

## **II.7. Hipotesis**

Berdasarkan uraian di atas, maka hipotesis pada penelitian ini, yaitu terdapat penurunan ekspresi mRNA gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0) pada penderita katarak kongenital.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **III.1. Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*.

#### **III.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

Pengambilan sampel dilakukan di Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin. Pemeriksaan ekspresi mRNA dengan metode RT-PCR dilakukan di laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC).

Waktu penelitian adalah Februari - April 2021.

#### **III.3 Populasi dan Sampel Penelitian**

**Populasi penelitian** adalah penderita Katarak Kongenital yang menjalani pemeriksaan di Poliklinik Mata Pediatri Oftalmologi-Strabismus Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin dari penelitian sebelumnya.

**Sampel penelitian** adalah populasi penelitian yang memenuhi kriteria inklusi, yang merupakan sampel dari penelitian sebelumnya.

#### **III.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

##### **1. Kriteria Inklusi**

- a. Pasien katarak kongenital berusia kurang dari 18 tahun dengan sampel *whole blood* yang telah diambil dari penelitian sebelumnya, disimpan di lemari pendingin Laboratorium HUMRC lantai 6 RS Unhas. Sampel akan dilakukan uji kelayakan dengan spektrofotometer.
- b. Pasien kontrol berusia kurang dari 18 tahun tanpa ada Riwayat kelainan mata serta orang tua bersedia diikutsertakan dalam

penelitian dan menandatangani lembar persetujuan (*informed consent*).

## 2. Kriteria Eksklusi

- a. Sampel darah mengalami kerusakan (CT Value > 40 dengan tes spektrofotometer) atau hilang.

### III.5. Perkiraan Besar Sampel

Sampel dalam penelitian ini diambil dengan menggunakan metode *consecutive sampling* serta dalam menentukan jumlah sampel yang diambil, peneliti menggunakan formula Lameshow. (Populasi tahun 2019 diketahui sebesar 28 orang).

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot q}{D(N-1) + Z^2 \cdot p \cdot q}$$

Keterangan

D : Tingkat penyimpangan yang diinginkan 0,05 atau 0,01

Z<sup>2</sup> : Standar deviasi normal pada derajat kepercayaan (kemaknaan 95% adalah 1,96)

P : Proporsi sifat populasi. Bila tidak diketahui gunakan 0,5(50%)

q : 1-p (0,5)

N : Besarnya populasi

n : Besarnya sampel

$$n = \frac{28 \cdot (1,96)^2 \cdot 0,5 \cdot 0,5}{0,05 (28 - 1) + (1,96)^2 \cdot 0,5 \cdot 0,5}$$

$$n = \frac{26,8912}{2,3104}$$

$$n = 11,64$$

Perhitungan yang telah dilakukan menggunakan formula Lameshow didapatkan hasil 11,64 atau dibulatkan menjadi 12. Maka jumlah sampel yang digunakan adalah 12 kasus.

### **III.6. Sarana Penelitian**

#### **1. Alat dan Bahan**

##### **Alat :**

- Mesin PCR
- Alat Sentrifuge
- Waterbath
- Laminar Flow
- BSC Tipe II
- Mikropipet (1000  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 10  $\mu$ L)
- Tabung Ependorf
- Tabung PCR

##### **Bahan :**

- Sampel darah
- RNA extraction kit qiagent
- Ethanol
- Primer gen ACE
- Enzim PCR
- RNase Free Water
- Agarose
- Ethidium Bromida
- TBE 0.5 Loading Dey
- DNA Leader/Marker (100 bp)

### Primer Gen MIP/AQP0

PCR Quantitatif dengan SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa; Dalian, China)

dengan Primer untuk MIP :

Forward Primer 5'- GAG GGC CAT ATT CGC TGA GT-3'

Reverse Primer 5'- CAA ATG CCA TAG CCA CCT GC-3'

Primer GAPDH :

Forward primer 5'- CCT GCA CCA CCA ACT GCC TTA -3'

Reverse primer 5'- GGC CAT CCA CAG TCT TCT GAG -3'

### III.7. Definisi Operasional

1. Katarak kongenital : Ditegaskan berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisis. Pada anamnesis didapatkan keluhan bintik putih yang terlihat sejak lahir atau sebelum anak berusia 18 tahun. Pada pemeriksaan fisik dengan menggunakan slit lamp biomikroskop ditemukan adanya kekeruhan pada lensa.
2. Usia ditentukan berdasarkan tanggal kelahiran yang terdapat dalam rekam medik.
3. Gen MIP/AQP0 : Gen MIP mengkodekan protein intrinsik utama, juga dikenal sebagai aquaporin0 (AQP0), yang bertindak sebagai *water channel*. Gen ini terdiri dari 8 ekson.
4. *Housekeeping gene* : gen yang diperlukan untuk menjaga fungsi basal sel yang penting bagi keberadaan sel, terlepas dari peran spesifiknya dalam jaringan atau organisme. Contoh gliseraldehida-3-fosfat desidrogenase (GAPDH).
5. Ekspresi mRNA : Ekspresi gen yang dilihat pada sampel darah pasien yang mengalami katarak yang diperiksa dengan teknik RT-PCR.

Kriteria Obyektif :

Ekspresi mRNA meningkat : Perubahan tingkat ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 terhadap GAPDH > 1

Ekspresi mRNA menurun : Perubahan tingkat ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 terhadap GAPDH < 1

### III.8. Prosedur Pemeriksaan dan Pengambilan Sampel

1. Setiap penderita yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dicatat identitas kemudian orang tua penderita diberikan penjelasan mengenai tujuan dan maksud penelitian dilakukan. Bila orang tua penderita setuju penderita beserta orangtuanya menjadi subjek penelitian, orang tua penderita mengisi dan menandatangani lembar *informed consent*.
2. Identitas penderita beserta orang tuanya sebagai subyek penelitian ditulis lengkap dalam lembar penelitian yang telah disiapkan.
3. Menggunakan sampel darah dari penelitian sebelumnya.
4. Semua hasil pemeriksaan dicatat dan dibuat dalam bentuk laporan penelitian.

### III.9. Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini kami menggunakan metode Real time PCR atau *quantitative real time PCR* (qPCR) yang merupakan salah satu metode PCR yang kini sudah banyak diaplikasikan dalam biologi molekuler. Pada metode qPCR, peneliti tidak hanya dapat mendeteksi keberadaan suatu gen tertentu tetapi juga mengetahui kuantitas gen target pada sampel hingga membandingkan ekspresi gen pada sampel.

Pada qPCR, peneliti dapat mengamati proses akumulasi produk PCR bersamaan dengan terjadinya proses amplifikasi sehingga ketika alat selesai bekerja, data hasil amplifikasi dapat langsung dianalisis. Hal ini tentunya mempersingkat waktu eksperimen dan mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi karena meniadakan proses gel elektroforesis. Fluoresens yang terdapat pada reagent PCR juga memungkinkan keseluruhan proses amplifikasi terbaca, berbeda dengan jenis *endpoint* PCR dimana hanya hasil akhir amplifikasi saja yang dapat diketahui.

Ada dua jenis analisis data qPCR yang sering digunakan dalam penelitian biologi molekuler yaitu kuantifikasi absolut dan kuantifikasi relatif. Kuantifikasi absolut mengacu pada jenis analisis dimana peneliti ingin mengetahui kuantitas

atau banyaknya gen yang diteliti dalam sampel. Untuk mendapatkan jumlah absolut ini, peneliti diarahkan untuk membuat kurva standar menggunakan sampel yang sudah diketahui jumlahnya terlebih dahulu lalu kurva standar ini akan digunakan sebagai acuan untuk menghitung jumlah gen dalam sampel.

Sementara untuk kuantifikasi relatif lebih sering digunakan untuk menganalisis perbedaan *fold* pada ekspresi gen tertentu antara kelompok perlakuan yang berbeda. Jenis analisis data qPCR ini membutuhkan kontrol endogen atau sering disebut sebagai *reference/housekeeping gene*. Analisis data pada kuantifikasi relatif akan bergantung dari CT *value* yang dihasilkan oleh *reference gene* dan gen target. Pada penelitian ini, kami akan menggunakan Analisa data dengan kuantifikasi relative.

Berikut langkah-langkah RT-PCR :

### 1. Ekstaksi RNA dari sampel darah

#### Step 1. Cell Lysis :

Ditambahkan 400 uL RB Buffer dan 4 uL  $\beta$ -mercaptoethanol lalu diinkubasi selama 3 menit pada suhu ruang. Pasang filter column dengan collection tube 2 mL. Seluruh campuran dipindahkan kedalam filter column kemudian dicentrifuge 1.000 xg selama 30 detik. Secara hati-hati filter column dipindahkan kedalam tabung effendorf 1.5 mL yang baru.

#### Step 2. RNA Binding :

Ditambahkan 400 uL etanol 70% yang dipreparasi dengan ddH<sub>2</sub>O ke dalam tabung lalu pindahkan seluruh campuran ke dalam RB column (pasang RB column dengan collection tube 2 mL terlebih dahulu). Sentrifuge 14-16.000 x g selama 1 menit lalu supernatant dibuang dan pasang kembali RB column.

#### Step 3. Wash :

Sebanyak 400 uL W1 Buffer ditambahkan ke dalam RB Column lalu disentrifugasi 14-16.000 x g selama 1 menit, buang dan pasang kembali RB Column kemudian ditambahkan 600 uL Wash Buffer (Pastikan Wash Buffer sudah di tambah Ethanol) ke dalam RB column. Sentrifuge 14-16.000 xg selama 30 detik lalu buang dan pasang kembali RB column. Sebanyak 600 uL Wash Buffer ditambahkan kedalam RB Column kemudian dentrifuge 14-16.000 xg selama 30 detik. Buang dan pasang kembali RB column lalu disentrifuge kembali 14-16.000 xg selama 3 menit untuk mengeringkan matrix column

#### **Step 4. RNA Elution :**

RB Column dipindahkan ke dalam tube eppendorf 1.5 mL baru (steril) selanjutnya ditambahkan 50  $\mu$ L RNase free water (untuk meningkatkan konsentrasi RNA, inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit) lalu disentrifuge 14-16.000 xg selama 1 menit.

#### **1. Amplifikasi *complementary* DNA (cDNA) dengan Reverse Transcriptase- PCR**

Amplifikasi cDNA dari hasil ekstraksi RNA dengan RT PCR dilakukan berdasarkan metode dari Invitrogen. Metode dilakukan dengan menggunakan *Super Script First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen)*. Master mix I dibuat dengan menambahkan RNA sebanyak 5  $\mu$ g total RNA, 3  $\mu$ l *random hexamers* (50 ng/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l 10mM dNTP mix dan *nuclease free water* (H<sub>2</sub>O) sehingga total volume PCR 50  $\mu$ l. Kemudian diinkubasi sampel pada 65<sup>o</sup>C selama 5 menit dan kemudian di atas es selama minimal 1 menit.

Selanjutnya disiapkan campuran reaksi master mix II dengan menambahkan 2  $\mu$ l 10x RT buffer, 4  $\mu$ l 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 2  $\mu$ l 0,1 M DTT dan 1  $\mu$ l *RNAase out*. Tambahkan campuran reaksi ke campuran RNA / primer, campurkan sebentar, lalu tempatkan pada suhu kamar selama 2 menit. Tambahkan 1  $\mu$ l (50 unit) SuperScript II RT ke setiap tabung, campurkan dan inkubasi pada 25<sup>o</sup>C selama 10 menit, lalu diinkubasi pada 42<sup>o</sup>C selama 50 menit, untuk inaktivasi dipanaskan pada 70<sup>o</sup>C selama 15 menit, dan kemudian didinginkan di atas es. Selanjutnya ditambahkan 1  $\mu$ l RNase H dan inkubasi pada suhu 37<sup>o</sup>C selama 20 menit. Strand cDNA dapat disimpan di -20<sup>o</sup>C hingga digunakan untuk *real time* PCR.

#### **2. Pemeriksaan ekspresi gen MIP/AQP0 dengan *real time* PCR**

Pemeriksaan kekuatan ekspresi gen (*up regulation* atau *down regulation*) MIP/AQP0 menggunakan *SYBR green dye* dengan metode *real time* PCR (qPCR). Sebelum dilakukan amplifikasi dipersiapkan master mix dengan menambahkan 10  $\mu$ l SYBR green mix, 0,5  $\mu$ l cDNA, 0,8  $\mu$ l primer MIP/AQP0 forward dan 0,8  $\mu$ l primer MIP/AQP0 reverse (masing-masing primer 5 pmol/ $\mu$ l) dan 6,9  $\mu$ l H<sub>2</sub>O dengan total volume 20 $\mu$ l. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk gen GAPDH sebagai kontrol namun menggunakan urutan primer yang



berbeda. Primer GAPDH forward dan primer GAPDH reverse. Siklus qPCR dengan kondisi 50<sup>0</sup>C selama 2 menit, 95<sup>0</sup>C selama 1 menit masing-masing 1 siklus, denaturasi 95<sup>0</sup>C selama 15 detik kemudian dilanjutkan dengan *annealing* 60<sup>0</sup>C selama 30 detik dan ekstensi 72<sup>0</sup>C selama 30 detik diulang sebanyak 40 kali (siklus). Siklus terakhir yakni *final extension* pada 72<sup>0</sup>C selama 10 menit.

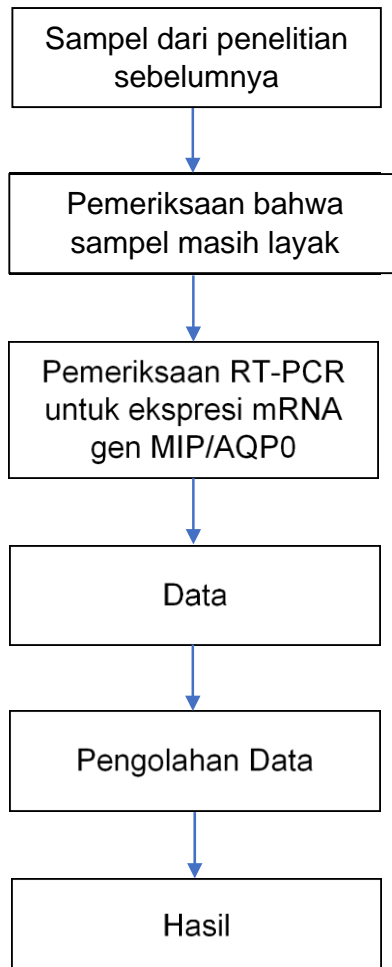
### **III.10. Analisis Data**

Data yang diperoleh akan dicatat dan dianalisa melalui piranti komputer. Hasil yang diperoleh akan ditampilkan dalam bentuk narasi yang dilengkapi dengan tabel atau grafik.

### **III.11. Izin Penelitian dan Kelayakan Etik**

Dalam penelitian ini, seluruh tindakan dilakukan atas persetujuan orang tua subyek melalui lembar *informed consent* setelah orang tua subyek menerima penjelasan atas tindakan yang akan dilakukan, serta setelah penelitian dinyatakan memenuhi persyaratan etik dan mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

### III.12. Alur Penelitian



## BAB IV HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ekspresi mRNA gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0) pada penderita katarak kongenital. Pada penelitian ini didapatkan jumlah sampel sebanyak 14 orang dari 18 orang sampel penelitian sebelumnya. Sampel berupa *whole blood* pasien katarak kongenital. Sampel ini disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu minus 80 derajat Celsius. Sampel kemudian dilakukan uji kelayakan untuk memastikan reliabilitas dari hasil RT-PCR kuantitatif yang akan dilakukan, yaitu dengan spektrofotometer. Dari 18 sampel tersebut, didapatkan 4 sampel sudah tidak layak untuk dilakukan pemeriksaan pada penelitian ini karena CT Value dari 4 sampel ini lebih dari 40 yang berarti bahwa RNA dari sampel tersebut sudah tidak layak/rusak. Selain itu pada penelitian ini menggunakan 12 sampel kontrol, yang diambil dari pasien anak tanpa katarak kongenital maupun kelainan mata lainnya. Hasil dari penelitian kami sebagai berikut :

Tabel 2. Karakteristik Pasien

<b>Karakteristik Responden</b>	<b>Frekuensi (n)</b>	<b>Persentase (%)</b>
<b>Umur (Tahun)</b>		
0-1 tahun	3	21,4
2-3 tahun	3	21,4
4-5 tahun	2	14,3
6-7 tahun	4	28,6
8-9 tahun	1	7,1
10-11 tahun	1	7,1
<b>Jenis Kelamin</b>		
Perempuan	6	42,9
Laki-Laki	8	57,1
<b>Jenis Katarak</b>		
Nuklear	8	57,1
Non-Nuklear	6	42,9

Tabel diatas menunjukkan bahwa, sampel yang terbanyak berusia 6-7 tahun yaitu sebanyak 4 orang (28,6%). Jenis kelamin yang terbanyak adalah laki-laki sebanyak 8 orang (57,1%).

Jenis katarak yang paling banyak adalah jenis nuklear sebanyak 8 orang (57,1%) dan selain jenis nuklear 6 orang (42,9%).

Tabel 3. Hubungan Jenis Kelamin Terhadap Ekspresi mRNA gen MIP/AQP0

Jenis kelamin	Ekspresi mRNA MIP/AQP0				Total		P
	Meningkat		Menurun		N	%	
	n	%	n	%			
Perempuan	3	50,0	3	37,5	6	42,9	0,53
Laki-laki	3	50,0	5	62,5	8	57,1	
<b>Total</b>	6	100,0	8	100,0	14	100,0	

Uji Chi Square, dengan kemaknaan  $p < 0,05$

Tabel 3 menunjukkan bahwa 62,5% dari pasien yang mengalami penurunan ekspresi mRNA adalah laki-laki, sedangkan pada pasien yang mengalami peningkatan ekspresi mRNA adalah sama, baik pada laki-laki (50%) maupun perempuan (50%). Berdasarkan analisis *chi square* diperoleh nilai  $p = 0,53 > 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa tidak signifikan hubungan jenis kelamin terhadap ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 pada paenderita katarak kongenital.

Tabel 4. Hubungan Jenis Katarak Terhadap Ekspresi mRNA gen MIP/AQP0

Jenis katarak	Ekspresi mRNA MIP/AQP0				Total		Nilai p
	Meningkat		Menurun		N	%	
	n	%	n	%			
Nuklear	5	83,3	3	37,5	8	57,1	0,30
Membranous	1	16,7	2	25,0	3	21,4	
Polaris Posterior	0	0	1	12,5	1	7,1	
Katarak Total	0	0	2	25,0	2	14,3	
<b>Total</b>	6	100,0	8	100,0	14	100,0	

Uji Chi Square, dengan kemaknaan  $p < 0,05$

Dari 6 pasien yang mengalami peningkatan ekspresi mRNA MIP/AQP0 paling banyak dengan jenis katarak nuklear yaitu sebanyak 5 orang (83,3%) dan tidak ada pasien dengan jenis katarak Polaris posterior dan total. Sedangkan dari 8 pasien yang mengalami penurunan ekspresi mRNA MIP/AQP0 paling banyak dengan jenis katarak nuklear yaitu sebanyak 3 orang (37,5 %). Jenis

katarak total dan Polaris posterior hanya pada sampel yang mengalami penurunan ekspresi mRNA MIP/AQP0.

Berdasarkan analisis *chi square* diperoleh nilai  $p = 0,30 > 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa tidak signifikan hubungan/korelasi antara jenis katarak terhadap ekspresi mRNA MIP/AQP0.

Tabel 5. Ekspresi mRNA Gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0) Pada Penderita Katarak Kongenital dan Kelompok Kontrol

Kelompok	Ekspresi mRNA MIP/AQP0				Total		P
	Meningkat		Menurun		N	%	
	n	%	n	%			
Kasus	6	42,9 %	8	57,1 %	14	100,0	0,225
Kontrol	8	66,7 %	4	33,3 %	12	100,0	

Uji Chi Square, dengan kemaknaan  $p < 0,05$

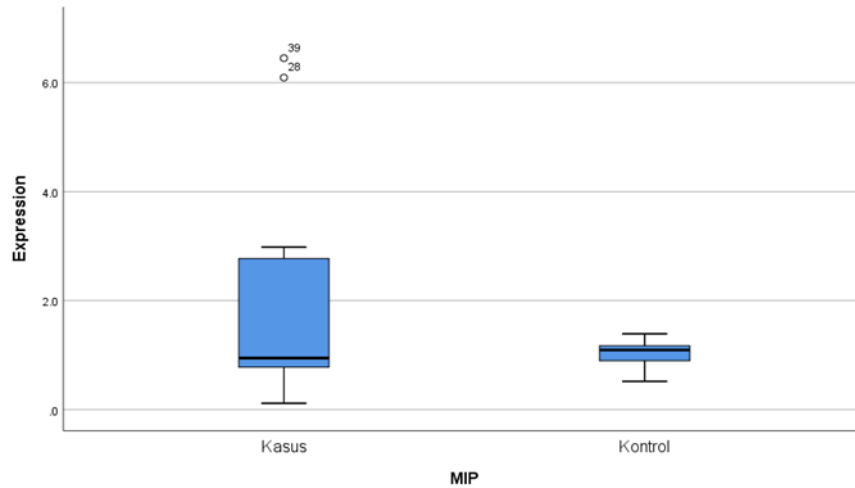
Hasil pemeriksaan ekspresi mRNA gen MIP / Aquaporin0 (AQP0) pada penderita katarak kongenital dengan RT-PCR secara kuantitatif didapatkan terjadi penurunan ekspresi pada 8 sampel dan peningkatan ekspresi pada 6 sampel. Dari hasil ini didapatkan bahwa hasil tidak signifikan terhadap penurunan ekspresi mRNA gen (MIP)/ Aquaporin0 (AQP0) pada penderita katarak kongenital dengan nilai  $p = 0.225$  ( $p > 0.05$ ).

Berdasarkan analisis ekspresi mRNA gen MIP / Aquaporin0 (AQP0) didapatkan nilai median pada kelompok kasus adalah 0.95 sedangkan pada kelompok kontrol adalah 1.09 dengan nilai  $P 0.918$  ( $P > 0.05$ ). Oleh karena *median* pada kelompok kasus hampir sama pada kelompok kontrol, maka artinya secara deskriptif ada perbedaan nilai ekspresi namun tidak signifikan.

Tabel 6. Perbandingan Ekspresi mRNA Gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0) Pada Kelompok Kasus Dan Kelompok Kontrol

Kategori	Expression					Nilai p	
	Mean	SD	Median	Minimum	Maximum		
MIP	Kasus	1.96	2.03	0.95	0.10	6.50	0.918
	Kontrol	1.04	0.23	1.09	0.50	1.40	

\* Uji Mann Whitney



Gambar 3. Perbandingan Ekspresi mRNA Gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0) Pada Kelompok Kasus Dan Kelompok Kontrol

Berdasarkan analisis pada grafik di atas, perbedaan Ekspresi mRNA gen MIP/ Aquaporin0 (AQP0) pada kelompok kasus dan kelompok kontrol didapatkan perbandingan yang tidak signifikan antara kedua kelompok ini dengan nilai  $P > 0.05$ .

## **BAB V PEMBAHASAN**

AQP0 adalah protein membran yang paling banyak di polus posterior dan serat nukleus lensa. Hal ini bisa menjelaskan mengapa kekeruhan yang disebabkan oleh mutasi pada MIP terutama terdapat di nukleus dan posterior lensa. (Song Z et al. 2015)

Namun pada penelitian ini didapatkan jenis katarak nuklear sebanyak 8 sampel (57,1%) pada sampel dengan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 yang meningkat yaitu sebanyak 5 sampel dan 3 sampel pada kasus dengan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 yang menurun. Jenis katarak polar posterior dan katarak total hanya terdapat pada pasien yang mengalami penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0.

Penelitian yang dilakukan oleh Watanabe et al tahun 2012 pada tikus didapatkan bahwa tikus yang mengalami mutasi gen MIP/AQP0 menunjukkan penurunan ekspresi mRNA MIP/AQP0 dan protein MIP, mengalami jenis katarak nuklear. (Watanabe et al., 2012)

Penelitian oleh Long et al tahun 2018, ditemukan penurunan ekspresi protein/ mRNA gen Mayor Intrinsic Protein (MIP)/ Aquaporin0 (AQP0) pada pasien katarak kongenital yang mengalami mutasi gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0), ditemukan fenotip katarak kekeruhan punggat kortikal. (Long et al. 2018)

Penelitian yang dilakukan oleh Wang W et al tahun 2010 didapatkan pasien yang mengalami mutasi MIP/AQP0 menderita katarak kongenital sutura Y dan katarak nuklear. Penelitian oleh Yang G et al tahun 2011 pada 5 generasi keluarga juga mendapatkan hasil pasien katarak kongenital yang mengalami mutasi gen MIP/AQP0 memiliki jenis katarak nuklear. Pada penelitian yang dilakukan oleh Zhou Z, et al tahun 2018, didapatkan pada *Chinese family*, kelompok keluarga yang mengalami mutasi gen MIP/AQP0 dengan katarak kongenital, didapatkan jenis katarak kongenital pada kelompok keluarga tersebut adalah katarak nuklear, katarak polar posterior, dan katarak total. Pada penelitian Yu Y, et al tahun 2014 didapatkan fenotip katarak sutural Y dengan kekeruhan punggat pada korteks sampel dengan katarak kongenital yang mengalami mutasi gen MIP/AQP0. Dimana mutasi pada gen MIP/AQP0 akan menghambat pembentukan sutura yang berperan untuk menjaga arsitektur lensa. Fenotipe katarak sangat berbeda di antara keluarga dengan mutasi gen MIP/AQP0, hal ini menunjukkan adanya

heterogenitas klinis yang luas pada katarak herediter. (Wang W et al., 2010, Yang G et al., 2011, Yu Y et al., 2014)

Pada penelitian ini, didapatkan bahwa 8 orang sampel mengalami penurunan ekspresi mRNA gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ishida H et al tahun 2020, yang dilakukan pada tikus yang mengalami katarak, didapatkan bahwa terjadi *downregulation* pada ekspresi mRNA gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0) dan beberapa gen yang berperan dalam menjaga transparansi lensa.

Pada penelitian ini sebagian besar sampel yaitu 57,1% mengalami penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0. Meskipun tidak signifikan secara statistik, namun frekuensi kejadiannya lebih besar. Hal ini sejalan dengan penelitian lainnya.

Penelitian lainnya oleh Yuan C et al tahun 2018 dan Long et al tahun 2018, ditemukan penurunan ekspresi mRNA gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0) pada pasien katarak kongenital yang mengalami mutasi gen Mayor Intrinsic Protein (MIP) / Aquaporin0 (AQP0). Pada penelitian tersebut ditemukan bahwa selain terjadi penurunan ekspresi mRNA MIP, juga terjadi mutasi gen MIP/AQP0. (Long et al., 2018, Yuan C et al., 2018)

Penelitian yang dilakukan oleh Watanabe et al tahun 2012 pada tikus didapatkan bahwa tikus yang mengalami mutasi gen MIP/AQP0 menunjukkan penurunan ekspresi mRNA MIP/AQP0 dan protein MIP. Hasil ini menunjukkan bahwa mutasi pada gen MIP/AQP0 ini menyebabkan hilangnya fungsi, yang menyebabkan inaktivasi fungsional dari degradasi mRNA MIP/AQP0 oleh mekanisme penurunan mRNA. (Shiels et al., 2001, Watanabe et al., 2012).

Pada penelitian terhadap mutasi PITX 3 yang dilakukan sebelumnya oleh Rahmah MN., 2020 dengan sampel yang sama, didapatkan bahwa terdapat 2 sampel yang mengalami mutasi delesi PITX3, pada penelitian ini didapatkan terjadi penurunan ekspresi mRNA pada gen MIP/AQP0. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara PITX3 dengan MIP/AQP0. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Sorokina EA et al. pada tahun 2011 menunjukkan bahwa PITX3 terlibat dalam regulasi langsung ekspresi MIP/AQP0 dan bahwa perubahan ekspresi MIP/AQP0 cenderung berkontribusi pada fenotipe lensa pada pasien katarak dengan mutasi PITX3. (Sorokina EA et al. 2011)

PITX3 mengatur secara langsung ekspresi AQP0/MIP selama perkembangan lensa, sehingga mendukung bahwa perubahan ekspresi AQP0/MIP berkontribusi terhadap fenotip lensa pada pasien yang mengalami mutasi



PITX3. (Reis LM and Semina EV., 2016)

Pada penelitian kami, sebanyak 42,9% sampel juga mengalami peningkatan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh karena banyak faktor genetik, yaitu beberapa gen yang berperan dalam terjadinya katarak. Meskipun demikian, karena penyebab katarak dapat berasal dari beberapa gen, terdapat kemungkinan bahwa pada sampel dengan ekspresi mRNA pada gen MIP/AQP0 yang meningkat dapat disebabkan oleh adanya mutasi pada gen lainnya selain gen PITX3 dan MIP/AQP0 sendiri.

Pada penelitian lain yang dilakukan dengan sampel yang sama oleh Lay M., 2022 dilakukan pemeriksaan ekspresi mRNA gen *Forkhead box protein E3* (FOXE3). Pada penelitian kami ini didapatkan 5 dari 6 sampel yang mengalami peningkatan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0, sebaliknya mengalami penurunan ekspresi mRNA gen FOXE3. Hal ini sesuai bahwa FOXE3 adalah salah satu gen yang berperan dalam proses terjadinya katarak. Dimana gangguan pada FOXE3 menyebabkan kelainan diferensiasi serat lensa, juga menghambat terjadinya elongasi. Namun, kedua gen ini tidak saling mempengaruhi. (Medina Martinez et al, 2005 & 2007, Anand et al.,2018)

Terdapat banyak gen yang berperan pada terbentuknya katarak kongenital ini, MIP/AQP0 merupakan salah satu gen yang berperan banyak dalam terbentuknya katarak kongenital. Mutasi pada gen MIP/AQP0 hanya menghasilkan katarak tanpa manifestasi lain, dan semuanya diwariskan dalam pola dominan autosomal. (Messina-Baas et al., 2017). Namun yang mengalami peningkatan ekspresi mRNA kemungkinan disebabkan oleh gen yang lainnya. Kemudian pada penelitian-penelitian sebelumnya, dilakukan penelitian mutasi MIP/AQP0 sekaligus pemeriksaan ekspresi gen MIP/AQP0 ini, sehingga ditemukan bahwa katarak kongenital yang mengalami mutasi MIP/AQP0, mengalami penurunan ekspresi mRNA MIP/AQP0. Jadi, dari penelitian ini dan penelusuran penelitian-penelitian sebelumnya bisa kita dapatkan bahwa pada penderita katarak kongenital yang mengalami penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 kemungkinan besar juga mengalami mutasi pada gen MIP/AQP0 tersebut. Adapun pada penelitian kami ini, tidak dilakukan pemeriksaan terhadap mutasi gen, ditemukan ada 8 (57,1%) sampel yang mengalami penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 dan sisanya mengalami peningkatan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0, bisa ditarik kesimpulan bahwa tidak signifikan untuk terjadi penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 pada katarak kongenital karena masih banyak gen-gen

yang lain yang turut serta berperan pada terjadinya katarak kongenital, namun pada gen MIP/AQP0 ini murni hanya menyebabkan katarak tanpa adanya manifestasi lain pada pasien tersebut. Jadi, kemungkinan pada pasien yang tidak mengalami penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP 0, disebabkan oleh gen yang lain. Meskipun secara statistik tidak signifikan namun persentase yang mengalami penurunan ekspresi mRNA/AQP0 gen MIP/AQP0 lebih banyak.

### **Keterbatasan Penelitian**

Penelitian ini masih memerlukan data pendukung lainnya untuk menentukan hubungan dan penyebab peningkatan dan penurunan ekspresi mRNA/AQP0 pada gen MIP/AQP0. Namun penelitian akan hal ini masih sangat kurang dilakukan sehingga informasi dasar yang mendukung penelitian ini masih terbatas.

Pada penelitian ini juga dilakukan dengan jumlah sampel yang sedikit dan tidak dilakukan pemeriksaan mutasi terhadap gen MIP/AQP0 sehingga hanya menilai adanya perubahan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0.

## **BAB VI PENUTUP**

### **VI.1. Kesimpulan**

1. Pada penelitian ini didapatkan bahwa terdapat penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 pada penderita katarak kongenital.
2. Pada penelitian ini didapatkan bahwa penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 terdapat pada 8 sampel dan peningkatan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0 terdapat pada 6 sampel.
3. Pada penelitian ini didapatkan bahwa pasien yang mengalami peningkatan dan penurunan ekspresi mRNA MIP/AQP0 paling banyak adalah jenis katarak nuklear. Jenis katarak total dan polaris posterior hanya pada sampel yang mengalami penurunan ekspresi mRNA gen MIP/AQP0.

### **VI.2. Saran**

1. Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak.
2. Sebaiknya dilakukan penelitian mengenai mutasi pada gen MIP/AQP0.
3. Sebaiknya dilakukan penelitian mengenai gen lain yang berperan dalam katarak kongenital.

## DAFTAR PUSTAKA

Anand D, Agrawal SA, Slavotinek A, Lachke SA. *Mutation Update of Transcription Factor Genes FOXE3, HSF4, MAF, and PITX3 Causing Cataracts and Other developmental Ocular Defects*. Hum Mutat. 2018 Apr; 39(4): 471–494. Doi: 10.1002/humu.23395

Beby F et al. 2003. The genetics of hereditary cataract. J Fr Ophtalmol.;26(4):400-8. French.

Berry V et al. 2001. Alpha-B crystalline gene (CRYAB) mutation causes dominant congenital posterior polar cataract in humans. Am J Hum Genet.;69(5):1141-5.

Bhat SP. 2003. Crystallins, genes and cataract. Prog Drug Res;60:205-63.

Blixt, A et al. 2000. A forkhead gene, FoxE3, is essential for lens epithelial proliferation and closure of the lens vesicle. Genes Dev. 14, 245–254.

Brouwer A et al. 2003. The OAR/aristaless domain of the homeodomain protein Cart1 has an attenuating role in vivo. Mech Dev;120:241–52.

Brownell, I et al. 2000. Forkhead Foxe3 maps to the dysgenetic lens locus and is critical in lens development and differentiation. Genesis 27, 81–93.

Chepelinsky AB. 2009. Structural function of MIP/aquaporin 0 in the eye lens; genetic defects lead to congenital inherited cataracts. Handb Exp Pharmacol 190: 265–297.

Conley YP et al. 2000 A juvenile-onset, progressive cataract locus on chromosome 3q21-q22 is associated with a missense mutation in the beaded filament structural protein-2. Am J Hum Genet.;66(4):1426-31.

Dutta, S et al., 2005. pitx3 defines an equivalence domain for lens and anterior pituitary placode. Development 132, 1579–1590.

Fan et al. 2019. A novel mutation in the OAR domain of PITX3 associated with congenital posterior subcapsular cataract. BMC Medical Genetics 20:42. <https://doi.org/10.1186/s12881-019-0782-2>.

Foster A, Gilbert C, Rahi J. 1997. Epidemiology of cataract in childhood: a global perspective. J Cataract Refract Surg 23 Suppl 1:601–604.

Forster JE et al. 2006. Grading infantile cataracts. Ophthalmic Physiol Opt.;26:372–379.

Greiling TM and Clark JI. 2012. New Insights into the Mechanism of Lens Development Using Zebra Fish. Department of Biological Structure, University of Washington, Seattle, Washington, USA.

Gilbert C, Foster A. 2001. Childhood blindness in the context of VISION 2020—the right to sight. *Bull World Health Organ* 79:227–232.

Gilbert C et al. 1993. Causes of childhood blindness: results from west Africa, south India and Chile. *Eye (Lond)* 7:184–188.

Grimm, C et al. 1998. Aphakia (ak), a mouse mutation affecting early eye development: fine mapping, consideration of candidate genes and altered Pax6 and Six3 gene expression pattern. *Dev. Genet.* 23, 299–316.

Gu S, Biswas S, Rodriguez L, et al. 2019. Connexin 50 and AQP0 are essential in maintaining organization and integrity of lens fibers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* ;60:4021– 4032. <https://doi.org/10.1167/ iovs.18-26270>

Gupta, Varun B et al. 2014. Etiopathogenesis of cataract: An appraisal. *Indian J Ophthalmol.*; 62(2): 103–110.

Haargaard B et al. 2004. A nation wide Danish study of 1027 cases of congenital / infantile cataracts: etiological and clinical lassifications. *Ophthalmology.* ;111:2292–2298.

Hansen, L et al., 2006 The congenital -ant-eggll cataract phenotype is caused by a missense mutation in connexin46. *Mol. Vis.* 12: 1033–1039.

Hansen L et al. 2007. Genetic heterogeneity in microcornea-cataract: five novel mutations in CRYAA, CRYGD, and GJA8. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48:3937–3944.

Hejtmancik JF. 2008. Congenital cataracts and their molecular genetics. *Semin Cell Dev Biol* 19:134–149.

Hidetoshi I, Shibata T, Nakamura Y, et al. 2020. Identification of Differential Gene Expression Pattern in Lens Epithelial Cells Derived from Cataractous and Noncataractous Lenses of Shumiya Cataract Rat. *Hindawi BioMed Research International Volume 2020, Article ID 7319590, 9 pages.*

Hoehenwarter W, Klose J, Jungblut PR. 2006. Eye lens proteomics. *Amino Acids* 30: 369–389.

Ho, H.Y et al. 2009. Homeodomain protein Pitx3 maintains the mitotic activity of lens epithelial cells. *Mech. Dev.* 126, 18–29.

Huang B, He W. 2010. Molecular characteristics of inherited congenital cataracts. *Eur J Med Genet* 53:347–357.

Jiang, B. et al. 2017. Identification of a novel missense mutation of MIP in a Chinese family with congenital cataracts by target region capture sequencing. *Sci. Rep.* 7, 40129; doi: 10.1038/srep40129.

Kamachi Y et al. 2001. Pax6 and SOX2 form a co-DNA-binding partner complex that regulates initiation of lens development. *Genes Dev* 15: 1272–1286.

Kannabiran C, Balasubramanian D. 2000. Molecular genetics of cataract. *Indian J Ophthalmol.* ;48(1):5-13.

Kenyon, K.L et al. 1999. A novel fork head gene mediates early steps during *Xenopus* lens formation. *Development* 126, 5107–5116.

Khan L et al. 2018. Genetics of congenital cataract, its diagnosis and therapeutics. *Egypt J Basic Appl Sci [Internet]* 5(4):252–7.

Khokhar SK et al. 2017. Pediatric Cataract. 65:1340-9. *Indian Journal of Ophthalmology APIJO*.

KL. Schey et al. 2013. Aquaporins in the eye: Expression, function, and roles in ocular disease. Department of Biochemistry, Vanderbilt School of Medicine, Vanderbilt University, Nashville, TN 37232, USA

Kondoh H, Uchikawa M, Kamachi Y. 2004. Interplay of Pax6 and SOX2 in lens development as a paradigm of genetic switch mechanisms for cell differentiation. *Int J Dev Biol* 48: 819–827.

Kristie M et al. 2006. The C Terminus of Lens Aquaporin 0 Interacts with the Cytoskeletal Proteins Filensin and CP49. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*;47(4):1562-1570. doi: <https://doi.org/10.1167/iovs.05-1313>.

Kumar et al. 2013. An *MIP/AQP0* mutation with impaired trafficking and function underlies an autosomal dominant congenital lamellar cataract. *Exp Eye Res*; 110: 136–141. doi:10.1016/j.exer.2012.10.010.

Lay M, et al. 2022. mRNA expression of Forkhead Box Protein E3 (FOXE3) in Congenital Cataract Patients. Ophthalmology Department, Faculty of Medicine, Hasanuddin University. (Unpublished Manuscript)

Li J, Leng Y, Han S, et al. 2018. Clinical and genetic characteristics of Chinese patients with familial or sporadic pediatric cataract. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 13:94.

Lin H, Lin D, Liu Z et al. 2016. A novel congenital cataract category system based on lens opacity locations and relevant anterior segment characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:6389–6395.

Long X, Huang Y, Tan H, et al. 2018. Identification of a novel MIP frameshift mutation associated with congenital cataract in a Chinese family by whole-exome sequencing and functional analysis. *The Royal College Of Ophthalmologists*.

Lovicu FJ, Overbeek PA. 1998. Overlapping effects of different members of the FGF family on lens fiber differentiation in transgenic mice. *Development* 125: 3365–3377.

Marner E, Rosenberg T, Eiberg H. 1989. Autosomal dominant congenital cataract: morphology and genetic mapping. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 67: 151–158.

Medina-Martinez O, Brownell I, Amaya-Manzanares F, Hu O, Behringer RR, Jamrich M. *Severe Defects in Proliferation and Differentiation of Lens Cells in FoxE3 Null Mice*. 2005. *Molecular and Cellular Biology*, Oct. 2005, p. 8854-8863. doi: 10.1128/MCB.25.20.8854-8863.2005

Medina-Martinez O, Jamrich M. *Foxe View of Lens development and disease*. *Development* 134, 1455-1463 (2007). doi: 10.1242/dev.000117

McAvoy JW, Chamberlain CG. 1989. Fibroblast growth factor (FGF) induces different responses in lens epithelial cells depending on its concentration. *Development* 107: 221–228.

Medina-Martinez, O et al. 2009. Pitx3 controls multiple aspects of lens development. *Dev. Dyn.* 238, 2193–2201.

Messina-Baas O, Cuevas-Covarrubias SA. 2017. Inherited Congenital Cataract: A Guide to Suspect the Genetic Etiology in the Cataract Genesis. *Mol Syndromol.* 8(2):58–78.

Mohan A KN. 2017. Pattern of presentation of Hospital-based, pediatric cataract in tribes of hills of Western India: A Ophthalmology, retrospective study at Global Hospital Institute of Mount Abu. *J Clin Sci.* 14:178–81.

Muhit M, Gilbert C. 2003. A review of the epidemiology and control of childhood blindness. *Trop Doct* 33:197–201.

Ogino H et al. 2012. Transcription factors involved in lens development from the preplacodal ectoderm. *Dev Biol.* 363(2):333–47.

Ormestad, M et al. 2002. Foxe3 haploinsufficiency in mice: a model for Peters' anomaly. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 43, 1350–1357.

Pichi F et al. 2016. *Genetics of Congenital Cataract*. Cole Eye Institute, Cleveland Clinic 9500 Euclid Avenue Cleveland, USA.

Rahmah MN, et al. (2020). mRNA Expression And Mutation Of Pitx-3 Gene In Congenital Cataract Caused By Rubella Virus Infection. Ophthalmology Department, Faculty of Medicine, Hasanuddin University. (Unpublished manuscript)

Reddy MA et al. 2004. Characterization of the G91del CRYBA1/3 crystallin protein: a cause of human inherited cataract. *Hum Mol Genet.* ;13(9):945-53.

Reddy, M. A et al. 2004. Molecular genetic basis of inherited cataract and associated phenotypes. *Surv. Ophthalmol.* 49: 300–315.

Reis LM and Semina EV. 2016. *PITX2 and PITX3: Axenfeld-Rieger Syndrome, Anterior Segment Dysgenesis, Posterior Polar Congenital Cataract (CPP4), and Microphthalmia with Neurological Impairment*. Oxford University Press.

Rieger, D.K et al. 2001. A double-deletion mutation in the Pitx3 gene causes arrested lens development in aphakia mice. *Genomics* 72, 61–72.

Semina, E.V et al. 1997. Isolation of a new homeobox gene belonging to the Pitx/Rieg family: expression during lens development and mapping to the aphakia region on mouse chromosome 19. *Hum. Mol. Genet.* 6, 2109–2116.

Semina EV et al. 1998 A novel homeobox gene PITX3 is mutated in families with autosomal-dominant cataract and ASMD. *Nat Genet.*;19(2):167-70.

Semina, E.V et al. 2001. Mutations in the human forkhead transcription factor FOXE3 associated with anterior segment ocular dysgenesis and cataracts. *Hum. Mol. Genet.* 10, 231–236.

Shentu X et al. 2015. Identification and Functional Analysis of a Novel MIP Gene Mutation Associated with Congenital Cataract in a Chinese Family. *PLoS ONE* 10(5): e0126679.

Shiels A et al. 1998. A missense mutation in the human conAnexion 50 gene (GJA8) underlies autosomal dominant -zonular pulverulentll cataract, on chromosome 1q. *Am J Hum Genet.*;62(3):526-32.

Shiels A, Hejtmancik JF. 2007. Genetic origins of cataract. *Arch Ophthalmol* 125:165–173.

Shiels A, Bennett TM, Hejtmancik JF. 2010. Cat-Map: putting cataract on the map. *Mol Vis* 16:2007–2015.

Shiels A and Hejtmancik. 2015. Molecular Genetics of Cataract. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015 ; 134: 203–218. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.05.004.

Shiels A and Hejtmancik JF. 2017. Molecular Genetics of Cataract. *Prog Mol Biol Transl Sci.* Author manuscript; available in PMC.

Slavotinek AM. 2011. Eye development genes and known syndromes. *Mol Genet Metab* 104:448–456.

Son, A.I., Park, J.E. & Zhou, R. 2012 The role of Eph receptors in lens function and disease. *Sci. China Life Sci.* 55,434–444. <https://doi.org/10.1007/s11427-012-4318-7>.

Song Z et al. 2015. A Novel Nonsense Mutation in the MIP Gene Linked to Congenital Posterior Polar Cataracts in a Chinese Family. *PLoS ONE* 10(3): e0119296. doi:10.1371/ journal.

Sorokina EA et al. 2011. MIP/Aquaporin 0 Represents a Direct Transcriptional Target of PITX3 in the Developing Lens. *PLoS ONE* 6(6): e21122. doi:10.1371/journal.

Sun W et al. 2020. The relationship between major intrinsic protein genes and cataract. Springer Nature B.V. *Int Ophthalmol* <https://doi.org/10.1007/s10792-020-01583-2>.



Takahashi G, Hasegawa S, Fukutomi Y, et al. 2017. A novel missense mutation of *Mip* causes semi-dominant cataracts in the *Nat* mouse. Japanese Association for Laboratory Animal Science.

Varadaraj, K., Kumari, S.S. and Mathias, R.T. 2007, Functional expression of aquaporins in embryonic, postnatal, and adult mouse lenses. *Dev. Dyn.*, 236: 1319-1328. <https://doi.org/10.1002/dvdy.21125>

Vidya NG, Ganatra D, Vasavada AR. RS. 2018. Association of FOXE3-p.Ala170Ala and PITX3-p. Ile95Ile Polymorphisms with Congenital Cataract and Microphthalmia. *J Ophthalmic Vis Res.*;13:397–402.

Wada K et al. 2014. Expression of Truncated PITX3 in the Developing Lens Leads to Microphthalmia and Aphakia in Mice. *PLoS ONE* 9(10): e111432. doi:10.1371/journal.

Wang, K et al. 2011 A novel mutation in MIP associated with congenital nuclear cataract in a Chinese family. *Mol. Vis.* 17: 70–77.

Wang W et al. 2010. A novel mutation in the major intrinsic protein (MIP) associated with autosomal dominant congenital cataracts in a Chinese family. *Molecular Vision*;16:534-539 <<http://www.molvis.org/molvis/v16/a60>>.

Wang Z and Schey KL. 2011. Aquaporin-0 interacts with the FERM domain of ezrin/radixin/moesin proteins in the ocular lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* ;52(8):5079-87. doi: 10.1167/iovs.10 6998. PMID :21642618; PMCID : PMC3176042.

Wang, Z and Schey, K. L. 2017. Identification of a direct Aquaporin-0 binding site in the lens-specific cytoskeletal protein filensin. *Experimental eye research*, 159, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.02.012>.

Watanabe K, Wada K, Ohashi T, et al. 2012. A 5-bp Insertion in *Mip* Causes Recessive Congenital Cataract in KFRS4/Kyo Rats. *PLoS ONE* 7(11): e50737. doi:10.1371/journal.pone.0050737.

Wilson ME et al. 2011. Clinical characteristics and early postoperative outcomes of pediatric cataract surgery with IOL implantation from Lahan, Nepal. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.*; 48:286–291.

Wilson ME et al. 2011. The Infant Aphakia Treatment Study: evaluation of cataract morphology in eyes with monocular cataracts. *J AAPOS.*;15:421–426.

Wirth MG et al. 2002. Aetiology of congenital and paediatric cataract in an Australian population. *Br J Ophthalmol* 86:782–786.

Wu Z, Meng D, Fang C, et al. 2019. PITX3 mutations associated with autosomal dominant congenital cataract in the Chinese population. *MOLECULAR MEDICINE REPORTS* 19: 3123-313.

Yang G et al. 2011. A novel mutation in the MIP gene is associated with autosomal dominant congenital nuclear cataract in a Chinese family. *Molecular*

Vision 2011; 17:1320-1323.

Yi HO, Hsin et al. 2008. Homeodomain protein Pitx3 maintains the mitotic activity of lens epithelial cells. UK Medical Research Council and a Ph.D. studentship from the School of Biological Sciences, Edinburgh University (HH).

Yuan C, Han T, Su P, et al. 2018. A novel MIP mutation in a Chinese family with congenital cataract. *Ophthalmic Genetics* 2018, Vol. 39, No. 4, 473–476.

Yu Y, Yu Yi, Chen P, et al. 2014. A novel MIP gene mutation associated with autosomal dominant congenital cataracts in a Chinese family. *BMC Medical Genetics* 2014, 15:6.

Zaid, Abdulrahman. 2018. *Cataracts Pathophysiology and Managements*. King Abdulaziz University.

## LAMPIRAN



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN FAKULTAS KEDOKTERAN  
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
RSPTN UNIVERSITAS HASANUDDIN  
RSUP Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR  
Sekretariat : Lantai 2 Gedung Laboratorium Terpadu  
JL.PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10 MAKASSAR 90245.



Contact Person: dr. Agussalim Bukhari.,MMed,PhD, SpGK TELP. 081241850858, 0411 5780103, Fax : 0411-581431

### REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK

Nomor : 150/UN4.6.4.5.31/ PP36/ 2021

Tanggal: 8 Maret 2021

Dengan ini Menyatakan bahwa Protokol dan Dokumen yang Berhubungan Dengan Protokol berikut ini telah mendapatkan Persetujuan Etik :

No Protokol	UH21010052	No Sponsor Protokol	
Peneliti Utama	<b>dr. Gerhanawati</b>	Sponsor	
Judul Peneliti	Ekspresi mRNA Gen Mayor Intrinsic Protein/Aquaporin 0 Pada Penderita Katarak Kongenital		
No Versi Protokol	1	Tanggal Versi	28 Januari 2021
No Versi PSP	1	Tanggal Versi	28 Januari 2021
Tempat Penelitian	<b>Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanudddin dan Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC) Makassar</b>		
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard Tanggal	Masa Berlaku <b>8 Maret 2021</b> sampai <b>8 Maret 2022</b>	Frekuensi review lanjutan
Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan FKUH	Nama <b>Prof.Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc.,Sp.GK (K)</b>	Tanda tangan	
Sekretaris Komisi Etik Penelitian Kesehatan FKUH	Nama <b>dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K)</b>	Tanda tangan	

Kewajiban Peneliti Utama:

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum di implementasikan
- Menyerahkan Laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 Jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan Lapor SUSAR dalam 72 Jam setelah Peneliti Utama menerima laporan
- Menyerahkan Laporan Kemajuan (progress report) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah
- Menyerahkan laporan akhir setelah Penelitian berakhir
- Melaporkan penyimpangan dari protokol yang disetujui (protocol deviation / violation)
- Mematuhi semua peraturan yang ditentukan

## FORMULIR PERSETUJUAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : .....

Umur : ..... tahun

Alamat : .....

Telepon/HP : .....

Menyatakan bersedia untuk berpartisipasi pada penelitian ini yang berjudul :

**“Ekspresi mRNA Gen *Major Intrinsic Protein/Aquaporin0* Pada Penderita Katarak Kongenital“**

Setelah mendengar/membaca dan mengerti penjelasan yang diberikan mengenai tujuan dan manfaat yang akan didapatkan pada penelitian ini, khususnya bagi kemajuan ilmu kedokteran.

Makassar, .....

Saksi I

Saksi II

(.....)

(.....)

Penanggung jawab penelitian :

dr. Gerhanawati

Griya Bakti Utama A2-11, Jln. Perintis Kemerdekaan 3  
Tamalanrea

Telp. 082393277720

Penanggung jawab medik :

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M (K), M.MedEd

Jln. Bunaken No. 16, Bukit Baruga Antang

Telp. 08152541665

DISETUJUI OLEH KOMISI PENELITIAN  
KESEHATAN FAKULTAS  
KEDOKTERAN UNHAS  
TGL.....2021

**DATA PASIEN SAMPEL PENELITIAN**

<b>NO</b>	<b>Nama</b>	<b>Tgl. Lahir/ Umur (thn)</b>	<b>Jenis Kelamin</b>	<b>Jenis Katarak</b>	<b>Unilateral/ Bilateral</b>	<b>Mikrof- talmia</b>	<b>Rekam Medik</b>
1	Waode Karunia	5	P	Nuklear	Bilateral	(+)	129576
2	Esterlien Deva	6	P	Nuklear	Bilateral	(-)	131761
3	Muh. Rafa	3	L	Nuklear	Unilateral	(-)	90213
4	Aditia	7	L	Membranous	Unilateral	(-)	132488
5	Ahmad Alvin	2	L	Nuklear	Unilateral	(-)	132463
6	Arsya	1 thn 10 bln	L	Membranous	Unilateral	(-)	133516
7	Naylan	4 bulan	L	Polaris posterior	Unilateral	(-)	134045
8	Muh. Zahrul	1 thn 6 bln	L	Total	Bilateral	(-)	128550
9	M. Jafar	11 thn	L	Nuklear	Bilateral	(-)	102187
10	Silvia	6 thn	P	Nuklear	Bilateral	(-)	136260
11	Nirwana	8 thn	P	Nuklear	Bilateral	(-)	135395
12	A. Luthfia	6 thn	P	Total	Bilateral	(+)	140701
13	Alfatih	2 thn	L	Nuklear	Bilateral	(-)	907441
14	Yumna	4 thn	P	Membranous	Unilateral	(+)	911422

## OUTPUT DATA ANALYSIS

Target	Biological Group Sample	Control	Expression	Expression SEM	Corrected Expression SEM	Mean Cq	Cq SEM
MIP	KASUS_ADITIA		0.90978	0.00000	0.00000	23.40	0.00000
MIP	KASUS_AHMAD ALVIN		6.09205	0.00000	0.00000	29.88	0.00000
MIP	KASUS_AL FATIH		0.80553	0.18272	0.18272	29.38	0.01851
MIP	KASUS_ANDI LUTFI		0.11494	0.24153	0.24153	31.44	3.03161
MIP	KASUS_ARSYA		1.17889	0.10466	0.10466	26.39	0.05943
MIP	KASUS_ESTERLIEN		2.98237	0.00000	0.00000	31.06	0.00000
MIP	KASUS_MUH SAHRUL		0.89127	0.07634	0.07634	26.43	0.09504
MIP	KASUS_MUH. JAFAR		0.77932	0.23083	0.23083	28.12	0.39983
MIP	KASUS_MUH. RAFA		2.48217	0.95113	0.95113	29.61	0.12753
MIP	KASUS_NAILAN		0.67872	0.12224	0.12224	25.57	0.08537
MIP	KASUS_NIRWANA		0.98173	0.11374	0.11374	25.16	0.06197
MIP	KASUS_SILVIA		2.77010	1.03748	1.03748	32.19	0.53834
MIP	KASUS_WAODE KARUNIA		6.45005	0.00000	0.00000	30.08	0.00000
MIP	KASUS_YUMNA		0.36067	0.00000	0.00000	25.86	0.00000
MIP	KONTROL_ANNA		0.84578	0.12490	0.12490	25.41	0.20212
MIP	KONTROL_ARSYA		0.51833	0.50042	0.50042	28.41	1.38799
MIP	KONTROL_ASWAR		1.39045	0.42734	0.42734	23.13	0.06991
MIP	KONTROL_AUFA		1.01473	0.12999	0.12999	23.74	0.04814
MIP	KONTROL_FARA		1.13676	0.26971	0.26971	25.73	0.29197
MIP	KONTROL_KENZO		0.83308	0.05400	0.05400	26.56	0.09319
MIP	KONTROL_MUH. RASYAB		0.95032	0.12248	0.12248	25.17	0.11267
MIP	KONTROL_NUR HIDAYAT		1.13535	0.17970	0.17970	21.99	0.22821
MIP	KONTROL_NURQAILA		1.16299	0.20736	0.20736	25.33	0.18898
MIP	KONTROL_QHAYZA		1.17925	0.20392	0.20392	28.53	0.23879
MIP	KONTROL_RAJA		1.05187	0.19479	0.19479	25.51	0.26499
MIP	KONTROL_WAFIQ		1.21444	0.17698	0.17698	26.90	0.20956

## **OUTPUT DATA ANALYSIS**

Target	Biological Group	Control	Expression	Expression 95% CI Low	Expression 95% CI High
MIP	KASUS		1.44981	0.71697	2.93172
GAPDH	KONTROL		1.00000	0.87824	1.13864

## BIODATA PENELITI

Nama Mahasiswa : dr. Gerhanawati  
Nomor Pokok : C 025172004  
Alamat : Griya Bakti Utama A2-11, Makassar  
Program Pendidikan : Dokter Spesialis Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
Program Studi : Ilmu Kesehatan Mata  
Judul Tesis : Ekspresi mRNA Gen *Mayor Intrinsic Protein/* Aquaporin0 Pada Penderita Katarak Kongenital

### 1. Riwayat Pendidikan:

NO.	STRATA	INSTITUSI	TEMPAT	TAHUN LULUS
1.	SD	SDN Kakatua	Makassar	1995
2.	SLTP	SLTP Negeri 3	Makassar	1998
3.	SMU	SMU Negeri 17	Makassar	2001
4.	S1	FK Universitas Hasanuddin	Makassar	2007
5.	PPDS	Bagian Ilmu Kesehatan Mata FK UNHAS	Makassar	Sementara Pendidikan

### 2. Riwayat Pelatihan

NO.	PELATIHAN	INSTITUSI	TEMPAT	TAHUN
	---			

### 3. Riwayat pekerjaan

NO.	INSTANSI	TEMPAT	KEDUDUKAN	PERIODE
1.	Puskesmas Tammero'do	Majene	Dokter Umum	2008-2009
2.	Puskesmas Liukang Tupabbiring	Pulau Balang Lompo Pangkep	Dokter Umum	2009-2014
3.	Puskesmas Antara	Makassar	Dokter Umum	2014-2017



