

KARYA AKHIR

**POLIMORFISME *FokI* GEN RESEPTOR VITAMIN D PADA
PASIEN LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK**

***VITAMIN D RECEPTOR GENE FokI POLYMORPHISMS IN
SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS PATIENTS***

EVI ANDRIYANI LAUDDIN

C108216102



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



Optimization Software:
www.balesio.com

**POLIMORFISME FOKI GEN RESEPTOR VITAMIN D PADA
PASIEN LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar Spesialis- 1 (Sp-1)

Program Pendidikan Dokter Spesialis-1
Program Studi Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan Oleh :

EVI ANDRIYANI LAUDDIN

C108216102

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**



KARYA AKHIR**POLIMORFISME Fokl GEN RESEPTOR VITAMIN D PADA PASIEN
LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK**

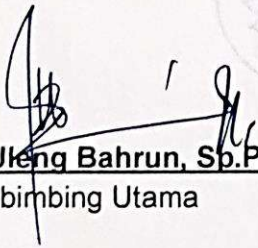
Disusun dan Diajukan oleh:

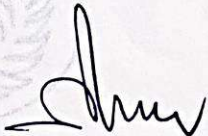
EVI ANDRIYANI LAUDDIN

Nomor Pokok : C108216102

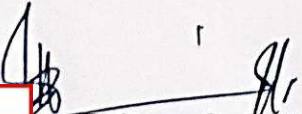
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 19 Oktober 2020
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,


dr. Uleng Bahrn, Sp.PK(K), Ph.D
Pembimbing Utama


Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK
Pembimbing Anggota

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis a.n. Dekan,
Fakultas Kedokteran UNHAS Wakil Dekan Bid.Akademik,
Riset, dan Inovasi


Uleng Bahrn, Sp.PK(K), Ph.D
680518 199802 2 001


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 19671103 199802 1 001



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :


Nama : EVI ANDRIYANI LAUDDIN

Nomor Pokok : C 108216102

Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

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

Makassar, 1 Oktober 2020

Yang menyatakan,

Evi Andriyani Lauddin



PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang Maha Kuasa, Maha Pemurah, Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan kasih dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“POLIMORFISME Fokl GEN RESEPTOR VITAMIN D PADA PASIEN LUPUS ERITEMATOSUS SISTEMIK”** sebagai salah satu persyaratan dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan koreksi dari semua pihak. Penulis juga menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis menghaturkan terima kasih yang tulus kepada dr.Uleng Bahrn, Sp.PK(K).Ph.D selaku Ketua Komisi Penasihat/ Pembimbing Utama dan Dr. dr. Tenri Esa Arief M.Si, Sp.PK selaku Anggota Penasihat/Sekretaris Pembimbing, Dr.dr. Burhanuddin Bahar,MS sebagai Anggota Komisi Penasihat/Pembimbing Metode Penelitian dan Statistik, Dr. dr.Femi Syahriani,Sp.PD-KR sebagai Anggota Tim Penilai, dan dr. Rachmawati A.Muhiddin Sp.PK(K) sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah memberi kesediaan waktu, saran dan bimbingan sejak masa penelitian,

nan hingga seminar hasil penelitian ini.

ada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih

ghargaan yang setinggi-tingginya kepada:



1. Guru Besar di Bagian Patologi Klinik dan Guru Besar Emeritus FK-UNHAS, Alm. Prof. dr. Hardjoeno, SpPK(K), yang telah merintis pendidikan dokter spesialis Patologi Klinik di FK Unhas
2. Guru sekaligus orang tua kami, dr. H. Ibrahim Abdul Samad, Sp.PK(K) dan dr. Hj. Adriani Badji, Sp.PK yang senantiasa mendukung pendidikan penulis sejak awal mendidik, membimbing dengan penuh ketulusan hati dan memberi nasehat kepada penulis.
3. Guru besar di Departemen Ilmu Patologi Klinik, Prof. dr. Mansyur Arif, Ph.D, Sp.PK(K), guru kami yang telah membimbing, mengajar dan memberikan ilmu yang tidak ternilai dengan penuh ketulusan hati memberi masukan selama selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.
4. Manajer PPDS FK-UNHAS dr. Uleg Bahrun, Sp.PK (K), Ph.D, guru sekaligus orang tua kami yang bijaksana yang senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta memotivasi penulis.
5. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK guru kami yang bijaksana, senantiasa membimbing dan memberikan arahan kepada penulis dalam berbagai kegiatan, mengajar, memberi nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.



6. Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Tenri Esa, M.Si, Sp.PK, guru kami yang penuh pengertian dan senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat serta mendorong penulis supaya lebih maju.
7. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr. Rachmawati A. Muhiddin, Sp.PK(K), guru kami yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat.
8. dr. Fitriani Mangarengi, Sp.PK (K), Dokter pembimbing akademik saya dan Ketua Program Studi Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS periode 2015-2017, atas bimbingan dan arahan serta selalu memberi nasehat dan motivasi selama pendidikan.
9. Semua guru, Supervisor di Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran selama penulis menjalani pendidikan sampai pada penyusunan karya akhir ini.
10. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjalani pendidikan di rumah sakit ini.
11. Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik



TN UNHAS, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji,
Kala Instalasi Laboratorium RS. Stella Maris, Kepala Instalasi

Laboratorium RS. Ibnu Sina, Kepala UTD PMI, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.

12. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini.
13. Seluruh pasien yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.
14. Teman-teman angkatan ku tersayang dr. Lisdiana Amin Asri, dr.Erika Rosaria, dr. Zahra Inayah dan dr. Dessy Iriana yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan, dan akhirnya kita sampai di titik ini. Kebersamaan dan persaudaraan yang tidak akan terlupakan dan semoga persaudaraan ini tetap terjaga.
15. Senior dan junior terbaikku dr. Fatmawati Ahmad Sp.PK, dr. Shendy Sherly Sp.PK, dr.Nelly Sp.PK, dr. Ranisa Handayani, dr.Yunita Rapa, dr. Putri Hidayasyah yang senantiasa mendukung serta membantu penulis dalam menyelesaikan pendidikan.
16. Teman-teman sejawat PPDS Program Studi Ilmu Patologi Klinik terkhusus troponin Januari 2017 yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis.

an-teman analis yang turut membantu dalam proses pengumpulan
pel penelitian ini.



18. Nurilawati, SKM, seluruh staf Departemen Ilmu Patologi Klinik, dan Ibu Salma atas doa dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian karya akhir ini.
19. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda Prof.Dr.Lauddin Marsuni,SH.MH, Ibunda Salmi SH.MH, atas doa tulus, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan semangat maupun material selama ini.

Terima kasih kepada saudara-saudara saya tercinta Eva Afriyani S.Kg, Muh.Ilmah SH, Zakira Utari, Muh.Faqih, adik ipar ku Rafika Fauziah SE.MM yang telah memberikan doa, dukungan dan semangat. Serta seluruh keluarga besar atas dukungan dan doanya sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Ucapan Terima kasih penulis ucapkan kepada anakda tersayang Muhammad Arsy, yang telah menjadi penyemangat dan kekuatan terbesar untuk penulis menyelesaikan pendidikan. Maafkan atas semua waktu dan kebersamaan yang terlewatkan.

Penulis menyampaikan permohonan maaf sebesar-besarnya kepada semua pihak terutama kepada semua guru-guru kami dan teman-teman residen selama penulis menjalani masa pendidikan. Penulis berharap karya

dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa yang akan datang.



Semoga Allah SWT senantiasa menyertai setiap langkah pengabdian
kita. Aamiin Yaa Rabbal Alamin

Makassar, 01 Oktober 2020

Evi Andriyani Lauddin



ABSTRAK

Evi Andriyani Lauddin. Polimorfisme Fokl Gen Reseptor Vitamin D Pada Pasien Lupus Eritematosus Sistemik
(Dibimbing oleh Uleng Bahrhun dan Tenri Esa)

Lupus Eritematosus Sistemik (LES) adalah penyakit autoimun dengan etiologi yang melibatkan banyak faktor dan banyak organ serta ditandai dengan perjalanan penyakit yang bervariasi. Polimorfisme Gen Reseptor Vitamin D (RVD) dikaitkan dengan beberapa masalah kesehatan, termasuk LES. Salah satu Polimorfisme yang dianggap berperan pada manifestasi klinis LES adalah polimorfisme Fokl yang dapat mempengaruhi struktur protein dan aktifitas transkripsi RVD, sehingga dapat memodifikasi proses imunomodulator vitamin D dan dapat menyebabkan efek manifestasi klinis pada LES, yaitu produksi autoantibodi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui polimorfisme Fokl gen RVD pada pasien LES.

Penelitian dengan desain *cross sectional* ini menggunakan 30 sampel pasien LES, serta 40 sampel kontrol. Polimorfisme Fokl di periksa menggunakan metode PCR-RFLP. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji *Chi-Square*, bermakna jika nilai *p-value* < 0,05.

Hasil penelitian diperoleh genotip Ff dan ff lebih tinggi pada kontrol sehat walaupun hasilnya tidak signifikan. Genotip FF lebih tinggi pada LES, dan mempunyai risiko 1,5 % lebih tinggi untuk menderita LES dibandingkan genotip ff walaupun hasilnya tidak signifikan. Sebagian besar gangguan klinis dan laboratorium lebih tinggi pada genotip FF dan Ff. Disimpulkan Polimorfisme Fokl gen RVD pada pasien LES ditemukan lebih tinggi pada Genotip FF.

Kata Kunci : Lupus Eritematosus Sistemik, Polimorfisme, Reseptor Vitamin D, Fokl



ABSTRACT

Evi Andriyani Lauddin. Vitamin D Receptor Gene FokI Polymorphisms in Systemic Lupus Erythematosus Patients
(Supervised by Uleng Bahrun and Tenri Esa)

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is an autoimmune disease with a multi-factor etiology that is characterized by a varied course of disease. Vitamin D Receptor Gene (VDR) gene polymorphisms are associated with several health problems, including SLE. One of the polymorphisms that are considered to play a role in the clinical manifestations of SLE is the FokI polymorphism which can affect the protein structure and transcription activity of VDR, so that it can modify the immunomodulatory process of vitamin D and can cause the effect of clinical manifestations on SLE, namely the production of autoantibodies. The aim of this study was to determine the polymorphism of FokI VDR gene in SLE patients.

This cross-sectional study used 30 samples of SLE patients and 40 control samples. FokI polymorphisms were examined using the PCR-RFLP method. Data were analyzed statistically using the Chi-Square test, meaningful if the p-value <0.05.

The results showed that Ff and ff genotypes were higher in healthy controls, although the results were not significant. The FF genotype was higher in SLE, and had a 1.5% higher risk of developing SLE than the ff genotype although the results were not significant. Most of the clinical symptoms and laboratory findings were higher in the FF and Ff genotypes. It was concluded that the FokI RVD gene polymorphism in SLE patients was found to be higher in the FF genotype.

Key words : Systemic Lupus Erythematosus, Polymorphism, Vitamin D
rs, FokI



DAFTAR ISI

| | |
|---|----------|
| SAMPUL JUDUL | i |
| HALAMAN PENGANTAR..... | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN | iv |
| PRAKATA..... | v |
| ABSTRAK BAHASA INDONESIA..... | xi |
| ABSTRAK BAHASA INGGRIS..... | xii |
| DAFTAR ISI..... | xiii |
| DAFTAR TABEL..... | xvi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xxvii |
| DAFTAR SINGKATAN..... | xviii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian | 3 |
| 1. Tujuan Umum | 3 |
| 2. Tujuan Khusus..... | 3 |
| D. Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| A. Etiologi Eritematosus Sistemik | 5 |
| B. Definisi..... | 5 |
| C. Epidemiologi | 5 |



| | |
|---|-----------|
| 3. Etiologi dan Faktor Risiko | 6 |
| 4. Patofisiologi | 9 |
| 5. Manifestasi Klinis | 11 |
| 6. Diagnosis | 11 |
| B. Reseptor Vitamin D | 13 |
| C. Polimorfisme Fokl Gen RVD pada LES | 14 |
| BAB III KERANGKA PENELITIAN | 17 |
| A. Kerangka Teori | 17 |
| B. Kerangka Konsep | 18 |
| BAB IV METODE PENELITIAN | 19 |
| A. Desain Penelitian | 19 |
| B. Tempat dan Waktu Penelitian | 19 |
| 1. Tempat Penelitian | 19 |
| 2. Waktu Penelitian | 19 |
| C. Populasi Penelitian | 19 |
| D. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel | 20 |
| E. Perkiraan Besar Sampel | 20 |
| F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi | 21 |
| 1. Kriteria Inklusi | 21 |
| 2. Kriteria Eksklusi | 21 |
| G. Izin Subyek Penelitian | 21 |
| a. Kerja | 21 |
| b. Alokasi Subyek | 21 |



| | |
|---|----|
| 2. Cara Penelitian | 22 |
| I. Prosedur Pemeriksaan | 22 |
| J. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif | 29 |
| K. Metode Analisis | 30 |
| L. Skema Alur Penelitian | 31 |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN | 32 |
| A. Hasil Penelitian | 32 |
| B. Pembahasan | 37 |
| C. Ringkasan Hasil Penelitian | 39 |
| BAB VI PENUTUP | |
| A. Simpulan | 40 |
| B. Saran | 40 |
| DAFTAR PUSTAKA | 40 |
| LAMPIRAN | |



DAFTAR TABEL

| Nomor | Halaman |
|--|---------|
| 1. Kriteria Diagnosis LES berdasarkan ACR 1997 | 12 |
| 2. Karakteristik Subyek Penelitian | 34 |
| 3. Sebaran Kelompok Umur dan Jenis Kelamin pada Kelompok LES dan Kontrol | 35 |
| 4. Sebaran Genotip Fokl Pada Kelompok LES dan Kontrol | 35 |
| 5. Sebaran Genotip Fokl berdasarkan Gangguan Klinis dan Temuan Laboratorium pada Pasien LES | 36 |



DAFTAR GAMBAR

| Nomor | Halaman |
|---|---------|
| 1. Patogenesis LES..... | 10 |
| 2. Struktur Gen Reseptor Vitamin D | 13 |
| 3. Mekanisme Kerja Reseptor Vitamin D | 14 |
| 4. Hasil target band genotip FokI | 29 |
| 5. Hasil Elektroforesis FokI gen RVD..... | 32 |



DAFTAR SINGKATAN

| | | |
|---------------|---|---|
| ACR | : | <i>American College of Rheumatology</i> |
| ANA | : | <i>Anti-Nuclear Antibody</i> |
| APC | : | <i>Antigen Presenting Cells</i> |
| DC | : | <i>Dendritik cell</i> |
| DILE | : | <i>Drug Induced Lupus Erythematosus</i> |
| DM | : | <i>Diabetes Melitus</i> |
| ds-DNA | : | <i>Double Stranded - deoksiribonukleat</i> |
| EBV | : | <i>Epstein Barr Virus</i> |
| EDTA | : | <i>Ethylen Diamine Tetra Acetat</i> |
| ELFA | : | <i>Enzyme-linked Fluoroscens Assay</i> |
| IFN- α | : | <i>Interferon Alpha</i> |
| IFN- γ | : | <i>Interferon Gamma</i> |
| IL-17 | : | <i>Interleukin 17</i> |
| KEPK | : | <i>Komisi Etik Penelitian Kesehatan</i> |
| LES | : | <i>Lupus Eritematosus Sistemik</i> |
| mRNA | : | <i>Messenger Ribonukleotida</i> |
| MLE | : | <i>Master Lot Entry</i> |
| NFAT | : | <i>Nuclear Factor of Activated T-cell</i> |
| RFLP | : | <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> |
| RVD | : | <i>Reseptor Vitamin D</i> |
| UH | : | <i>Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin</i> |



| | |
|-------------------------|--|
| RT PCR | : <i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i> |
| RXR | : <i>Retinoid X Receptors</i> |
| SIRS | : <i>Sistem Informasi Rumah Sakit</i> |
| SLICC | : <i>Systemic Lupus Internasional Clasification Criteria</i> |
| SNPs | : <i>Single-nucleotida polymorphism</i> |
| SSP | : <i>Susunan Saraf Pusat</i> |
| Th | : <i>T Helper</i> |
| TLR | : <i>Toll Like Receptors</i> |
| Tregs | : <i>Regulatory T Cells</i> |
| 1.25(OH) ₂ D | : <i>1,25-dihydroxyvitamin D</i> |



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Lupus eritematosus sistemik (LES) adalah penyakit autoimun yang ditandai oleh pembentukan autoantibodi terhadap *self antigen* dan pengendapan kompleks imun di berbagai organ yang mengakibatkan peradangan akut hingga kronis dan kerusakan jaringan (Kamel, 2017).

Penyebab dasar penyakit LES masih belum jelas, diduga bersifat multikompleks. Interaksi antara faktor lingkungan, latar belakang genetik yang rentan terhadap penyakit dan berbagai patogen yang memunculkan respon imun bawaan dan adaptif diduga berperan dalam mekanisme autoimun. Hiperaktifasi sistem imun menyebabkan produksi berlebih autoantibodi dan pembentukan kompleks imun yang disimpan di berbagai organ dan jaringan. (Adriana M, 2013)

Prevalensi LES diberbagai negara sangat bervariasi antara 2.9/100.000- 400/100.000 dalam 30 tahun terakhir. Penyakit LES lebih sering ditemukan pada ras tertentu seperti Bangsa Negro, Cina dan Filipina. Organisasi kesehatan dunia atau *World Health Organization* (WHO) mencatat jumlah penderita penyakit lupus di seluruh dunia dewasa ini mencapai 5 juta orang pada tahun 2016. Sebagian besar dari mereka

perempuan usia produktif dan setiap tahun ditemukan lebih dari penderita baru. (Schur et al, 2017)



Jumlah penderita LES di Indonesia belum diketahui pasti. Berdasarkan data Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) *online* pada tahun 2016 terdapat 2.166 pasien rawat inap yang didiagnosis penyakit lupus, dengan 550 pasien diantaranya meninggal dunia. (Pusdatin, 2017)

Reseptor vitamin D (RVD) adalah *ligand-activated transcription factor* yang terdapat pada sel monosit, limfosit T, dan limfosit B. Lebih dari 270 polimorfisme RVD nukleotida tunggal berhasil diidentifikasi pada manusia, dipengaruhi oleh suku bangsa dan geografi. (Cauchan, 2017, Hanan, 2017)

Faktor polimorfisme gen RVD telah dilaporkan sebagai faktor penting yang meningkatkan kerentanan terjadinya LES karena dapat memodifikasi proses imunomodulator Vitamin D. Diketahui Vitamin D dapat menekan diferensiasi sel dendritik dan ekspresi IFN- γ . Selain itu, vitamin D juga telah terbukti meningkatkan kemotaksis dan fagositosis makrofag, mengurangi produksi interleukin-17 (IL-17) dan menghambat proliferasi aktivasi sel B, menyebabkan penurunan sekresi immunoglobulin. Vitamin D akan memberikan efek setelah berinteraksi dengan RVD yang merupakan suatu reseptor hormon inti (Hanan,2017)

Beberapa dekade terakhir, sebagian besar penelitian epidemiologi mempelajari hubungan antara polimorfisme gen RVD dan risiko LES, namun bukti yang tersedia masih lemah, karena jumlah data yang sedikit

tidaksesuaian di antara beberapa penelitian yang an.(Zhou,2014)



Polimorfisme RVD yang paling banyak diteliti adalah FokI. Polimorfisme FokI yang terletak di ekson 2 dikaitkan dengan proses yang mengarah pada pembentukan reseptor protein yang lebih pendek tetapi memiliki aktivitas transkripsi yang lebih besar daripada reseptor tipe lainnya. (Mostowska,2012).

Penelitian meta-analisis di China pada populasi Asia dan Afrika menunjukkan bahwa FokI RVD genotip ff memiliki hubungan dengan risiko terjadinya LES, tetapi tidak terdapat hubungan dengan genotip FF. Akan tetapi genotip ff dan genotip FF tidak tampak berkaitan dengan terjadinya LES pada populasi Kaukasian. (Zhou,2014)

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk meneliti terjadinya polimorfisme FokI gen RVD pada pasien LES, terutama pada populasi di Makassar.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah tersebut, maka dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

Bagaimana polimorfisme FokI gen RVD pada pasien LES ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui polimorfisme FokI gen RVD pada pasien LES

2. Tujuan Khusus

Mengetahui genotip polimorfisme FokI gen RVD pada pasien LES



2. Mengetahui hubungan genotip polimorfisme FokI gen RVD dengan gejala klinis dan temuan laboratorium (kelainan hematologi, kelainan imunologi, gangguan ginjal dan tes ANA) pada pasien LES

D. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai gambaran polimorfisme RVD pada pasien LES.
2. Hasil penelitian ini dapat dijadikan data dasar untuk penelitian selanjutnya bagi pengembangan ilmu pengetahuan tentang LES.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Lupus Eritematosus Sistemik

1. Definisi

Lupus Eritematosus Sistemik adalah penyakit autoimun yang melibatkan banyak organ, serta ditandai dengan perjalanan penyakit yang bervariasi. Terdapat beberapa faktor yang dapat memicu terjadinya LES seperti perbedaan etnis, genetik, lingkungan dan sosial ekonomi. (Farid et al, 2017)

Penyakit ini ditandai dengan terjadinya kerusakan sel, jaringan dan organ akibat ikatan autoantibodi dan kompleks imun. Sistem kekebalan tubuh mengalami kehilangan kemampuan untuk melihat perbedaan antara substansi asing dengan sel atau jaringan tubuh sendiri. Meskipun penyakit ini tidak menular, tetapi dianggap menjadi faktor utama penyebab kematian pada tahun 2012 dengan prevalensi yang berbeda di setiap negara. (Taleb, 2017)

2. Epidemiologi

Penyakit ini terutama menyerang wanita usia reproduktif dengan perbandingan perempuan : laki-laki berkisar 8:1. Prevalensi LES dilaporkan berkisar 12,2 per 100.000 penduduk dengan angka mortalitas

morbiditas yang cukup tinggi terutama di negara-negara sedang. (Shakra, 2008) Insiden LES meningkat hampir tiga kali lipat



dalam 40 tahun terakhir abad ke-20. Perkiraan tingkat kejadian adalah 1 hingga 25 per 100.000 di Amerika Utara, Amerika Selatan, Eropa, dan Asia. Studi sistemik di Asia Pasifik menunjukkan insidens sebesar 0.9-3.1 per 100.000 populasi/tahun dengan prevalensi 4.3-45.3 per 100.000 per populasi. (Schur, 2017)

Berdasarkan data Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) *online* pada tahun 2016 terdapat 2.166 pasien rawat inap yang didiagnosis penyakit lupus, dengan 550 pasien diantaranya meninggal dunia. Penyakit LES meningkat sejak tahun 2014-2016. Penyakit ini dapat ditemukan pada semua usia, tetapi insiden meningkat pada usia 20-40 tahun. Frekuensi penderita LES pada wanita dibandingkan pria berkisar 9:1 sedangkan pada anak-anak, rasio perempuan : laki-laki adalah 3:1. (Pusdatin, 2017)

3. Etiologi dan Faktor Risiko

Etiologi penyakit LES belum diketahui secara pasti, tetapi diduga terdapat beberapa faktor predisposisi yang berperan terhadap LES, antara lain faktor genetik, pengaruh hormonal, dan faktor lingkungan. Interaksi ketiga faktor ini akan menyebabkan terjadinya respon imun yang abnormal. (Bertsias, 2012).

Beberapa faktor yang dikaitkan dengan LES antar lain :

a. Faktor Genetik

Penyakit LES merupakan penyakit multigen. Kecenderungan meningkatnya LES yang terjadi pada anak kembar menggambarkan



adanya kemungkinan faktor genetik yang berperan dalam penyakit ini. Gen yang terlibat memiliki risiko tinggi terjadinya LES termasuk alel HLA-DRB1, IRF5, STAT4, HLA-A1, DR3, dan B8. Gen-gen tersebut dapat ditemukan pada inti sel, sitoplasma dan permukaan membran sel. (Ginzler, 2013)

Interaksi antara kerentanan gen, pengaruh hormonal, dan faktor lingkungan, menghasilkan respons imun abnormal. Respons imun mencakup hiper reaktivitas dan hipersensitivitas limfosit T dan B dan regulasi antigen dan respons antibodi yang tidak efektif. Hiper reaktivitas sel T dan B ditandai dengan peningkatan ekspresi molekul permukaan seperti HLA-D dan CD40L, menunjukkan bahwa sel mudah teraktivasi oleh antigen yang menginduksi sinyal aktivasi pertama dan oleh molekul yang mengarahkan sel ke aktivasi penuh melalui sinyal kedua. Hasil akhir anomali ini adalah produksi autoantibodi patogen dan pembentukan kompleks imun yang mengikat jaringan target, menghasilkan (1) sekuestrasi dan destruksi Ig-coated circulating cells; (2) fiksasi dan cleaving protein komplemen, dan (3) pelepasan kemotaksin, peptida vasoaktif, dan enzim destruktif ke jaringan. (Maidhof,2012)

b. Faktor Lingkungan

Beberapa faktor lingkungan dapat bertindak sebagai antigen yang bereaksi dalam tubuh dan berperan dalam timbulnya LES.



Faktor lingkungan tersebut terdiri dari:

1). Infeksi virus dan bakteri

Agen infeksius, seperti virus dan bakteri, dapat berperan dalam timbulnya LES. Agen infeksius tersebut terdiri dari *Epstein Barr Virus* (EBV), bakteri *Streptococcus* dan *Klebsiella*.

2). Paparan sinar ultra violet

Sinar ultra violet dapat mengurangi penekanan sistem imun, sehingga terapi menjadi kurang efektif dan penyakit LES dapat kambuh atau bertambah berat. Hal ini menyebabkan sel pada kulit mengeluarkan sitokin dan prostaglandin sehingga terjadi inflamasi di tempat tersebut secara sistemik melalui peredaran pembuluh darah. (Daniel, 2017)

3). Stres

Stres berat dapat memicu terjadinya LES pada pasien yang sudah memiliki kecenderungan akan penyakit ini. Hal ini dikarenakan respon imun tubuh akan terganggu ketika seseorang dalam keadaan stres. Stres sendiri tidak akan mencetuskan LES pada seseorang yang sistem autoantibodinya tidak ada gangguan sejak awal.

c. Obat-obatan

Obat pada pasien LES dan diminum dalam jangka waktu tertentu dapat menyebabkan *Drug Induced Lupus Erythematosus*



(DILE). Jenis obat yang dapat menyebabkan DILE diantaranya kloropromazin, metildopa, hidralasin, prokainamid, dan isoniazid

d. Pengaruh Hormonal

Faktor hormonal mempunyai peran penting dalam perkembangan dan penelitian klinis LES. Observasi klinis menunjukkan peran hormon steroid sebagai penyebab LES dan observasi ini mencakup kejadian yang lebih tinggi pada wanita usia produktif, peningkatan aktivitas LES selama kehamilan dan risiko yang sedikit lebih tinggi pada wanita pasca menopause yang menggunakan suplementasi estrogen. Hormon steroid dipercaya sebagai penyebab LES, namun studi yang dilakukan oleh Petri dkk. menunjukkan bahwa pemberian kontrasepsi hormonal oral tidak meningkatkan risiko terjadinya peningkatan aktivitas penyakit pada wanita penderita LES. (Crow, 2012)

e. Vitamin D

Akhir-akhir ini telah dilaporkan adanya hubungan antara rendahnya kadar vitamin D dengan timbulnya penyakit autoimun termasuk LES. Terdapat hubungan negatif kadar vitamin D dengan aktivitas penyakit dan produksi autoantibodi serta peningkatan fungsi sel dendritik. Vitamin D dilaporkan memiliki efek menghambat diferensiasi sel monosit menjadi sel dendritik, kemudian

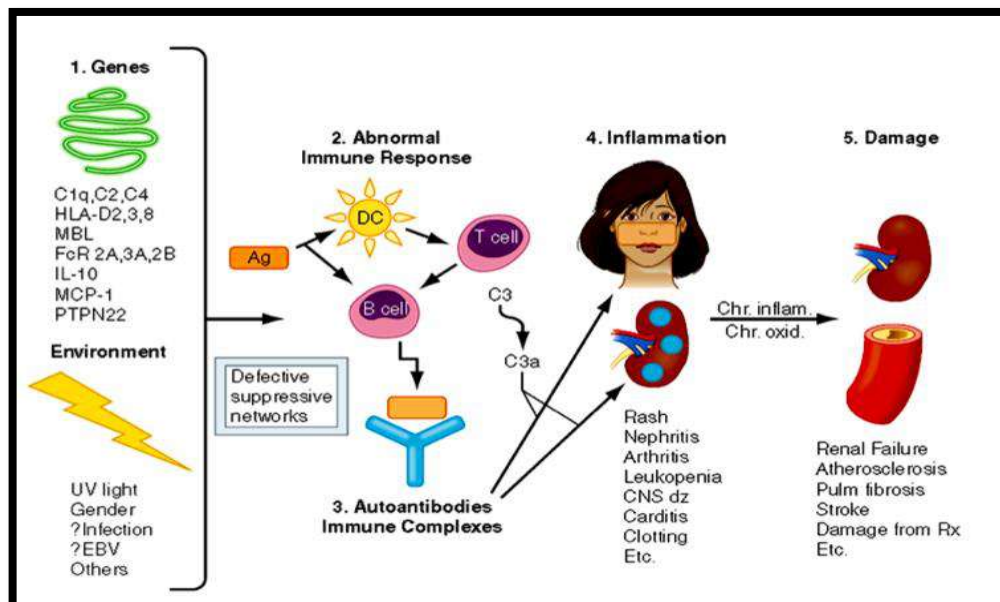
mempertahankan sel dendritik dalam kondisi. (Kamen, 2006 ; Dusso et al, 2015)



4. Patofisiologi

Patofisiologi LES hingga saat ini belum dapat diketahui dengan jelas. Adanya sel-sel sistem imun yang hiperreaktif dan diproduksi autoantibodi patogenik yang pada akhirnya menyebabkan terjadinya peradangan sistemik dan kerusakan jaringan telah lama diketahui. Berbagai abnormalitas sel T, sel B, sel plasma, sel dendritik serta sel T regulator telah dilaporkan dalam berbagai penelitian. (Anolik , 2017 ; Jianxin, 2009)

Beberapa studi menunjukkan bahwa terjadinya autoantibodi pada LES akibat 2 perubahan mayor yaitu meningkatnya apoptosis limfosit dan monosit dalam sirkulasi dan kesalahan dalam pengenalan autoantigen yang dilepaskan selama apoptosis (gambar 1). (Hahn, 2010)



Gambar 1. Patogenesis Lupus Erythematosus Sistemik (Hahn, 2010)

Di samping itu sitokin diduga juga ikut berperan dalamogenesis lupus. Keseimbangan sitokin Th1/Th2 serta Th17 telah



ditunjukkan berkaitan dengan berbagai manifestasi klinis lupus. Meskipun secara umum angka harapan hidup 10 tahun penderita LES meningkat hingga mencapai 90% pada tahun 2000 di negara maju, penelitian Kalim, 2013 menunjukkan bahwa penderita LES di Indonesia mempunyai harapan hidup yang masih rendah, yakni untuk 5 tahun 70% dan untuk 10 tahun 55%. (Kalim, 2013)

5. Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis LES meliputi keterlibatan kulit dan mukosa, sendi, darah, jantung, paru, ginjal, susunan saraf pusat (SSP) dan sistem imun. Dilaporkan bahwa pada 1000 pasien LES di Eropa yang diikuti selama 10 tahun, manifestasi klinis terbanyak berturut-turut adalah artritis sebesar 48,1%, ruam malar 31,1%, nefropati 27,9%, fotosensitivitas 22,9%, keterlibatan neurologik 19,4% dan demam 16,6% sedangkan manifestasi klinis yang jarang dijumpai adalah miositis 4,3%, ruam diskoid 7,8% dan lesi subkutaneus akut 6,7%. Manifestasi lupus eritematosus pada kulit dapat ditemukan pada 59-85% pasien dan dapat menjadi penanda pertama yang mengarahkan penegakan diagnosis lupus eritematosus. (Oktaria, 2010)

6. Diagnosis

Penegakan diagnosis LES mengacu berdasarkan kriteria *Systemic Lupus Internasional Clasification Criteria (SLICC) 2012* dan *American College of Rheumatology (ACR) 1997*. Pada kriteria SLICC diagnosis LES ditegakkan apabila memenuhi sama atau lebih dari 4



kriteria, berdasarkan Minimal 1 kriteria klinis dan 1 kriteria imunologis serta hasil biopsi yang membuktikan lupus nefritis dengan ANA *test* atau anti ds-DNA positif.

Kriteria berdasarkan ACR revisi tahun 1997 (Tabel 1), Pasien dapat dinyatakan sebagai bukan LES, jika tidak memenuhi kriteria atau hanya memenuhi satu kriteria, *possible* LES jika hanya memenuhi dua kriteria, *probable* LES jika memenuhi 3 kriteria dan *definite* LES jika memenuhi setidaknya empat kriteria. (Daniel, 2017)

Tabel 1. Kriteria Berdasarkan *American College of Rheumatology* (ACR) (Revisi 1997)

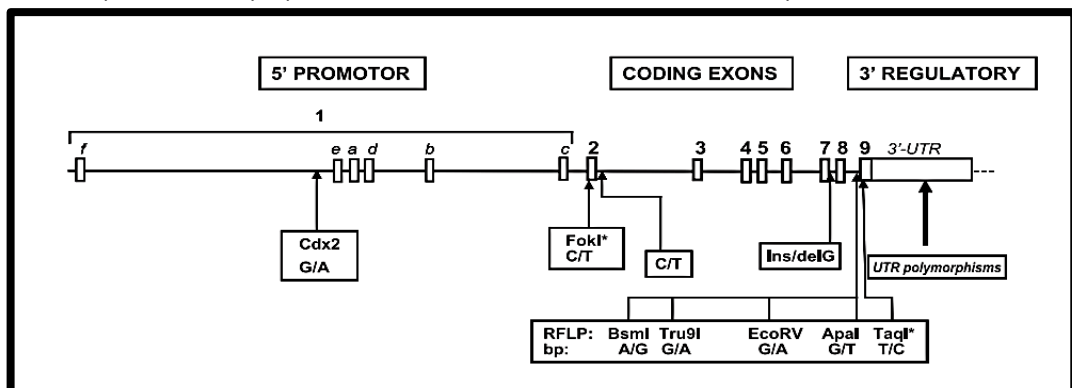
| KRITERIA | KETERANGAN/GAMBARAN SPESIFIK |
|---------------------|---|
| MALAR RASH | Eritema yang menetap, bisa datar atau menonjol, melewati jembatan hidung, menyebar ke lipatan nasolabialis. Kadang juga terdapat di dahi. |
| DISCOID RASH | Bercak eritema yang sedikit menonjol, membulat, dengan adherent keratotic scaling, dapat terjadi atrofi pada lesi yang lebih lama. |
| FOTOSENSITIVITAS | Berdasarkan riwayat pasien atau pengamatan, dimana setelah terpapar sinar terdapat bercak/reaksi yang tidak biasa. |
| ULSERASI ORAL | Ulkus oral atau nasofaring, tidak nyeri |
| ARTRITIS | Radang sendi yang non erosif, pada 2 atau lebih sendi perifer, dengan tanda merah, bengkak, disertai efusi dan nyeri |
| SEROSITIS | Nyeri pleuritik ATAU terdengar Friction rub ATAU ada bukti efusi pleura dari pemeriksaan fisik atau rontgen ATAU efusi pericardium dari echocardiografi |
| NEFRITIS | Persisten proteinuria 0,5 g/hari ATAU proteinuria > +3 (jika pemeriksaan kuantitatif tidak dapat dilakukan) ATAU terdapatnya celluler cast (sel darah merah, Hb, granuler, tubuler, mixed celluler cast) |
| GANGGUAN NEUROLOGIS | Kejang ATAU psikosis (pada saat tidak ada penggunaan obat atau kelainan metabolik: uremia, asidosis, imbalance elektrolit, dll) |
| KELAINAN HEMATOLOGI | Anemia hemolitik dengan retikulositosis ATAU leukopenia < 4000/mm ³ pada > 2 pemeriksaan ATAU limfopenia < 1500/mm ³ pada > 2 pemeriksaan ATAU trombositopenia < 100.000 tanpa pengaruh obat-obatan |
| ANIMUNOLOGI | Anti ds DNA (+) ATAU Anti Sm (+) ATAU Anti fosfolipid antibody (+) |
| ANALISA POSITIF | Hasil tes ANA positif, tidak terkait dengan obat yang menginduksi lupus |



B. Reseptor Vitamin D

Reseptor vitamin D merupakan reseptor nuklear dengan berat molekul 50 kDa, merupakan bagian dari reseptor steroid, mirip dengan reseptor asam retinoat dan Thyroid Stimulating Hormon. $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ terikat ke *genome* RVD nukleus dan menentukan respon genomik dengan cara mengatur transkripsi beberapa gen. (Monticielo,2012)

Gen RVD terletak pada kromosom 12q13 sepanjang 70kb dan terdiri dari 14 exon. Terdapat *single-nucleotida polymorphism (SNPs)* pada gen reseptor vitamin D yang paling banyak diidentifikasi, yaitu *FokI* pada ekson II, *TaqI* pada ekson IX, *BsmI* dan *ApaI* terletak di intron antara ekson VIII dan IX (Gambar 2). (Uitterlinden,2004 ; Kusworini, 2015)

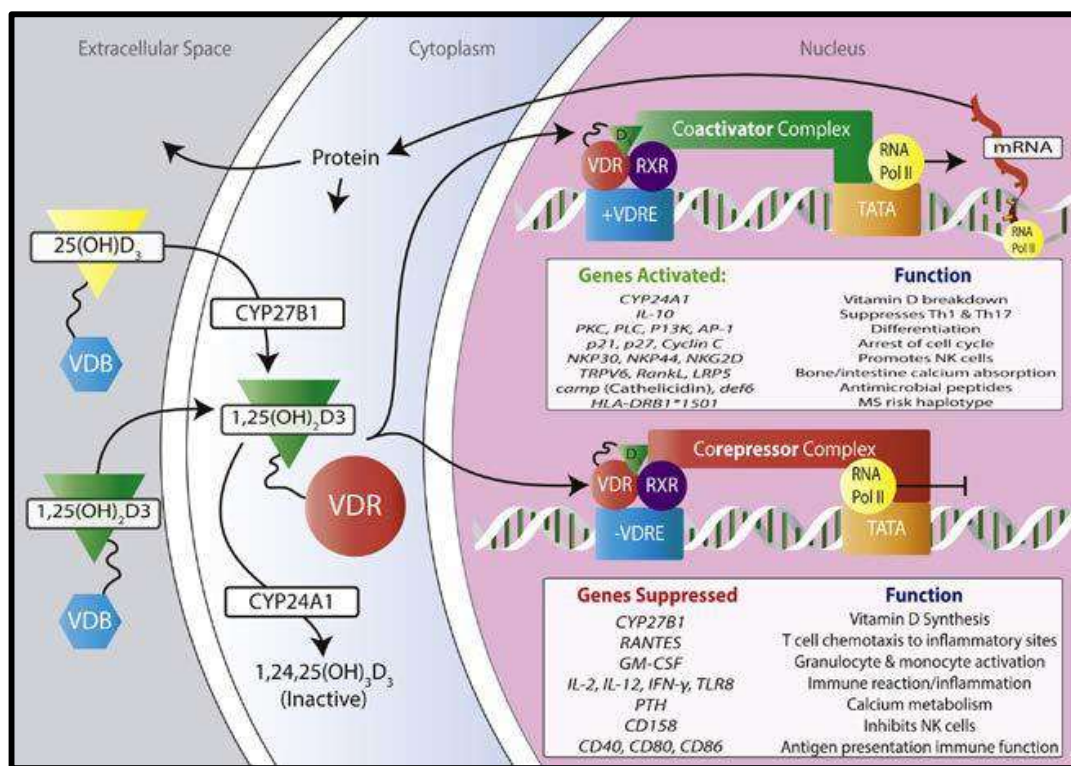


Gambar 2. Struktur Reseptor Vitamin D (Uitterlinden,2004)

Mekanisme kerja RVD untuk menimbulkan efek pada sel target, ada beberapa mekanisme yang terjadi seperti : (A) Setelah berikatan dengan kalsitriol, reseptor vitamin D kemudian membentuk heterodimer dengan retinoid X reseptor (RXR) lalu menempel pada gen target dan mengatur transkripsi yang akan mengatur kontrol homeostasis kalsium, metabolisme tulang, dan pertumbuhan. (B) Untuk mengontrol pertumbuhan, diferensiasi serta aktivitas



fungsi berbagai jenis sel baik dalam sistem imun, kulit, pankreas, tulang dan sel target lainnya. (B) heterodimerisasi RXR-RVD akan merekrut ko-aktivator yang kemudian mengikat RNA polymerase untuk memulai proses transkripsi. (C) Kompleks RVD-Ligand juga dapat merekrut ko-repressor yang selanjutnya akan menekan transkripsi gen target (Gambar 3). (Fleet et al, 2012, Saini,2016)



Gambar 3. Mekanisme Kerja Reseptor Vitamin D (Saini,2016)

C. Polimorfisme FokI Gen Reseptor Vitamin D pada Lupus

Eritematosus Sistemik

Polimorfisme Gen VDR dikaitkan dengan beberapa masalah

an, termasuk meningkatnya risiko osteoporosis, autoimun, penyakit skler, diabetes, kanker (payudara dan prostat), beberapa penyakit



infeksi seperti tuberculosis. (Younus,2017) Terdapat 4 polimorfisme utama yang terdapat pada RVD yaitu Bsml, Apal, Taql, dan FokI. Terkait FokI, terdapat 2 potensi lokasi dimulainya translasi sehingga menimbulkan start codon alternatif yang mempengaruhi panjang asam amino dari protein RVD yang dihasilkan. Hal ini akan memberikan efek langsung terkait proses transkripsi atau modulasi dari sel-sel imun. (Seham et al, 2016)

Polimorfisme FokI merupakan hasil dari substitusi *thymine- cytosine* (T-C) pada pertemuan antara intron 1 dengan exon 2, membuat start codon tambahan (ATG → ACG), 3 proximal codon pada awal proses transkripsi. Polimorfisme ini dapat dianggap sebagai penanda genetik independen, karena tidak tampak ada keterkaitan dengan polimorfisme gen RVD lainnya. Varian gen FokI, terdiri dari allele f (ATG codon) yang merupakan *common allele* (*wild type*) membuat protein RVD diproduksi secara lengkap (427 asam amino), terdapat regio pemotongan yang menghasilkan fragmen DNA sebesar 69 bp dan 196 bp. Allele F (codon ACG) adalah *infrequent allele* (alel mutan) yang menginisiasi proses translasi dari sisi yang lain dan mensintesis protein RVD dengan tiga asam amino yang sedikit terpotong (424 asam amino), tidak terdapat regio pemotongan karena adanya polimorfisme (T-C) sehingga terlihat fragmen DNA sebesar 265 bp. (Setiabudiawan et.al, 2010)

Penelitian in vitro menunjukkan bahwa protein pendek (F-RVD)

memiliki aktivitas transkripsi yang lebih tinggi dari protein panjang. Hal ini bisa mengarah pada peningkatan fungsionalitas RVD, yang



akan memodifikasi efek dari vitamin D dalam sel dan jaringan yang berbeda. Efek polimorfisme FokI di aktivitas transkripsional dari faktor transkripsi imunospesifik pada proliferasi limfosit dan sintesis protein oleh sel imun menunjukkan keterlibatan polimorfisme dalam imunoregulasi. (Monticielo,2012)

Reseptor Vitamin D ditemukan pada monosit, makrofag, sel dendritic, sel T memori / efektor. Hal ini mendukung bahwa terjadinya polimorfisme RVD dapat memodulasi sistem imun dan rentan menjadi LES. (Mostowska,2012)

Polimorfisme FokI memiliki peran terhadap struktur protein dan aktifitas transkripsi RVD. Polimorfisme ini dapat memodifikasi proses imunomodulator vitamin D dan dapat menyebabkan efek manifestasi klinis pada LES, yaitu produksi autoantibodi. Terdapat 3 genotip gen FokI yang sering dihubungkan dengan terjadinya LES yaitu genotip ff, Ff,dan FF. Studi kontrol di India menganalisa hubungan antara polimorfisme FokI dan LES menunjukkan bahwa frekuensi *heterozigos* (Ff), *homozigos* mutan (FF) dan *minor allele* (f) signifikan lebih tinggi pada pasien LES jika dibandingkan kontrol sehat. (Mahto,2017)

