam jaringan sehingga perlu dilakukan evaluasi jaringan dengan pemeriksaan imunohistokimia.

Sedangkan Najib dalam penelitiannya yaitu SPM akan meningkatkan sitokin anti inflamasi *transforming growth factor* (TGF- β) dengan menghambat sintesis sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1 dan IL-6.¹⁴ Penurunan sitokin pro inflamasi ini akan menghambat prostaglandin sehingga pembentukan MMP-8 juga dihambat. Peningkatan MMP-8 menunjukkan efek sel punca mesenkimal tidak menunjukkan hasil yang optimal sehubungan tidak masuknya sel punca mesenkimal dalam sirkulasi sistemik.

Tulang adalah jaringan dengan banyak vaskularisasi dengan properti intrinsik untuk memperbaiki diri, meregenerasi dan merombak. Ini kemampuan yang sangat baik untuk menyembuhkan luka traumatik (misalnya patah tulang) tanpa pembentukan bekas luka. Namun, masih ada sejumlah skenario klinis dimana kemampuan memperbaiki diri dan regeneratif mereka gagal. Beberapa contoh klasik termasuk cacat tulang besar yang disebabkan oleh luka traumatis, infeksi, reseksi tumor dan kelainan rangka akibat penyakit bawaan.¹⁶

Sel punca mesenkimal yang dikombinasikan dengan biomaterial dan ditanamkan ke lokasi lesi serta penggunaan teknik rekayasa jaringan dianggap sebagai strategi yang menjanjikan untuk mengobati kelainan tulang. Sejumlah penelitian pada hewan kecil telah menunjukkan bahwa mengobati cacat tulang dengan kombinasi biomaterial dan SPM dapat meningkatkan regenerasi tulang. SPM sumsum tulang manusia dan semen fosfat kalsium makropor digabungkan dan ditransplantasikan ke dalam cacat kranial berukuran kritis pada tikus.

Kesimpulan

Pada penelitian dengan menggunakan scaffold dengan bahan material dari PLA menunjukkan bahwa reaksi jaringan menunjukkan peningkatan MMP-8 dan scaffold dapat menjadi media sel punca untuk hidup dan tumbuh sehingga membuktikan proses differensiasi menjadi osteoblast menjadi optimal

Referensi

1. World Health Organization, WHO Global Health Observatory data repository: Life Expectancy – Data by Country. Geneva. 2015. (Diunduh tanggal 14 februari 2017). <http://apps.who.int/gho/data/node.main.688?lang=en>
2. Eberaold MJ, Raynor RB. Cervical laminotomy, laminectomy, laminoplasty, and foraminotomy. In : E. Benzel, editors. 2nd ed. Philadelphia : Elsevier ; 2005. 387-394.
3. Martini FH. Fundamental of Anatomy & Physiology. International Edition. 7 ; 2006
4. Fateh M et all. The Effect of Expansive Open Door Laminoplasty on Spinal Canal Diameter: an Experimental Study on Rabbits. Acta Orthop Traumatol Turc ; 2013. 47 (2), 1-4
5. Hirabayashi K, Toyama Y, Chiba K, et al. Expansive laminoplasty for myelopathy in ossification of the longitudinal ligament. Clin Orthop ; 1999. 359: 35-48.

6. Kurokawa R, Kim P. Cervical laminoplasty: The history and the future. *Neurol Med Chir*. 2015;55:5. 29–39
7. Ahlmann E, Patzakis M, Roidis N, Shepherd L, Holtom P. Comparison of Anterior and Posterior Iliac Crest Bone Grafts in Terms of Harvest-site Morbidity and Functional Outcomes. *J Bone Jt Surg Am*. 2002. 84(5):716–720
8. Wang H, Li Y, Zuo Y, Li J, Ma S, Cheng L. Biocompatibility and osteogenesis of bio-mimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite *scaffolds* for bone tissue engineering. *Biomaterials* ; 2007.28. 3338–48.
9. Louis AL, Rauae U, Yang Y. Time Course of Proteolytic, Cytokine and Myostatine Gen Expression after Acute Exercise in Human Skeletal Muscle. *J Appl Physiol* ; 2007. 50 : 103 : 1755-51
10. Ozmetric N. Advnace in periodontal disease markers. *Clin. Chim Acta* ; 2004. 343.4-14.
11. Apajalahti S. Short Roat Analogy prevalence and phenotyfic features in family with emphasis on matrix metalloproteinase in gingival crevicular fluid of SRA and orthodontic patients. Disertation Institute of dentisity department of pedodontoes and orthodontics, University of Helsinky, Finland : 2004
12. Kusuma N. Analissi matrix metalloproteinase 8, alkaline phosphatase, neutrofilelastase dalam cervical crevicular fluid pada penyakit periodontal. Disertasi Program Pascasarjana S3 Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Padang : 2014
13. Jahan K and Tabrizian M. Composite Biopolymers for bone regeneration enhancement in bony defects. *Biomaterial Science* ; 2015.1-5.
14. Najib El Haddad. Mecenchymal stem cells : Immunology and Therapeutic Benefits. In : Ali Gholamrezanezhad, editors. *Stem cells in clinic and research* ; 2011
15. Nagase H, Vise R, Murphy G. Structure and Function of Matrix Metalloproteinase and TIMP. *Cardiovasculae Res* ; 2006. 69 (3) : 562-70
16. Yogambha Ramaswamy, Khoon S Lim, Hala Zreiget. Stem cells for bone regeneration: Role of Medicine Orthopedics, Physical Medicine and Rehabilitation. In Alessandro Rozim Zorzi, Joao Batista de Miranda, editors. *Advanced Techniques in Bone Regeneration* ; 2016

Kode Makalah : IndBio 013

HUBUNGAN KADAR EPIDERMAL GROWTH FACTOR DENGAN KADAR NEUTROFIL DAN EOSINOFIL PADA PASIEN PPOK

Retno A S Soemarwoto¹, Jamsari², Yanwirasti³, Andika Chandra Putra⁴, Syazili Mustofa⁵

¹ Program Studi S3 Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia, Email: arizapulmo@gmail.com

² Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, Indonesia, Email: ajamsari@yahoo.com

³ Departemen Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia, Email: yanwirasti@yahoo.com

⁴ Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia, Email: andikacppulmo@gmail.com

⁵ Departemen Biokimia, Biologi dan Fisiologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia, Email: syazilimustofa.dr@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Salah satu masalah kesehatan global adalah Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK). Pada pasien PPOK terjadi hipersekresi lendir disebabkan oleh epidermal growth factor (EGF). Pada PPOK juga terjadi inflamasi kronis yang melibatkan neutrofil dan eosinofil. Namun, Hubungan antara keduanya belum jelas. Penelitian ini bertujuan mencari hubungan antara kadar EGF dengan jumlah neutrofil dan eosinophil pada pasien PPOK. Bahan dan Metode: metode cross-sectional digunakan dalam penelitian ini. Telah dilakukan perhitungan jumlah eosinofil dan kadar EGF plasma dari 82 pasien PPOK di Klinik Harum Melati Pringsewu, Lampung. Hitung jenis leukosit dilakukan untuk menghitung jumlah neutrofil dan eosinofil, sedangkan teknik ELISA digunakan untuk menganalisa kadar EGF. Data kemudian dianalisis dengan uji non-parametrik Mann-Whitney. Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah neutrofil normal dengan kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah neutrofil tinggi ($p = 0,772$). Begitu pula pada kadar eosinofil, tidak ada perbedaan bermakna kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah eosinofil normal dengan kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah eosinofil tinggi ($p = 0,148$).

KESIMPULAN

Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kadar EGF dengan jumlah neutrofil ataupun eosinofil pada pasien PPOK.

Kata Kunci: EGF, Eosinofil, Neutrofil, PPOK.

LATAR BELAKANG

Penyakit paru obstruktif kronis (PPOK) adalah penyakit yang tidak menular dan dapat dicegah. Penyakit ini menjadi salah satu masalah kesehatan utama dunia dan di Indonesia¹. Ahli memperkirakan pada tahun 2020 penyakit ini akan menjadi tiga besar penyebab kematian secara global². Penyakit ini umumnya disebabkan oleh paparan asap rokok. Selain asap rokok, paparan zat kimia berbahaya dan asap biomassa juga dapat menjadi penyebab penyakit ini³.

Penyakit ini dicirikan oleh inflamasi saluran nafas kecil dan hancurnya parenkim paru. Paparan asap rokok yang terus menerus pada penderita PPOK dapat menyebabkan terakvifasinya sel epitel saluran nafas dan sel makrofag alveolar di paru paru untuk mengeluarkan sitokin dan kemokin yang dapat memicu inflamasi. Sekali sel-sel tersebut teraktivasi, akan sangat sulit menghentikan orkestra inflamasi yang terjadi di paru. Gejala yang timbul akibat penyakit ini adalah sesak nafas yang terus menerus dan progresif, batuk kronis, dan produksi sputum yang banyak. Hipersekresi mukus adalah gejala yang sering ditemui pada pasien PPOK⁴.

Salah satu penyebab hipersekresi mukus pada pasien PPOK adalah pengaruh dari protein epidermal growth factor (EGF). Protein ini menstimulasi proliferasi otot polos saluran nafas EGF dan dapat meningkatkan kinerja neutrofil secara tidak langsung melalui epitel bronkial yang terstimulasi oleh EGF a key factor of epithelial repair, enhances the mechanisms of neutrophil accumulation, thereby promoting neutrophil defences during acute injury but potentially enhancing inflammation in chronic airway diseases. We have now sought to (i⁵. Neutrofil yang teraktivasi dan produk sekresinya berupa elastase neutrofil akan menyebabkan hipersekresi mukus oleh sel goblet. Epitel bronkial yang teraktivasi oleh EGF juga akan mengeluarkan alarmin, yaitu IL-25 dan IL-33, yang akan memicu sel T2 ILC2 mengeluarkan IL-5, yang merupakan kemoatraktan bagi eosinofil⁶. Protein EGF telah disinyalir memainkan perannya terhadap kinerja sel sel inflamasi pada PPOK, namun hubungan antara kadar EGF plasma pada pasien PPOK dan kadar neutrofil serta eosinofil belum jelas. Penelitian ini bertujuan mencari hubungan antara kadar EGF plasma dengan jumlah eosinophil dan neutrofil pada pasien PPOK.

BAHAN DAN METODE

Telah dilakukan penelitian cross-sectional di Klinik Harum Melati Pringsewu, Lampung, mulai bulan Maret 2018 sampai dengan Desember 2018. Subyek penelitian adalah pasien laki-laki yang diagnosis PPOK di Klinik Spesialis Paru Harum Melati, Kabupaten Pringsewu Provinsi Lampung pada bulan April 2018 sampai dengan September tahun 2018. Penderita yang didiagnosis PPOK pada periode tersebut berjumlah 171 orang, dengan rincian 150 orang laki laki dan 21 orang perempuan. Sebanyak 82 pasien PPOK dapat diikutsertakan menjadi sampel penelitian, 68 pasien lain tidak bisa diikutsertakan dalam penelitian ini karena memiliki penyakit penyerta seperti tuberkulosis paru atau tidak kooperatif dalam pemeriksaan spirometri.

Pada pasien dilakukan terlebih dahulu toraks foto dan dilanjutkan uji spirometri untuk mengetahui fungsi paru. Data jumlah neutrofil dan eosinofil diperoleh melalui pemeriksaan laboratorium berupa hitung jenis leukosit. Kadar neutrofil normal pada pemeriksaan hitung jenis (differential count) adalah 50-75%, sedangkan eosinofil dikatakan normal bila nilainya 1-3%,. Uji kadar EGF plasma dilakukan dengan metode ELISA terhadap 82 orang pasien PPOK. Sampel yang digunakan adalah platelet poor heparin plasma hasil dari pemisahan komponen darah subjek penelitian. Proses pemisahan ini dilakukan dengan sentrifugator. Proses pengukuran kadar EGF

dilakukan di laboratorium Prodia, Jakarta. Penelitian ini menggunakan kit ELISA Human EGF (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA, Cat: DEG00, Lot: P165621, ED: 21th May 2019). Kit yang digunakan adalah kit khusus untuk penelitian bukan kit untuk diagnostik atau terapi. Pembacaan ELISA dilakukan dengan Microplate Reader Biorad model 680 (Bio-rad Laboratories Inc, CA, USA) dengan software Microplate Manager ver 5.2.1 (Bio-rad Laboratories Inc., CA, USA). Rentang standard kalibrasi alat pengukur adalah 3.91 - 250 pg/mL, Limit deteksi: 0.266 pg/mL. Data kemudian dianalisis dengan uji non-parametrik Mann-Whitney.

Hasil

Rerata umur pasien PPOK pada penelitian ini adalah 64,5 tahun, dan merupakan perokok sedang. Rerata nilai kadar EGF pada penderita PPOK pada penelitian ini adalah 69,30 pg/ml, lihat tabel 1. Sebagian besar pasien PPOK pada penelitian (71,9 %) ini memiliki nilai neutrofil normal. Untuk kadar eosinofil, jumlah pasien yang memiliki eosinofil tinggi dan normal hampir sama banyak, yaitu 49 % dan 51 % , lihat tabel 2.

Tabel 1. Karakteristik Sampel Penelitian.

Karakteristik Pasien PPOK	Nilai rerata
Umur (SD) (tahun)	64.5 (8,6)
Indeks Brikman (SD)	409,6 (199,22)
Nilai prediksi FEV1(SD)	55,40 (20,47)
FVC(SD)	74,50 (19,49)
FEV1/FVC(SD)	73,24 (14,51)
Kadar EGF Plasma	69,30 pg/ml (61,45)

Tabel 2. Jumlah neutrophil, eosinofil dan rerata kadar EGF plasma

Variabel	N	Rerata kadar EGF Plasma (SD)	Nilai p
Jumlah Neutrofil			
Normal	59	70,00 (62,93)	0,772
Tinggi	23	67,85(58,63)	
Jumlah eosinofil			
Normal	42	78,56(64,73)	0.148
Tinggi	40	59,77 (56.93)	

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah neutrofil normal dengan kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah neutrofil tinggi ($p = 0,772$). Begitu pula pada kadar eosinofil, tidak ada perbedaan bermakna kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah eosinofil normal dengan kadar EGF plasma pasien PPOK yang memiliki jumlah eosinofil tinggi ($p = 0,148$).

Pembahasan

Pada PPOK paparan asap rokok, dan bahan gas berbahaya lainnya dapat menyebabkan kondisi inflamasi dan stress oksidatif. Kondisi ini akan mengaktivasi sel sel epitel saluran nafas dan makrofag alveolar. Akibatnya, sel sel ini akan melepaskan berbagai sitokin dan hormon yang akan menarik sel sel radang dan memfasilitasi terjadinya remodeling jaringan paru. Salah satu

protein yang dihasilkan sel epitel saluran nafas adalah EGF. Hormon ini dapat menstimulasi proliferasi otot polos saluran nafas. Hal ini dapat dijelaskan dengan terjadinya peningkatan ekspresi EGF pada sel epitel dan sel submukosa pasien bronkitis kronis. Faktor pertumbuhan ini adalah ligan untuk EGFR yang disintesis sebagai protein precursor transmembran. Protein ini akan dilepas dari membran sel dengan bantuan enzim proteolitik, dalam bentuk bebas inilah protein ini mempunyai efek biologis. Protein EGF terlibat dalam proses perbaikan epithelial dan remodeling saluran nafas. Hal ini sudah dibuktikan secara *in vivo* dan *in vitro*. Secara kolektif, EGF menginduksi remodeling saluran nafas dengan memodulasi fibrosis saluran nafas dan berkontribusi terhadap keparahan PPOK⁷.

Pada penelitian ini ditemukan bahwa kadar EGF plasma sebesar 69,30 pg/ml. Kadar EGF biasanya ditemukan menurun pada pasien PPOK, dan berhubungan dengan keparahan PPOK. Nilai rerata kadar EGF pada perokok non PPOK ternyata lebih tinggi daripada pasien PPOK⁸. Hal ini berhubungan dengan aktivasi oleh inflamasi saluran nafas kecil dan rusaknya parenkim paru. Penelitian pada kelompok perokok yang mengalami emfisema juga mengalami penurunan kadar EGF plasma⁹.

Nilai neutrofil pada hitung jenis leukosit sebagian besar pasien PPOK pada penelitian ini (71%) adalah normal. Neutrofil pada PPOK mengalami penyimpangan fungsi, dimana neutrofil pada PPOK meningkat daya hidup dan motilitasnya namun kurang terarah, hal ini dapat menyebabkan kerusakan yang luas matriks pejamu selama migrasinya. Mediator yang berasal dari Makrofag alveolar dan dari sel epitel paru berpotensi untuk merekrut neutrofil pada PPOK. Neutrofil lalu bermigrasi ke saluran nafas dipandu oleh neutrophil chemotactic factors, yaitu interleukin (IL-) 8 and leukotriene B4 (LTB4). Daya hidup neutrofil di saluran nafas dapat meningkat karena adanya sitokin seperti granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) dan granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)¹⁰.

Hampir setengah (48,8%) dari pasien PPOK pada penelitian ini memiliki kadar eosinofil darah yang tinggi. Pasien PPOK dengan eosinofil darah yang tinggi dihubungkan dengan keadaan fungsi paru yang lebih baik, dan berhubungan dengan respon terapi dengan menggunakan kortikosteroid¹¹.

Asap rokok dapat dan inflamasi pada pasien PPOK dapat mengaktifasi peningkatan kadar EGF yang akan berimplikasi pada produksi mukus saluran nafas. Asap rokok juga meningkatkan regulasi dan ekspresi kemoatraktan bagi neutrofil, dan hal ini ternyata berubungan dengan hiperplasia sel goblet¹².

Protein EGF akan diikat oleh reseptornya. Reseptor EGF merupakan glikoprotein membran dengan berat molekul 170kDa yang diaktivasi oleh ligan, yaitu: EGF, (transforming growth factor (TGF) alpha, heparin-binding (HB)-EGF, amphiregulin, betacellulin (BTC) dan epiregulin. Banyak sel inflamasi yang memproduksi ligan tersebut, diantaranya eosinophil, neutrofil, sel mast, dan makrofag¹³. Aktivasi EGFR oleh ligan (EGF dan TGF alpha) menyebabkan peningkatan regulasi gen MUC5AC dan ekspresi protein pada epitel pernafasan. Interaksi EGFR dan ligan juga menyebabkan fosforilasi enzim Tyrosine Kinase EGFR yang merangsang sintesis MUC-5CA untuk memproduksi mukus. Ligan EGF dan TGF-alpha juga merangsang sintesis MUC5CA dan MUC2 pada epitel pernafasan. Penelitian *in vitro* pada tikus menyebutkan induksi ovalbumin pada saluran nafas tikus dapat meningkatkan produksi sel goblet melalui mekanisme EGFR¹². Penelitian lainnya menyebutkan banyak stimulus menyebabkan produksi mukus melalui aktivasi

EGFR pada sel epitel bronkus manusia normal¹⁴. Ekspresi EGFR pada saluran nafas dapat dipicu oleh banyak stimulus inflamasi, yaitu : TNF α , kerusakan mekanik, rokok, produk inhalasi berbahaya seperti naphthalen atau bleomisin. Aktivasi EGFR dapat dibagi menjadi 2 mekanisme, yaitu ligan bebas EGFR dan ligan EGRF terikat posforilasi tirosin kinase (TK). Pada ligan EGFR bebas, ligan EGFR berikatan dengan EGFR di ekstrasel. Sedangkan pada ligan EGFR terikat Prosforilasi TK, ligan EGFR merespon stress oksidatif yang diakibatkan oleh paparan rokok dan aktivasi neutrofil pada saluran nafas¹².

Aktivasi ligan bebas dan ligan EGFR terikat yang memicu sintesis mukus. Ikatan ligan EGFR di domain ekstraseluler pada sel epitel saluran napas diikuti oleh fosforilasi residu tirosin di domain intraseluler. Ligan aktif (contoh: TGF- α) dilepaskan oleh sel-sel inflamasi yang direkrut (seperti eosinofil dan makrofag) atau diproduksi oleh proligan membran (proTGF- α). Proligan dapat dibelah oleh protease neutrofil (neutrofil elastase manusia) atau oleh protease membran epitel dalam merespon rangsangan bakteri *P aeruginosa*. Atau, aktivasi EGFR dapat terjadi tanpa adanya ligan terikat (aktivasi ligan bebas) oleh fosforilasi residu tirosin dalam domain intraseluler langsung (tidak ada ligan) dalam merespon rangsangan (seperti asap rokok, neutrofil aktif yang menghasilkan stres oksidatif). Oksigen radikal bebas juga diketahui dapat mengaktifkan proligan EGFR pada sel epitel yang menghasilkan aktivasi EGFR yang kemudian memicu kaskade hilir untuk mensintesis gen mucin dan protein^{4,5}. Mekanisme sinyal EGFR berperan dalam produksi mukus saluran nafas, rekrutmen neutrofil via produksi IL-8, dan perbaikan sel epitel saluran pernafasan. Reseptor EGF juga menginduksi respon imun bawaan pada penyakit infeksi kronis saluran pernafasan seperti PPOK, kista fibrosis, dan asma⁷.

Pada penelitian ini, tidak terdapat hubungan antara jumlah neutrophil maupun eosinofil dengan kadar EGF plasma. Walaupun secara teori produksi EGF dipicu oleh aktivasi neutrophil dan eosinofil, dan EGF pun dapat mengaktifasi fibroblast dan menstimulasi fibroblast, dan menstimulasi secara tidak langsung aktivitas neutrofil melalui sel epitel saluran nafas yang teraktivasi, namun ternyata peningkatan kadar EGF tidak berhubungan langsung dengan jumlah neutrofil. Hal ini dimungkinkan karena memang jalur aktivasi sel sel radang pada patofisiologi PPOK belum diketahui secara pasti. Masih banyak missing link yang belum ditemukan untuk menyingkap mekanisme penyakit ini.

KESIMPULAN

Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kadar EGF dengan jumlah eosinophil plasma ataupun neutrofil plasma pada pasien PPOK. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menyingkap hubungan antara EGF dengan sel imunokompeten dan mediator inflamasi yang dihasilkan untuk memahami dan mencegah PPOK.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. RISKESDAS. Jakarta: Kemenkes RI; 2018.
2. World Health Organisation. WHO global report on trends in prevalence of tobacco smoking 2015. Geneva: WHO Library; 2015. 22–46 p.
3. Decker R, Hadfield R, Hess M. Global Strategy for The Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (2019 Report). Fontana, WI USA; 2018.
4. Aghasafari P, George U, Pidaparti R. A review of inflammatory mechanism in airway diseases. *Inflamm Res*. 2019;68(1):59–74.

5. Uddin M, Lau LC, Seumois G, Vijayanand P, Staples KJ, Bagmane D, et al. EGF-Induced Bronchial Epithelial Cells Drive Neutrophil Chemotactic and Anti-Apoptotic Activity in Asthma. *PLoS One*. 2013;8(9):1–10.
6. Barnes PJ. Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD. *Clin Sci*. 2017 Jun 28;131(13):1541–58.
7. Lai T, Li Y, Chen M, Pan G, Wen X, Mai Z, et al. Heparin-binding epidermal growth factor contributes to COPD disease severity by modulating airway fibrosis and pulmonary epithelial–mesenchymal transition. *Lab Invest*. 2018;98(9):1159–69.
8. Soemarwoto RAS, Jamsari, Yanwirasti, Putra AC, Mustofa S. Decreased plasma epidermal growth factor (EGF) levels in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *Pneumologia*. 2019;68(1).
9. de-Torres JP, Blanco D, Alcaide AB, Seijo LM, Bastarrika G, Pajares MJ, et al. Smokers with CT Detected Emphysema and No Airway Obstruction Have Decreased Plasma Levels of EGF, IL-15, IL-8 and IL-1ra. *PLoS One*. 2013;8(4):1–6.
10. Hoonhorst SJM, Timens W, Koenderman L, Lo Tam Loi AT, Lammers J-WJ, Boezen HM, et al. Increased activation of blood neutrophils after cigarette smoking in young individuals susceptible to COPD. *Respir Res*. 2014 Oct;15(1):121.
11. Singh D, Kolsum U, Brightling CE, Locantore N, Agusti A, Tal-Singer R. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics. *Eur Respir J*. 2014 Dec 1;44(6):1697 LP – 1700.
12. Takeyama K, Dabbagh K, Jeong Shim J, Dao-Pick T, Ueki IF, Nadel JA. Oxidative Stress Causes Mucin Synthesis Via Transactivation of Epidermal Growth Factor Receptor: Role of Neutrophils. *J Immunol*. 2000;164(3):1546–52.
13. Nadel JA. Epidermal growth factor receptor-mediated innate immune responses and their roles in airway diseases. 2008;32(4):1068–81.
14. Chen L, Ge Q, Tjin G, Alkhouri H, Deng L, Brandsma CA, et al. Effects of cigarette smoke extract on human airway smooth muscle cells in COPD. *Eur Respir J*. 2014;44(3):634–46.

Kode Makalah : IndBio 014

Identification of Gene Polymorphism GSTP1 In Chronic Obstruction Pulmonary Disease Patients (COPD) In Padang, West Sumatera

Dita Hasni¹, Nilas Warlem²

¹Departement of Pharmacology, Medical Faculty, Universitas Baiturrahmah

Email: ditahasni@fk.unbrah.ac.id

²Departement of Pulmonology, Medical Faculty, Universitas Baiturrahmah

Abstract

Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is an airflow barrier disease that often arises in cigarette exposure in active or passive smokers, but not all smokers will suffer from COPD, the suspected role of genetic polymorphisms contributes to risk factors for COPD incidence. Cigarette smoke consumed by humans will be detoxified by the enzyme Glutathione S-Transferase P-1 (GSTP1) which plays a role in the metabolic process of cigarette electrophilic material in the human body. Polymorphism in the nucleotide sequence 313 in the *gstp1* gene will cause the amino acid to change from sequence 105 to isoleucine to valine, thereby reducing the activity of the enzyme.

This study aims to identify the GSTP1 gene polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). This research aims to identify genetic polymorphisms in the western Sumatra community in Padang city related to certain diseases, and knowledge about this will have a treatment effect, which is better for people with COPD.

This research is an observational study, using consecutive sampling method. The subjects who meet the inclusion and exclusion criteria and signed informed consent took 5 ml of blood and then carried out DNA isolation from peripheral leukocytes using a DNA isolation kit from Promega. Then it is stored until the total sample is collected in the refrigerator temperature of -40°C. The genotyping process with the Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) method was carried out using the BsmA1 enzyme.

In 53 subjects, this study had GSTP1 genetic polymorphism with 56.6% wildtype genotype, 37.7% heterozygote, and 5.7% homozygote mutant.

Keyword: GSTP1, COPD, Polymorphism, Smoker, Padang

ABSTRAK

Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK) adalah penyakit hambatan aliran udara yang sering muncul akibat paparan rokok pada perokok aktif atau pasif, tetapi tidak semua perokok akan menderita COPD. Diduga terdapat peranan polimorfisme genetik terhadap faktor risiko kejadian PPOK. Asap rokok yang dikonsumsi manusia akan didetoksifikasi oleh enzim Glutathione S-Transferase P-1 (GSTP1) yang berperan dalam proses metabolisme bahan elektrofilik rokok dalam tubuh manusia. Polimorfisme dalam urutan nukleotida 313 dalam gen *gstp1* akan menyebabkan asam amino berubah dari urutan 105 menjadi isoleusin menjadi valin, sehingga mengurangi aktivitas enzim. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme genetik di masyarakat kota Padang terkait dengan penyakit PPOK.

Penelitian ini adalah penelitian observasional, menggunakan metode consecutive sampling. Subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan menandatangani informed consent mengambil 5 ml darah dan kemudian melakukan isolasi DNA dari leukosit perifer menggunakan kit isolasi DNA dari Promega. Kemudian disimpan sampai total sampel dikumpulkan dalam suhu kulkas -40°C. Proses genotipe dengan metode Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) dilakukan dengan menggunakan enzim BsmA1.

Diperoleh hasil dari 53 subyek penelitian terdapat polimorfisme genetik GSTP1 dengan 56,6% genotipe tipe wildtype, 37,7% heterozigot, dan 5,7% mutan homozigot. Dan disimpulkan bahwa kasus PPOK terbanyak dengan variant wildtype.

Kata kunci: GSTP1, COPD, Polimorfisme, Perokok, Padang

Introduction

Chronic Obstruction Pulmonary Disease (COPD) is a disease of the resistance of the air-flow in the respiratory tract that is progressive because of exposure to risk factors such as smoking (1). The prevalence of COPD in Indonesia shows 3.7 per 100 inhabitants and 3 per 100 inhabitants in West Sumatera (2)

Nowadays, genetic factors being one of the risk factors of COPD because of only 25% of smokers who suffer from COPD. (3) There are some studies which found that there is a relationship of genetic variation in enzymes that detoxify cigarette products such as the enzyme glutathione S-transferase (GSTs). The GST enzyme is a large family of enzymes that play a role in the conjugation process of glutathione, facilitating detoxification, metabolism, and excretion of cigarette products. There are 6 GST enzyme groups, namely alpha (GSTA), Mu (GSTM), Pi (GSTP1), Theta (GSTT1), Sigma and Kappa. GSTP1 enzymes are found in the respiratory tract. (4)

The enzyme Glutathione S-Transferase P1 (GSTP1) was coded by the GSTP1 gene on the 11q13 chromosome. Found single nucleotide polymorphism (SNP's) is the alteration of a nucleotide base in the 313 sequences of Adenine into guanine in this gene. This nucleotide change will lead to decreased GSTP1 enzyme detoxification activity and raises the accumulation of toxic products. (5) In research before his found occurred his increased risk of occurring chronic obstructive pulmonary disease in patients with variants Val/Val and Ile/Val compared to Ile/Ile (6).

Detoxification plays a vital role to protect cells from environmental damage, genotoxic and oxidative stress, but also associated with drug resistance (7) Polymorphisms in the GSTs gene will alter the catalytic activity of the enzyme so that it affects the detoxification of its substrates, including cigarette products and medicinal metabolites (8) This polymorphism has a role in the vulnerability of the disease including cancer events, COPD and resistance to cancer treatment. (9)

Method

This study design was a descriptive study and involved 59 COPD patients undergoing therapy at Dr. Rasidin District General Hospital, Padang. Moreover, GSTP1 genotyping analysis conducted in the biomedical laboratory of the Faculty of Medicine, Baiturrahmah University, Padang. The subject of the study is incorporated after stating the willingness to participate in the research and signing of recognition.

Genotyping method DNA samples were isolated from blood leukocytes cells using the Wizard® Genomic DNA purification Kit (Promega Corporation, USA). The DNA isolation process follows the procedure established by the manufacturer. Then the DNA is stored at a temperature of -40°C until all DNA samples are accumulated. Once the entire sample is accumulated, DNA is amplified using the polymerase Chain Reaction method following the procedure used by Hasni et al. Forward and reverse primary sequences used as follows: 5'-GAG GAA ACT GAG ACC CAC TGAG-3' and 5'-AGC CCC TTT CTT TGT TCA GCC-3'. 4.6 Chain DNA denatured on incubation process at 94°C for 5 min, followed by 35 chain reaction cycle (94°C for 30 sec, annealing at 61°C for 30 sec and 72°C for 30 seconds) followed by final stage on a temperature of 72°C for 5 minutes. The PCR product is then electrophoresis with 2% agarose which has been stained with ethidium ipratropium bromide and obtained by DNA fragment 424bp. PCR product is cut with the PCR-RFLP technology using 4 (New England Biolabs) restriction enzyme units for 40 Minutes at 55°C and electrophoresis on 3% agarose gel with ethidium ipratropium bromide. (10)

Result

Research has been conducted in 59 patients with chronic obstruction of lung disease in Rasyidin HOSPITAL in Padang City, but on genotyping examination six blood samples did not succeed to be performed DNA isolation, so it is challenging to identify polymorphism genetic enzymes GSTP1 from that blood.

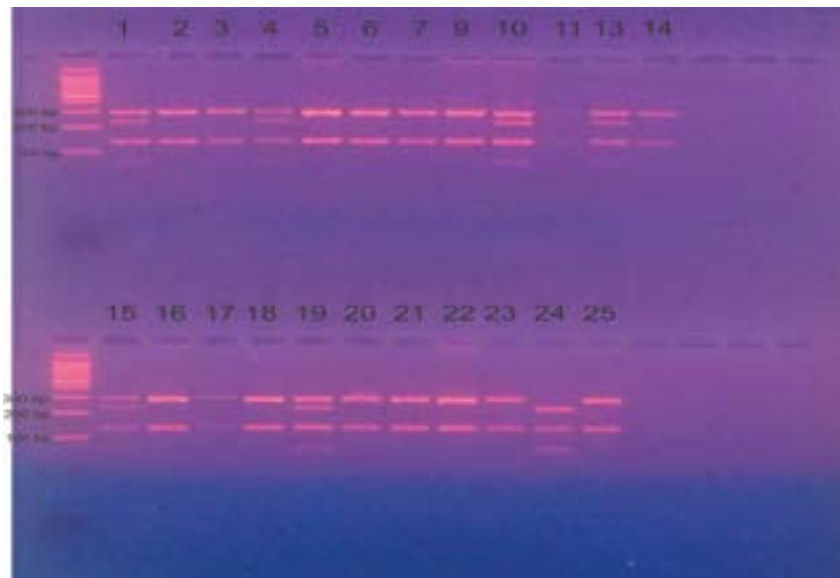


Figure 1. Representative electrophoresis gel of PCR-RFLP Product in GSTP1 polymorphism.

At electrophoresis gel, The bands appear on 292 and 132 BP which shows subjects with Wildtype, bands on 292, 222, 132, and 70 BP showed subjects with heterozygotes mutant and bands on 222, 132, and 70 BP showed subjects with homozygotes mutant.

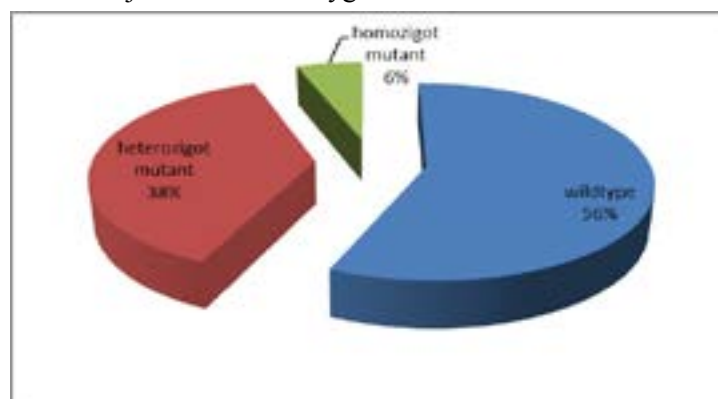


Figure 1. The proportion of polymorphism GSTP1 on research subjects

Table 5.2 Characteristics of research subject based on genetic polymorphism of Glutathione enzyme S-Transferase P1

Genotyping	N	%
Wildtype	30	56.6
heterozygote mutant	20	37.7
homozygote mutant	3	5.7
Total	53	100

Table 5.2 Characteristics of demographic research subjects

Variable	Subjects	WT	Heterozygote	homozygote
	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
Age				
40-49	4(7.5)	4 (13,3)	0	0
50-59	14(26.4)	8 (26,7)	6 (30,0)	0
60 or older	35(66.0)	18 (60,0)	14 (70,0)	3 (100)
Sex				
laki-laki	49 (92.5)	27 (90)	19 (95)	3(100)
Perempuan	4 (7.5)	3 (10)	1 (5)	0 (0)
Smoking				
Yes	43 (81.1)	22 (73,3)	18 (90)	3 (100)
No	10 (18.9)	8 (26,7)	2 (10)	0
Total	53	30	20	3

Discussion

Glutathione Enzyme S-Transferase (GSTs) is an enzyme that plays in the metabolic process phase II, working by catalyzing glutathione conjugation with various substrates, including cigarette products, mutagen, carcinogens, chemotherapy agents such as agents The allocation and Anthracycline (7) polymorphism in the GSTs gene will alter the catalytic activity of the enzyme so that it affects its substrate detoxification including cigarette products and medicinal metabolites. (11) Some studies mention that this polymorphism has a role in the vulnerability of diseases including COPD (12)

GSTP1 is the most widely expressed enzyme GSTs throughout the body, can be found in erythrocytes, placenta, lungs, brain, muscles, and liver. The GSTP1 gene has been mapped on a 11q13 chromosome and has two types of Nonsynonymous Single Nucleotide Polymorphism (SNPs). One of Nonsynonymous Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) In this GSTP1 gene is a single nuclei substitution in The position to 313 exons 5 of adenine becomes guanine which causes the substitution of amino acids to 105 from isoleucine to Valine (Ile/Val105). This change affects the geometry where the substrate of the enzyme GSTP1 resulting in substrate affinity 1/3 times lower in vitro (8)

In this study obtained the subject data with Wildtype 56.6%, mutant heterozygous 37.7%, and a homozygous 5.7%, the result was slightly different from the research in Turkey that found COPD patients with wildtype of 61.1%, heterozygous mutant% 29.2 and Mutant homozygous by

9.7%. Other results were also reported in Japan, in patients with COPD that wildtype amounted to 79%, heterozygous mutant 21% and mutant homozygotes 0%. The difference in this proportion of proportions can be influenced by different ethnic populations. (13) The study also reported that the subjects of the most COPD sufferers were males, aged over 60 years and smokers. This is in accordance with the research conducted by Raheison in 2009 which mentions that male prevalence suffers from COPD 9.8% (CI 95%: 8-12.1) and women at 5.6% (CI 95%: 4.4-7), the most age prevalence suffers from COPD above 65 years Of 14.2% (CI 95%: 11-18), and more active smokers suffer from COPD with the findings of 15.4% (CI 95%: 11.2-20.7) compared to non-smokers 4.3% (CI 95%: 3.2-5.7) (14). Cigarette smoke has a very high reactive oxidant content. This substance induces inflammation in the lungs and airway. Studies have shown that smokers have chronic inflammatory changes, it is characterized by an increased number of inflammatory cell types in various parts of the lungs, and structural renovations resulting from reinjuries and repairs(15)

Conclusions

The COPD sufferer in this research has a large variant GSTP1 wildtype.

Reference

1. Sugiura H, Ichinose M. COPD. Japanese Journal of Chest Diseases. 2014.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar 2013. Ris Kesehat Dasar 2013. 2013;
3. Berndt A, Leme AS, Shapiro SD. Emerging genetics of COPD. Vol. 4, EMBO Molecular Medicine. 2012. hal. 1144–55.
4. Lakhdar R, Denden S, Knani J, Leban N, Daimi H, Hassine M, et al. Combined analysis of EPHX1, GSTP1, GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms in relation to chronic obstructive pulmonary disease risk and lung function impairment. Dis Markers. 2011;30(5):253–63.
5. Žuntar I, Petlevski R, Dodig S, Popović-Grle S. GSTP1, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and total serum GST concentration in stable male COPD. Acta Pharm. 2014;64(1):117–29.
6. Yan F, Chen C, Jing J, Li W, Shen H, Wang X. Association between polymorphism of glutathione S-transferase P1 and chronic obstructive pulmonary disease: A meta-analysis. Vol. 104, Respiratory Medicine. Elsevier Ltd; 2010. hal. 473–80.
7. Fortney L, Podein R, Hernke M. Detoxification. In: Integrative Medicine: Fourth Edition. 2017.
8. Morel F, Aninat C. The glutathione transferase kappa family. Drug Metabolism Reviews. 2011.
9. Dey T, Gogoi K, Unni BG, Kalita M, Bharadwaz M, Bhattacharjee M, et al. Role of glutathione S transferase polymorphism in COPD with Special reference to peoples living in the vicinity of the open cast coal mine of assam. PLoS One. 2014;
10. Hasni D, Siregar KB, Lim H. The influence of glutathion S-transferase P-1 polymorphism A313G rs1695 on the susceptibility to cyclophosphamide hematologic toxicity in indonesian patients. Med J Indones. 2016;25(2):118–26.

11. Ginsberg G, Smolenski S, Hattis D, Guyton KZ, Johns DO, Sonawane B. Genetic polymorphism in glutathione transferases (GST): Population distribution of GSTM1, T1, and P1 conjugating activity. Vol. 12, *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews*. 2009. hal. 389–439.
12. Venugopal S, Venugopal K, Thresiamma T, Philip S. Daily versus intermittent therapy in paediatrics TB - A South Indian study [Internet]. Vol. 20, *Respirology*. 2015. hal. 155. Tersedia pada: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/575/CN-01163575/frame.html>
13. Çalikoglu M, Tamer L, Ates Aras N, Karakaş S, Ercan B. The association between polymorphic genotypes of glutathione S-transferases and COPD in the Turkish population. *Biochem Genet*. 2006;44(7–8):307–19.
14. Raherison C, Girodet PO. Epidemiology of COPD. Vol. 18, *European Respiratory Review*. 2009. hal. 213–21.
15. Assad NA, Kapoor V, Sood A. Biomass smoke exposure and chronic lung disease. Vol. 22, *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. 2016. hal. 150–7.

Kode Makalah : IndBio 014

Efektifitas Gentamisin- Bone Cement Polymethyl Methacrylate (PMMA) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro

Rizki Rahmadian ^{1,2}, Fajar Satria Pratama ³

¹ Bagian Ilmu Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas

² RSUP Dr. M. Djamil, Padang

³ Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas

Korespondensi: rizki_md@yahoo.com;

ABSTRAK

Osteomielitis paling banyak disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Kejadian penyakit ini telah meningkat dari 3 kasus per 100.000 populasi per tahun pada tahun 1997 menjadi 24,4 kasus per 100.000 populasi per tahun dalam penelitian berbasis populasi baru-baru ini. *Bone cement* yang paling banyak digunakan adalah *Polymethyl methacrylate* (PMMA). Gentamisin bersifat bakterisid dan memiliki spektrum kerja yang luas, salah satunya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini merupakan penelitian experimental dengan menggunakan metode difusi. Objek penelitian yaitu Gentamisin- *bone cement* yang terbagi dalam tiga konsentrasi 5%, 10%, dan 20% yang diuji terhadap *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya akan diamati apakah terdapat aktifitas Gentamisin-*bone cement* dan berapa lama waktu optimal pelepasan konsentrasi antibiotik dari *bone cement* berdasarkan diameter area inhibisi yang terbentuk yang didapatkan berdasarkan observasi dan pengukuran diameter selama 19 minggu pada bulan Maret hingga Juli 2019. Hasil penelitian menunjukkan terdapat aktifitas Gentamisin 5%, 10%, 20%- *bone cement* terhadap *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan waktu optimal pelepasan konsentrasi Gentamisin yaitu lebih kurang 14 hari.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kaharudin (2019), Chang (2014), dan Azi (2010) yang menemukan bahwa Gentamisin memiliki efektivitas dalam menghambat aktifitas bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: *Bone Cement*, Gentamisin, *Polymethyl methacrylate* (PMMA), *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Osteomyelitis most commonly caused by *Staphylococcus aureus*. The incidence has increased from 3 cases per 100,000 population per year in 1997 to 24.4 cases per 100,000 population per year in a recent population-based study. The most widely used bone cement is *Polymethyl Methacrylate* (PMMA). Gentamycin has a bactericidal effect and broad spectrum of act, one of which is against *Staphylococcus aureus*.

This research is an experimental study using the diffusion method. The research object was Gentamycin-bone cement which was divided into three concentrations, 5%, 10%, 20% which were treating against *Staphylococcus aureus*. Furthermore, it was observed whether there was a Gentamycin-bone cement effect or not and how long were the optimal time to release Gentamycin concentrations from bone cement based on the diameter of the inhibition area which were formed. It was obtained based on observation and measurement of diameter for 19 weeks (March-July 2019). The results showed there was an activity of Gentamycin 5%, 10%, 20%-bone cement against *Staphylococcus aureus*. Based on observations made the optimal time to release Gentamycin concentrations were about $\pm$ 14 days.

This study same with Kaharudin (2019), Chang (2014), and Azi (2010) research who have found that Gentamycin has an effectiveness in inhibiting the activity of *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Bone Cement, Gentamycin, Polymethyl methacrylate (PMMA), *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Osteomielitis merupakan infeksi sekunder pada tulang yang dapat bersifat akut maupun kronik yang dapat berkembang secara hematogen, perkontinuitatum atau inokulasi langsung. *Staphylococcus aureus* merupakan mikroorganisme yang paling sering menjadi penyebabnya, yaitu sekitar 70-80 %. Mikroorganisme lainnya yang sering menjadi penyebab, seperti *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*, dan *Salmonella*.¹

Dalam sebuah studi berbasis populasi, menggambarkan kejadian osteomielitis selama empat dekade dari 1969 hingga 2009. Studi ini menunjukkan bahwa kejadian osteomielitis telah meningkat dari waktu ke waktu dan umumnya insiden nya lebih tinggi pada pria daripada wanita dan angka kejadian tetap relatif stabil pada anak-anak dan dewasa muda (<50 tahun).^{1,3} Kejadian Osteomielitis yang dilaporkan telah meningkat dari sekitar 3 kasus per 100.000 populasi per tahun pada tahun 1997 menjadi 24,4 kasus per 100.000 populasi per tahun dalam penelitian berbasis populasi baru-baru ini.⁴

Pasien dengan Osteomielitis perlu dilakukan peninjauan tentang riwayat medis masa lalu untuk mengidentifikasi faktor risiko yang dapat mempengaruhi infeksi tulang. Pasien sering mengalami beberapa gejala seperti demam dan keluhan sistemik lainnya, seperti sakit kepala, kelelahan, malaise, dan anoreksia. Temuan pemeriksaan fisik Osteomielitis cukup spesifik, palpasi biasanya memunculkan nyeri pada bagian yang terinfeksi. Osteomielitis dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis infeksi atau berdasarkan durasi sejak timbulnya penyakit. Osteomielitis akut didefinisikan sebagai infeksi yang didiagnosis dalam 2 minggu setelah timbulnya gejala, Osteomielitis subakut didiagnosis jika gejalanya melebihi durasi 2 minggu. Jika infeksi didiagnosis beberapa bulan setelah timbulnya gejala, maka didefinisikan sebagai Osteomielitis kronis.

Manajemen dari Osteomielitis dengan menggunakan antibiotik yang disesuaikan dengan flora penyebabnya berdasarkan beberapa pemeriksaan spesifik. Landasan pengobatan Osteomielitis adalah debridemen tulang nekrotik, jaringan lunak, traktus, dan sinus yang diikuti dengan stabilisasi tulang serta eradikasi kuman penyebab infeksi. Perawatan ini kemudian dapat diikuti oleh rekonstruksi termasuk transfer jaringan, pencangkokan tulang, atau osteogenesis daerah gangguan sesuai dengan kebutuhan.⁷

Bone cement yang paling banyak digunakan adalah *Polymethyl Methacrylate* (PMMA) dengan keunggulan memiliki kekuatan mekanik yang tinggi. *Bone cement* merupakan substansi yang biasa digunakan pada pasien Osteomielitis dengan tujuan untuk mengisi ruang kosong pada tulang agar tulang tetap stabil. *Bone cement* jenis lain yang dapat digunakan diantaranya *Calcium Phosphate Cements* (CPCs) dan *Glass polyalkenoate Cements* (GPCs) yang biasa digunakan pada berbagai kasus kedokteran gigi.⁸ Berdasarkan penelitian telah menunjukkan bahwa menambahkan berbagai jenis antibiotik dalam bone cement, dalam jumlah kurang dari 2 gram per paket standar *bone cement*, tidak mempengaruhi sifat mekanik semen. Persyaratan utama adalah antibiotik campuran harus tahan panas dan harus bertahan lebih lama.⁹

Salah satu antibiotika golongan aminoglikosida adalah Gentamisin. Gentamisin bersifat bakterisid dan memiliki spektrum kerja yang luas, salah satunya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap 30 pasien Osteomielitis kronis, 92% kultur *Staphylococcus aureus* memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap Gentamisin.¹⁰ Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini untuk mengetahui efektifitas antibakteri Gentamisin- *bone cement Polymethyl methacrylate* (PMMA) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro untuk mengetahui lama aktifitas Gentamisin-*bone cement* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAHAN dan METODE

Jenis penelitian ini adalah *experimental research*. Penelitian ini menggunakan metode difusi untuk menilai ada atau tidaknya aktifitas antibakteri Gentamisin-*bone cement* terhadap *Staphylococcus aureus* serta berapa lama memiliki aktifitas antibakteri yang optimal berdasarkan observasi. Hasil penelitian diperoleh berdasarkan hasil observasi dengan mengukur luas diameter pada cawan petri sebagai hasil dari kadar hambat beberapa kombinasi Gentamisin- *bone cement* dengan konsentrasi Gentamisin masing-masing nya, yaitu 5%, 10%, dan 20%. Gentamisin yang digunakan adalah Gentamisin dalam sediaan cair. *Bone cement* yang digunakan adalah *bone cement PMMA CEMFIX®* yang kemudian dibentuk setelah dikombinasikan dengan dosis tertentu dari Gentamisin dengan menggunakan cetakan silikon. Penelitian dilakukan dari bulan Maret-Juli 2019 selama 19 minggu di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.

Populasi penelitian ini adalah antibakteri Gentamisin- *bone cement* dan sampel penelitian adalah Gentamisin 5%, 10%, 20%- *bone cement*. Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dibiakkan dalam media cawan petri didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Seluruh persiapan dilakukan dalam kondisi steril. Kelompok uji terdiri dari Gentamisin 50 mg (5%), 100 mg (10%), dan 200 mg (20%). Masing-masing kelompok dicampurkan dengan 1 gr *bone cement* CEMFIX® dan 0,5 ml monomer, kemudian dilakukan pengadukan menggunakan spatula dengan kecepatan 1 putaran/detik selama 60 detik. Selanjutnya adonan Gentamisin *bone cement* dituang ke dalam cetakan silikon dan dibiarkan mengeras. Kemudian cetakan diletakkan sesuai kelompoknya pada cawan petri yang sudah berisi *Staphylococcus aureus* yang sudah dibiakkan.

Semua sampel *bone cement* diobservasi dan diperbarui media *in vitro* nya pada hari ke 1, minggu 1,2,3,5,7,9,11,13,15,17, dan 19. Hal ini memodifikasi metode observasi yang dilakukan dalam penelitian oleh Chen (2018) yang melakukan pengamatan pada minggu ke 2,4,6 dan 8 dari penelitian.⁹ Modifikasi dilakukan untuk mendapatkan hasil yang optimal dalam pengamatan. Pada setiap perlakuannya dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C.

Setelah diinkubasi selama waktu yang ditentukan, sampel dinilai daerah inhibisi yang terbentuk pada cawan petri sebagai akibat dari aktifitas antibakteri Gentamisin-*bone cement* terhadap *Staphylococcus aureus*, kemudian dilakukan pengukuran diameter dan dibandingkan pada akhir penelitian untuk mendapatkan waktu paling optimal dari antibakteri Gentamisin-*bone cement* dengan tujuan untuk mendapatkan waktu terapi yang optimal saat dilakukannya terapi antibiotik lokal pada kasus Osteomielitis.

HASIL dan DISKUSI

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sesuai dengan metode difusi didapatkan bahwa terdapat aktifitas antibakteri Gentamisin- *bone cement* dalam melawan aktifitas bakteri *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya, dalam pengamatan terhadap diameter daerah inhibisi yang terbentuk, didapatkan waktu optimal konsentrasi yang dilepaskan berdasarkan pengamatan terhadap diameter dari area inhibisi yang terbentuk sebagai aktifitas dari antibakteri Gentamisin-*bone cement* adalah ± 2 minggu. Setelah 2 minggu terdapat penurunan pelepasan konsentrasi dan cenderung stabil dalam diameter yang tampak hingga minggu ke 19.



Gambar 1. Peralatan yang Digunakan dalam Penelitian



Gambar 2. a. Hasil Penelitian Hari 1; b. Hasil Penelitian Hari ke 2 ; c. Hasil Penelitian Hari ke 3

Tabel 1. Diameter Area Inhibisi yang Terbentuk dari Aktivitas Gentamisin – *bone cement* terhadap *Staphylococcus aureus*

Waktu Obser- vasi	Ukuran Daerah Inhibisi (Diameter dalam cm)					
	Gentamisin 5%		Gentamisin 10%		Gentamisin 20%	
	Media 1	Media 2	Media 1	Media 2	Media 1	Media 2
Hari 1	8 cm	7,5 cm	8 cm	7,5 cm	8 cm	-
Minggu 1	4 cm	3,9 cm	4 cm	3,9 cm	4,2 cm	-
Minggu 2	2,5 cm	2,4 cm	2,2 cm	2 cm	2,9 cm	-
Minggu 3	2,1 cm	1,85 cm	2,5 cm	1,6 cm	4 cm	-
Minggu 5	2,0 cm	1,7 cm	1,8 cm	1,8	2,0cm	-
Minggu 7	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	2 cm	-
Minggu 9	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	1,8 cm	2 cm	-
Minggu 11	1,8 cm	1,75 cm	1,8 cm	1,8 cm	1,9 cm	-
Minggu 13	1,8 cm	1,8 cm	1,8 cm	1,8 cm	1,9 cm	-
Minggu 15	1,9 cm	1,8	1,9 cm	1,8 cm	1,9 cm	-
Minggu 17	1,9 cm	1,8 cm	1,7 cm	1,8 cm	1,8 cm	-
Minggu 19	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	2 cm	-

Gentamisin merupakan antibiotik yang stabil terhadap panas, pada saat proses pencampuran *bone cement* (polimer) dengan monomer akan menghasilkan panas yang mencapai 8286°C.¹⁰ Gentamisin yang digunakan pada penelitian ini merupakan Gentamisin cair. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chang YH dkk (2014) berdasarkan penelitiannya mengungkapkan bahwa kombinasi *bone cement* dengan antibiotika cair memiliki kemampuan pelepasan antibiotika dari *bone cement* (elusi) yang lebih efektif dibandingkan dengan kombinasi *bone cement* dengan antibiotik bubuk.¹¹

Pemilihan Gentamisin 5%, 10%, dan 20 % sebagai antimikroba karena Gentamisin memiliki efektifitas yang tinggi dalam menghambat aktifitas bakteri *Staphylococcus aureus*, hal tersebut berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kaharuddin (2019) yang menemukan bahwa Gentamisin 5 %, 10%, dan 20% memiliki kemampuan dalam menghambat aktifitas bakteri *Staphylococcus Aureus*.¹² Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Chang dkk (2013) dengan menggunakan *bone cements*- Ceftazidime, Imipenem, Piperasillin, Gentamisin, dan Tobramisin terhadap beberapa bakteri seperti *Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus (MSSA)*, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*, dll menemukan bahwa Gentamisin-*bone cement* dapat memiliki efek antibiotika *broad spectrum* dan memiliki durasi paling lama dalam membunuh aktifitas kuman jika dibandingkan dengan antibiotik lainnya.¹³

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Azi ML (2010) memperkuat penelitian ini, ia menemukan bahwa Gentamisin jika dicampur dengan *bone cement*, akan dilepaskan dalam 24 jam, dan akan mengalami penurunan secara bertahap mulai dari hari 2 hingga 14, setelah hari ke 28 tidak ada sisa dari konsentrasi antibiotik yang dilepaskan.¹⁴ Antibiotik akan mengalami pelepasan dari *bone cement* secara bertahap dan konsisten. Pelepasan antibiotik dimulai dari permukaan *bone cement*, lapisan *sublayer*, dan bagian dalam dari *bone cement*.¹⁵

Penelitian ini tidak mencoba mengkombinasikan beberapa antibiotik dengan Gentamisin, dikarenakan berdasarkan penelitian Li (2019) mengungkapkan bahwa saat dicampur dengan Vancomycin terdapat pengurangan pelepasan konsentrasi antibiotik Gentamicin sebesar 50% dibandingkan dengan Gentamisin-*bone cement* saja.¹⁶

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan kesimpulan bahwa kombinasi Gentamisin 5%,10%,20% dengan *bone cement* memiliki efektivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan memiliki waktu optimal dalam pelepasan konsentrasi antibiotik berdasarkan observasi selama ± 2 minggu (14 hari).

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada semua pihak yang memberikan dukungan terhadap berlangsungnya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fred FF. Ferri's clinical advisor 2020. Philadelphia: Elsevier; 2020. Hlm. 999-100.e1.
2. John DR. Bone and joints. Dalam: John RG. Rosai and ackerman's surgical pathology. Edisi ke 11. Philadelphia: Elsevier; 2018. Hlm. 1742-44.
3. George DH. Osteomyelitis. Dalam: Rick DK, David PR. Conn's current therapy 2019. Philadelphia: Elsevier; 2019. Hlm 592-94.

4. Balashanmugam R, Richard W. Bone, joint, and spinal infection. Dalam: Andreas A, Adrian KD, Jonathan HG, Cornelia MSP. Grainger and allison's diagnostic radiology. Edisi ke 6. Philadelphia: Elsevier; 2015. Hlm. 1241-1275.e2.
5. Neha PR, Brian JZ. Bone and joint infections. Dalam: Ron MW, Robert SH, Marianne GH. Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice. Edisi ke 9. Philadelphia: Elsevier; 2018. Hlm. 1696-1704.
6. Yok AQ, Philippe M. Staphylococcus aureus (including Staphylococcal toxic syndrome). Dalam: John EB, Raphael D, Martin JB. Mandell, douglas, and bennett's principles and practice of infectious diseases. Edisi ke 9. Philadelphia: Elsevier; 2020. Hlm. 2393-2431.e9.
7. Javad P, Gregory KK. Osteomyelitis. Dalam: Javad P. High-Yield Orthopaedics. Philadelphia: Elsevier; 2010, hlm 347-348.
8. Chow LC, Eanes ED. Octacalcium phosphate. Monogr Oral Sci. 2001;18:148-63.
9. Gaoyang C, Bo L, He L, Hanyang Z, Kerong Y, Qingyu W, Jianxun D, Fei C. Calcium phosphate cement loaded with 10% vancomycin delivering high early and late local antibiotic concentration in vitro. Philadelphia: Elsevier Masson 2018:1-5
10. Raju V, Mayank C, Abishek V. Bone cement. Journal of clinical orthopaedics and trauma. 2013; 4:157-163.
11. Chang YH, Tai CL, Hsu HY, Hsieh PH, Lee MS, Ueng SWN. Liquid antibiotics in bone cement an effective way to improve the efficiency of antibiotic release in antibiotic loaded bone. Bone Joint Res. 2014;3:246-51.
12. Kaharudin. Potensi aktivitas antibakteri Gentamisin-Bone Cement Polymethyl Methacrylate (PMMA) terhadap kultur Staphylococcus aureus. Jurnal Kesehatan Andalas. 2019.
13. Chang Y, Tai CL, Hsieh PH, Ueng SWN. Gentamycin in bone cement: A potentially more effective prophylactic measure of infection in joint arthroplasty. Bone Joint Res. 2013; 2(10): 220-26.
14. Azi ML, Junior MK, Martinez R, Paccola CAJ. Bone cement and gentamicin in the treatment of bone infection: background and in vitro study. Acta Ortop Bras. 2010;18(1): 31-4.
15. Oh EJ, Oh SH, Lee IS, Kwon OS, Lee JH. Antibiotic-eluting hydrophilized PMMA bone cement with prolonged bactericidal effect for the treatment of osteomyelitis. J Biomater Appl. 2016;30(10):1534-44.
16. Li T, Fu L, Wang J, Shi Z. High dose of vancomycin plus gentamicin incorporated acrylic bone cement decreased the elution of vancomycin. Infect Drug Resist. 2019; 12: 2191-2199.

Kode Makalah : IndBio 015

ASAM EIKOSAPENTANOAT MENINGKATKAN PROTEIN ANTI-APOPTOSIS PADA TIKUS MODEL *NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS*

Husna Yetti¹, Tamie Nakajima²

¹ Bagian Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, Indonesia

² Collage of Life and Health Sciences, Chubu University, Kasugai, Jepang

Korespondensi: husnayetti@med.unand.ac.id

Pendahuluan

Asam Eikosapentanoat atau *Eicosapentaenoic acid* (EPA) dapat meringankan lesi jaringan hepar pada perlemakan hati non-alkoholik. Pada studi pendahuluan, kami telah mengembangkan tikus model *stroke-prone spontaneously hypertensive rat strain* (SHRSP5/Dmcr) yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan tinggi kolesterol (HFC) sehingga memberi gambaran *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH). Pada tikus model ini terlihat fibrosis hepar yang berhubungan dengan kematian sel, baik dalam bentuk nekrosis maupun apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek suplementasi EPA terhadap protein yang terlibat pada apoptosis sel hepar.

Metode

Tikus SHRSP5/Dmcr jantan dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Kelompok satu sebagai kontrol, kelompok dua diberi diet HFC, kelompok ketiga diberi diet HFC ditambah dengan EPA, selama 2, 8 dan 14 minggu. Protein pro-apoptosis dan anti-apoptosis pada hepar diukur dengan metode *Western blot*.

Hasil

Diet HFC meningkatkan ekspresi protein pro-apoptosis Bax dan Bak di sel hepar, namun menurunkan ekspresi protein anti-apoptosis Bcl-2 dan Bcl-xl. Suplementasi EPA selama dua minggu relatif meningkatkan protein Bcl-2 dan Bcl-xl secara signifikan dibandingkan pada kelompok diet HFC. Peningkatan protein Bax dan Bak pada kelompok diet EPA, relatif tidak setinggi pada kelompok diet HFC.

Kesimpulan

Suplementasi EPA dapat meningkatkan protein anti-apoptosis sehingga memungkinkan untuk menghambat kematian sel hepar melalui proses apoptosis.

Kata kunci: Bax, Bak, Bcl-2, Bcl-xl, diet tinggi lemak dan kolesterol, NASH

Pendahuluan

Penyakit perlemakan hati nonalkoholik atau yang lebih dikenal dengan istilah *Non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) merupakan penyakit hati yang terdiri dari spektrum luas dari *simple steatosis* ke *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH) dengan atau tanpa fibrosis.¹ NASH dengan fibrosis menjadi perhatian utama karena berpeluang besar untuk berkembang menjadi sirosis dan karsinoma hepatoselular. Namun patogenesisnya masih belum jelas diketahui.^{1,2} Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa proses yang menonjol terjadi pada NASH adalah apoptosis² yang berhubungan dengan terjadinya fibrogenesis.²⁻⁴ Dengan diketahuinya patogenesis terjadinya NAFLD/NASH, diharapkan terapi yang tepat bisa dikembangkan. Saat ini terapi untuk penyakit perlemakan hati terdiri dari perubahan gaya hidup dengan olahraga dan pengaturan diet serta obat-obatan.^{5,6} Salah satu yang sudah diteliti adalah penggunaan asam eikosapentanoat atau yang lebih dikenal dengan *eicosapentanoic acid* (EPA). Asam eikosapentanoat adalah salah satu komponen dari asam lemak tak jenuh omega-3 atau *n-3 polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Asam lemak omega-3 adalah asam lemak esensial yang tidak disintesis didalam tubuh manusia.⁷ Asam lemak omega-3 (EPA ditambah DHA) sebanyak 2-4 gram perhari disetujui untuk pengobatan hipertrigliseridemia.⁸ Tanaka et al. (2008) menunjukkan bahwa EPA dapat menjadi terapi yang aman dan bermanfaat bagi pasien NASH.⁹ LI et al. (2015) juga menunjukkan bahwa *n-3 PUFA* memperbaiki fungsi hepar dan perubahan histologi hepar pada pasien NASH.¹⁰ Penelitian pada hewan juga menunjukkan hal yang sama.¹¹

Meskipun banyak bukti ilmiah yang menyebutkan keuntungan potensial dari *n-3 PUFA*, masih diperlukan pemahaman yang lebih baik bagaimana *n-3 PUFA* mempengaruhi hepar yang merupakan jaringan yang sensitif insulin. Kebanyakan penelitian menggunakan kombinasi EPA dan *docosahexaenoic acid* (DHA), dua buah *n-3 PUFA* rantai panjang yang menunjukkan efek biologi dan spesifik-jaringan yang berbeda. EPA dan DHA telah menunjukkan pengurangan resistensi insulin dan inflamasi pada tikus model yang diberi diet tinggi lemak.¹² Penelitian lain menunjukkan bahwa EPA mencegah penurunan fungsi mitokondria dan kualitas protein yang dipengaruhi usia dengan lebih baik.¹³ EPA juga mempunyai efek anti fibrosis pada hewan coba yang mengalami perlemakan hati.^{14,15} Penelitian kami sebelumnya juga menunjukkan perbaikan steatosis dan inflamasi pada hepar dengan suplementasi EPA.¹⁶ Namun, fungsinya dalam menghentikan apoptosis dalam penyakit hati serta mekanisme molekulernya belum banyak diteliti.

Pada penelitian sebelumnya, kami mengembangkan hewan coba baru yaitu tikus *stroke-prone spontaneously hypertensive rat* (SHRSP5/Dmcr) untuk mempelajari perkembangan NASH dengan memberikan diet tinggi lemak dan tinggi kolesterol.¹⁷ Diet ini menyebabkan kerusakan sel hepar secara histopatologi mirip dengan NASH pada manusia. Pada penelitian tersebut kami menunjukkan bahwa diet tinggi lemak dan tinggi kolesterol (HFC) dapat menginduksi apoptosis.¹⁸ Oleh karena itu, pada penelitian ini akan diteliti efek EPA pada proses apoptosis sel hepar menggunakan hewan coba yang sama. Protein yang terlibat pada proses apoptosis diperiksa dengan metode *Western blot*.

Bahan dan Metode

Hewan coba

Tikus diperlakukan berdasarkan panduan dari Kinjo University Animal Centre dan National Institutes of Health. Seluruh tikus jantan SHRSP5/Dmcr pada usia 10 minggu ditempatkan dalam suhu dan cahaya yang terkontrol (23-25 °C, kelembaban 55-60%), dibagi menjadi 9 grup (n = 6/group). Tiga kelompok pertama diberi makan pakan standar SP (Stroke-prone) diet sebagai kontrol, tiga kelompok kedua diberi diet tinggi lemak dan tinggi kolesterol (HFC), dan tiga kelompok terakhir diberi diet HFC dan suplementasi dengan asam eikosapentanoat (EPA) (1mg/g BB/hari). Pemberian diet tersebut dilakukan selama 2, 8 dan 14 minggu seperti yang telah kami laporkan pada penelitian sebelumnya.¹⁸ Komposisi SP dan HFC diet telah dijelaskan pada penelitian sebelumnya.¹⁷ Setelah 18-20 jam puasa dari makan terakhir, semua tikus dikorbankan dengan pembiusan menggunakan pentobarbital (70 mg/kg), kemudian jaringan hepar diambil dan disimpan pada suhu -80 °C untuk analisis lebih lanjut.

Analisis *Western blot*

Jaringan hepar dihomogenkan dengan 10 mM phosphate buffer (pH 7.4) mengandung sukrosa 0.25 M. Sample dimasukkan ke dalam 10% atau 12.5% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) dan ditransfer ke membran polyvinylidene seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.¹⁸ Membran diinkubasi semalaman pada suhu 4 °C dengan *primary polyclonal* antibodi yaitu Bcl-2, Bcl-xl, Bax, dan Bak (Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA, USA). Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) digunakan sebagai standar internal (Santa Cruz Biotechnology, Inc., CA, USA).

Analisis statistik

Data dipresentasikan sebagai nilai rata-rata $\pm$ standard deviation (SD). Student's *t*-test digunakan untuk membandingkan dua grup. Analisis menggunakan SPSS v. 19.0 (Chicago, IL). Hasil dianggap bermakna jika nilai $P < 0.05$.

Hasil

Diet HFC tidak mempengaruhi protein Bax pada dua minggu jika dibandingkan dengan diet SP, diet HFC meningkatkan protein Bax ini pada periode waktu selanjutnya, seperti pada yang kami laporkan pada penelitian sebelumnya.¹⁸ Peningkatan protein Bax pada suplementasi EPA cenderung lebih rendah dari kelompok diet HFC walaupun tidak signifikan. Begitu juga dengan ekspresi protein Bak pada kelompok diet HFC meningkat signifikan dibanding kelompok diet SP. Pada suplementasi EPA, peningkatan ekspresi protein Bak cenderung lebih rendah dibandingkan dengan kelompok diet HFC (Fig. 2). Sebaliknya, ekspresi protein anti apoptosis Bcl-2 pada kelompok diet HFC di dua minggu mengalami penurunan secara signifikan dibandingkan dengan kelompok diet SP. Dengan perpanjangan waktu pemberian diet HFC, penurunan Bcl-2 semakin jelas. Pada dua minggu pemberian suplementasi EPA, penurunan ekspresi protein Bcl-2 tidak serendah pada kelompok diet HFC walaupun tidak signifikan. Ekspresi protein Bcl-xl pada suplementasi EPA lebih tinggi secara signifikan dibanding kelompok diet HFC pada saat dua minggu. Dan begitu juga pada waktu berikutnya, dimana ekspresi Bcl-xl cenderung lebih tinggi dibanding kelompok diet HFC. Ini berarti suplementasi EPA dapat menghambat penurunan ekspresi protein anti-apoptosis karena diet HFC, terutama pada pemberian awal suplementasi EPA.

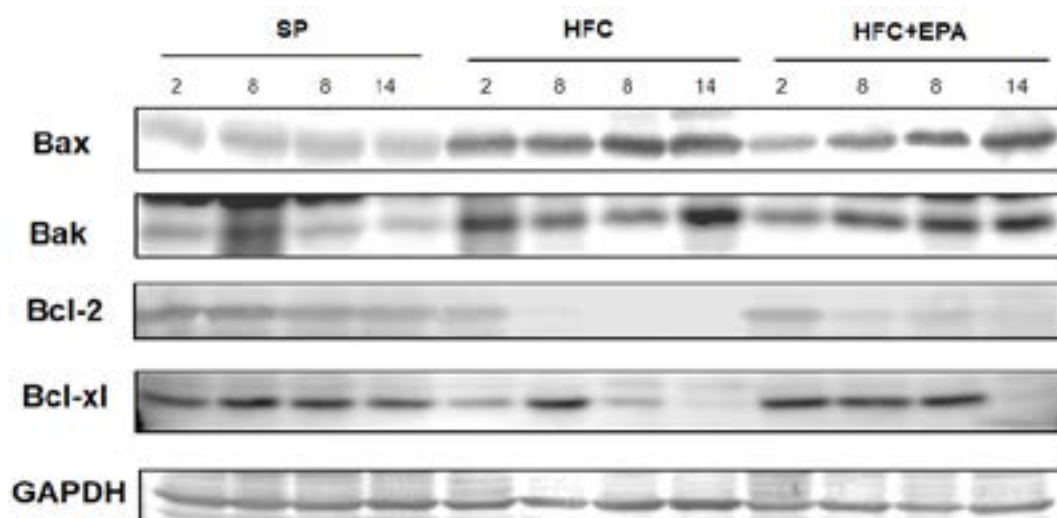


Fig. 1. Representatif gambar Western blot protein pro- dan anti-apoptosis pada pemberian diet kontrol (SP), tinggi lemak dan tinggi kolesterol (HFC) dan suplementasi EPA pada 2, 8 dan 14 minggu. GAPDH digunakan sebagai kontrol loading.

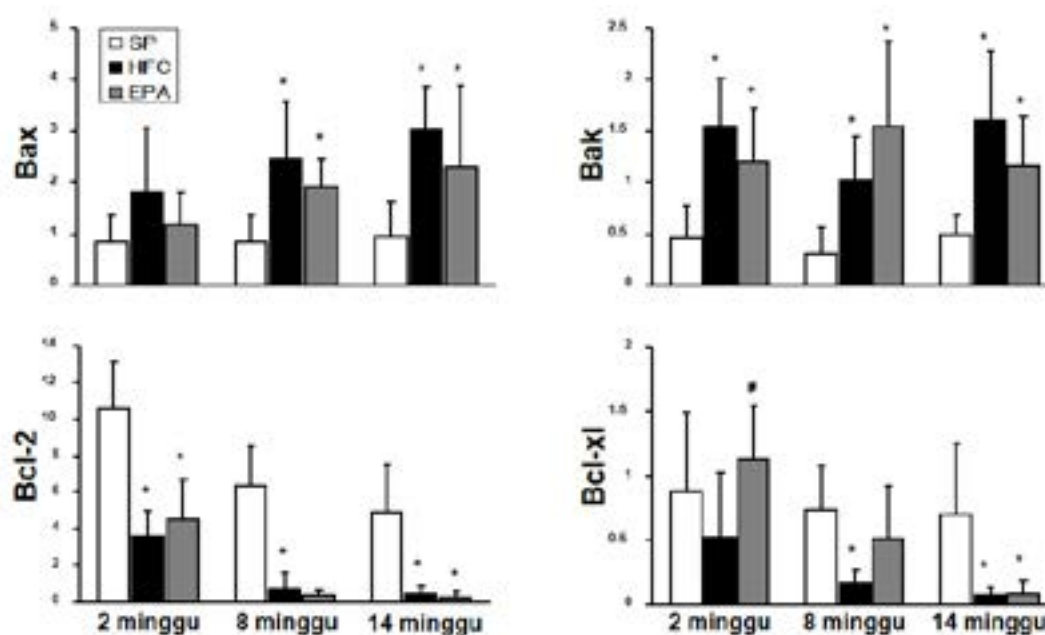


Fig. 2. Intensitas relatif Western blot protein Bax, Bak, Bcl-2 dan Bcl-xl pada pemberian diet kontrol (SP), tinggi lemak dan tinggi kolesterol (HFC) dan suplementasi EPA pada 2, 8 dan 14 minggu. Nilai berupa rata-rata $\pm$ SD dari 6 tikus per grup (kecuali untuk SP 14 minggu, $n = 7$). * $p < 0.05$ vs. SP; # $p < 0.05$ vs. HFC.

Pembahasan

Pada penelitian ini menunjukkan penghambatan protein pro-apoptosis dan peningkatan protein anti-apoptosis oleh suplementasi EPA. Apoptosis melibatkan mekanisme yang kompleks yang bisa dibagi menjadi dua jalur yaitu jalur ekstrinsik, yang dimediasi oleh death-receptor, dan jalur intrinsik yang dimediasi mitokondria.¹⁹ Pada jalur ekstrinsik, TNF- α berikatan dengan TNF-R1 yang akan mengakibatkan trimerisasi dan pengambilan adaptor protein, TNF-R1-associated Death Domain (TRADD), atau Fas-associated Death Domain (FADD). Selanjutnya, FADD akan merekrut dan mengaktifkan caspase 8, diikuti oleh pembelahan protein Bid dan translokasi protein Bax ke dalam mitokondria.²⁰

Penelitian ini menginvestigasi efikasi dari suplementasi EPA sebagai salah satu komponen dari n-3 PUFA untuk menghambat proses kematian sel hepar. Walaupun suplementasi EPA tidak ada pengaruh pada elemen pro- and anti-apoptosis yang begitu jelas, tapi EPA meningkatkan ekspresi protein anti-apoptosis Bcl-xl secara signifikan pada periode awal pemberian suplementasi EPA. Ini menunjukkan bahwa EPA mempunyai efek anti-apoptosis dengan meningkatkan protein anti-apoptosis. Jalur lain bagaimana mekanisme EPA menghambat apoptosis perlu diteliti lebih lanjut, yaitu TNF- α , caspase 8, caspase 9 dan mitokondria. Kenyataannya, EPA dilaporkan menghambat TNF- α menginduksi aktivasi caspase 8 dan menghambat TNF- α menginduksi terjadinya nekrosis sel.²¹ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa EPA dapat menurunkan aktifitas caspase-3/7 pada proses apoptosis sel hepar akibat induksi oleh asam empedu, dan efeknya akan menjadi sinergis jika dikombinasikan dengan DHA.²² Hasil ini ditunjukkan kembali oleh Silvia et al. (2012), yang menyatakan bahwa efek anti-apoptosis EPA dibuktikan oleh kemampuannya menurunkan biomarker apoptosis yang utama yaitu aktivasi caspase dan fragmentasi DNA.²³ Selanjutnya, kerusakan sel hati yang disebabkan oleh penumpukan asam empedu dapat diringankan oleh n-3 PUFA dengan mengaktifkan mRNA PPAR α dan menurunkan mRNA LXR α .²⁴

Kesimpulan

Suplementasi EPA meningkatkan protein anti-apoptosis Bcl-2 dan Bcl-xl yang memungkinkan terjadinya penghambatan proses apoptosis sel hepar.

Ucapan terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Mochida Pharmacy (Tokyo, Japan) atas penyediaan suplementasi EPA.

Daftar pustaka

1. Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2010;5:145–171.
2. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, et al. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2003;125:437-443.
3. Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ. Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology* 2002;123:1323-1330.

4. Canbay A, Taimr P, Torok N, Higuchi H, Friedman S, Gores GJ. Apoptotic body engulfment by a human stellate cell line is profibrogenic. *Lab Invest* 2003; 83:655-663.
5. Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol* 2017;67:829–846.
6. Francque S, Vonghia L. Pharmacological treatment for non-alcoholic fatty liver disease. *Adv Ther* 2019;36:1052–1074.
7. Céspedes N, Tamayo A, Rodriguez MJ, Zúniga-Hernández J. EPA plus DHA improves survival related to a decrease of injury after extended liver ischemia in Sprague-Dawley rats. *Ann Hepatol* 2019. doi.org/10.1016/j.aohep.2019.09.003
8. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:151-152.
9. Tanaka N, Sano K, Horiuchi A, Tanaka E, Kiyosawa K, Aoyama T. Highly purified eicosapentaenoic acid treatment improves nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2008;42:413–418.
10. Li YH, Yang LH, Sha KH, Liu TG, Zhang LG, Liu XX. Efficacy of poly-unsaturated fatty acid therapy on patients with nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2015;21:7008–7013.
11. Ishii H, Horie Y, Ohshima S, Anezaki Y, Kinoshita N, Dohmen T, et al. Eicosapentaenoic acid ameliorates steatohepatitis and hepatocellular carcinoma in hepatocyte-specific Pten-deficient mice. *J Hepatol* 2009;50:562-71.
12. Poudyal H, Panchal SK, Ward LC, Brown L. Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr Biochem* 2013;24:1041–1052.
13. Johnson ML, Lalia AZ, Dasari S, Pallauf M, Fitch M, Hellerstein MK, et al. Eicosapentaenoic acid but not docosahexaenoic acid restores skeletal muscle mitochondrial oxidative capacity in old mice. *Aging Cell* 2015;14:734–743.
14. Konuma K, Itoh M, Suganami T, Kanai S, Nakagawa N, Sakai T, et al. Eicosapentaenoic acid ameliorates non-alcoholic steatohepatitis in a novel mouse model using melanocortin 4 receptor deficient mice. *PLoS ONE* 2015;10(3): e0121528. doi:10.1371/journal.pone.0121528
15. Zhang K, Chang Y, Shi Z, Han X, Han Y, Yao Q, et al. ω -3 PUFAs ameliorate liver fibrosis and inhibit hepatic stellate cells proliferation and activation by promoting YAP/TAZ degradation. *Scientific Reports* 2016;6:30029. doi: 10.1038/srep30029.
16. Jia X, Naito H, Yetti H, Tamada H, Kitamori K, Hayashi Y, et al. The modulation of hepatic adenosin triphosphate and inflammation by eicosapentaenoic acid during severe fibrotic progression in the SHRSP5/Dmcr rat model. *Life Sci* 2012;90:934-43.
17. Kitamori K, Tamada H, Kobayashi M, Naito H, Miyazawa D, Yasui Y, et al. Development of novel rat model for high-fat and high-cholesterol diet-induced steatohepatitis and severe fibrosis progression in SHRSP5/Dmcr. *Environ Health Prev Med* 2012;17:173-182.
18. Yetti H, Naito H, Jia X, Shindo M, Taki H, Tamada H, et al. High fat-cholesterol diet mainly induced necrosis in fibrotic steatohepatitis rat by suppressing caspase activity. *Life Sci* 2013;93:673–80.

19. Guicciardi M, Gores G. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut* 2005;54:1024-1033.
20. Ding WX, Yin XM. Dissection of the multiple mechanisms of TNF- α -induced apoptosis in liver injury. *J Cell Mol Med* 2004;8:445-454.
21. Magee P, Pearson S, Allen J. The omega-3 fatty acid, eicosapentaenoic acid (EPA), prevents the damaging effects of tumour necrosis factor (TNF)- α during murine skeletal muscle cell differentiation. *Lipids Health Dis* 2008;7:24. doi:10.1186/1476-511X-7-24.
22. Tillman EM, Helms RA, Black DD. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid synergistically attenuate bile acid-induced hepatocellular apoptosis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012;36(1):36-42.
23. Silvia C, Benedetta T, Flavio F, Claudia P, Annalisa F, Claudio S, et al. Antiapoptotic and antiautophagic effects of eicosapentaenoic acid in cardiac myoblasts exposed to palmitic acid. *Nutrients* 2012;4:78-90.
24. Tillman EM, Guan P, Howze TJ, Helms RA, Black DD. Role of PPAR α in the attenuation of bile acid-induced apoptosis by omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in cultured hepatocytes. *Pediatric Research* 2016;79(5):754-758.

Kode Makalah : IndBio 016

Persentasi *Blastocystis hominis* pada Anak Usia Sekolah dan Kelompok Dewasa di Dua Lingkungan Berbeda

¹ Ndaru Andri Damayanti, ² Ananda Umica Ressapati, ³ Bella Bonita¹Prodi Magister Biomedis, ²Fakultas Kedokteran Universitas YARSI
ndaru_andri@yahoo.com

ABSTRAK

Blastocystis hominis merupakan salah satu protozoa usus yang sering ditemukan pada pemeriksaan feses dengan gejala diare ringan atau tanpa gejala. *B. hominis* dapat dijadikan salah satu indikator adanya kontaminasi kotoran manusia dengan makanan dan minuman. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur angka infeksi *B. hominis* pada anak usia sekolah dasar dan orang dewasa yang tinggal di lingkungan berbeda. Penelitian ini menggunakan metode *random sampling* dengan jumlah responden sebanyak 174 orang. 78 adalah kelompok anak-anak usia sekolah dan 96 merupakan kelompok dewasa. 46 berasal dari siswa dari SDIT Al-Marjan di lingkungan bersih dan 32 dari siswa SDN 13 Pagi Johar Baru di lingkungan kurang bersih. Kelompok dewasa terdiri dari 50 orang mahasiswa YARSI sebagai kelompok dari lingkungan bersih dan 49 orang tinggal di Kecamatan Johar Baru sebagai lingkungan yang kurang bersih. Hasil penelitian menunjukkan angka *B. hominis* yang lebih tinggi pada siswa di lingkungan bersih (21.9%) dibandingkan dengan siswa di lingkungan kurang bersih (6.5%). Pada kelompok dewasa *B. hominis* mencapai 28% dari lingkungan bersih dan 21.7% dari lingkungan kurang bersih. *B. hominis* ditemukan pada kelompok anak usia sekolah dan dewasa baik yang tinggal di lingkungan bersih maupun kurang bersih.

Keyword : protozoa usus, *Blastocystis hominis*, diare, anak usia sekolah

Pendahuluan

Infeksi protozoa masih menimbulkan berbagai masalah kesehatan terutama di negara berkembang ¹. Anak usia sekolah merupakan salah satu kelompok yang rentan terhadap infeksi protozoa saluran cerna. Beberapa studi juga menunjukkan angka infeksi protozoa usus yang tinggi pada orang dewasa. Gangguan yang ditimbulkan bervariasi, mulai dari tanpa gejala, diare ringan, gangguan sistem pencernaan hingga yang berakibat fatal dapat menyebabkan kematian ². Salah satu spesies yang banyak ditemukan adalah *Blastocystis hominis* dengan prevalensi mencapai 50-60% di negara berkembang dan 10% di negara maju ^{3,4}. Beberapa studi mencatat bahwa infeksi *B. hominis* bersifat patogen yang menyebabkan diare pada penderitanya namun pada sebagian orang, organisme ini hidup secara komensal ^{5,6}. Beberapa tahun terakhir banyak studi mempublikasi bahwa infeksi *B. hominis* sering ditemukan pada individu *immuno-compromised* ⁷. *B. hominis* dicatat sebagai protozoa usus yang ditemukan pada beberapa hewan seperti, ayam, monyet dan babi ⁸.

B. hominis merupakan protozoa bersel satu yang ditemukan pada anak-anak dan sering dihubungkan dengan rendahnya tingkat sanitasi, kontaminasi air minum dan makanan serta kebersihan individu ¹. Faktor lain yang tidak secara langsung namun mendukung kejadian infeksi blatisitis pada anak-anak adalah kurangnya pendidikan kesehatan pada orang tua dan rendahnya tingkat kebersihan rumah tinggal. Penelitian ini akan melihat bagaimana persentasi *B. hominis* pada kelompok anak usia sekolah dan dewasa yang tinggal di lingkungan padat dengan tingkat sanitasi yang kurang baik dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di Wilayah Johar Baru Jakarta Pusat yang merupakan lingkungan tinggal yang padat dengan tingkat sanitasi yang kurang baik. Sebagai kelompok kontrol adalah masyarakat yang tinggal di Cempaka Putih dan Bekasi. Subyek penelitian adalah kelompok anak usia sekolah dasar dari dua lingkungan yang berbeda. Untuk kelompok dewasa, subyek penelitian adalah masyarakat yang tinggal di dua lingkungan yang berbeda.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan surat lolos kaji etik dari Universitas YARSI. Semua responden telah menandatangani surat pernyataan yang dijelaskan. Responden yang ikut dalam penelitian ini sebanyak 174 orang yang terdiri dari 78 orang anak usia sekolah dasar dan 96 orang adalah kelompok orang dewasa. Semua sampel feses dikumpulkan menggunakan pot plastik feses yang dilengkapi sendok. Sampel diperiksa di Laboratorium Mikro-Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas YARSI. Metode yang digunakan adalah teknik pemeriksaan feses langsung dengan media garam faal menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran lemah 10 x 40. Semua responden dibantu untuk melakukan pengisian kuesioner data pribadi dan lingkungan tinggal

Rentang usia kelompok anak sekolah adalah 9-11 tahun dan kelompok dewasa antara 19- 45 tahun. Data penelitian dicatat dan diolah menggunakan SPSS *Statistics Destkop* dan dianalisis dengan uji *Chi Square*.

Hasil dan Diskusi

Sampel yang terkumpul terdiri dari 78 orang dari kelompok anak-anak dan 96 orang dari kelompok orang dewasa seperti yang tampak pada tabel 3.1. Data kebersihan tempat tinggal dihitung dari persentasi kuesioner ketersediaan sumber air bersih dari PAM, sarana toilet pribadi dan tempat sampah di dalam rumah. Lebih dari 80% subyek telah menggunakan air bersih melalui ketersediaan PAM dan hampir 20% masih menggunakan air tanah untuk kebutuhan masak, mandi dan cuci. 69.56% dari subyek yang tinggal di lingkungan kurang bersih telah menggunakan sarana toilet pribadi, ada sekitar 30% yang masih menggunakan toilet bersama. Dan pada kelompok kontrol masih ada 4% yang menggunakan sarana toilet bersama. 56% subyek di lingkungan kurang bersih tidak menyediakan tempat sampah di dalam rumah dan pada kelompok kontrol ada 4%. Angka ini sesuai dengan data yang diberikan oleh Riskesdas dan Beppenas pada tahun 2018.

Kriteria	Kontrol	sanitasi kurang
Jenis kelamin		
laki-laki	35 (70%)	13 (28.3%)
perempuan	15 (30%)	33 (71.7%)
Usia		
19-30 tahun	40 (80%)	15 (32.6%)
31-45 tahun	10 (20%)	31 (67.4%)
Sumber air bersih		
PAM	41 (82%)	40 (86.9%)
Air tanah	9 (18%)	6 (13.1%)
Toilet		
pribadi	48(96%)	32 (69.56%)
bersama	2 (4%)	14 (30.44%)
Tempat sampah		
ada	48(96%)	26 (56%)
tidak ada	2 (4%)	20 (44%)

Data kebersihan peribadi diperoleh dari hasil hitung persentasi kuesioner yang berisi kebersihan kuku pada kelompok anak usia sekolah. Hasilnya terlihat pada Tabel 3.2. 25% anak-anak dari kelompok sanitasi kurang memiliki kuku kotor dan panjang, Sementara masih ada sekitar 6.5% anak-anak dari kelompok kontrol yang kukunya kotor.

Tabel 3.1. Karakteristik subyek dan kebersihan sanitasi dari kelompok kontrol dan sanitasi kurang bersih

Kriteria	kontrol	sanitasi kurang
Jenis kelamin		
laki-laki	14 (30.4%)	9 (28.1%)
perempuan	32 (69.9%)	23 (79.9%)
Kebersihan peribadi		
kuku bersih	43 (93.5%)	24 (75%)
kuku kotor	3 (6.5%)	8 (25%)

Persentasi infeksi protozoa usus diperoleh dari hitung sejumlah spesies protoa usus pada pemeriksaan feses. Tabel 3.3 menunjukkan hasil pada kedua kelompok subyek ditemukan kista *B.hominis*. Pada kelompok anak –anak yang tinggal di lingkungan kurang bersih *B.hominis* sebesar 21.9% dan pada kontrol sebesar 6.5%. Demikian halnya pada kelompok dewasa dari lingkungan kurang bersih *B.hominis* mencapai 21% dan pada kelompok kontrol 28%. Hasil ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Belleza *et al* (2016), yang menghitung infeksi *B.hominis* di wilayah perkotaan di Filipina pada populasi dengan distribusi usia 1 tahun sampai 70 tahun mencapai angka prevalensi hampir 20%⁹. Pada pemeriksaan feses juga ditemukan spesies protozoa lain yang menunjukkan adanya infeksi protozoa campuran yaitu *B.homminis* dan *Entamoeba coli* sebesar 3% pada anak-anak di lingkungan kurang bersih. Dan infeksi campuran *B.hominis* dan *Giardia lamblia* sebesar 2% pada kelompok dewasa yang tinggal di lingkungan kurang bersih. Hasil ini juga ditemukan pada penelitian Abdulsalam *et al.* (2012) yang melakukan pemeriksaan fese pada anak-anak usia sekolah di Malaysia¹⁰.

Tabel 3.2. Karakteristik subyek dan kebersihan peribadi dari kelompok kontrol dan sanitasi kurang bersih

Protozoa usus	kontrol	sanitasi kurang
kelompok anak sekolah		
B.hominis	21.9% (N=46)	6.5% (N=32)
E.coli	0	0
B.hominis +E.coli	0	3.1%
Infeksi helmin	0	0
Kelompok dewasa		
B.hominis	28% (N= 50)	21% (N=46)
E.coli	0	0
B.hominis + G. lamblia	0	2%
Infeksi helmin	0	0

Uji statistik yang dilakukan terhadap hasil yang berbeda tidak menunjukkan angka yang bermakna ($p > 0,05$), artinya infeksi *B.hominis* dapat ditemukan pada subyek yang tinggal di lingkungan dengan menggunakan sumber air bersih dari PAM ataupun air tanah. *B.hominis* juga dapat pada subyek yang menggunakan toilet pribadi maupun bersama. Dan *B.hominis* ditemukan pada subyek yang menyediakan tempat sampah di dalam rumah ataupun tidak. Infeksi *B.hominis* ditemukan pada kelompok anak usia sekolah dan kelompok dewasa, walaupun kelompok dewasa dianggap memiliki kebersihan pribadi yang lebih baik dibandingkan kelompok anak-anak.

Infeksi *B.hominis* yang ditemukan pada penelitian ini tidak ada yang memberikan gejala klinik atau asimtomatis, baik pada kelompok dewasa maupun anak-anak. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Kaya *et al.* 2007 dengan mencatat gejala klinik yang ditimbulkan pada orang-orang dengan infeksi *B.hominis*. Salah satu gejala yang khas adalah diare. Selanjutnya dijelaskan bahwa diare akan menjadi keluhan utama pada penderita *B.hominis* apabila tidak ada infeksi protozoa lain¹¹.

Simpulan dan Saran

Persentase infeksi *B.hominis* pada kelompok anak-anak dan dewasa pada dua lingkungan berbeda yang memberikan hasil tidak bermakna dapat menjadi petunjuk bahwa kebersihan pribadi dan lingkungan belum cukup untuk mencegah transmisi *B.hominis*, walaupun kebersihan pribadi memberikan kecenderungan yang berbeda. Untuk penelitian yang akan datang perlu dilengkapi data adanya hewan peliharaan pada orang-orang dengan infeksi *B.hominis*.

Referensi

1. Mukhiya R.K, Rai S.K, Karki A.B, 2012. *Intestinal Protozoan Parasitic Infection among School Children*. Kathmandu, Nepal: J Nepal Health Res Counc 2012 Sep;10(22):204-207.
2. Speich, B, Marti, H, Ame, S.M, et al, 2013. *Prevalence of intestinal protozoa infection among school-aged children on Pemba Island, Tanzania, and effect of single-dose albendazole, nitazoxanide, and albendazole-nitazoxanide*. BioMed Central- Parasites & Vectors. 6:3. 1-8.
3. Duda, A., Bogacka, D.K., Arendarczyk, N.L., Kołodziejczyk, L. and Lanoch, A. 2015. The Prevalence of *Blastocystis hominis* and Other Protozoan Parasites in Soldiers Returning from Peacekeeping Missions. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene
4. Alfellani, M.A., Stensvold, C.R., Vidal-Lapiedra, A., Onuoha, E.S., Fagbenro-Beyioku, A.F., Clark, C.G. 2013. Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. *Acta Trop.*, 126: 11–8.
5. Yakoob, J, Jafri, W, Beg, M.A, et al. 2010. *Irritable bowel syndrome: is it associated with genotypes of Blastocystis hominis*. Springer Science & Business Media B.V. 106:1033–1038.
6. Anorital Anorital, Rita M. Dewi, Sahat Ompusunggu.2010. Distribusi Parasit Usus Protozoa di Kabupaten Hulu Sungai Utara Kalimantan Selatan. p-ISSN: 0853-9987, e-ISSN: 2338-3445. <http://ejournal.litbang.depkes.go.id/index.php/MPK/article/view/742>
7. Stensvold CR, Lewis HC, Hammerum AM et al. “*Blastocystis*: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite”. *Epidemiol Infect* 2009; 137 (11):1655–6

8. Rivera, W.L. 2008. "Phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from animal and human hosts in the Philippines," *Veterinary Parasitology*, vol. 156, no. 3-4, pp. 178–182, 2008.
9. Belleza, M.L.B., Cadacio, J.L.C., Borja, M.P., Solon, J.A.A., Padilla, M.A., Rivera, P.N.T. and Rivera, W.L. Epidemiologic Study of *Blastocystis* Infection in an Urban Community in the Philippines *Journal of Environmental and Public Health*. Volume 2015,
10. Abdusalam, A.M., Ithoi, I., Al-Mekhlafi, H.M., Ahmed, A., Surin, J. and Mak, J.W. Drinking water is a significant predictor of *Blastocystis* infection among rural Malaysian primary schoolchildren. *Parasitology* (2012), 139, 1014–1020.
11. Kaya, S., Cetin, S.E., Aridogani, B.C., Arikan, S. and Demirci, M., Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, A Clinical Reevaluation *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31 (3): 184-187, 2007

Kode Makalah : IndBio 017

PERBEDAAN EKSPRESI TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA-1, INTERLEUKIN-8 DAN INTERLEUKIN-18 ANTARA JARINGAN HYPERPLASIA PROSTAT DENGAN KANKER PROSTAT

Afdal

Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Pekanbaru

ABSTRAK

Hiperplasia prostat dan kanker prostat merupakan dua jenis kelainan prostat yang paling sering ditemukan pada laki-laki yang berhubungan dengan inflamasi. Hasil penelitian banyak melaporkan bahwa network sitokin inflamasi berperan dalam penyakit prostat. Akan tetapi, penelitian tersebut hanya meneliti satu sitokin pada masing-masing penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis network sitokin inflamasi yaitu : ekspresi TGF- β 1, IL-8 dan IL-18 secara simultan pada jaringan hiperplasia prostat dengan kanker prostat.

Penelitian ini bersifat observasional dengan mengevaluasi network sitokin inflamasi secara imunohistokimia dengan menggunakan blok parafin jaringan hiperplasia prostat dan kanker prostat yang tersedia di laboratorium patologi anatomi fakultas kedokteran Universitas Andalas Padang. Ekspresi sitokin seluler pada epitel dan stroma dikerjakan secara semi kuantitatif menurut imuno reactive score.

Hasil penelitian mendapatkan bahwa ekspresi IL-8 sedikit meningkat pada PCA, sementara itu ekspresi IL-18 rendah pada jaringan PCA. Lebih lanjut, ekspresi TGF- β 1 tinggi pada stroma jaringan BPH.

Sebagai kesimpulan TGF- β 1 tereksresi tinggi pada stroma BPH. Penelitian ini diharapkan mendapatkan network sitokin inflamasi pada penyakit prostat yang dibutuhkan sebagai biomarker atau target terapi dimasa datang.

Kata kunci : Hiperplasia prostat, kanker prostat, TGF β -1, IL-8 dan IL-18.

ABSTRACT

Benign prostatic hyperplasia and prostate cancer are two of the most common prostatic abnormalities to be found on male which related to inflammation. Many studies have reported, many inflammatory network cytokines have a role in prostate diseases. However one study have only looked at one cytokine in each disease. This study aims to analyze the inflammation networks including TGF- β 1, IL-8 and IL-18 simultaneously in BPH and PCA.

This research is an observational study evaluating inflammatory networks immunohistochemistry staining using paraffin embedded tissues samples obtained from the Laboratory of Anatomical Pathology on Andalas University, Padang. The cellular expression of cytokines on epithelial or stroma area were done semiquantitatively according to the IRS scoring system.

This study found. IL-8 have slightly higher expression, mean while IL-18 have slightly lower in epithelial tissue. TGF- β 1 expression was highly expressed in stroma BPH tissue.

In conclusion, there TGF- β 1 expression was highly expressed in stromal PBH. This leads to importance of inflammatory network in prostate disease which needed biomarker on targeted therapy development in future.

Key words : benign prostatic hyperplasia, prostate cancer, TGF- β 1, IL-8, IL-18

PENDAHULUAN

Pembesaran prostat jinak atau *benign prostatic hyperplasia (BPH)* dan kanker prostat merupakan dua jenis kelainan prostat dan penyakit urologi yang paling sering ditemukan pada laki-laki¹, dimana insiden penyakit ini semakin meningkat dari tahun ke tahun. *Benign prostatic hyperplasia (BPH)* merupakan jenis neoplasma jinak tersering pada laki-laki usia lanjut, terutama pada usia dekade kelima ke atas. Hasil pemeriksaan histopatologi prostat pada autopsi menunjukkan prevalensi BPH mencapai 50% pada pria berusia 50-60 tahun dan meningkat lebih dari 80% pada usia di atas 70 tahun.^{1,2,3,4} Sementara itu, kanker prostat merupakan jenis kanker bukan kulit tersering pada laki-laki di seluruh dunia dan merupakan kanker pembunuh nomor dua tersering pada laki-laki di Amerika Serikat dan negara Barat lainnya.^{1,2}

Insiden kanker prostat bervariasi dari negara ke negara, dimana didapatkan lebih tinggi pada negara maju. Insiden kanker prostat di Asia 2,5 – 10 per 100.000 penduduk. Insiden kanker prostat di Indonesiabelum diketahui secara pasti. Data hanya diperoleh dari survei dirumah sakit.

Benign prostatic hyperplasia dan kanker prostat juga memiliki kesamaan dalam hal patogenesis, keduanya diketahui merupakan jenis penyakit yang berkaitan dengan hormon (*hormon dependen*) dan inflamasi pada prostat.^{1,2,3,5,6,7} Walaupun memiliki tempat predileksi yang berbeda pada prostat, pada dasarnya kedua penyakit ini merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan adanya inisiasi awal (*early initiation*) dan progresi yang lambat hingga terbentuk suatu gejala klinis.^{1,2,5} Secara histopatologi, BPH lebih sering ditemukan pada zona transisi dan zona sentral prostat, sedangkan kanker prostat lebih sering ditemukan pada zona perifer.^{1,2,5} Hanya sekitar 20% kasus ditemukan BPH dan kanker prostat pada suatu zona yang sama pada prostat.¹

Pembesaran yang terjadi pada prostat masih belum jelas penyebab pastinya. Pada lima tahun terakhir ini, inflamasi kronis pada prostat merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penyakit BPH dan kanker prostat.^{2,3,4,5,8,9,10} Sekitar 20% kanker pada manusia, termasuk kanker prostat, diketahui berhubungan dengan adanya inflamasi sekunder akibat suatu infeksi (prostatitis), asupan makanan, perubahan hormonal atau paparan faktor lingkungan lainnya.^{3,5,6,8,10}

Pembesaran prostat jinak sering kali dikaitkan dengan inflamasi kronis yang melibatkan sel limfosit T dan B, serta makrofag.^{3,7,9,11} Penelitian *Medical Therapy of Prostate Symptoms (MTOPS)* menunjukkan bahwa inflamasi kronis ditemukan pada sekitar 40% hasil biopsi pasien dengan nilai *prostate-specific antigen (PSA)* yang tinggi dan volume prostat yang besar. Selain itu, inflamasi kronis pada prostat juga dilaporkan dapat meningkatkan risiko progresi BPH dan retensi urine akut, tidak terkecuali pada pasien dengan volume prostat yang kecil.^{1,2,5,11,12,13} Pada penelitian REDUCE juga ditemukan bahwa dari 8824 pasien yang dilakukan biopsi prostat terdapat 77,4% pasien yang memiliki inflamasi kronis. Selain itu, inflamasi prostat kronis juga dilaporkan berhubungan dengan semakin besarnya volume prostat dan tingginya nilai *International Prostate Symptom Score (IPSS)*.^{2,3,11,14,15,16}

Inflamasi kronis pada prostat diketahui dapat memicu pelepasan sitokin dan faktor-faktor inflamasi lainnya dari sel-sel inflamasi dan sel epitel prostat yang mengalami hipoksia. Berbagai sitokin dan faktor inflamasi tersebut akan berinteraksi dengan sel stroma dan epitel prostat, sehingga menyebabkan kerusakan jaringan lebih lanjut.^{1,3} Beberapa penelitian menunjukkan peran *lymphocyte-derived growth factor* terhadap pertumbuhan sel stroma prostat. Infiltrat limfosit ini akan memacu pelepasan berbagai sitokin proinflamasi, terutama IL-2, Interferon- γ , dan TNF- α . Pelepasan sitokin inflamasi ini memicu pelepasan sitokin antiinflamasi seperti TGF- β yang nan-

tinya akan memacu pertumbuhan jaringan fibromuskular prostat. Setelah terinisiasi, sel dendritik akan mengatur dan menjaga respon infiltrat sel limfosit T di dalam prostat, sehingga menyebabkan proses inflamasi menjadi kronis dan mengalami progresi.^{1,19}

Penna *et al.* melaporkan bahwa interferon- γ dan IL-17 yang dihasilkan oleh sel-T CD4⁺ akan menginduksi produksi IL-6 dan IL-8. Interleukin-6 merupakan *growth factor* autokrin, sementara IL-8 merupakan sitokin parakrin yang dapat menginduksi *fibroblast growth factor-2*. Keduanya merupakan *growth factor* yang menjadi kunci pertumbuhan sel epitel dan stroma prostat pada BPH.^{1,3,14,17}

Dewasa ini, Hamakawa *et al.* (2014), melaporkan peran IL-18 sebagai sitokin proinflamasi dalam patogenesis BPH. Dari penelitian tersebut bahwa IL-18 banyak terekspresi pada jaringan epitel dan stroma prostat dengan BPH, baik pada tikus percobaan maupun manusia. Lebih jauh lagi, IL-18R dilaporkan banyak terekspresi pada jaringan stroma, terutama pada bagian sel otot polos. Interleukin leukin-18 juga dilaporkan dapat meningkatkan kadar trombospondin-1 (TSP-1) yang dapat meningkatkan proliferasi sel stroma prostat manusia.¹⁸

Kanker prostat disebabkan oleh banyak faktor seperti infeksi, perubahan hormonal, kebiasaan diet, inflamasi urinarius, trauma fisik, instabilitas genetik dan epigenetik. Inflamasi kronis diduga berpengaruh kuat terhadap patogenesis kanker prostat. Adapun peran inflamasi kronis tersebut banyak dikaitkan dengan infeksi (terutama infeksi menular seksual). Dugaan infeksi ini diperkuat, karena penggunaan obat anti inflamasi seperti aspirin dan non steroid. Anti inflamasi dapat mengurangi resiko kanker prostat, oleh karena itu inflamasi dianggap sebagai factor inisiasi untuk terjadinya kanker prostat.^{1,2,4,5}

Walaupun *PROSTAT-SPECIFIC Antigen* (PSA) pada saat ini dianggap sebagai predictor untuk mengidentifikasi kanker prostat, tetapi masih dipertanyakan apakah efektif untuk menentukan survival rate. PSA juga mempunyai keterbatasan tidak cukup bisa membedakan secara jelas antara hiperplasia prostat dan kanker prostat, sehingga tidak bisa digunakan sebagai marker untuk deteksi kelainan prostat. Oleh karena itu, diperlukan bahan yang lebih dipercaya sebagai marker untuk deteksi kanker prostat.¹⁴

Kanker prostat memiliki spektrum klinis maupun gambaran histologis yang luas yang berhubungan dengan luaran akhir penderita. Diantara gambaran histologis ini, indeks Gleason merupakan sistem skoring yang memiliki korelasi kuat dengan luaran klinis penderita. Indeks ini menggambarkan gambaran differensiasi sel yang mencerminkan differensiasi sel tumor. Differensiasi sel pada keganasan dipengaruhi berbagai mutasi genetik pada tumor serta interaksi sel tumor dengan faktor *host* seperti sitokin, sel imun, dan vaskularisasi. Berbagai sitokin seperti *Transforming growth factor* β 1 (TGF β 1), dan berbagai interleukin mempengaruhi interaksi sel tumor dan *host*.⁴

Transforming growth factor β 1 dikenal sebagai faktor pengendali progresifitas tumor. Sitokin ini memiliki peran bifasik dalam karsinogenesis. Pada fase awal perkembangan kanker TGF β 1 berperan sebagai tumor suppresor dengan cara menghambat proliferasi seluler. Akan tetapi pada stadium lanjut justru akan berfungsi sebagai promotor tumor. *Transforming growth factor* β 1 akan menginduksi perubahan seluler yang akan berhubungan dengan invasi sel tumor.¹⁵ Kehilangan fungsi TGF β -1 ditemukan pada sejumlah keganasan seperti kanker payudara, ovarium, oesophagus, kepala dan leher. Perubahan epigenetik yang menurunkan ekspresi TGF juga telah ditemukan pada karsinoma lambung, paru dan kolon.¹³

Interleukin-8 adalah sitokin proinflamasi yang banyak ditemukan pada berbagai jenis tumor solid, termasuk kanker prostat, dan diduga berperan dalam proses malignansi melalui kemampuannya dalam meregulasi matriks metalloproteinase (MMP). Interleukin-8 yang berikatan dengan CXCR1/2 bekerja se-

cara autokrin untuk menjaga pertumbuhan dan kesinambungan sel kanker melalui berbagai jalur aktivasi. Lebih jauh lagi, melalui mekanisme tersebut, IL-8 dapat mengatur mediator inflamasi lainnya secara parakrin, serta memperkuat ekspresi CXCR4 dan CCL2 yang berperan dalam proliferasi, kesintasan, dan motilitas sel tumor. IL-8 juga dilaporkan ikut berkontribusi dalam peningkatan aktivitas reseptor androgen pada kasus kanker prostat dengan ADT.¹⁰

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan perbedaan ekspresi sitokin yang berpengaruh dalam patogenesis BPH dan kanker prostat, sehingga dapat menjadi pembeda antara BPH dan kanker prostat. Penelitian ini diharapkan mendapatkan network sitokin inflamasi pada penyakit prostat yang dibutuhkan sebagai biomarker atau target terapi dimasa datang.

METODE PENELITIAN

Jenis dan Desain

Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan desain cross sectional comparative, dimana variabel dependen dan independen diperiksa pada waktu bersamaan.

Populasi dan sampel penelitian

Populasi adalah blok parafin yang berasal dari jaringan prostat yang diambil dari hasil operasi dokter bedah urologi yang tersimpan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

Sampel adalah bagian populasi yang memenuhi kriteria inklusif dan eksklusif.

Kriteria Inklusi.

- Sediaan blok parafin yang baik pada penilaian HE untuk BPH dan diagnosis kanker prostat yang diproses dengan baik.

Kriteria Eksklusi

- Sediaan yang tidak memenuhi syarat untuk pemeriksaan imunohistokimia.

Besar Sampel

Jumlah minimal sampel yang diteliti dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus sampel analitis tidak berpasangan (Sastroasmoro, 2008; Dahlan, 2010)

$$n1 = n2 = \left\{ 2 \frac{(Z\alpha + Z\beta)S}{X_1 - X_2} \right\}^2$$

Keterangan :

$n1 = n2$: Besar sampel

$Z\alpha$: Deviat baku alfa (tingkat kemaknaan = 1,96)

$Z\beta$: Deviat baku beta (0,842)

$X_1 - X_2$: Perbedaan Klinis yang diinginkan (*clinical Judgement*)

Dari hasil penghitungan menggunakan rumus sampel diatas, ditetapkan besar sampel untuk tiap kelompok, sebesar 40. Sehingga total besar sampel yang digunakan untuk kedua kelompok adalah 80 orang.

Cara Pengambilan Sampel

Sampel diambil secara *Consecutive sampling*, dimana sediaan yang memenuhi kriteria inklusif dan eksklusif diambil sampai mencukupi besar sampel yang diinginkan.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat

1. Alat pembuatan sediaan jaringan.
Mikrotom *leica*®RM-2135, oven laboratorium, waterbath
Kaca objek berlapis Poly-L-lysine
2. Alat untuk pewarnaan imunohistokimia
tempat pewarnaan dan pencucian, *timer*, pipet serologik, pipet *Ependorf*, tabung plastik, kertas saring, *waterbath*, *freezer* dan *microwafe Toshiba*®
3. Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan
1 unit *Multi Head Microscope Olympus* dan *Nikon*® *Digital Net Camera* DN 100 + SD *Card*, 1 unit *Personal Computer Inter Pentium*® *Processor*

Bahan Penelitian

1. Jaringan yang berasal dari karsinoma prostat dan hiperplasia prostat yang berasal dari operasi prostat dan tersimpan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Unand
2. Bahan pemeriksaan IHK;
Xylene I, II, III,
Ethanol 100%, 90%, 70%,
Protein Block Reagen; Normal goat serum, Vector laboratories
Phosphate Buffer Saline (PBS), Merck
H202 30%, Merck
Avidin Biotin Complex, Vector laboratories
Haematoxylin; Merck
Tris HCl buffer pH 7,6
Citrate buffer pH 6,0
3. Antibody primer;
 - a. TGF-β1; rabbit polyclonal anti human TGF-β1, Bioss, 0086R dilusi 1;200
 - b. Il-8 ; rabbit polyclonal anti human Il-8, Bioss 07-808R dilusi 1;100
 - c. Il-18; rabbit polyclonal anti human Il-18, Elab Science, AB-14154 dilusi 1;100
4. Antibody Sekunder;
Goat anti rabbit IgG, Vector laboratories, dilusi 1;200
5. Chromogen;
3-3' diaminobenzidine (DAB), Dojindo Laboratories.

Prosedur IHC

Prosedur pewarnaan Imunohistokimia untuk Jaringan Prostat dilakukan sesuai dengan protokol yang berlaku

Prosedur Penilaian (IRS)

1. Pembacaan hasil ulasan

Penilaian ekspresi IL-8, IL-18 dan TGF- β 1 dilakukan dengan menilai sel yang teridentifikasi berikatan antibodi spesifik yang sudah berlabel, sehingga bisa dikenali. Prinsipnya adalah antigen spesifik di jaringan akan berikatan dengan antibodi yang sudah berlabel khusus sesuai dengan antigen yang akan diperiksa. Ikatan antigen-antibodi ini akan memberikan hasil berupa warna coklat sebagai bukti atau penanda sel yang diamati yaitu sel yang memiliki antigen spesifik dan berikatan dengan antibodi yang sesuai. Penilaian mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400 kali pada 5 lapang pandang berbeda yang representatif.

Penilaian ekspresi menggunakan sistem scoring dengan *ImmunoReactive Score* (IRS). Penilaian terdiri atas dua komponen yakni penghitungan skor proporsi sel yang positif terwarnai dan penilaian skor intensitas pewarnaan. Skor proporsi sel yang positif dinilai dengan menghitung persentase sel terwarnai berbanding seluruh sel yang diamati, dan dilaporkan dalam persen. Skor proporsi dikelompokkan atas 5 tingkatan; tidak ditemukan pewarnaan; skor 0, proporsi kecil dari 10%; skor 1, 10-50%; skor 2, 51-80%; skor 3, dan proporsi besar dari 80%; skor 4. Penilaian skor intensitas pewarnaan dilaporkan dengan menilai intensitas warna coklat pada sitoplasma epitel secara semikuantitatif dalam empat tingkatan dari pewarnaan negatif; 0, pewarnaan lemah; 1, sedang; 2, dan kuat; 3. Skor IRS adalah perkalian antara skor proporsi sel dikalikan dengan skor intensitas, berkisar dari 0 sampai 12.

Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komite Etik penelitian FK. Unand dengan No: 403/KEP/FK/2018 tanggal 3 Juli 2018.

Analisa Data

Data yang terkumpul dilakukan:

1. Uji normalitas dengan menggunakan uji Shapiro wlk, kalau normal dilanjutkan dengan uji test, kalau tidak normal dilakukan transformasi data apabila tidak normal dilakukan uji parametrik. Bila tidak normal dilanjutkan dengan uji non parametrik.
2. Untuk melihat faktor mana yang paling dominan menimbulkan kanker prostat dan BPH dilakukan uji multivariate
3. Untuk melihat hubungan indeks Gleason dengan variabel-variabel yang diteliti di uji dengan Chi-Square.

HASIL PENELITIAN

Sebelum dilakukan analisis data, dilihat apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak, dilakukan uji normalitas data yang hasilnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Uji normalitas data variable bebas

Variabel bebas	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistik	df	Sig.
Tgf β	Hyperplasia prostat	0,852	40	0,000
	Karsinoma	0,743	40	0,000
Il 8	Hyperplasia prostat	0,731	40	0,000
	Karsinoma	0,692	40	0,000
Il 18	Hyperplasia prostat	0,795	40	0,000
	Karsinoma	0,760	40	0,000

Jumlah masing-masing kelompok sebanyak 40 orang dan karena sampel kurang dari 50, maka uji normalitas yang dilakukan adalah dengan Shapiro-Wilk. Berdasarkan table 1 dapat dilihat bahwa tidak satupun variabel bebas yang terdistribusi normal ($p < 0,05$). Dengan demikian dilanjutkan dengan transformasi data dan kembali diulang uji normalitas.

Tabel 2 Uji normalitas data setelah transformasi

Variabel bebas (Log)	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
LOGTGFB	Hiperplasia prostat	0,899	23	0,024
	Karsinoma	0,946	24	0,223
LOGIL8	Hiperplasia prostat	0,901	23	0,027
	Karsinoma	0,816	24	0,001
LOGIL18	Hiperplasia prostat	0,864	23	0,005
	Karsinoma	0,857	24	0,003

Setelah dilakukan transformasi data, dilakukan kembali uji normalitas. Ternyata hanya satu yang terdistribusi normal yaitu Log TGF β -1 pada kelompok karsinoma. Dengan demikian untuk mengetahui hubungan variabel independen dengan variabel dependen dianalisis dengan uji non parametric Mann Witney sedangkan untuk mengetahui nilai masing-masing variabel dilakukan dengan mencari rata-rata dan standar deviasi

Pebedaan ekspresi TGF β -1 pada komponen epithelial prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat.

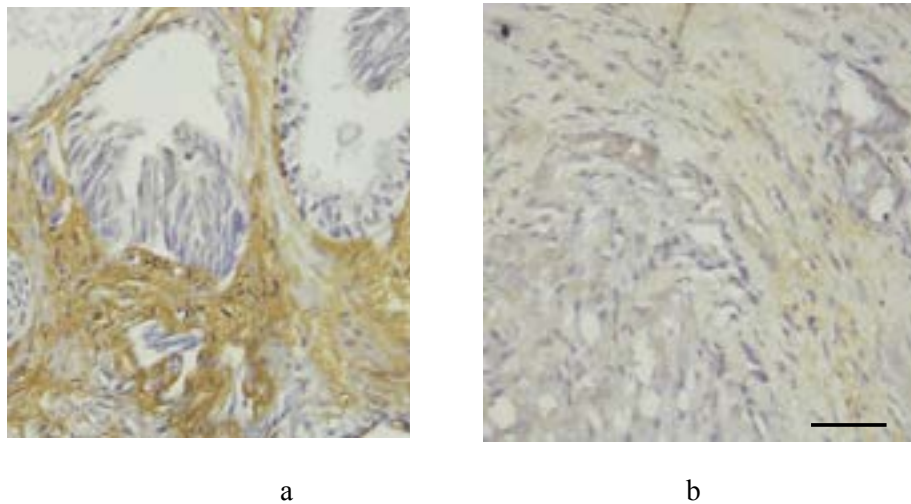
Perbedaan ini dapat dilihat pada table 3 dan table 4 dimana pada table 3 dilihat perbedaan ekspresi TGF β -1, pada komponen epithelial prostat

Tabel 3 Perbedaan ekspresi TGF β -1 antara BPH dan karsinoma prostat pada komponen epithelial prostat menurut skor IRS

Kelompok	n	TGF β -1 (Skor IRS)		P
		Rendah (%)	Tinggi (%)	
Hiperplasia prostat	40	39 (97,5%)	1 (2,5%)	0,201
Karsinoma	40	35 (87,5%)	5 (12,5%)	

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat pada komponen epithelial pada skor IRS tinggi bahwa persentase TGF β -1 lebih tinggi pada karsinoma prostat dibandingkan dengan BPH. Secara statistik perbedaan ini tidak bermakna ($p > 0,05$)

Ekspresi TGF β -1 pada jaringan hiperplasia prostat dan karsinoma prostat dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1 Ekspresi TGF β -1 pada jaringan prostat prostat.

TGF beta 1 terekspresi terutama pada matriks ekstraseluler disekitar kelenjar dengan ekspresi kuat pada hiperplasia a hiperplasia prostat (a) dan karsinoma (b).), terdapat penurunan ekspresi TGF beta 1 pada stroma disertai terdapatnya pewarnaan sitoplasmik pada sel tumor pada karsinoma b). Immuno peroksidase dengan anti human TGF β -1, Skala 100 μ m.

Pebedaan ekspresi TGF β -1 pada komponen stroma prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat

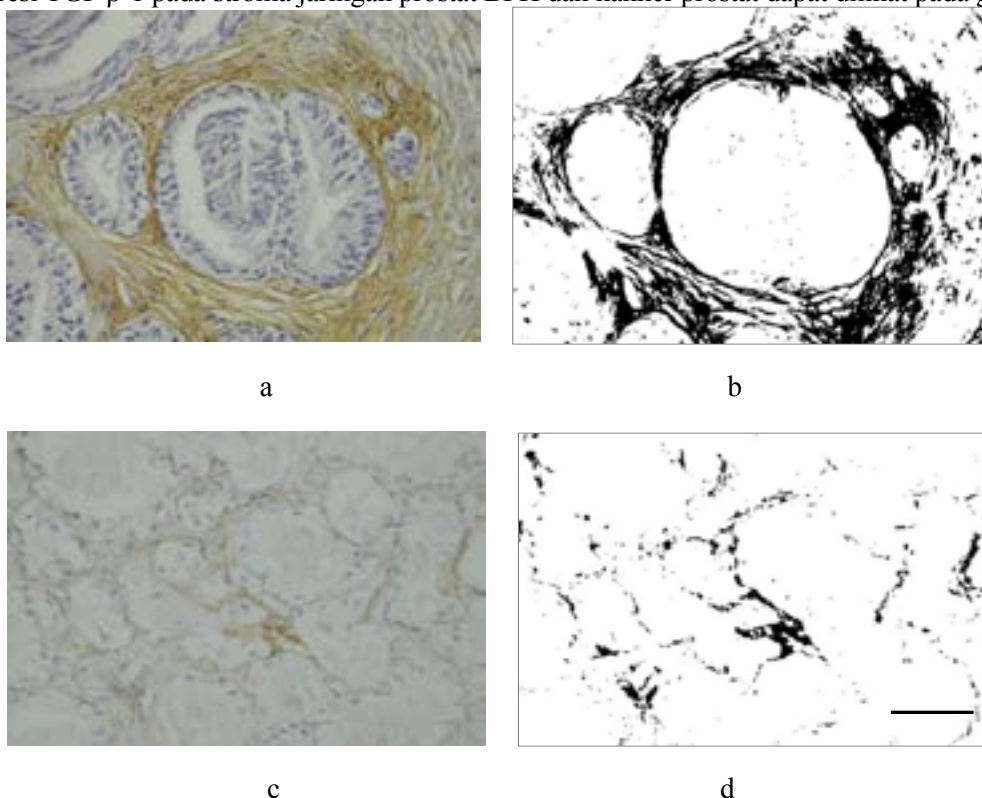
Oleh karena ekspresi TGF β -1 positif terutama pada matriks ekstraseluler maka dilakukan pengukuran luas area yang terwarnai dengan menggunakan program ImageG, Perbedaan ekspresi TGF β -1 pada komponen stroma dengan penilaian luas area ini dapat dilihat pada tabel 4

Table 4 Perbedaan ekspresi TGF β -1 pada stroma lesi prostat

Kelompok	n	TGF β -1 (% area)		p
		Rata-rata	St deviasi	
Hiperplasia prostat	40	15,32	8,74	0,001
Karsinoma	40	4,47	4,84	

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa persentase TGF β -1 pada komponen stromal lebih tinggi pada kelompok Hiperplasia prostat dibandingkan dengan karsinoma yaitu $15,32 \pm 8,74$ persen berbanding $4,47 \pm 4,84$ persen. Hubungan ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$).

Ekspresi TGF β -1 pada stroma jaringan prostat BPH dan kanker prostat dapat dilihat pada gambar



Gambar 2. Ekspresi stromal TGF β -1 dan pengukuran luas area stroma yang terwarnai positif terhadap TGF β -1 pada lesi prostat, hiperplasia prostat (a, b) dan karsinoma (c,d). Area matriks ekstra seluler diukur dengan program imageG dengan mengekstraksi area berwarna coklat, mengkonversi gambar menjadi *grayscale* (b, d), serta mengukur persentase luas area terwarnai per unit area. TGF beta 1 terutama tereksresi kuat pada matriks ekstra seluler disekitar kelenjar pada hiperplasia prostat (a,c), terdapat sedikit pewarnaan positif pada stroma karsinoma prostat (c,d). Skala 100 μ m

Perbedaan ekspresi IL-8 jaringan prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat

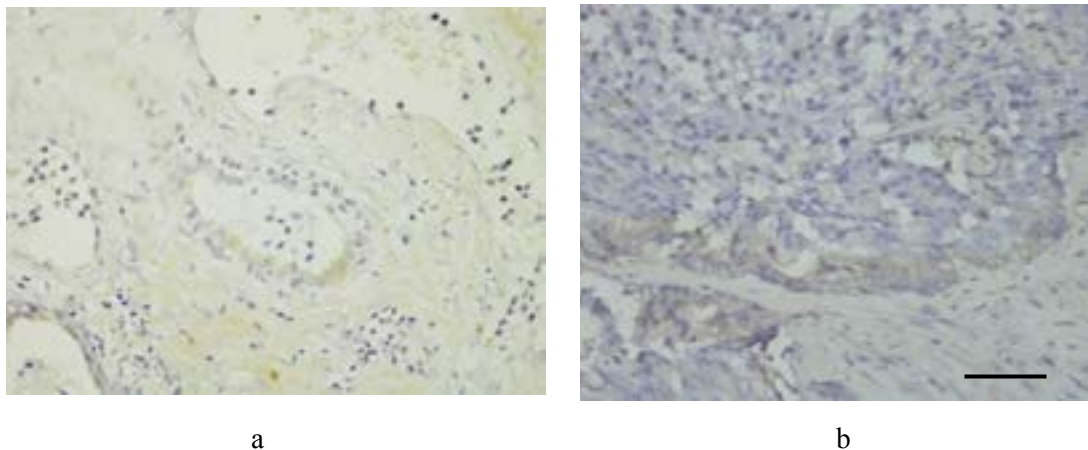
Perbedaan ini dapat dilihat pada tabel 5

Table 5 Perbedaan ekspresi IL-8 jaringan prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat berdasarkan skor IRS

Kelompok		IL-8 Skor IRS (%)		<i>p</i>
		Rendah	Tinggi	
Hiperplasia prostat	40	40 (100%)	0 (0%)	1,00
Karsinoma	40	39 (97,5%)	1 (2,5%)	

Table 5 memperlihatkan bahwa pada skor IRS tinggi persentase IL-8 lebih tinggi terdapat pada karsinoma prostat dibandingkan hiperplasia prostat. Secara statistik, perbedaan ini tidak bermakna ($p=1,00$)

Ekspresi IL-8 pada jaringan prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat dapat dilihat pada gambar 5



Gambar 5 Ekspresi IL-8 pada jaringan prostat hiperplasia prostat (a) dan karsinoma (b). IL-8 terekspresi intraseluler dengan pola sitoplasmik pada sebagian kecil epitel pada lesi hiperplasia prostat a), dan pada sebagian epitel karsinoma prostat b). Terdapat ekspresi lemah pada matriks ekstraseluler Immuno peroksidase dengan anti human IL-8, Skala 100 μ m.

Perbedaan ekspresi IL 18 jaringan prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat

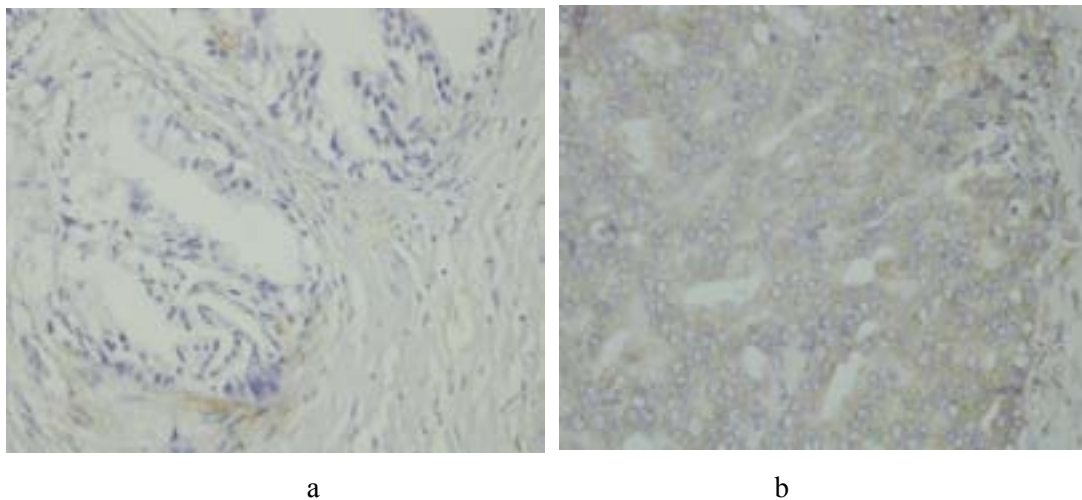
Perbedaan ini dapat dilihat pada tabel 6

Table 6 Perbedaan ekspresi IL-18 jaringan prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat berdasarkan skor IRS

Kelompok	n	IL-18 Skor IRS (%)		p
		Rendah	Tinggi	
Hiperplasia prostat	40	35 (87,5%)	5 (12,5%)	1,000
Karsinoma	40	36 (90%)	4 (10%)	

Table 6 memperlihatkan bahwa pada nilai IRS tinggi persentase IL-18 pada hiperplasia prostat lebih tinggi dari kanker prostat (12,5%:10%). Secara statistik perbedaan ini tidak bermakna ($p=1.000$).

Ekspresi IL 18 pada jaringan prostat yang berasal dari hiperplasia prostat dan karsinoma prostat dapat dilihat pada gambar 6



Gambar 6 Ekspresi IL 18 pada jaringan prostat hiperplasia prostat (a) dan karsinoma (b). IL 18 terekspresi intraseluler dengan pola sitoplasmik pada sebagian kecil epitel pada lesi hiperplasia prostat a), sampel karsinoma prostat dengan ekspresi lemah IL 18 pada sebagian besar epitel b). Immuno peroksidase dengan anti human IL 18, Skala 100 μ m.

Variabel yang dominan yang menyebabkan kanker prostat ataupun BPH

Untuk mendapatkan variabel yang paling dominan menyebabkan kanker prostat ataupun BPH pada tabel dibawah ini.

Faktor dominan yang berhubungan dengan Karsinoma dapat diketahui dengan melakukan analisis multivariat. Berdasarkan analisis bivariat dapat diketahui semua variabel masuk kandidat untuk dilakukan analisis multivariate. Hasil multivariate dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7 Hasil uji multivariate factor yang berhubungan dengan karsinoma prostat

		Variables in the Equation					
		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	TGFB1	-1,680	1,261	1,775	1	,183	0,186
	IL81	-22,905	40192,952	,000	1	1,000	0,000
	IL181	-,247	,928	,071	1	,790	0,781
	Constant	28,300	40192,952	,000	1	,999	1951902659316,447
Step 2 ^a	TGFB1	-1,693	1,252	1,828	1	,176	0,184
	IL81	-22,882	40192,924	,000	1	1,000	0,000
	Constant	28,107	40192,924	,000	1	,999	1609239633514,913
Step 3 ^a	TGFB1	-1,562	1,249	1,563	1	,211	0,210
	IL81	-22,889	40193,002	,000	1	1,000	0,000
	Constant	28,531	40193,002	,000	1	,999	2458758692805,151
	IL81	-22,812	40192,967	,000	1	1,000	0,000
	Constant	26,850	40192,967	,000	1	,999	457717521343,997

a. Variable(s) entered on step 1: TGFB1, IL81, IL181.

Bila dilihat dari hasil biopsi, ternyata persentase TGF- β 1 pada komponen stroma pada hiperplasia prostat merupakan yang paling tinggi, sehingga dapat dikatakan bahwa TGF- β 1 paling dominan berhubungan dengan hiperplasia prostat.

PEMBAHASAN

Perbedaan Ekspresi TGF β 1 pada hiperplasia prostat dan karsinoma prostat

Inflamasi kronis memainkan kontribusi yang signifikan pada inisiasi dan progresifitas dan spektrum luas patogenesis lesi prostat. Proses inflamasi akan menyebabkan infiltrasi sel T, B dan makrofag pada kelenjar dan stroma jaringan ikat prostat. Infiltrasi sel imun ini akan meningkatkan sekresi proinflamasi Il 2 pada epitel, Il 6 baik pada epitel maupun stroma dan Il 8 di sel epitel. Untuk merespon peningkatan sitokin proinflamasi, stroma dan sel epitel akan menghasilkan sitokin anti inflamasi seperti TGF β 1, dan FGF yang akan mempengaruhi fungsi prostat.

Hasil penelitian ini menunjukkan TGF β 1 pada BPH terekspresi kuat pada matriks ekstraseluler disekitar kelenjar. Bila dibandingkan dengan karsinoma prostat ekspresi TGF β 1 sangat berbeda bermakna ($p=0.00$). Hasil ini menunjukkan bahwa TGF β 1 sangat berperan dalam perkembangan hiperplasia prostat dimana TGF β 1 memainkan peranan sebagai modulator protein lainnya seperti bFGF 2, matriks ekstra seluler dan angiogenesis (VEGF) yang berperan pada terjadinya hiperplasia prostat

Transforming growth factor β merupakan faktor mitosis yang kuat untuk fibroblast dan sel mesenkhim lainnya. *Transforming growth factor β -1* juga mengatur sintesis matriks ekstraseluler dan meningkatkan bFGF-2 yang bersifat fibrogenik. Ekspresi TGF β 1 berperan sebagai chemoattractant untuk fibroblast pada fase awal dan berperan dalam proses fibrosis.

Transforming growth factor β 1 juga menstimulasi fibroblast menjadi myofibroblast dan sel otot polos melalui induksi protein matriks ekstraseluler.

Peneliti lain juga membuktikan bahwa TGF β 1 memainkan peranan dalam fibrosis. Ini terbukti dari penelitian Zuhirman (2014) yang mendapatkan peningkatan TGF β 1 dan fibrosis pada sumbatan ureter yang kronis

Untergasser *et al.*, (2005) juga mendapatkan peningkatan TGF β 1 yang menstimulasi pembentukan kolagen oleh sel stroma pada penderita hiperplasia prostat, dimana terjadi perubahan fibroblast menjadi myofibroblast.

Berlainan dengan hiperplasia prostat, pada karsinoma prostat terjadi penurunan ekspresi TGF β 1 pada stroma dan ditemukan adanya pewarnaan sitoplasmik pada sel tumor. Penurunan ini sangat bervariasi, jumlah ekspresi TGF β 1 pada sel dengan nilai rata-rata 2 terdapat pada 4% dari sampel, sedangkan 19 sampel memperlihatkan ekspresi positif namun hanya positif 1 dengan indeks IRS score. Yang menarik dalam penelitian ini adalah ditemukan 5 sampel yang memiliki pewarnaan sitoplasmik dengan nilai 4 pada IRS score. Hasil ini sangat menarik dan menimbulkan pertanyaan, apakah perbedaan ekspresi ini berhubungan dengan sifat biologis sel tumor dan stadium klinis penyakit, seperti adanya kemungkinan sifat sel yang lebih ganas, atau kecenderungan metastasis. Pada penelitian ini, sampel diambil dari blok parafin karsinoma prostat pada Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dimana tidak terdapat catatan perjalanan klinis penyakit sehingga penelusuran keadaan klinis tidak bisa dilakukan.

Transforming Growth Factor β 1 diketahui memiliki peran bifasik dalam karsinogenesis dan telah lama dikenal sebagai faktor pengendali progresifitas tumor. Selama fase awal perkembangan kanker TGF β 1 berperan sebagai Tumor suppressor dengan cara menghambat proliferasi sel dan meningkatkan diferensiasi serta apoptosis. Akan tetapi bila telah kehilangan fungsinya maka TGF β 1 akan gagal menghambat pertumbuhan sel kanker dan gagal menghambat siklus sel. Dalam penelitian ini, terdapat ekspresi TGF β 1 yang lemah pada kebanyakan sampel. Hal ini berarti TGF β 1 sudah kehilangan fungsinya. Kehilangan fungsi TGF β 1 ini juga telah dilaporkan pada beberapa kanker seperti kanker payudara, ovarium, oesophagus, kepala dan leher

Berlawanan dengan stadium awal, pada stadium lanjut TGF β 1 terekspresi pada sel tumor, diperkirakan TGF β 1 secara aktif disekresikan oleh sel tumor pada stadium lanjut. Hal ini dapat dilihat pada penelitian ini dimana ekspresi TGF β 1 dapat ditemui pada sel tumor. Pada penelitian ini ditemukan tumor dengan ekspresi TGF β 1 pada sel tumor dengan nilai IRS score 1,2 dan 4. Terdapat kemungkinan bahwa sampel dengan ekspresi TGF β 1 dengan nilai IRS score 4 merupakan tumor pada kasus stadium lanjut. Pada stadium ini, TGF β 1 akan menginduksi perubahan seluler yang akan berhubungan dengan invasi sel tumor dan metastase, dimana akan ditemui angiogenesis. Supresi sistem imun dan peningkatan interaksi sel kanker dengan matriks ekstraseluler.

Pada penelitian ini ditemukan 5 sampel dengan nilai IRS score 4. Hal ini sangat menarik untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dimasa depan, untuk mengetahui kenapa hal ini bisa terjadi.

Perbedaan ekspresi IL-8 antara hiperplasia prostat dengan karsinoma prostat

Sel epitel prostat merupakan pertahanan host terhadap stimuli inflamasi, termasuk patogen. Stimulasi yang berulang dari patogen akan menimbulkan inflamasi kronis pada sel epitel prostat. Pada hiperplasia prostat terdapat 3 lapis sel epitel, yaitu sel sekretorius, sel basal dan sel neuroendokrin (NE). Pada kanker prostat terdapat dua lapis sel yaitu sel sekretorius yang merupakan mayoritas dan sel NE yang tersebar yang merupakan komponen minoritas dari tumor. Penelitian Huang *et al.*, (2005) mendapatkan bahwa IL-8 diproduksi oleh sel NE baik pada hiperplasia maupun pada kanker prostat.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa IL-8 terekspresi intraseluler dengan pola sitoplasmik pada sebagian kecil sel pada hiperplasia prostat, sedangkan pada kanker prostat terdapat pada sebagian epitel. Dengan menggunakan IRS score, IL-8 terekspresi rendah 100% (nilai IRS 0-3) pada hiperplasia prostat, sedangkan pada kanker prostat IL-8 terekspresi rendah 97,5% (nilai IRS 0-3). Dan hanya 2,5% yang terekspresi tinggi. IL-8 juga terekspresi lemah pada matriks ekstraseluler. Penna *et al.*, (2007) mendapatkan peningkatan FGF2 pada sel stroma, sehingga meningkatkan stroma pada hiperplasia prostat. Secara statistik tidak ada perbedaan antara ekspresi IL-8 pada hiperplasia prostat dan kanker prostat ($p=1$). Hasil penelitian ini mendukung penelitian Husny bahwa IL-8 diproduksi oleh sel NE baik pada hiperplasia prostat maupun kanker prostat. Hasil penelitian Vetri *et al.*, (1999) juga mendapatkan kadar IL-8 pada plasma tidak berbeda bermakna antara hiperplasia prostat dengan kanker prostat ($49,1 \pm 71,1$ pg/ml ; $52,5 \pm 7,1$ pg/ml)

Inflamasi yang sering terjadi pada hiperplasia prostat berkontribusi pada kerusakan jaringan dan sitokin yang diproduksi oleh sel inflamasi seperti sel limfosit T dapat menstimulasi IL-8. Sel T limfosit akan menstimulasi proliferasi stroma dan epitel serta angiogenesis sehingga akan mempercepat pertumbuhan BPH.

Interleukin-8 yang diproduksi oleh sel NE ditangkap oleh reseptor CXCR-1 dan CXCR-2. Ekspresi IL-8 yang lemah baik pada hiperplasia prostat maupun pada kanker prostat mungkin disebabkan oleh karena CXCR-1 yang lemah ataupun tidak ada. Hal ini dibuktikan pada penelitian Huang *et al.*, (2005), bahwa CXCR-1 terekspresi lemah atau tidak ada pada hiperplasia prostat. Menurut Huang *et al.*, (2005), ekspresi IL-8 ini akan secara berangsur akan meningkat dari hiperplasia ke kanker prostat.

CXCR-2 reseptor IL-8 yang lain terekspresi pada kanker prostat yang lanjut yang sudah berinvansi dan metastasis, sehingga akan mengekspresikan IL-8 juga kuat. Peningkatan ekspresi IL-8 berkorelasi dengan progresifitas tumor dan metastasis. Pada penelitian ini didapatkan 1 kasus dengan ekspresi tinggi, kemungkinan kasus ini sudah mengalami metastasis, tetapi karena data yang ada dalam penelitian ini tidak menunjukkan ada atau tidaknya metastasis, maka tidak bisa disimpulkan bahwa kasus ini sudah mengalami metastasis. Caveat *et al.*, (2008) juga mendapatkan ekspresi IL-8 dengan pemeriksaan IHK pada kanker kolon yang terdiferensiasi jelek lebih tinggi dibandingkan dengan kanker kolon yang terdiferensiasi baik ($p=0,024$). Penelitian Nevem *et al.*, (2014) sel kultur prostat yang diinduksi polyinflamator mendapatkan hubungan yang kuat antara sekresi IL-8 dengan agresivitas kanker ($p=0,0005$). Penelitian ini juga tidak membedakan apakah kanker prostat yang diperiksa terdiferensiasi jelek atau baik sehingga tidak dapat membuat perbedaan.

Ekspresi IL-8 tidak terdeteksi pada sel kanker yang responsif terhadap androgen, tetapi terekspresi tinggi pada metastase yang independen terhadap androgen, dimana kanker prostat yang independen terhadap androgen akan meningkatkan tumorigenesis dan metastase. Penelitian Arahi (2007) mendapatkan bahwa IL-8 meregulasi Androgen reseptor (AR) dan mengaktivasi EGFR. Bagaimana IL-8 dapat menginduksi AR kelihatannya disebabkan banyak faktor dan tergantung milieu sel. Pada penelitian ini juga tidak diketahui apakah jaringan karsinoma prostat yang didapatkan berasal dari kanker prostat dependen androgen atau independent androgen.

Walaupun IL-8 tidak digunakan sebagai marker diagnostik untuk deteksi dini kanker prostat, ataupun pemisah antara kanker prostat dan hiperplasia prostat, tetapi dapat digunakan sebagai alat prognostik untuk monitoring kanker prostat. Hal ini disebabkan ekspresi yang tinggi IL-8 pada biopsi kanker prostat berhubungan dengan peningkatan Gleasons score.

Perbedaan ekspresi IL 18 antara hiperplasia prostat dengan karsinoma prostat

Perhatian peneliti pada saat ini tertuju kepada sitokin yang menjadi pengatur inflamasi pada faktor patogeneis hiperplasia prostat dan kanker prostat. Salah satu sitokin yang diduga berperan pada faktor patogeneis hiperplasia prostat dan kanker prostat adalah IL-18.

Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa IL-18 terekspresi lemah pada sebagian epitel pada karsinoma prostat, tetapi pada 5 kasus IL-18 terekspresi kuat dengan indeks IRS 4. Pada hiperplasia prostat IL-18 juga terekspresi kuat pada 3 kasus dengan indeks IRS 4. Secara statistik tidak ada perbedaan yang bermakna antara kanker prostat dan hiperplasia prostat.

Pada hiperplasia prostat peranan IL-18 tidak terlihat menonjol, karena IL-18 terekspresi hanya pada sebagian kecil epitel, dimana IL-18 yang berpotensi dengan IL-12 dapat menyebabkan induksi sel T yang akan meningkatkan stroma. Pada penelitian ini ternyata peranan IL-18 tidak seperti TGF β 1 yang ditemukan positif pada matriks ekstra seluler.

Interleukin 18 yang diproduksi oleh makrofag dan sel dendritik dikenal mempunyai efek anti tumor dengan cara menginduksi IFN- γ dan Fas ligand. Interleukin 18 menginduksi IFN- γ yang akan membunuh sel kanker melalui jalur apoptosis melalui jalur STAT-1, penelitian De Saint Jean (2000) pada *human conjunctival cell line*, IFN- γ pada konsentrasi 300 u/ml menginduksi apoptosis dengan meregulasi FAS dan STAT-1.

Penelitian secara invitro, penambahan IL-18 pada sel kanker menyebabkan kematian sel dengan meningkatkan sitotoksitas NK sel. Pada penelitian ini IL-18 terekspresi lemah pada 35 kasus, dengan 1 kasus yang mempunyai ekspresi tinggi. Ekspresi lemah IL-18 pada kasus karsinoma prostat ini menunjukkan bahwa IL-18 tidak bisa menghambat pertumbuhan kanker prostat, seperti sifatnya yang anti pertumbuhan tumor dan anti angiogenesis. Ekspresi yang lemah ini bisa saja disebabkan oleh karena terjadi polimorfisme pada gen IL-18, dimana varian tersebut dapat mempengaruhi fungsi IL-18, seperti penelitian Dwivedi et al., (2015) yang menemukan bahwa varian gen IL-18 mempengaruhi fungsi antitumor IL-18 dihubungkan dengan indeks gleason.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan

1. Ekspresi TGF β -1 pada stroma hiperplasia prostat lebih tinggi dari kanker prostat, dimana perbedaan ini bermakna. Akan tetapi ekspresi TGF β -1 pada komponen epithelial prostat lebih tinggi pada kanker prostat dari hiperplasia prostat.
2. Ekspresi IL-8 pada jaringan karsinoma prostat lebih tinggi dari hiperplasia prostat.
3. Ekspresi IL-18 pada jaringan karsinoma prostat lebih rendah dari hiperplasia prostat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Elkahwaji JE, 2013. The role of inflammatory mediators in the development of prostatic hyperplasia and prostate cancer. Res Rep Urol [Internet].;5:1–10. Available from:
2. De Nunzio C, Kramer G, Marberger M, Montironi R, Nelson W, Schröder F, *et al*, 2011. The controversial relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: The role of inflammation. Eur Urol.;60(1):106–17.
3. Gandaglia G, Briganti A, Gontero P, Mondaini N, Novara G, Salonia A, *et al*. The role of chronic prostatic inflammation in the pathogenesis and progression of benign prostatic hyperplasia (BPH). BJU Int.;112(4):432–41.

4. Bardan R, Dumache R, Dema A, Cumpănaș A, Bucuras V, 2014. The role of prostatic inflammation biomarkers in the diagnosis of prostate diseases. *Clin Biochem* [Internet]. The Canadian Society of Clinical Chemists;;47(10-11):909–15. Available from:
5. Sciarra A, Mariotti G, Salciccia S, Gomez AA, Monti S, Toscano V, *et al.*, 2008. Prostate growth and inflammation. *J Steroid Biochem Mol Biol.*;108(3-5):254–60.
6. Sfanos KS, De Marzo AM, 2012. Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology* [Internet].;60(1):199–215.
7. McLaren ID, Jerde TJ, Bushman W, 2011. Role of interleukins, IGF and stem cells in BPH. *Differentiation* [Internet]. Elsevier;;82(4-5):237–43.
8. Bergamini S, Bellei E, Reggiani Bonetti L, Monari E, Cuoghi A, Borelli F, *et al.* 2014. Inflammation: an important parameter in the search of prostate cancer biomarkers. *Proteome Sci* [Internet].;12(1):32.
9. Hamid AR a H, Umbas R, Mochtar C a, 2011. Recent role of inflammation in prostate diseases: chemoprevention development opportunity. *Acta Med Indones.*;43(1):59–65.
10. Thapa D, Ghosh R, 2015. Chronic inflammatory mediators enhance prostate cancer development and progression. *Biochem Pharmacol* [Internet]. Elsevier Inc.;;94(2):53–62.
11. Bostanci Y, Kazzazi A, Momtahan S, Laze J, Djavan B, 2013. Correlation between benign prostatic hyperplasia and inflammation. *Curr Opin Urol* [Internet].;23(1):5–10. A
12. Kashyap M, Pore S, Wang Z, Gingrich J, Yoshimura N, Tyagi P, 2015. Inflammasomes are important mediators of prostatic inflammation associated with BPH. *J Inflamm*
13. Torkko KC, Wilson RS, Smith EE, Kusek JW, van Bokhoven A, Lucia MS., 2015. Prostate Biopsy Markers of Inflammation are Associated with Risk of Clinical Progression of Benign Prostatic Hyperplasia: Findings from the MTOPS Study. *J Urol* [Internet]. Elsevier Ltd;;194(2):454–61.
14. Robert G, Smit F, Hessels D, Jannink S, Karthaus HFM, Aalders T, *et al.*, 2011. Biomarkers for the diagnosis of prostatic inflammation in benign prostatic hyperplasia. *Prostate* [Internet].;71(15):1701–9.
15. Hahn AM, Myers JD, McFarland EK, Lee S, Jerde TJ, 2013. Interleukin-driven insulin-like growth factor promotes prostatic inflammatory hyperplasia. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2014;351(3):605–15.
16. Zlotta AR, Egawa S, Pushkar D, Govorov A, Kimura T, Kido M, *et al.*, 2014. Prevalence of inflammation and benign prostatic hyperplasia on autopsy in Asian and Caucasian men. *Eur Urol* [Internet]. European Association of Urology;;66(4):619–22.
17. Lotti F, Maggi M, 2013. Interleukin 8 and the male genital tract. *J Reprod Immunol* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd;;100(1):54–65.
18. Dwivedi, S., Goel, A., Khattri, S., Mandhani, A., Sharma, P., Misra, S., & Pant, K. K. (2015). Genetic variability at promoters of IL-18 (pro-) and IL-10 (anti-) inflammatory gene affects susceptibility and their circulating serum levels: An explorative study of prostate cancer patients in North Indian populations. *Cytokine*, 74(1), 117–122. doi:10.1016/j.cyto.2015.04.001
19. Adorini L, Penna G, Fibbi B, Maggi M, 2010. Vitamin D receptor agonists target static, dynamic, and inflammatory components of benign prostatic hyperplasia. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. Apr [cited 2015 Jun 28];1193:146–52.

Kode Makalah : IndBio 018

PENINGKATAN PERFORMAN : OPTIMALISASI PROSES DI MITOKONDRIA DENGAN LATIHAN FISIK

Afriwardi

Staf Pengajar Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

ABSTRAK

Perlu upaya meningkatkan performa sumber daya manusia untuk bisa menjawab tantangan era globalisasi dengan perkembangan teknologi yang semakin canggih, dan dunia kini memasuki era revolusi industri 4.0. Kebutuhan performa prima mutlak dimiliki untuk dapat menjamin kesiapan dalam menghadapi era globalisasi yang sarat dengan persaingan bebas. Ketersediaan energi merupakan kunci utama dalam menjaga performa. Pengadaan energi untuk kebutuhan sel di proses oleh mitokondria. Mitokondria adalah organel sel yang bertanggung jawab terhadap pengadaan energi bagi semua jaringan tubuh. Optimalisasi proses yang terjadi di mitokondria memberi peluang untuk meningkatkan performa. Optimalisasi proses di mitokondria dapat dilakukan dengan memberikan latihan fisik secara proporsional. Dampak latihan fisik yang proporsional terhadap proses keseimbangan energi adalah dengan : (1) meningkatkan transport glukosa, (2) efisiensi eliminasi sisa mitokondria (autophagy), (3) menekan proses inflamasi dengan mengurangi pembentukan ROS dan DAMPs, (4) serta peningkatan proses biogenesis mitokondria. Tahapan biogenesis mitokondria meliputi: peristiwa pensinyalan yang mengarah ke transkripsi, yang timbul setiap sesi latihan, regulasi transkripsi gen inti yang mengkode protein mitokondria, terutama dimediasi oleh coaktivator PGC-1 α , pengontrolan ekspresi gen mitokondria DNA oleh faktor transkripsi faktor transkripsi mitokondria A, impor produk-produk gen turunan inti ke dalam mitokondria melalui mesin impor protein, dan perakitan sub-unit yang dikodekan oleh inti dan mitokondria menjadi suatu kompleks holo-enzim yang fungsional. Latihan fisik yang proporsional merujuk kepada pelaksanaan latihan yang mengacu kepada latihan fisik yang sesuai kaidah latihan fisik yakni baik, benar, teratur, terukur dan progresif.

Kata kunci : mitokondria, biogenesis, latihan fisik

Pendahuluan

Perkembangan teknologi yang semakin canggih, dunia kini memasuki era revolusi industri 4.0, yakni menekankan pada pola digital economy, artificial intelligence, big data, robotic, dan lain sebagainya, menuntut perlunya sumber daya manusia memiliki performa yang prima. Peningkatan performa perlu diusahakan untuk mempertahankan produktivitas dalam era globalisasi. Pengadaan energi merupakan kunci utama dalam penentuan performa. Mitokondria adalah organel sel yang bertanggung jawab terhadap pengadaan energi bagi semua jaringan tubuh. Mengoptimalkan proses yang terjadi di mitokondria dapat memberi peluang pengadaan energi untuk pemenuhan kebutuhan tubuh selalu tersedia.

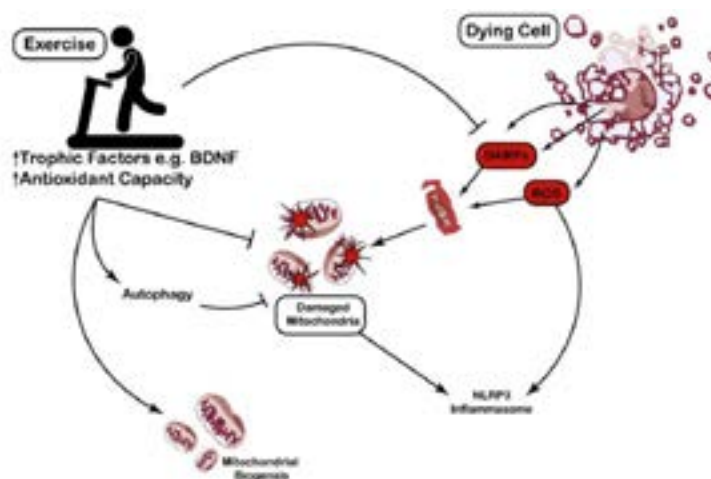
Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa, latihan fisik memberi dampak terhadap semua rangkaian proses yang terjadi sel. Secara fungsional dapat dibuktikan bahwa, latihan fisik ketahanan memiliki sejumlah manfaat kesehatan, termasuk peningkatan metabolisme otot, fungsi

kardiovaskular, fungsi respirasi, fungsi muskuloskeletal dan fungsi tubuh lainnya⁴. Pada tingkat sel, latihan fisik diyakini dapat berperan dalam mempertahankan keseimbangan energi melalui²: (1) proses transportasi glukosa, (2) proses autophagy atau eliminasi sisa mitokondria, (3) proses inflamasi akibat pembentukan reactive oxygen species (ROS) dan damage associated molecular patterns (DAMPs) yang berlebihan⁵, (4) proses biogenesis mitokondria.

Berkaitan dengan proses di mitokondria, maka pada makalah ini akan dicoba untuk membahas lebih jauh pengaruh latihan fisik terhadap proses biogenesis mitokondria dengan pendekatan upaya mempertahankan keseimbangan energi. Pada akhir pembahasan akan disinggung tentang kaidah latihan fisik.

Keseimbangan energi dan latihan fisik

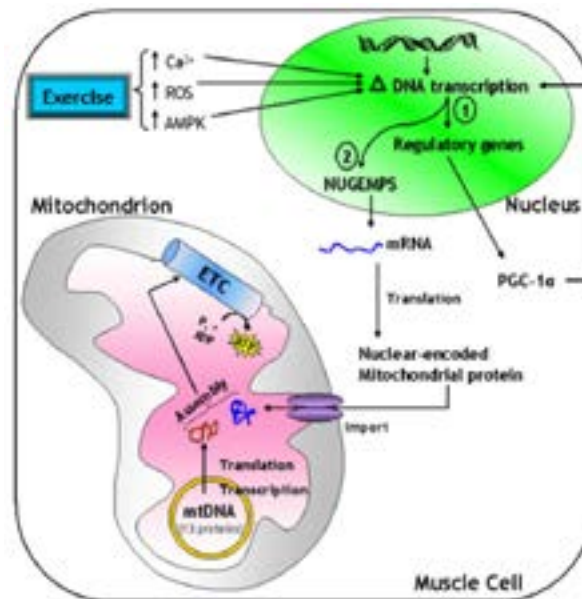
Latihan fisik yang proporsional akan menjadikan transportasi glukosa semakin baik⁶. Proses eliminasi terhadap sisa organel sel termasuk mitokondria menjadi lebih efisien. Proses inflamasi akibat peningkatan ROS dan DAMPs akan dapat ditekan. Pada akhirnya proses biogenesis mitokondria akan berjalan dengan baik. Latihan fisik diharapkan dapat menekan timbulnya disfungsi mitokondria yang timbul akibat proses menua, penyakit degeneratif, dan keadaan otot yang tidak digunakan atau sebaliknya over kapasitas^{5,7}. Serangkaian proses di atas yang menjamin ketersediaan energi tentu dapat mencegah timbulnya kelelahan, performa meningkat dan pada akhirnya kualitas hidup menjadi lebih baik. Secara gamblang keterkaitan antara latihan fisik dengan proses yang terjadi di sel untuk mempertahankan keseimbangan energi dapat di pahami melalui gambar 1. Keadaan patologis sel dan proses penuaan akan menimbulkan kematian sel yang secara otomatis akan menimbulkan kerusakan organel sel, mitokondria. Latihan fisik yang proporsional dapat meningkatkan kapasitas antioksidan akibat rangsangan terbentuknya ROS selama latihan fisik, sehingga kerusakan mitokondria dapat dihindari akibat proses inflamasi saat latihan fisik. Pada saat bersamaan terjadi pengaktifan system eliminasi (autofagi) sisa-sisa kerusakan sel dan organelnya, sehingga pembersihan berjalan efektif dan cepat yang pada akhirnya proses regenerasi berjalan lebih cepat. Adanya factor local seperti BDNF serta peningkatan kapasitas antioksidan proses biogenesis mitokondria dimulai⁵.



Gambar 1. Kaitan latihan fisik dengan proses mitokondria⁵

Biogenesis mitokondria dan latihan fisik

Serangkaian proses yang menimbulkan peningkatan kandungan mitokondria yang terjadi sebagai akibat dari latihan fisik yang teratur ini disebut sebagai biogenesis mitokondria. Penambahan masa mitokondria terjadi di sel otot karena adaptasi yang terjadi terhadap beban yang diterima otot saat latihan fisik, akan tetapi mekanisme molekuler yang mendasari perubahan fenotip otot ini masih belum diketahui secara pasti dan memerlukan pengkajian lebih lanjut. Mekanisme pengaruh latihan fisik terhadap biogenesis mitokondria dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Gambaran ringkasan pengaruh latihan fisik terhadap biogenesis mitokondria sel otot

Proses biogenesis mitokondria berlangsung sangat kompleks karena mitokondria terdiri dari protein yang dikode oleh DNA inti dan DNA mitokondria (mtDNA). Langkah-langkah utama yang terjadi selama proses biogenesis dapat meliputi 2 : (1) Peristiwa pensinyalan yang mengarah ke transkripsi, yang timbul setiap sesi latihan, (2) Pengaturan transkripsi gen inti yang mengkode protein mitokondria, terutama dimediasi oleh peroxisome proliferator activated receptor- γ coactivator (PGC-1 α), (3) Pengontrolan ekspresi gen mitokondria DNA oleh faktor transkripsi mitokondria A (Tfam) (4) Impor produk-produk gen turunan inti ke dalam mitokondria melalui mesin impor protein, dan (5) perakitan sub-unit yang dikodekan oleh inti dan mitokondria menjadi suatu kompleks holo-enzim yang fungsional.

Pensinyalan ion Calcium dan latihan fisik

Pada otot rangka, ion Calcium bertindak sebagai molekul pengatur dan pensinyalan yang penting. Ekspresi gen protein pernafasan pada otot rangka telah berhubungan dengan pensinyalan ion Calcium intraseluler yang dimediasi oleh enzim pengatur dependen Ca^{++} , yang dikenal dengan calcineurin, Ca^{++} / calmodulin dependen protein kinase (CaMK) dan protein kinase C (PKC). Bukti terkuat yang mendukung proses biogenesis yang terjadi adalah akibat mediasi Ca^{++} ditunjukkan pada studi dengan ekspresi berlebihan dari isoform CaMK. Tikus transgenik yang diberikan CaMK intra vena secara jelas meningkatkan ekspresi PGC-1 α otot,

menimbulkan biogenesis mitokondria, dan satu upregulasi dari ekspresi gen mitokondria². . CaMK meningkatkan aktivitas promotor PGC-1 α melalui aktivasi protein pengikat elemen cAMP (CRE). Selain itu, promotor PGC-1 α berisi situs pengikatan faktor penambah miosin 2 (MEF2), faktor transkripsi yang juga diaktifkan oleh CaMK. Stimulasi listrik dari otot rangka pada tikus mengaktifkan promotor PGC-1 α , dan efek ini hilang ketika salah satu situs pengikatan MEF2 atau CRE dilepas. Menariknya, PGC-1 α mengaktifkan promotornya sendiri dengan mengaktifkan MEF2. Studi ini menunjukkan bahwa kerjasama MEF2 dan CRE dalam mengubah transkripsi PGC-1 α sebagai respons terhadap beberapa sinyal yang dicetuskan oleh kegiatan latihan fisik².

Sebagai tambahan, ketika kadar Ca⁺⁺ intraseluler dalam sel otot meningkat karena difasilitasi ionofor A23187 [1,4], selanjutnya akan terjadi peningkatan ekspresi gen sitokrom c, serta ekspresi beberapa , tetapi tidak semua, protein pengkode inti mitokondria. Data ini menunjukkan bahwa, ion kalsium merupakan ion yang penting dalam pensinyalan untuk memicu proses biogenesis mitokondria bersamaan dengan faktor faktor lain di intraseluler².

Latihan fisik dan spesies oksigen reaktif

Latihan fisik aerobik secara intrinsik selalu dikaitkan dengan peningkatan konsumsi oksigen. Selama berolahraga, tubuh secara keseluruhan menggunakan oksigen lebih banyak dibanding keadaan istirahat, malah bisa 10 kali lipat. Jaringan otot sendiri konsumsi oksigen dapat meningkat 50 sampai 100 kali lipat². Berbagai penelitian telah menunjukkan hubungan antara peningkatan konsumsi oksigen ini selama latihan dan pembentukan ROS. Jalur pensinyalan yang melibatkan ROS juga telah terbukti menginduksi biogenesis mitokondria. Jumlah salinan MtDNA telah terbukti berubah dengan meningkatnya kadar ROS dalam jaringan otak, paru-paru dan otot rangka. yang mengalami penuaan^{2,5}. Peningkatan mtDNA dalam sel-sel yang menua dapat menjadi suatu respon umpan balik dari upaya kompensasi terhadap terjadinya mutasi mitokondria, atau gangguan fungsi pada rantai pernapasan. Peningkatan mtDNA disertai dengan induksi dalam massa mitokondria. Respons ini tampaknya dimediasi oleh PGC-1 α dan nuclear respiratory factor-1 (NRF-1), karena ekspresi keduanya meningkat setelah pemberian anti oksidan dari luar. Secara keseluruhan, pengamatan ini dengan jelas menunjukkan bahwa stresor oksidatif baik eksogen maupun endogen, dapat meningkatkan jumlah mitokondria dan salinan mtDNA. Ini mungkin disebabkan oleh perubahan dalam kondisi redoks yang dapat memicu sinyal antara mitokondria dan nukleus yang akhirnya mengatur berbagai gen yang terlibat dalam biogenesis mitokondria².

Spesies reaktif oksigen yang timbul selama melakukan latihan fisik akan meningkatkan kemampuan antioksidan tubuh dalam menghadapi radikal bebas yang berasal dari luar tubuh. Peningkatan kemampuan antioksidan akan membantu mencegah kerusakan mitokondria serta merangsang biogenesis mitokondria^{2,5}.

Aktivasi AMPK dengan latihan fisik

5'-AMP protein teraktivasi kinase (AMPK) adalah enzim pengindera energi yang merespons kondisi seluler yang terkait dengan penipisan energi. Pada hewan dan manusia AMPK telah terbukti diaktifkan oleh kegiatan latihan fisik. Enzim ini adalah heterotrimer yang terdiri dari satu subunit katalitik α dan dua subunit pengatur, β dan γ . Sinyal kaskade yang melibatkan fosforilasi dan aktivasi AMPK adalah akibat dari berkurangnya rasio ATP / ADP, dan secara bersamaan terbentuk AMP karena aktivitas miokinase, seperti yang terjadi selama aktivitas kontraksi. AMP mengaktifkan AMPK hingga 10 kali lipat, dan sementara ATP akan menekan aktifitas AMPK dengan menduduki tempat pengaktifannya. AMPK juga dapat difosforilasi dan diaktifkan

oleh satu atau lebih protein hulu yang menciptakan lebih dari 100 kali lipat aktivasi. Aktivasi AMPK juga terjadi dengan pengobatan ribosida 5-aminoimida-zole-4-karboksamid (AICAR). AICAR diambil oleh sel-sel dan terfosforilasi oleh adenosin kinase seluler menjadi ZMP, analog AMP. Aktivasi farmakologis AMPK oleh AICAR meningkatkan mRNA, PGC-1 α dan protein. Pengaturan transkripsi dan translasi PGC-1 α ini disertai dengan peningkatan aktivitas pengikatan DNA NRF-1. Seperti disebutkan di atas, NRF-1 adalah regulator transkripsi dari protein yang terlibat dalam biogenesis mitokondria. Selain itu, aktivasi kronis AMPK menggunakan AICAR pada tikus yang beristirahat telah menghasilkan peningkatan enzim mitokondria seperti d-aminolevulinic synthase, sitokrom c, sitrat sintase dan malat dehidrogenase pada otot rangka. Dengan demikian, aktivasi AMPK adalah regulator penting lainnya dari bio-genesis mitokondria dalam kondisi kekurangan energi dalam sel otot^{2,5}.

Kaidah latihan fisik

Pembebanan latihan fisik yang proporsional diperlukan untuk mendapatkan pengaruh yang optimal terhadap pematangan proses biosintesis mitokondria. Perlu dilakukan latihan fisik yang sesuai kaidah sehingga beban latihan yang diterima proporsional bagi pelaku latihan fisik. Kaidah latihan fisik meliputi : baik, benar, terukur, teratur dan progresiv.

Latihan fisik yang baik

Latihan fisik yang baik merujuk kepada jenis, tata cara dan waktu pelaksanaan olahraga dilakukan. Pentingnya memperhatikan ketiga aspek diatas, tidak lain dan tidak bukan adalah untuk menghasilkan manfaat yang lebih optimal dari kegiatan latihan fisik. Ketiga aspek tersebut menjadi satu kesatuan yang pelaksanaannya dilakukan serentak, artinya ketiga komponen tersebut memiliki kontribusi yang hampir sama dalam menghasilkan manfaat dari latihan fisik.

Jenis latihan fisik yang baik adalah latihan fisik yang disesuaikan dengan kondisi partisipan. Pemilihan jenis latihan fisik yang akan dilakukan seseorang sebaiknya merujuk kepada individual itu sendiri. Penyesuaian kondisi fisik dengan jenis latihan fisik yang dilakukan mutlak diperlukan, dalam rangka menghindari timbulnya cedera saat melakukan latihan. Melakukan latihan fisik jogging pada seorang yang menderita kelainan sendi adalah sesuatu yang sangat tidak baik, mengingat latihan fisik jogging akan menimbulkan beban yang sangat berlebihan pada sendi, yang akhirnya akan menambah kesakitan pada partisipan. Melakukan latihan fisik yang bersifat pertandingan sebaiknya dihindari pada orang yang mengidap kelainan jantung, karena latihan fisik pertandingan akan memicu pengeluaran adrenalin yang kadang berlebihan.

Kegiatan latihan fisik yang baik hendaklah dilakukan dengan tata cara yang benar. Tata cara latihan fisik yang baik adalah latihan fisik yang dilakukan dengan urutan pemanasan, gerakan inti dan diakhiri dengan pendinginan. Tata cara ini memberikan proporsi waktu yang memadai untuk masing-masing periode tersebut. Periode sebelum melakukan gerakan inti disebut masa pemanasan. Melakukan gerakan pemanasan sebelum latihan inti berlangsung selama 5 – 10 menit. Pada fase pemanasan memungkinkan terjadinya persiapan oleh otot-otot untuk menerima beban kerja saat latihan inti. Pemanasan dapat dilakukan dengan jalan atau lari dengan kecepatan lambat sampai terjadi peningkatan nadi atau ditandai dengan mulai keluarnya keringat.

Gerakan inti dimulai setelah masa pemanasan selesai. Gerakan inti baru boleh dilakukan setelah masa pemanasan betul-betul sempurna dilakukan. Masa pemanasan optimal dapat ditandai dengan peninggian suhu tubuh dan peningkatan denyut nadi. Setelah pemanasan otot terasa lebih lentur dan tidak terasa sakit jika dilakukan penarikan. Lebih jauh rung gerak sendi pada area maksimal dan yang paling penting tidak ada hambatan.

Setelah melakukan gerakan inti selama 30 – 45 menit sesuai dengan kemampuan fisik serta tujuan latihan fisik dilakukan, maka latihan fisik ditutup dengan melakukan pendinginan. Pendinginan dilakukan untuk mengembalikan kondisi atau denyut nadi kembali ke kondisi sebelum melakukan latihan. Pendinginan diperlukan untuk memberikan kesempatan terhadap otot dan sistem kardiovaskuler untuk memobilisasi zat-zat hasil metabolisme.

Waktu latihan fisik yang baik adalah dengan mengambil waktu dengan lingkungan yang tidak terlalu ekstrim. latihan fisik yang dilakukan pada lingkungan yang ekstrim tentu akan berisiko timbulnya cedera. latihan fisik pada saat matahari di atas kepala atau siang hari tentu akan mengganggu proses pengeluaran panas tubuh. latihan fisik yang baik dilakukan pada sore atau pagi hari, dimana pada saat tersebut didapatkan kondisi lingkungan yang cukup optimal.

Latihan fisik yang benar

Guna mendapatkan manfaat latihan fisik lebih optimal, maka pelaksanaan latihan fisik hendaklah dilakukan dengan benar. Kegiatan latihan fisik yang benar tersebut merujuk kepada gerakan yang dilakukan pada saat melakukan olahraga serta penggunaan peralatan selama latihan fisik. Gerakan dalam latihan fisik merupakan serangkaian aktifitas fisik yang dilakukan dalam kegiatan selama latihan fisik terutama dalam gerakan inti. Gerakan latihan fisik yang dilakukan asal jadi, seperti gerakan yang tidak merangsang semua gerak sendi, tentu saja tidak ada manfaatnya. Sebaliknya gerakan yang berlebihan berupa pemaksaan yang berlebihan malah dapat menimbulkan cedera. Perlu melakukan penataan dan pemilihan jenis gerakan yang benar sewaktu melakukan latihan fisik guna menekan dampak yang tidak diinginkan dari melakukan latihan fisik.

Selain memperhatikan kebenaran gerakan dalam latihan fisik, perlu juga diperhatikan adalah kebenaran dalam memilih peralatan latihan fisik yang digunakan. Hal yang sepele saja sering luput dari perhatian. Misalnya pemilihan sepatu. Sepatu untuk jogging atau lari digunakan untuk permainan basket. Resiko cedera pergelangan kaki akan menjadi sangat besar, karena sepatu jogging atau lari tidak dipersiapkan untuk menahan beban mendarat yang akan diterima oleh pergelangan kaki. Sepatu untuk lari kurang menyokong terhadap kestabilan sendi pergelangan kaki. Sementara itu, untuk olahraga basket sepatu diprioritaskan yang dapat menyokong kestabilan sendi. Kestabilan sendi pergelangan kaki menjadi prioritas utama dalam menekan cedera pada olahraga basket.

Latihan fisik yang terukur

Sistem tubuh manusia memiliki keterbatasan dalam menerima beban fisik. Keterbatasan sistem fisiologi tubuh menuntut diperlukannya penakaran untuk menentukan sejauh mana kegiatan latihan fisik boleh dilakukan. Penentuan ukuran ini bertujuan untuk mengetahui berapa porsi olahraga yang baik diberikan untuk meningkatkan derajat kesehatan. Besarnya porsi latihan fisik perlu diketahui guna memastikan dosis latihan fisik awal dan penambahan beban latihan fisik selanjutnya⁸.

Beban latihan fisik sifatnya sangat subjektif dan individual, akan tetapi latihan fisik yang dilakukan harus diketahui ukuran atau takarannya. Penetapan takaran atau ukuran latihan fisik tidak sulit dan dapat mempergunakan peralatan yang sederhana. Beberapa parameter metode sederhana dapat digunakan untuk menentukan ukuran olahraga. Diantaranya :

1. Menggunakan denyut nadi. Aktifitas olahraga secara langsung dapat meningkatkan kerja kardiovaskuler. Peningkatan denyut nadi secara otomatis dapat menjadi patokan dalam menilai peningkatan intensitas latihan yang dilakukan. Sebagian ahli olahraga masih

merekomendasikan penggunaan rumus yang dikeluarkan (World Health Organisation) WHO tentang penentuan denyut nadi maksimal dengan : $220 - \text{Umur}$. Sebagian ahli mencoba mengembangkan metode lain berupa penggunaan denyut nadi basal.

2. Menggunakan jarak tempuh. Pelaku latihan fisik cukup mengetahui jarak tempuh yang bisa dilewati. Jarak tempuh dapat digunakan sebagai patokan awal untuk memulai latihan fisik.
3. Menggunakan waktu terpakai. Pelaku olahraga juga bisa menggunakan waktu yang dihabiskan untuk sekali kegiatan latihan fisik.
4. Kombinasi jarak dengan waktu. Kombinasi sederhana tetapi menghasilkan prediksi intensitas yang cukup baik. Intensitas latihan dengan menggunakan metode ini agak lebih fleksibel, karena kedua variabel dapat dirobah sesuai dengan keinginan pelaku latihan fisik.

Penggunaan beberapa parameter di atas dalam praktek sehari adalah sebagai ukuran dalam menilai dampak latihan yang dilakukan. Parameter yang paling umum digunakan adalah peningkatan denyut nadi yang diketahui saat melakukan latihan. Peningkatan denyut nadi ini dapat digunakan sebagai patokan dalam menilai intensitas latihan yang dilakukan. Peningkatan denyut nadi setara dengan peningkatan intensitas latihan fisik yang dilakukan. Semakin besar intensitas latihan yang dilakukan maka peningkatan denyut nadi semakin besar.

Latihan fisik yang teratur

Latihan fisik teratur akan mendatangkan manfaat terhadap peningkatan kebugaran jasmani. Komponen kebugaran jasmani dapat beradaptasi jika sistem fungsional tubuh mendapat rangsangan secara berurutan minimal dalam jarak waktu 48 jam. Artinya suatu rangsangan terhadap sistem fungsi tubuh katakanlah itu sistem kardiovaskuler akan mengalami adaptasi yang dapat bertahan kurang dari 48 jam, setelah itu perlu diberikan rangsangan lagi, sehingga akan terjadi peningkatan fungsi kardiovaskuler tersebut.

Olahraga dikatakan teratur kalau dilakukan secara reguler dalam seminggu minimal 3 kali. Penyebaran olahraga tersebut harus merata dalam minggu tersebut. Artinya olahraga yang tiga kali tersebut tidak dilakukan pada hari Sabtu dan Minggu saja tetapi hendaklah berganti hari. Beban olahraga yang tidak merata dalam satu minggu dapat menjadikan sistem fungsional tubuh mendapatkan beban yang berlebihan pada akhir minggu, yang secara nyata kondisi tersebut tidak sangat menguntungkan bagi tubuh. Olahraga yang dilakukan teratur sekali seminggu atau sekali sebulan apalagi sekali setahun tidak akan mendatangkan manfaat terhadap kebugaran jasmani.

Pembebanan latihan fisik yang progresif

Beban latihan fisik yang diberikan terhadap partisipan perlu dinaikkan secara bertahap. Sistem tubuh akan melakukan adaptasi terhadap beban yang diberikan secara teratur dan dalam jangka waktu tertentu. Peristiwa adaptasi menjadikan beban permulaan yang diberikan akan menjadi tidak berarti lagi seiring dengan berjalannya waktu latihan. Pada saat itu diperlukan penambahan beban latihan sehingga beban yang diberikan tetap sedikit di atas kemampuan fisik. Penambahan beban secara bertahap ini diharapkan sampai kepada titik maksimal, sehingga didapat tingkat kebugaran yang maksimal.

Beban yang berkesinambungan antara pembebanan pertama dan berikutnya diperlukan untuk memastikan bahwa proses peningkatan respon terhadap beban tetap ada. Dianjurkan jika menggunakan beban berlebih yang tertuju kepada rangsangan latihan fisik tersebut harus diberikan dengan beban lebih besar dari kemampuan fisiologi atau dengan kata lain beban tersebut harus di atas ambang rangsang, sehingga menimbulkan proses adaptasi sebagai efek latihan. Pemberian

satu sesi latihan fisik akan menimbulkan proses kelelahan⁹. Kemudian akan diikuti dengan proses restorasi yang merupakan upaya tubuh untuk mengembalikan ke kondisi sebelum mendapat latihan fisik. Kemudian akan berlanjut dengan adaptasi tubuh. Pada akhirnya akan terjadi lagi penurunan karena tidak adanya rangsangan lagi.

Beban berlebih dapat dilakukan dengan melakukan manipulasi terhadap intensitas, durasi dan frekwensi latihan. Adaptasi juga akan terjadi dan tergantung kepada pengulangan latihan dilakukan. Pemberian sesi latihan berikut, sebaiknya diberikan pada saat puncak adaptasi sehingga akan berdampak terhadap masa kelelahan yang tidak terlalu dalam. Efek akhirnya akan terjadi peningkatan kebugaran bagi pelaku olahraga. Sementara kalau diberikan latihan berikutnya terlalu jarang, dimana kondisi tubuh sudah kembali ke posisi sebelum latihan pertama, maka proses yang terjadi hanyalah pengulangan saja. Sebaliknya jika pemberian beban berikutnya diberikan dengan tenggang waktu yang sangat pendek akan menyebabkan kelelahan yang berarti. Proses adaptasi tidak terjadi, karena rangsangan berikutnya sistem organ belum kembali pulih setelah mendapat latihan fisik¹⁰.

Peningkatan beban olahraga dapat dilakukan secara bertahap. Ada dua macam tahapan yang dikenal dalam meningkatkan beban olahraga. Pertama secara gradual harian dan kedua secara jenjang mingguan. Diantara pentahapan latihan yang ada masing-masing memiliki keunggulan dan kelemahan.

Kesimpulan

Latihan fisik yang proporsional dapat meningkatkan performa melalui proses biogenesis di mitokondria. Penting untuk melakukan latihan fisik sesuai dengan kaidah yang baik, benar, terukur, teratur dan progresiv.

Daftar Pustaka :

1. Akbari M, Kirkwood TB.L, and Bohr VA. Mitochondria in the signaling pathways that control longevity and health span. *Ageing Research Reviews* 54 (2019) 100940
2. Hood D.A. and Saleem A. Exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* (2007) 17, 332e337
3. Carbone S, Buono MGD , Ozemek C, Lavie CJ. Obesity, risk of diabetes and role of physical activity, exercise training and cardiorespiratory fitness. *Progress in Cardiovascular Diseases Progress in Cardiovascular Diseases journal homepage: www.onlinepcd.com*.2019 (p.1-7)
4. Eluamai A and Brooks K. Effect of aerobic exercise on mitochondrial DNA and aging. *Journal of Exercise Science & Fitness* 11 (2013) 1-5
5. Peeri M and Amiri S. Protective effects of exercise in metabolic disorders are mediated by inhibition of mitochondrial-derived sterile inflammation. *Medical Hypotheses* 85 (2015) 707–709
6. Petridou A, Siopi A, and Mougios V. Exercise in the management of obesity. *Metabolism Clinical and Experimental* 92 (2019) 163–169
7. Duclos M, Oppert JM, Verges B, Coliche V, Gautier JF, Guezennec Y, et al. Physical activity and type 2 diabetes. Recommendations of the SFD (Francophone Diabetes Society) diabetes and physical activity working group. *Diabetes & Metabolism* 39 (2013) 205–216

8. Vancampfort D, Vandael H, Hallgren M, Probst M, Hagemann N, Bouckaert F, et al. Physical fitness and physical activity levels in people with alcohol use disorder versus matched healthy controls: A pilot study. *Alcohol* 76 (2019) 73e79
9. Cummins C, Welch M, Inkster B, Cupples B, Weaving D, Jones Ben, et al. Modelling the relationships between volume, intensity and injury-risk in professional rugby league players. *Journal of Science and Medicine in Sport* 22 (2019) 653–660
10. Minder CM, Shaya GE, Michos ED, Keenan TE, Blumenthal RS, Nasir K, et al. Relation Between Self-Reported Physical Activity Level, Fitness, and Cardiometabolic Risk. *J Cardiol* 2014;113:637e643)

Kode Makalah : IndBio 019

Mitokondria dan Respon Imun pada Penyakit Tidak Menular

Eryati Darwin

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

ABSTRAK

Mitokondria merupakan organela yang terdapat pada sitoplasma dari hampir semua sel eukariotik. Mitokondria berfungsi untuk penghasil energi berupa adenosina trifosfat pada lintasan katabolisme dan sebagai tempat berlangsungnya fungsi respirasi sel pada makhluk hidup, selain fungsi kehidupan fisiologis selular lainnya seperti pada mekanisme diferensiasi, apoptosis, dan siklus sel. Mitokondria juga dapat melepaskan sinyal seperti DNA mitokondria (mtDNA) dan ROS mitokondria (mtROS) untuk mengatur transkripsi sel imun. Sistem imun dan mitokondria saling terkait satu sama lain karena mitokondria dapat mengatur aktivasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel imun. Bentuk dan posisi mitokondria dalam sel sangat penting dan diatur dengan ketat oleh proses fisi dan fusi, biogenesis dan autophagy, untuk menjaga agar populasi mitokondria dalam kondisi yang relatif konstan. Gangguan atau disfungsi mitokondria berhubungan dengan respon inflamasi pada penyakit akibat gangguan metabolisme dan usia, penyakit neurodegeneratif dan cedera iskemik jantung dan otak.

Kata kunci: mitokondria, respon imun, penyakit tidak menular

Pendahuluan

Transisi epidemiologi di Indonesia menyebabkan terjadinya pergeseran pola penyakit, di mana terjadi peningkatan frekuensi penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif merupakan penyakit tidak menular yang berlangsung kronis seperti penyakit jantung, hipertensi, diabetes, kegemukan dan lainnya. Faktor yang berhubungan dengan terjadinya penyakit degeneratif adalah pola hidup yang tidak sehat seperti kebiasaan merokok, minum alkohol, pola makan dan obesitas, aktivitas fisik yang kurang, stres, dan pencemaran lingkungan. Faktor faktor tersebut memicu respon inflamasi karena peningkatan stres oksidatif yang menyebabkan disfungsi endotel¹. Stres oksidatif merupakan ketidak seimbangan antara sistem oksidatif dan antioksidan sel dan jaringan oleh karena produksi *reactive oxygen species* (ROS) oleh mitokondria².

Mitokondria adalah organel berukuran 0,75- 3 μm dalam sel eukariotik yang menghasilkan *adenosine triphosphate* (ATP), molekul energi utama yang digunakan oleh sel. Mitokondria menghasilkan ATP melalui proses respirasi seluler atau disebut sebagai respirasi aerobik yang membutuhkan oksigen. Jumlah mitokondria dalam sel tergantung pada berapa banyak energi yang dibutuhkan sel, seperti sel otot yang memerlukan banyak energi untuk pergerakan, akan memiliki banyak mitokondria. Perubahan jumlah dan ukuran mitokondria dalam sel sebagian besar dikendalikan oleh dua kekuatan yang berlawanan yaitu fisi dan fusi yang berperan pada respon imun. Fusi merupakan pembentukan mitokondria tubuler dan berperan pada sel memori, makrofag dan apoptosis. Sedangkan fisi adalah fragmentasi mitokondria yang disebabkan oleh kerusakan DNA. Fisi berperan pada mobilisasi mitokondria, aktivasi sel T, sel *nature killer* (NK) dan memiliki implikasi dengan penyakit mitokondria²⁻³.

Mitokondria memiliki dua membran fosfolipid, dimana membran luar menutupi permukaan mitokondria, sedangkan membran dalam memiliki banyak lipatan yang disebut krista untuk meningkatkan luas permukaan protein dan berperan penting dalam rantai transpor elektron. Membran dalam juga merupakan tempat di mana banyak reaksi kimia terjadi untuk melaksanakan berbagai fungsi mitokondria selain sebagai pusat sintesis ATP, seperti produksi ROS, menyimpan kalsium untuk mempertahankan homeostasis kadar kalsium dalam sel, mengatur metabolisme sel, apoptosis, kelangsungan hidup sel, pensinyalan sel, termogenesis dan proses penuaan^{4,5}.

Gangguan fungsi mitokondria atau disfungsi mitokondria dapat disebabkan oleh berbagai hal yang memicu radikal bebas sehingga menyebabkan stres oksidatif, kerusakan DNA dan gangguan energi. Pada disfungsi mitokondria terjadi kehilangan integritas membran yang memungkinkan komponen mitokondria masuk ke dalam sitosol atau keluar ke sirkulasi. Untuk menghambat efek negatif ROS, mitokondria yang mengalami disfungsi akan dieliminasi melalui proses mitofagi. Akumulasi mutasi DNA mitokondria (mtDNA) yang disebabkan oleh stres oksidatif dikaitkan dengan disfungsi mitokondria progresif, dan menyebabkan penurunan fungsi fisiologis terkait usia. Kelainan klinis karena kekurangan energi pada disfungsi mitokondria sangat bervariasi, tergantung pada jenis sel, dimana sel-sel yang membutuhkan jumlah energi besar seperti sel-sel otot jantung dan saraf, paling terpengaruh oleh gangguan fungsi mitokondria^{2,6}.

Mitokondria dan Respon Imun

Mitokondria dan imunitas saling terkait satu sama lain, dimana mitokondria berperan dalam pengaturan aktivasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel imun. Pelepasan sinyal mtDNA dan ROS mitokondria (mtROS) berperan dalam pengaturan transkripsi sel imun pada respon imun bawaan dan adaptif. Oleh karena itu disfungsi mitokondria akan menyebabkan gangguan diferensiasi sel-sel imun yang merupakan dasar terjadinya berbagai penyakit kronis⁷.

Struktur dan fungsi mitokondria dapat memengaruhi respons imun bawaan atau respon imun non-spesifik melalui aktivasi langsung dan modulasi respon imun. Selama proses respon imun terjadi perubahan metabolisme dari keadaan katabolik ke anabolik yang berkaitan dengan transisi sel-sel imun dari fase tenang ke fase aktif. Dalam keadaan tenang, makromolekul menjalani jalur katabolik untuk menghasilkan energi dan mendukung kelangsungan hidup jangka panjang, sedangkan pada jalur anabolik, makromolekul disintesis dan mendukung keseimbangan antara kebutuhan ATP dan metabolit yang dibutuhkan⁴.

Mitokondria dapat mengatur bagaimana sel imun merespon infeksi dan kerusakan jaringan, dimana mitokondria dapat dengan cepat beralih dari terutama menjadi organel katabolik yang menghasilkan ATP saja, menjadi organel anabolik yang menghasilkan ATP sintesis makromolekul. Mitokondria memiliki beberapa mekanisme yang memungkinkannya untuk mengaktifkan jalur pensinyalan dalam sitosol termasuk mengubah rasio AMP/ATP, pelepasan metabolit siklus ROS dan *tricarboxylic acid* (TCA), serta lokalisasi protein pengatur sel imun pada membran mitokondria luar. *Oxidative phosphorylation* (OXPHOS) dari mitokondria, metabolisme asam lemak dan metabolisme asam amino dalam mitokondria mempengaruhi aktivitas sel imun^{8,9}. Peristiwa metabolik mitokondria tersebut dikendalikan oleh sinyal internal dari sel itu sendiri atau dipengaruhi oleh sel-sel di sekitarnya dan dari beberapa hasil penelitian terkait, memunculkan konsep imunometabolisme. Mitokondria dapat menghasilkan sinyal pro atau anti-inflamasi dengan mengubah kadar metabolit yang dihasilkan dalam siklus Krebs atau dengan mengubah tingkat produksi ROS. Inflamasom yang merupakan kompleks multiprotein dalam makrofag, berperan mengaktifkan mediator pro-inflamasi IL-1 β . Hal ini terjadi karena lipo poli sakarida (LPS) dari patogen berikatan dengan reseptor TLR4 pada permukaan makrofag akan menyebabkan peningkatan pensinyalan oleh jalur NF- κ B, sehingga meningkatkan ekspresi prekursor IL-1 β ¹⁰.

Uncoupling protein dari mitokondria yang berada pada membran dalam mitokondria berperan mengontrol produksi ROS dan polarisasi makrofag. Polarisasi dari monosit menjadi fenotipe makrofag M1 dan M2 dikontrol juga oleh sitokin. Makrofag M1 merupakan fenotip pro-inflamasi, diaktifkan oleh IFN- γ lipopolisakarida, berperan menghasilkan sitokin pro-inflamasi, ROS, dan nitric oxide (NO). Sedangkan makrofag M2 merupakan fenotipe anti-inflamasi, diaktifkan oleh IL-4 atau IL-13, berperan meningkatkan regulasi arginase-1, mengurangi kadar NO dan ROS, melepaskan sitokin anti-inflamasi, faktor pertumbuhan, dan poliamin, sehingga meningkatkan angiogenesis dan penyembuhan jaringan^{7,11}. Fagositosis oleh makrofag penting berperan penting untuk pembersihan patogen mikroba yang efektif dan sangat diperlukan untuk mekanisme pertahanan non-spesifik. Fagositosis terjadi melalui serangkaian reseptor pengenalan *pattern recognition receptors* (PRR) meliputi *toll-like receptors* (TLRs) dan kompleks multiprotein, disebut inflamasom yang dapat mendeteksi molekul patogen dan memproduksi sitokin pro-inflamasi¹². Fagositosis berhubungan dengan produksi ROS yang diperlukan untuk penghancuran mikroorganisme intraseluler. Mitokondria adalah sumber penting ROS mitokondria (mtROS) terutama pada disfungsi mitokondria, tetapi mtROS juga rentan terhadap kerusakan oksidatif

yang selanjutnya dapat meningkatkan produksi mtROS. Dengan demikian, regulasi mitokondria sangat penting untuk integritas sel¹³. Dalam kondisi normal, makrofag memiliki aktivitas rendah sehingga sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi yang diproduksi oleh sel-sel imun berada pada keseimbangan. Namun keseimbangan ini akan berubah dengan adanya perubahan kondisi basal akibat berbagai gangguan metabolisme seperti obesitas, diabetes mellitus, steatohepatitis non-alkoholik, aterosklerosis, dan aktifitas fisik¹⁴.

Mitokondria berperan penting untuk pengenalan sel kanker oleh sistem imun dan untuk aktivasi fagositosis terhadap sel kanker. Pada mekanisme respon imun terhadap sel kanker, produk mitokondria seperti ATP, ROS dan mtDNA berperan sebagai sinyal bahaya, baik secara ekstraseluler (seperti ATP) atau intraseluler (seperti ROS dan mtDNA). Namun disisi lain, mtROS diperlukan untuk aktivasi sel-T sebagai respon TCR, dan fosforilasi oksidatif (OXPHOS) diperlukan untuk pembentukan memori imunologis serta untuk aktivitas *tumoricidal* dan pro-inflamasi makrofag M1. Fosforilasi oksidatif OXPHOS juga berperan mendukung diferensiasi sel immunosupresif termasuk makrofag M2, sel T regulator (Treg) dan T cytotoxic (Tc)^{15,16}.

Respon imun adaptif berbeda dari respon imun bawaan karena kemampuan dalam membedakan sel sendiri dan sel asing. Aktivasi sel limfosit T dan limfosit B memicu pembentukan sel memori untuk pertahanan jangka panjang. Meskipun sel imun adaptif tidak menggunakan ROS untuk fungsi efekturnya, molekul-molekul ini dapat bertindak sebagai pemberi sinyal pengirim, seperti sinyal oksidatif yang diperlukan untuk aktivasi sel T. Dalam hal ini mitokondria berperan dalam peristiwa pensinyalan awal yang mengontrol aktivasi sel T. Sel efektor Th1, Th2, dan Th17 bergantung terutama pada glikolisis oksidatif dan glutaminolisis, sedangkan sel Treg bergantung pada oksidasi lipid¹⁷.

Diferensiasi limfosit B naïve menjadi limfosit B efektor terjadi melalui hiper mutasi somatik oleh *class-switch recombination* (CSR) dan menjadi *antibody-secreting plasma cells* (PCD) melalui faktor transkripsi Bach2. mtROS menghambat sintesis heme dalam CSR, tetapi memodulasi sintesis heme dalam PCD, sehingga massa mitokondria dan potensi membran meningkat dalam CSR dan menurun pada PCD, sehingga mtROS memodulasi fungsi sel B dengan mengubah sintesis heme⁷.

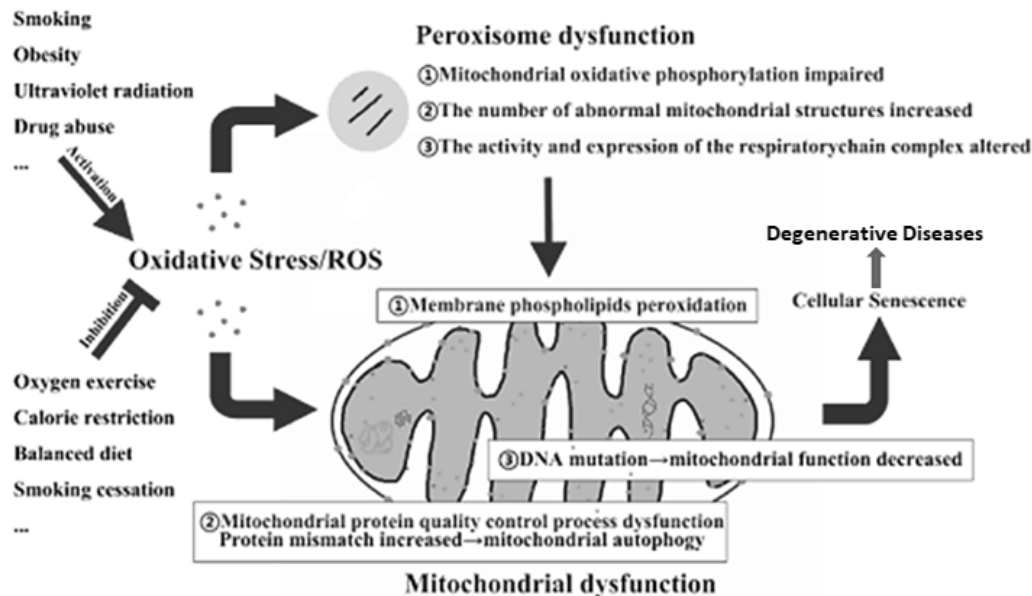
Mitokondria dan Penyakit Tidak Menular

Mitokondria berperan penting dalam bioenergi dan biosintetik sel yang dapat dengan cepat menyesuaikan dalam memenuhi kebutuhan metabolisme sel. Peningkatan kebutuhan energi dipenuhi oleh biogenesis mitokondria dan fusi mitokondria, sedangkan penurunan kebutuhan menyebabkan pengurangan mitokondria melalui fisi dan mitofagi. Kemampuan untuk secara cepat menyesuaikan kemampuan bioenergi seluler pada lingkungan yang berubah dengan cepat dibutuhkan untuk fungsi seluler normal dan perkembangan kanker¹⁸. Hilangnya respons adaptif ini berpotensi mengganggu fungsi seluler dan membuat sel lebih rentan terhadap stresor eksternal seperti stres oksidatif, radiasi, obat-obatan kemoterapi dan hipoksia. Kondisi dimana terdapat gangguan komunikasi antara mitokondria dan nukleus (*mito-nuclear cross talk*) akibat mutasi mtDNA, jumlah mitokondria yang tidak memadai, ketidak mampuan dalam penyediaan substrat mitokondria atau gangguan transport elektron dan sintesis ATP, akan menyebabkan disfungsi mitokondria. Disfungsi mitokondria, ditandai dengan hilangnya efisiensi dalam rantai transport elektron dan pengurangan sintesis ATP, yang merupakan karakteristik penuaan dan penyakit kronis seperti: penyakit neurodegeneratif, penyakit kardiovaskular, diabetes dan sindrom metabolik, penyakit autoimun, penyakit neurobehavioral dan psikiatrik, gangguan pencernaan, sindrom kelelahan kronis, penyakit muskuloskeletal, kanker dan infeksi kronis^{19,20}.

Penuaan, genetik, faktor risiko kardiovaskuler tradisional, dan faktor lingkungan dapat menyebabkan stres oksidatif terutama pada pembuluh darah, di mana *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) *oxidase* (NOX) and *uncoupled nitric oxide synthase* (NOS) merupakan sumber yang dominan. Pada kondisi fisiologis, peningkatan ROS dalam kadar rendah dapat menyebabkan efek perlindungan melalui mediasi pensinyalan redoks, seperti peningkatan kapasitas antioksidan. Namun jika produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan, maka ROS akan menyebabkan kerusakan sel dan disfungsi endotel yang berperan pada terjadinya aterosklerosis dan penyakit degeneratif lain (gambar 1)^{5,6}.

Aterosklerosis yang merupakan inflamasi arteri kronis, sangat terkait dengan stres oksidatif. Peningkatan ROS memicu ekspresi gen pro-inflamasi seperti *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1),

intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), *monocyte chemotactic protein-1*, and *E-selectin* yang ditranskripsi oleh *redox-sensitive transcription factors* seperti NF- κ B, activator protein-1, HIF-1 β , and *early growth response protein -1*, dimana gen ini berperan pada fase awal aterogenesis, seperti interaksi endotel dengan leukosit. Faktor transkripsi ini juga berperan dalam pensinyalan proliferasif yang terkait dengan pertumbuhan otot polos vaskuler, remodeling vascular dan migrasi fibroblast yang memicu proses aterogenik. *Reactive oxygen species* berperan mengaktifkan MAPK, reseptor dan non-reseptor dan tirosin kinase²¹.



Gambar 1: Faktor-faktor yang berhubungan dengan stress oksidatif, disfungsi mitokondria dan penyakit degeneratif⁶.

Tekanan darah yang tinggi pada hipertensi akan mengaktifkan pensinyalan NADPH oksidase melalui angiotensin II (ATII) dan angiotensin 1 (AT1R). Stres oksidatif merupakan komponen penting dari hipertensi, di mana NADPH oksidase merupakan sumber utama ROS. Secara mekanis, ATII, melalui pensinyalan angiotensin 1 reseptor (AT1R), memediasi regulasi vaskular dan aktivasi NADPH oksidase melalui translokasi cepat GTPase ke membran sel. Hipertensi umumnya dikaitkan dengan regangan mekanis pembuluh darah, peningkatan produksi ROS, pergantian matriks ekstraseluler, dan fibrosis, yang pada gilirannya mengubah struktur dan fungsi semua organel seluler, termasuk mitokondria serta translokasi dan aktivasi NADPH oksidase^{22,23}.

Hiperglikemia meningkatkan stres oksidatif seluler dengan rantai pernapasan mitokondria sebagai sumber utama O_2^- . Protein kinase C dan produk akhir glikasi mengaktifkan NADPH oksidase dan menghambat eNOS melalui modifikasi pasca-translasi, sedangkan *NADPH oxidase-mediated eNOS uncoupling* eNOS meningkatkan stres oksidatif (130). Pada resistensi insulin terjadi inhibisi aktivitas GTP cyclohydrolase 1 (GTPCH1) dan aktivasi eNOS dan gangguan phosphoinositide 3 kinase (PI3K) / Akt¹⁸.

Pada hiperkholesterolemia sumber ROS utama dalam adalah NADPH oksidase dan xantin oksidase yang diaktifkan oleh oxidized low-density lipoprotein, dan regulasi AT1R. Kolesterol LDL terutama kolesterol LDL teroksidasi (oxLDL) memodulasi pembentukan O_2^- dan $ONOO^-$, yang berperan mengatur adhesi monosit, ekspresi gen inflamasi vaskuler, dan redox-sensitive transcription factors, seperti NF- κ B dan activator protein-1 peradangan ekspresi gen vaskular, dan faktor transkripsi peka-redoks, seperti NF- κ B activator protein-1²².

Pada penuaan vascular, kekakuan arteri dan disfungsi endotel meningkatkan berhubungan dengan peningkatan produksi ROS. Disfungsi endotel dimediasi oleh berkurangnya bioavailabilitas NO, baik melalui penurunan sintesis atau peningkatan degradasi. Penurunan n NO dan peningkatan produksi O_2^- dan $ONOO^-$ memicu stress oksidatif. Gangguan keseimbangan redoks meningkatkan ekspresi NADPH

oksidase dan produksi O_2^- melalui mediator $TNF-\alpha$ yang menyebabkan inflamasi. Kekakuan arteri akibat usia menyebabkan hilangnya serat elastis yang sebagian dimediasi oleh protease dengan aktivitas elastolitik, termasuk matriks metalloproteinase. Hal ini berkaitan dengan ROS melalui aktivasi siklin A yang diinduksi ROS, memediasi matriks metalloproteinase 9, $TNF-\alpha$, dan ekspresi IL-6 melalui jalur NF- κ B dan ERK⁵.

Senyawa yang terkandung dalam asap rokok merangsang NADPH oksidase endotel dan mengurangi fungsi mitokondria, sehingga menginduksi stres oksidatif mitokondria. Peningkatan O_2^- dan pembentukan ONOO⁻ memicu kerusakan DNA vaskuler dan inflamasi, sehingga mempercepat penuaan pembuluh darah. Melalui oksidasi kolesterol LDL, asap rokok meningkatkan potensi pro-oksidatifnya. Senyawa dalam asap rokok menyebabkan disfungsi mitokondria, perubahan sintesis ATP dan induksi stres oksidatif. Adanya kerusakan mtDNA berhubungan erat dengan terjadinya keganasan²⁴.

Kesimpulan

Mitokondria bukan hanya "pembangkit tenaga" sel, tapi juga berperan pada imunitas, sehingga gangguan atau disfungsi mitokondria berimplikasi pada penyakit tidak menular atau penyakit degeneratif.

Daftar Pustaka

1. Bagatini MD, Cardoso AM, Reschke CR, and Carvalho FB. Immune System and Chronic Diseases. *Journal of Immunology Research*, 2018;2018: 1-2
2. Newsholme P, Cruzat VF, Keane KN, Carlessi R, de Bittencourt P Jr. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *Biochem J*, 2016;473(24):4527-4550.
3. Scott L and Youle RJ. Mitochondrial fission and fusion. *Essays Biochem*, 2010; 47: 85–98.
4. David Sancho, Michel Enamorado and Johan Garaude Innate Immune Function of Mitochondrial Metabolism. *Front. Immunol.*, 2017;8 (527):1-9;
5. McGuire PJ. Mitochondrial Dysfunction and the Aging Immune System, *Biology*. 2019;8(26):2-10
6. Zhu MJ, Wang X, Shi L, Liang LY, and Wang Y. Senescence, oxidative stress and mitochondria dysfunction. *Med Res Innov.*, 2018;2(4): 1-5
7. Angajala A, Lim S, Phillips JB, Kim Jh, Yates C, You Z, and Tan M. Diverse Roles of Mitochondria in Immune Responses: Novel Insights Into Immuno-Metabolism. *Front Immunol.*, 2018; 9(1605): 2-19
8. Weinberg SE, Sena LA, and Chandel NS. Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity. *Immunity*, 2015; 42(3): 406–417.
9. Van den Bossche J, Baardman J, Otto NA, van der Velden S, Neele AE, and van den Berg SM. Mitochondrial Dysfunction Prevents Repolarization of Inflammatory Macrophages. *Cell Reports*. 2016;17: 684–696
10. Murphy MP. Making mitochondrial DNA is inflammatory. *Nature*. 2018; 176(560): 175-177
11. De Santa F, Vitiello L, Torcinaro A, and Ferraro E. The Role of Metabolic Remodeling in Macrophage Polarization and Its Effect on Skeletal Muscle Regeneration. *Antioxid Redox Signal*. 2019; 30(12): 1553-1597
12. Foley JF. More roles for mitochondria in the immune response. *Science Signaling*. 2016;9(445): 208-211.
13. West AP. Mitochondria in innate immune responses. *Nat Rev Immunol.*, 2011 ;11(6):389-402.
14. Shadel GS, Ghosh S, Silveira LS, de Moura B, Antunes M, Araujo Minari AL, Vagner RA, dos Santos T, Cesar J, Neto R and Lira FS. Macrophage Polarization: Implications on Metabolic Diseases and the Role of Exercise. *Eukaryotic Gene Expression*, 2016;26(2):115–132
15. Porporato PE, Filigheddu N, Manuel J. San Pedr B and Galluzzi L. Mitochondrial metabolism and cancer. *Cell Res.*, 2018; 28(3): 265–280.
16. Mills EL, Kelly B, Logan A, Costa ASH, Varma M., Bryant CE, Tourlomousis P, Da Britz JHM, Eyal Gottlieb, Isabel Latorre, Sinead C. Corr, Gavin McManus, Dylan Ryan, Jacobs HT, Szibor M, Xavier RJ, Braun T, Frezza C, Murphy MP, and O'Neill LA. Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages. *Cell*, 2016;167: 457–470

17. de Souza Breda CN, Davanzo GG, Bassoa PJ, Câmara NOS, and Moraes-Vieira PMM. Mitochondria as central hub of the immune system. *Redox Biology*, 2019; 26: 1-17
18. Herst PM, Rowe MR, Carson GM, and Berridge MV. Functional Mitochondria in Health and Disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017; 8(296):1-16
19. Nicolson GL. Mitochondrial Dysfunction and Chronic Disease: Treatment With Natural Supplements. *Integr Med (Encinitas)*, 2014;13(4):35-43.
20. Chen Y, Zhou Z, and Min W. Mitochondria, Oxidative Stress and Innate Immunity. *Front Physiol.*, 2018; 9: 1487-1493
21. Münzel T, Giovanni G, Camici GG, Maack C, Bonetti NR, Fuster V and Jason C. Kovacic JC. Impact of Oxidative Stress on the Heart and Vasculature. *Journal of the American College of Cardiology*, 2017; 70(2):212-229.
22. Lahera V, de Las Heras N, López-Farré A, Manucha W, Ferder L. Role of Mitochondrial Dysfunction in Hypertension and Obesity. *Curr Hypertens Rep.*, 2017;19(2):11-19
23. Eirin A, Lerman A, and Lerman LO. Mitochondria, A Pathogenic Paradigm in Hypertensive Renal Disease. *Hypertension*, 2015;65:264–270
24. Pourahmad J, Aghvami M, and Zarei MH. ed Parvaneh Naserzadeh. Cigarette Smoke and Mitochondrial Damage. *Mitochondrial Dysfunction Caused by Drugs and Environmental Toxicants*, 2018

Kode Makalah : IndBio 020

Hiperurisemia Meningkatkan Ekspresi Gen Endothelin-1 (ET-1) pada Jantung Mencit (*Mus musculus*)

Andi Muh. Maulana¹, Nur Arfian², Muhammad Mansyur Romi²

¹Bagian Anatomi dan Bagian Histologi Fakultas Kedokteran
Universitas Muhammadiyah Purwokerto

²Departemen Anatomi, Embriologi, dan Antropologi Fakultas Kedokteran
Universitas Gadjah Mada

Corresponding author:

Andi Muh. Maulana

Department of Anatomy and Department of Histology, Faculty of Medicine,

Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto, Indonesia

Jl. Raya Dukuhwaluh, Kembaran, Banyumas, Central Java 53182, Phone: (+62281)636751, 630463,
634424, Mobile phone: +6282111777013,

E-mail: amuhmaulanammedsc@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Hiperurisemia ditandai dengan produksi asam urat yang berlebihan, sehingga dapat menyebabkan disfungsi endotel, peningkatan kekakuan pembuluh darah, peningkatan stres oksidatif, respon sistem imun, inflamasi, dan ketidakseimbangan substansi vasoaktif. Abnormalitas tersebut akan berpengaruh pada sistem kardiovaskular terutama substansi vasoaktif. Endothelin-1 (ET-1) adalah salah satu substansi vasoaktif yang berperan sebagai vasokonstriktor kuat. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh hiperurisemia terhadap ekspresi gen ET-1 pada jantung mencit.

Metode: Dua puluh lima ekor mencit jantan galur *Swiss* umur 3 bulan dibagi menjadi 5 kelompok, Kontrol (n=5) diinjeksi NaCl 0,9% selama 28 hari, AU7 (n=5), AU14 (n=5), AU21 (n=5), dan AU28 (n=5) diinduksi asam urat secara intraperitoneal dengan dosis 125 mg/kgBB selama 7, 14, 21, dan 28 hari. Ekspresi gen ET-1 diperiksa dengan RT-PCR, dianalisis densitometri dengan *software* ImageJ. Data dianalisis dengan uji *One-way* ANOVA dan Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Hasil: Induksi asam urat dengan dosis 125 mg/kgBB/hari dapat menyebabkan hiperurisemia pada mencit dan meningkatkan ekspresi gen ET-1 dengan nilai $p < 0,05$.

Simpulan: Hiperurisemia meningkatkan ekspresi gen Endothelin-1 (ET-1) pada jantung mencit (*Mus musculus*).

Kata Kunci: hiperurisemia, jantung mencit, endothelin-1

Pendahuluan

Asam urat dengan formula $C_5H_4N_4O_3$ (7,9-dihidri-1 H-purin-2,6,8 (3H)-trione) merupakan produk akhir dari metabolisme purin dalam tubuh manusia yang dibentuk secara endogen maupun eksogen dan diekskresikan dalam urin. Pada pH fisiologis, asam urat merupakan asam lemah dengan pKa 5,8 dan memiliki rentang normal 2,5-7 mg/dL pada pria dan 1,5-6 mg/dL pada wanita dengan rata-rata kelarutan asam urat 6,8 mg/dL. Ketika kadar asam urat lebih dari 6,8 mg/dL, asam urat akan membentuk monosodium urat (MSU). Hiperurisemia adalah suatu keadaan yang ditandai dengan produksi asam urat yang berlebihan. Secara luas, hiperurisemia pada orang dewasa ditandai apabila kadar asam urat dalam darahnya lebih dari 7,0 mg/dL pada pria dan 6,0 mg/dL pada wanita¹. Kadar serum asam urat diatur melalui sintesis asam urat dan diekskresikan oleh ginjal². Prevalensi hiperurisemia pada populasi manusia cukup tinggi.

Hiperurisemia sangat sering terjadi pada pasien yang mengalami penyakit kardiovaskular, tetapi seringkali tidak dianggap sebagai faktor risiko utama. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa asam urat

secara biologis aktif dapat merangsang stres oksidatif, disfungsi endotel, peradangan dan vasokonstriksi. Studi epidemiologis telah menemukan bahwa asam urat secara independen berperan terhadap perkembangan hipertensi, stroke dan gagal jantung³.

Pengaturan tonus pembuluh darah (relaksasi dan konstriksi) melalui keseimbangan dua kelompok substansi vasoaktif yaitu: vasodilator-*nitric oxide* (NO) dan vasokonstriktor-Endothelin-1 (ET-1)⁴. Sementara itu keadaan hiperurisemia dapat mempengaruhi kemampuan vasodilatasi pembuluh darah⁵.

Saat ini banyak penelitian yang mengkaji pengaruh kadar asam urat terhadap fungsi kardiovaskular mencit, tetapi hanya sedikit yang berhubungan dengan aktivitas substansi vasoaktif. Peneliti tertarik untuk mengkaji pengaruh hiperurisemia terhadap substansi vasoaktif yang berperan sebagai agen vasokonstriktor, yaitu ET-1.

Bahan dan Metode:

A. Bahan

1. Hewan coba: Mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 3 bulan dengan berat 30-40 gram.
2. Bahan untuk induksi asam urat: asam urat (Sigma Aldrich, U2526-25G) dalam bentuk serbuk dosis 125 mg/kgBB, larutan NaOH 0,2 M, akuades.
3. Bahan untuk ekstraksi RNA dan pembuatan cDNA: larutan RNA isoplus (GENEzol™, GZR100), larutan *diethylpyrocarbonate* (DEPC), alkohol 70%, larutan isopropanolol, kloroform, larutan ReverTraAce (Toyobo, TRT-101).
4. Bahan untuk RT-PCR dan elektroforesis: larutan Tris Borate EDTA (TBE), agarose (Promega, V1321), larutan *gel red* (Biotium, 41003), Taq Master Mix (GoTaq® Green Master Mix, 7122), primer *forward* dan *reverse* ppET-1.

B. Metode

1. Pemberian asam urat dengan menginjeksikan asam urat dosis tunggal 125 mg/kgBB dalam bentuk serbuk yang dilarutkan dalam larutan NaOH 0,2 M secara intraperitoneal selama (7, 14, 21, 28) hari. Kadar asam urat diukur diakhir penelitian, sebelum terminasi⁶.
2. Ekspresi gen ET-1 diperiksa dengan metode *Reverse Transcriptase* PCR (RT-PCR) dengan menggunakan primer ppET-1 dan dikuantifikasi dengan *software* ImageJ yang dinyatakan dalam satuan *optical density* (OD).
3. Data dianalisis dengan uji *One-way* ANOVA dan Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Hasil dan Diskusi:

A. Hasil

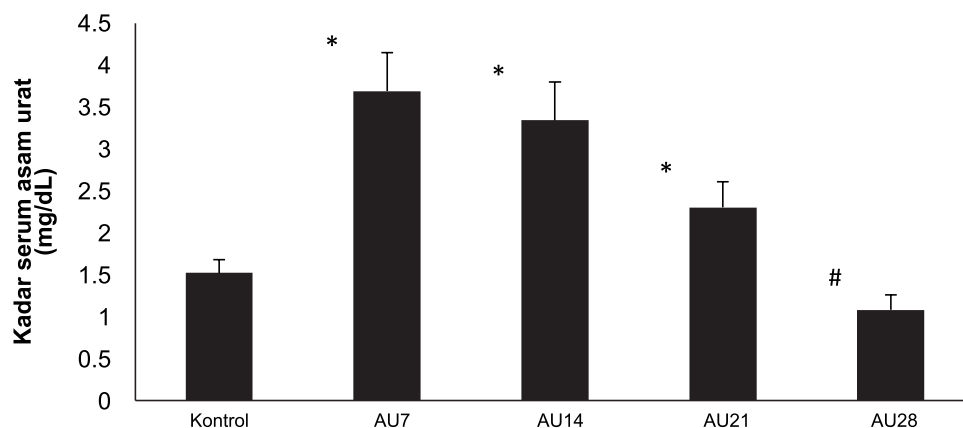
I. Kadar serum asam urat

Berdasarkan hasil pemeriksaan kadar serum asam urat didapatkan rerata $\pm$ SB, Kontrol=1,52 $\pm$ 0,16 mg/dL, AU7=3,68 $\pm$ 0,46 mg/dL, AU14=3,32 $\pm$ 0,45 mg/dL, AU21=2,30 $\pm$ 0,30 mg/dL, dan AU28=1,08 $\pm$ 0,17 mg/dL. Data rerata $\pm$ SB kadar serum asam urat disajikan pada tabel 1 dan diagram batang disajikan pada gambar 1.

Tabel 1. Rerata $\pm$ SB Kadar Serum Asam Urat

	Kelompok	Rerata $\pm$ SB mg/dL	p*
Kadar Serum Asam Urat	Kontrol	1,52 $\pm$ 0,16	0,000
	AU7	3,68 $\pm$ 0,46	
	AU14	3,32 $\pm$ 0,45	
	AU21	2,30 $\pm$ 0,30	
	AU28	1,08 $\pm$ 0,17	

*Uji *One-way* ANOVA. Uji *post hoc* LSD: kontrol vs AU7 ($p=0,000$); Kontrol vs AU14 ($p=0,000$); Kontrol vs AU21 ($p=0,004$); Kontrol vs AU28 ($p=0,084$); Kontrol: kelompok dengan injeksi NaCl 0,09%; AU7: induksi asam urat selama 7 hari; AU14: induksi asam urat selama 14 hari; AU21: induksi asam urat selama 21 hari; AU28: induksi asam urat selama 28 hari.

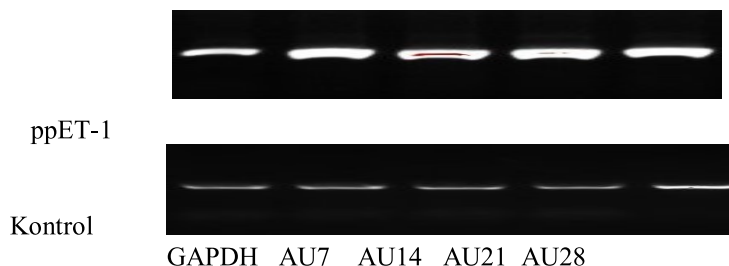


Gambar 1. Diagram Batang Rerata Kadar Serum Asam Urat

Keterangan: Terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p=0,000$). $*$ = $p<0,05$ vs Kontrol; $\#$ = $p>0,05$ vs Kontrol, Kontrol: kelompok dengan injeksi NaCl 0,09%; AU7: induksi asam urat selama 7 hari; AU14: induksi asam urat selama 14 hari; AU21: induksi asam urat selama 21 hari; AU28: induksi asam urat selama 28 hari.

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa kadar serum asam urat terdistribusi normal ($p=0,158$), dan uji *One-way* ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p=0,000$). Uji *post hoc* LSD menunjukkan perbedaan bermakna antara Kontrol dengan AU7 ($p=0,000$), Kontrol dengan AU14 ($p=0,000$), Kontrol dengan AU21 ($p=0,004$), AU7 dengan AU21 ($p=0,000$), AU7 dengan AU28 ($p=0,000$), AU14 dengan AU21 ($p=0,000$), AU14 dengan AU28 ($p=0,000$), serta kelompok AU21 dengan AU28 ($p=0,000$), sedangkan Kontrol dengan AU28 ($p=0,084$) serta AU7 dengan AU14 ($p=0,145$) menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

II. Ekspresi gen Endothelin-1 (ET-1)



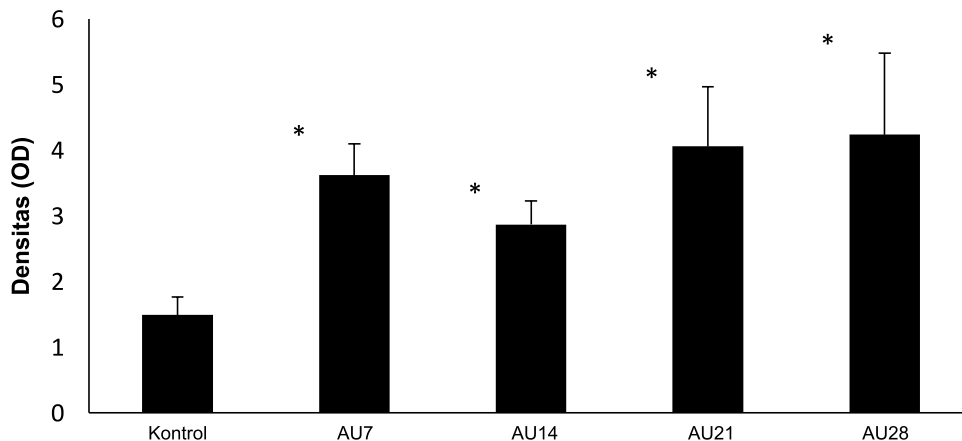
Gambar 2. Gambaran Pita Hasil Elektroforesis ppET-1 dan GAPDH

Keterangan: Kontrol: kelompok dengan injeksi NaCl 0,09%; AU7: induksi asam urat selama 7 hari; AU14: induksi asam urat selama 14 hari; AU21: induksi asam urat selama 21 hari; AU28: induksi asam urat selama 28 hari.

Berdasarkan hasil pemeriksaan densitometri dengan menggunakan *software* ImageJ didapatkan nilai rerata $\pm$ SB ekspresi ppET-1, yaitu Kontrol=1,49 $\pm$ 0,27, AU7=3,62 $\pm$ 0,47, AU14=2,87 $\pm$ 0,35, AU21=4,06 $\pm$ 0,90, dan AU28=4,24 $\pm$ 1,24. Data rerata ekspresi ppET-1 $\pm$ SB disajikan pada tabel 7 dan diagram batang disajikan pada gambar 2.

Tabel 2. Rerata $\pm$ SB Ekspresi Gen ppET-1			
	Kelompok	Rerata $\pm$ SB	p*
Ekspresi ppET-1	Kontrol	1,49 $\pm$ 0,27	0,000
	AU7	3,62 $\pm$ 0,47	
	AU14	2,87 $\pm$ 0,35	
	AU21	4,06 $\pm$ 0,90	
	AU28	4,24 $\pm$ 1,24	

*Uji *One-way* ANOVA. Uji *post hoc* LSD: Kontrol vs AU7 ($p=0,001$); Kontrol vs AU14 ($p=0,017$); Kontrol vs AU21 ($p=0,000$); Kontrol vs AU28 ($p=0,000$); AU14 vs AU21 ($p=0,037$); AU14 vs AU28 ($p=0,049$). Keterangan: Kontrol: kelompok dengan injeksi NaCl 0,09%; AU7: induksi asam urat selama 7 hari; AU14: induksi asam urat selama 14 hari; AU21: induksi asam urat selama 21 hari; AU28: induksi asam urat selama 28 hari.



Gambar 2. Diagram Batang Rerata Ekspresi ppET-1

Keterangan: Gambaran rerata ekspresi ppET-1 berdasarkan penghitungan densitometri dengan *software* ImageJ. Terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p=0,000$). *= $p<0,05$ vs Kontrol; #= $p>0,05$ vs Kontrol, Kontrol: kelompok dengan injeksi NaCl 0,09%; AU7: induksi asam urat selama 7 hari; AU14: induksi asam urat selama 14 hari; AU21: induksi asam urat selama 21 hari; AU28: induksi asam urat selama 28 hari.

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa rerata ekspresi ppET-1 terdistribusi normal ($p=0,703$) dan hasil uji *One-way* ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p=0,000$) dan hasil uji *post hoc* LSD didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok Kontrol dengan AU7 ($p=0,001$), Kontrol dengan AU14 ($p=0,017$), Kontrol dengan AU21 ($p=0,000$), Kontrol dengan AU28 ($p=0,000$), AU14 dengan AU21 ($p=0,037$), dan AU14 dengan AU28 ($p=0,049$), sedangkan AU7 dengan AU14 ($p=0,171$), AU7 dengan AU21 ($p=0,421$), AU7 dengan AU28 ($p=0,505$), dan AU21 dengan AU28 ($p=0,889$) menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

B. Pembahasan

Sattle *et al.* menyatakan bahwa dosis asam urat yang diberikan dengan metode injeksi intravena berpengaruh terhadap peningkatan kadar serum asam urat⁷. Penelitian yang dilakukan oleh Zhou *et al.* terhadap mencit yang diinduksi asam urat dengan cara injeksi intraperitoneal menggunakan dosis 250 mg/kgBB/hari dapat menyebabkan peningkatan kadar serum asam urat secara bermakna pada hari ke-7 dan ke-14⁸. Berdasarkan data hasil uji *One-way* ANOVA, induksi asam urat yang dilakukan dengan cara injeksi intraperitoneal menggunakan dosis 125 mg/kgBB/hari, juga dapat meningkatkan kadar serum asam urat pada hari ke-7, 14, dan 21 secara bermakna ($p=0,000$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, sehingga ketiga kelompok tersebut dapat dikategorikan hiperurisemia.

Sementara itu, pada kelompok yang diinduksi asam urat selama 28 hari (AU28), kadar serum asam urat ditemukan tidak bermakna dengan kelompok Kontrol ($p=0,084$). Diperkirakan penurunan kadar serum asam urat yang terjadi pada kelompok AU28, disebabkan oleh peningkatan aktivitas enzim uricase sehingga dapat mengubah asam urat menjadi allantoin yaitu molekul yang lebih larut, selanjutnya dapat diekskresikan melalui ginjal. Uricase merupakan enzim katabolik asam urat yang terdapat di hepar⁹.

Endothelin-1 (ET-1) adalah salah satu dari banyak agen vasokonstriktor yang paling potensial (kuat). Banyak studi yang menyoroti mengenai interaksi NO dan ET-1 dalam meregulasi tonus pembuluh darah. Pengaturan tonus pembuluh darah oleh ET-1 bergantung pada keseimbangan dua reseptornya, yaitu ET_AR dan ET_BR. Banyak komplikasi kardiovaskular terkait dengan faktor risiko kardiovaskular dan penuaan yang awalnya disebabkan oleh disfungsi endotel yang ditandai dengan disregulasi antara NO dan ET-1. Kontribusi peningkatan ET-1 dikaitkan dengan penurunan NO yang proporsional¹⁰.

Keadaan hiperurisemia dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif sehingga menginduksi terjadinya disfungsi endotel yang selanjutnya menyebabkan ketidakseimbangan substansi vasoaktif, misalnya penurunan produksi NO dan peningkatan produksi ET-1. Hiperurisemia terbukti dapat meningkatkan ekspresi gen ET-1.

Secara *in-vivo*, hiperurisemia dapat menyebabkan ketidakseimbangan substansi vasoaktif salah satunya agen vasokonstriktor, yaitu ET-1. Hal tersebut dapat dibuktikan dalam penelitian ini, kelompok mencit yang diinduksi asam urat menunjukkan hasil analisis densitometri setelah dibandingkan dengan GAPDH sebagai *house keeping gene*, ekspresi gen ET-1 mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Simpulan:

Hiperurisemia meningkatkan ekspresi gen Endothelin-1 (ET-1) pada jantung mencit (*Mus musculus*)

Ucapan Terima Kasih:

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Wiwit Ananda Wahyu dan Bapak Mulyana yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka:

1. Jin, M., Yang, F., Yang, I., Yin, Y., Luo, J.J., Wang, H., *et al.* (2012) Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. *Front Biosci* 17:656–69.
2. So, A. & Thorens, B. (2010) Uric acid transport and disease. *J Clin Invest*, 120(6): 1791–9.
3. Kanbay, M., Segal, M., Afsar, B., Kang, D.H., Rodriguez-Iturbe, B. & Jhonson, R.J. (2013) The role of uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease. *Heart*, 99:759–66.
4. Julius, S. (1999) Long-term potential of angiotensin receptor blockade for cardiovascular protection in hypertension: the value trial. *Cardiology*, 91 (Suppl 1):8–13.
5. Kato, M., Hisatome, I., Tomikura, Y., Kotani, K., Kinugawa, T., Ogino, K., *et al.* (2005) Status of endothelial dependent vasodilation in patients with hyperuricemia. *Am J Cardiol*, 96:1576–8.
6. Ryu, E.S., Kim, M.J., Shin, H.S., Jang, Y.H., Choi, H.S., Jo, I., *et al.* (2013) Uric acid-induced phenotypic transition of renal tubular cells as a novel mechanism of chronic kidney disease. *Am J Physiol—Ren Physiol*, 304(5): F471–F480.
7. Sattle, T., Carro, M.D., Falkenstein, E., Radke, W. & Klandorf, H. (2012) The effect of allopurinol, uric acid, and inosine administration on xanthine oxidoreductase activity and uric acid concentrations in broilers. *Poultry Science*, 91: 2895-903.
8. Zhou, Y., Fang, L., Jiang, L., Wen, P., Cao, H., He, W., *et al.* (2012) Uric acid induces renal inflammation via activating tubular NF- κ B signaling pathway. *Pub Lib of Scie*, 7(6): e39738.
9. Ruggiero, C., Cherubini, A., Ble, A., Bos, A.J.G., Maggio, M., Dixit, V.D., *et al.* (2006) Uric acid and inflammatory markers. *Eu Heart J*, 27(1): 1174-1181.
10. Nguyen, A., Thorin-Trescases, N., & Thorin, E. (2013) Working under pressure: coronary arteries and the endothelin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 298(5): R1188–R1194.

Kode Makalah : IndBio 021**Analisis Ekspresi Her-2/Neu Adenokarsinoma Prostat dengan Skor Gleason
Berdasarkan ISUP 2014/ WHO 2016****Anandia Putriyuni^{1,2}, RZ Nizar^{1,3}**¹Program Studi Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah, PadangEmail: anandia_putriyuni@yahoo.com³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang**ABSTRAK**

Adenokarsinoma prostat merupakan keganasan ke-2 terbanyak di dunia pada laki-laki dan masih menjadi masalah dalam kasus urologi. Prognosis yang buruk masih banyak ditemukan, meskipun telah diberikan ADT. Pasien akan mengalami progresifitas menjadi CRPC. Beberapa keganasan yang dihubungkan dengan prognosis yang buruk ditandai oleh overekspresi *Her-2/neu*. Peranan *Her-2/neu* dalam menentukan progresifitas adenokarsinoma prostat masih kontroversi. Penelitian *cross-sectional* ini melakukan re-evaluasi skor *Gleason* yang dikelompokkan dalam derajat histopatologi berdasarkan ISUP 2014/WHO 2016. Selanjutnya dilakukan pewarnaan IHC untuk menilai ekspresi *Her-2/neu*. Analisis data secara univariat berupa deskripsi karakteristik, sedangkan bivariat digunakan untuk hubungan ekspresi *Her-2/neu* dengan derajat histopatologi. Ekspresi *Her-2/neu* ditemukan sebanyak 41 (93,18%) dari 44 kasus, 22 kasus (50%) derajat histopatologi *poorly differentiated/ undifferentiated* (skor Gleason 8-10). Ekspresi *Her-2/neu* tidak menunjukkan hubungan yang signifikan dengan derajat histopatologi ($p=0,425$), tetapi derajat histopatologi *poorly differentiated/ undifferentiated* menunjukkan ekspresi *Her-2/neu* yang paling tinggi. Adanya kecenderungan peningkatan ekspresi *Her-2/neu* terhadap diferensiasi sel tumor. Makin buruk prognosis adenokarsinoma prostat yang ditandai oleh derajat histopatologinya, maka makin tinggi ekspresi *Her-2/neu*. Oleh karena itu, ekspresi *Her-2/neu* dapat dipertimbangkan menjadi salah satu indikator prognostik adenokarsinoma prostat dan perlu penelitian lebih lanjut untuk *Her-2/neu* sebagai terapi target.

Kata Kunci: adenokarsinoma prostat, *Her-2/neu*, skor Gleason**ABSTRACT**

Prostate adenocarcinoma is the second most common cancer in men worldwide and still a problem in urology. Majority of this malignancy is found in poor prognostic stage, although hormonal therapy has been given. Patients will acquire progression to CRPC. Several malignancies with poor prognostic is characterized by Her-2/neu overexpression. The role of Her-2/neu in determining the progression of prostate adenocarcinoma is still controversial. This cross-sectional study re-evaluated the Gleason score grouped in histopathological grading based on ISUP 2014/ WHO 2016. Then, Her-2/neu expression was determined by immunohistochemistry staining. Univariate analysis was in the form of characteristic descriptions, while bivariate was used to associate Her-2/neu expression with histopathological grading. Her-2/neu was expressed in 41(93,18%) of 44 cases, 22 (50%) with poorly differentiated/ undifferentiated (Gleason score 8-10). Her-2/neu expression was no significantly associated with histopathological grading ($p=0,425$), but poorly differentiated/ undifferentiated showed the highest Her-2/neu expression. There is a tendency for increased expression of Her-2/neu in tumor cell differentiation. The worse of prostate adenocarcinoma progressively is characterized by histopathological grading, the expression of Her-2/neu increasingly. Therefore, Her-2/neu expression can be considered as one of the prognostic indicators of prostate adenocarcinoma and advanced study to availability of Her-2/neu targeted therapy.

Keywords: prostate adenocarcinoma, *Her-2/neu*, Gleason score

Pendahuluan

Adenokarsinoma prostat merupakan keganasan terbanyak ke-2 setelah kanker paru dan penyebab kematian akibat kanker ke-5 pada laki-laki di dunia berdasarkan data GLOBOCAN tahun 2018. Jumlah kasus baru dan kematian akibat keganasan ini makin meningkat. Kasus baru dilaporkan sebanyak 1,3 juta dan kematian 359.000, meningkat dari data GLOBOCAN sebelumnya tahun 2012 [1,2].

Pemberian *androgen – deprivation therapy* (ADT) pada adenokarsinoma prostat sering berhasil untuk sementara waktu, tetapi pasien akan mengalami progresifitas menjadi *castration – resistant prostate cancer* (CRPC). Mekanisme resistensi tersebut masih belum diketahui secara pasti. Resistensi terhadap terapi hormonal menjadi topik yang banyak diteliti saat ini [3]. Adanya bukti yang menunjukkan *human epidermal growth factor receptor type 2* (*Her-2/neu*) yang merupakan famili ErbB reseptor *tyrosine kinase* berperan dalam progresifitas dan *androgen independent* pada adenokarsinoma prostat [4,5]. Ekspresi *Her-2/neu* pada adenokarsinoma prostat masih kontroversi dari berbagai kepustakaan. Salah satu penelitian meta-analisis tentang nilai prognostik *Her-2/neu* pada adenokarsinoma prostat menjelaskan bahwa ekspresi reseptor ini dapat menjadi indikator prognostik yang buruk dan dasar untuk terapi target. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk pemeriksaan ekspresi *Her-2/neu* [6].

Prognosis adenokarsinoma prostat secara histopatologi dapat ditentukan dengan sistem derajat berdasarkan skor Gleason. Sistem ini diperkenalkan pertama kali oleh Donald F. Gleason tahun 1966, telah dimodifikasi pada tahun 2005 dan 2014 pada pertemuan *International Society of Urological Pathology* (ISUP). Pertemuan tersebut menghasilkan beberapa revisi yang bertujuan untuk meningkatkan reproduksibilitas dan nilai prognostik sistem Gleason dan telah direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO) tahun 2016 [7,8].

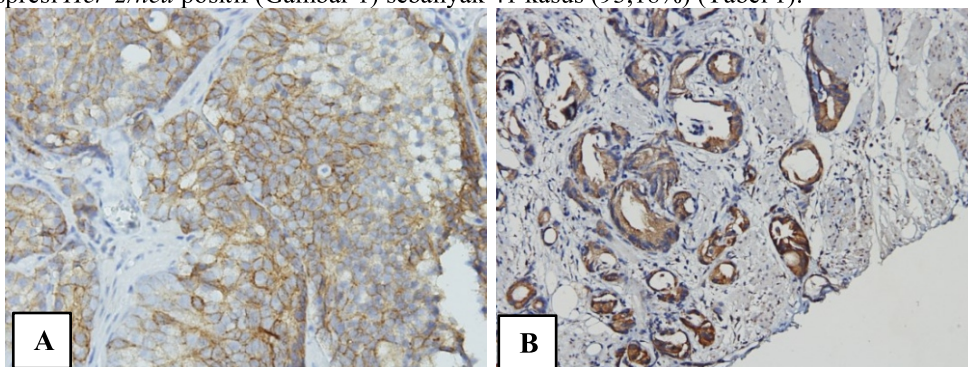
Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan *cross sectional* yang telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang. Sampel slaid dan blok parafin sebanyak 44 kasus adenokarsinoma prostat dari beberapa laboratorium Patologi Anatomi yang berada di Sumatera Barat. Kemudian dikelompokkan dalam derajat histopatologi berdasarkan ISUP 2014/WHO 2016.

Ekspresi *Her-2/neu* ditentukan dengan pemeriksaan IHK. Potongan blok parafin dari jaringan TURP dan prostatektomi yang telah difiksasi *buffered-formalin*. Dilakukan deparafinisasi dalam *xylene* dan dehidrasi dalam etanol bertingkat. Antigen retrieval dengan teknik pemanasan. Antibodi primer *Her-2/neu* (c-erbB [CB 11] *Mouse Monoclonal Primary Antibody*) (CM 076, Biocare Medical, Concord) dengan pengenceran 1:100. Antibodi sekunder *trekkie universal link* (Biocare Medical). Kontrol positif dari jaringan karsinoma payudara, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan PBS sebagai pengganti antibodi primer. Pewarnaan IHK dinilai intensitas dan persentase warna coklat pada membran sel dan sitoplasma berdasarkan kriteria skor *Her-2/neu* yang digunakan oleh peneliti sebelumnya [9]. Analisa bivariat dilakukan dengan uji statistik *Kruskal–Wallis test* ($p < 0,05$).

Hasil dan Diskusi

Karakteristik adenokarsinoma prostat berdasarkan derajat histopatologi adenokarsinoma prostat terbanyak adalah *poorly differentiated/ undifferentiated* (skor Gleason 8-10) sebanyak 22 kasus (50%) dan ekspresi *Her-2/neu* positif (Gambar 1) sebanyak 41 kasus (93,18%) (Tabel 1).



Gambar 1. Ekspresi *Her-2/neu* Positif pada A. Membran Sel, B. Sitoplasma (IHK, x400)

Tabel 1. Karakteristik Adenokarsinoma Prostat

Karakteristik Sampel	f	%
Derajat Histopatologi		
<i>Well Differentiated</i> (Gleason ≤ 6)	8	18,18
<i>Moderately Differentiated</i> (Gleason 7)	14	31,82
<i>Poorly Differentiated/Undifferentiated</i> (Gleason 8-10)	22	50,00
Ekspresi <i>Her-2/neu</i>		
Positif	41	93,18
Negatif	3	6,82

Tabel 2. Hubungan Ekspresi *Her-2/neu* dengan Derajat Histopatologi Adenokarsinoma Prostat

Ekspresi <i>Her-2/neu</i>	Derajat Histopatologi			f (%)
	<i>Well Diff</i> f (%)	<i>Moderately Diff</i> f (%)	<i>Poorly/Undiff</i> f (%)	
Positif	8 (19,51)	13 (31,71)	20 (48,78)	41 (100)
Negatif	0 (0)	1 (33,33)	2 (66,67)	3 (100)
Total	8 (18,18)	14 (31,82)	22 (50)	44 (100)

p = 0,425

Ekspresi *Her-2/neu* berdasarkan derajat histopatologi didapatkan ekspresi positif terbanyak pada derajat histopatologi *poorly differentiated/undifferentiated* yaitu 20 kasus (48,78%). Tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara ekspresi *Her-2/neu* dengan derajat histopatologi ($p=0,425$). Namun, adanya kecenderungan peningkatan jumlah ekspresi *Her-2/neu* dengan derajat histopatologi. Semakin meningkat derajat histopatologi menunjukkan semakin banyak ekspresi *Her-2/neu* (Tabel 2).

Hasil penelitian ini hampir sama dengan penelitian Zhang *et al.* mendapatkan skor Gleason 8-10 yang terbanyak yaitu 63 kasus, diikuti dengan skor Gleason 7 sebanyak 46 kasus, dan skor Gleason ≤ 6 sebanyak 22 kasus dari 131 kasus yang ditelitinya [10]. Penelitian da Cruz *et al.* kasus terbanyak dengan skor Gleason > 6 yaitu 228 kasus (62,47%), sedangkan skor Gleason ≤ 6 sebanyak 137 kasus (37,53%) [11].

Berbeda dengan penelitian Rulli dkk di RS M. Djamil Padang yang menggunakan pengelompokan derajat histopatologi yang berbeda, yaitu *well differentiated* (skor Gleason 2-4), *moderately differentiated* (skor Gleason 5-7) dan *poorly differentiated* (skor Gleason 8-10). Dari 176 kasus adenokarsinoma prostat ditemukan skor Gleason terbanyak adalah skor 5-7 sebanyak 113 kasus (64,20%), diikuti skor 8-10 sebanyak 48 kasus (27,28%), kemudian skor 2-4 sebanyak 15 kasus (8,52%) [12].

Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan perbedaan sistem Gleason yang digunakan sehingga berbeda dalam menetapkan pola Gleason terutama pola 3 dan 4. Pertemuan ISUP 2005 dan 2014 menimbulkan dampak yang signifikan dalam diagnosis adenokarsinoma prostat, karena salah satu perubahannya adalah menentukan gambaran pola 3 dan 4 yang mempengaruhi skor Gleason. Modifikasi sistem Gleason yang asli dengan sistem Gleason ISUP 2005 dan 2014 bertujuan mengurangi variasi *interobserver*, sehingga menyebabkan rata-rata skor Gleason yang lebih tinggi meningkat dalam beberapa penelitian [13].

Overekspresi *Her-2/neu* ditemukan pada berbagai kanker yang berasal dari epitel seperti kanker payudara, paru, kolon, prostat dan kanker lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa overekspresi *Her-2/neu* berhubungan dengan adenokarsinoma prostat yang lebih agresif menjadi *androgen-independent* yang resisten terhadap terapi hormonal. Penatalaksanaan terhadap kasus tersebut saat ini belum optimal [5,10]. Pemeriksaan ekspresi *Her-2/neu* pada kanker prostat menunjukkan hasil yang sangat bervariasi. Meskipun demikian, masih ditemukan hubungan yang bermakna antara overekspresi

Her-2/neu dengan risiko kematian yang tinggi dan rekuren pada adenokarsinoma prostat berdasarkan penelitian meta-analisis [10,14].

Beberapa penelitian menemukan hasil yang menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara ekspresi *Her-2/neu* dengan derajat histopatologi. Penelitian da Cruz *et al.* melaporkan bahwa overekspresi *Her-2/neu* berhubungan dengan skor Gleason yang lebih tinggi ($p=0,043$) [11], demikian juga dengan Zhang *et al.* ($p = 0,049$) [10]. Namun berbeda dengan penelitian yang dilakukan Tambo *et al.* tidak menemukan hubungan yang signifikan antara ekspresi *Her-2/neu* dengan derajat histopatologi ($p = 0,190$) [15]. Hasil yang berbeda ini kemungkinan karena jumlah sampel yang sedikit seperti pada penelitian ini.

Simpulan

Adenokarsinoma prostat terbanyak ditemukan pada derajat histopatologi *poorly differentiated/undifferentiated* (skor Gleason 8-10) dan sebagian besar ekspresi *Her-2/neu* positif. Adenokarsinoma prostat dengan derajat yang lebih buruk memiliki kecenderungan memiliki ekspresi *Her-2/neu* yang positif.

Daftar Pustaka

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistic 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394-424.
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global Cancer Statistics 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65:87-108.
3. Leung Jk and Sadar MD. Non-genomic actions of the androgen receptor in prostate cancer. *Front Endocrinol.* 2017;8:1-8.
4. Murray NP, Reyes E, Fuentealba C, Jacob O, Orellana N. possible role of HER-2 in the progression of prostate cancer from primary tumor to androgen independence. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(15):6615-19.
5. Miller DR, Ingersoll MA, Lin MF. ErbB-2 signaling in advanced prostate cancer progression and potential therapy. *Endocr Relat Cancer.* 2019;26:R195-209.
6. Moghadas niyat. Prognostic value of Her-2/neu expression in patients with prostate cancer: a systemic review. *Rev Clin Med.* 2015;2(4):168-73.
7. Humphrey PA, Epstein JI, Netto GJ, Amin MB, Egevad L, Rubin MA et al. Acinar adenocarcinoma. In: Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE, editors. WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. 4th edn. IARC Press; Lyon. 2016;138-61.
8. Shah RB, Zhou M. Recent advances in prostate cancer pathology: Gleason grading and beyond. *Pathol Int.* 2016; 66:260-272.
9. Minner S, Jessen B, Stiedenroth L, Burandt E, Kollermann J, Mirlacher M et al. Low level Her2 overexpression is associated with rapid tumor cell proliferation and poor prognosis in prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16(5):153-60.
10. Zhang Y, Guan Y, Yang B, Wu H, Dai Y, Zhang S, et al. Prognostic value of Her-2/neu and clinicopathologic factors for evaluating progression and disease-specific death in Chinese men with prostate cancer. *Chin Med J.* 2011;124(24): 4345-9.
11. da Cruz J, do Reis ST, Guariero M, Leite KR, Srougi M, Passerotti CC. Association between HER-2/neu (erbB-2) overexpression and biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy. *Ann Urol Res.* 2017;1(2):1006.
12. Rulli, Zulfiqar Y, Alvarino, Efmansyah D. Gambaran karsinoma prostat di laboratorium Patologi Anatomi RS M Djamil Padang periode 2003-2010, dibacakan pada PIT IKABI XVIII tahun 2011, Universitas Andalas Padang. 2011.
13. Egevad L, Mazzucchelli R, Montironi R. Implications of the international society of urological pathology modified Gleason grading system. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136:426-34.
14. Neto AS, Machado MT, Wroclawski ML, Fonseca FL, Teixeira GK, Amarante RD, et al. HER-2/neu expression in prostate adenocarcinoma: a systemic review and meta-analysis. *J Urol.* 2010;184:842-50.
15. Tambo M, Higashihara E, Terado Y, Nutahara K, Okegawa T. Comparison of serum HER2/neu with immunohistochemical HER2/neu expression for the prediction of biochemical progression in metastatic prostate cancer. *Int J Urol.* 2009;6:369-474.

Kode Makalah : IndBio 022**HUBUNGAN *GLYCOSYLATION OF HAEMOGLOBIN (HbA1c)* DENGAN
intracellular adhesive molecules-1 (ICAM-1)
PADA PENDERITA DM TIPE 2*****Eti Yerizel, **Asman Manaf****Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang**** Bagian Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum M.Jamil Padang***ABSTRAK**

Diabetes Melitus tipe 2 (DM tipe 2) adalah penyakit degeneratif yang merupakan masalah kesehatan di Indonesia dan di Dunia. Hal ini disebabkan karena terjadinya peningkatan kasus dari tahun ke tahun. Peningkatan kemakmuran, perubahan pola makan dan kurangnya aktifitas fisik merupakan penyebab terjadinya peningkatan penderita DM tipe 2. DM tipe 2 ditandai oleh hiperglikemia yang tidak terkontrol (glukotoksisitas). Ketidakterkendalian kadar gula darah berdasarkan kadar HbA1c (>7%) yang menyebabkan kelainan vaskuler, baik mikro ataupun makrovaskuler, kerusakan jaringan, *Insulin Resistance* dan *beta cell disfunction*. Tingginya glukosa intrasel dan produksi superoksida mitokondria yang berlebihan akan menimbulkan *DNA damage*, aktivasi *Poly ADP Ribosa Polymerase (PARP)*, inhibisi *Glyceraldehyde-3 Phosphate Dehydrogenase (GAPDH)*. Ekspresi beberapa molekul *Intracellular Adhesive Molecules-1 (ICAM-1)* dan NO. Proses ini berujung pada disfungsi endotel. Inhibisi GAPDH akan menimbulkan mekanisme reaksi komplikasi pada DM tipe 2, yaitu *Polyol pathway*, aktivasi PKC (via DAG), peningkatan *hexosamine pathway flux*.

Telah dilakukan penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional study comparative* pada penderita DM tipe 2 dengan usia 30-60 tahun. Sampel penelitian sebanyak 70 orang. Pemeriksaan glukosa darah dengan metode enzimatis dan HbA1c dengan teknik *variant hemoglobin testing system*. Pemeriksaan ICAM-1 dengan teknik *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Analisis data menggunakan *t-test* dan *chi-square*.

Hasil penelitian didapat Rerata kadar ICAM-1 pada kelompok DM tipe 2 adalah $670,93 \pm 192,44$ ng/ml dan pada kelompok Non DM adalah $360,01 \pm 137,56$ ng/ml.

Rerata kadar HbA1c pada kelompok DM tipe 2 adalah 11,19%. Pada kelompok non DM rerata kadar HbA1c adalah 6,02%. Terdapat perbedaan yang bermakna rerata kadar HbA1c antara kelompok DM tipe 2 dengan kelompok Non DM pada $p < 0,001$.

Didapat korelasi kuat ($r = 0,66$) antara kadar HbA1c dengan kadar ICAM-1 ($p < 0,001$) pada penderita DM tipe 2

Kata kunci: DM tipe 2, HbA1c, ICAM-1**Pendahuluan**

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit degeneratif yang merupakan masalah kesehatan di Indonesia dan di Dunia pada masa sekarang dan masa yang akan datang. Hal ini disebabkan karena jumlah penderitanya selalu meningkat dari tahun ke tahun. Prevalensi DM untuk semua kelompok usia di seluruh dunia diperkirakan 2,8 % pada tahun 2000 dan naik menjadi 4,4% pada tahun 2030. Jumlah penderita DM diproyeksikan meningkat dari 171 juta pada tahun 2000 menjadi 366 juta pada tahun 2030. Di Indonesia, diperkirakan jumlah penderita DM pada tahun 2000 sebanyak 8,4 juta orang dan akan meningkat menjadi 21,3 juta pada tahun 2030. Di Sumatera Barat diperkirakan 1,5% dari jumlah total penduduk menderita DM. Sedikitnya, ada 314 kasus DM ditemukan setiap bulan. Umumnya didominasi pasien berumur 50 tahun ke atas.^{1,2}

Peningkatan kasus Diabetes Melitus tipe 2 (DMT2) disebabkan oleh Faktor genetik, perubahan pola makan yaitu makan makanan dengan karbohidrat dan lemak yang tinggi, kurangnya aktifitas fisik sehingga menimbulkan obese dan hipertensi. DMT2 ditandai oleh hiperglikemia yaitu kadar glukosa darah yang tidak terkontrol (glukotoksitas) yang menyebabkan kelainan vaskuler, baik mikro ataupun makrovaskuler, kerusakan jaringan. *Insulin Resistance* dan *beta cell dysfunction*³

Secara etiologis, DM tipe 2 disebabkan oleh kegagalan sekresi insulin oleh sel beta pankreas dan resistensi insulin ditingkat perifer yang merupakan defek genetik yang dibawa sejak lahir. Dalam perjalanan penyakit, bahwa faktor etiologi ini memegang peranan penting dalam menimbulkan terjadinya lonjakan kadar glukosa darah yang nantinya akan menimbulkan kerusakan jaringan yang berawal dari kerusakan pembuluh darah⁴

Peningkatan glukosa secara endogen, akan menyebabkan metabolisme meningkat, sehingga mitokondria akan menghasilkan superoksida (O₂) berlebihan akan meningkatkan stress oksidatif berakibat buruk pada mitokondria dan DNA, sehingga terjadi kerusakan DNA, hal ini akan mengaktifkan enzim Poly ADP-Ribosa Polymerase (PARP). Aktivasi enzim PARP akan menghambat kerja enzim glyceraldehyde-3-Phosphat dehydrogenase (GAPDH) suatu enzim yang sangat penting dalam proses glikolisis intasel. Gangguan ini akan mengakibatkan proses glikolisis mencari jalan hulu melalui polyol pathway, glikasi protein, hexosamin pathway, Aktivasi PKC(melalui DAG) akibat peningkatan glukosa intrasel menyebabkan peningkatan sintesis *diacyl glycerol*(DAG) yang mengakibatkan peningkatan ekspresi PKC dalam sel yang pada gilirannya merubah berbagai ekspresi gen yang secara keseluruhan merusak pembuluh darah^{5,6,7}

Aktivasi PKC pada sel endotel akan mengakibatkan meningkatnya permeabilitas dari dinding pembuluh darah terhadap protein terutama albumin dan komponen seluler lainnya. Pengaruh dari hiperglikemia terhadap endotel pembuluh darah adalah berupa peningkatan ekspresi molekul *intracellular adhesive molecules-1* (ICAM-1) dan juga *vascular adhesive molecules-1* (VCAM-1). Hal ini dikenal sebagai molekul yang mengawali aterosclerosis⁸

Penelitian ini merupakan observasional dengan pendekatan *cross sectional study comparative* pada penderita DM tipe 2 dengan usia 30-60 tahun. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji hubungan antara kadar HbA1c dengan kadar ICAM-1 pada penderita DM tipe 2 Sampel penelitian sebanyak 70 orang. Pemeriksaan glukosa darah dengan metode enzimatis dan HbA1c dengan teknik *variant hemoglobin testing system*. Pemeriksaan kadar ICAM-1 dengan teknik *Enzyme Linked Assay* (ELISA). Analisis data menggunakan t-test dan *chi-square*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional study comparative* dimana variabel dependen dan independen diperiksa dalam waktu yang bersamaan.

Lokasi penelitian dilakukan di 1) Bagian Penyakit Dalam RSUP M.Djamil Padang, 2) Laboratorium biomedik Fakultas Kedokteran Unand dan 3) Bagian Biokimia Fakultas

Populasi penelitian adalah seluruh Penderita DM tipe 2 yang mempunyai kadar gula darah post prandial ≥ 200 mg/dl yang dirawat di Bagian Penyakit Dalam RSUP M Djamil Padang.

Jumlah sampel diambil dengan menggunakan rumus:¹¹

$$n_1 = n_2 = Z^2 \cdot P \cdot Q / d^2 \quad (14)$$

$$n_1 = n_2 = (1,96)^2 \times 0,1 \times 0,9 / (0,1)^2$$

$$n_1 = n_2 = 35$$

Jumlah sampel minimal pada setiap kelompok adalah 35 orang

Objek penelitian adalah penderita DM tipe 2 yang tidak terkontrol yang mempunyai kadar gula darah post prandial ≥ 200 mg/dl dan kadar HbA1C $> 7\%$.

Kriteria inklusi a) Bersedia menandatangani *Informed Consent*, b). Umur berkisar antara 30 s/d 60 tahun. Kriteria eksklusi, terdapat beberapa keadaan dimana subjek yang meskipun telah memenuhi kriteria, tetapi tidak dapat dimasukkan kedalam penelitian, diantaranya: a) Menderita penyakit kronis lainnya seperti penyakit hati, ginjal atau paru kronis

Variabel independen adalah Kadar gula darah dan Variabel dependen adalah Aktivitas PARP

Bahan penelitian :KIT Reagen Glukosa, BioRad Ca,USA, KIT Reagen HbA1C, variant hemoglobin testing system keluaran Bio-Rad Ca, USA, KIT Reagen PARP, keluaran. TACS-Shapire is a trademark of trevigen, Inc.

Hasil dan Pembahasan

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik subjek penelitian	DM tipe 2 Rerata $\pm$ SD	Non DM Rerata $\pm$ SD	p
Umur (tahun)	51,66 $\pm$ 5,06	49,77 $\pm$ 5,27	0,13
IMT (kg/m ²)	25,00 $\pm$ 2,31	24,21 $\pm$ 2,69	0,19
Guladarah puasa (mg/dl)	191,60 $\pm$ 35,47	93,37 $\pm$ 7,18	< 0,001
Gula darah 2 jam PP (mg/dl)	367,77 $\pm$ 70,68	125,06 $\pm$ 16,01	< 0,001
HbA1c(%)	11,19 $\pm$ 2,04	6,02 $\pm$ 0,56	< 0,001

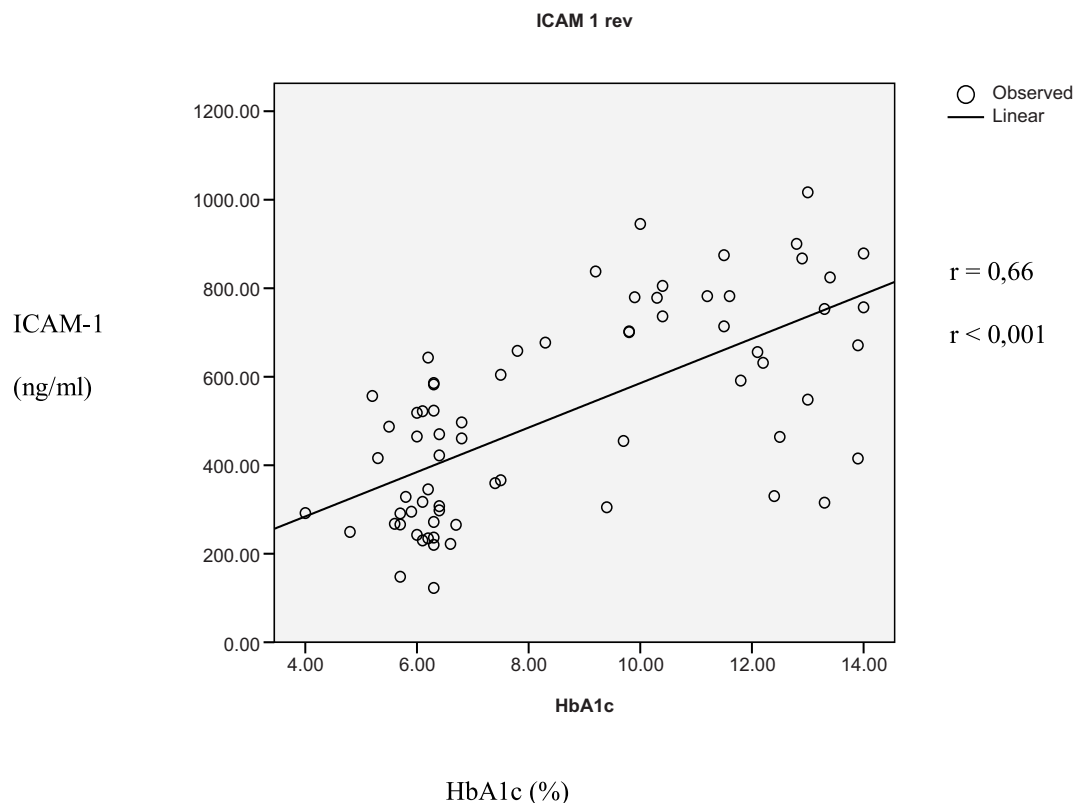
Distribusi Penderita DM tipe 2 dan non DM berdasarkan Kadar HbA1c

Dari tabel 1 dapat dilihat bahwa rerata kadar HbA1c pada kelompok DM tipe 2 adalah 11,19%. Pada kelompok non DM rerata kadar HbA1c adalah 6,02%. Terdapat perbedaan yang bermakna rerata kadar HbA1c antara kelompok DM tipe 2 dengan kelompok Non DM pada $p < 0,001$.

Tabel 2 Rereta Kadar ICAM-1 pada kelompok DM tipe 2 dan Non DM

Kelompok	n	Kadar ICAM-1 (ng/ml) Rerata $\pm$ SD	p
DM tipe 2	35	670,93 $\pm$ 192,44	< 0,001
Non DM	35	360,01 $\pm$ 137,56	

Pada tabel 2 Rerata kadar ICAM-1 pada kelompok DM tipe 2 adalah 670,93 ng/ml $\pm$ 192,44. Pada kelompok Non DM kadar rerata ICAM-1 adalah 360,56 ng/ml $\pm$ 137,56. Terdapat perbedaan yang bermakna rerata kadar ICAM-1 pada kelompok DM tipe 2 dan Non DM ($p < 0,001$). Hubungan antara kadar HbA1c dengan kadar ICAM-1 pada penderita DM tipe 2 dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1 Hubungan Kadar HbA1c dengan kadar ICAM-1 pada Kelompok Penelitian

Pada gambar 1 didapat korelasi kuat ($r = 0,66$) antara kadar HbA1c dengan kadar ICAM-1 ($p < 0,001$).

Rerata kadar HbA1c (tabel 1) pada kelompok DM tipe 2 adalah 11,19%. Pada kelompok non DM rerata kadar HbA1c adalah 6,02%. Terdapat perbedaan yang bermakna rerata kadar HbA1c antara kelompok DM tipe 2 dengan kelompok Non DM pada $p < 0,001$. Tingginya kadar HbA1c pada kelompok DM tipe 2 menunjukkan ketidakterkendalian glukosa pada 3 bulan terakhir, sesuai dengan umur eritrosit. Semakin tinggi kadar glukosa darah akan semakin cepat HbA1c terbentuk, yang mengakibatkan tingginya kadar HbA1c. HbA1c suatu pemeriksaan terbaik untuk menilai risiko terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh tingginya kadar glukosa darah. Interval nilai normal HbA1c adalah 4 - 5,9%. *The International Diabetes Federation and American College of Endocrinology* merekomendasikan nilai HbA1c dibawah 6,5%, sementara American Diabetes Association merekomendasikan nilai HbA1c dibawah 7,0% untuk sebagian besar pasien. Nilai HbA1c yang tinggi menggambarkan kontrol gula yang tidak terkontrol dengan baik. Peningkatan gula darah yang persisten meningkatkan risiko komplikasi vaskuler jangka panjang seperti penyakit jantung koroner, serangan jantung, strok, gagal jantung, gagal ginjal, kebutaan, disfungsi ereksi, neoropati dan ganggren.⁹

Dari hasil penelitian seperti tabel 2 Didapatkan rerata kadar ICAM-1 pada kelompok DM tipe 2 adalah $670,93 \pm 192,44$ ng/ml dan pada kelompok non DM adalah $360,01 \pm 137,56$ ng/ml. Kadar ICAM-1 pada kelompok DM tipe 2 lebih besar dibanding kelompok non DM. Kadar ICAM-1 meningkat 1,8 kali

dibanding kelompok non DM. Terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,001$) kadar ICAM-1 antara kelompok DM tipe 2 dengan kelompok non DM.

Hasil penelitian ini hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Papanas *et al.*, 2006 dimana pemberian gliclazide selama 6 bulan pada pasien DM tipe 2 menurunkan kadar ICAM-1 secara signifikan dari $623,12 \pm 61,17$ ng/ml menjadi $370,14 \pm 49,92$ ng/ml ($p = 0,01$)

Peningkatan kadar ICAM-1 pada kelompok DM tipe 2 disebabkan karena kerusakan vaskuler yang terjadi akibat superoksida yang berlebihan pada penderita DM tipe 2. Superoksida yang berlebihan di mitokondria akan merusak DNA⁷. Kerusakan DNA akan mengaktivasi PARP. Aktivasi PARP menyebabkan inhibisi GAPDH, dan terjadilah aktivasi PKC. Meningkatnya aktivitas PKC berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi ICAM-1. Seperti pada grafik 5 terlihat bahwa peningkatan PARP akan menyebabkan meningkatnya kadar ICAM-1^{5,6}. Ekspresi ICAM-1 yang meningkat pada kelompok DM tipe 2 diawali oleh tingginya kadar glukosa secara kronis berhubungan dengan terjadinya kerusakan jaringan tubuh akibat lonjakan glukosa secara berulang setelah mengkonsumsi makanan. Permasalahan yang timbul pada DM tipe 2 adalah kelainan vaskuler, baik mikro maupun makro vaskuler, kemudian berlanjut menjadi kerusakan jaringan, kerusakan sel beta pankreas sehingga menyebabkan rendahnya sensitivitas jaringan terhadap insulin (IR). Kelainan ini erat hubungannya dengan ketidak terkendalian kadar glukosa darah.^{7,8,10}

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat diambil suatu kesimpulan sebagai berikut

Terdapat hubungan secara signifikan antara rerata kadar HbA1c dengan kadar ICAM-1 pada penderita DM tipe 2

Daftar Pustaka

1. Suyono S, 2006. Diabetes melitus di Indonesia. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Indonesia; 1874 – 1876.
2. Manaf A, 2004. Pengendalian Hiperglikemia Akut Postprandial dalam upaya Menghambat Progresi Resistensi Insulin pada Individu dengan Toleransi glukosa terganggu. Disertasi Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya; 13-24
3. Murray RK, Grammer DK, *et al.* Harper's Biochemistry. Jakarta: EGC; 2002
4. Gerbitz KD, Gempel K and Brdiczka D, 1996. Mitokondria and diabetes Genetic, biochemical and clinical implication of the cellular energy unit Diabetes ;45;13-126
5. Brownlee M, 2005. The Pathology of Diabetic complication. A Unifying mechanism. Diabetes J: 54; 1615-1625
6. Cutler R G, Rodriguez H, 2003. Oxidative Stress and Aging, Advances in basic Science Diagnostic and Intervention. Kronos Longevity research Institute, Arizona, USA; 166-189 ;491-494; National Institute of standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA; 1
7. Halliwell B, Gutteridge, 2004., Free radicals in Biology and Medicine. Department of Biochemistry, Osaka University Medical
8. Ceriello A, Gioglio D, Quatraro A *et al.*, 1991. Vitamin E reduction of protein glycosylation in Diabetes. New Prospect for prevention of diabetic complication. Diabetes care J: 14; 68-72
9. Nuradiani L *et al.*, 2010. Korelasi antara Kadar A1c dengan Derajat Retinopati pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. Dept Ilmu kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Unair/RSUD Dr. Sutoemo, Surabaya
10. Tessier PA, P Cattauruzi and SR McColl, 1996. Inhibition of lymphocyte adhesion to cytokine activated synovial fibroblast by glucocorticoid involves the attenuation of vascular cell adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1 gene expression, Arthritis Rheum; 9(2): 226-234
11. Notoatmodjo S, 2002. Metodologi Penelitian kesehatan. Rineka cipta, Jakarta, 91-92.

Kode Makalah : IndBio 023

Concentration of TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) in Hepatitis Leukocyte Cells

Endang Purwaningsih, Tripanjiasih Susmiarsih, Yenni Zulhamidah, Achmad Sofwan
Anatomy Department, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta
ending.purwaningsih@yarsi.ac.id

Abstract

Hepatitis is a disease that attacks the human liver which causes inflammation, which makes the liver function disturbed. Telomere length and telomerase activity in chronic liver disease and hepatocarcinoma correlate with disease severity. Telomerase is an enzyme that protects telomere length, which consists of two subunits, one of which is TERT. (Telomerase Reverse Transcriptase) The purpose of this research is to find out, the concentration of TERT in leukocyte cells with hepatitis. The research method is descriptive with case control study. Blood samples are taken from hepatitis patients from Pratama Prof Qomariyah Clinic numbered 28 people including 11 men and 17 women. As control, there were 25 employees of YARSI University including 21 men and 4 women. The measurement of the TERT concentration used the 450nm wavelength ELISA method. The results showed that the concentration of TERT (pg / mL) in patients with hepatitis amounted to $50,400 \pm 20,0037$ while normal individuals were $44,0120 \pm 27,9511$. The concentrations of TERT between the sexes were in hepatitis men and hepatitis women respectively 52.5546 ± 24.7950 and 40.0059 ± 17.0327 . It was concluded that the telomerase concentration of the TERT sub unit in hepatitis sufferers was slightly higher than in normal individuals, both men and women.

Key words: hepatitis, leukocytes, TERF2, ELISA

Pendahuluan

Penyakit hepatitis telah menjadi masalah kesehatan di dunia. Penderita hepatitis memiliki abnormalitas telomer, berupa mutasi gen telomerase dan pemendekan telomer. Panjang telomer dalam sel/jaringan hati sirosis lebih pendek dari panjang telomer dalam jaringan hati normal. Penelitian selanjutnya menegaskan bahwa panjang telomer berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit hati ini (Carulli and Anvizino, 2014).⁽¹⁾

Telomer yang merupakan sekuens DNA di ujung kromosom terdiri dari urutan nukleotida yang sangat spesifik, yang pada manusia urutannya adalah TTAGGG yang berulang ratusan bahkan ribuan kali, sehingga rumus umum struktur nukleotida telomer adalah (TTAGGG)_n. Pada manusia terdapat 2.000 pengulangan pada unit dasarnya. Jumlah pengulangan nukleotida pun berbeda dalam satu organisme pada jenis sel yang berbeda (Artandi and DePinho, 2010; Hu *et al.*, 2010).

Telomerase adalah enzim ribonukleotida yang mensintesis urutan ulangan pada telomere untuk menggantikan nukleotida yang hilang pada saat replikasi DNA (Enzim telomerase ini akan membuat rantai DNA tambahan yang terdiri dari urutan nukleotida berulang. Penambahan urutan nukleotida ini terjadi sebelum replikasi berlangsung sehingga ujung kromosom akan memiliki panjang telomere yang sama dengan aslinya).

Telomerase terdiri atas dua subunit, yaitu Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) dan Telomeric RNA component (TERC). Aktivitas telomerase dihasilkan oleh ekspresi berhubungan dengan peningkatan RNA TERT. Adanya gangguan pada TERT atau TERC dapat mengakibatkan aktivitas telomerasenurun atau meningkat (Artandi, 2006; Lipinska *et al.*, 2013).

Bahan dan Metode

Bahan penelitian adalah sampel darah dari pasien hepatitis dari Klinik Pratama Prof Qomariyah di Jakarta Selatan. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik quota sampling dengan mengambil sampel seluruh pasien yang terdiagnosis hepatitis pada saat penelitian berlangsung. Penentuan diagnosis berdasarkan hasil anamnesa yaitu lemas, lekas lelah, kurang nafsu makan, mual kadang-kadang muntah, mempunyai riwayat sakit kuning atau kencing warna air teh atau mata kuning. Hasil pemeriksaan laboratorium yaitu nilai SGOT dan SGPT di atas normal, SGOT > 37 µ/L dan SGPT > 42 µ/L di atas normal. Kasus adalah penderita hepatitis dan kontrol adalah subjek yang sehat.

Sampel hepatitis berjumlah 28 orang, meliputi 11 laki-laki dan 17 perempuan (kisaran usia 40-60 tahun). Sebagai kontrol adalah karyawan Universitas YARSI sehat berjumlah 25 orang meliputi 21 karyawan laki-laki dan 4 karyawan perempuan (kisaran usia 40-60 tahun). Sehubungan dengan keterbatasan dalam hal memperoleh kelompok sampel hepatitis dan kelompok kontrol maka pada penelitian ini jenis

hepatitis tidak dibedakan. Sampel berupa darah vena (10 mL) yang dimasukkan dalam tabung yang mengandung EDTA.

Pengukuran Konsentrasi TERT

Pengukuran konsentrasi protein *Telomerase Reverse Transcriptase* (TERT) dilakukan dengan metode ELISA kit dengan panjang gelombang 450 nm (Cat. No. SEF384Hu, USCN Life Science Int.).

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi TERT (pg/mL) pada penderita hepatitis sebesar $50,400 \pm 20,0037$ sedangkan individu normal sebesar $44,0120 \pm 27,9511$. Konsentrasi TERT pada kedua jenis kelamin adalah masing-masing sebesar $52,55 \pm 46 \pm 24,7950$ pada hepatitis laki-laki dan $40,0059 \pm 17,0327$ pada hepatitis perempuan. (Tabel 1)

Hasil tersebut menunjukkan, bahwa konsentrasi TERT (pg/mL) pada penderita hepatitis sedikit lebih tinggi dibandingkan bukan penderita hepatitis baik laki-laki maupun perempuan. Akan tetapi secara statistik tidak bermakna ($p > 0,05$). Demikian pula konsentrasi TERT antara penderita hepatitis laki-laki dengan penderita hepatitis perempuan, ($p > 0,05$)

Peningkatan aktivitas telomerase khususnya TERT kemungkinan berhubungan dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Purwaningsih dkk, tahun 2017 dan Purwaningsih dkk (2018). Dilaporkan, bahwa panjang telomer penderita hepatitis lebih pendek daripada individu bukan penderita hepatitis (Purwaningsih dkk, 2017). Selain itu konsentrasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan Malondialdehyde (MDA) pada sel leukosit penderita hepatitis lebih tinggi dibandingkan individu normal (Purwaningsih dkk, 2018). *Oksidative stress* pada penderita hepatitis yang lebih tinggi ini dapat ditanggulangi dengan pemberian anti oksidan (Ciragil *et al*, 2011). Penderita Hepatitis memiliki abnormalitas telomer, berupa mutasi gen telomerase dan pemendekan telomer. Panjang telomer dalam sel/jaringan hati penderita sirosis lebih pendek daripada panjang telomer dalam jaringan hati normal. Penelitian selanjutnya menegaskan bahwa panjang telomer berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit hati (Carulli and Anzivino, 2014).

Peningkatan ROS akan meningkatkan fungsi telomerase sebagai, pengatur panjang telomer, yang akan mensintesis untai DNA telomer dan sintesis DNA telomere akan mengalami gangguan atau tidak berjalan secara maksimal. Adanya gangguan fungsi telomerase akan menyebabkan panjang telomer pada penderita hepatitis lebih pendek dibandingkan individu normal.

Terjadinya mutasi pada gen promotor TERT pada penderita hepatitis B dapat berhubungan dengan kejadian hepatokarsinoma, karena dapat memicu kejadian karsinogenesis di hati (Cevik *et al*, 2015). Hepatokarsinoma menempati urutan ke enam terbanyak di dunia dan menempati urutan ke tiga penyebab kematian di China. (Yang *et al*, 2016). Selanjutnya dilaporkan juga, bahwa ekspresi TERT pada penderita hepatitis kronis lebih tinggi dibandingkan bukan penderita, tetapi masih relatif lebih kecil dibandingkan pada hepatokarsinoma. Dilaporkan, bahwa mRNA TERT dapat juga digunakan sebagai penanda tumor untuk deteksi awal kejadian hepatokarsinoma (Ahmed *et al*, 2014; Satra *et al*, 2007)

Kesimpulan

Konsentrasi TERT pada sel leukosit penderita hepatitis sedikit lebih tinggi dibandingkan pada individu normal dan tidak menunjukkan perbedaan konsentrasi TERT penderita hepatitis antara kedua jenis kelamin.

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Direktorat Jendral Dikti melalui dana penelitian Desentralisasi Riset Unggulan Perguruan Tinggi atas bantuan biaya untuk terselenggaranya penelitian ini dan Laboratorium Klinik PRODIA yang telah membantu dalam pengadaan reagen dan memberi kesempatan menggunakan fasilitas untuk melakukan penelitian.

Daftar Pustaka

- Artandi SE and DePinho RA 2010. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* 2010; 3(1): 9-18.
- Ahmed EM, Sayed M, Sharaf S 2014. Human telomerase reverse transcriptase messenger RNA (TERT mRNA) as a tumour marker for early detection of hepatocellular carcinoma. *Arab J Gastroenterology* 15 (2):68-71
- Carulli L and Anzivino C 2014. Telomere and Telomerase in chronic liver disease and hepatocarcinoma. *World J Gastroenterology* 28; 20 (20): 6287 – 6292.
- Ciragil P, Kurutas EG, KOOglu OF, Aral M 2011. Oxidative Stress in Patients with Chronic Hepatitis B and C. *Balkan Med* 28: 300 – 303

- Cevix D, Yildiz G, Ozturk M 2015. Common telomerase reverse transcriptase promoter mutations in hepatocellular carcinoma from different geographical locations. *World J Gastroenterology* 7, 21(1): 311 – 317
- Lipinska N, Rubis B 2013. Telomerase as target in dignocnosis and treatment of cancer in postmenopausalwomen. *Przegląd Menopauzalny* ; 17(6): 478 – 483
- Purwaningsih E, Susmiarsih T, Zulhamidah Y, Sofwan A Qomqriyah RS 2017. Panjang Telomer pada Penderita Hepatitis. Kongres PBI XXIV tanggal 25 Agustus 2017, di Manado, Sulawesi Utara.
- Purwaningsih E, Susmiarsih T, Zulhamidah Y, Sofwan A 2018. Concentration of Reavtive Oxygen Species (ROS) and Malondialdehyde (MDA) in Leucocyte Cells of Hepatitis Patients. *Med and Helath* 13 (2) Suppl 1-351
- Satra M, Gatselis N, Iliopoulos D, ZACHAROUIS D, DALEKOS GN, TSEZOU A 2007. Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in liver tissues from patients with hepatocellular cancer and chronic viral hepatitis. *J Viral Hepat* 14(1): 41- 47
- Yang B, Shebi FM, Sternber LR, Warner CAC, Kleiner DE, Edelman DC, Gomez A, Dagnal CL, Hicks BD, Altekruze SF, Hernandez BY, Lynch CF, Meltez PS, McGlynn KA 2016. Telomere length and survival patients with hepatocellular carcinoma in United States. *PLoS ONE*. Doi: 10 – 197/Journal.pone 0166828. Nop 2016 : 1 – 10. Diakses pada tanggal 12 Juni 2017

Lampiran

Tabel 1 Konsentrasi TERT pada penderita hepatitis

Ulangan	Kelompok Hepatitis (pg/mL)		Kelompok Kontrol (pg/mL)	
	Laki-laki	Perempuan	Laki-laki	Perempuan
1	67.6	91.5	29.6	40.9
2	41.3	45.9	34.4	32.4
3	67.1	51.1	53.3	35.2
4	60.3	67.0	34.0	22.3
5	110.0	65.3	45.5	
6	40.9	53.7	43.8	
7	27.3	40.1	41.3	
8	34.8	67.6	45.1	
9	23.1	50.2	22.7	
10	64.4	37.6	36.4	
11	41.3	40.5	48.5	
12		37.2	19.3	
13		40.5	27.3	
14		19.0	42.2	
15		36.8	28.0	
16		32.8	54.6	
17		56.3	33.2	
18			165.0	
19			56.8	
20			72.1	
21			36.4	
Mean	52,5545	49,0059	49,1667	32,7000
SD	24,7950	17,0237	29,9661	7m78333

Kode Makalah : IndBio 024

Hubungan Ekspresi Akt dan mTOR dengan Faktor Prognosis Klinis pada Kanker Payudara Her-2 positif

Association of Akt and mTOR Expression with Clinical Prognosis Factor of Her-2 Positive Breast Cancer

Indri Windarti¹, Wirsma Arif Harahap², Primariadewi Rustamadji³, Eti Yerizel⁴, Alimuddin Tofrizal⁵

¹Mahasiswa Program Doktor Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang

²Departemen Bedah, Divisi Onkologi, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/ Rumah Sakit Dr. M. Djamil, Padang

³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/ Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

⁴Departemen Biokimia dan Biomolekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang

⁵Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas/ Rumah Sakit Dr. M. Djamil, Padang

Korespondensi Email: indriwindarti28@gmail.com

Abstrak

Pendahuluan: Insiden kanker payudara pada wanita di Negara di Asia Pasifik meningkat dengan sangat cepat sejak tahun 1990 dan telah dilaporkan delapan kali lebih tinggi dari rata-rata peningkatan di seluruh dunia, khususnya di Asia. Selain angka kejadian yang tinggi, kanker payudara juga menyumbang angka kematian yang tinggi. Cina merupakan negara yang paling tinggi angka kematiannya dari seluruh wilayah di Asia Pasifik, selanjutnya yaitu Indonesia dan Jepang. Faktor prognosis yang berperan pada kanker payudara selain usia adalah *grade* histologi, status kelenjar getah bening (KGB) dan stadium. Selain itu terdapat biomarker yang berperan pada prognosis yaitu ekspresi Akt dan mTOR terutama pada kanker payudara dengan ekspresi Her-2 positif. Penelitian ini dilakukan untuk menilai hubungan ekspresi Akt dan mTOR dengan faktor prognosis klinis pada kanker payudara dengan ekspresi Her-2 positif.

Metode: Penelitian ini menggunakan desain *cross sectional*, menggunakan 62 blok paraffin dari pasien kanker payudara Her-2 positif yang telah menjalani operasi di beberapa rumah sakit di Padang, Sumatera Barat. Data klinis didapatkan dari *Cancer Registry* Padang. Ekspresi Akt dan mTOR dipulas dengan metode imunohistokimia dan dinilai dengan menggunakan *immunoreactive score* (IRS).

Hasil: ekspresi Akt tidak berhubungan dengan *grade* histologi, status KGB dan stadium kanker payudara Her-2 positif (nilai p: 0,65, 0,29 dan 0,17) dan ekspresi Akt tidak berhubungan dengan *grade*, status KGB dan stadium kanker payudara Her-2 positif (nilai p: 0,84, 0,93 dan 0,54)

Simpulan: Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi Akt dan mTOR pada kanker payudara Her-2 positif tidak berhubungan dengan *grade* histologi, metastasis KGB dan stadium kanker payudara Her-2 positif sehingga tidak dapat digunakan sebagai penanda prognosis kanker payudara Her-2 positif.

Kata kunci: Akt, mTOR, prognosis, kanker payudara Her-2 positif

Abstract

Objective: Breast cancer incidence in Asia Pacific region increasing rapidly since 1990 and reported to be up to eight times higher than the world average. Breast cancer mortality were increasing rapidly China is the country with the highest mortality rate of all regions in the Asia Pacific followed by Indonesia and Japan. Prognostic factors that play a role in breast cancer are age, histological *grade*, lymph nodes status, and stage. In addition, biomarkers that play a role in prognosis of HER-2 positive breast cancer are Akt and mTOR. This study was conducted to determine the association of Akt and mTOR expression with clinical prognostic factors of Her-2 positive breast cancer. **Methodes:** this is a cross sectional study using 62 formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tissue of HER-2 positive breast cancer patients who had undergone surgery in several hospitals in Padang, West Sumatera. Clinical data were conducted by Padang Cancer Registry. The expression of Akt and mTOR investigated with immunohistochemical methods using immunoreactive score (IRS). **Result:** There was no association of Akt expression to histological *grade*, lymph node status and

staging (p values: 0.65, 0.29 and 0.17). mTOR expression was not related to *grade*, lymphnode status and stage (p values: 0.84, 0.93 and 0.54). **Conclusion:** The results of this study indicate that Akt and mTOR expression in Her-2 positive breast cancer are not associated with histology *grade*, lymph node status and stage. This is indicated that Akt and mTOR expression cannot be used as a prognostic factor in Her-2 positive breast cancer

Keywords : Akt, mTOR, prognosis, Her-2 positive breast cancer

PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah tumor ganas yang paling sering ditemukan pada wanita di seluruh dunia, yaitu 18% dari semua kasus kanker pada tahun 2012 [1]. Data World Health Organization (WHO) menunjukkan kejadian kanker mencapai 6,3 juta pada akhir 2012 yang tersebar di 140 negara [2]. Di Indonesia, insiden kanker payudara wanita adalah 40,1/100.000 populasi [1,3]. Insiden kanker payudara Her-2 positif lebih tinggi di Asia daripada di negara-negara Barat [4]. Di Cina Her-2 positif adalah yang paling sering dari semua sub tipe kanker payudara, berkisar antara 25-28% [5,6]. Di Indonesia, kejadian kanker payudara Her-2 positif adalah 17,5 -27,7% [7-8]. Angka kejadian kanker payudara yang tinggi dan memiliki perilaku agresif di Asia menjadi perhatian pada penelitian ini. Kanker payudara

Her-2 positif dapat kambuh setelah satu tahun pengobatan dan memiliki prognosis yang buruk dibandingkan dengan jika Her-2 negatif [9]. Her-2 adalah reseptor transmembran tirosin kinase yang mengatur pertumbuhan dan proliferasi sel. Faktor prognostik untuk kekambuhan kanker payudara Her-2 positif terdiri atas karakteristik klinis (ukuran tumor, *grade* histologi, status kelenjar getah bening dan stadium kanker) [9]. Namun, saat ini hanya sedikit yang kita ketahui tentang karakteristik klinik dan biomarker pada kanker payudara positif Her-2 di Indonesia. Phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) adalah protein kinase yang mempengaruhi banyak hal dalam onkogenesis, proliferasi, *epithelial mesenchymal transformation* (EMT), *survival*, motilitas dan angiogenesis, termasuk respon terhadap pengobatan. Perubahan jalur PI3K / Akt / mTOR sering terdeteksi pada berbagai tumor. Pada kanker payudara Her-2 positif, ekspresi Akt dan mTOR menginduksi pertumbuhan sel tumor yang cepat. Penelitian sebelumnya menunjukkan peningkatan ekspresi Akt dan mTOR berhubungan dengan *grade* histologi, status kelenjar getah bening dan stadium kanker payudara Her-2 positif [10]. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi hubungan ekspresi Akt dan mTOR dengan faktor prognosis klinis kanker payudara Her-2 positif.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dirancang sebagai penelitian *cross sectional* yang berasal dari 62 blok paraffin dan didiagnosis dengan karsinoma payudara invasif dari beberapa Rumah Sakit di kota Padang mulai dari 2013 hingga 2018. Pemeriksaan rutin Her-2 untuk menentukan sub tipe dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin, Bandung. Sampel dipilih menggunakan metode *consecutive sampling*. Sampel yang mengandung spesimen kecil dikeluarkan dari penelitian ini.

Antibody yang digunakan untuk mendeteksi Akt dan mTOR secara imunohistokimia pada penelitian ini yaitu antibody anti-Akt (Genetex, GTX28805, pengenceran 1:100) dan antibody anti-mTOR (Genetex, GTX101557, pengenceran 1: 100), yang dilakukan pada 62 kasus slide dilakukan dengan 4 µm pada slide yang dilapisi oleh poli L-lisin dan inkubasi antibody primer dilakukan pada suhu 4°C. Reaksi diamplifikasi menggunakan Novolin kit (Novocastra) dan kromogen 3,3'-diaminobenzidine (DAB). Ekspresi Akt dan mTOR dinilai dalam sitoplasma dan/atau membran sel tumor secara semikuantitatif dengan mengalikan persentase sel positif dan intensitas pewarnaan sehingga diperoleh skor skor immunoreactive score (IRS). Intensitas pewarnaan dibagi menjadi 0: negatif, 1: positif lemah, 2: positif sedang dan 3: positif kuat. Persentase sel positif dibagi menjadi 1: 0 - tidak ada sel positif, 1: <20% sel positif, 2: 21-50% sel positif, 3: 51% -80% sel positif, 4: > 80% sel positif. Skor ekspresi didapatkan mulai dari 0 hingga 12 untuk Akt dan mTOR pada setiap sampel. Skor berkisar antara 0 dan 1 dinilai negatif dan skor 2 sampai dengan 12 menunjukkan ekspresi positif. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS 20.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Subyek penelitian ini berusia antara 27 tahun hingga 69 tahun, dengan median usia 50 tahun. Jenis histologi yang paling sering adalah *invasive ductal carcinoma of no special type* (IDC) yaitu 51 (82,3%) sampel. IDC merupakan jenis kanker payudara yang paling sering yaitu sekitar 40-75% dari semua kanker payudara invasif [11] IDC umumnya bervariasi dalam hal morfologi dan karakteristik klinis, seperti ukuran tumor, *grade*

histologi, proporsi relatif sel tumor dan stroma. Berdasarkan klasifikasi stadium dari Tumor, Nodule dan Metastasis (TNM) *staging*, sebagian besar sampel berada pada stadium lanjut seperti yang juga ditemukan dalam penelitian lain [10,12].

Protein Akt juga dikenal sebagai protein kinase B, adalah protein kinase serin / treonin yang diaktifkan oleh rangsangan melalui reseptor faktor pertumbuhan, termasuk Her-2 [13]. Keluarga Akt adalah anggota keluarga onkogen yang terlibat dalam tumorigenesis. Jalur pensinyalan Akt memainkan peran penting dalam sel dengan menghubungkan proses fisiologis seluler normal seperti metabolisme glukosa, pertumbuhan sel, sintesis protein, kontrol siklus sel, kelangsungan hidup dan apoptosis sel, migrasi sel dan angiogenesis [14]. Dari penelitian *in vitro* diketahui bahwa induksi survival sel oleh isoform Akt mempengaruhi sinyal yang dipengaruhi Her-2. Akt berhubungan dengan ekspresi Her-2 yang tinggi pada *cell line* kanker payudara [15] Pada penelitian ini ekspresi Akt positif ditemukan pada 35,5% kanker payudara Her-2 positif, lebih tinggi daripada penelitian Lerma *et al.*, yang mendapatkan Akt positif sebanyak 28% dibandingkan dengan pasien kanker payudara tanpa ekspresi Akt [16], namun hal ini tidak dilakukan pada penelitian kami.

Karakteristik Klinikopatologi Dan Biomarker Pada Kanker Payudara Her-2 Positif

Tabel 1. Karakteristik klinis dari 62 sampel penelitian dengan ekspresi Akt dan mTOR pada kanker payudara Her-2 positif

	Ekspresi Akt		p	Ekspresi mTOR		p
	Positif 22 (35,5%)	Negatif 40 (64,5%)		Positif 28 (45,2%)	Negatif 34 (54,8%)	
Usia ok						
> 50	9	25	0,10	15	19	0,8
≤ 50	13	15		13	15	
Tipe histologi						
IDC	20	31	0,19	22	29	0,49
Non IDC	2	9		6	5	
Grade histologi						
Tinggi	21	37	0,65	26	32	0,84
Rendah	1	3		2	2	
Nodul KGB						
>5	3	10	0,29	6	7	0,93
≤ 5	19	30		22	27	
Stadium						
Lanjut	15	20	0,17	17	18	0,54
Dini	7	20		11	16	

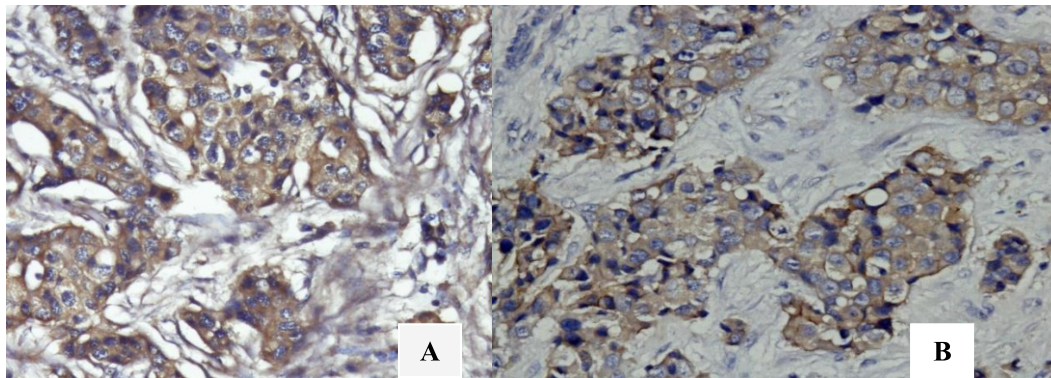
Singkatan: Ekspresi Akt dan mTOR positif yaitu IRS 2. Stadium lanjut yaitu

IIIB. Grade histologi tinggi yaitu 2. Tipe histopatologi : invasive ductal carcinoma of no special type (IDC), non IDC (invasive lobular carcinoma, papillary carcinoma). Nilai p bermakna jika < 0,05

Penelitian ini tidak menemukan hubungan antara Akt dengan *grade* histologi, status KGB dan stadium. Temuan ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Liu *et al.*, yang menyatakan bahwa Akt tidak berhubungan dengan *grade* histologi dan tipe histologi. Namun pada penelitian Liu *et al.*, ditemukan hubungan antara ekspresi Akt positif dengan status KGB yang berbeda dengan penelitian ini [13] Metastasis ke KGB dipengaruhi oleh proses yang kompleks yang membutuhkan regulasi bertahap yaitu disosiasi sel tumor, angiogenesis tumor primer, intravasasi, survival dan difusi melalui limfatik, adhesi ke dinding organ, ekstrasvasi dan pembentukan fokus metastasis. Status adanya metastasis ke KGB adalah ukuran prognosis yang independen [17]. Penelitian ini menemukan seluruh sampel telah bermetastasis ke KGB namun KGB yang terlibat dalam metastasis adalah ≤ 5 KGB yaitu sebanyak 79% sampel. Sedangkan yang ditemukan telah bermetastasis ke > 5 KGB adalah 21% sampel. Batasan KGB yang terlibat dalam metastasis sangat mungkin mempengaruhi hal tersebut.

Hasil penelitian yang dilakukan pada sampel stadium dini menunjukkan bahwa ekspresi Akt positif tidak berhubungan dengan prognosis pasien. Penelitian tersebut juga menyatakan bahwa ekspresi Akt dapat memberikan efek respon pengobatan yang berbeda pada pasien [13]. Pada penelitian ini sebagian besar pasien

berada pada stadium lanjut dan ditemukan hasil yang sama dengan penelitian sebelumnya, yaitu tidak ada hubungan antara ekspresi Akt positif dengan stadium, walaupun penelitian ini dilakukan pada sampel stadium lanjut. Hal ini menunjukkan bahwa baik sampel pada stadium dini maupun stadium lanjut, ekspresi Akt tidak memiliki pengaruh pada stadium.



Gambar 1. Ekspresi Akt dan mTOR pada kanker payudara Her-2 positif (A) sitoplasma sel tumor terpusat coklat dengan antibody Akt (A) dan mTOR (B). Pembesaran 400x.

Selain Akt, komponen penting dari sinyal onkogenik dari jalur PI3K / Akt / mTOR adalah mTOR. Ekspresi mTOR dapat diinduksi oleh Her-2. Fosforilasi Akt menghasilkan efek penghambatan pada sinyal mTOR yang menyebabkan peningkatan aktivitas mTOR. mTOR mempromosikan translasi protein, perkembangan siklus sel dan penyerapan nutrisi serta menyebabkan glikolisis, sehingga dengan demikian menghambat apoptosis. mTOR memantau ketersediaan nutrisi, sinyal mitosis dan tingkat energi serta kadar oksigen sel. Oleh karena itu mTOR memiliki peran dalam mengatur pertumbuhan dan proliferasi sel [18,19]. Pada penelitian ini ekspresi mTOR positif ditemukan pada 45,2% kanker payudara Her-2 positif. Hasil penelitian kami menunjukkan hal yang berbeda dengan **penelitian sebelumnya yang menemukan bahwa ekspresi mTOR positif berhubungan dengan status KGB** [20]. Penelitian ini tidak menemukan hubungan antara mTOR dengan *grade* histologi, status KGB dan stadium. Namun hal yang sama juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Ueng *et al.*, [20,21]. Identifikasi nodul KGB sangat penting untuk memberikan prediksi risiko metastasis jauh, namun pada penelitian ini tidak diperiksa adanya kemungkinan metastasis jauh [17]. Inhibisi terhadap jalur sinyal mTOR saat ini muncul sebagai salah satu pilihan terapi, didukung oleh adanya penelitian yang menunjukkan bahwa aktivasi mTOR disebabkan salah satunya oleh mutasi PTEN atau peningkatan ekspresi Akt sehingga menyebabkan sel tumor merespon terhadap inhibitor mTOR dan akhirnya menjadi perhatian pada beberapa jenis tumor [20]. Namun, penelitian yang menilai hubungan molekul yang diaktifkan oleh mTOR dan positifitas status KGB serta dampak negatif inhibitor mTOR pada kelangsungan hidup pasien masih belum memuaskan, karena sampai saat ini belum ada standar untuk menentukan ekspresi positif dan negatif pada ekspresi mTOR. Hal ini dapat terjadi karena variasi antibodi yang digunakan, pengenceran antibodi dan cara menilai ekspresi untuk menentukan skor positif. Dalam penelitian ini penentuan ekspresi positif dan negatif menggunakan IRS menemukan *cutoff point* 2 dinilai positif, sedangkan pada penelitian lain sangat bervariasi.

SIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi Akt dan mTOR pada kanker payudara Her-2 positif tidak berhubungan dengan *grade* histologi, status KGB dan stadium.

Daftar Pustaka

1. Youlten DR, Cramb SM, Yip CH, Baade PD. Incidence And Mortality Of Female Breast Cancer In The Asia-Pacific Region. *Cancer Biol Med*. 2014;11:101–15.
2. International Agency For Research On Cancer. Globocan 2012: Cancer Incidence And Mortality Worldwide. Globocan 2012; 2012. [Accessed August 17 2019]. Available At: [Http://Globocan.Iarc.Fr](http://Globocan.Iarc.Fr)
3. Ministry Of Health Republic Of Indonesia. Basic Health Research. Ministry Of Health Republic Of Indonesia. Jakarta. 2015.
4. Pathmanathan N, Geng J, Li W, Nie X, Veloso J, Hill J, *et al*. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Status Of Breast Cancer Patients In Asia: Results From A Large, Multicountry Study. *Asian Pacific J Clin Oncol*. 2016;12:369–379
5. Dai X, Li T, Bai Z, Yang Y, Liu X, Zhan J, Shi B. Breast Cancer Intrinsic Subtype Classification, Clinical Use And Future Trends. *Am J Cancer Res*. 2015;5(10):2929–43.
6. Li S, Shen Y, Wang M, Yang J, Lv M, Li P, *et al*. Loss Of PTEN Expression In Breast Cancer: Association With Clinicopathological Characteristics And Prognosis. *Oncotarget*. 2017;8(19):32043–54.
7. Widodo I, Dwianingsih EK, Triningsih E, Utoro T. Clinicopathological Features Of Indonesian Breast Cancers With Different Molecular Subtypes. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2014; 15: 6109–13.
8. Harahap WA, Khambri D, Haryono SJ, Ramadhan, Nindrea RD. Outcomes Of Trastuzumab Therapy For 6 And 12 Months In Indonesian National Health Insurance System Clients With Operable Her2-Positive Breast Cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2017;18(4):1151–6.
9. Harahap WA, Nindrea RD. Prognostic Factors Of Local-Regional Recurrence In Patients With Operable Breast Cancer In Asia: A Meta-Analysis. *Open Acces Of Macedonian Journal Of Medical Science*. 2019; 7(4):690-5.
10. Gallardo A, Lerma E, Escuin D, Tibau A, Muñoz J, Ojeda B. Increased Signalling Of EGFR And IGF1R, And Deregulation Of PTEN / PI3K / Akt Pathway are Related With Trastuzumab Resistance In Her2 Breast Carcinomas. *Br J Cancer*. 2012;106:1367–73.
11. Makki J. Diversity Of Breast Carcinoma: Histological Subtypes And Clinical Relevance. *Clin Med Insights Pathol*. 2015;8:23–31.
12. Kim YS, Won YS, Park KS, Song BJ, Kim JS, Oh SJ, *et al*. Prognostic Significance Of *Her2* Gene Amplification According to Stage of Breast Cancer. *J Korean Med Sci*. 2008; 23(3):414–420.
13. Liu W, Zhang L, Shi J, Liu Y, Zhou L, Hou K, *et al*. 2015. Clinical Significance Of pAkt And pErk1/2 Expression in Early-Stage Breast Cancer Patients Treated with Anthracycline-Based Adjuvant Chemotherapy. *Oncol letter*. 2015;9(4):1707-1714.
14. Fortier AM, Asselin E, Cadrin M. 2011. Functional Specificity of Akt Isoforms in Cancer Progression. *Biomol Concepts*. 2. 1-11.
15. Yang Zy, Di My, Yuan Jq, Shen Wx, Zheng Dy, Chen Jz, *et al*. The Prognostic Value Of Phosphorylated Akt In Breast Cancer: A Systematic Review. *Sci Rep*. 2015; 5: 7758.
16. Lerma E, Peiro G, Ramón T, Fernandez S, Martinez D, Pons C, *et a*. Immunohistochemical Heterogeneity of Breast Carcinomas Negative for Estrogen Receptors, Progesterone Receptors and Her2/Neu (Basal-Like Breast Carcinomas). *Mod Pathol*. 2007 Nov;20(11):1200-7
17. Rahman M and Mohamed S. Breast Cancer Metastasis and The Lymphatic System. *Oncol Lett*. 2015. 10(3): 1233–1239.
18. Porta C, Paglino C, Mosca A. Targetting PI3k/Akt/mTor Signaling in Cancer. *Front Oncol*. 2014; 4: 64.
19. Deng L, Chen J, Zhong Xr, Luo T, Wang Yp, Huang Hf, *et al*. Correlation Between Activation of PI3K/Akt/mTor Pathway and Prognosis of Breast Cancer in Chinese Women. *Plos One*. 2015; 10(3): 120511.
20. Hu A, Sun M, Yan D, Chen K. Clinical Significance mf mTor And EIF4E Expression in Invasive Ductal Carcinoma. *Tumori*. 2014. 100(5):541-6
21. Ueng SH , Chen SC , Chang YS, Hsueh S , Lin YC , Chien HP, *et al*. Phosphorylated mTor Expression Correlates eith Poor Outcome in Early-Stage Triple Negative Breast Carcinomas. *Int J Clin Exp Pathol*. 2012;5(8):806-813

ISBN 978-623-7763-03-1



9 786237 763031