

KARYA AKHIR

**HUBUNGAN EKSPRESI ALEL HLA CW-6 DAN KADAR
ZINK TERHADAP KADAR INTERLEUKIN 22 PADA PASIEN
PSORIASIS VULGARIS**

***CORRELATION BETWEEN HLA CW-6 ALELLE EXPRESSION
AND ZINC LEVELS ON INTERLEUKIN 22 LEVELS IN
PSORIASIS VULGARIS PATIENTS***

**TIMOTHY YUSUF SANGIAN
C115192005**



**PROGRAM STUDI DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2021



Optimized using
trial version
www.balesio.com

KARYA AKHIR

**HUBUNGAN EKSPRESI ALEL HLA CW-6 DAN KADAR
ZINK TERHADAP KADAR INTERLEUKIN 22 PADA PASIEN
PSORIASIS VULGARIS**

***CORRELATION BETWEEN HLA CW-6 ALELLE EXPRESSION
AND ZINC LEVELS ON INTERLEUKIN 22 LEVELS IN
PSORIASIS VULGARIS PATIENTS***

TIMOTHY YUSUF SANGIAN

NIM: C115192005



**KONSENTRASI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
PROGRAM PASKA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**HUBUNGAN EKSPRESI ALEL HLA CW-6 DAN KADAR ZINK
TERHADAP KADAR INTERLEUKIN 22 PADA PASIEN PSORIASIS
VULGARIS**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

TIMOTHY YUSUF SANGIAN

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)

DEPARTEMEN DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021



LEMBAR PENGESAHAN THESIS

HUBUNGAN EKSPRESI ALEL HLA CW-6 DAN KADAR ZINK
TERHADAP KADAR INTERLEUKIN 22 PADA PASIEN PSORIASIS
VULGARIS

Disusun dan diajukan oleh:

TIMOTHY YUSUF SANGIAN

Nomor Pokok: C115192005

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Spesialis Program Studi Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 08 Desember 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Dr. dr. Nurelly N Waspodo, Sp.KK,
MH, FINS DV, FAADV
NIDN: 0916126401

Dr. dr. Faridha Ilyas, Sp.KK(K),
FINS DV, FAADV
NIP: 19641231 199103 2 004

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K),
FINS DV, FAADV
NIP: 19660213 199603 1 001

Prof. dr. Budu, M.Med.Ed, SpM(K),
PhD
NIP: 19661231 199503 1 009



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Timothy Yusuf Sangian
No. Stambuk : C115192005
Program Studi : Departemen Dermatologi dan Venereologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 22 November 2021

Yang menyatakan,



Timothy Yusuf Sangian



PRAKATA

Puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkat dan rahmatnya saya dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini.

Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, saya mengucapkan terima kasih atas kesempatan yang telah diberikan kepada saya untuk dapat menuntut ilmu menjadi peserta di Program Pendidikan Dokter di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Saya mengucapkan terima kasih yang tiada terhingga kepada Dr. dr. Khairuddin Djawad, SpKK(K), FINS DV, FAADV selaku Kepala Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, juga kepada yang terhormat Ketua Program Studi Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Dr. dr. Siswanto Wahab, SpKK(K), FINS DV, FAADV atas segala perhatian, arahan serta bimbingan yang telah diberikan selama saya menempuh pendidikan hingga tersusunnya tesis ini.

Kepada yang saya hormati Dr. dr. Nurelly Noro Waspodo, Sp.KK(K), MH, FINS DV, FAADV sebagai pembimbing utama pada penelitian saya, saya ucapkan terima kasih banyak atas semua arahan, bantuan, dukungan, bimbingan, doa dan kasih sayang yang telah diberikan, yang sama saya hormati Dr. dr. Faridha Ilyas, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV sebagai pembimbing anggota, saya ucapkan banyak terima kasih atas semua didikan, arahan, bimbingan dan doa untuk saya. Kepada yang terhormat Dr. dr. Arifin Seweng, MPH selaku pembimbing metode penelitian, saya ucapkan terima kasih atas segala



bimbingan serta masukannya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Kepada yang terhormat penguji tesis saya, Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV dan Dr. dr. Suryani Tawali, MPH atas segala masukan, bimbingan, dan umpan balik yang disampaikan selama penyusunan tesis ini. Semoga segala kebaikan pembimbing dan penguji tesis ini mendapatkan balasan dengan kebaikan dan keberkahan yang berlipat.

Kepada yang terhormat seluruh staf pengajar dan guru-guru saya di Departemen Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala doa dan kesabaran dalam mendidik sehingga saya dapat menyelesaikan seluruh tahapan demi tahapan pendidikan ini dengan baik, semoga ilmu yang telah diberikan dapat menjadi bekal saya dalam memberikan manfaat bagi sesame.

Terima kasih yang terdalam untuk istri saya, Levina Tri Ratana, atas semua pengorbanan, kesabaran, pengertian, dukungan dan doa yang terpanjat, hingga saya mampu menyelesaikan tesis serta pendidikan ini. Kepada orang tua saya, ayahanda Dantje Daniel Sangian, terimakasih telah membesarkan dan memberikan pengorbanan yang luar biasa, walaupun beliau sudah tidak dapat menyaksikan selesainya tesis ini. Kepada orang tua saya, ibunda Agni Anastasia Sahulata serta kedua mertua saya ayahanda Entjun Setiawan dan ibunda Nany Wahyuning, semoga Allah senantiasa berikan kesehatan, umur yang panjang, penuh berkat dan kebahagiaan. Kepada anak saya tersayang Camille Lingkaran Levine Sangian, terimakasih untuk segala bentuk dukungan dan pengertiannya kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.



Teruntuk teman-teman Program Pendidikan Spesialisasi Ilmu
tanan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas
Hasanuddin terima kasih atas segala bantuan, dorongan dan pengertian

teman-teman selama bersama-sama menjalani pendidikan ini. Terutama kepada sahabat-sahabat saya di “Hi5”, dr. Nurul Indah Pratiwi, dr. Nuril ilmi, dr. Deisy Vania Kianindra dan dr. Farah Eryanda terima kasih banyak atas semua semangat, bantuan, kerjasama dan kekompakannya selama ini, semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan kesuksesan di masa depan bagi kita semua.

Terima kasih kepada semua pihak yang namanya tidak tercantum tapi telah membantu saya dalam setiap proses pendidikan ini. Doa terbaik saya panjatkan semoga Tuhan Yang Maha Esa memberi balasan berlipat untuk setiap dukungan yang telah diberikan.

Makassar, 22 November 2021

Timothy Yusuf Sangian



Optimized using
trial version
www.balesio.com

ABSTRAK

TIMOTHY YUSUF SANGIAN. *Hubungan Ekspresi ALEL HLA CW-6 dan Kadar Zink terhadap Kadar Interleukin-22 pada Pasien Psoriasis Vulgaris* (dibimbing oleh Nurelly Noro Waspodo dan Faridha Ilyas).

Psoriasis vulgaris adalah gangguan inflamasi yang dimediasi oleh sistem imun dan berhubungan dengan potensi genetik serta gangguan imunologi dengan pengaruh multifaktorial, di antaranya peningkatan kadar mediator inflamasi dan defisiensi mikronutrien. *Gen human leukocyte antigen* (HLA) -Cw6, interleukin-22, dan kadar zink telah diteliti secara terpisah pada pasien psoriasis dengan hasil yang bervariasi. Studi deskriptif mengenai ekspresi ALEL HLA-Cw6, interleukin-22, dan kadar zink, serta asosiasi langsung antara ketiga faktor tersebut belum pernah dilaporkan pada pasien di Indonesia. Penelitian ini merupakan sebuah studi kasus-kontrol pada 33 pasien psoriasis dan 33 kontrol yang dicocokkan berdasarkan umur dan jenis kelamin di klinik dermato-venereologi rumah sakit jejaring Universitas Hasanuddin pada tahun 2021. Kasus dikelompokkan ke dalam kasus ringan, sedang, dan berat berdasarkan skor *Psoriasis Area and Severity Index* (PASI). Darah sebanyak 5-ml diambil dalam tabung EDTA dan diperiksa *polymerase chain reaction* (PCR) untuk HLA-Cw6, *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) interleukin-22, dan pemeriksaan kolorimetri untuk pengukuran kadar zink. Analisis statistik dilakukan untuk menentukan asosiasi antara HLA-Cw6, interleukin-22, kadar zink, dan derajat psoriasis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 33 pasien psoriasis sebanyak 3 (9.1%) kasus termasuk ke dalam psoriasis ringan, 10 (30.3%) termasuk ke dalam psoriasis sedang, dan 20 (60.6%) termasuk ke dalam psoriasis berat. ALEL HLA-Cw6 positif pada 93.9% kasus dan 3% kontrol ($p < 0.001$). ALEL HLA-Cw6 positif pada 66.7% psoriasis ringan, 90.0% psoriasis sedang, dan 100% psoriasis berat. Terdapat perbedaan interleukin-22 yang signifikan antara kelompok psoriasis ringan, sedang, dan berat, dan antara kelompok HLA-Cw6 positif dan negatif. Kadar zink lebih rendah pada pasien psoriasis dibandingkan dengan kontrol (16.85 ± 3.55 vs 13.74 ± 3.78 $\mu\text{mol/L}$). Pasien psoriasis berat memiliki rerata kadar zink yang paling rendah (14.76 ± 1.40 $\mu\text{mol/L}$, 15.48 ± 4.20 $\mu\text{mol/L}$, 12.72 ± 3.56 $\mu\text{mol/L}$ masing-masing pada kasus ringan, sedang, dan berat). Rerata kadar zink pada pasien HLA-Cw6 positif adalah 13.68 $\mu\text{mol/L}$ dan 14.6 $\mu\text{mol/L}$ pada HLA-Cw6 negatif. Dapat disimpulkan bahwa ekspresi ALEL HLA-Cw6 dan kadar serum zink yang lebih rendah ditemukan pada pasien psoriasis dibandingkan dengan pasien kontrol. Faktor genetik, inflamasi, dan mikronutrisi berkaitan dengan derajat psoriasis.

Kata kunci: genetik, HLA-Cw6, level serum, mikronutrien, psoriasis



ABSTRACT

TIMOTHY YUSUF SANGIAN. *Relationship between HLA Cw-6 Allele Expression and Zinc Level on Interleukin 22 Level in Psoriasis Vulgaris Patients* (supervised by Nurelly Noro Waspodo and Faridha Ilyas)

The psoriasis vulgaris is an immune-mediated inflammatory disease influenced by the genetic and immunologic factors, including the micronutrient deficiencies. HLA-Cw6 gene and zinc level have been separately studied in the psoriasis patients, yielding the inconsistent findings. The descriptive study regarding HLA-Cw6 allele expression, zinc level and their direct correlation in Indonesia is lacking. This prospective case-control study involved 33 psoriasis patients and 33 years old and sex-matched control patients in the dermato-venereology clinic of Hasanuddin University Affiliative Hospital in South Sulawesi in 2021. Cases were classified into the mild, moderate, and severe psoriasis based on the Psoriasis Area and Severity Index (PASI) score. A-5-ml blood was taken in an EDTA tube and was analysed for PCR of the HLA-Cw6 allele and colorimetric assay for zinc level measurement. Statistical analysis was performed to determine the association between the HLA-Cw6 and zinc level and psoriasis disease severity. The research results indicate that from 33 psoriatic patients enrolled in the research, 3 (9.1%) of the cases are classified as the mild psoriasis, 10 (30.3%) are classified as the moderate psoriasis, and 20 (60.6%) patients are classified as severe psoriasis. The HLA-Cw6 allele was detected in 93.9% of the psoriasis cases and in 3% of control patients ($p < 0.001$). The HLA-Cw6 allele is detected consecutively in 66.7%, 90.0%, and 100% of the mild, moderate, and severe psoriasis patients. There are significant differences of the interleukin 22 levels among the mild, moderate, severe the psoriasis patients and between the positive and negative HLA-Cw6 groups. The zinc level is lower in the psoriasis patients compared with the controls (16.85 ± 3.55 vs 13.74 ± 3.78 $\mu\text{mol/L}$). Severe psoriasis patients have the lowest average zinc level (14.76 ± 1.40 $\mu\text{mol/L}$, $15.484.20$ $\mu\text{mol/L}$, 12.72 ± 3.56 $\mu\text{mol/L}$ in the mild, moderate, and severe patients consecutively). The average zinc level in HLA-Cw6 positive patients is 13.68 $\mu\text{mol/L}$ and 14.6 $\mu\text{mol/L}$ in HLA-Cw6 negative patients ($p = 0.495$). It can be concluded that the research reveals the presence of HLA-Cw6 allele expression and decreases the serum zinc level in the psoriasis patients compared with the control group. Both factors demonstrate the association with the psoriasis disease severity.

Key words: genetic, HLA-Cw6, micronutrient, psoriasis, serum level



DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	i
DAFTAR SINGKATAN	ii
BAB I.....	5
PENDAHULUAN	5
1.1 Latar Belakang Masalah.....	5
1.2 Pertanyaan Penelitian	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.3.1 Tujuan Umum	9
1.3.2 Tujuan Khusus	9
1.4 Hipotesis Penelitian.....	9
1.5 Manfaat Penelitian	10
BAB II	11
TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Psoriasis Vulgaris.....	11
2.1.1 Definisi	11
2.1.2 Epidemiologi.....	11
2.1.3 Etiologi dan Faktor Risiko.....	13
2.1.4 Patogenesis	19
2.1.5 Manifestasi Klinis dan Klasifikasi.....	24
2.1.6 Diagnosis	31
Human Leukocyte Antigen Cw-6	35
1 HLA Cw-6 dan Metode Deteksi Alel HLA Cw-6	35



2.2.2	HLA Cw-6 pada Psoriasis Vulgaris.....	36
2.3	Interleukin-22.....	39
2.3.1	IL-22 dan ELISA IL-22.....	39
2.3.1	Peran IL-22 dalam Psoriasis Vulgaris.....	43
2.4	Zink.....	44
2.4.1	Fisiologi Zn dan Pemeriksaannya.....	44
2.4.2	Peran Zn dalam Psoriasis Vulgaris.....	47
2.5	Hubungan HLA Cw-6, IL-22, dan Zn.....	49
2.6	Kerangka Teori.....	50
2.7	Kerangka Konsep.....	50
BAB III.....		51
METODE PENELITIAN.....		51
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	51
3.2	Rancangan Penelitian.....	51
3.3	Populasi Penelitian.....	51
3.4	Sampel Penelitian.....	52
3.4.1	Jumlah Sampel.....	52
3.4.2	Kriteria Sampel.....	53
3.5	Alat dan Bahan.....	53
3.6	Cara Kerja.....	56
3.7	Identifikasi Variabel.....	63
3.8	Definisi Operasional.....	64
3.9	Analisis Data.....	65
	Izin Penelitian dan Kelayakan Etik.....	66
	68



HASIL PENELITIAN	68
4.1 Gambaran Umum Sampel	68
4.2 Hubungan antara Ekspresi Gen HLA Cw-6 dan Psoriasis Vulgaris	70
4.3 Analisis Hubungan Kadar IL-22 dengan Derajat Psoriasis Vulgaris	71
4.4 Analisis Hubungan HLA-Cw6 dengan Kadar IL-22	73
4.5 Analisis Hubungan Kadar Zinc dengan Derajat Psoriasis Vulgaris	74
4.6 Analisis Hubungan antara HLA-Cw6 dengan Kadar IL-22 dan Zinc	76
BAB V	77
PEMBAHASAN	77
BAB VI	85
KESIMPULAN DAN SARAN	85
6.1 Kesimpulan	85
6.2 Saran	85
DAFTAR PUSTAKA	86
LAMPIRAN	96



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema keterlibatan faktor genetik, lingkungan, dan imunologi dalam patogenesis psoriasis(Gudjonsson & Elder, 2019)	20
Gambar 2.2 Peran HLA Cw-6 pada patogenesis psoriasis(Gudjonsson & Elder, 2019).....	23
Gambar 2.3 Gambaran klinis lesi psoriasis vulgaris(Gudjonsson & Elder, 2019)	25
Gambar 2.4 Halo atau cincin Woronoff (clear peripheral zones di sekitar plak psoriasis)(Burden & Kirby, 2016)	26
Gambar 2.5 Tanda Auspitz pada psoriasis vulgaris. A) lesi awal. B) tampak titik perdarahan setelah skuama pada gambar A diangkat(Gudjonsson & Elder, 2019)	26
Gambar 2.6 Fenomena Koebner akibat pemakaian jam tangan(Burden & Kirby, 2016).....	27
Gambar 2.7 <i>Geographic tongue</i> pada pasien psoriasis(Burden & Kirby, 2016)...	28
Gambar 2.8 Perubahan kuku pada pasien psoriasis. A) Onikolisis distal dan <i>oil drop spotting</i> , B) <i>nail pitting</i> , C) <i>subungual hyperkeratosis</i> , D) <i>onychodystrophy</i> (Gudjonsson & Elder, 2019).....	29
Gambar 2.9 Penghitungan skor PASI(Burden & Kirby, 2016).....	31
Gambar 2.10 Gambaran histopatologi psoriasis(Gudjonsson & Elder, 2019)	33
Gambar 2.11 Bagan alur diagnosis dan tata laksana psoriasis(Widaty et al., 2017)	34
2.12 Urutan basa nukleotida HLA Cw-6(KS et al., 2019).....	35
2.13 Hasil desain primer alel HLA Cw-6(KS et al., 2019).....	36



Gambar 2.14 Distribusi alel HLA pada beberapa populasi etnis(Shankarkumar, 2012).....	39
Gambar 2.15 Regulator produksi IL-22(Dudakov et al., 2015).....	40
Gambar 2.16 Prinsip pemeriksaan sandwich ELISA.....	43
Gambar 2.17 Kerangka teori penelitian.....	50
Gambar 2.18 Kerangka konsep penelitian.....	50
Gambar 3.1 Alur penelitian	63
Gambar 4.1 <i>Multiple comparisons</i> IL-22	71
Gambar 4.2 <i>Multiple comparisons</i> zinc	73



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Variabel dan definisi operasional variabel	64
Tabel 4.1 <i>Mean</i> umur menurut derajat PV: diuji menggunakan <i>Anova test</i>	67
Tabel 4.2 Sebaran suku menurut derajat PV.....	69
Tabel 4.3 Sebaran jenis kelamin menurut derajat PV: diuji menggunakan <i>Chi-square test</i>	69
Tabel 4.4 <i>Mean</i> IMT menurut derajat PV: diuji menggunakan <i>Anova test</i>	70
Tabel 4.5 Sebaran komorbid menurut derajat PV.....	70
Tabel 4.6 Sebaran alel HLA Cw-6 menurut derajat PV	71
Tabel 4.7 Perbandingan IL-22 menurut kelompok sampel: diuji menggunakan <i>Kruskal-Wallis test</i>	72
Tabel 4.8 <i>Multiple comparisons</i> IL-22	72
Tabel 4.9 Perbandingan IL-22 dan zinc menurut alel HLA Cw-6: diuji menggunakan <i>Mann-Whitney test</i>	73
Tabel 4.10 Perbandingan zinc menurut kelompok sampel: diuji menggunakan <i>Kruskal-Wallis test</i>	75
Tabel 4.11 <i>Multiple comparisons</i> zinc.....	75
Tabel 4.12 Korelasi zinc dengan IL-22: diuji menggunakan <i>Spearman's Correlation test</i>	76



DAFTAR SINGKATAN

AAS	<i>atomic absorption spectrophotometry</i>
ACE	<i>angiotensin-converting enzyme</i>
Ab	antibodi
Ag	antigen
AhR	<i>aryl hydrocarbon receptor</i>
AREG	<i>amphiregulin</i>
BSA	<i>body surface area</i>
Ca	kalsium
CI	<i>confidence interval</i>
CTCL	<i>cutaneous T-cell lymphoma</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	<i>ethylene diamine tetra-acetic acid</i>
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FGF	<i>fibroblast growth factor</i>
GRP	<i>G-protein-coupled receptor</i>
GSK	<i>glycogen synthase kinase</i>
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
HLA	<i>human leukocyte antigen</i>
ICOS	<i>inducible costimulator</i>
	<i>integrated DNA technologies</i>
	interferon



IL	interleukin
IL-22BP	interleukin-22 <i>binding protein</i>
IL-22R	interleukin-22 <i>receptor</i>
ILC	<i>innate lymphoid cells</i>
IL-TIF	<i>related T cell-derived inducible factor</i>
IMT	indeks massa tubuh
iNOs	<i>inducible nitric oxide</i>
KIRS	<i>killer Ig-like receptors</i>
KRT	keratin
MHC	<i>major histopatibility complex</i>
MMP	<i>matrix metalloproteinase</i>
MTs	<i>metallothioneins</i>
MTX	<i>methotrexate</i>
nAChRs	<i>nicotinic acetylcholine receptors</i>
NGF	<i>nerve growth factor</i>
NK	<i>natural killer</i>
NO	<i>nitric oxide</i>
NSAIDs	<i>non-steroidal anti-inflammatory drug</i>
OR	<i>odds ratio</i>
PASI	<i>psoriasis area severity index</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
	<i>polymorphic light eruption</i>
	panduan praktik klinis



PsA	<i>psoriatic arthritis</i>
RBC	<i>red blood cells</i>
RR	<i>relative risk</i>
RSUP	Rumah Sakit Umum Pusat
Tc	<i>sel T cytotoxic</i>
TCR	<i>T-cell receptor</i>
Th	<i>sel T helper</i>
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
UV	ultraviolet
ZIP	<i>Zrt-/Irt-like proteins</i>
Zn	zink
ZnT	<i>zinc transporters</i>



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Psoriasis merupakan penyakit kulit autoimun kronik residif yang berkaitan dengan proses inflamasi pada kulit serta hiperplasia epidermis. Psoriasis dibagi menjadi beberapa tipe berdasarkan morfologi penyakit kulitnya. Psoriasis vulgaris merupakan tipe psoriasis yang paling banyak ditemui (90%).(Gudjonsson & Elder, 2019) Penyakit ini terjadi secara universal dan prevalensinya bervariasi antar wilayah.(Burden & Kirby, 2016; Gudjonsson & Elder, 2019) Mulai dari 0,91% di Amerika Serikat sampai 8,5% di Norwegia.(Gudjonsson & Elder, 2019) Di Indonesia, kasus psoriasis vulgaris berdasarkan data Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Prof. Dr. RD Kandou Manado periode Januari 2013 – Desember 2015 ditemukan sebesar 5,26% dari seluruh total kasus baru.(Boham, Suling, & Pandaleke, 2016) Psoriasis dapat terjadi di semua usia, seringkali pada usia 15-30 tahun. Prevalensi antara laki-laki dan perempuan sama.(Gudjonsson & Elder, 2019)

Etiologi psoriasis belum diketahui secara pasti, tetapi penyakit ini diduga diakibatkan oleh berbagai faktor, mulai dari faktor lingkungan, genetik, dan imunologik. Faktor lingkungan yang diketahui berperan penting adalah infeksi, obat-obatan, penyalahgunaan alkohol, merokok, diet, *overweight* dan *physical inactivity*, stress psikis, paparan sinar matahari, serta trauma fisik.(Burden & Kirby,

Idi, 2013)



Faktor genetik diketahui berkaitan dengan gen *major histocompatibility complex* (MHC). MHC *signaling* diketahui berperan sebanyak 40% pada penderita psoriasis hereditas. *Signaling* genetik utama untuk psoriasis pada MHC adalah HLA-C*0602 yang mengkode protein HLA-Cw6. HLA-Cw6 mempresentasikan antigen ke sel T CD8+. Sel T CD8+ yang teraktivasi mengeluarkan perforin yang dapat merusak keratinosit secara langsung serta sel T dapat menstimulus pengeluaran *local soluble factors* yaitu sitokin, kemokin, eikasinoid, dan mediator *innate immunity*. Semua faktor tersebut meningkatkan inflamasi lokal dan menstimulus proliferasi keratinosit.(Gudjonsson & Elder, 2019)

Terkait faktor imunologis, sel T memiliki peran penting dalam patogenesis psoriasis. Sel T CD8+ lebih banyak ditemukan di epidermis, sedangkan sel T CD4+ lebih banyak ditemukan di dermis bagian atas. Profil sitokin pada lesi psoriatik didapatkan kaya akan interferon (IFN)- γ yang diproduksi oleh sel Tc1 serta interleukin (IL)-17 dan 22 yang diproduksi oleh sel T helper (Th)-17. IL-17 diketahui berperan dalam menginduksi terjadinya plak psoriasis.(Gudjonsson & Elder, 2019) IL-22 berperan dalam morfologi epidermis, menghasilkan penampakan *acanthosis*, parakeratosis, serta hipogranularitas yang sesuai dengan morfologi kulit pasien psoriasis vulgaris.(Dudakov, Hanash, & van den Brink, 2015; Nograles, Davidovici, & Krueger, 2010) Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mutasi genetik pada gen yang berkaitan dengan IL-22 berkaitan dengan psoriasis.(Johnston & Gudjonsson, 2014; Nikamo et al., 2014; Prans et al., 2013;

al., 2013) Penelitian Boniface dkk menunjukkan bahwa terdapat resi IL-22 pada pasien psoriasis.(Nograles et al., 2010)



Manifestasi klinis psoriasis vulgaris berupa lesi khas yakni lesi plak kemerahan timbul berbatas tegas disertai skuama pada permukaannya.(Gudjonsson & Elder, 2019) Lesi ini menunjukkan terjadinya hiperproliferasi keratinosit pada psoriasis vulgaris. Proliferasi keratinosit membutuhkan beberapa elemen, salah satunya adalah zinc (Zn). Zn merupakan *trace element* kedua terbanyak pada tubuh setelah besi serta berperan dalam berbagai macam aktivitas biologis, seperti pertumbuhan, perkembangan, dan diferensiasi sel serta proses katalis dan struktural protein seperti enzim, sitokin, reseptor, faktor pertumbuhan, dan faktor transkripsi. Kulit merupakan organ ketiga terbanyak yang mengandung Zn, sehingga beberapa kelainan kulit diduga berhubungan dengan kadar Zn, termasuk psoriasis vulgaris.(Kogan, Sood, & Garnick, 2017; Ogawa, Kawamura, & Shimada, 2016; Ogawa, Kinoshita, Shimada, & Kawamura, 2018b) Studi meta analisis mendapatkan bahwa kandungan Zn pada lesi psoriasis lebih tinggi dibandingkan kontrol, sedangkan kadar Zn pada serum ditemukan lebih rendah.(Lei et al., 2019) Tingginya kadar Zn pada lesi diduga berkaitan dengan peran Zn sebagai komponen lebih dari 1000 enzim sehingga berperan dalam metabolisme molekul-molekul yang terlibat dalam patogenesis psoriasis, Zn merupakan mediator penting dalam sistem pertahanan *innate*, serta Zn dibutuhkan dalam proses sintesis dan replikasi keratinosit yang masif pada psoriasis vulgaris.(W. Chen, Zhou, & Zhu, 2019) Sementara rendahnya kadar Zn pada serum, selain berkaitan dengan tingginya kebutuhan Zn pada lesi, diduga berhubungan juga



sifat penyakit psoriasis yang kronik residif. Semakin panjang durasi maka kebutuhan terhadap Zn akan semakin bertambah. Akibatnya, kadar

serum Zn lama-kelamaan akan semakin rendah seiring bertambahnya durasi penyakit.(Lei et al., 2019)

Penelitian yang membahas mengenai hubungan antara faktor genetik, imunologis, serta status mineral pada pasien psoriasis vulgaris belum ada. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara alel HLA-Cw6 serta kadar Zn dengan kadar IL-22 pada pasien psoriasis vulgaris.

1.2 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah di atas, maka pertanyaan penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi HLA-Cw-6 dengan kejadian psoriasis vulgaris?
2. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi HLA CW-6 dengan kadar interleukin 22 pada pasien psoriasis vulgaris?
3. Apakah terdapat hubungan antara kadar zink dengan kadar interleukin 22 pada pasien psoriasis vulgaris?
4. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi alel HLA CW-6 dan kadar zink dengan derajat psoriasis vulgaris?
5. Apakah terdapat hubungan antara kadar interleukin 22 dengan derajat psoriasis vulgaris?



1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi alel HLA-Cw-6 dan kadar zink terhadap kadar interleukin-22 pada pasien psoriasis vulgaris.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menilai hubungan antara ekspresi HLA-Cw6 dengan kejadian psoriasis vulgaris.
2. Menilai hubungan antara ekspresi HLA CW-6 dengan kadar interleukin 22 pada pasien psoriasis vulgaris.
3. Menilai hubungan antara kadar zink dengan kadar interleukin 22 pada pasien psoriasis vulgaris.
4. Menilai hubungan antara ekspresi alel HLA CW-6 dan kadar zink dengan derajat psoriasis vulgaris.
5. Menilai hubungan antara kadar interleukin 22 dengan derajat psoriasis vulgaris.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Terdapat hubungan antara ekspresi alel HLA Cw-6 dengan kejadian dan derajat severitas psoriasis vulgaris.



apat hubungan antara kadar zink dengan derajat psoriasis vulgaris.

- Terdapat hubungan antara kadar interleukin 22 dengan derajat psoriasis vulgaris.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Meningkatkan pemahaman patomekanisme psoriasis vulgaris yang berkaitan dengan HLA Cw-6 dan IL-22.
2. Memahami hubungan HLA Cw-6 dan Zn terhadap kadar IL-22 pada pasien psoriasis vulgaris.
3. Sebagai dasar dan referensi untuk penelitian selanjutnya terkait psoriasis vulgaris.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Psoriasis Vulgaris

2.1.1 Definisi

Psoriasis merupakan penyakit kulit autoimun kronik residif yang berkaitan dengan proses inflamasi pada kulit serta hiperplasia epidermis.(Gudjonsson & Elder, 2019) Penyakit ini seringkali berhubungan dengan manifestasi sistemik di banyak organ, seperti pada persendian dan sistem kardiovaskular.(Burden & Kirby, 2016) Secara keseluruhan penyakit ini dapat menjadi beban kesehatan dan ekonomi yang dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien.(Gudjonsson & Elder, 2019; Kerkhof & Nestlé, 2018) Psoriasis merupakan penyakit yang heterogen baik dalam hal morfologi, area yang terkena, perjalanan penyakit, onset usia, durasi, dan faktor presipitasinya.(Burden & Kirby, 2016) Psoriasis dibagi menjadi beberapa tipe berdasarkan morfologi penyakit kulitnya. Psoriasis vulgaris merupakan tipe psoriasis yang paling banyak ditemui (90%).(Gudjonsson & Elder, 2019) Karakteristik khas lesinya yakni berupa plak kemerahan menimbul berbatas tegas disertai skuama dengan predileksi di area ekstensor dan *scalp*.(Burden & Kirby, 2016)

2.1.2 Epidemiologi

Penyakit ini terjadi secara universal, diperkirakan 2-3% populasi di Eropa erika Serikat mengalaminya.(Burden & Kirby, 2016) Prevalensinya i antar wilayah, mulai dari 0,91% di Amerika Serikat sampai 8,5% di



Norwegia.(Gudjonsson & Elder, 2019) Insidensi tahunan psoriasis vulgaris pada orang dewasa dilaporkan sebesar 0,08% sampai 0,23%.(Burden & Kirby, 2016) Psoriasis vulgaris lebih banyak terjadi di negara yang jauh dari ekuator dan orang kulit putih.(Burden & Kirby, 2016) Di Indonesia, kasus psoriasis vulgaris berdasarkan data RSUP Prof. Dr. RD Kandou di Manado periode Januari 2013 sampai dengan Desember 2015 ditemukan sebanyak 188 kasus baru dari total 3573 kasus baru terkait penyakit kulit (5,26%).(Boham et al., 2016) Penelitian terkait psoriasis vulgaris di RSUP dr. Soetomo selama 3 tahun berturut-turut mendapatkan prevalensi psoriasis yakni pada tahun 2016 sebesar 26,87%, tahun 2017 sebesar 37,31%, dan tahun 2018 sebesar 35,82%.(Hanani, Ervianti, & Rahniayu, 2020) Penelitian di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2014-2018 mendapatkan insidensi psoriasis vulgaris pada periode tersebut cenderung mengalami peningkatan dengan masing-masing insidensi sebesar 0,94%, 0,62%, 2,1%, 2,07%, dan 2,69%.(Shafiyah, Diba, & Ikhsan, 2019)

Psoriasis dapat terjadi di semua usia, tetapi seringkali antara usia 15-30 tahun.(Gudjonsson & Elder, 2019) Terdapat dua puncak usia insidensi psoriasis vulgaris, yang pertama antara usia 16-22 tahun dan yang kedua antara usia 57-62 tahun. Pada 35% pasien, onset penyakit terjadi sebelum usia 20 tahun, sedangkan 58% sebelum usia 30 tahun.(Burden & Kirby, 2016) Hal ini berkaitan dengan psoriasis tipe I dan II oleh Henseler dan Christopher, yakni psoriasis tipe I dengan onset usia sebelum 40 tahun dan bersifat herediter, berhubungan dengan HLA,

n psoriasis tipe II dengan onset usia setelah 40 tahun dan bersifat sporadik, hubungan dengan HLA.(Burden & Kirby, 2016; Gudjonsson & Elder,



2019) Onset usia terjadinya psoriasis lebih dini pada wanita dibandingkan pria, tetapi prevalensinya pada orang dewasa sama antara pria dan wanita.(Burden & Kirby, 2016; Kerkhof & Nestlé, 2018)

2.1.3 Etiologi dan Faktor Risiko

Penyebab psoriasis belum diketahui secara pasti. Namun, penyakit ini diketahui merupakan akibat dari beberapa faktor, yakni faktor genetik, lingkungan, dan imunologis.(Gudjonsson & Elder, 2019)

Adanya pengaruh faktor genetik awalnya diketahui dari penelitian terkait psoriasis dengan jumlah sampel yang besar. Penelitian tersebut melaporkan bahwa insidensi psoriasis lebih tinggi pada orang dengan riwayat keluarga psoriasis dibandingkan yang tidak.(Gupta, Debbaneh, & Liao, 2014; Vasili et al., 2012) Penelitian besar berbasis survei yang dilakukan di Jerman memaparkan bahwa risiko seorang anak terkena psoriasis apabila kedua orang tuanya memiliki riwayat psoriasis sebesar 41%. Bila hanya satu orang tua yang terkena psoriasis, maka risikonya sebesar 14%, sedangkan bila hanya saudara kandungnya yang menderita psoriasis, maka risikonya sebesar 6%.(Kerkhof & Nestlé, 2018) Sebanyak sepertiga pasien psoriasis diperkirakan memiliki kerabat dekat tingkat pertama mengalami psoriasis.(Gupta et al., 2014)

Keterlibatan faktor genetik pada psoriasis juga ditunjang dari hasil penelitian pada kembar monozigotik dan dizigotik. Sebagian besar penelitian ini melaporkan angka kesesuaian yang tinggi yakni 35-72% pada kembar monozigotik

3% pada kembar dizigotik. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa monozigotik dengan psoriasis memiliki kesamaan terkait usia onset,



distribusi lesi, keparahan, dan perjalanan penyakit. Namun, tidak ada yang melaporkan hasil tersebut sampai 100%. Hal tersebut mengindikasikan bahwa terdapat faktor lingkungan yang juga berperan dalam terjadinya psoriasis.(Gupta et al., 2014)

Faktor lingkungan yang diketahui berperan dalam terjadinya psoriasis diantaranya adalah infeksi, obat-obatan, penyalahgunaan alkohol, merokok, diet, *overweight* dan *physical inactivity*, stress psikis, paparan sinar matahari, serta trauma fisik.(Burden & Kirby, 2016; Naldi, 2013)

a. Infeksi

Hubungan psoriasis dan infeksi (tonsilitis) pertama dikenali sejak 100 tahun yang lalu. Saat ini telah diketahui secara pasti bahwa psoriasis dapat dipicu oleh infeksi streptokokus, terutama psoriasis gutata juga psoriasis vulgaris.(Burden & Kirby, 2016) Lesi kulit tampak dalam 2 minggu setelah onset infeksi dan bertahan selama beberapa minggu, seringkali berkembang menjadi psoriasis vulgaris kronis.(Enamandram & Kimball, 2013) Pada tonsil terjadi ekspansi oligoklonal sel T sebagai respon dari kolonisasi streptokokus, sel T yang sama juga ditemukan pada darah perifer serta kulit pasien psoriasis gutata. Hal tersebut yang mendasari dugaan bahwa psoriasis merupakan penyakit autoimun yang dapat dipicu oleh infeksi streptokokus.(Burden & Kirby, 2016) Infeksi streptokokus juga dapat memperburuk kondisi klinis pasien psoriasis. Mekanisme eksaserbasi tersebut diduga karena adanya reaktivitas silang protein M yang merupakan antigen

an streptokokus dengan keratinosit serta dipengaruhi oleh abnormalitas imun bawaan pasien.(Lee, Wu, Lee, Bhutani, & Wu, 2018) Tonsilektomi



diketahui efektif pada beberapa pasien dalam memperbaiki kondisi klinis psoriasisnya.(Kerkhof & Nestlé, 2018)

Infeksi *human immunodeficiency virus* (HIV) juga diketahui berhubungan dengan psoriasis.(Burden & Kirby, 2016) Prevalensi psoriasis pada pasien HIV tidak lebih tinggi dibandingkan populasi umum.(Gudjonsson & Elder, 2019; Lee et al., 2018) Hal tersebut mengindikasikan bahwa infeksi HIV tidak memicu psoriasis, tetapi merupakan *modifying agent*.(Gudjonsson & Elder, 2019) Infeksi HIV menyebabkan onset baru psoriasis atau eksaserbasi pada pasien yang telah mengalami psoriasis, keparahan penyakit seringkali berhubungan dengan perburukan fungsi imun pasien. Subtipe klinis psoriasis yang seringkali terjadi pada pasien infeksi HIV adalah psoriasis gutata, inversa, dan eritroderma, tetapi mungkin juga subtipe lain. Literatur terbaru menduga bahwa ekspansi sel T memori CD8+ merupakan mekanisme utama terjadinya eksaserbasi pada pasien psoriasis dengan infeksi HIV.(Lee et al., 2018)

Infeksi bakteri lain yang menjadi faktor pemicu atau yang memperparah psoriasis adalah infeksi *Staphylococcus aureus* dan *Helicobacter pylori*. Infeksi jamur juga diketahui berhubungan dengan psoriasis, yakni *Malassezia* dan *Candida*. Infeksi virus juga diketahui berhubungan, yakni papillomavirus dan retrovirus.(Lee et al., 2018)

b. Obat-obatan

Obat-obatan yang diketahui dapat mencetuskan atau memperburuk klinis adalah litium, antimalaria sintetis, inhibitor interferon- γ dan *tumor factor* (TNF)- α . Obat *beta-blocker*, *non-steroidal anti-inflammatory drugs*



(NSAIDs), dan inhibitor *angiotensin-converting enzyme* (ACE) diketahui berhubungan dengan psoriasis pada serial kasus, tetapi tidak pada penelitian yang melibatkan populasi lebih banyak. Salah satu terapi psoriasis adalah kortikosteroid, *withdrawal* kortikosteroid dapat menyebabkan efek *rebound* dan perkembangan penyakit menjadi *unstable psoriasis*.(Burden & Kirby, 2016)

Psoriasis merupakan efek samping pada kulit yang paling banyak ditemukan pada penggunaan litium. Beberapa literatur menduga bahwa litium memicu psoriasis akibat pengaruhnya pada kanal kalsium intrasel melalui reduksi inositol yang kemudian mempengaruhi proliferasi dan diferensiasi keratinosit. Litium juga menghambat *glycogen synthase kinase-3* (GSK-3) sehingga menginduksi proliferasi keratinosit. Namun, litium tidak bisa menjadi satu-satunya faktor pemicu, predisposisi genetik tetap diperlukan.(Lee et al., 2018)

Inhibitor TNF- α seperti adalimumab, etanercept, certolizumab pegol, golimumab, dan infliximab digunakan pada beberapa penyakit inflamasi, termasuk psoriasis. Terdapat lebih dari 200 laporan kasus yang mencurigai inhibitor TNF- α merupakan induktor atau eksasebator psoriasis. Mekanismenya masih belum jelas, tetapi diduga berkaitan dengan axis IL-23/Th17 dan disregulasi IFN- α pada supresi TNF.(Lee et al., 2018)

c. Penyalahgunaan alkohol

Konsumsi alkohol berlebih diketahui berhubungan dengan psoriasis sedang-berat. Psoriasis tampak lebih banyak (15%) pada pasien dengan *alcoholic* dan pasien dalam perawatan ketergantungan alkohol. Penyalahgunaan berhubungan dengan lesi kulit yang lebih berat, peningkatan depresi dan



kecemasan, serta berkontribusi dalam meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular. Terdapat hubungan yang erat terkait penyalahgunaan alkohol dengan merokok.(Burden & Kirby, 2016)

d. Merokok

Kebiasaan merokok >20 batang perhari meningkatkan risiko lebih dari dua kali mengalami psoriasis berat.(Gudjonsson & Elder, 2019) Kebiasaan merokok didapatkan lebih tinggi pada pasien psoriasis terutama wanita dibandingkan populasi normal. Pasien yang merokok memiliki peningkatan risiko menderita psoriasis, memiliki klinis penyakit yang lebih berat, dan dapat berkembang menjadi *psoriatic arthritis*.(Burden & Kirby, 2016) Tiga studi kohort besar di Amerika Serikat mendapatkan bahwa terdapat tren peningkatan risiko psoriasis dengan peningkatan jumlah konsumsi rokok atau durasi merokok. Sebaliknya, risiko menurun dengan pertambahan waktu sejak berhenti merokok. Salah satu bahan aktif di rokok adalah nikotin. Nikotin mengaktivasi beberapa sub tipe *nicotinic acetylcholine receptors* (nAChRs) yang terdapat pada sistem saraf dan medulla adrenal tetapi juga pada jaringan nonsaraf seperti keratinosit. NACHRs memfasilitasi komunikasi antar sel, adesi keratinosit, dan migrasi epidermis. Komponen lain dari rokok seperti *acrolein*, *benzo(a)pyrene*, atau *hydroquinone* juga menghasilkan efek proinflamasi dan efek ke vaskular.(Lee et al., 2018)

e. Diet, *overweight* dan *physical inactivity*

Peningkatan indeks massa tubuh (IMT) dan lingkaran pinggang diketahui sebagai salah satu faktor risiko psoriasis. Hal ini telah dibuktikan dari studi kontrol maupun kohort. Penelitian kohort yang besar mendapatkan bahwa



risiko psoriasis hampir dua kali lipat pada orang dengan IMT ≥ 35 dibandingkan orang dengan IMT 21-22,9.(Naldi, 2013)

f. Stress psikis

Sekitar 80% pasien psoriasis melaporkan bahwa stress psikis dapat memicu kekambuhan penyakit. Psoriasis sedang-berat berhubungan dengan peningkatan level depresi dan kecemasan dibandingkan populasi normal.(Burden & Kirby, 2016) Depresi didapatkan juga meningkatkan risiko insidensi psoriasis (*relative risk* [RR] 1,59; 95% *confidence interval* [CI] 1,21-2,08).(Dominguez, Han, Li, Ascherio, & Qureshi, 2013) Stress psikis menyebabkan respon inflamasi abnormal pada kulit dan inflamasi tersebut dapat menyebabkan abnormalitas fungsi sistem saraf pusat. Diduga terdapat axis *neuroimmunocutaneous* yang memicu sekaligus mempertahankan kondisi inflamasi pada psoriasis. Stress psikis akut dapat mempengaruhi fungsi sel Langerhans dan fungsi *barrier* kulit. Pasien psoriasis dengan komorbid gangguan psikologis didapatkan mengalami penurunan efektivitas terapi.(Burden & Kirby, 2016)

g. Paparan sinar matahari

Sekitar 5-20% pasien psoriasis lesinya dipicu oleh paparan sinar matahari. Beberapa pasien tersebut memiliki riwayat *polymorphic light eruption* (PLE) dengan psoriasis yang nampak sebagai fenomena Koebner dengan lesi PLE.(Burden & Kirby, 2016)

h. Trauma fisik



Psoriasis dapat muncul pada area trauma fisik pada kulit atau lesinya, dikenal dengan fenomena Koebner. Mekanismenya adalah akibat

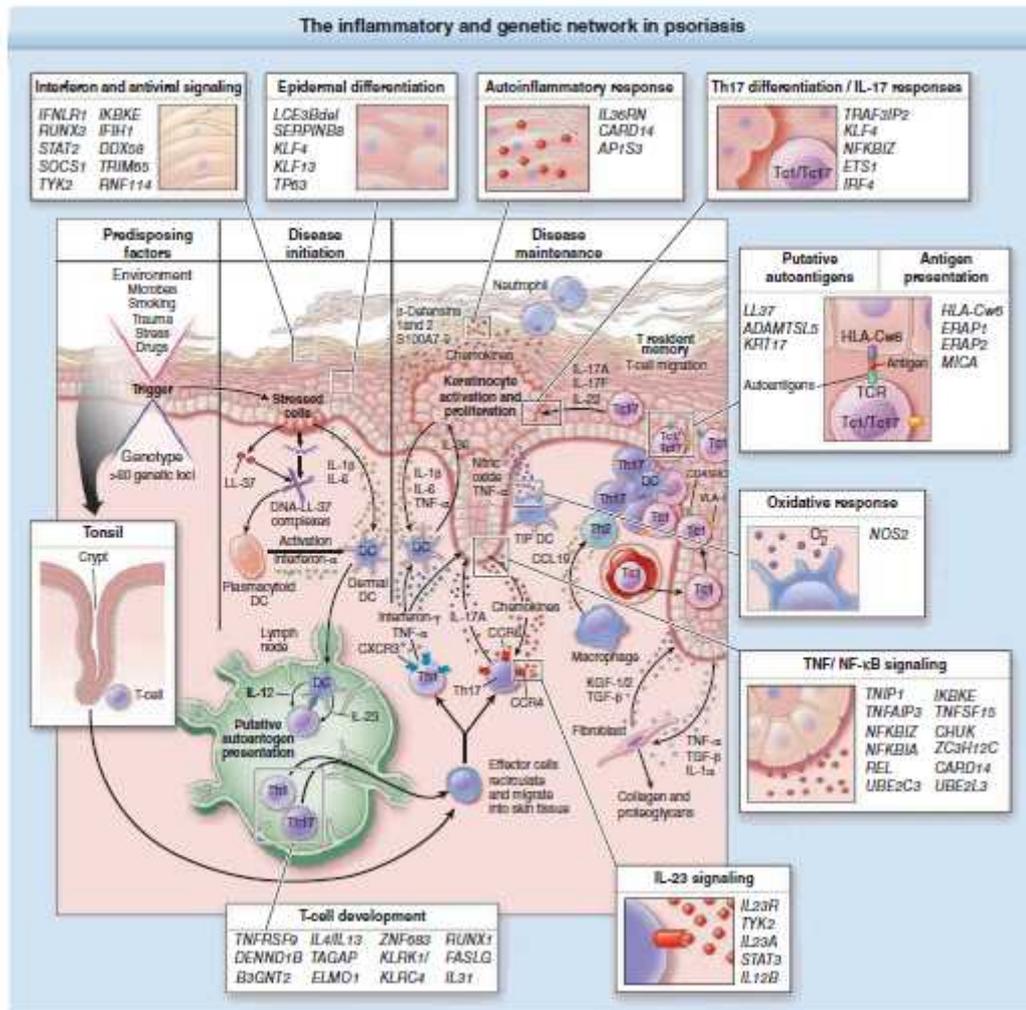
trauma tersebut maka akan ada penyembuhan luka. Trauma akan menginisiasi aktivasi sistem imun *innate* dan adaptif serta hiperproliferasi keratinosit dan angiogenesis. Sekitar 25% pasien psoriasis melaporkan adanya lesi psoriasis baru pada area trauma.(Burden & Kirby, 2016)

2.1.4 Patogenesis

Psoriasis ditandai dengan inflamasi yang berkelanjutan yang menyebabkan proliferasi keratinosit yang tidak terkontrol serta diferensiasi disfungsi. Histologi plak psoriasis menunjukkan gambaran akantosis (hiperplasia epidermis) yang bertumpang tindih dengan infiltrasi sel inflamasi yang terdiri dari sel dendritik dermis, makrofag, sel T, dan neutrofil. Tampak juga adanya neovaskularisasi.(Rendon & Schäkel, 2019)

Gangguan respon imun *innate* maupun adaptif berperan dalam perkembangan dan keberlangsungan inflamasi pada psoriasis.(Harden, Krueger, & Bowcock, 2015) Aktivasi sistem imun *innate* akibat sinyal bahaya endogen dan sitokin terjadi bersamaan dengan autoinflamasi pada beberapa pasien. Temuan klinis utama pada psoriasis tampak pada lapisan terluar kulit yang terdiri dari keratinosit. Perkembangan plak psoriasis tidak terbatas hanya karena inflamasi lapisan epidermis, tetapi juga karena interaksi keratinosit dengan sel lain.(Rendon & Schäkel, 2019)





Gambar 2.1 Skema keterlibatan faktor genetik, lingkungan, dan imunologi dalam patogenesis psoriasis(Gudjonsson & Elder, 2019)

Gambar 2.1 menunjukkan gambaran skematik dari keterkaitan antara faktor genetik, lingkungan, dan imunologis dalam patogenesis psoriasis. Psoriasis dipicu dan dipertahankan oleh interaksi antara faktor internal yaitu kerentanan genetik dan eksternal yaitu faktor lingkungan disertai keterlibatan sistem imun yang juga memegang peranan penting. Faktor genetik berperan dalam proses *signaling*

antivirus, respon epidermis, *signaling* IL-23, respon sel terhadap IL-17 dan alui NF-κB dan *signaling* intraselular lain, respon autoinflamasi, respon



oksidatif, presentasi antigen, dan perkembangan sel T. Faktor eksternal yang berperan diantaranya faktor trauma (fenomena Koebner), infeksi streptokokus, merokok, stress, dan obat-obatan.

Paparan eksternal tersebut dapat melukai keratinosit. Keratinosit yang terluka akan mengeluarkan sinyal bahaya berupa asam nukleat, protein S100, katelisin, β -defensin, produk mikrobiologi seperti lipopolisakarida bakteri, dan sitokin proinflamasi yaitu IL-1, IL-36, dan IL-8. Sinyal bahaya ini dapat mengaktifasi sel dendritik. Sel dendritik yang teraktivasi mensekresikan IL-12 dan IL-23 yang mempengaruhi polarisasi dan diferensiasi sel T1 –Th1 dan T *cytotoxic* (Tc)1 serta sel T17 – Th17 dan Tc17. Sel tersebut selanjutnya bermigrasi ke kulit yang terluka dan mengeluarkan mediator proinflamasi. Sel T1 dan T17 yang teraktivasi mensekresikan mediator proinflamasi diantaranya IFN- γ , TNF- α , IL-22, dan IL-17 yang bekerja secara sinergis dalam mengamplifikasi respon keratinosit.(Gudjonsson & Elder, 2019)

Keratinosit akan teraktivasi dan berproliferasi serta meningkatkan produksi mediator inflamasi yaitu IL-1, IL-36, dan kemokin dalam jumlah besar, diantaranya IL-8 (CXCL8), CXCL9, dan CXCL10. Keratinosit juga terus mengeluarkan sinyal bahaya yang sifatnya kemotaktik. Respon inflamasi yang teramplifikasi ini selanjutnya menyebabkan kemotaksis dan rekrutmen sel inflamasi lain, seperti makrofag, sel dendritik, neutrofil, dan sel T lain yang secara sinergis bekerja untuk mempertahankan proses penyakit. Keratinosit yang terluka

produksi *growth factors* seperti TGF- α , *amphiregulin* (AREG), *fibroblast actor* (FGF), dan *nerve growth factor* (NGF) untuk mempertahankan

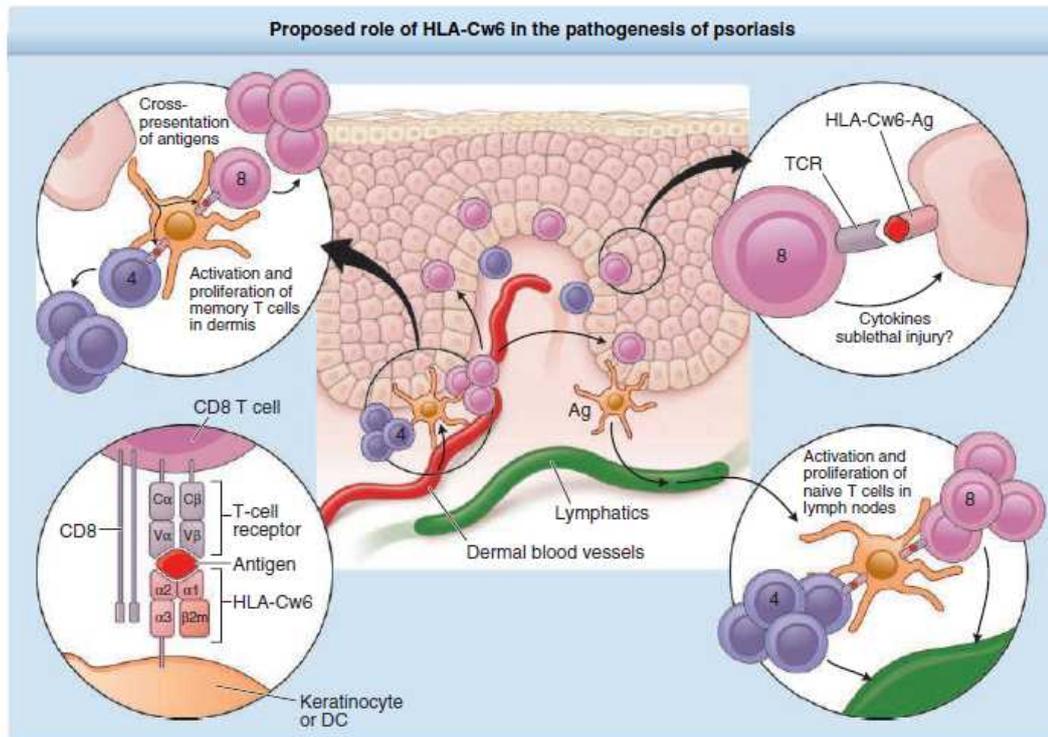


integritas struktural sel. Aspek utama dari proses ini adalah adanya peran antigen spesifik dalam menginisiasi juga mempertahankan psoriasis serta mekanisme dari hiperplasia keratinosit pada psoriasis. Variasi genetik juga mempengaruhi proses ini sebagaimana disebutkan di awal.(Gudjonsson & Elder, 2019)

Major histopatibility complex memegang peranan penting terkait faktor kerentanan genetik psoriasis. Faktor genetik pada MHC terutama adalah HLAC*0602 yang mengkode protein HLA Cw-6. HLA Cw-6 mempresentasikan antigen ke sel T CD8+ yaitu pada MHC kelas I. Peran HLA Cw-6 pada patogenesis psoriasis dapat dilihat pada gambar 2.2.

Antigen (Ag) yang berikatan dengan HLA Cw-6 berinteraksi dengan T-*cell receptor* (TCR). HLA Cw-6 berperan dalam mempresentasikan protein pada permukaan sel dendritik sehingga dapat mengaktivasi dan menyebabkan proliferasi sel T CD8+ *antigen spesifik*. Proses ini bergantung pada sel T CD4+ yang berperan dalam presentasi silang antigen intrasel. Sel T CD8+ yang teraktivasi selanjutnya akan bermigrasi ke epidermis. Sel T ini mengekspresikan perforin sehingga secara langsung dapat merusak keratinosit. Sel T CD8+ yang teraktivasi juga memicu pengeluaran *local soluble factors* yaitu sitokin, kemokin, eukasinoid, dan mediator sistem imun *innate*. Faktor-faktor tersebut selanjutnya akan meningkatkan respon inflamasi lokal dan menstimulasi proliferasi keratinosit.(Gudjonsson & Elder, 2019)





Gambar 2.2 Peran HLA Cw-6 pada patogenesis psoriasis(Gudjonsson & Elder, 2019)

HLA Cw-6 berada di regio kromosom 6p21.33. Regio kromosom ini juga terdiri dari gen HLA C- lain, HLA B-, HLA A-, dan HLA DR-. Keempat kelompok gen ini ditemukan baik pada ras Eropa maupun Cina. HLA B- dan HLA C- berfungsi untuk mempresentasikan antigen ke sel T CD8+. HLA C- juga merupakan ligand untuk *killer Ig-like receptors* (KIRS) pada sel *natural killer* (NK).(Gudjonsson & Elder, 2019) Alel HLA Cw-12 erat kaitannya dengan HLA Cw-6. Keduanya memiliki sekuens yang sama pada domain *alpha-2, peptide binding pockets* A, D, E dan 3 introns.(Onsun et al., 2019)

Proliferasi keratinosit berlebih pada psoriasis menyebabkan konsumsi ang berlebih, seperti zink (Zn). Zn merupakan komponen penting dari RNA polymerase, sehingga Zn dibutuhkan dalam proses regenerasi atau si sel. Psoriasis bersifat kronik residif sehingga semakin lama durasinya



maka semakin banyak Zn yang dibutuhkan. Kedua hal yang terjadi dalam patogenesis psoriasis tersebut menyebabkan kandungan serum Zn ditemukan menurun pada pasien psoriasis. Zn juga merupakan komponen penting untuk pemeliharaan fungsi sel T dan sel imun lain serta berperan dalam diferensiasi, maturasi, aktivasi, dan transduksi sinyal sel T. Serum Zn yang rendah akan menurunkan aktivitas sel T dan sel imun lain sehingga rentan terhadap infeksi virus dan bakteri, yang kemudian dapat memicu kekambuhan psoriasis.(Lei et al., 2019)

2.1.5 Manifestasi Klinis dan Klasifikasi

Keluhan utama pasien psoriasis adalah adanya lesi kulit disertai rasa gatal. Rasa gatal ini dapat mempengaruhi kualitas hidup, yakni terutama mengganggu kualitas tidur pasien.(Burden & Kirby, 2016) Manifestasi klinis psoriasis vulgaris berupa lesi khas yakni lesi plak kemerahan menimbul berbatas tegas disertai skuama pada permukaannya. Gambaran lesi dapat dilihat pada gambar 2.3. Plak psoriasis seringkali dikelilingi oleh *clear peripheral zones* yang disebut halo atau cincin Woronoff sebagaimana gambar 2.4. Ukuran lesi bervariasi mulai dari *pinpoint papules* sampai plak luas yang menutupi beberapa area tubuh. Lapisan kulit di bawah skuama tampak mengkilap kemerahan. Bila skuama diangkat, akan tampak bintik perdarahan akibat trauma kapiler yang berdilatasi (tanda Auspitz) seperti pada gambar 2.5.(Gudjonsson & Elder, 2019)

Distribusi lesi psoriasis vulgaris cenderung simetris, seperti tampak pada gambar 2.3E. Namun, tidak menutup kemungkinan lesi terjadi secara unilateral.

Fenomena Koebner didefinisikan sebagai perkembangan kulit normal lesi psoriasis akibat trauma pada kulit tersebut. Fenomena ini biasanya



terjadi 7-14 hari setelah trauma, dan sekitar 25-75% mengalaminya. Gambaran fenomena Koebner dapat dilihat pada gambar 2.6. Predileksi psoriasis vulgaris adalah pada area ekstensor ekstremitas terutama siku dan lutut, area *scalp*, regio lumbosakral bawah, bokong, dan genitalia sebagaimana pada gambar 2.3. Predileksi lain yaitu pada area sekitar umbilikus, dan lipatan paha.(Gudjonsson & Elder, 2019)

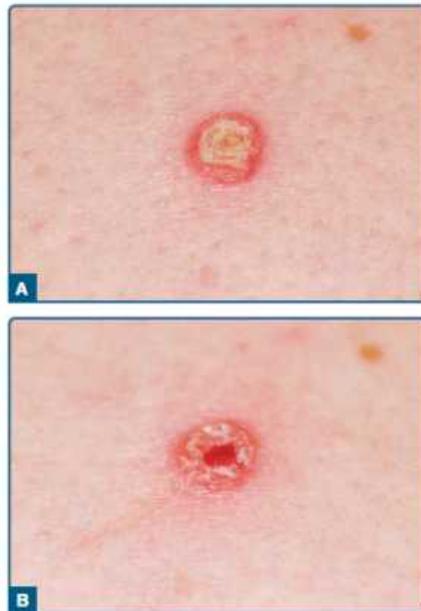


Gambar 2.3 Gambaran klinis lesi psoriasis vulgaris(Gudjonsson & Elder, 2019)





Gambar 2.4 Halo atau cincin Woronoff (*clear peripheral zones* di sekitar plak psoriasis)(Burden & Kirby, 2016)



Gambar 2.5 Tanda Auspitz pada psoriasis vulgaris. A) lesi awal. B) tampak titik perdarahan setelah skuama pada gambar A diangkat(Gudjonsson & Elder, 2019)





Gambar 2.6 Fenomena Koebner akibat pemakaian jam tangan (Burden & Kirby, 2016)

Warna khas lesi psoriasis tampak kemerahan seringkali disebut dengan warna *salmon pink*. Warna khas ini merupakan karakteristik penting untuk mendiagnosis lesi psoriasis terutama di *scalp*, telapak tangan, dan telapak kaki. Pada orang kulit putih, warna merahnya sedikit berkurang tampak seperti warna magenta pink. Pada orang kulit hitam, warna khasnya seringkali tidak terlihat. Plak psoriasis yang telah sembuh seringkali meninggalkan bekas luka berupa hipopigmentasi atau hiperpigmentasi paska inflamasi, atau hanya tampak kemerahan saja.

Psoriasis vulgaris juga dapat menyerang organ lain selain kulit, diantaranya adalah sendi, lidah, dan kuku. Manifestasi psoriasis pada persendian ditemukan pada sekitar 40% pasien, dikenal juga dengan *psoriatic arthritis*. *Geographic tongue* atau *benign migratory glossitis* atau *glossitis area migrans* merupakan penyakit inflamasi idopatik berupa hilangnya *filiform papillae*.



n klinisnya berupa *patch* eritema asimtomatik dengan tepi serpiginosa, dapat berpindah-pindah seperti peta sebagaimana pada gambar 2.7. Lesi ini bersifat *migratory*, dapat

berpindah-pindah di lidah. Gambaran histologinya sama dengan psoriasis yaitu terdapat akantosis, parakeratosis focal, *clubbing of the rete ridges*, dan infiltrasi neutrofil. *Geographic tongue* seringkali ditemukan pada pasien psoriasis, tetapi bisa juga dialami oleh pasien nonpsoriasis.(Gudjonsson & Elder, 2019)



Gambar 2.7 *Geographic tongue* pada pasien psoriasis(Burden & Kirby, 2016)

Perubahan pada kuku ditemukan pada sekitar 40% pasien psoriasis. Keterlibatan kuku berkaitan dengan bertambahnya usia, durasi penyakit, dan adanya *psoriatic arthritis* (PsA).(Gudjonsson & Elder, 2019) Perubahan kuku pada pasien psoriasis dapat dilihat di gambar 2.8.





Gambar 2.8 Perubahan kuku pada pasien psoriasis. A) Onikolisis distal dan *oil drop spotting*, B) *nail pitting*, C) *subungual hyperkeratosis*, D) *onychodystrophy*(Gudjonsson & Elder, 2019)

Perubahan-perubahan yang ditemukan pada kuku diantaranya adalah sebagai berikut:(Gudjonsson & Elder, 2019)

- *Pitting nail* yaitu berupa cekungan pada kuku berukuran 0,5-2 mm.
- *Onychodystrophy* atau deformitas pada *nail plate*, diantaranya berupa *leukonychia*, *crumbling nail*, dan bintik merah pada lunula.
- *Oil spots* atau *salmon patches* yakni berupa diskolorisasi merah kekuningan dan translusen di bawah *nail plate* seringkali meluas ke arah distal akibat hiperplasia, parakeratosis, perubahan mikrovaskular, dan terperangkapnya profil di *nail bed*.



arter hemorrhage, akibat perdarahan kapiler di bawah *suprapapillary plate* tipis pada *psoriatic nail bed*.

- *Subungual hyperkeratosis*, akibat dari hiperkeratosis *nail bed* dan seringkali disertai onikolisis.
- *Anonychia* adalah kehilangan *nail plate* secara total.

Tingkat keparahan penyakit setiap pasien berbeda-beda. Terdapat beberapa alat yang digunakan untuk menentukan klinis pasien psoriasis. Sampai saat ini alat skoring terbaik yang telah tervalidasi adalah *Psoriasis Area Severity Index* (PASI).(Oji & Luger, 2015) Skor PASI terdiri dari tiga komponen yaitu *thickness*, *scaling*, dan *erythema* dari setiap regio (kepala, ekstremitas atas, batang tubuh, dan ekstremitas bawah), masing-masing memiliki skor 0-4. Total dari *thickness*, *scaling*, dan *erythema* pada setiap regio dikalikan dengan area yang terlibat kemudian dikalikan konstanta untuk setiap regio. Kemudian seluruh total skor dijumlahkan, nilainya berkisar antara 0-72.(Burden & Kirby, 2016) Klasifikasi keparahan psoriasis berdasarkan skor PASI dibagi menjadi 3, yakni ringan, sedang, dan berat. Kategori ringan bila total skor PASI < 7, sedangkan sedang bila skor PASI 7-15, dan berat bila skor PASI > 15.(Llamas-Velasco et al., 2017) Penghitungan skor PASI dapat dilihat pada gambar 2.9.



	Thickness 0-4	Scaling 0-4	Erythema 0-4	x Area 0-6	Total
Head	a	b	c	d (a + b + c)	$\times 0.1 = A$
Upper limbs	e	f	g	h (e + f + g)	$\times 0.2 = B$
Trunk	i	j	k	l (i + j + k)	$\times 0.3 = C$
Lower limbs	m	n	o	p (m + n + o)	$\times 0.4 = D$
					PASI = A + B + C + D
Severity	0 = none 1 = mild 2 = moderate 3 = severe 4 = very severe	Area	0 = no involvement 1 = 0 <10% 2 = 10 <30% 3 = 30 <50% 4 = 50 <70% 5 = 70 <90% 6 = 90 <100%	Axillae = upper limb Neck/buttocks = trunk Genito-femoral = lower limb	

Gambar 2.9 Penghitungan skor PASI(Burden & Kirby, 2016)

Klasifikasi keparahan psoriasis vulgaris juga dapat ditentukan berdasarkan total presentase area tubuh / *body surface area* (BSA) yang terkena. Klasifikasi dibagi menjadi 3 yakni ringan, sedang, dan berat. Berdasarkan Panduan Praktik Klinis (PPK) bagi Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin 2017 psoriasis vulgaris ringan yakni bila total BSA < 3%, sedang bila total BSA 3-10%, dan berat bila total BSA > 10%.(Widaty et al., 2017)

2.1.6 Diagnosis

Diagnosis psoriasis vulgaris ditegakkan berdasarkan pemeriksaan klinis, mulai dari anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Pasien seringkali mengeluhkan adanya bercak merah bersisik terutama pada daerah ekstensor dan kulit kepala. Keluhan disertai rasa gatal.(Widaty et al., 2017) Riwayat keluarga dengan psoriasis dapat dijumpai.(Brandon, Mufti, & Sibbald, 2019)



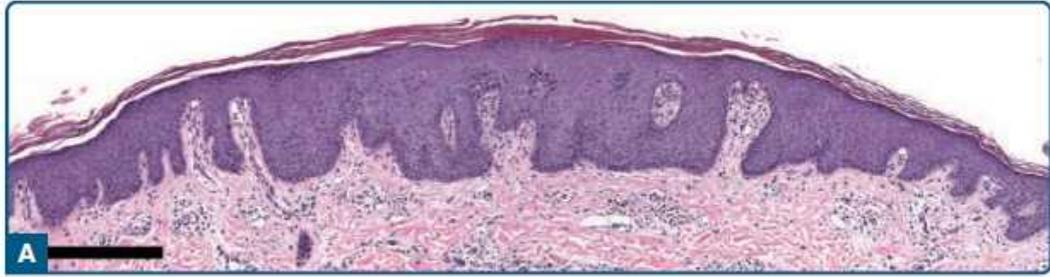
an menyembuhkan sementara kemudian dapat muncul kembali. Dapat npai keluhan berupa nyeri sendi, *patch* merah menyerupai peta pada lidah, ubahan pada kuku.(Widaty et al., 2017) Faktor-faktor yang dapat

mencetuskan atau memperburuk penyakit juga harus ditanyakan, seperti infeksi, obat-obatan, stress, merokok, trauma fisik, dan paparan sinar matahari.(Burden & Kirby, 2016; Widaty et al., 2017)

Pemeriksaan fisik yang harus dilakukan meliputi pemeriksaan terhadap lesi pada kulit serta kemungkinan manifestasi ekstrakutan. Lesi khas psoriasis vulgaris berupa plak eritematosa berbatas tegas dengan skuama berwarna keperakan dengan predileksi di ekstensor ekstremitas terutama siku dan lutut, area *scalp*, regio lumbosakral bawah, bokong, dan genitalia. Lesi seringkali ditemukan secara simetris.(Gudjonsson & Elder, 2019; Widaty et al., 2017) Diagnosis juga dapat didukung dengan ditemukannya tanda Auspitz atau fenomena Koebner. Apabila diagnosis secara klinis masih meragukan, maka dapat dilakukan pemeriksaan biopsi kulit atau kuku.(Brandon et al., 2019; Widaty et al., 2017)

Pemeriksaan histopatologi jarang diperlukan, tetapi sangat berguna dalam mendiagnosis kasus yang sulit atau tidak khas. Gambaran histopatologi pasien psoriasis dapat dilihat pada gambar 2.10. Pada transisi dari tepi sampai pusat lesi tampak adanya penebalan epidermis yang progresif disertai elongasi *rete ridges*, peningkatan dilatasi dan lekukan pembuluh darah, serta peningkatan infiltrasi sel neutrofil (abses Munro). Tampak juga adanya transisi dari stratum korneum yang renggang atau jarang menjadi padat dengan hilangnya lapisan granular pada pusat lesi.(Burden & Kirby, 2016; Gudjonsson & Elder, 2019)

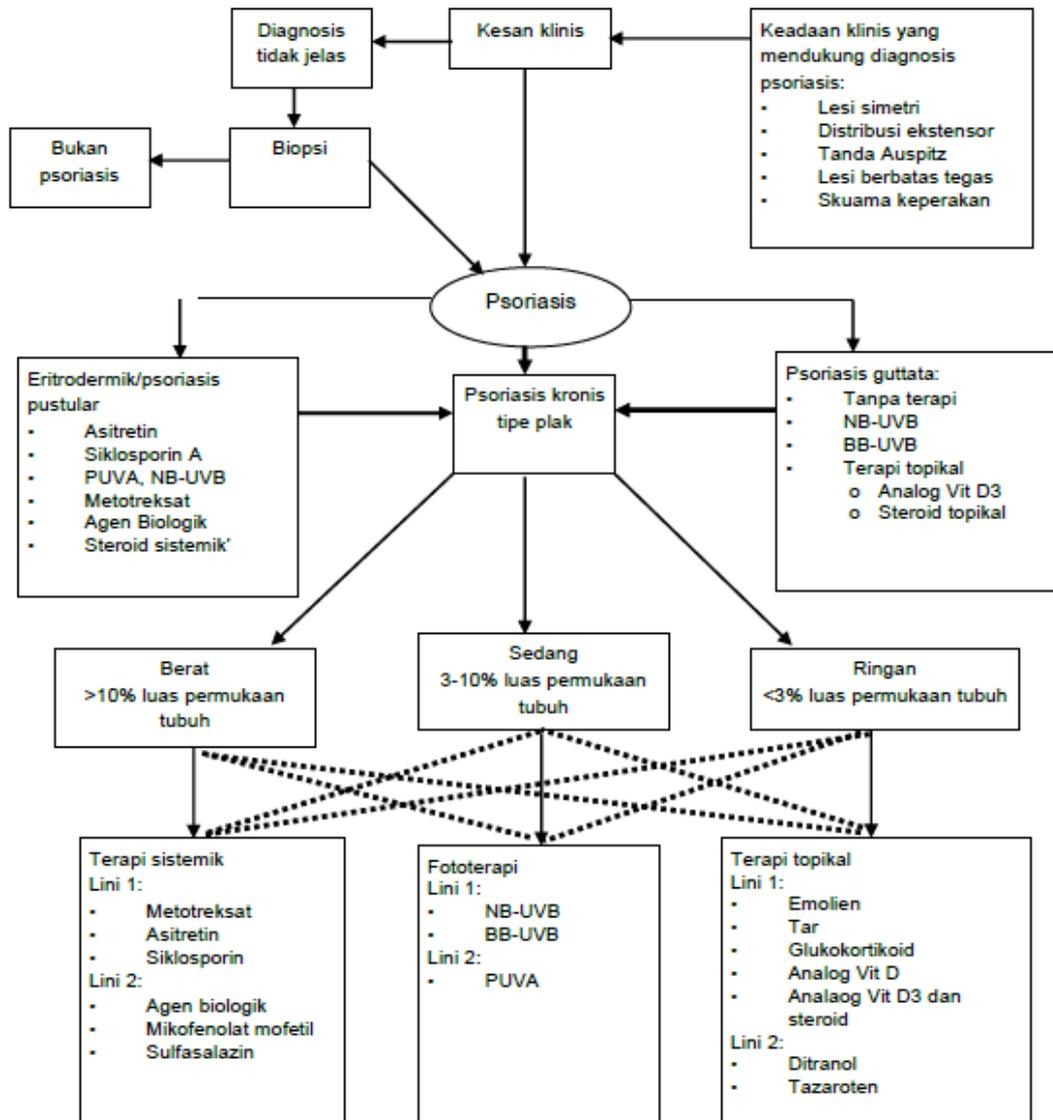




Gambar 2.10 Gambaran histopatologi psoriasis(Gudjonsson & Elder, 2019)

Pemeriksaan laboratorium pada psoriasis tidak spesifik dan seringkali tidak dilakukan pada semua pasien. Hasil laboratorium abnormal yang dapat ditemukan diantaranya adalah penurunan serum albumin pada psoriasis vulgaris berat, perubahan profil lipid yang berhubungan dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular, serta peningkatan serum asam urat (50% pasien) berkaitan dengan peningkatan risiko artritis gout.(Gudjonsson & Elder, 2019)





Gambar 2.11 Bagan alur diagnosis dan tata laksana psoriasis(Widaty et al., 2017)

Diagnosis banding utama psoriasis vulgaris diantaranya adalah *discoid/nummular eczema*, *tinea korporis*, serta *cutaneous T-cell lymphoma* (CTCL). Diagnosis lain yang juga harus dipertimbangkan adalah *pityriasis rubra pilaris*, *dermatitis seboroik* terutama untuk lesi area *scalp*, *likem planus*, dan *likem kronik*.(Burden & Kirby, 2016; Gudjonsson & Elder, 2019)



2.2 *Human Leukocyte Antigen Cw-6*

2.2.1 HLA Cw-6 dan Metode Deteksi Alel HLA Cw-6

HLA Cw-6 merupakan salah satu alel yang terdapat pada regio kromosom 6p21.33. Regio kromosom ini juga terdiri dari gen HLA C- lain, HLA B-, HLA A-, dan HLA DR-. Keempat kelompok gen ini ditemukan baik pada ras Eropa maupun Cina. HLA B- dan HLA C- berfungsi untuk mempresentasikan antigen ke sel T CD8+. HLA C- juga merupakan ligand untuk KIRS pada sel NK. (Gudjonsson & Elder, 2019) Metode deteksi alel HLA Cw-6 dapat dilakukan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Urutan basa nukleotidanya adalah sebagai berikut: (KS, Darwin, Jacob, & Tjong, 2019)

HLA Allele	Primer Name	Nucleotide Sequence	Size of PCR product
Cw*0601,0602, CL10v	HLA-Cw6-F HLA-Cw6-R	5'-CCGAGTGAACCTGCGGAAA-3' 5'-GGTCGCAGCCATACATCCA-3'	336 bp

Gambar 2.12 Urutan basa nukleotida HLA Cw-6 (KS et al., 2019)

Program PCR nya yakni: 94°C: 180 detik diikuti dengan 30 siklus dari (94°C: 10 detik → 66°C: 10 detik → 72°C: 20 detik). Setelah proses amplifikasi PCR maka didapatkan alel HLA Cw-6. (Tsukada, 2012) Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan kit *Geneaid Cat* dari Vivantis GF-1 Blood / *Cultured Cell* DNA *Geneaid Cat*. Tidak ada kit GB100. Sintesis primer dilakukan oleh *Integrated DNA Technologies* (IDT) Singapura. Reagen untuk PCR adalah *KAPATaq Extra Hot Start* (Kat. No. KK3606). Urutan gen HLA-C (NG_029422.2) dan posisi perlekatan HLA-Cw6, maju dan mundur. Primer HLA-Cw6-F menempel dari 5.484 nukleotida 5.502. Primer HLACw6-R menempel dari 5.801 ke 5,5819 basa



nukleotida. Amplifikasi menggunakan pasangan primer ini untuk menghasilkan produk PCR 336 bp.(KS et al., 2019)



Gambar 2.13 Hasil desain primer alel HLA Cw-6(KS et al., 2019)

2.2.2 HLA Cw-6 pada Psoriasis Vulgaris

HLA Cw-6 diketahui berkaitan erat dengan faktor risiko genetik pada patogenesis psoriasis.(Gudjonsson & Elder, 2019) Frekuensi alel HLA Cw-6 pada populasi dunia sangat bervariasi, tetapi secara umum ditemukan lebih banyak pada populasi kulit putih dibandingkan orang Asia. Alel ini berkaitan dengan psoriasis tipe I. Stress, obesitas, dan faringitis akibat infeksi streptokokus seringkali ditemukan pada pasien dengan alel HLA Cw-6. Predileksi psoriasis pada pasien yang memiliki alel ini seringkali pada lengan, tungkai, dan batang tubuh, serta serinokali ditemukan fenomena Koebner. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa

dengan HLA Cw-6 lebih responsif terhadap terapi dengan *methotrexate* dan ustekinumab. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa HLA Cw-6



berkaitan dengan remisi psoriasis dalam kehamilan, serta berkaitan dengan komorbiditas berupa fotosensitivitas dan aterosklerosis.(L. Chen & Tsai, 2018)

Penelitian kohort di Skotlandia mendapatkan bahwa pasien dengan HLA Cw-6 positif menunjukkan respon terapi yang lebih baik serta efek samping yang lebih sedikit pada penggunaan MTX.(West et al., 2017) Studi serial kasus mengenai HLA Cw-6 menunjukkan bahwa pasien dengan HLA Cw-6 positif mengalami perbaikan yang signifikan setelah tonsilektomi dibandingkan HLA Cw-6 negatif.(Thorleifsdottir et al., 2016) Penelitian kohort retrospektif menunjukkan bahwa obat dengan target IL-12/23 dan IL-17 lebih efektif pada pasien HLA Cw-6 positif dibandingkan HLA Cw-6 negatif pada terapi minggu ke 48. Sebaliknya, obat dengan target TNF tampak lebih efektif pada pasien HLA Cw-6 negatif dibandingkan HLA Cw-6 positif.(Burlando et al., 2020) Tinjauan sistematis terkait respons farmakogenetik pada pasien psoriasis menunjukkan bahwa pasien dengan HLA Cw-6 positif memiliki respons yang lebih baik terhadap terapi ustekinumab dibandingkan pasien dengan HLA Cw-6 negatif.(Van Vugt, van den Reek, Coenen, & de Jong, 2018)

Selain HLA Cw-6, diketahui bahwa HLA Cw-12 juga berkaitan dengan psoriasis vulgaris.(Onsun et al., 2019) Penelitian Magahes dkk menyebutkan bahwa selain alel HLA Cw-6, alel HLA Cw-12, HLA-DRB17, dan HLA B37 didapatkan juga berhubungan dengan tingkat keparahan psoriasis.(Magalhães et al., 2010)

Penelitian Mabuchi dkk pada Populasi Jepang mendapatkan bahwa HLA Cw-6 dengan psoriasis tipe I (*early-onset*), sedangkan HLA Cw-12 berkaitan soriasis tipe II (*late-onset*).(Mabuchi et al., 2014) Hasil ini bertentangan



dengan penelitian di Brazil yang mendapatkan bahwa alel HLA Cw-12 berkaitan dengan *early-onset* psoriasis, sedangkan *late-onset* psoriasis berkaitan dengan HLA Cw-13.(Biral et al., 2006) Perbedaan ini mungkin dikarenakan perbedaan etnis penelitian. Frekuensi alel HLA Cw-12 pada kontrol berbeda pada setiap etnis. Studi meta analisis juga mendapatkan bahwa risiko faktor genetik mungkin berbeda-beda pada setiap populasi.(Riveira-Munoz et al., 2011)

Faktor risiko genetik psoriasis vulgaris dipengaruhi oleh banyak gen sebagaimana dijelaskan pada bab 2. Selain alel HLA Cw-6 dan Cw-12, terdapat beberapa alel HLA lain yang diketahui juga berhubungan dengan psoriasis vulgaris. Penelitian pada Populasi Mumbai mendapatkan bahwa frekuensi alel HLA Cw-1, HLA Cw-2, dan HLA Cw-6 meningkat secara signifikan pada pasien psoriasis vulgaris ($p = 0,0107$; $p = 0,0002$; $p = 0,0086$), sedangkan frekuensi alel HLA Cw-15 didapatkan menurun secara signifikan ($p = 0,490$). (Shankarkumar, 2012) Penelitian lain pada Populasi Jepang menunjukkan bahwa alel HLA-A2, HLA DQ β 1, dan HLA Cw-6 berkaitan dengan peningkatan faktor risiko psoriasis vulgaris dengan hubungan terkuat terletak pada alel HLA-A2 (*odds ratio* [OR] = 4,61, $p = 1,2 \times 10^{-10}$). (Hirata et al., 2018) Perbedaan tersebut menunjukkan perbedaan faktor risiko genetik pada setiap etnis. Distribusi HLA yang berkaitan dengan psoriasis pada populasi etnis yang berbeda dapat dilihat pada gambar berikut.



S. No.	Population	Sample size	Alleles associated	Alleles protective	Reference
1.	Korean	84	HLA Cw*0602,	HLA Cw*1401,	Kim TG et al.
2.	Turkish	100	HLA Cw7, Cw6,	HLA Cw2, Cw4,	Kundakçi N et al.
3.	Chinese Hans	166	HLA Cw*0602,	HLA Cw*0304,	Zhang XJ et al.
4.	Northeastern Thais	140	HLA Cw*01, Cw*0602,	HLA Cw*04	Choonhakarn C et al.
5.	Croatian	-	HLA-Cw*0602	-	Kastelan M et al.
6.	Brazilian	92	HLA Cw*06, Cw*12,	-	Biral AC et al.
7.	Saudi	25	HLA - Cw*06, Cw*07	-	Abanmi A et al.
8.	Swedish	-	HLA - Cw*0602	-	Holm SJ et al.
9.	Canadian	-	HLA - Cw*0602	-	Rahman P et al.
10.	Finnish	124	HLA Cw06,	-	Ikaheimo I et al.
11.	Japanese	-	HLA Cw06, Cw11,	-	Nakagawa H et al.
12.	Northern Polish	78	HLA - Cw*06	-	Szczerkowska-DA et al.
13.	Indian (North)	38	HLA - Cw*0602	-	Rani R et al.
14.	Caucasian	29	HLA Cw*0602, Cw07,	-	Mallon E et al.
15.	Kuwait	305	HLA Cw01	-	Nanda A et al.
16.	Israeli Jewish	28	HLA - Cw06, Cw07	-	Roitberg-TA et al.
17.	Western India	84	HLA Cw*0202, Cw*0604	HLA Cw*1502	Present study

Gambar 2.14 Distribusi alel HLA pada beberapa populasi etnis(Shankarkumar, 2012)

2.3 Interleukin-22

2.3.1 IL-22 dan ELISA IL-22

Interleukin-22 dikenal juga dengan nama *IL-10 related T cell-derived inducible factor* (IL-TIF). Target selnya adalah pada sel epitel nonhematopoietik dan jaringan fibroblast seperti paru-paru, hepar, ginjal, timus, pankreas, mammae, kulit, usus, dan sinovium. Efek utamanya adalah untuk regenerasi sel epitel akibat jejas yakni melalui induksi proliferasi dan penghambatan apoptosis sel epitel. Mekanisme yang sama mendasari keterlibatan IL-22 dalam keganasan dan psoriasis. Selain itu, IL-22 juga berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh yakni pada *barrier tissue* seperti usus, mukosa oral, kulit, dan paru-paru.(Dudakov et al., 2015)

Gen IL-22 terletak pada kromosom 12q15. Monomer IL-22 terdiri dari 6 A-F) dan N-terminal helix kecil, membentuk sitokin enam helix. Reseptor IL-22R) merupakan reseptor sitokin tipe 2 serta anggota IL-10 *family* sebagaimana reseptor sitokin IL-10, IL-19, IL-20, IL-24, IL-26, IL-28, dan



IL-29. Reseptor ini terdiri dari 2 subunit heterodimer, yaitu IL-22R1 dan IL-10R2. Kompleks ikatan antara IL-22, IL-22R1, dan IL-10R2 mengaktifkan *receptor-associated* Jak1/Tyk2 kinase yang selanjutnya menyebabkan fosforilasi reseptor dan protein STAT. Ikatan IL-22 dengan reseptornya juga mengaktifkan MAP kinase dan p38 *pathways*.(Dudakov et al., 2015)

Molecule	Type of regulation	Mode of action	References
IL-23	Positive	Serves as main stimulator of IL-22 production, mediated by STAT3	34, 42–45, 133
IL-1 β	Positive	Directly induces IL-22 production by Th17, NKT, and ILCs and inhibits progression of ILCs into IFN- γ -producing subsets	55, 120, 125, 169–171, 174
IL-7	Positive	Contributes to differentiation and expansion of IL-22-producing cells and stabilization of ROR γ t expression	70, 72, 175–177
AhR	Positive	Promotes development of ILCs and Th17 cells and directly promotes IL-22 production	187, 190, 191
Notch	Positive	Leads to differentiation of IL-22-producing lymphoid cells as well as to promotion of IL-22 production by mediating AhR signals	95, 98, 202, 203, 205
IL-22BP	Negative	Is a soluble IL-22R with 1000-fold higher affinity for IL-22 than membrane bound receptor	14, 215–217
TGF- β	Negative	Inhibits IL-22, potentially binding to IL-22 promoter but also mediated through c-Maf	223
IL-27	Negative		225, 226
ICOS	Negative	Induces c-Maf and reduced expression of IL-22	227, 228
c-Maf	Negative	Serves as common pathway of TGF- β -, IL-27-, and ICOS-mediated negative regulation of IL-22	48, 227, 228
IL-25	Negative	Is produced by epithelial cells, inhibits the production of IL-22 by ILCs	263

Abbreviations: AhR, aryl hydrocarbon receptor; ICOS, inducible costimulator; IFN, interferon; ILC, innate lymphoid cell; NKT, natural killer T cell; ROR γ t, retinoid-acid receptor-related orphan receptor γ t, STAT, signal transducer and activator of transcription; TGF- β , transforming growth factor- β .

Gambar 2.15 Regulator produksi IL-22(Dudakov et al., 2015)

IL-22 diproduksi oleh sel Th 17, sel T $\gamma\delta$, sel NK, serta *innate lymphoid cells* (ILC) seperti makrofag, neutrofil, dan fibroblast. Produksi IL-22 dipengaruhi oleh molekul lain, ada yang bersifat sebagai stimulator serta ada yang sebagai inhibitor. Stimulator utama produksi IL-22 adalah IL-23 melalui protein STAT 3. Molekul lain yang menstimulasi produksi IL-22 diantaranya adalah IL-1 β , IL-7, *aryl hydrocarbon receptor* (AhR), serta *notch*. Sebaliknya molekul yang bersifat

inhibitor produksi IL-22 diantaranya adalah *IL-22 binding protein* (IL-22BP), TGF- β , IL-27, inducible costimulator (ICOS), cMaf, serta IL-25.(Dudakov



et al., 2015) Deskripsi rinci terkait peran masing-masing molekul tersebut dapat dilihat pada gambar 2.13.

IL-22 disekresikan pada banyak jaringan, diantaranya kelenjar timus, paru-paru, sinovium, pankreas, hepar, ginjal, usus, dan kulit. Produksi IL-22 pada area inflamasi merupakan respon fisiologis untuk memperbaiki kerusakan jaringan lokal, atau sebaliknya turut serta berperan dalam inflamasi patologis. IL-22 dapat bersifat protektif pada fase akut kerusakan jaringan yakni dengan cara menstimulasi survival dan proliferasi sel epitel serta produksi antimikroba. Namun, IL-22 juga berperan dalam proses patologis bila produksinya berlebihan dan bersifat kronis sehingga menyebabkan hiperproliferasi, overproduksi kemokin dan mediator inflamasi lain, serta rekrutmen sel efektor patologis.(Dudakov et al., 2015)

IL-22 memiliki beberapa efek pada keratinosit, yakni induksi proliferasi, migrasi, serta *remodelling* jaringan. IL-22 juga menginduksi keratinosit untuk memproduksi protein antimikroba, yakni β -defensin 2, β -defensin 3, S100A7, S100A8, S100A9, dan *lipocalin 2*. IL-22 juga memicu produksi *neutrophil-attracting chemokines*, seperti CXCL1, CXCL2, CXCL 5, dan CXCL 8, serta menghambat ekspresi CCL22 yang berperan dalam memanggil sel Th17 dan Th22. IL-22 juga menginduksi ekspresi *extracellular matrix-degrading enzymes matrix metalloproteinases* (MMP)-1 dan -3 yang diperlukan dalam migrasi epitel ketika masa *tissue repair*. IL-22 juga menghambat diferensiasi dan maturasi keratinosit melalui downregulasi molekul seperti keratin (KRT) 1, KRT10, profilaggrin,

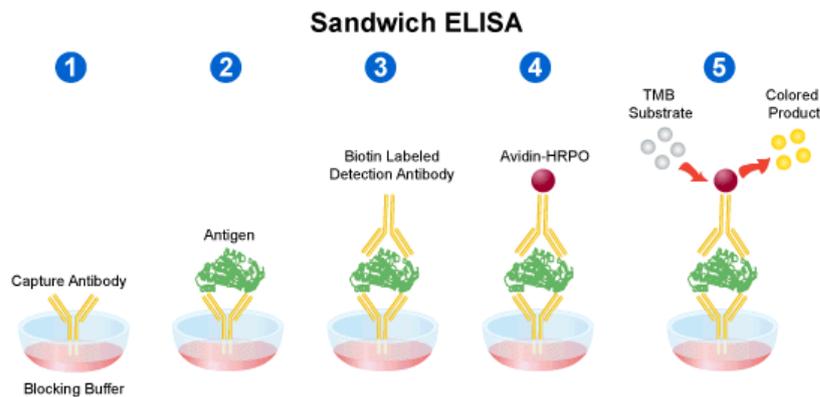
n, *loricin*, kallikrein 7, *desmocollin 1*, dan *late cornified envelope protein*
? juga meningkatkan ekspresi IL-20, sementara IL-20 menghasilkan efek



yang sama seperti IL-22 pada keratinosit. Stimulus ekspresi tersebut akan memperbesar efek fisiologis yang ditimbulkan pada keratinosit.(Dudakov et al., 2015)

Kandungan IL-22 pada tubuh dapat diperiksa melalui pemeriksaan serologi menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Penelitian kadar serum IL-22 pada pasien psoriasis berkisar antara 0.0 – 492.34 pg/mL (rerata 39.56 ± 81.77 pg/mL), sedangkan pada kontrol berkisar antara 0.0 – 11.146 pg/mL (rerata 1.70 ± 2.96 pg/mL).(Wawrzycki et al., 2019) ELISA terdiri dari beberapa tipe berdasarkan prinsip pemeriksaannya, yakni *direct ELISA (antigen screening)*, *indirect ELISA*, *sandwich ELISA (antibody screening)*, dan *competitive ELISA (antigen/antibody screening)*. *Sandwich ELISA* 2-5 kali lebih sensitif dibandingkan ELISA tipe lainnya. Prinsip pemeriksaannya adalah mendeteksi antigen (substrat sampel) yang berikatan dengan *capture antibody* yang tertanam pada *blocking buffer* melalui *enzyme-tagged-antibody*. Ikatan kompleks *capture antibody – antigen – enzyme-tagged-antibody* ini bila ditambah substrat enzim akan menghasilkan perubahan warna. Perubahan warna sampai kadar tertentu akan terbaca hasilnya positif.(Aydin, 2015) Ilustrasi pemeriksaan *sandwich ELISA* dapat dilihat pada gambar berikut.





Gambar 2.16 Prinsip pemeriksaan *sandwich* ELISA

2.3.1 Peran IL-22 dalam Psoriasis Vulgaris

IL-22 memiliki banyak efek fisiologis pada kulit, sebagaimana telah dijelaskan pada subbab sebelumnya. Selain efek fisiologis yang telah dijelaskan, IL-22 juga berperan dalam morfologi epidermis, menghasilkan penampakan *acanthosis* (penebalan stratum spinosum pada epidermis), parakeratosis (sisa inti stratum korneum akibat disfungsi kornifikasi keratinosit), serta hipogranularitas. Morfologi tersebut sama dengan perubahan epidermis yang terlihat pada psoriasis vulgaris. (Dudakov et al., 2015; Nograles et al., 2010) Selain itu, plak psoriasis vulgaris mengandung neutrofil serta terjadi peningkatan ekspresi IL-20 dan STAT3. Kedua molekul tersebut diketahui berhubungan dengan IL-22. (Dudakov et al., 2015)

Lesi kulit psoriasis vulgaris mengandung infiltrat inflamasi yang terdiri dari sel dendritik, makrofag, dan sel T pada dermis serta neutrofil dan sel T pada epidermis. Sel dendritik dan sel T memegang peran utama dalam patofisiologi

Axis utamanya adalah produksi IL-23 dan IL-12 oleh sel dendritik. Kedua IL tersebut selanjutnya mengaktivasi sel Th1, Th17, dan Th22 yang memproduksi IL-17, IFN- γ , TNF, dan IL-22. (Dudakov et al., 2015)



Beberapa mutasi genetik IL-22 pada penelitian menunjukkan bahwa hal tersebut berkaitan dengan psoriasis. Polimorfisme gen IL-22 diketahui berkaitan dengan psoriasis pada Populasi Jepang.(Saeki et al., 2013) Polimorfisme promoter regio IL-22 diketahui berhubungan dengan peningkatan produksi IL-22 serta peningkatan risiko onset psoriasis pada masa kanak-kanak.(Nikamo et al., 2014) Mutasi gen IL-22 exon 1 diketahui berhubungan secara signifikan dengan keparahan psoriasis.(Prans et al., 2013) Selain itu, polimorfisme IL23R dan IL12B juga berhubungan dengan psoriasis.(Johnston & Gudjonsson, 2014)

Penelitian Shimauci dkk mendapatkan bahwa pada pasien psoriasis terjadi peningkatan kadar IL-22 pada serum darahnya serta didapatkan berkaitan dengan keparahan penyakit.(Shimauchi et al., 2013) Selain IL-22, pada plak psoriasis juga ditemukan peningkatan IL-20 serta IL-24. Kedua interleukin tersebut berkaitan dengan IL-22R1 dan tampak memiliki efek serupa dengan IL-22 pada keratinosit in vitro maupun pada tikus percobaan.(Dudakov et al., 2015)

2.4 Zink

2.4.1 Fisiologi Zn dan Pemeriksaannya

Zinc adalah *trace element* yang paling banyak di intrasel serta kedua terbanyak pada tubuh setelah besi.(Kogan et al., 2017) Sekitar 30% Zn yang terkandung dalam makanan yang kita makan diabsorpsi di usus halus. Zn yang terabsorpsi tersebut, 80% akan berikatan dengan albumin darah sedangkan 20%



akan berikatan dengan α_2 -makroglobulin. Zn yang berikatan dengan ini hanya 0,1% total Zn yang terkandung dalam tubuh, menandakan bahwa

hanya sedikit Zn yang diperbarui setiap harinya. Serum Zn didistribusikan dan disimpan pada jaringan perifer, yakni pada otot rangka (60%), tulang (30%), hepar (5%), dan kulit (5%). Kulit merupakan organ ketiga yang paling banyak mengandung Zn dalam tubuh. Kandungan Zn dalam tubuh dipertahankan secara ketat pada rentang 2-3 g.(Ogawa et al., 2016)

Zn dalam kulit lebih banyak terkandung dalam epidermis dibandingkan dermis karena Zn sangat diperlukan dalam proliferasi dan diferensiasi keratinosit.(Ogawa et al., 2018b) Zn dalam epidermis lebih banyak terdapat pada stratum spinosum dibandingkan yang lainnya. Sementara Zn dalam dermis ditemukan lebih banyak pada granula sel mast yang lebih banyak pada dermis atas dibandingkan dermis bawah.(Ogawa et al., 2016)

Zn dalam sel terdapat dalam bentuk ion divalen (Zn^{2+}) dan tidak membutuhkan reaksi redoks untuk melewati membran sel. Oleh karena itu, diperlukan regulasi yang ketat untuk menjaga homeostatis Zn dalam tubuh. Kanal yang berperan dalam regulasi Zn adalah *Zn transporters* (ZnT) serta *Zrt-/Irt- like proteins* (ZIP) yakni dalam proses *Zn efflux* dan *uptake*. *Metallothioneins* (MTs) juga berperan dalam regulasi Zn. MTs terdiri dari *cysteine-rich amino acid sequences*, sehingga dapat mengikat Zn, *copper*, dan *cadmium*. Bila Zn dalam sitosol berlebih, maka akan diikat oleh MTs, sebaliknya bila terjadi defisiensi Zn, maka MTs akan mengeluarkan Zn.(Ogawa, Kinoshita, Shimada, & Kawamura, 2018a)



Zn berperan dalam berbagai macam aktivitas biologis, seperti imunitas, perkembangan, dan diferensiasi sel serta proses katalis dan struktural

protein, diantaranya faktor pertumbuhan, sitokin, reseptor, enzim, dan faktor transkripsi. Zn diketahui merupakan kofaktor lebih dari 1000 reaksi enzim. Zn juga diperlukan dalam lebih dari 2000 faktor transkripsi yang meregulasi ekspresi gen. Kulit merupakan organ ketiga yang paling banyak mengandung Zn, dimana Zn lebih banyak pada epidermis. Epidermis terdiri dari 97% keratinosit, sisanya adalah sel langerhans dan melanosit.(Ogawa et al., 2016; Ogawa et al., 2018a)

Peran Zn dalam keratinosit dibagi menjadi 3 fungsi utama, yakni penyembuhan luka, survival sel, dan anti inflamasi. *Zinc-related molecules*, seperti MTs, MMP, integrin, alkaline fosfatase, dan *zinc finger transcription factors* terlibat dalam proses penyembuhan luka. Zn^{2+} akan dikeluarkan setelah adanya jejas pada keratinosit. Selanjutnya Zn^{2+} ekstrasel akan mengaktifkan *G-protein-coupled* reseptor (GPR)39 yang selanjutnya akan mengaktifkan *pathway* $G\alpha_q$, $G\alpha_{12/13}$, dan $G\alpha_s$. Aktivasi ini akan menginduksi respon metabotropik kalsium $(Ca)^{2+}$ yang diikuti dengan peningkatan aktivitas Na^+/H^+ *exchanger* 1 yang berperan penting dalam proliferasi dan migrasi sel. Kelasi Zn intrasel menginduksi aktivasi *caspase-3* dan fragmentasi DNA yang menyebabkan apoptosis keratinosit. Sebaliknya kadar Zn eksogen non-toksik dapat meningkatkan proliferasi dan survival keratinosit. Zn menekan induksi *inducible nitric oxide (iNOs) synthase* dan produksi *nitric oxide (NO)* oleh keratinosit. Sebagaimana diketahui bahwa produksi NO merupakan hasil dari induksi sitokin proinflamasi, sehingga dalam hal ini Zn berperan dalam proses anti inflamasi.(Ogawa et al., 2016)



Salah satu kanal Zn yaitu ZIP2 diekspresikan pada keratinosit yang sedang nsiasi. *Knockdown (KD)* ZIP2 pada keratinosit dapat mengganggu

diferensiasi dan proliferasi keratinosit. Sedangkan KD ZIP4 akan mereduksi kadar Zn intrasel sampai setengahnya, sehingga mengganggu proses diferensiasi normal keratinosit serta meningkatkan proliferasi keratinosit. Hal tersebut akan menyebabkan parakeratosis.(Ogawa et al., 2018a)

Pemeriksaan kadar Zn dalam serum dapat dilakukan menggunakan metode *colorimetric assay*.(Sinha, Kar, Dasgupta, Basu, & Sen, 2016) Prinsip pemeriksaannya adalah ion Zn pada sampel akan bereaksi dengan 5-Br-PADAP untuk memproduksi kompleks yang berwarna. Tingkat kepekatan warna akan sebanding dengan konsentrasi ion Zn. Kandungan ion Zn dapat dihitung dengan nilai OD pada panjang gelombang 560 nm.(Papautsky, Shen, Hagen, & Stone, 2016) Nilai normal Zn berdasarkan literatur adalah 9,3 – 30,8 $\mu\text{mol/L}$.(Ghasemi, Zahediasl, Hosseini-Esfahani, & Azizi, 2012)

2.4.2 Peran Zn dalam Psoriasis Vulgaris

Zn merupakan elemen penting dalam tubuh yang memiliki banyak fungsi, termasuk di kulit. Penjelasan terkait efek fisiologis Zn telah dibahas pada subbab sebelumnya. Studi meta analisis menyimpulkan bahwa kadar Zn pada lesi psoriasis lebih tinggi dibandingkan kontrol, sementara kadar serum Zn didapatkan lebih rendah. Zn diduga terlibat dalam patogenesis psoriasis karena pertama Zn merupakan *trace element* yang merupakan komponen dari lebih dari 1000 enzim. Enzim-enzim tersebut penting dalam proses metabolisme karbohidrat, lipid, serta asam nukleat, dan bahkan *oxidative stress* yang berkontribusi dalam patogenesis



Kedua, Zn merupakan mediator penting dalam sistem pertahanan *innate* t serta dapat menghambat aktivitas mikrobakterial pada psoriasis. Ketiga,

pada lesi psoriasis keratinosit membutuhkan banyak Zn untuk sintesis dan replikasi nukleotida dalam proses proliferasi. Ketiga alasan tersebut yang diduga menjadi penyebab tingginya kadar Zn pada lesi psoriasis.(W. Chen et al., 2019)

Kadar serum Zn pasien psoriasis didapatkan lebih rendah pada dua studi meta analisis.(W. Chen et al., 2019; Lei et al., 2019) Kadar serum Zn yang lebih rendah diduga berhubungan dengan tingginya kadar Zn pada lesi, sehingga terjadi gangguan proses homeostatis Zn antara kandungannya di jaringan (lesi) dan seluruh tubuh (serum).(W. Chen et al., 2019) Proliferasi keratinosit berlebihan pada psoriasis membutuhkan banyak Zn, sehingga kadar Zn pada lesi didapatkan tinggi sedangkan pada serum ditemukan rendah. Pada psoriasis berat, proliferasi keratinosit semakin masif, sehingga membutuhkan semakin banyak Zn. Oleh karena itu, kadar Zn serum didapatkan lebih rendah pada psoriasis berat dibandingkan ringan. Psoriasis bersifat kronik residif, semakin bertambahnya durasi penyakit maka akan semakin banyak memerlukan Zn. Oleh karena itu, kadar serum Zn berbanding terbalik dengan durasi penyakit.(Lei et al., 2019)

Zn adalah komponen penting dalam *antioxidant-related enzymes*. Selain itu, Zn juga komponen penting dalam mempertahankan fungsi sel T dan sel imun lainnya, serta berperan dalam diferensiasi, maturasi, aktivasi, dan transduksi sinyal sel T. Kadar serum Zn yang rendah dapat menurunkan aktivitas *antioxidant-related enzymes* dan disfungsi sel imun Pasien dengan kadar serum Zn yang rendah lebih rentan terhadap infeksi virus maupun bakteri, dimana hal ini dapat memicu

(Lei et al., 2019)



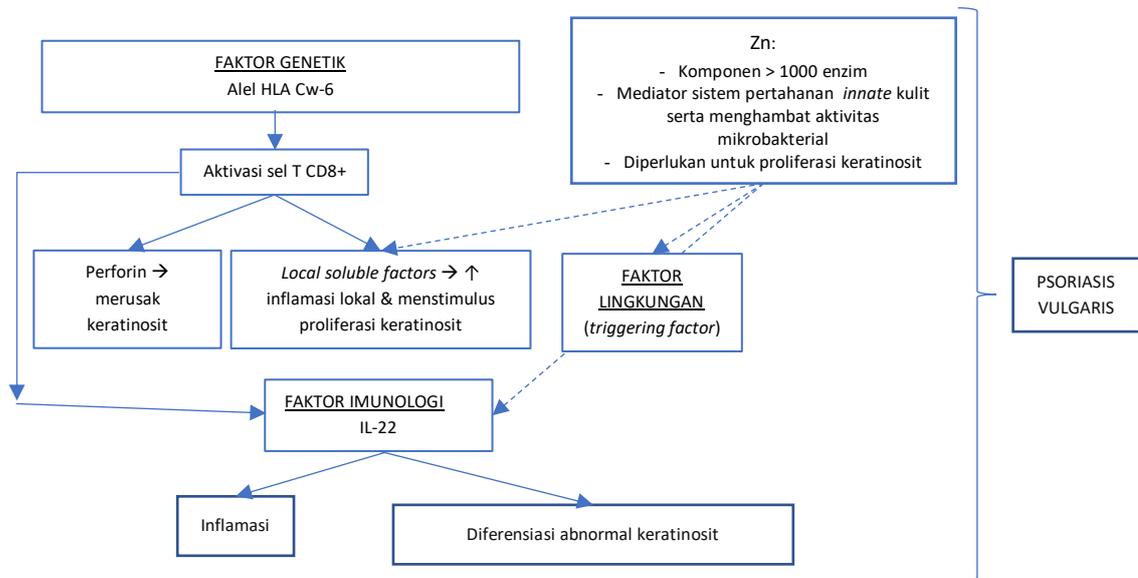
2.5 Hubungan HLA Cw-6, IL-22, dan Zn

HLA Cw-6 berperan dalam mempresentasikan protein pada permukaan sel dendritik sehingga dapat mengaktivasi dan menyebabkan proliferasi sel T CD8+ *antigen spesifik*. Proses ini bergantung pada sel T CD4+ yang berperan dalam presentasi silang antigen intrasel. Selanjutnya sel T CD4+ dan CD8+ akan teraktivasi dan berproliferasi. Sel T CD4+ berproliferasi menjadi sel Th, salah satunya sel Th17 yang memproduksi IL-22.(Gudjonsson & Elder, 2019) Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.2.

Zink diketahui merupakan komponen penting untuk mempertahankan fungsi sel T dan sel imun lainnya. Zn juga berperan dalam diferensiasi, maturasi, aktivasi, dan transduksi sinyal sel T.(Lei et al., 2019) Salah satu sel T yang berperan dalam patogenesis psoriasis vulgaris adalah sel Th17 yang memproduksi IL-22, sehingga diduga terdapat hubungan antara kadar Zn dan IL-22.

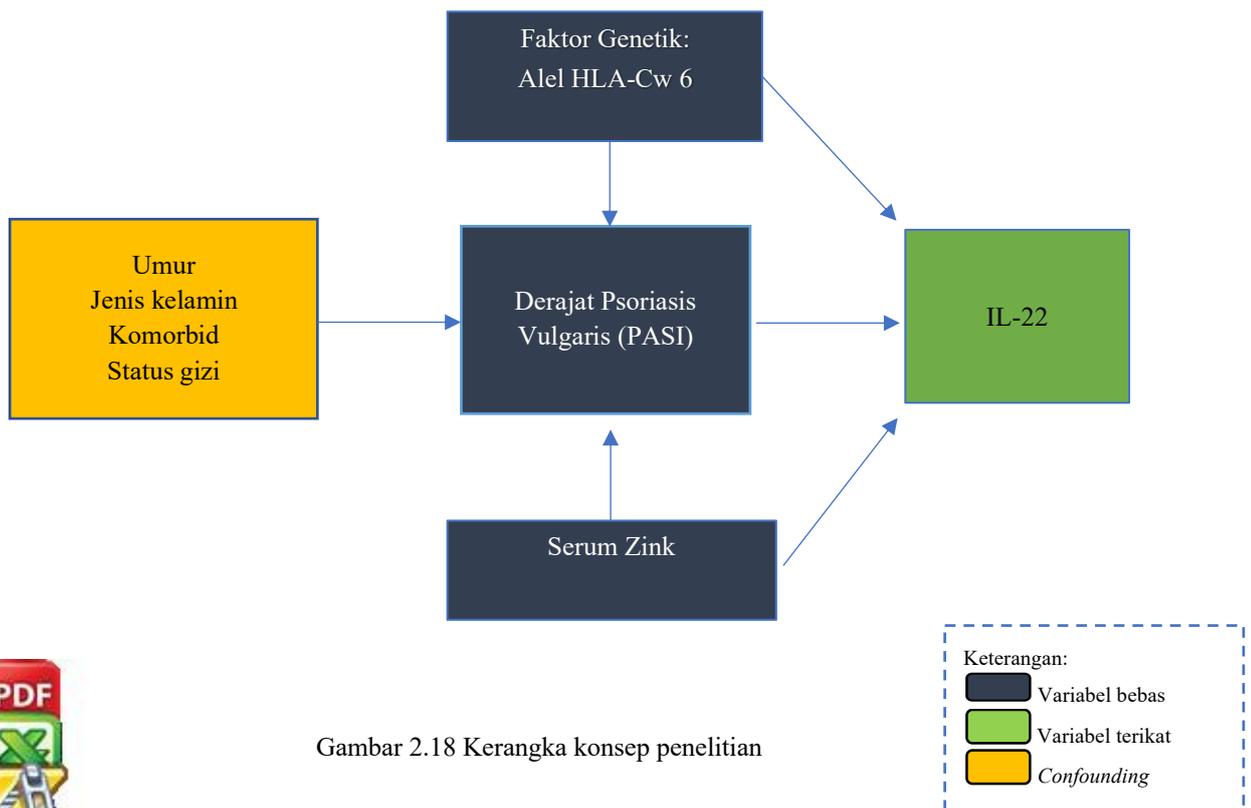


2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.17 Kerangka teori penelitian

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.18 Kerangka konsep penelitian

