

# **DISERTASI**

**EFEK EKSPRESI mRNA GEN *PROLACTIN RECEPTOR* (PRLR) DAN *SIGNAL TRANSDUCER AND ACTIVATOR OF TRANSCRIPTION 5* (STAT5) TERHADAP PRODUKSI ASI IBU MENYUSUI**

**PROLACTIN RECEPTOR (PRLR) AND SIGNAL EXPRESSION EFFECTS TRANSDUCER AND ACTIVATOR OF TRANSCRIPTION 5 (STAT5) ON THE PRODUCTION OF BREASTFEED MOM**

**IMELDA ISKANDAR  
C013171009**



**PROGRAM STUDI S3 KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

**EFEK EKSPRESI mRNA GEN *PROLACTIN RECEPTOR* (PRLR) DAN *SIGNAL TRANSDUCER AND ACTIVATOR OF TRANSCRIPTION 5* (STAT5)  
TERHADAP PRODUKSI ASI IBU MENYUSUI**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

**Program Studi  
Ilmu Kedokteran**

**Disusun dan diajukan oleh**

**IMELDA ISKANDAR  
C013171009**

**PROGRAM STUDI S3 KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

**DISERTASI**

**EFEK EKSPRESI mRNA GEN PROLACTIN RECEPTOR (PRLR) DAN  
SIGNAL TRANSDUCER AND ACTIVATOR OF TRANSCRIPTION 5 (STAT5)  
TERHADAP PRODUKSI ASI IBU MENYUSUI**

Disusun dan diajukan oleh

**Imelda Iskandar  
C013171009**

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 4 Januari 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui  
Promotor,

**Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)**  
Nip. 196005041986012002

Co. Promotor

**Dr. dr. Nasrudin A. Mappeware, Sp. OG(K), MARS**  
Nidn. 930057601

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

**dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)**  
Nip. 19700821 199903 1 001

Co. Promotor

**Dr. dr. Ema Alasiry, Sp.A(K)**  
Nidk. 8853110016

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,

**Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed**  
Nip. 19661213 199503 1 009

## ABSTRACT

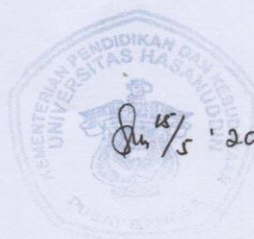
**IMELDA ISKANDAR.** *Prolactine Receptor (PRLR) Gene and Transducer Signal and Activator of Transcription 5 (STAT5) on Milk Production* (supervised by **Suryani As'ad, Nasruddin Mappaware, and Ema Alasiry**)

This research aims to analyze the difference between the expression of PRLR gene and STAT5 based on body mass index and milk volume in nursing mothers.

The research used observational analytic study conducted in Makassar City from April to December 2019. The subjects consisted of 80 trimester III pregnant women (32-36 weeks) selected based on certain criteria. The mothers will be followed up until the babies are six months old. The analysis technique of the difference between PRLR gene expression and STAT5 used qPCR with the sub-classification of optimal and sub-optimal milk volume groups.

The research indicate that there is a difference of PRLR gene expression ( $<0.001$ ) between the two groups, but there is no difference of STAT5 between the two groups (0.078). The more increase in milk volume indicates an increase in genetic expression. Although STAT5 is not significant statistically, the average milk volume tends to increase with the increase of level of expression ( $>$  median). Based on simultaneous test, there is a strong interaction between body mass index and PRLR gene expression ( $<0.003$ ) and STAT5 ( $<0.023$ ). The mothers having a normal body mass index tend to have more breast milk volume. This study gives an understanding that nutritional factor is a biological underlying factor that supports transcription process and the translation of milk-coding genes in order to work optimally. Therefore, it is important to interfere pregnant women who have an excessive weight with an appropriate antenatal care midwifery approach.

Key words : gene expression, prolactine receptor (PRLR), transducer signal and activator of transcription 5 (STAT5), body mass index, breastfeeding mothers, breast milk volume



## ABSTRAK

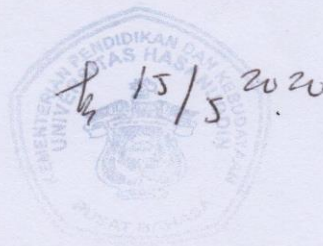
**IMELDA ISKANDAR.** *Gen Prolactine Receptor (PRLR) dan Signal Transducer and Activator Transcription 5 (STAT5) terhadap Produksi Air Susu* (dibimbing oleh Suryani As'ad, Nasruddin Mappeware, dan Emma Alasiry).

Penelitian ini bertujuan menganalisis perbedaan ekspresi gen PRLR dan STAT5 berdasarkan indeks massa tubuh dan volume air susu pada ibu menyusui.

penelitian ini menggunakan pendekatan observasional analitik. Penelitian dilaksanakan pada bulan April - Desember 2019 di Kota Makassar. Subjek terdiri atas 80 ibu hamil trimester II (32 - 36 minggu) yang dipilih berdasarkan kriteria tertentu. Ibu akan *difollow up* hingga usia bayi 6 bulan. Analisis perbedaan ekspresi gen PRLR dan STAT5 menggunakan qPCR Dengan subklasifikasi kelompok volume air susu optimal dan suboptimal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi gen PRLR ( $< 0.001$ ) di antara dua kelompok, tetapi tidak dengan ekspresi STAT5 (0.078). Semakin banyak volume air susu menunjukkan ekspresi genetika yang meningkat meskipun STAT5 tidak bermakna secara statistik. Akan tetapi, rerata volume air susu cenderung meningkat seiring dengan level angka ekspresi ( $<$  median). Berdasarkan uji simultan, terdapat interaksi yang kuat antara indeks massa tubuh dengan ekspresi gen PRLR ( $< 0.003$ ) dan STAT5 ( $< 0.023$ ), Ibu yang memiliki indeks massa tubuh normal cenderung memiliki volume ASI yang lebih banyak. Hasil penelitian ini memberikan pemahaman bahwa faktor nutrisi merupakan *underlying* biologis yang menunjang proses transkripsi dan translasi gen pengode air susu agar dapat bekerja dengan optimal. Dengan demikian, penting untuk mengintervensi ibu hamil dengan *antenatal care* berat yang berlebih dengan pendekatan asuhan kebidanan yang tepat.

Kata kunci: ekspresi gen, *prolactin receptor* (PRLR), *signal transducer and activator of transcription 5* (STAT5), indeks massa tubuh, ibu menyusui, volume air susu





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297  
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

### PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Imelda Iskandar  
NIM : C013172011  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

**Efek Ekspresi mRNA Gen *Prolactin Receptor (PRLR)* dan *Signal Transducer and Activator Of Transcription 5 (STAT5)* terhadap Produksi ASI Ibu Menyusui**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 7 Januari 2021

Yang menyatakan,



Imelda Iskandar

**PRAPROMOSI**

**EFEK EKSPRESI mRNA GEN *PROLACTIN RECEPTOR* (PRLR) DAN *SIGNAL TRANSDUCER AND ACTIVATOR OF TRANSCRIPTION 5* (STAT5) TERHADAP PRODUKSI ASI IBU MENYUSUI**

Disusun dan di ajukan oleh

**IMELDA ISKANDAR**

C013171009

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji pada Tanggal  
21 Desember 2020 di Makassar

Menyetujui,  
Tim Promotor



Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)  
Promotor



Dr. dr. Nasrudin AM, Sp.OG(K) MARS  
Ko-Promotor



Dr. dr. Ema Alasiry, Sp.A(K)  
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran



Dr. Agussalim Bukhari, M. Clin, Med, Ph.D, Sp.GK (K)

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Imelda Iskandar

NIM : C013171009

Program Studi : Ilmu Kedokteran

menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang berjudul : **“Efek Ekspresi mRNA Gen *Prolactin Receptor (PRLR)* dan *Signal Transducer And Activator Of Transcription 5 (STAT5)* Terhadap Produksi ASI Ibu Menyusui”** adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain dan sepanjang pengetahuan saya di dalam naskah disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan/ditulis/diterbitkan sebelumnya, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 21 - 12 - 2020

Yang menyatakan,

**IMELDA ISKANDAR**



## **PRAKATA**

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji Syukur saya panjatkan ke-hadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayahNya sehingga saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW, keluarga beserta sahabatnya, dan seluruh pengikutnya hingga akhir zaman.

Pertama-tama saya haturkan ucapan terima kasih setulus-tulusnya kepada kedua orang tua saya tercinta, ayahanda rahimahullah Ilyas Iskandar dan ibunda Nurliah Mansyur, yang telah melahirkan, memelihara, mendidik, dan menyayangi saya sampai saat ini. Kepada mertua saya rahimahullah Bawa Jhan Shahib Salikandu dan Sitti Haniah yang telah senantiasa memberikan semangat, motivasi dan doa dalam melaksanakan tugas sehari hari dan menyelesaikan pendidikan ini.

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad Sp.GK(K) selaku promotor yang telah banyak memberikan masukan, arahan, nasehat dan meluangkan waktu di tengah-tengah kesibukannya demi kelancaran dalam penyelesaian pendidikan ini.

Dr. dr. Nasrudin Andi Mappaware Sp.OG(K) selaku Ko-promotor yang juga merupakan guru yang senantiasa memberi kemudahan, semangat, dan masukan yang sangat membantu dalam proses penyelesaian disertasi ini.

Dr. dr. Ema Alasiry Sp.A(K) selaku Ko-promotor yang selalu berkenan meluangkan waktunya untuk membimbing saya, memberikan kemudahan-

kemudahan berpikir serta kritikan yang bersifat konstruktif guna menjadikan disertasi ini menjadi tulisan yang baik dan layak.

Prof. Dr. dr. Hendy Hendaro Sp. OG(K), Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed, Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K), Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS, Dr. dr. Aidah Juliaty A.Baso, Sp.A(K), Dr. Mardiana Ahmad, S.SiT, M.Keb, selaku penguji yang selalu berkenan meluangkan waktu untuk memberikan masukan, saran, dan pemikiran positif serta kritikan yang bersifat konstruktif sehingga disertasi ini menjadi lebih baik lagi.

Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada ibu Prof.Dr.Dwi Aries Tina Pulubuhu NK,M.A, selaku rektor Universitas Hasanuddin, Bapak Prof.dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk melanjutkan studi di Universitas Hasanuddin.

Rasa hormat dan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak dr. Agussalim Bukhari, M. Clin, Med, Ph.D, Sp.GK (K) selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Bapak Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin periode sebelumnya yang telah memberikan kesempatan melanjutkan pendidikan ini dan juga senantiasa memberikan nasehat, masukan serta dukungan agar kami menjadi alumni yang berkualitas.

Terimakasih saya ucapkan kepada Direktur Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Prof. Dr. Jamaluddin Jompa, M.Sc, dan juga kepada Prof. Dr.

Muhammad Ali, SE, M.si pada masanya, yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan pascasarjana Ilmu Kedokteran di Universitas Hasanuddin.

Terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada Suami tercinta Muhammad Abdillah Shahib Salikandu, SE dan ananda tersayang, Muhammad Isa Daud AS, Fathimah Ainun Mumtazah AS, Raisya Nurul Izzah AS, Hamim Thaha AS atas segala pengertian, kesabaran, dukungan doa dan cinta kasihnya yang tak ternilai. Dan kepada saudaraku Ira Iskandar, Ilham Iskandar, Ilsa Aprilia Ramadhani Iskandar, Imal Iskandar serta saudara saudara iparku terima kasih atas dukungan moril dan materil serta doanya sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Kepada Ketua Yayasan Pendidikan Makassar dan Direktur beserta staf dosen Akademi Kebidanan Yapma Makassar, terima kasih banyak atas dukungan dan doanya selama menempuh pendidikan ini.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada seluruh dosen serta staf Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin atas bantuan dan dukungannya selama menempuh pendidikan ini. Kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP), kementrian Keuangan Republik Indonesia terima kasih atas bantuan beasiswa yang telah diberikan selama dalam proses pendidikan sampai selesai.

Kepada teman teman seperjuangan S3 kedokteran angkatan 2017 Harningsih, Dahniar, Jafriati, Tri Damayanti, Subair, A.Tenri Ola, Wahyuni penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas bantuannya,

motivasi, kesetiaan, kekompakan baik saat suka maupun duka dalam mengikuti proses pendidikan pada program doktor Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin. Kepada sahabatku Dr. Azniah Syam, M.Kes, yang telah banyak membantu dan mendampingi penulis selama proses penyelesaian disertasi ini, Dr. Nuryaqin, Dra. Yumiarni, Dr. Werna Nontji terimakasih atas dukungan selama ini. Fitriani, Armiyati Nur, Amriani, Jumrah, Haryati S, Handayani Halik dan Syahruni Hidayatullah (HumRC), serta teman-teman yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu sekali lagi terima kasih banyak atas semua doa dan dukungannya.

Penulis menyampaikan permohonan maaf bila dalam penulisan disertasi ini masih banyak terdapat kesalahan maupun kekeliruan. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis sangat mengharapkan kritikan, masukan dan saran untuk penyempurnaan dari pada isi disertasi ini. Semoga segala bantuan dan doanya mendapatkan balasan dari Allah SWT, dan menjadi amal jariyah, Aamiin Ya Rabbal Alamin.

Akhir kata semoga Allah SWT selalu melimpahkan karunia-Nya kepada kita semua dan semoga disertasi ini bermanfaat bagi semua pihak,

Aamin Yaa Robbal Aalamiin.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Makassar, 21 - 12 - 2020

Imelda Iskandar

## ABSTRAK

Prolaktin adalah hormon penting dalam produksi air susu. Selain jumlah hormon, terdapat variasi genetik air susu tiap-tiap individu. Kaskade utama pensinyalan prolaktin melalui Prolactin Receptor (PRLR) yang berikatan dengan Janus Kinase (JAK2) dan Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT5).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menganalisis ekspresi gen PRLR dan STAT5 terhadap produksi ASI pada ibu menyusui.

Pendekatan observasional analitik studi yang dilakukan pada bulan April sampai Desember 2019 di Kota Makassar. Subjek terdiri dari 80 ibu hamil trimester III (32 – 36 minggu) yang dipilih berdasarkan kriteria tertentu. Ibu akan di follow-up hingga usia bayi enam bulan. Teknik analisis ekspresi gen PRLR dan STAT5 menggunakan RT-PCR dengan sub-klasifikasi kelompok produksi ASI optimal dan sub-optimal.

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan ekspresi gen PRLR ( $<0.001$ ) di antara kedua kelompok, namun tidak dengan ekspresi STAT5 (0.078). Meskipun STAT5 tidak bermakna secara statistik, namun rerata volume produksi ASI cenderung meningkat seiring dengan level angka ekspresi ( $>$  median). Berdasarkan uji simultan, terdapat interaksi yang kuat antara Indeks Massa Tubuh dengan ekspresi gen PRLR ( $<0.003$ ) dan STAT5 ( $<0.023$ ), ibu yang memiliki indeks massa tubuh normal cenderung memiliki volume ASI yang lebih banyak.

Kata Kunci: Ekspresi Gen, *Prolactin Receptor* (PRLR), *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5), Produksi ASI

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>I</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>XVI</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>XVII</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>XVIII</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>XIX</b>
<b>BAB I</b> .....	<b>1</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
A. LATAR BELAKANG .....	1
B. RUMUSAN MASALAH .....	5
C. TUJUAN PENELITIAN.....	5
1. <i>Tujuan Umum</i> .....	5
2. <i>Tujuan Khusus</i> .....	5
D. MANFAAT PENELITIAN .....	6
1. <i>Manfaat Teoritis</i> .....	6
2. <i>Manfaat Praktis</i> .....	6
<b>BAB II</b> .....	<b>7</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
A. FUNGSI ANATOMI DAN FISILOGI LAKTASI.....	7
1. <i>Fisiologi Kelenjar Payudara</i> .....	7
2. <i>Fungsi Biologis Sel Alveoli Masa Laktasi</i> .....	16
B. VOLUME PRODUKSI AIR SUSU .....	19
C. GEN RESEPTOR PROLAKTIN (PRLR) .....	26
D. GEN SIGNAL TRANSDUCER ACTIVATOR OF TRANSCRIPTION 5 (STAT5) .....	34
E. KERANGKA TEORI .....	38
F. KERANGKA KONSEP .....	40
G. HIPOTESIS PENELITIAN .....	41
H. DEFINISI OPERASIONAL.....	41
<b>BAB III</b> .....	<b>43</b>
<b>METODE PENELITIAN</b> .....	<b>43</b>
A. DESAIN PENELITIAN .....	43
B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN .....	43
C. POPULASI .....	43
D. SAMPEL .....	44
E. INSTRUMEN PENELITIAN .....	46
1. <i>Pemeriksaan Ekspresi Gen</i> .....	46
2. <i>Pengukuran Volume ASI</i> .....	50
3. <i>Pengumpulan Data Demografi, Riwayat obstetri, Laktasi, dan IMT51</i>	

F. PENGOLAHAN DAN ANALISIS DATA.....	52
G. ALUR PENELITIAN .....	52
H. ETIK PENELITIAN .....	54
<b>BAB IV.....</b>	<b>55</b>
<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>55</b>
A. HASIL PENELITIAN.....	55
1. Analisis Bivariat Variabel Karakteristik Subjek Penelitian Terhadap Produksi ASI. ....	56
2. Ekspresi mRNA Gen PRLR dan Ekspresi mRNA gen STAT5.....	59
3. Hubungan Ekspresi mRNA Gen PRLR dan Ekspresi mRNA Gen STAT5 Terhadap Produksi ASI.....	61
B. PEMBAHASAN .....	64
1. Hubungan Variabel Sosiodemografi, Obstetri dan Laktasi Terhadap Produksi ASI Ibu Menyusui .....	64
2. Hubungan Ekspresi mRNA Gen PRLR dan Ekspresi mRNA Gen STAT5 Terhadap Produksi ASI Ibu Menyusui.....	78
C. KETERBATASAN PENELITIAN .....	89
<b>BAB V .....</b>	<b>90</b>
<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>90</b>
A. KESIMPULAN .....	90
B. SARAN.....	90
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>91</b>
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Hubungan antara Variabel Sosiodemografi, Obstetri dan Laktasi dengan Produksi ASI .....	57
Tabel 4. 2 Nilai Ekspresi Gen PRLR dan STAT5 .....	59
Tabel 4. 3 Hubungan Ekspresi Gen PRLR dan STAT5 dengan Produksi ASI Pada Ibu Menyusui .....	61
Tabel 4. 4 Hasil analisis layer antara IMT, PRLR dan Kategori Produksi ASI .....	62
Tabel 4. 5 Hasil analisis layer antara IMT, STAT5 dan Kategori Produksi ASI .....	63



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1: Faktor keberhasilan dan kegagalan laktasi. (Sooyeon Lee1 and Shannon L. Kelleher, 2016).....	27
Gambar 2 : Lokasi PRLR gene pada kromosom (NIH, 2017) .....	29
Gambar 3 : Sinyal utama yang dipicu oleh reseptor prolaktin dalam sel target (Goffin et al. 2005). .....	30
Gambar 4 : Lokasi STAT5 gene pada kromosom (NIH, 2017).....	34
Gambar 5 : Jalur prolaktin/reseptor prolaktin/Jak2/STAT5 pada kelenjar susu (Oakes et al. 2008) .....	35
Gambar 6 : Reseptor prolaktin (PRLR) dan STAT5 mengatur perkembangan sel epitel alveoli kelenjar susu selama kehamilan (Miyoshi et al. 2001).37	
Gambar 7 : Lactogenesis Hormon (Kelly, 2011) .....	22
Gambar 8 : Pengosongan dan produksi ASI.....	23
Gambar 9 : Ekspresi relative gen PRLR dan STAT5 .....	59

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1 Lembar Permohonan Komisi Etik
2. Lampiran 2 Lembar Persetujuan Komisi Etik
3. Lampiran 3 Surat Izin Penelitian dari Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Unhas
4. Lampiran 4 Surat Izin Penelitian dari Rumah Sakit Unhas
5. Lampiran 5 Surat Izin Penelitian dari Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Satu Pintu
6. Lampiran 6 Surat Izin Penelitian dari Badan Kesatuan Bangsa dan Politik
7. Lampiran 7 Surat Izin Penelitian dari Dinas Kesehatan Kota Makassar
8. Lampiran 8 Naskah Penjelasan Subjek dan Informed Consent
9. Lampiran 9 Data Sosiodemografi, Riwayat Obstetri, Riwayat Laktasi dan Status Gizi
10. Lampiran 10 Lembar Pengukuran Volume ASI
11. Lampiran 11 Lembar Dokumentasi Proses Penelitian

## DAFTAR SINGKATAN

$\mu\text{l}$	: Mikroliter
ASI	: Air Susu Ibu
ASIP	: ASI Perah
C5	: Complement 5
CR2	: Complement C3d Receptor 2
cDNA	: Complementary Deoxyribo Nucleic Acid
CSN2	: $\beta$ -Kasein
CSF1	: Colony Stimulating Factor 1
DLD	: Dihydrolipoamide dehydrogenase
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
DNase	: Deoxyribonuclease
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic Acid,
E1f	: E1alpha-likefactor
ErbB4	: Receptor tyrosine-protein kinase
FIL	: Feedback Inhibitor Laktasi
FSH	: Folikel stimulating hormone
GADPH	: Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase
GAS	: Interferon Activated Sequence
GH	: Growth Hormone
GP130	: Glycoprotein 130
HPL	: Human Placenta Lactogen

HPRL	: <i>Human Prolactine</i>
hPRLrI	: <i>Human Prolactine Receptor</i>
IL	: <i>Interlukin</i>
IMT	: <i>Indeks massa tubuh</i>
IMD	: <i>Inisiasi Menyusu Dini</i>
JAK2	: <i>Janus kinase</i>
LH	: <i>Luteinizing hormone</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MIZ	: <i>Mizu-Kussej</i>
mRNA	: <i>Massenger Ribonucleic Acid</i>
P13K	: <i>Phosphatidylinositol-3-Kinase</i>
PL	: <i>Placenta Lactogen</i>
PRL	: <i>Prolactine</i>
PRLR	: <i>Prolactine Receptor Gene</i>
PTP1B	: <i>Protein Tyrosine Phosphatase non-receptor type 1</i>
qPCR	: <i>Real time Polymerase Chain Reaction</i>
RANKL	: <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
RNase	: <i>Ribonuclease</i>
RARA	: <i>Retinoic Acid Receptor Alpha</i>
SD	: <i>Standar Deviasi</i>
SDG's	: <i>Suistanable Development Goals</i>
Shp	: <i>Shrimp</i>

SNP : *Snipper*

SOCS : *Suppresor of Cytokine Signaling*

SREBP-1 : *Sterol regulatory element-binding transcription factor 1*

STAT5 : *Signal Transducer and Activator of Transcription 5*

TCR : *Third chromosome alpha methyl dopa-resistant*

WAP : *Whey Acidic Protein*

MaSCs : *Mammary stem cell*

PLC : *Pregnancy Lactation Cycle*

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Air susu ibu (ASI) merupakan nutrisi yang diproduksi dari aktivitas sekresi dan transportasi seluler pada organ payudara ibu. Siklus perkembangan organ sekresi ASI mulai terbentuk sejak neonatus, pubertas hingga kehamilan (Cox, Kent, Casey, Owens, & Hartmann, 2009). Sampai saat ini beberapa asumsi yang menyatakan bahwa produksi ASI seorang ibu menyusui banyak dipengaruhi oleh berbagai faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal melibatkan lingkungan, sosiodemografi, bahkan sosiokultural (Syam *et al.*, 2017). Faktor internal mencakup psikososial, kognitif, afektif, riwayat obstetrik, dan biologis (Dennis, 2006). Berkaitan dengan hal tersebut, ASI sangat penting untuk perkembangan fisik, psikis dan intelektual, terutama dalam pencegahan stunting yang belakangan ini semakin meningkat. Persentasi praktik pemberian ASI Eksklusif belum mampu menurunkan kejadian stunting sesuai dengan target SDG's (*Sustainable Development Goals*) pada tahun 2025 yaitu di bawah 40 persen (Buletin-Stunting-2018). ASI adalah baseline nutrisi yang dapat mengurangi dampak progresif gagal tumbuh. Setiap bayi berhak memperoleh ASI paling tidak sampai enam bulan, sebagai *starting point* yang sama sehatnya seperti seluruh anak di dunia.

Hasil pemantauan status gizi berdasarkan hasil Riskesdas 2018, proporsi pola pemberian ASI pada bayi umur 0-5 bulan di Indonesia sebanyak 37.3% ASI eksklusif, 9.3% ASI parsial, dan 3.3% ASI predominan. (Pusat Data dan Informasi KemenKes RI). Keadaan ini memberikan potensi yang besar terhadap prevalensi stunting nasional sebesar 27.67% pada tahun 2019, angka ini masih melebihi target WHO yaitu di bawah 20% (Pusat Penelitian Badan Keahlian DPR RI 2019 <http://puslit.dpr.go.id>).

Literatur review mendapati bahwa alasan terbanyak yang dikemukakan oleh ibu yang gagal mempertahankan ASI eksklusif adalah produksi ASI kurang, demikian juga dengan pengalaman empiris peneliti. Produksi ASI yang diyakini selama ini adalah sesuai dengan hukum *supply dan demand*. Semakin sering menyusui maka semakin banyak ASI yang keluar, semakin lama menyusui maka payudara akan kosong sempurna. Pengosongan payudara merupakan salah satu unsur yang akan meningkatkan sekresi ASI di kelenjar alveoli pada fase pemenuhan berikutnya.

Jejaring molekuler merupakan faktor yang dominan berperan pada mekanisme biologis dalam sel-sel payudara. Salah satu sistem yang berperan dalam mekanisme biologis sel-sel payudara adalah sistem endokrin. Regulasi endokrin sangat menentukan proses transkripsi dan sekresi ASI dalam kelenjar payudara. Ada dua indikator yang menentukan jumlah volume ASI yaitu hormon prolaktin dan oksitosin. Studi epidemiologi

membuktikan, keterlibatan variasi genetik ibu mampu memodifikasi fisiologi kelenjar susu, produksi hormon, serta produksi ASI (Lee & Kelleher, 2016).

Terdapat beberapa penelitian yang membahas tentang Ekspresi gen PRLR dan STAT5 pada ASI, hasil penelitian ini juga mendapati peningkatan ASI yang banyak pada hari ke-4 setelah melahirkan (Anderson, Rudolph, McManaman, & Neville, 2007), selain itu didapati bahwa Gen STAT5 berperan penting dalam mengatur proliferasi sel, meningkatkan diferensiasi, membentuk protein susu dan menunda apoptosis sel pada masa involusi (Lavnilovitch, Cardiff, Groner, & Barash, 2004). Penelitian terkait gen yang menyandi produksi susu masih sedang dikembangkan guna mengetahui secara jelas perubahan genetik yang memiliki peranan dalam produksi ASI.

Transkriptomik dan studi epigenetik akan sangat penting untuk mengidentifikasi dan memahami pengaturan gen pada proses laktasi. Data yang mampu menjelaskan pengaruh variasi genetik pada fisiologi laktasi masih terbatas pada hewan coba (mamalia). Data ini telah digunakan pada studi asosiasi genetika untuk produksi susu, karenanya diperlukan penelitian lebih lanjut untuk lebih memahami implikasi fisiologis pada manusia. Perubahan jalur pensinyalan prolaktin dapat mempengaruhi fungsi, hasil, dan volume ASI.

Kaskade utama pensinyalan prolaktin melalui Reseptor Prolaktin (PRLR) yang berikatan dengan JAK2 (*Janus Kinase*) dan STAT5 (*Signal Transducer and Activator of Transcription 5*). Jalur pensinyalan utama yang



diaktifkan oleh interaksi prolaktin-PRLR adalah jalur JAK/STAT. Ikatan prolaktin menginduksi dimerisasi reseptor dan aktivasi JAK2, suatu kinase yang secara konstitutif terkait dengan PRLR (Pezet *et al.* 1997; (Radhakrishnan *et al.*, 2012). JAK2 memfosforilasi beberapa residu tirosin dari PRLR dan memungkinkan pengikatan transduksi sinyal dan aktivator protein transkripsi (STAT) (DaSilva *et al.* 1996; (Radhakrishnan *et al.*, 2012).

Uraian di atas menggiring asumsi bahwa, faktor genetik (internal) mungkin saja sangat dominan menjadi penentu/biomarker dari volume produksi ASI. Tetapi dalam kondisi yang berbeda misalnya pada ibu yang berhenti menyusui, atau ibu yang memiliki keadaan patologis seperti kanker payudara memiliki regulasi yang berbeda pada jalur PRLR-JAK-STAT. Oleh karena itu, penelitian ini mendalami jalur pensinyalan gen Reseptor Prolaktin (PRLR) melalui kaskade *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) pada ibu menyusui yang sehat dikaitkan dengan fenotip volume produksi ASI yang dihasilkan pada fase ASI transisi.

## **B. Rumusan Masalah**

Bagaimanakah ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) dan ekspresi mRNA gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) pada ibu menyusui dan dampaknya terhadap produksi ASI ?

## **C. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dalam penelitian ini mencakup tujuan umum dan tujuan khusus sebagai berikut:

### **1. Tujuan Umum**

Mengetahui dan menganalisis ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) dan ekspresi mRNA gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) berdasarkan jumlah produksi ASI pada ibu menyusui.

### **2. Tujuan Khusus**

1. Menganalisis ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) pada Ibu Menyusui.
2. Menganalisis ekspresi mRNA gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) pada Ibu Menyusui.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat Teoritis**

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai profil Ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) dan ekspresi mRNA gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) pada Ibu Menyusui.
- b. Meningkatkan kemampuan sintesis tentang Biologi Molekuler dan pemahaman intrinsik proses sekresi dan transportasi air susu ibu pada kelenjar payudara.
- c. Meningkatkan pemahaman terhadap fenomena diferensiasi faktor biologis yang melatar belakangi perbedaan performa laktasi dan volume ASI pada setiap peristiwa menyusui.

### **2. Manfaat Praktis**

- a. Mengembangkan dasar ilmiah dalam deteksi gangguan laktasi melalui pengetahuan profile ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) dan ekspresi mRNA gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5)
- b. Hasil penelitian ini memberikan satu opsi terapeutik dalam intervensi gangguan laktasi pada ibu dengan riwayat kesulitan menyusui atau produksi ASI yang kurang.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Fungsi Anatomi dan Fisiologi Laktasi

##### 1. Fisiologi Kelenjar Payudara

###### *a. Perkembangan Payudara Masa Pubertas*

Pubertas menginduksi pertumbuhan payudara yang didorong oleh ovulasi dan pembentukan siklus menstruasi yang teratur. Peningkatan ukuran payudara terutama disebabkan oleh peningkatan deposisi jaringan adiposa di dalam kelenjar (Jose Russo & Russo, 2004).

Namun, perubahan yang berbeda dari perkembangan epitel dan stroma lebih lanjut juga diamati dan dipicu oleh sirkuit hormonal ovarium yang bekerja pada populasi sel induk *mammae/mammary stem cell* (MaSC) yang diperkirakan ada di lapisan duktus basal. Namun, perubahan yang berbeda dari perkembangan epitel dan stroma lebih lanjut juga diamati dan dipicu oleh sirkuit hormonal ovarium yang bekerja pada populasi sel induk *mammae/ mammary stem cell* (MaSC) yang diperkirakan ada di lapisan duktus basal (Neville, McFadden, & Forsyth, 2002; Visvader, 2009). Perubahan ini termasuk *elongation ducts* yang ada dan bercabang ke duktus *secondy* di termini yang berlapis epitel kuncup muncul dan membentuk cluster yang disebut *lobules* (Jose Russo & Russo, 2004).

Biasanya, remodeling mamalia pada setiap siklus menstruasi tidak sepenuhnya mundur pada akhir siklus. Dengan demikian, perkembangan epitel yang berlangsung terus secara bertahap selama masa remaja hingga kehidupan dewasa sampai kira-kira pada usia 35 tahun. Pada perawan dewasa, tiga tipe lobulus yang berbeda telah diamati, yang telah diklasifikasikan menurut tingkat perkembangannya. Lob 1 terdiri dari sekitar 11 duktula, Lob 2 dari sekitar 47 duktus, dan Lob 3 kira-kira 80 duktus, proporsi masing-masing jenis lobulus bervariasi di antara individu. Meskipun demikian, pergeseran dari Lobs 1-3 ke tipe lobulus keempat (Lob 4) yang mengandung alveoli matang biasanya diamati pada wanita selama kehamilan (Jose Russo & Russo, 2004).

*b. Perkembangan Payudara Ibu Hamil*

Meskipun remodeling kecil pada payudara terjadi pada setiap siklus menstruasi, tidak sampai pada *pregnancy lactation cycle* (PLC) bahwa remodeling lengkap dari payudara terjadi ketika berangsur-angsur bertransformasi menjadi organ fungsional yang matang sepenuhnya. Pemodelan ulang ini terjadi melalui perubahan dalam sirkulasi kompleks hormonal yang mengaktifkan *mammary stem cell* (MaSCs).

Tahap pematangan secara langsung diatur oleh peningkatan kadar kompleks hormon laktogenik yang bersirkulasi (estrogen, progesteron, dan prolaktin) yang menginduksi percabangan duktus, morfogenesis alveolar, dan diferensiasi sekretori (Pang & Hartmann,

2007). Hormon lain dan faktor pertumbuhan yang merupakan regulator langsung ekspansi mammary selama kehamilan termasuk laktogen plasenta, faktor pertumbuhan epidermis, TGF $\alpha$ , dan faktor parakrin stroma, sedangkan insulin, hormon pertumbuhan, glukokortikoid, dan faktor pertumbuhan fibroblas terlibat secara tidak langsung. Laktogen plasenta darah telah terbukti sangat berkorelasi dengan pertumbuhan payudara mungkin melalui stimulasi proliferasi sel punca/progenitor. Selama kehamilan, fase awal proliferasi sel-sel *mammary stem cell* (MaSC) dan sel progenitor menghasilkan sintesis *de novo* duktus baru, elongasi duktus yang ada melalui aktivitas mitosis pada tunas ujung terminal, pencabangan epitel ekstensif, dan pembentukan serta perluasan struktur sferis, disebut alveoli pada tunas terminal (mammogenesis) (Sternlicht, 2005).

Setiap alveolus tertanam dalam stroma dan dipisahkan darinya melalui membran basal. Ini terdiri dari lapisan basal yang menyerupai sel mioepitel yang mengelilingi lapisan sel epitel yang membungkus lumen alveolar (J Russo, Hu, Silva, & Russo, 2001; Jose Russo & Russo, 2004; Sternlicht, 2005; Sternlicht, Affolter, et al., 2006; Watson & Khaled, 2008). Sel-sel myoepithelial menampilkan sifat fenotipik dan fungsional sel otot polos. Ditopang oleh oksitosin yang distimulasi oleh isapan bayi, berkontraksi untuk pengeluaran susu dari alveolus melalui lumen duktal ke puting susu. Oksitosin dilepaskan dengan cara pulsatil yang menghasilkan aliran susu dari alveoli, perluasan duktus dan peningkatan

tekanan intra duktal. Pengeluaran susu adalah periode waktu ketika susu dikeluarkan baik oleh bayi yang menyusui atau dengan menggunakan pompa ASI. Ditemukan bahwa setiap ibu memiliki profil yang berbeda dan relatif konsisten, dengan perbedaan luas yang diperhatikan pada beberapa wanita (Prime, Geddes, Hepworth, Trengove, & Hartmann, 2011).

Pada trimester kedua kehamilan dan setelah fase ekspansi (perkembangan alveolar/mammogenesis), peningkatan gradual dalam tingkat prolaktin menstimulasi diferensiasi seluler di situs alveolar, di mana sel-sel epitel mamaria lapisan luminal selanjutnya berdiferensiasi menjadi laktosit. Diferensiasi sekresi (Lactogenesis I) terjadi sekitar 24 minggu kehamilan dan sering disertai dengan akumulasi sekresi pertama (colostrum) di dalam alveoli dan duktus (Cox *et al.*, 2009).

Perubahan payudara pada kehamilan secara klinis direfleksikan sebagai peningkatan volume payudara dan pada sebagian besar wanita selesai pada minggu ke-22. Namun, ada variasi besar dalam pertumbuhan payudara antara wanita mulai dari sedikit atau tidak ada peningkatan hingga peningkatan ukuran yang cukup besar dapat terjadi baik secara cepat selama trimester pertama atau lebih secara bertahap selama kehamilan (Cox *et al.*, 2009). Oleh karena itu, ukuran payudara selama kehamilan bukan merupakan indikator potensi laktasi yang dapat diandalkan, terutama karena tidak mencerminkan jumlah jaringan sekret yang terkandung dalam payudara. Akan tetapi, perlu dicatat bahwa ibu

yang melahirkan prematur (<28 minggu) dapat mengganggu perkembangan payudara. Hal ini dapat berdampak pada efisiensi laktasi, mengakibatkan aktivasi sekresi tertunda (Lactogenesis II) dan pengurangan produksi susu pada minggu pertama postpartum (Parker, Sullivan, Krueger, & Mueller, 2015). Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menjelaskan tingkat perkembangan mammae dan potensi peningkatan efisiensi laktasi pada wanita prematur. Yang penting, komponen sel-sel sekresi mammae dapat digunakan sebagai indikator potensial perkembangan mammae, sehingga menyediakan alat penilaian potensi laktasi yang bermanfaat.

*c. Perkembangan Payudara Masa Laktasi*

Pengaktifan sekretorik memungkinkan peningkatan cepat sintesis susu dan biasanya terjadi 48-72 jam setelah kelahiran yang dipicu oleh penurunan progesteron yang beredar (setelah melahirkan plasenta) dan peningkatan kadar prolaktin. Kadar prolaktin dalam darah tinggi selama laktasi awal dan bertahap menurun saat laktasi berlangsung (Pang & Hartmann, 2007; Suzuki *et al.*, 2000).

Efek prolaktin di kelenjar susu selama *Pregnancy Lactation Cycle* (PLC) adalah kompleks karena telah terbukti tidak hanya merangsang sintesis susu, tetapi juga proliferasi sel (Neville *et al.*, 2002). Ini merupakan mekanisme potensial yang memungkinkan regenerasi dan diferensiasi yang sama dari epitel laktasi dan pemeliharaan dinamis serta pergantian jaringan sekretorik selama perjalanan laktasi. Hal ini juga



menggambarkan perubahan/berbagai fungsi prolaktin selama perjalanan laktasi (Czank, 2007). Setelah partus, perubahan karakteristik dalam integritas membran basal yang memisahkan stroma mammae dari epitel juga diamati, dengan pengencangan dan penurunan permeabilitas. Ini berfungsi untuk mengontrol pensinyalan sistemik dan stroma terhadap epitel mamaria serta pergerakan komponen-komponen susu atau prekursor mereka dari sirkulasi sistemik ke lumen alveolar atau laktosit.

Kolostrum biasanya hadir untuk 3-5 hari pertama setelah melahirkan diikuti oleh susu transisional sampai sekitar minggu 2–3 postpartum, setelah itu ASI dianggap matang. Kolostrum memiliki komposisi biokimia dan seluler yang berbeda yang ditujukan untuk memberikan perlindungan imunologi yang lebih baik, dukungan nutrisi dan perkembangan pada bayi baru lahir. Selain faktor-faktor konsentrasi tinggi yang memberikan dukungan/perlindungan imunologi, seperti imunoglobulin, laktoferin, oligosakarida, dan sel-sel imun yang aktif, mengandung faktor-faktor pemicu proliferasi sel yang diduga meningkatkan perkembangan gastrointestinal dan merangsang hematopoiesis dan pematangan kekebalan (Bessler, Straussberg, *et al.*, 2000). Telah dikemukakan bahwa penundaan satu-dua hari dalam onset aktivasi sekretorik setelah partus pada wanita dapat berfungsi untuk memaksimalkan paparan bayi terhadap faktor proteksi immunodulator dari kolostrum (Pang & Hartmann, 2007) pada periode ketika sistem kekebalannya sendiri masih belum matang. Pada saat yang sama,

kolostrum mengandung kandungan protein yang lebih tinggi (30–70 g / L atau 3–7%) daripada ASI matur (7–25 g / L atau 0,7–2,5%), yang dapat memberikan manfaat tambahan untuk bayi yang baru lahir dalam beberapa hari pertama setelah lahir (RJ *et al.*, 2000; Saarela, Kokkonen, & Koivisto, 2005).

Pemahaman saat ini adalah bahwa komposisi ASI matur, struktur dan komposisi payudara tidak berubah secara signifikan selama menyusui sampai pengurangan dan/atau penghentian pengeluaran ASI dari payudara. Namun demikian, perubahan komposisi lemak dan sel susu dalam menanggapi pemberian makan telah dilaporkan. Belum jelas apakah perubahan sel jangka pendek yang diamati pada ASI ini mencerminkan perubahan jangka pendek regional dalam perkembangan dan struktur mikro alveolar. Pada saat yang sama, sebuah studi *cross-sectional* memeriksa populasi seluler ASI yang dikumpulkan pada berbagai tahap selama laktasi menunjukkan perubahan ekspresi biomarker pada protein dan tingkat mRNA laktasi dengan menunjukkan perubahan yang sesuai dalam epitel payudara (Hassiotou *et al.*, 2012). Bersama dengan bukti epidemiologi yang mendokumentasikan efek perlindungan dari durasi menyusui yang lama terhadap kanker payudara mendukung gagasan bahwa *pregnancy lactation cycle* (PLC) menginduksi perubahan permanen pada payudara, yang setidaknya sebagian dilakukan selama laktasi.

Meskipun kehamilan dan menyusui pada wanita umumnya dipelajari sebagai fenomena terpisah, tidak jarang bagi wanita untuk menyusui satu anak saat sedang hamil berikutnya. Hal ini terutama terjadi di masyarakat yang lebih tradisional di mana wanita menyusui anak-anak mereka untuk waktu yang lama (Merchant, Martorell, & Haas, 1990). Kehamilan bersamaan dengan laktasi belum diselidiki secara rinci, tetapi biasanya menghasilkan pengurangan suplai ASI dan/atau penghentian produksi ASI, terutama pada paruh kedua kehamilan, hal ini juga terjadi pada hewan coba yaitu sapi perah (Merchant et al., 1990).

Merchant *et al.* melaporkan bahwa di antara wanita yang diperiksa dimana mereka hamil dan menyusui secara bersamaan, 41,4% terus menyusui sampai trimester kedua kehamilan, dan menurun menjadi 3,2% pada trimester ketiga. Komposisi dan penampilan susu juga berubah selama periode ini, dengan susu memiliki warna kolostrum yang lebih kuning.

Mekanisme yang terlibat dalam pengurangan produksi susu yang disebabkan oleh kehamilan kurang dipahami. Beberapa penelitian pada sapi menunjukkan hubungan dengan peningkatan kadar estrogen plasma. Dapat dipostulasikan bahwa peningkatan faktor-faktor induksi-proliferasi selama kehamilan dapat menangkal faktor-faktor induksi sintesis susu, karena kedua efek ini menimbulkan efek antagonis. Selanjutnya, umpan balik signaling loop antara laktosit dan sel-sel stem/progenitor di epitel susu mungkin ada, sehingga menurunkan regulasi

sintesis laktosit susu dan diferensiasi selama periode penting untuk ekspansi *mammary stem cell* (MaSC). Hal di atas patut diinvestigasi lebih lanjut.

Efek nutrisi pada perkembangan kelenjar susu pada wanita selama *Pregnancy Lactation Cycle* (PLC) belum secara ekstensif dipelajari. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Turcksin *et al*, telah menyoroti bahwa wanita yang kelebihan berat badan dan obesitas cenderung sulit untuk memulai laktasi (Turcksin, Bel, Galjaard, & Devlieger, 2014), lebih mungkin untuk mengalami kesulitan makan karena keterikatan bayi yang bermasalah, memiliki durasi laktasi yang lebih pendek (Donath & Amir, 2000), dan dua kali lebih mungkin gagal pada ekspresi ASI dibandingkan dengan wanita berat badan normal. Menariknya, wanita yang kelebihan berat badan dan obesitas yang menyatakan ASI cenderung memiliki jangka waktu menyusui yang lebih lama daripada mereka yang tidak mengungkapkannya (Leonard, Labiner-Wolfe, Geraghty, & Rasmussen, 2011). Penelitian pada hewan telah menunjukkan hasil yang sama, menggambarkan hubungan antara obesitas dan kegagalan laktasi (Lovelady, 2005).

Telah terbukti bahwa asupan makanan yang melebihi kebutuhan energi merusak perkembangan susu dan kinerja laktasi berikutnya, hal ini menunjukkan hubungan yang kuat antara nutrisi dan pengembangan serta fungsionalitas mammae normal. Peningkatan 40% dalam asupan energi pada tikus mengakibatkan perkembangan alveolar yang abnormal

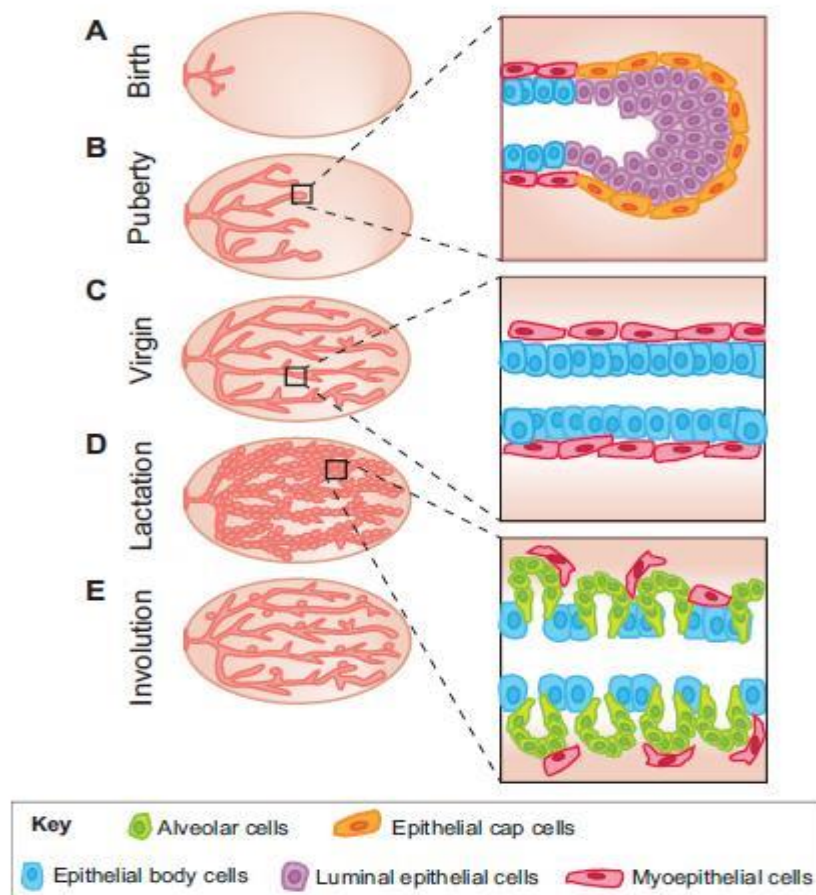
dan keterlambatan dalam inisiasi laktasi (Flint *et al.*, 2005). Sebaliknya, pembatasan 40% asupan energi di masa awal kehamilan pada tikus menghasilkan peningkatan 46% dalam pembesaran sel mammae dan peningkatan 14% dalam produksi susu (Kim dan Park, 2004). Oleh karena itu jelas bahwa diet dan asupan gizi dapat mempengaruhi inisiasi laktasi, efisiensi, dan kinerja laktasi. Efek dari diet pada kinerja laktasi atau efisiensi kemungkinan dimediasi melalui modulasi hormonal pada kelenjar susu. Mengingat banyaknya manfaat pemberian ASI bagi bayi dan ibu, penting untuk lebih menjelaskan dampak nutrisi ibu pada perkembangan payudara dan menyusui.

## **2. Fungsi Biologis Sel Alveoli Masa Laktasi**

Kelenjar susu merupakan organ tubuh yang unik dan mengalami perubahan dari lahir sampai dewasa. Kelenjar susu mengalami perubahan besar untuk persiapan laktasi, yang meliputi pematangan kelenjar dan alveologenesi (Neville, Mcmanaman, & Neville, 2003).

Proses perkembangan kelenjar susu ini melibatkan berbagai hormon dan protein, terutama progesteron dan prolaktin. Perubahan pertama pada saat hamil adalah terjadi peningkatan percabangan sekunder dan tersier duktus kelenjar susu, dan selanjutnya terjadi perkembangan alveoli. Proliferasi sel epitel menghasilkan tunas alveoli, selanjutnya membelah dan berdiferensiasi menjadi alveoli, yang akan menjadi tempat sekresi susu selama laktasi. Progesteron bertanggung jawab dalam proses percabangan dan alveologenesi yang dibutuhkan untuk menciptakan

kemampuan laktasi dari kelenjar susu. Bersama dengan prolaktin, progesteron mendorong diferensiasi struktur alveoli untuk proses sintesis dan sekresi susu. Prolaktin merupakan faktor kritikal dalam persiapan kapasitas laktasi selama kehamilan. Pengaruhnya secara tidak langsung adalah dengan mengatur produksi progesteron di ovarium dan secara langsung pada sel epitel kelenjar susu (Macias & Hinck, 2012).



Gambar 1: Perkembangan kelenjar susu mulai dari lahir sampai dewasa (Inman, Robertson, Mott, & Bissell, 2015)

Sitoplasma sel alveolar laktasi diisi dengan banyak mitokondria dan jaringan retikulum endoplasma kasar yang luas. Selain itu ada aparatus Golgi yang berkembang dengan baik, dan lubang sekretorik yang mengandung misel kasein terdapat di regio apikal sel. Pembengkakan elemen dari jaringan Golgi hasil dari masuknya osmotik air karena konsentrasi tinggi laktosa disintesis dalam kompartemen ini (Clermont, Xia, Rambourg, Turner, & Hermo, 1993). Sel alveolar laktasi memiliki kemampuan sintesis yang berkembang baik untuk lipid dan memiliki mekanisme unik untuk sekresi lipid yang menghasilkan sekresi tetesan trigliserida dikelilingi oleh membran tetesan lemak susu (Bauman, Mather, Wall, & Lock, 2006). Sel epitel terhubung satu sama lain melalui kompleks junctional apikal yang terdiri dari unsur-unsur yang melekat dan yang berfungsi untuk menghambat pertukaran sel-sel parasel langsung antara kompartemen vaskular dan susu selama laktasi. Sisi basal sel epitel alveolar menghubungkan sel-sel myoepithelial dan basement membran, yang memisahkan kompartemen epitel dari stroma dan sistem vaskular. Dengan demikian, ada sejumlah hambatan potensial untuk mentransfer zat eksogen dari darah atau sel stroma ke susu: (1) membran vaskular atau stroma; (2) membran basal; (3) membran epitel basal, (4) kompleks junctional paraseluler, (5) membran Golgi dan (6) membran epitel apikal.

Remodeling pada payudara terjadi pada setiap siklus menstruasi, tidak sampai pada pregnancy lactation cycle (PLC) bahwa remodeling

lengkap dari payudara terjadi ketika berangsur-angsur bertransformasi menjadi organ fungsional yang matang sepenuhnya. Pemodelan ulang ini terjadi melalui perubahan dalam sirkulasi kompleks hormonal yang mengaktifkan MaSCs.

Setiap alveolus tertanam dalam stroma dan dipisahkan darinya melalui membran basal. Ini terdiri dari lapisan basal yang menyerupai sel mioepitel yang mengelilingi lapisan sel epitel yang membungkus lumen alveolar (J Russo, Hu, Silva, & Russo, 2001), (Jose Russo & Russo, 2004), (Watson & Khaled, 2008). Sel-sel myoepithelial menampilkan sifat fenotipik dan fungsional sel otot polos. Ditopang oleh oksitosin terikat yang distimulasi oleh isapan bayi, mereka berkontraksi menghasilkan pengeluaran susu dari alveolus melalui lumen duktal ke puting susu. Oksitosin dilepaskan dengan cara pulsatil yang menghasilkan aliran susu dari alveoli, perluasan duktus dan peningkatan tekanan intra duktal (Prime, Geddes, Hepworth, Trengove, & Hartmann, 2011).

## **B. Volume Produksi Air Susu**

Pengeluaran susu adalah periode waktu ketika susu tersedia untuk dikonsumsi oleh bayi atau dengan menggunakan pompa ASI. Telah ditemukan bahwa setiap ibu memiliki profil yang berbeda dan relatif konsisten, dengan perbedaan luas yang diamati di antara wanita (Prime, Geddes, Hepworth, Trengove, & Hartmann, 2011).



Proses pemberian ASI memerlukan produksi dan pengeluaran air susu dari alveoli ke sistem duktus. Bila susu tidak dikeluarkan mengakibatkan berkurangnya sirkulasi darah kapiler yang menyebabkan terlambatnya proses menyusui. Kekuatan isapan kurang disebabkan oleh berkurangnya rangsangan menyusui oleh bayi, frekuensi isapan yang kurang dari singkatnya waktu menyusui berarti pelepasan prolaktin dari hipofise berkurang, sehingga pembuatan air susu berkurang, karena diperlukan kadar prolaktin yang cukup untuk mempertahankan pengeluaran air susu mulai sejak minggu pertama kelahiran.

Oksitosin berfungsi pada sel-sel mioepitelium pada alveoli kelenjar mammae. Hormon ini berperan untuk memacu kontraksi otot polos yang ada di dinding alveolus dan dinding saluran sehingga ASI dipompa keluar. Semakin sering menyusui, pengosongan alveolus dan saluran semakin baik sehingga kemungkinan terjadinya bendungan susu semakin kecil dan menyusui akan semakin lancar. Jadi peranan oksitosin dan prolaktin mutlak diperlukan dalam laktasi.

Melalui reseptor beta, oksitosin menyebabkan sel-sel mioepitel berkontraksi, yang menghasilkan pelepasan susu ke dalam saluran laktiferus dan sinus sehingga dapat dikeluarkan melalui aktivitas menyusui. Pelepasan oksitosin menjadi respon terkondisi pada wanita menyusui, yang hanya membutuhkan rangsangan visual atau pikiran sadar.

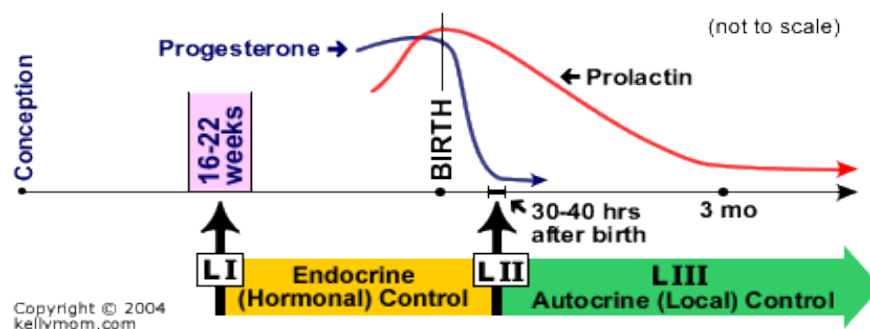
Laktogenesis (inisiasi laktasi) adalah serangkaian perubahan seluler sel epitel kelenjar susu dari non sekretori ke sekretori. Peristiwa ini terjadi

diakhir kehamilan dan saat melahirkan. Terjadi perubahan biokimia pada kelenjar susu dari tidak aktif menjadi aktif. Proses laktogenesis dibedakan atas dua fase yaitu laktogenesis I (diferensiasi sekretori) dan laktogenesis II (aktivasi sekretori) (Mohammad & Haymond, 2013). Laktogenesis I terjadi sekitar 24 minggu kehamilan dan sering disertai dengan akumulasi sekresi pertama (colostrum) di dalam alveoli dan duktus. Sel epitel kelenjar susu berdiferensiasi menjadi lactocyte (sel sekretori epitel kelenjar susu), selanjutnya terjadi sintesis komponen susu yang khas seperti laktosa, kasein,  $\alpha$ -laktalbumin, asam lemak dan sebagainya. Hormon-hormon yang dibutuhkan untuk diferensiasi sekretori adalah estrogen, progesteron dan prolaktin, selain itu juga dibutuhkan hormon metabolik, hormon pertumbuhan, glukokortikoid dan insulin. Pada wanita, diferensiasi sel sekretori terjadi pada awal-pertengahan kehamilan; proses ini sangat dipengaruhi oleh hormon prolaktin (Pang & Hartmann, 2007).

Aktivasi sel sekretori (laktogenesis II) merupakan awal dari sekresi susu, dicirikan dengan perubahan komposisi susu secara tajam seperti peningkatan konsentrasi laktosa, sitrat, kalium dan penurunan jumlah natrium, immunoglobulin. Induksi dari aktivasi sel sekretori dipicu oleh penurunan progesteron plasma yang cepat dan meningkatnya jumlah prolaktin dan glukokortikoid. Selama masa akhir kehamilan dan beberapa hari pertama setelah melahirkan kelenjar susu menghasilkan kolostrum. Pada manusia, produksi susu meningkat secara perlahan sampai 72 jam setelah melahirkan dan akan normal setelah 96 jam. Jumlah laktosa pada

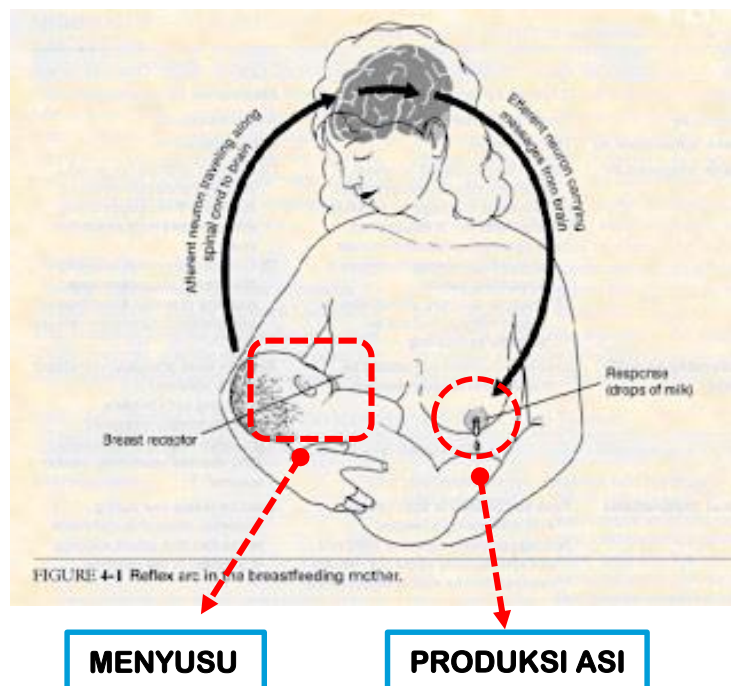
ASI meningkat 2,5 kali lipat mulai dari 6 jam setelah melahirkan sampai dengan 96 jam setelah melahirkan, jumlah glukosa mengikuti pola yang sama. Konsentrasi prolaktin yang ada dalam susu mencapai puncaknya pada 36 jam setelah melahirkan (125 ng/ml) dan menurun menjadi 50 ng/ml pada hari ke 42 setelah melahirkan. Sebaliknya jumlah progesteron turun dengan cepat dari  $56 \pm 16$  ng/ml pada 6 jam setelah melahirkan menjadi  $17 \pm 9$  ng/ml pada 36 jam setelah melahirkan dan selanjutnya menurun menjadi kurang dari 1 ng/ml setelah 72 jam melahirkan (Mohammad *et al.* 2012).

Selama akhir kehamilan, payudara memproduksi kolostrum, tetapi tingginya kadar hormon progesteron menghambat sekresi ASI dan menekan jumlahnya. Lahirnya plasenta akan menyebabkan penurunan drastis progesteron / estrogen / HPL. Hal ini menyebabkan hormon prolaktin meningkat sebagai isyarat Lactogenesis II (produksi susu meningkat). Meskipun penanda biokimia menunjukkan bahwa Lactogenesis II dimulai sekitar 30-40 jam setelah lahir, ibu mulai merasa ada peningkatan volume payudara (sensasi ASI "datang") sampai 50-73 jam (2-3 hari) setelah lahir.



Gambar 1 : Lactogenesis Hormon (Kelly, 2011)

Setelah Lactogenesis II, ada pertukaran (lokal) ke sistem control autokrin. Tahap pemeliharaan produksi ASI ini juga disebut Lactogenesis III. Pada tahap pemeliharaan, sintesis susu dikontrol pada payudara, pengosongan payudara merupakan mekanisme utama mengontrol pasokan ASI. Pengosongan didorong oleh nafsu makan bayi. Dalam keadaan normal, payudara akan terus memproduksi ASI tanpa batas waktu selama pengosongan terus dilakukan. Dengan demikian dapat diketahui bahwa kontrol autokrin sintesis ASI bekerja. Penelitian menunjukkan bahwa ada dua faktor yang mengontrol sintesis asi: ASI mengandung protein whey kecil yang disebut *Feedback Inhibitor Laktasi* (FIL). Peran FIL memperlambat sintesis asi ketika payudara penuh. Dengan demikian produksi ASI diperlambat ketika masih menumpuk di payudara, dan dipercepat ketika payudara kosong (Kelly,2011).



Gambar 2 : Pengosongan dan produksi ASI (Fritz, Speroff 2011)

Jumlah air susu pada ibu yang kekurangan gizi sekitar 500-700 ml setiap hari selama 6 bulan pertama, 400-600 ml pada 6 bulan kedua, serta 300-500 ml pada tahun kedua kehidupan bayi. Kekurangan gizi dikarenakan cadangan lemak yang tersimpan dalam tubuh ibu pada masa kehamilan tidak mencukupi kebutuhan yang kelak akan digunakan sebagai salah satu komponen ASI dan sumber energi selama menyusui. Meskipun begitu, peningkatan konsumsi makanan pada ibu hamil belum tentu meningkatkan produksi air susunya. Faktor gizi dalam makanan yang dikonsumsi oleh ibu menjadi faktor dominan yang berpengaruh terhadap volume produksi ASI.

Kuantitas dan jenis ASI berproduksi secara bertahap. Normalnya, jumlah ASI yang diproduksi pada akhir minggu pertama setelah melahirkan adalah 550 ml per hari. Dalam 2-3 minggu, produksi ASI meningkat sampai 800 ml per hari. Kemudian, jumlah produksi ASI dapat mencapai 1,5-2 Liter per harinya. Tetapi jumlah produksi ASI tergantung dari seringnya bayi menyusui. Semakin sering bayi menyusui, semakin banyak hormon prolaktin dilepaskan, sehingga semakin banyak produksi ASI. Jenis ASI yang diproduksi pun berubah secara bertahap.

Jumlah air susu yang sedikit dapat menyebabkan kegagalan proses menyusui. Beberapa faktor produksi ASI berkurang karena kelahiran premature, ibu atau bayi yang sakit, ibu dan bayi yang dipisah, dan menyusui secara tidak langsung (memompa air susu). Cemas, lelah, dan stress emosional juga merupakan faktor kuat berkurangnya produksi ASI.

Jumlah produksi air susu dapat meningkat karena pengaruh psikologi yang mendukung dan ibu yang tenang. Pemberian galaktogogum juga dapat meningkatkan produksi ASI. (Zuppa *et al.* 2010).

Laktasi yang berhasil membutuhkan ekspansi jaringan payudara yang luas dan diferensiasi selama kehamilan, diikuti oleh kemampuan untuk menghasilkan jumlah susu yang cukup setelah lahir. Meskipun 75% ibu memiliki keinginan untuk menyusui, namun tidak semua wanita mampu menyusui bayinya secara eksklusif selama 6 bulan pertama kehidupan, sebagaimana direkomendasikan oleh *American Academy of Pediatrics* dan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO).

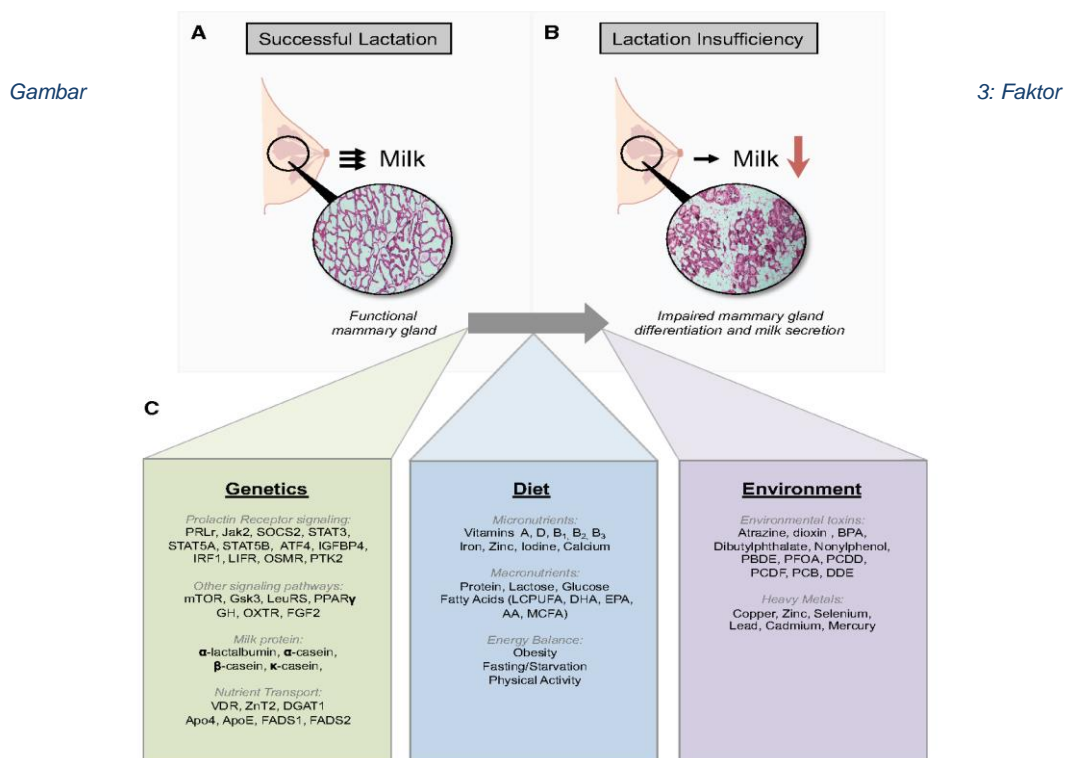
Prevalensi "insufisiensi" laktasi mungkin jauh lebih tinggi, karena 40–50% wanita di AS dan 60–90% wanita secara global mengaku "tidak menghasilkan ASI yang cukup" atau "bayi tidak puas dengan ASI" sebagai alasan utama untuk menyapih sebelum 6 bulan. Etiologi insufisiensi laktasi jelas multifaktorial dan kompleks. Hipoplasia payudara atau kondisi payudara abnormal lainnya dan operasi payudara sebelumnya tentunya merupakan faktor yang berkontribusi terhadap insufisiensi laktasi. Peranan genetik juga menjadi salah satu faktor penyebab insufisiensi laktasi, hal inilah yang akan ditelusuri secara empiris pada penelitian ini.

### **C. Gen Reseptor Prolaktin (PRLR)**

Perkembangan zaman dan teknologi menuntun para peneliti melakukan pengkajian terkait masalah-masalah yang terjadi di lingkungan sekitar dengan melakukan pendekatan dari beberapa aspek termasuk aspek genetik. Beberapa penelitian yang dilakukan salah satunya oleh I Gusti Ayu Nyoman telah mengkaji mengenai volume produksi ASI masing-masing individu berbeda-beda. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah faktor asupan nutrisi dan faktor genetik seseorang. Beberapa penelitian telah dilakukan pada susu sapi perah menunjukkan perubahan/mutasi yang terjadi pada gen penyandi susu mampu mempengaruhi jumlah produksi susu. Pada manusia penelitian terkait masih sedang dikembangkan guna mengetahui secara jelas perubahan genetik yang memiliki peranan dalam produksi ASI.

Kemampuan kelenjar susu untuk mengeluarkan susu sangat penting untuk kelangsungan hidup bayi yang baru lahir. Selama kehamilan, seluruh proses proliferasi dan diferensiasi sel ditetapkan di kelenjar susu yang mengubah arsitektur duktusnya dari periode tidak hamil menjadi kelenjar yang mensekresi susu lobulo-alveolar pada akhir kehamilan. Proses ini dipicu oleh sekresi hormon plasenta dan hipofisis, yang paling penting adalah progesteron, prolaktin dan laktogen plasenta. Sementara progesteron berikatan dengan reseptor nuklir untuk secara langsung mengaktifkan transkripsi gen, terutama untuk mempromosikan ekspansi proliferasi kompartemen alveolar, prolaktin dan laktogen plasenta adalah peptida terkait

yang berikatan dengan Reseptor Prolaktin (PRLR) pada sel epitel kelenjar susu untuk menginduksi proliferasi dan diferensiasi sel-sel alveolar yang mengeluarkan susu (Morales, Hayashi, Van Pelt, & Georgescu, 2012).



keberhasilan dan kegagalan laktasi. Kegagalan laktasi adalah suatu kondisi di mana laktasi tidak mencukupi atau tidak berhasil karena produksi susu yang tidak memadai. Jaringan kelenjar mamalia tikus yang mengandung hematoxylin dan eosin mewakili kelenjar susu fungsional yang mengalami sukses laktasi (A) dan kelenjar susu dengan gangguan diferensiasi mammae dan sekresi susu yang menyebabkan insufisiensi laktasi (B). Daftar review faktor genetik, diet, dan lingkungan yang telah terbukti mempengaruhi hasil laktasi. (Sooyeon Lee<sup>1</sup> and Shannon L. Kelleher, 2016).

Prolaktin ditemukan tahun 1928 sebagai faktor pituitari yang dapat menstimulasi perkembangan kelenjar susu dan laktasi pada kelinci. Nama prolaktin diberikan karena kemampuannya menstimulasi produksi air susu. Lebih dari 300 aktivitas biologi berhubungan dengan prolaktin. Aktivitas ini dapat dikategorikan sebagai berikut: fungsi yang berhubungan dengan reproduksi; kontrol air dan keseimbangan elektrolit; perkembangan dan pertumbuhan otak, tingkah laku dan immunoregulasi serta perlindungan.



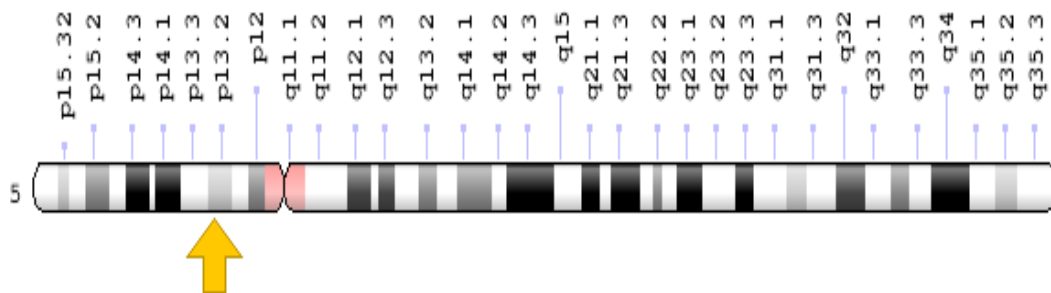
Fungsi biologis ini dimediasi oleh reseptor membran spesifik yaitu reseptor prolaktin, disingkat PRLR (Goffin, Bernichtein, Touraine, & Kelly, 2005).

Prolaktin memiliki struktur dan fungsi yang mirip dengan dua hormon polipeptida lainnya yaitu *growth hormone* (GH) dan *placental lactogen* (PL). Pada manusia gen prolaktin terletak pada kromosom 6 yang mengkode 199 asam amino (23 kDa), memiliki 6 residu sistein dengan 3 ikatan intramolekul disulfide. Gen prolaktin berukuran 10 kb yang tersusun dari 5 ekson dan 4 intron (Freeman *et al.* 2000). Prolaktin dibutuhkan untuk reproduksi normal dan diferensiasi kelenjar susu pada wanita dewasa (Horseman *et al.* 1997). Peranan prolaktin dalam perkembangan kelenjar susu secara tidak langsung mempengaruhi hormon lain dilingkungannya dan secara langsung berikatan pada PRLR di sel epitel kelenjar susu. (Oakes, Rogers, Naylor, & Ormandy, 2008).

Reseptor Prolaktin merupakan membran tunggal pengikat protein yang termasuk kedalam golongan klas I superfamili reseptor sitokin. Gen yang mengkode PRLR terletak pada kromosom 5 dan mengandung paling sedikit 10 ekson. Gen ini mengkode reseptor untuk hormon hipofisis anterior, prolaktin, dan termasuk keluarga reseptor sitokin tipe I. Pensinyalan yang tergantung prolaktin terjadi sebagai akibat dimerisasi yang diinduksi oleh ligan reseptor prolaktin. Ikatan ligan mengarah pada dimerisasi PRLR dan fosforilasi residu tirosin oleh JAK2 kinase yang terkait dengan reseptor. 2 Phospho-tyrosine yang terletak di dekat carboxyl

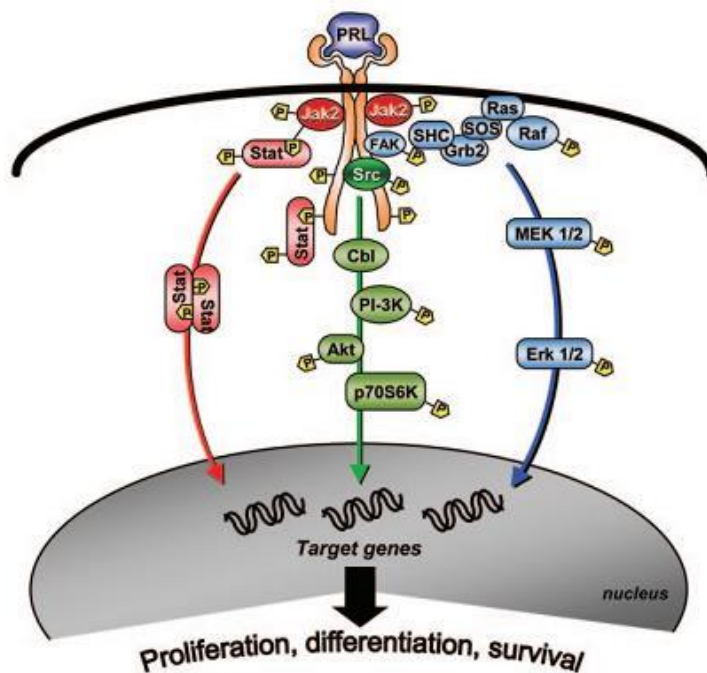
terminus (C terminus) dari domain intraseluler PRLR menghubungkan faktor-faktor transkripsi STAT5A-B melalui domain SH2 dan memaparkannya pada fosforilasi oleh JAK2 (Morales et al., 2012).

Lokasi Kromosom, Lokasi Sitogenetik: 5p13.2, yang merupakan lengan pendek (p) kromosom 5 pada posisi 13.2. Lokasi Molekuler: pasangan basa 35.048.756 hingga 35.230.724 pada kromosom 5 (Homo sapiens Updated Annotation Release 109.20191205, GRCh38.p13) (NCBI)



Gambar 4 : Lokasi PRLR gene pada kromosom (NIH, 2017)

Reseptor Prolaktin (PRLR) terdiri dari domain ekstraseluler, transmembran dan intraseluler. PRLR ditemukan pada hampir seluruh bagian tubuh seperti kelenjar susu, ovarium, sistem saraf pusat, organ perifer seperti kelenjar pituitari, hati, jantung, paru-paru, timus, limpa, pankreas, ginjal, kelenjar adrenal, uterus, otot rangka dan kulit (Freeman *et al.* 2000). Jumlah PRLR sedikit terdeteksi pada sel epitel kelenjar susu normal, sebaliknya jumlahnya ditemukan berlebihan pada sel kelenjar susu yang mengalami kanker (Bratthauer *et al.* 2008 dalam Tafzi F.) Aktivasi induksi ligan dari PRLR akan memicu beberapa transduksi sinyal yaitu Jak, MAPK, dan Src kinase.



Gambar 5 : Sinyal utama yang dipicu oleh reseptor prolaktin dalam sel target (Goffin et al. 2005).

Prolaktin adalah hormon laktogenik utama yang mengatur diferensiasi kelenjar mammae, produksi susu, dan mekanisme sekresi aktif selama laktasi (Hennighausen & Robinson, 2005). Prolaktin dalam melaksanakan fungsi biologinya dimediasi oleh reseptor membran spesifik yaitu reseptor prolaktin (PRLR). Ketika disekresikan ke dalam sirkulasi, prolaktin berikatan dengan reseptor prolaktin (PRLR). Interaksi antara prolaktin dengan PRLR akan mengakibatkan PRLR berdimerisasi dan mengaktifasi beberapa sinyal transduksi yaitu janus kinase (Jak2), mitogen-activated protein kinase (MAPK), Src kinase dan phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) (Goffin, Bernichtein, Touraine, & Kelly, 2005; Radhakrishnan *et al.*, 2012). Ketika prolaktin terikat, nonreceptor tyrosine kinase Jak2 diaktivasi dan difosforilasi oleh faktor transkripsi STAT5 yang memungkinkan dimerisasi dan translokasi ke dalam nukleus, kemudian berikatan dengan promotor

gen dan memediasi terjadinya diferensiasi kelenjar mammae dan sintesis susu. Jalur Jak2/STAT5 memiliki peran yang sangat penting dalam proses laktasi. Jak2 akan mengaktifasi protein *signal transducer and activator of transcription 5* (STAT5). STAT5 yang diaktivasi akan bertranslokasi ke dalam nukleus sel epitel kelenjar susu, selanjutnya mentranskripsi gen yang mengatur pembentukan lobuloalveolar selama kehamilan (Oakes *et al.*, 2008) juga mentranskripsi gen protein susu seperti  $\beta$ -kasein (CSN2) dan whey acidic protein (WAP) (Macias & Hinck, 2012).

Pada penelitian hewan coba, tikus yang tidak memiliki gen PRLR dan STAT5A mengalami gangguan dalam pembentukan lobuloalveolar sehingga menyebabkan cacat parah pada diferensiasi mammae dan kegagalan laktasi (Chierici, Saccomandi, & Vigi, 1999; Cui *et al.*, 2004; N D Horseman *et al.*, 1997; Miyoshi *et al.*, 2001). Bahkan, gangguan stimulasi molekul dan penghambatan itu secara langsung terlibat dalam jalur pensinyalan prolaktin misalnya, tirosin kinase ErbB4, regulator negatif SOCS2 dan SOCS3, faktor transkripsi Elf5, Miz1, dan SnoN, sitosol protein-tirosin fosfatase Shp2 dan PTP1B, dan NHERF1 / EBP50, yang membentuk multimeric complex dengan PRLR membahayakan semua diferensiasi dan laktogenesis atau menyebabkan hasil laktasi suboptimal dalam model hewan coba (Aoki and Matsuda 2000; Harris *et al.* 2006; Jahchan *et al.* 2012; Morales *et al.* 2012; Sanz-Moreno *et al.* 2014). Kerumitan jalur laktogenik ini memberikan banyak peluang untuk (de) aktivasi yang dihasilkan dari variasi genetik pada gen-gen yang mengkodekan molekul-

molekul ini pada manusia. Saat ini sedikit yang diketahui tentang gen-gen yang mengatur fisiologi laktasi pada manusia.

Dari hasil pemaparan tersebut dapat diasumsikan bahwa variasi genetik serupa dapat mengatur fisiologi laktasi, produksi air susu, dan komposisi ASI pada wanita. Sebagai bukti konsep, beberapa mutasi dalam prolaktin dan PRLR telah diidentifikasi pada manusia (Nyante *et al.*, 2011). Selain itu, beberapa penelitian telah menemukan bahwa SNP dalam PRLR berhubungan dengan peningkatan kadar serum prolaktin. Secara kolektif, ini menunjukkan bahwa SNP dalam PRLR diduga mempengaruhi fungsi payudara, namun efek dari SNP dalam PRLR pada hasil laktasi belum dieksplorasi (Newey *et al.*, 2013).

Penelitian lain menunjukkan hasil bahwa keadaan laktasi dan pengalaman reproduktif sebelumnya mengubah ekspresi gen PRLR pada jaringan mammae dan hati. Pola ekspresi reseptor pada jaringan mammae dan hati bergeser sebagai fungsi dari kondisi reproduksi. Perbandingan tingkat ekspresi PRLR dalam jaringan mammae menunjukkan bahwa selama menyusui awal, bentuk panjang reseptor meningkat dan diekspresikan pada tingkat yang lebih tinggi selama laktasi kedua pada tikus. Demikian juga, ekspresi gen dari bentuk pendek reseptor lebih tinggi pada tikus primipara yang menyusui dibandingkan dengan tikus multipara.

Penelitian pada hewan coba menemukan bahwa protein reseptor dalam jaringan susu umumnya tidak paralel dengan ekspresi gen PRLR. Sebagai contoh, pada jaringan susu, kepadatan pita untuk kedua bentuk

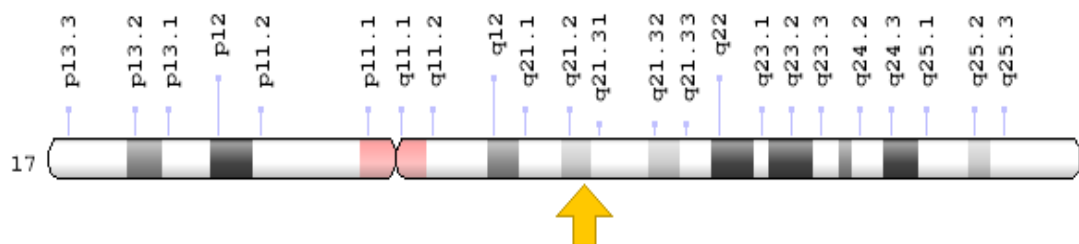
PRLR pada kelompok menyusui umumnya lebih rendah daripada pada kelompok diestrus (fase dalam siklus berahi pada hewan). Sebaliknya, ekspresi gen PRLR meningkat selama laktasi dibandingkan dengan hewan diestrus. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi mekanisme yang terlibat dalam ekspresi gen PRLR diferensial dan konten protein (Robert S. Bridges, Victoria F. Scanlan, Jong-O Lee, and Elizabeth M. Byrnes, 2011).

Pada tikus yang tidak memiliki gen prolaktin, perkembangan duktus terjadi tetapi pembentukan lobuloalveolar terganggu (Nelson D. Horseman & Gregerson, 2013). Mencit bunting yang tidak memiliki gen PRLR mengalami tingkat proliferasi sel yang 60 % lebih rendah, ukuran lumen kecil, kegagalan diferensiasi sel epitel, kontak antar sel terganggu dan tidak ada ekspresi gen connexin 32. Ekspresi gen protein susu whey acidic protein (WAP) menurun dan tidak ada ekspresi gen CSN2 (Miyoshi *et al.* 2001).

#### D. Gen Signal Transducer Activator of Transcription 5 (STAT5)

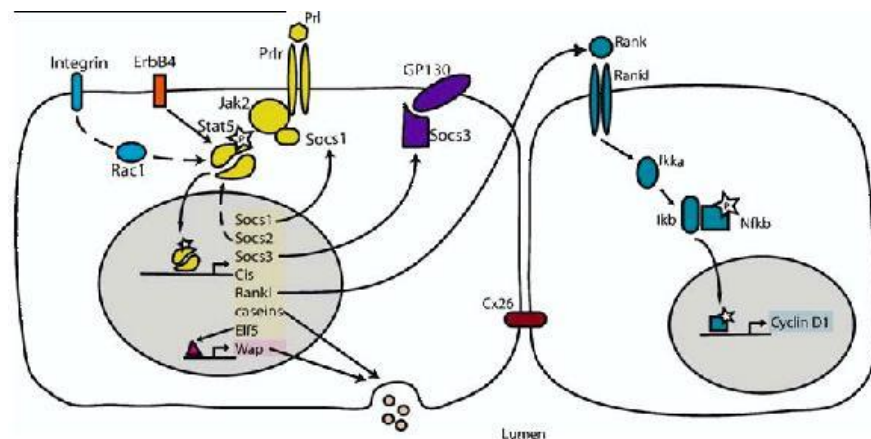
Protein yang dikodekan oleh gen STAT5 adalah anggota keluarga STAT faktor transkripsi, anggota keluarga STAT terfosforilasi oleh kinase terkait reseptor, dan kemudian membentuk homo atau heterodimer yang bertranslokasi ke inti sel di mana mereka bertindak sebagai aktivator transkripsi. Protein ini memediasi transduksi sinyal yang dipicu oleh berbagai ligan sel, seperti IL2, IL4, CSF1, dan berbagai hormon pertumbuhan. Pensinyalan TCR, apoptosis, perkembangan kelenjar susu dewasa, dan dimorfisme seksual dari ekspresi gen hati telah terbukti terlibat dalam berbagai proses biologis.

Lokasi Sitogenetik: 17q21.2, yang merupakan lengan panjang (q) kromosom 17 pada posisi 21.2. Lokasi Molekul: pasangan basa 42.199.177 hingga 42.288.437 pada kromosom 17 (Homo sapiens Updated Annotation Release 109.20191205, GRCh38.p13) (NCBI).



Gambar 6 : Lokasi STAT5 gene pada kromosom (NIH, 2017).

Jalur prolaktin/Jak2/STAT5 diperlukan untuk alveologenesi dan ekspresi gen protein susu (Oliver & Watson, 2013). Jak2 akan mengaktivasi tiga anggota dari famili STAT yaitu STAT1, STAT3, dan STAT5 yang paling penting (Goffin *et al.*, 2005).



Gambar 7 : Jalur prolaktin/reseptor prolaktin/Jak2/STAT5 pada kelenjar susu (Oakes *et al.* 2008)

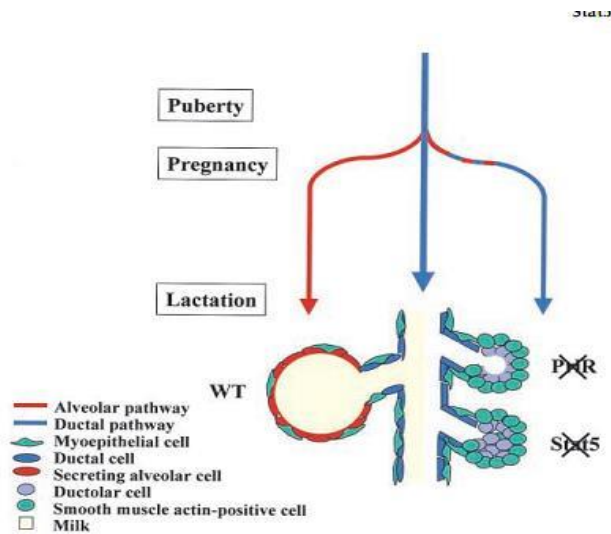
STAT5 akan merespon Jak2, mengalami fosforilisasi, dimerisasi, dan translokasi ke dalam nukleus, berikatan dengan *interferon activated sequence* (GAS) yang merupakan regulator gen protein susu (Reichenstein, Rauner, & Barash, 2011). Jalur Jak2/STAT5 pada kelenjar susu dipicu oleh prolaktin. Penelitian menunjukkan bahwa tikus yang defisiensi PRLR, Jak2, STAT5A, cyclinD1, connexin-26, RANKL, dan reseptor RANKL gagal dalam pengembangan fungsi alveoli untuk sekresi selama hamil dan selanjutnya gagal untuk proses laktasi sewaktu melahirkan (Morales *et al.*, 2012).

Pada tikus yang tidak memiliki Jak2 perkembangan kelenjar susu terganggu baik pada tikus muda, bunting atau melahirkan, mengakibatkan



kegagalan dalam laktasi karena alveologensis terganggu dan gagal untuk mengaktivasi STAT5. Jak2 tidak hanya dibutuhkan untuk proliferasi dan diferensiasi sel alveoli, tetapi juga untuk pemeliharaan laktasi (K.-U. Wagner et al., 2004).

Suppressor of cytokine signaling (Socs) yaitu Socs1, Socs2 dan Socs3 adalah regulator negatif dari sinyal prolaktin. Socs1 akan berikatan dengan Jak2, Socs2 akan mengatur aktivasi STAT5 dan Socs3 akan berikatan dengan reseptor GP130 yang kemudian meningkatkan ekspresi STAT3 (Oakes *et al.*, 2008). Tikus yang tidak memiliki gen SOCS1 akan mempercepat perkembangan lobuloalveolar selama masa akhir kehamilan dan awal laktasi sehingga produksi susu meningkat. Socs1 dibutuhkan untuk mencegah laktasi sebelum kelahiran (Lindeman et al., 2001). Selain itu pada tikus yang tidak memiliki Socs1 sinyal prolaktin dan fosforilasi STAT5 meningkat. Sementara uji in vitro pada Socs3 menunjukkan bahwa peningkatan Socs3 mengganggu jalur Jak2/STAT5 sehingga menghambat ekspresi  $\beta$ -kasein dan proliferasi sel. Selain itu Socs3 juga mengganggu sintesa asam lemak dengan jalan menurunkan ekspresi SREBP-1c. Ekspresi Socs 3 yang rendah dibutuhkan untuk sintesa susu dan proliferasi sel (Huang *et al.*, 2013).



Gambar 8 : Reseptor prolaktin (PRLR) dan STAT5 mengatur perkembangan sel epitel alveoli kelenjar susu selama kehamilan (Miyoshi et al. 2001).

Prolaktin dalam melaksanakan fungsi biologinya dimediasi oleh reseptor membran spesifik yaitu reseptor prolaktin (PRLR). Interaksi antara prolaktin dengan PRLR akan mengakibatkan PRLR berdimerisasi dan mengaktifasi beberapa sinyal transduksi yaitu janus kinase (Jak2), mitogen-activated protein kinase (MAPK), Src kinase dan phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) (Goffin et al., 2005)

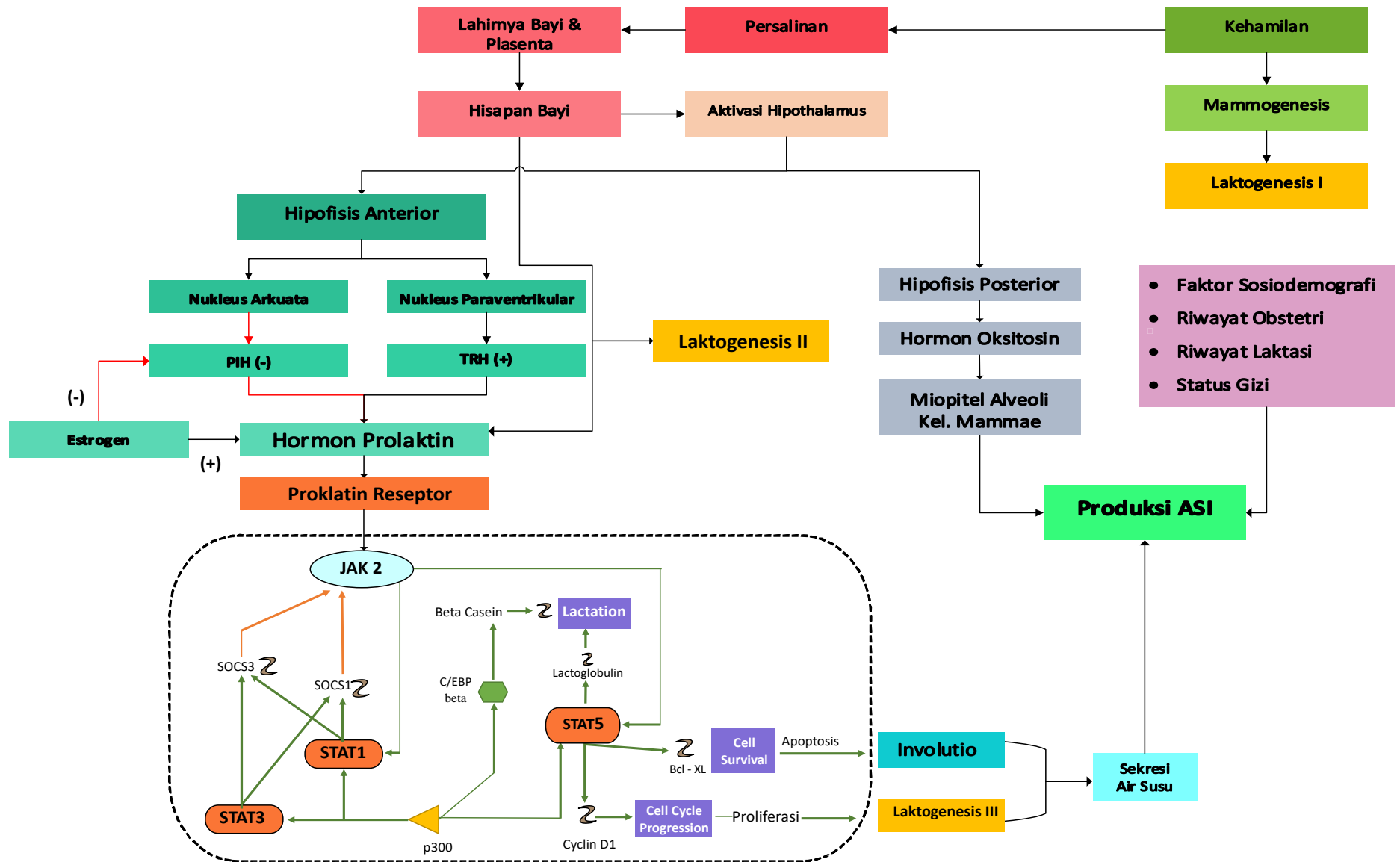
Jalur Jak2/STAT5 memiliki peran yang sangat penting dalam proses laktasi. Jak2 akan mengaktifasi protein *signal transducer and activator of transcription 5* (STAT5). STAT5 yang diaktivasi akan bertranslokasi ke dalam nukleus sel epitel kelenjar susu, selanjutnya mentranskripsi gen yang mengatur pembentukan lobuloalveolar selama kehamilan (Oakes et al., 2008) dan juga mentranskripsi gen protein susu seperti  $\beta$ -kasein (CSN2) dan *Whey Acidic Protein* (WAP) (Macias & Hinck, 2012). Tikus yang tidak

memiliki gen PRLR dan STAT5A mengalami gangguan dalam pembentukan lobuloalveolar sehingga laktasi gagal (Miyoshi *et al.*, 2001).

### **E. Kerangka Teori**

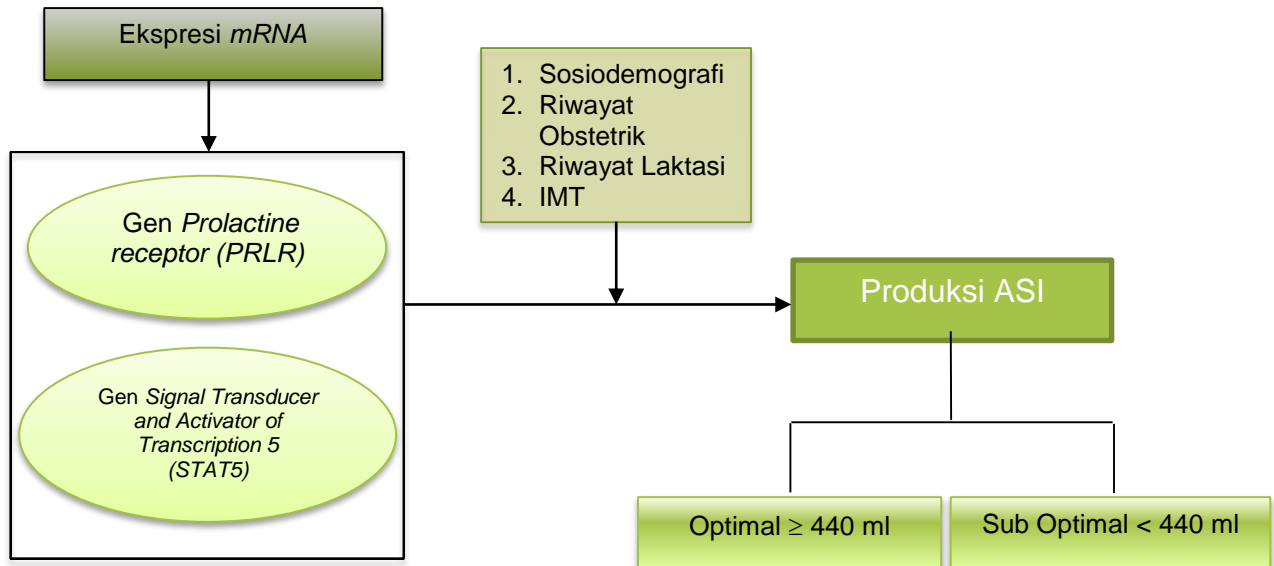
Pada manusia, siklus kehidupan kelenjar susu wanita gambarkan seperti perubahan dalam komposisi, dan fungsionalitas, dimediasi oleh perubahan yang ditandai dalam ekspresi gen, yang mencirikan tahap perkembangan fisiologisnya, yang semuanya bertujuan untuk memungkinkan menjalankan fungsinya sebagai organ penghasil susu dengan kelahiran bayi.

Genetik memainkan peran penting dalam kemampuan payudara untuk merespon permintaan bayi dan memberikan nutrisi yang optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan. Prolaktin adalah hormon laktogenik utama yang mengatur diferensiasi kelenjar mammae, produksi susu, dan sekresi aktif mekanisme laktasi. Prolaktin dan prolaktin reseptor menjalankan fungsinya melalui jalur JAK/STAT. Pengikatan hormon ini ke reseptor membran permukaan sel target mengaktifkan enzim *Janus Kinase (JAK)* yang melekat ke bagian sitosol reseptor. JAK memfosforilasi STAT di dalam sitosol. STAT yang terfosforilasi bergerak ke nukleus dan mengaktifkan transkripsi gen, menghasilkan sintesis protein baru yang membawa respon seluler. Sebagaimana yang tergambar dalam bagan pada halaman berikut ini.



Kerangka Teori : Development Reseptor Prolaktin Signaling in Lactation (Lee RC et al 1999, Matsumoto et al 1999, Brand JM et al 2004, Morales et al., 2012, Yu-lee L 2001, Mohammad & Haymond 2013, Lee & Kelleher 2016).

## F. Kerangka Konsep



Keterangan:

Variabel Independen : Ekspresi mRNA gen PRLR, STAT5

Variabel Dependen : Produksi ASI

Variabel Moderator : Sosiodemografi, Riwayat obstetrik, Riwayat Laktasi, IMT

## **G. Hipotesis Penelitian**

- a. Ada hubungan ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) terhadap produksi ASI ibu menyusui.
- b. Ada hubungan ekspresi mRNA gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) terhadap produksi ASI ibu menyusui.

## **H. Definisi Operasional**

1. Ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) adalah ekspresi mRNA gen yang diukur secara kuantitatif menggunakan metode RT-PCR yang dinilai dengan rasio perbandingan antara mRNA gen PRLR dengan mRNA dari gen kontrol (GAPDH).
2. Ekspresi mRNA gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) adalah Ekspresi mRNA gen yang diukur secara kuantitatif menggunakan metode RT-PCR yang dinilai dengan rasio perbandingan antara ekspresi mRNA gen STAT5 dengan ekspresi mRNA dari gen kontrol (GAPDH).
3. Produksi ASI adalah jumlah volume pengeluaran ASI yang diperoleh melalui pemompaan manual merk Philips Avent di kedua payudara sampai kosong, dilakukan pada hari ke-7, 8, 9 postpartum. Hasil ukur berupa rerata volume ASI harian yang diperoleh melalui pemompaan kemudian dikalikan dengan 8 (frekuensi relative menyusui dalam sehari). Subjek diminta untuk mengisi lembar kontrol menyusui. Jumlah volume harian dijumlah kemudian dibagi tiga, sehingga diperoleh rerata

volume ASI selama tiga hari (F.B Monika). Berdasarkan referensi (Kent, Gardner, & Geddes, 2016) volume ASI dapat dikategorikan menjadi:

- a. Optimal bila volume produksi ASI  $\geq 440$  ml per hari
- b. Sub-Optimal bila volume produksi ASI  $< 440$  ml per hari

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan pendekatan observasional analitik studi, bertujuan mengetahui dan membandingkan perbedaan profil ekspresi mRNA gen Reseptor Prolaktin (PRLR) dan gen *Signal Transducer and Activator of Transcription 5* (STAT5) dengan mengklasifikasikan subjek yang diamati sebagai faktor pembanding ke dalam dua kelompok yakni ibu menyusui dengan produksi ASI optimal dan sub-optimal.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Puskesmas Kassi-Kassi dan Puskesmas Jongaya pada bulan April sampai Desember 2019. Dan untuk pemeriksaan ekspresi mRNA gen PRLR dan ekspresi mRNA gen STAT5 dilakukan di Laboratorium Hum-RC.

#### **C. Populasi**

Populasi penelitian adalah semua ibu hamil yang memeriksakan kehamilannya di Puskesmas Kassi-Kassi dan Puskesmas Jongaya Makassar pada bulan April sampai Desember 2019.