

**KARYA AKHIR**  
**ANALISIS POLIMORFISME GEN *HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA)***  
**TERHADAP KEJADIAN KOMPLIKASI MAKROVASKULAR PADA PASIEN**  
**DIABETES MELITUS TIPE 2**

***ANALYSIS OF GENE POLYMORPHISM OF HUMAN PLATELET***  
***ANTIGEN (HPA) ON THE INCIDENCE OF MACROVASCULAR***  
***COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS***

**HERMAWAN**

**C108215203**



**PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**MAKASSAR**

**2022**

**ANALISIS POLIMORFISME GEN *HUMAN PLATELET ANTIGEN* (HPA)  
TERHADAP KEJADIAN KOMPLIKASI MAKROVASKULAR PADA PASIEN  
DIABETES MELITUS TIPE 2**

Karya Akhir

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

Program Studi

Ilmu Patologi Klinik

Disusun dan Diajukan oleh

**HERMAWAN**

**C108215203**

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU PATOLOGI KLINIK  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN /  
RSUP DR. WAHIDIN SUDIROHUSODO  
MAKASSAR**

**2022**

**TESIS**

**ANALISIS POLIMORFISME GEN *HUMAN PLATELET ANTIGEN* (HPA)  
TERHADAP KEJADIAN KOMPLIKASI MAKROVASKULAR PADA  
PASIEN DIABETES MELITUS TIPE 2**

**Disusun dan diajukan oleh:**

**HERMAWAN  
NIM: C108215203**

**Telah dipertahankan didepan Panitia Ujian yang dibentuk dalam  
rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu  
Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 17 Oktober 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Menyetujui**

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

**Dr. dr. Rachmawati Muhiddin, Sp.PK(K)**  
NIP. 19680103 199712 2 001

**Dr. dr. Liong Boy Kurniawan, M.Kes.Sp.PK (K)**  
NIP. 19840714 201012 1 008

Ketua Program Studi  
Ilmu Patologi Klinik

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin



**dr. Uleng Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D**  
NIP. 19680518 199802 2 001

**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes.Sp.PD, KGH, Sp.GK, FINASIM**  
NIP. 19680530 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : dr. Hermawan

Nomor Pokok : C108215203

Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

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

Makassar, Oktober 2022

Yang menyatakan,



dr. Hermawan

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : dr. Hermawan

Nomor Pokok : C108215203

Program Studi : Ilmu Patologi Klinik

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

Makassar, Oktober 2022

Yang menyatakan,

dr. Hermawan

## PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, Maha Pemurah, Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan kasih dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“ANALISIS POLIMORFISME GEN HUMAN PLATELET ANTIGEN (HPA) TERHADAP KEJADIAN KOMPLIKASI MAKROVASKULAR PADA PASIEN DIABETES MELITUS TIPE 2”** 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. dr. Rachmawati Muhiddin, Sp.PK(K), selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama dan Dr. dr. Liong Boy Kurniawan, M.Kes, Sp.PK(K) selaku Anggota Penasihat/Sekretaris Pembimbing, Dr. dr. Ilham Jaya Pattelongi, M.Kes sebagai Anggota Komisi Penasihat/Pembimbing Metode Penelitian dan Statistik, Dr. dr. Husaini Umar, Sp.PD-KEMD sebagai Anggota Tim Penilai, dan dr. Ulang Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah memberi kesediaan waktu, saran dan bimbingan sejak masa penelitian, penyusunan hingga seminar hasil penelitian ini.

Pada kesempatan ini pula penulis ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan 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 penulis memulai pendidikan, membimbing dengan penuh ketulusan hati, kasih sayang 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. Ketua Departemen Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M. Kes, Sp.PK(K) 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.

5. Ketua Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr. Uleng Bahrn, 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.
6. Sekretaris Program Studi Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, dr. Raehana Samad, M.Kes, Sp.PK(K) guru kami yang senantiasa memberi ilmu, bimbingan, nasehat dan semangat.
7. Dokter pembimbing akademik saya, dr. Fitriani Mangerangi, Sp.PK(K), guru yang senantiasa memberi bimbingan, nasehat dan semangat.
8. Guru sekaligus orang tua kami, dr. Agus Alim Abdullah, Sp.PK(K) yang senantiasa mendukung pendidikan penulis sejak awal penulis memulai pendidikan, membimbing dengan penuh ketulusan hati, dan senantiasa memberi saran, nasehat dan motivasi kepada penulis.
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 dr. Darwati Muhadi, Sp.PK(K), Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RS UNHAS, Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M.Kes, Sp.PK(K), Kepala Instalasi Laboratorium RS. Labuang Baji, Kepala Instalasi Laboratorium RS. Ibnu Sina, Kepala PMI, Ketua Departemen Ilmu Penyakit Dalam beserta staf yang telah menerima dan membantu penulis dalam menjalani masa pendidikan.
12. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberikan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan dan mendukung penulis selama menjalani pendidikan.
13. Seluruh pasien yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.
14. Teman-teman seangkatan PPDS Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, yang telah terlebih dahulu menyelesaikan pendidikan, periode Januari 2016 (*Wintrobe*) : dr. Nelly, Sp.PK, dr. Nunung Meisari, Sp.PK, dr. Steven Tiro, Sp.PK dr. Rahmawati, Sp.PK, dr. Andi Munawwirah, Sp.PK yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal yang tak terlupakan dan semoga persaudaraan ini tetap terjaga.
15. Teman-teman sejawat residen PPDS Ilmu Patologi Klinik FK-UNHAS, senior-senior dan junior-junior, yang telah memberikan bantuan,

dukungan dan motivasi kepada penulis selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini.

16. Ibu Nurilawati, SKM atas semua bantuan dan dukungannya selama masa pendidikan dan penyelesaian karya akhir ini.

17. 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 Dr. Hermanto, MM dan Ibunda Hj. Sa'adah atas perhatian, kasih sayang, dukungan moril dan materil yang diberikan dan doa yang senantiasa mengiringi langkah penulis. Terima kasih kepada saudara-saudara saya, serta seluruh keluarga besar atas kasih sayang dan dukungan serta doa tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Tak terhingga ungkapan rasa syukur atas kehadiran Dr. dr. Ika Azdah Murnita, Sp. OG, istriku tercinta yang penuh perhatian dan pengertian dalam susah dan senang bersama ketiga anak kami tersayang, si kembar Nazwa-Nadhwa dan si bungsu Nahdan, yang telah menjadi penyemangat dan kekuatan kami. Terimakasih atas kerelaan, kesabaran, dan pengorbanan serta dukungan moril selama penulis menempuh pendidikan, sehingga begitu banyak waktu kebersamaan yang terlewatkan.

Terima kasih penulis sampaikan pula kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberi bantuan baik moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung. Melalui kesempatan ini pula, perkenankan penulis menghaturkan permohonan maaf yang setulus-tulusnya atas segala kekhilafan dan kesalahan yang telah dilakukan selama masa pendidikan sampai selesainya tesis ini. Penulis berharap tesis ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Ilmu Patologi Klinik di masa yang akan datang.

Makassar, Oktober 2022

Hermawan

## ABSTRAK

**Hermawan.** Analisis Polimorfisme Gen *Human Platelet Antigen* (HPA) Terhadap Kejadian Komplikasi Makrovaskuler pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 (DM T2).

Indonesia menduduki peringkat keenam dunia dengan jumlah pasien DM T2 sebesar 10,3 juta jiwa (2019). Pada DM T2 terjadi aktivasi abnormal trombosit yang menyebabkan hiperaktivitas trombosit. Komplikasi makrovaskuler DM T2 meliputi penyakit serebrovaskuler, jantung koroner dan arteri perifer. Polimorfisme gen HPA mempengaruhi reseptor-reseptor dan fungsi trombosit aterosklerosis sebagai mekanisme utama komplikasi makrovaskuler DM T2.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis perbedaan frekuensi dan distribusi gen HPA pada komplikasi makrovaskuler dan non makrovaskuler DM T2. Penelitian dengan desain *case control study* polimorfisme gen HPA pada kelompok komplikasi dan non komplikasi makrovaskuler DM T2, masing-masing 50 sampel. Pemeriksaan gen HPA dengan metode PCR. Data dianalisis statistik.

Hasil penelitian bahwa jenis gen HPA 1-5 ditemukan positif, jenis HPA 15a/b negatif. Sebaran faktor resiko dari kedua kelompok komplikasi dan non komplikasi makrovaskuler DM T2 berdasarkan jenis kelamin, umur, kadar serum HbA1c, hipertensi dan dislipidemia, didapatkan laki-laki (53,0%) lebih banyak dibandingkan perempuan (47,0%), rentang umur dewasa (18-65 tahun) lebih banyak (84,0%), kadar HbA1c tidak terkontrol lebih banyak (93,0%) dibandingkan kadar HbA1c terkontrol (7,0%), tidak hipertensi lebih banyak (72,0%) dibandingkan hipertensi (28,0%), tidak dislipidemia lebih banyak (57,0%) dibandingkan dislipidemia (43,0%). Gen HPA-2b signifikan lebih tinggi pada kelompok komplikasi makrovaskuler (77,6%) dibandingkan non komplikasi makrovaskuler (22,4%). Perbedaan sebaran signifikan pada variabel hipertensi, dislipidemia, dan polimorfisme gen HPA-2b berdasarkan kelompok komplikasi dan non komplikasi makrovaskuler DM T2 ( $p < 0,05$ ). Hubungan signifikan polimorfisme gen HPA-2b dengan komplikasi makrovaskuler DM T2 ( $p < 0,001$ ) dan memiliki kekuatan hubungan terbesar setelah hipertensi dan dislipidemia (OR = 0,049).

Sebaran polimorfisme gen HPA 2b lebih tinggi pada kelompok komplikasi dibandingkan non komplikasi makrovaskuler DM T2. Polimorfisme gen HPA 2b pada komplikasi makrovaskuler memiliki hubungan yang kuat.

**Kata Kunci:** DM Tipe 2, Polimorfisme gen HPA, Komplikasi Makrovaskuler, Komplikasi Non-Makrovaskuler.

## **ABSTRACT**

**Hermawan.** Analysis of Human Platelet Antigen (HPA) Gene Polymorphism on the Incidence of Macrovascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus (T2 DM) Patients.

Indonesia is ranked sixth in the world with the number of T2 DM patients of 10.3 million people (2019). In T2 DM there is abnormal activation of platelets which causes platelet hyperactivity. Type 2 DM macrovascular complications include cerebrovascular, coronary heart and peripheral arterial disease. HPA gene polymorphisms affect platelet receptors and function. Atherosclerosis as the main mechanism of macrovascular complications of T2 DM.

The aim of this study was to analyze the differences in the frequency and distribution of the HPA gene in the macrovascular and non-macrovascular complications of T2 DM. The study was a case control study design of HPA gene polymorphism in the macrovascular complications and non-macrovascular complications of T2 DM, 50 samples each. HPA gene examination by PCR method. The data were analyzed statistically.

The results showed that HPA gene types 1-5 were found to be positive, HPA types 15a and 15b were negative. The distribution of risk factors for both groups of complications and non-complications of macrovascular T2 DM based on gender, age, serum HbA1c levels, hypertension and dyslipidemia, found that men (53.0%) were more than women (47.0%), the range more adults (18-65 years) (84.0%), more uncontrolled HbA1c levels (93.0%) than controlled HbA1c levels (7.0%), more uncontrolled hypertension (72.0%) compared to hypertension (28.0%), no more dyslipidemia (57.0%) than dyslipidemia (43.0%). The HPA-2b gene was significantly higher in the macrovascular complications group (77.6%) than in the non-macrovascular complications (22.4%). There were significant differences in the distribution of hypertension, dyslipidemia, and HPA-2b gene polymorphism based on the macrovascular complications and non-complications of T2 DM ( $p < 0.05$ ). There is a significant relationship between the HPA-2b gene polymorphism and the macrovascular complications of T2 DM ( $p < 0.001$ ) and has the greatest strength of association after hypertension and dyslipidemia (OR = 0.049).

The distribution of the HPA 2b gene polymorphism was higher in the complicated group than the non-macrovascular complications of T2 DM. The HPA 2b gene polymorphism in macrovascular complications had a strong relationship.

**Keywords:** Type 2 DM, HPA gene polymorphism, Macrovascular Complications, Non-Macrovascular Complications.

## DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN PENGANTAR -----	i
HALAMAN PENGESAHAN-----	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR-----	iii
PRAKATA-----	iv
ABSTRAK-----	x
<i>ABSTRACT</i> -----	xi
DAFTAR ISI -----	xii
DAFTAR TABEL -----	xiv
DAFTAR GAMBAR -----	xv
DAFTAR SINGKATAN-----	xvi
DAFTAR LAMPIRAN-----	xviii
BAB I PENDAHULUAN-----	1
A. Latar Belakang -----	1
B. Rumusan Masalah -----	9
C. Tujuan Penelitian-----	9
1. Tujuan Umum -----	9
2. Tujuan Khusus -----	9
D. Manfaat Penelitian -----	10
1. Manfaat Praktis -----	10
2. Manfaat Akademik -----	10
3. Manfaat Umum-----	10

E. Hipotesis Penelitian-----	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA-----	11
A. Trombosit-----	11
1. Adesi Trombosit-----	13
2. Agregasi Trombosit-----	17
B. Diabetes Melitus Tipe 2-----	19
1. Definisi-----	19
2. Epidemiologi-----	20
3. Patomekanisme-----	21
4. Komplikasi-----	23
5. Abnormalitas Trombosit pada Diabetes Melitus Tipe 2-----	26
C. Polimorisme <i>Human Platelet Alloantigen</i> (HPA)-----	32
1. Polimorfisme-----	32
2. <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> (SNP)-----	33
D. Kerangka Teori-----	43
E. Kerangka Konsep-----	44
BAB III METODE PENELITIAN-----	45
A. Desain Penelitian-----	45
B. Tempat dan Waktu Penelitian-----	45
1. Tempat Penelitian-----	45
2. Waktu Penelitian-----	45
C. Populasi Penelitian-----	46
D. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel-----	46

E. Perkiraan Besar Sampel-----	46
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi-----	48
G. Izin Subyek Penelitian -----	48
H. Cara Kerja-----	49
I. Prosedur Pemeriksaan -----	50
J. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif -----	57
K. Metode Analisis -----	60
L. Skema Alur Penelitian -----	61
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN-----	62
A. Hasil Penelitian -----	62
B. Pembahasan -----	69
C. Hasil Polimorfisme Genetik Human Platelet Antigen (HPA) 1-5, dan 15 pada Komplikasi Makrovaskuler DM Tipe 2-----	76
D. Keterbatasan/Kekurangan Penelitian -----	78
E. Resume Hasil Penelitian -----	81
BAB V SIMPULAN DAN SARAN -----	84
A. Simpulan-----	84
B. Saran -----	84
DAFTAR PUSTAKA -----	86



**DAFTAR TABEL**

	Hal
Tabel 1 Molekul adesi membran trombosit yang dominan, ligan-ligan, dan fungsi masing-masing -----	12
Tabel 2 Tatanama Human Platelet Antigen -----	40
Tabel 3 Urutan nukleotida pada oligonukleotida yang digunakan untuk amplifikasi PCR-----	52
Tabel 4 Karakteristik Sampel Penelitian antara Kelompok Komplikasi Makrovaskuler dan Non Komplikasi Makrovaskuler DM Tipe 2. -----	62
Tabel 5 Hasil Analisis Perbedaan Frekuensi Distribusi gen HPA antara Kelompok Komplikasi Makrovaskuler dan Non Makrovaskuler DM Tipe 2. -----	65
Tabel 6 Hasil Analisis Perbedaan Frekuensi Distribusi Faktor Resiko antara Kelompok Komplikasi Makrovaskuler dan Non Komplikasi Makrovaskuler DM Tipe 2 -----	67
Tabel 7 Hasil Analisis Multivariat Regresi Logistik Berganda-----	68

## DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1 Adesi, aktivasi dan agregasi trombosit pada subendotel yang terpapar, contohnya pada lokasi luka -----	14
Gambar 2. Patogenesis diabetes melitus tipe 2 yang dikarakteristikkan dengan gangguan sekresi insulin dan resistensi insulin -	22
Gambar 3 Mediator hemodinamik dan metabolik yang berperan terhadap patogenesis komplikasi makrovaskular diabetes melitus -----	25
Gambar 4 Mekanisme yang berperan terhadap disfungsi trombosit pada pasien dengan diabetes melitus-----	27
Gambar 5 Ilustrasi yang menggambarkan struktur glikoprotein 2(GP) trombosit, GPIIb/IIIa, GPIa/IIa, GPIb/IX dan CD109, dan lokasi prediksi dari 27 human platelet alloantigen (HPA) yang diekspresikan berbeda-----	37

## DAFTAR SINGKATAN

ADA	<i>American Diabetes Association</i>
COX	Enzim Siklooksigenase
DR	Diabetik Retinopati
eNOS	<i>endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
FNAIT	<i>Fetal and Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HPA	<i>Human Platelet Alloantigen</i>
HbA1c	Hemoglobin A1c
IAPP	<i>Islet Amyloid Polypeptida</i>
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IGF-1	<i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
GP	Glikoprotein
MODY	<i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i>
NGSP	<i>National Glycohaemoglobin Standarization Program</i>
OCS	<i>Open Canalicular System</i>
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor-1
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
Perkeni	Perhimpunan Endokrinologi Indonesia
PGH <sub>2</sub>	Prostaglandin H <sub>2</sub>
PGI <sub>2</sub>	Prostasiklin / Prostaglandin I <sub>2</sub>
PSGL-1	<i>P-selectin glycoprotein ligand-1</i>
PTP	<i>Post-Transfusion Purpura</i>
Riskesdas	Riset Kesehatan Dasar
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RSPTN	Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri

RSUP	Rumah Sakit Umum Pusat
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SSP	<i>Sequence-specific primer</i>
TF	<i>Tissue Factor</i>
TTGO	Tes Toleransi Glukosa Oral
TXA <sub>2</sub>	Tromboksan A <sub>2</sub>
UH	Universitas Hasanuddin
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
vWF	<i>von Willebrand factor</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Hal
Lampiran 1 Rekomendasi Persetujuan Etik -----	96
Lampiran 2 Naskah Penjelasan Untuk Mendapatkan Persetujuan Dari Subjek Penelitian (Informasi Untuk Subyek/Masyarakat Penelitian) -----	97
Lampiran 3 Formulir Persetujuan Setelah Penjelasan -----	100
Lampiran 4 Susunan Tim Peneliti -----	102
Lampiran 5 Biodata Peneliti Utama -----	103
Lampiran 6 Data - Data Penelitian -----	105

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

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

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi baik ketika pankreas tidak menghasilkan cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya. Insulin adalah hormon yang mengatur gula darah (*World Health Organization, 2021*).

Dibetes melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (Persatuan Endokrinologi Indonesia, 2021). Hiperglikemia, atau peningkatan gula darah, adalah efek umum dari diabetes yang tidak terkontrol dan seiring waktu menyebabkan kerusakan serius pada banyak sistem tubuh, terutama saraf dan pembuluh darah (*World Health Organization, 2021*).

Menurut *World Health Organization* (WHO) penderita diabetes pada orang dewasa berusia 18 tahun ke atas sebanyak 8,5% pada tahun 2014, kemudian semakin meningkat dan tercatat pada tahun 2019, diabetes telah menjadi penyebab langsung kematian dari 1,5 juta penduduk dan 48% dari seluruh kematian akibat diabetes yang terjadi sebelum usia 70 tahun (*World Health Organization, 2021*).

Diabetes tipe 2 yang sebelumnya disebut *non-insulin-dependent*, karena terjadi akibat penggunaan insulin yang tidak efektif oleh tubuh. Lebih dari 95% orang dengan diabetes adalah diabetes tipe 2. Jenis diabetes ini sebagian besar merupakan hasil dari kelebihan berat badan dan kurangnya aktivitas fisik (*World Health Organization. 2021*). Diabetes melitus tipe 2 merupakan penyakit yang disebabkan karena hilangnya sekresi insulin sel secara progresif sering dengan latar belakang resistensi insulin (*American Diabetes Association, 2022*).

*International Diabetes Federation* (IDF) melaporkan prevalensi diabetes global pada usia 20 hingga 79 tahun pada tahun 2015 yang mengalami diabetes sekitar 415 juta (Zheng Y, et al. 2018), dan meningkat pada tahun 2021 sebesar 10,5% atau sekitar 536,6 juta orang, kemudian diperkirakan meningkat menjadi 12,2% atau sekitar 783,2 juta pada tahun 2045. Prevalensi diabetes mirip antara pria dan wanita dan tertinggi pada mereka yang berusia 75 – 79 tahun. Prevalensi pada tahun 2021 diperkirakan lebih tinggi di perkotaan sebesar 12,1% dibandingkan di pedesaan sebesar 8,3%, dan di negara – negara berpenghasilan tinggi sebesar 11,1% daripada dengan negara – negara berpenghasilan rendah sebesar 5,5%. (Hong Sun, et al, 2022).

*International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2019 mengemukakan bahwa Indonesia saat ini menduduki peringkat keenam dunia dengan jumlah pasien terbesar yaitu sebesar 10,3 juta jiwa. Angka tersebut

diprediksi pada tahun 2045 akan meningkat hingga 16,7 juta jiwa. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Tahun 2019 menunjukkan prevalensi penderita diabetes menjadi 8,5% dari 6,9% pada tahun 2018 (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2021).

Komplikasi DM terbagi menjadi dua yaitu komplikasi pendek (akut) seperti hipoglikemia dan ketoasidosis, dan jangka panjang (kronis) yang sudah mempengaruhi fungsi mata, jantung, ginjal, kulit, saluran pencernaan dan saraf (Andrian K. 2018; Ratih Puspita, *et al*, 2020).

Komplikasi DM kronis terbagi menjadi dua komplikasi yaitu komplikasi mikrovaskular dan komplikasi makrovaskular, komplikasi mikrovaskular meliputi neuropati, retinopati, dan nefropati, sedangkan komplikasi makrovaskular meliputi penyakit serebrovaskular, penyakit arteri perifer, dan penyakit jantung koroner (Nabila Maharani, *et al*. 2021).

Diabetes melitus diketahui akan menyebabkan komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular. *Peripheral arterial disease* (PAD) atau penyakit arteri perifer merupakan salah satu komplikasi makrovaskular yang sering terjadi (PERKENI 2015; Dektra Filantropi, *et al*, 2019).

Penyakit arteri perifer (*peripheral arterial disease/ PAD*) merupakan kondisi aterosklerosis yang terjadi pada pembuluh darah besar di luar jantung dan otak. *Peripheral arterial disease* (PAD) merupakan salah satu tanda bahwa terjadi aterotrombosis pada pembuluh darah tubuh lainnya. Penyempitan hingga oklusi pembuluh darah menyebabkan penurunan



suplai darah ke tungkai (Bundo M, et al. 2010; Dektra Filantropi, et al, 2019).

Aterotrombosis tersebut merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada pasien dengan diabetes melitus. Oleh karena itu, diabetes diketahui meningkatkan sebanyak 2 – 4 kali risiko penyakit penyakit jantung koroner, stroke, dan penyakit arteri perifer (Kim JH, et al, 2013).

Komplikasi makrovaskular pada pasien dengan diabetes menunjukkan adanya percepatan pada proses aterosklerosis, sehingga diabetes melitus telah dianggap sebagai suatu keadaan protrombotik. (Kakouros N, et al, 2011) Faktor yang berperan dalam kondisi protrombotik tersebut diantaranya adalah, hiperaktivitas trombosit. Hiperaktivitas trombosit memainkan peranan penting dalam pembentukan, perkembangan dan stabilitas trombi, yang merupakan proses yang secara keseluruhan melibatkan trombosit. (Kim JH, et al, 2013).

Trombosis adalah proses pembekuan darah di dalam pembuluh darah. Hal ini dapat terjadi pada arteri atau vena. Pembentukan gumpalan darah di arteri atau vena menyebabkan melambatnya aliran darah karena gumpalan cenderung menghalangi aliran darah. Gumpalan darah di pembuluh darah dapat menyebabkan penyakit. Trombosit melekat pada struktur subendotel oleh beberapa reseptor spesifik trombosit, seperti reseptor kolagen glikoprotein (GP) Ib/IIa atau reseptor primer von

*Willebrand Factor* (vWF) GPIb/IX. Setelah melekat, trombosit akan menjadi teraktivasi dan akhirnya teragregasi oleh ikatan saling silang melalui reseptor fibrinogen GPIIb/IIIa (Carlsson LE, *et al*, 1997).

Pada DM tipe 2 terjadi disfungsi dari trombosit, aktivasi abnormal trombosit yang menyebabkan makroangiopati dan hiperaktivitas trombosit. Tiga perubahan utama dari fungsi trombosit pada penderita DM yaitu trombosit yang immatur lebih besar dan lebih reaktif disintesis dari sumsum tulang, trombosit teraktivasi ketika terpajan pada metabolic mileu pada DM dan trombosit teraktivasi karena kerusakan pembuluh darah (Kodiatte TA, *et al*. 2012; Annisa Dita H, 2019).

Percepatan trombopoiesis yaitu peningkatan pergantian trombosit dan penurunan waktu hidup trombosit yang lebih besar dan reaktif sehingga bersifat trombogenik. Peningkatan dua kali lipat pergantian trombosit terjadi karena waktu kelangsungan hidup trombosit yang menurun dan peningkatan adesi, aktivasi, dan agregasi trombosit. Jumlah trombosit pada DM tergantung pada beberapa variabel yaitu waktu hidup trombosit, tingkat produksi trombosit, dan tingkat pergantian pada DM (Kodiatte TA, *et al*. 2012; Annisa Dita H, 2019).

*Human Platelet Antigen* (HPA) adalah aloantigen yang diekspresikan pada membran trombosit. Setiap HPA mewakili satu dari enam glikoprotein trombosit GPIIb, GPIIIa, GPIa, GPIb $\alpha$ , GPIb $\beta$ , dan CD109.

Glikoprotein diekspresikan oleh kode-kode genetik yang menunjukkan variasi genetik (variasi-variasi abnormal) yang diistilahkan sebagai **polimorfisme**. Angka kejadian polimorfisme lebih dari 1% populasi. Polimorfisme berarti adanya bentuk fenotip alternatif pada populasi yang sama atau secara genetik diartikan sebagai adanya dua atau lebih bentuk alel yang berbeda pada suatu populasi yang disebabkan oleh substitusi-substitusi asam amino (Rozman P, 2002; Singh RS, 2001).

Polimorfisme adalah perubahan atau mutasi pada gen yang tidak menimbulkan perubahan struktur protein melainkan hanya mengakibatkan variasi pada fungsi protein. Polimorfisme tidak bermanifestasi klinis, tetapi bisa menentukan kerentanan terhadap penyakit. Dampak polimorfisme adalah terjadi perubahan kerentanan suatu populasi terhadap penyakit. Polimorfisme yang terjadi akan terus diturunkan sehingga frekuensi polimorfisme pada setiap etnis dapat berbeda-beda. (Pei-Yu, L, Kelvin, H.L. 2010)

Berbagai perubahan *Deoxyribonucleic acid* (DNA) dapat terjadi akibat paparan dengan lingkungan dan karsinogen. DNA yang gagal berpasangan dapat menimbulkan instabilitas genetik, mutagenesis, dan kematian sel. Kejadian tersering yang menyebabkan mutasi pada nukleotida ini disebut sebagai *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). (Pei-Yu, L, Kelvin, H.L. 2010) Polimorfisme nukleotida tunggal (NSP) dalam urutan gen menyebabkan substitusi asam amino tunggal

glikoprotein trombosit yang relevan. Dengan menggunakan metode berbasis sekuensing gen (Ying-Hao Wen & Ding-Ping Chen, 2018).

Manifestasi klinis dalam bentuk fenotip-fenotip hanya dapat dilihat dan dibuktikan dengan pemeriksaan deteksi atau identifikasi alloantigen atau uji reaksi antigen-antibodi serta uji fungsi dan aktifitas trombosit. Sedangkan untuk pemeriksaan genotip, dapat diperiksa dengan cara deteksi polimorfisme glikoprotein atau HPA menggunakan *Nucleic Acid Amplification Test (NAAT)*. (Carlsson LE, *et al*, 1997)

Polimorfisme gen HPA sangat berpengaruh terhadap fungsi trombosit karena menunjukkan ekspresi glikoprotein dengan antigenesitas membran trombosit yang berbeda, sehingga akan turut mempengaruhi proses aktivasi, adesi, dan agregasi trombosit, yang merupakan salah satu patologi penting pada aterosklerosis (Kamath S, *et al*, 2009)

Menurut Carlsson LE *et al* telah melaporkan data yang menunjukkan bahwa terdapat alel HPA yang menjadi faktor predisposisi terhadap salah satu komplikasi diabetes, yakni infark miokard. (Carlsson LE, *et al*, 1997).

Penelitian observasional retrospektif yang dilakukan oleh Duan *et al* untuk menganalisa keterkaitan polimorfisme gen terhadap stroke iskemik pada 306 pasien dengan stroke iskemik menemukan bahwa polimerfisme gen GPIIb berhubungan dengan stroke iskemik pada dewasa muda dan menengah (<60 tahun) (Duan H, *et al*, 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh Gonzalez-Conejero R *et al* berhasil menemukan bahwa HPA-2b sangat berhubungan dengan peningkatan risiko penyakit jantung koroner dan penyakit serebrovaskular meskipun tidak ditemukan hubungan yang signifikan terhadap peningkatan risiko penyakit vaskular perifer (Gonzalez-Conejero R *et al*, 1998)

Genom kardiovaskular terdiri dari gen polimorfik yang bertanggung jawab atas kerentanan terhadap penyakit kardiovaskular termasuk penyakit arteri koroner (CAD). Gen yang terlibat dalam aktivasi dan agregasi trombosit memainkan peran kunci dalam predisposisi CAD. Mutasi glikoprotein dan reseptor yang diekspresikan pada permukaan trombosit berdampak signifikan pada fungsi trombosit. (Nikishin A.G. Yakubbekov N.T, 2021) Aktivasi trombosit meningkat pada pasien dengan penyakit arteri perifer, menunjukkan keadaan protrombotik yang mendasarinya. (Cassar, et al, 2003)

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk menelusuri perbedaan distribusi dan frekuensi dari polimorfisme gen HPA pada pasien komplikasi makrovaskular diabetes melitus tipe 2 dengan melakukan pemeriksaan *sequence-specific primer-polymerase chain reaction* (SSP-PCR).

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah tersebut, maka dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut: bagaimana perbedaan distribusi dan frekuensi polimorfisme gen HPA terhadap kejadian komplikasi makrovaskular diabetes melitus tipe 2?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan umum**

Menganalisa perbedaan distribusi dan frekuensi polimorfisme gen HPA terhadap kejadian komplikasi makrovaskuler pasien diabetes melitus tipe 2.

### **2. Tujuan khusus**

- a. Mengetahui frekuensi dan distribusi polimorfisme gen HPA pada pasien komplikasi makrovaskuler diabetes melitus tipe 2.
- b. Mengetahui frekuensi dan distribusi polimorfisme gen HPA pada pasien non komplikasi makrovaskuler diabetes melitus tipe 2.
- c. Mengetahui perbedaan frekuensi dan distribusi antara polimorfisme gen HPA pada pasien komplikasi dan non komplikasi makrovaskuler diabetes melitus tipe 2.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat praktis**

Memberikan informasi mengenai distribusi dan frekuensi polimorfisme gen HPA terhadap kejadian komplikasi dan non-komplikasi makrovaskuler diabetes melitus tipe 2 sebagai dasar pertimbangan dalam menentukan pencegahan faktor resiko pada pasien dengan diabetes melitus tipe 2.

### **2. Manfaat akademik**

- a. Menyajikan data frekuensi dan sebaran polimorfisme gen HPA pada pasien komplikasi dan non-komplikasi makrovaskuler diabetes melitus tipe 2 di Makassar, Sulawesi Selatan.
- b. Hasil penelitian dapat dijadikan data dasar untuk penelitian selanjutnya bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

### **3. Manfaat umum**

Memberikan data penelitian sebagai pelengkap proses edukasi kepada masyarakat mengenai kejadian komplikasi makrovaskuler diabetes melitus tipe 2.

## **E. Hipotesis Penelitian**

Terdapat perbedaan frekuensi dan distribusi antara polimorfisme genetik HPA terhadap kejadian komplikasi dan non-komplikasi makrovaskular pasien diabetes melitus tipe 2.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Trombosit

Trombosit merupakan sel darah yang terkecil yang berasal dari megakariosit di dalam sumsum tulang. Megakariosit tersebut timbul akibat proses diferensiasi sel punca hematopoietik dan menjalani fragmentasi sitoplasma dan memproduksi trombosit. Produksi trombosit berada dibawah kendali agen humoral misalnya trombopoietin. (Kamath S, *et al*, 2001) Trombosit matur memiliki bentuk diskoid dengan diameter rata-rata  $3,0 \pm 0,5 \mu\text{m}$  dan volume trombosit rata-rata  $7,0 \pm 4,8 \text{ fL}$ . Dari seluruh populasi trombosit, 70% ditemukan di dalam sirkulasi dengan konsentrasi sebesar  $150 - 450 \times 10^9 \text{ sel/L}$ , sementara sisanya tersimpan di lien. Trombosit tetap berada di dalam sirkulasi selama sekitar 10 hari, dan trombosit yang aktif/tua dihancurkan oleh makrofag di dalam lien dan hepar. (Razmara M, 2009)

Trombosit mengandung dua jenis granula sekretoris: granula- $\alpha$  dan granula padat, yang menyimpan protein dengan berat molekul yang tinggi (misalnya, fibronogen, faktor V, *von Willebrand* dan GPIIb/IIIa) dan molekul-molekul kecil (misalnya, ADP dan kalsium). Trombosit dilengkapi dengan dua sistem tubulus, pertama adalah *open canalicular system*/(OCS) yang menyediakan jalur untuk melepaskan kandungan



granul trombosit. Kedua, sistem tubulus padat yang merupakan lokasi penyimpanan kalsium dan sintesis prostaglandin. (Razmara M, 2009)

Membran trombosit merupakan lokasi reseptor membran. Membran trombosit terdiri dari lapisan ganda fosfolipid terpolarisasi yang kaya dengan asam arakidonat/AA, dan sejumlah GP. Glikoprotein yang berada pada sisi luar lapisan fosfolipid memainkan peranan yang penting terhadap fungsi trombosit, termasuk adesi dan agregasi, dan oleh karenanya berperan terhadap hemostasis (Tabel 1). (Kamath S, *et al*, 2001)

Tabel 1. Molekul adesi membran trombosit yang dominan, ligan-ligan, dan fungsi masing-masing

Glikoprotein	HPA	Ligan	Fungsi biologis
GPIa/IIa	HPA-5	Kolagen	Adesi
<b>GPIb/IX</b>	<b>HPA-2</b>	vWF	Adesi terhadap subendotel
GPIc/IIa		Fibronektin dan laminin	Adesi
GPIIb/IIIa	HPA-5 dan HPA-3	Fibrinogen/vWF	Agregasi dan adesi
GPIV		Kolagen, trombospodin	Adesi
GPVI		Kolagen	Adesi
P-selektin		PSGL-1, GPIb	Adesi dan stabilisasi agregasi

vWF, *vonWillebrand factor*; PSGL-1, *P-selectin glycoprotein ligand-1*

(Kamath S, *et al*. Platelet activation: assessment and quantification. *European Heart Journal*. 2001)

Fungsi fisiologis utama trombosit adalah untuk menutup dan memperbaiki cedera vaskular untuk mencegah perdarahan. Trombosit

dapat diaktivasi oleh sejumlah agonis (misalnya, ADP, trombin, tromboksan  $A_2$ , *platelet activating factor*, dan kolagen). Agonis-agonis ini akan meningkatkan efek aktivasi melalui pengikatan atau pelepasan terhadap sejumlah reseptor khusus pada membran plasma. Proses ini akan memulai transduksi sinyal intraseluler yang menyebabkan perubahan kompleks biokimiawi dan morfologi, seperti reorganisasi sitoskeletal, refluks ion, sekresi granula, dan paparan terhadap reseptor fibrinogen. (Razmara M, 2009)

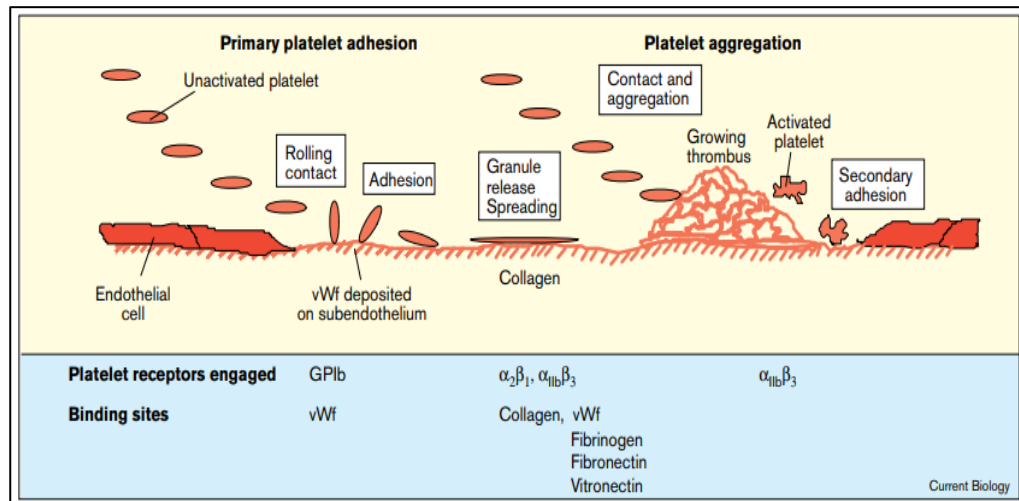
Respon trombosit dapat dikategorikan kedalam respon trombosit yang '*reversible*', yakni adesi, perubahan bentuk dan agregasi *reversible* dan, respon trombosit yang '*irreversible*' yang terdiri dari *release reaction* dan agregasi *irreversible*.

## **1. Adesi trombosit**

### **a. Adesi pada subendotel pasca cedera vaskular**

Dalam kondisi fisiologi, trombosit bersirkulasi dalam jarak yang dekat dengan dinding pembuluh darah, namun tidak berinteraksi dengan sel-sel endotel, yang menyediakan resistensi alami terhadap trombosis. Ketika kontinuitas lapisan endotel mengalami kerusakan dan matriks subendotel yang berada di bawahnya terpapar, sejumlah kejadian terkordinasi akan terjadi untuk menutup defek tersebut, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Trombosit memainkan peranan utama dalam proses ini, dan sejumlah substrat membantu adesi

tersebut terhadap dinding pembuluh darah sebagai respon terhadap cedera. (Rumbaut RE, *et al*, 2010)



Gambar 1. Adesi, aktivasi dan agregasi trombosit pada subendotel yang terpapar, contohnya pada lokasi luka.

(Clemetson KJ. Primary haemostasis: Sticky fingers cement the relationship. *Current Biology*.1999)

#### b. Adesi pada endotel

Sejumlah keadaan inflamasi dapat menyebabkan adesi trombosit pada sel-sel endotel meskipun tanpa adanya pengikisan endotel dan tanpa adanya perubahan integritas endotel yang signifikan. Proses ini dapat berasal dari penghambatan mekanisme endogen yang mencegah terjadinya adesi trombosit dan/atau oleh induksi pelepasan molekul endotel yang mendukung terjadinya adesi trombosit. Selanjutnya, beberapa kondisi inflamasi ini menyebabkan adesi leukosit pada sel-sel endotel, terutama pada venula-venula paska kapiler pada mikrosirkular, disertai adanya adesi trombosit-leukosit pada lokasi tersebut.

Adesi trombosit pada sel-sel endotel telah ditemukan pada sejumlah kondisi inflamasi, terutama cedera iskemik/reperfusi, paparan endotoksin, penyakit sel sabit, hiperkolesterolemia, dan yang lainnya. Beberapa mekanisme adesi trombosit pada sel-sel endotel sebagai berikut. (Rumbaut RE, 2010)

a) Mekanisme yang melibatkan P-selektin terhadap endotel

Sejumlah kondisi inflamasi yang dipaparkan di atas berhubungan dengan aktivasi endotel dan pelepasan P-selektin yang tersimpan di dalam granula-granula yang dikenal sebagai badan *Weibel-Palade*. Paparan P-selektin pada permukaan endotel dapat memicu adesi trombosit dengan berikatan pada kompleks GPIb pada trombosit. Mekanisme ini nampaknya memediasi adesi trombosit pada kasus endotoksemia dan penyakit sel sabit. (Rumbaut RE, 2010)

P-selektin pada sel endotel juga memediasi interaksi awal sementara dari leukosit terhadap sel endotel (proses *rolling*), yang mendahului adesi sesungguhnya terhadap endotel. Ligan pada leukosit tersebut adalah *P-selectin glycoprotein ligand-1* (PSGL-1). Pada sejumlah kondisi inflamasi, adesi trombosit pada endotel bergantung pada adesi leukosit, karena kondisi deplesi neutrofil sirkuler akan mencegah terjadinya adesi trombosit. Adesi trombosit yang tergantung pada leukosit telah berhasil ditemukan pada model

cedera iskemik/reperfusi, endotoksemia, hiperkolesterolemia, dan cedera kornea. (Rumbaut RE, *et al*, 2010)

b) Mekanisme yang melibatkan vWF terhadap endotel

*Von Willebrand factor* endotel juga tersimpan pada badan *Weibel-Palede*, dan dilepaskan sebagai respon terhadap stimulus yang sama dengan yang menginduksi pelepasan P-selektin endotel. Bentuk vWF yang tersimpan di dalam badan tersebut memiliki bentuk yang lebih besar dan lebih adesif dibandingkan vWF yang ditemukan di dalam plasma, dikenal sebagai vWF *ultralarge* (UL). Bentuk multimerik ini secara normal dilepaskan oleh metaloproteinase plasma, ADAMTS-13. Jangkar ULvWF akan melekat pada permukaan endotel pada wilayah P-selektin, dan memicu adesi trombosit melalui interaksi dengan kompleks GPIb pada trombosit. Defisiensi ADAMTS-13 berhubungan dengan sejumlah kasus klinis trombotik berat, termasuk *thrombotic thrombocytopenic purpura*, dan bentuk infeksi berat. (Rumbaut RE, 2010)

c) Mekanisme lainnya

Meskipun ekspresi PSGL-1 pada leukosit secara khas merupakan suatu mediator interaksi leukosit-endotel dan leukosit-trombosit, beberapa laporan memberiksan kesan bahwa sel endotel mengekspresikan PSGL-1 fungsional. Dengan melakukan ikatan terhadap P-selektin pada permukaan trombosit yang teraktivasi,

PSGL-1 endotel mampu menunjukkan mekanisme adesi trombosit terhadap 2endotel yang lainnya selama terjadinya inflamasi. Selanjutnya, sejumlah data memberikan kesan bahwa trombosit mungkin mengekspresikan PSGL-1. (Rumbaut RE, 2010)

Mekanisme adesi trombosit terhadap endotel dalam kondisi inflamasi lain adalah mekanisme yang terjadi melalui GPIIa/IIIb trombosit, meskipun interaksi ini diketahui berhubungan dengan fibrinogen. Pada penelitian dengan model cedera iskemik, GPIIa/IIIb trombosit memediasi adesi trombosit terhadap fibrinogen yang diketahui terdeposito pada permukaan endotel. Pada hasil penelitian tersebut, fibrinogen berikatan terhadap endotel melalui *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) pada permukaan sel endotel yang mengalami inflamasi. (Rumbaut RE, 2010)

## **2. Agregasi trombosit**

Agregasi melibatkan adesi trombosit-trombosit, dan merupakan suatu proses yang efektif terhadap hemostatis setelah terjadinya adesi trombosit pada lokasi cedera. Setelah adesi, trombosit diaktivasi oleh sejumlah agonis seperti adenosin difosfat (ADP) dan kolagen yang ditemukan pada lokasi cedera vaskular. Agonis ini mengaktifkan trombosit melalui ikatan terhadap reseptor spesifik pada permukaan trombosit. Stimulasi pada reseptor ini menyebabkan sejumlah proses berjalan dan pada akhirnya meningkatkan konsentrasi ion kalsium intrasitoplasmik.

Peningkatan kalsium intraseluler trombosit terjadi melalui pelepasan penyimpanan intraseluler dan influks kalsium melalui membran plasma. (Rumbaut RE, 2010)

Konsentrasi kalsium bebas yang meningkat pada trombosit akan menyebabkan sejumlah perubahan struktur dan fungsional pada trombosit. Secara morfologi, trombosit berubah secara dramatis dari bentuk diskoid menjadi bentuk bola berduri (proses yang disebut perubahan bentuk). Granula-granula pada trombosit disentralisasi dan kontennya akan dikeluarkan menuju lumen OCS, yang pada lokasi tersebut kondisi tersebut akan dilepaskan ke eksterior (*release reaction*). Peningkatan kalsium trombosit menstimulasi aktivitas fosfolipase A<sub>2</sub> membran, yang akan membebaskan asam arakidonat dari membran fosfolipid. Asam arakidonat dikonversi menjadi bentuk intermediet prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) oleh enzim siklooksigenase-1 (COX-1). PGH<sub>2</sub> kemudian dimetabolisme mejadi TXA<sub>2</sub> oleh tromboxan sintase. Tromboxan A<sub>2</sub> merupakan aktivator trombosit yang poten. Bentuk proyeksi membran yang memanjang yang disebabkan oleh reaksi perubahan bentuk memungkinkan trombosit untuk berinteraksi dengan agregat yang lainnya. Perubahan bentuk dimediasi oleh sitoskeleton trombosit, yang tersusun oleh jaringan mikrotubulus dan filamen aktin yang terorganisasi dengan baik dan sejumlah protein yang terkait, yang terikat pada molekul sinyal trombosit. Perubahan bentuk trombosit menyebabkan reorganisasi

jaringan sitoskeleton secara besar-besaran, polimerisasi aktif, dan fosforilasi miosin rantai irngan, respon ini bervariasi berdasarkan waktu dan stimulus. (Rumbaut RE, 2010)

Molekul adesi utama yang turut terlibat dalam agregasi trombosit adalah protein membran, kompleks GPIIb/IIIa. GPIIb/IIIa merupakan suatu reseptor integrin yang ditemukan dalam jumlah yang sangat banyak pada trombosit, baik pada membran plasma maupun pada granula  $\alpha$ . Protein tersebut ditemukan dalam bentuk inaktif pada trombosit inaktif. Aktivasi trombosit oleh hampir sebagian besar trombosit akan menginduksi perubahan formasi GPIIb/IIIa, yang akan menjadi kompeten untuk berikatan dengan fibrinogen plasma. (Rumbaut RE, 2010)

## **B. Diabetes Melitus Tipe 2**

### **1. Definisi**

Menurut WHO, diabetes melitus merupakan suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat dari insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin ini dapat disebabkan karena gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel beta pankreas (Kemenkes RI, 2021). Diabetes melitus berasal dari interaksi antara genetik, lingkungan dan faktor risiko kebiasaan. (Olokoba AB, *et al*, 2012)



Diabetes melitus tipe 2 merupakan suatu penyakit kronik yang serius yang terjadi akibat kehilangan yang progresif pada sekresi insulin oleh sel  $\beta$  yang seringkali dilatarbelakangi resistensi insulin (*American Diabetes Association, 2018*).

## **2. Epidemiologi**

Diabetes melitus dialami sekitar 366 juta orang mengalami diabetes melitus pada tahun 2011 di seluruh dunia dan diperkirakan akan meningkat mencapai 522 juta orang pada tahun 2030 (Olokoba AB, *et al*, 2012).

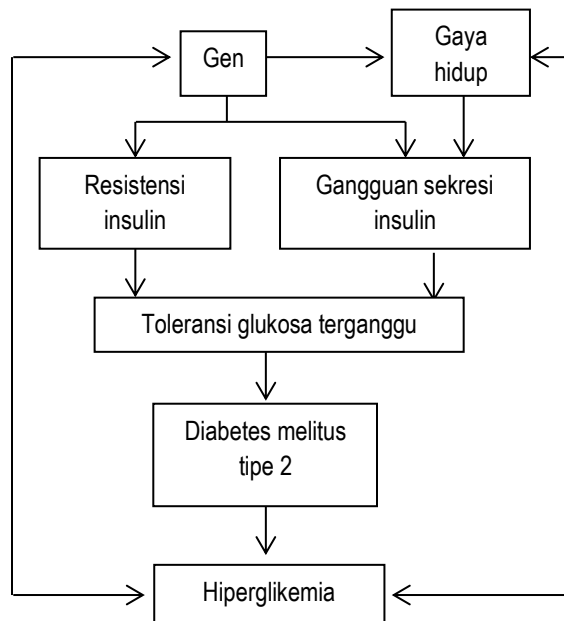
Kejadian DM di kawasan Asia Tenggara atau *South-East Asia* (SEA) diproyeksikan akan meningkat 69%, yaitu mencapai 152 juta pada tahun 2045. Sedangkan proporsi DM yang tidak terdiagnosis merupakan yang tertinggi ketiga di antara negara – negara regional yang diteliti oleh *International Diabetes Federation* (IDF) yakni sebesar 51,2%. Sedangkan proporsi kehamilan yang dipengaruhi oleh hiperglikemia yakni yang tertinggi di antara antara negara – negara regional yang diteliti oleh IDF sebesar 25,9% (*International Diabetes Federation, 2017*)

Secara rinci, diabetes melitus ditemukan pada sekitar 11,7% pasien yang berobat di sejumlah pusat kesehatan (13.283 kasus di Puskesmas dan 4.520 di Rumah Sakit) di provinsi Sulawesi Selatan; 5,3% dari jumlah tersebut ditemukan di wilayah kota Makassar. (*International Diabetes Federation, 2017*; Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan, 2015)

### 3. Patomekanisme

Resistensi insulin pada sel hati dan otot, serta kegagalan sel beta pankreas dikenal sebagai patofisiologi kerusakan sentral dari DM2. Berdasarkan hasil penelitian terbaru telah diketahui bahwa kegagalan sel beta pankreas terjadi lebih awal dan berat dari yang diperkirakan sebelumnya. Organ lain yang terlibat pada DM2 yaitu jaringan lemak (meningkatnya lipolisis), gastrointestinal (defisiensi inkretin), sel alfa pankreas (hiperglukagonemia), ginjal (peningkatan absorpsi glukosa), serta otak (resistensi insulin), yang ikut berperan menyebabkan gangguan toleransi glukosa. Pada saat ini, sudah ditemukan tiga jalur patogenesis baru dari *ominous octet* yang memperantarai terjadinya hiperglikemia pada DM2 (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2021).

Dalam kondisi normal, konsentrasi glukosa plasma akan dipertahankan dalam rentang yang terbatas, melalui pengaturan yang ketat dan interaksi dinamik antara sensitivitas jaringan terhadap insulin terutama hepar dan sekresi insulin. Pada diabetes melitus tipe 2 mekanisme-mekanisme ini akan mengalami kerusakan, dengan akibat berupa terjadinya dua defek patologis utama diabetes melitus berupa gangguan sekresi insulin melalui disfungsi disfungsi sel  $\beta$  pankreas, dan gangguan kerja insulin melalui resistensi insulin (Gambar 1). (Ozougwu JC, *et al*, 2013)



Gambar 2. Patogenesis diabetes melitus tipe 2 yang dikarakteristikan dengan gangguan sekresi insulin dan resistensi insulin.

(Ozougwu JC *et al.* The Pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology.* 2013)

Defek yang melibatkan sekresi insulin diantaranya penurunan relatif pada sekresi basal, respon insulin fase pertama dan kedua yang menurun, insensitivitas glukosa dan hipersensitivitas asam amino terhadap pelepasan insulin. Jumlah dan volume sel- $\beta$  biasanya berkurang hingga setengah dari normal, dan massa sel alfa meningkat yang menyebabkan hiperglukagonemia. Sel-sel islet pankreas menunjukkan hialinasi dan deposisi amiloid, yang mengandung *islet amyloid polypeptida* (IAPP) atau amilin. Amilin merupakan suatu peptida yang secara minimal disekresi beta pankreas bersama dengan insulin dan *C-peptide*, tetapi peranannya dalam patogenesis diabetes melitus tipe 2 masih belum dimengerti

sepenuhnya. Amilin ini dianggap memicu resistensi insulin (Ozougwu JC, *et al*, 2013).

Gen dan lingkungan secara bersama-sama merupakan penentu resistensi insulin dan disfungsi sel- $\beta$ . Karena pola genetik tidak berubah dalam beberapa waktu ini, perubahan lingkungan menjadi penentu yang penting dalam terjadinya diabetes melitus tipe 2. (Kahn SE, *et al*, 2014)

#### **4. Komplikasi**

Komplikasi-komplikasi diabetes melitus dibagi menjadi komplikasi mikrovaskular (akibat kerusakan pembuluh darah kecil) dan makrovaskular (akibat kerusakan pembuluh darah yang lebih besar). Komplikasi mikrovaskular diantaranya kerusakan pada mata (retinopati) yang menyebabkan kebutaan, pada ginjal (nefropati) yang menyebabkan kegagalan ginjal dan pada saraf (neuropati) yang dapat menyebabkan impotensi dan gangguan kaki diabetik (yang turut melibatkan infeksi yang berat yang dapat berakhir pada amputasi).

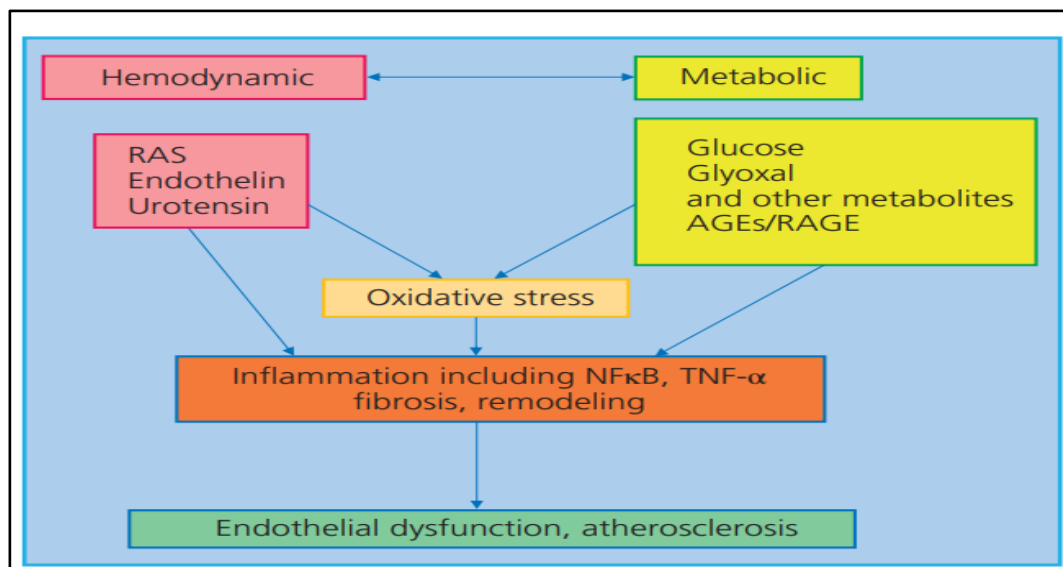
Komplikasi-komplikasi makrovaskular diantaranya penyakit kardiovaskular seperti serangan jantung, stroke, dan insufisiensi aliran darah ke tungkai bawah. Terdapat bukti dari penelitian acak terkontrol berskala besar bahwa kontrol metabolik yang baik pada diabetes tipe 2 dapat menunda onset dan progresi komplikasi-komplikasi ini. (*World Health Organization*, 2019)

Mekanisme utama pada penyakit makrovaskular adalah **proses aterosklerosis**, yang menyebabkan penyempitan dinding arteri di seluruh tubuh. Aterosklerosis dianggap berasal dari inflamasi kronik dan cedera pada dinding arteri pada sistem vaskular perifer atau koroner. Sebagai respon terhadap cedera dan inflamasi endotel, lipid yang teroksidasi dari partikel-partikel LDL akan terakumulasi pada dinding endotel arteri. Angiotensin II mungkin mendukung oksidasi partikel-partikel ini. Monosit kemudian menginfiltrasi dinding arteri dan berdiferensiasi menjadi makrofag, yang akan mengakumulasi lipid teroksidasi menjadi bentuk sel busa. Saat terbentuk, sel-sel busa menstimulasi proliferasi makrofag dan perlekatan limfosit T. Limfosit T, pada gilirannya, menginduksi proliferasi otot polos pada dinding arteri dan akumulasi kolagen. Hasil akhir dari proses ini adalah terbentuknya lesi aterosklerotik yang kaya lipid dengan *fibrous cap*. Ruptur pada lesi ini akan menyebabkan infark vaskular akut (Gambar 2). (Gray SP, *et al*, 2016)

Selain pembentukan ateroma, terdapat bukti yang kuat mengenai peningkatan adesi trombosit dan hiperkoagulabilitas pada diabetes melitus tipe 2. Gangguan pembentukan nitrogen oksida dan peningkatan pembentukan radikal bebas pada trombosit, serta perubahan regulasi kalsium, dapat mendukung agregasi trombosit. Peningkatan kadar *plasminogen activator inhibitor type 1* juga mungkin memperburuk fibrinolisis pasien dengan diabetes. Kombinasi peningkatan koaguabilitas

dan gangguan fibrinolisis nampaknya semakin meningkatkan risiko oklusi vaskular dan gangguan kardiovaskular pada diabetes melitus tipe 2. (Fowler MJ, 2008)

Diabetes melitus juga suatu prediktor independen yang kuat terhadap risiko stroke dan penyakit serebrovaskular, seperti halnya penyakit arteri koroner. Pasien dengan diabetes melitus tipe 2 memiliki risiko stroke yang lebih tinggi, dengan peningkatan risiko sebesar 150 – 400%. Risiko demensia terkait stroke dan kejadiannya rekurensinya, serta, mortalitas terkait stroke, meningkat pada pasien dengan diabetes melitus. (Fowler MJ, 2008)



Gambar 3. Mediator hemodinamik dan metabolik yang berperan terhadap patogenesis komplikasi makrovaskular diabetes melitus.

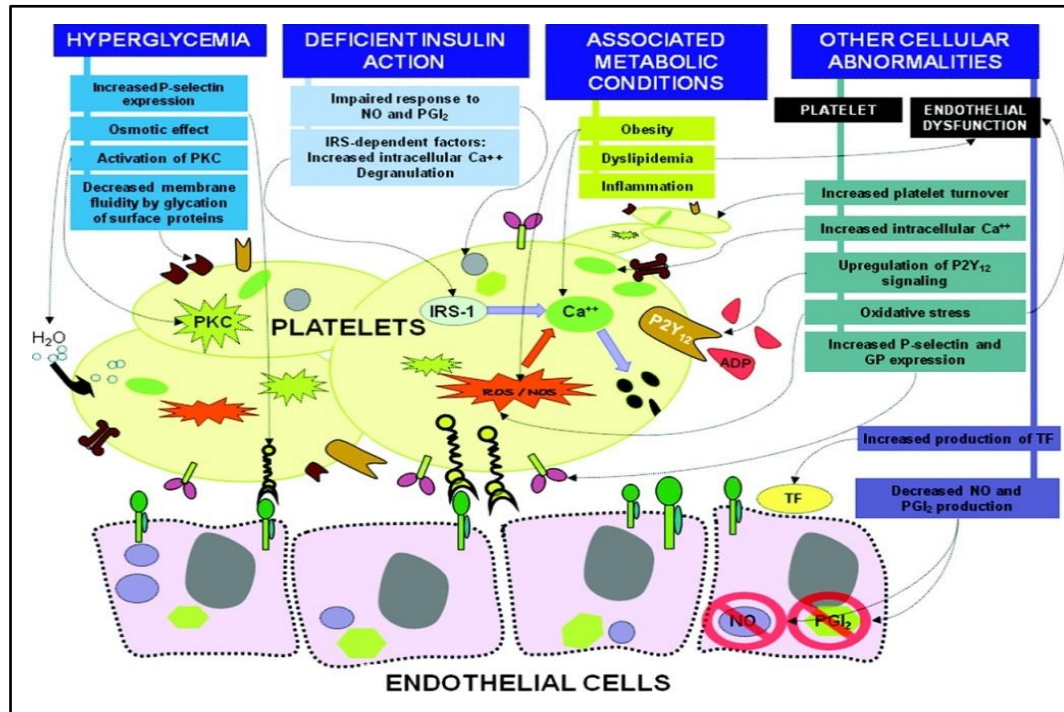
(Gray SP, *et al.* Pathogenesis of Macrovascular Complications in Diabetes. In: Holt RIG, Cockram CS, Flyvbjerg A, Goldstein BJ. *Textbook of Diabetes*. 5<sup>th</sup> Ed. New Jersey: Wiley; 2016)

## 5. Abnormalitas Trombosit pada Diabetes Melitus Tipe 2

Percepatan terjadinya aterosklerosis merupakan faktor dasar utama yang berperan terhadap tingginya risiko kejadian aterotrombotik pada pasien dengan diabetes melitus. Beberapa faktor yang berperan terhadap kondisi protrombotik yang merupakan karakteristik pasien dengan diabetes melitus, diantaranya, peningkatan koagulasi, gangguan fibrinolisis, disfungsi endotel, dan hiper-reaktivitas trombosit. Kondisi yang terakhir merupakan salah satu mekanisme yang cukup menarik, karena trombosit memainkan peranan yang penting dalam pembentukan, perkembangan dan stabilitas trombin, yang keseluruhannya melibatkan trombosit (Ferreiro JL, *et al*, 2010).

Trombosit pada pasien dengan diabetes melitus dikarakteristikan dengan disregulasi beberapa jalur pensinyalan, dan telah terbukti menyebabkan hiper-reaktivitas dengan intensifikasi adesi, aktivasi, dan agregasi. Fenotip trombosit yang hiperreaktif tersebut mungkin berperan terhadap tingginya proporsi pasien DM yang tidak berespon terhadap agen antitrombosit dibandingkan subjek non-DM. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Sejumlah mekanisme yang disebabkan oleh abnormalitas metabolisme dan seluler telah diajukan berkenaan dengan peranannya dalam peningkatan reaktivitas trombosit yang ditemukan pada pasien dengan diabetes melitus (Gambar 6). (Ferreiro JL, *et al*, 2010)



Gambar 4. Mekanisme yang berperan terhadap disfungsi trombosit pada pasien dengan diabetes melitus

(Ferreiro JL, Gomez-Hospital JA, dan Angiolillo DJ. Platelet abnormalities in diabetes mellitus. *Diabetes & Vascular Disease Research*. 2010)

#### a. Hiperglikemia

Hiperglikemia tidak hanya mendefinisikan diabetes melitus tetapi juga memainkan peranan tersendiri dan penting dalam abnormalitas darah yang akan berakhir pada kondisi protrombotik pada pasien diabetes melitus. Trombosit dari pasien dengan diabetes melitus tipe 2 terbukti mengalami peningkatan ekspresi molekul adesi. Perbaikan kontrol gula darah terbukti memberikan efek yang bermanfaat terhadap adesi dan aktivasi trombosit. Ekspresi reseptor permukaan trombosit juga meningkat pada pasien diabetes melitus. Secara khusus, ekspresi glikoprotein Ib dan GPIIb/IIIa, yang masing-masing memediasi ikatan



terhadap vWF dan interaksi trombosit-fibrin, diketahui mengalami peningkatan pada pasien dengan diabetes melitus. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Hiperglikemia akut menyebabkan peningkatan aktivasi trombosit, yang terekam dengan peningkatan kadar molekul adesi permukaan seperti P-selektin, dan beberapa penanda aktivasi trombosit (misalnya, ligan CD40). Selanjutnya, kadar HbA1c dan glukosa darah puasa terbukti berhubungan dengan ekspresi P-selektin pada pasien diabetes melitus tipe 2 yang menjalani angioplasti koroner, yang memberikan sekali lagi kesan bahwa perbaikan kontrol gula darah dapat menurunkan reaktivitas trombosit. Beberapa mekanisme yang berperan terhadap peningkatan reaktivitas trombosit yang disebabkan oleh hiperglikemia diantaranya: a) glikasi protein membran trombosit non-enzimatik yang menurunkan fluiditas membran, yang berperan terhadap peningkatan adesi trombosit; b) efek osmotik glukosa yang mengaktifkan GPIIb/IIIa trombosit dan ekspresi P-selektin; c) aktivasi protein kinase C, suatu mediator aktivasi trombosit; dan d) glikasi lipoprotein densitas rendah (*low-density lipoprotein*/LDL) sirkulasi, yang meningkatkan konsentrasi kalsium intraselular dan produksi nitrit oksida. Glikasi LDL pada hiperglikemia menyebabkan struktur LDL menjadi termodifikasi dan teroksidasi. Oksidasi LDL yang tinggi menyebabkan peningkatan konsentrasi kalsium intrasel dan produksi nitrit oksida dan membuat ukuran molekul LDL

menjadi lebih kecil dan padat sehingga makin bersifat aterogenik .  
(Ferreiro JL, *et al*, 2010)

b. Defisiensi dan resistensi insulin

Diabetes melitus tipe 2, yang terhitung 90 – 95% kasus diabetes melitus, disebabkan oleh kombinasi adanya resistensi kerja insulin dan respon sekresi insulin yang inadkuat, yang biasanya merupakan defisiensi insulin relatif (dibandingkan absolut). Gangguan kerja insulin merupakan faktor kardinal perkembangan diabetes melitus dan secara jelas berperan terhadap disfungsi trombosit. Reseptor insulin (*insulin receptors/IR*) dan *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) terekspresi pada trombosit. IGF-1 ditemukan pada granula- $\alpha$  trombosit dan tingkat fungsional reseptor tertingginya diekspresikan pada permukaan trombosit, yang berperan terhadap amplifikasi respon trombosit, meskipun jalur dalam memodulasi fungsi trombosit tersebut masih belum mampu dijelaskan secara jelas. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

c. Terkait kondisi metabolik

Beberapa kondisi metabolik yang berhubungan dengan diabetes melitus tipe 2 dapat berperan terhadap peningkatan reaktivitas trombosit yang ditemukan pada pasien-pasien tersebut, diantaranya obesitas, dislipidemia, dan peningkatan inflamasi sistemik. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Obesitas merupakan gambaran yang umum ditemukan pada pasien dengan diabetes melitus tipe 2, dan obesitas itu sendiri berhubungan

dengan kondisi resistensi insulin, yang secara relevan berdampak pada reaktivitas trombosit. Meskipun demikian, beberapa faktor yang ditemukan pada subjek yang mengalami obesitas dapat dianggap sebagai keadaan disfungsi trombosit, diantaranya a) peningkatan hitung trombosit, dan volume rata-rata trombosit yang tinggi, yang berhubungan dengan reaktivitas trombosit dan memiliki dampak prognostik pada proses aterotrombotik seperti stroke dan sindrom arteri koroner; b) konsentrasi leptin serum yang tinggi berhubungan dengan agregabilitas trombosit yang meningkat; c) konsentrasi kalsium sistolik yang tinggi, yang juga merupakan pendukung reaktivitas trombosit; dan d) stres oksidatif yang meningkat. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Pasien dengan diabetes melitus tipe 2 cenderung mengalami **dislipidemia**, yang biasanya bermanifestasi dengan peningkatan trigliserida dan rendahnya kadar kolesterol lipoprotein densitas tinggi (*high-density lipoprotein*/HDL). Hipertrigliseridemia merupakan suatu manifestasi khas yang dikenal mampu menginduksi aktivasi trombosit yang lebih luas. Kadar HDL yang rendah berhubungan dengan disfungsi endotel, yang akan meningkatkan risiko aterotrombotik pada pasien diabetes melitus. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Diabetes melitus juga berhubungan dengan inflamasi sistemik. Sesuai dengan hal tersebut, pasien diabetes melitus menunjukkan konsentrasi inflamasi, aktivasi trombosit, dan penanda koagulasi (ligan

CD40, P-selektin, interleukin-6, dan *tissue factor*) yang lebih tinggi dibandingkan subjek yang sehat. Selanjutnya, ekspresi reseptor FcγRIIA, yang meningkat pada trombosit pasien DM dan diketahui berperan terhadap aktivasi trombosit, telah terbukti dimodulasi oleh suatu inflamasi. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

d. Abnormalitas seluler lainnya

Anomali trombosit seringkali ditemukan pada pasien diabetes melitus yang turut berperan terhadap hiperreaktivitas trombosit, diantaranya disregulasi metabolisme kalsium, stres oksidatif, peningkatan jalur pensinyalan P2Y<sub>12</sub> dan percepatan penghancuran trombosit. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Gangguan pengaturan regulasi metabolisme kalsium yang menyebabkan peningkatan kadar kalsium intraseluler merupakan gambaran utama trombosit pada pasien diabetes melitus. Mekanisme yang terlibat dalam abnormalitas pensinyalan kalsium pada diabetes melitus masih belum mampu dijelaskan secara lengkap. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Modulasi trombosit atau status redoks vaskular dan adanya *reactive oxygen species* (ROS) dapat mengganggu fungsi trombosit dan menjadi protrombotik. DM berhubungan dengan stres oksidatif, khususnya terhadap produksi ROS dan nitrik oksida yang berlebihan, serta penurunan kadar antioksidan trombosit. Produksi oksidan poten,

seperti anion superoksida dan hidrogen peroksida akan meningkatkan aktivasi trombosit. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

Jalur pensinyalan reseptor P2Y<sub>12</sub> ADP trombosit ditemukan mengalami peningkatan pada trombosit diabetik, khususnya pada mereka yang mengalami diabetes melitus tipe 2. Hal tersebut akan menekan konsentrasi cAMP dan, ditambah dengan respon insulin yang lebih lambat, akan menyebabkan peningkatan adesi, agregasi, dan aktivitas prokoagulan. Abnormalitas lain pada molekul permukaan trombosit adalah meningkatnya ekspresi protein permukaan seperti P-selektin dan **GPIb** dan GPIIb/IIIa yang merupakan integrin yang memediasi adesi. (Ferreiro JL, *et al*, 2010)

### **C. Polimorfisme *Human Platelet Alloantigen* (HPA)**

#### **1. Polimorfisme**

Trombosit melakukan peranannya dalam hemostasis, yakni melekat pada pembuluh darah yang cedera, melakukan agregasi, dan melalui ikatan saling silang dengan fibrinogen membentuk endapan fibrin untuk mencegah kehilangan darah, diketahui melalui interaksi ligan reseptor yang melibatkan banyak glikoprotein yang terekspresi pada permukaan membran sel.

Glikoprotein diekspresikan oleh kode-kode genetik yang menunjukkan variasi genetik (variasi-variasi abnormal) yang diistilahkan

sebagai polimorfisme. (Triwani, 2015) Angka kejadian polimorfisme lebih dari 1% populasi. Polimorfisme berarti adanya bentuk fenotip alternatif pada populasi yang sama atau secara genetik diartikan sebagai adanya dua atau lebih bentuk alel yang berbeda pada suatu populasi yang disebabkan oleh substitusi-substitusi asam amino (Rozman P, 2002; Singh RS, 2001).

Polimorfisme adalah perubahan atau mutasi pada gen yang tidak menimbulkan perubahan struktur protein melainkan hanya mengakibatkan variasi pada fungsi protein. Polimorfisme tidak bermanifestasi klinis, tetapi bisa menentukan kerentanan terhadap penyakit. Dampak polimorfisme adalah terjadi perubahan kerentanan suatu populasi terhadap penyakit. Polimorfisme yang terjadi akan terus diturunkan sehingga frekuensi polimorfisme pada setiap etnis dapat berbeda-beda. (Pei-Yu, L, Kelvin, H.L. 2010)

## **2. *Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)***

*Deoxyribonucleic acid* (DNA) merupakan bahan genetik tempat penyimpanan informasi biologis dalam bentuk kode-kode genetik. Berbagai mekanisme pertahanan melawan perkembangan kanker melibatkan berbagai seri protein gen pengkode/penyandi yang terlibat dalam gabungan metabolisme dan reduksi bahan-bahan yang potensial memicu toksik/karsinogenik serta perbaikan lesi DNA (*DNA repair*). (Newmark H.L & Wargovich M.J. 1994) *Deoxyribonucleic acid* (DNA) ini

terus-menerus diserang oleh agen eksogen dan endogen yang menyebabkan modifikasi atau kerusakan DNA. Proses perbaikan DNA ini dikenal dengan perbaikan DNA (*DNA repair*). Jika lesi DNA yang tersisa tidak diperbaiki, mereka dapat menyebabkan mutagenesis dan onkogenesis. Dengan demikian, perbaikan DNA merupakan garis pertama pertahanan melawan neoplasma. Variasi dalam perbaikan DNA bisa disebabkan oleh karena sering terjadi polimorfisme dalam gen perbaikan DNA, sehingga mungkin memiliki dampak pada kerentanan genetik individu untuk menjadi penyakit. Berbagai perubahan DNA dapat terjadi akibat paparan dengan lingkungan dan karsinogen. *Deoxyribonucleic acid* (DNA) yang gagal berpasangan dapat menimbulkan instabilitas genetik, mutagenesis, dan kematian sel. Kejadian tersering yang menyebabkan mutasi pada nukleotida ini disebut sebagai *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). (Pei-Yu, L, Kelvin, H.L. 2010)

*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) merupakan penanda dalam variasi genom antar individu sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi alel yang membawa suatu sifat yang penting pada suatu individu (Mmeka et al., 2013). Selain itu, penanda SNP dapat diaplikasikan di bidang kesehatan dan kedokteran untuk diagnostik dan prognostik suatu penyakit (Sadewa, 2015). Sebagian besar perbedaan genetik manusia dipengaruhi oleh adanya SNP yang terjadi pada genom manusia dan seringkali dihubungkan dengan adanya perbedaan dalam predisposisi suatu

penyakit tertentu ataupun respons tubuh terhadap penggunaan obat (Simon dan Surdaji, 2005). Perbedaan ini dimungkinkan karena adanya substitusi (transisi dan transfersi), delesi, atau insersi (Duran et al., 2009). Transisi merupakan perubahan basa purin yang digantikan oleh basa purin, dan basa pirimidin digantikan oleh basa pirimidin. Sedangkan transversi merupakan perubahan basa purin digantikan basa pirimidin dan basa pirimidin digantikan oleh basa purin. Perubahan SNP dapat diwariskan ke generasi berikutnya baik yang bersifat menguntungkan ataupun sifat yang merugikan seperti mutasi (Duran et al., 2009). Kebanyakan SNP memiliki sifat bialel yaitu terdapat dua jenis alel (satu basa nukleotida berubah menjadi basa nukleotida yang lain), tetapi ditemukan pula SNP yang memiliki sifat lebih dari dua jenis alel walaupun sangat jarang ditemukan (Duran et al., 2009).

*Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) dapat dijadikan sebagai biomarker untuk identifikasi kepekaan terhadap suatu penyakit. *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) merupakan suatu perubahan susunan basa nukleotida tunggal pada genom suatu individu yang menyebabkan adanya variasi genetik dalam suatu populasi (Twyman, 2005). Pada dasarnya basa nukleotida penyusun genom manusia memiliki kesamaan yang mencapai 99.9% dan hanya sekitar 0.1% nukleotida yang membedakan antar individu. Namun dari 0.1% tersebut memiliki dampak yang besar, baik dari segi morfologi maupun fisiologi (Noer, 2014). Adanya



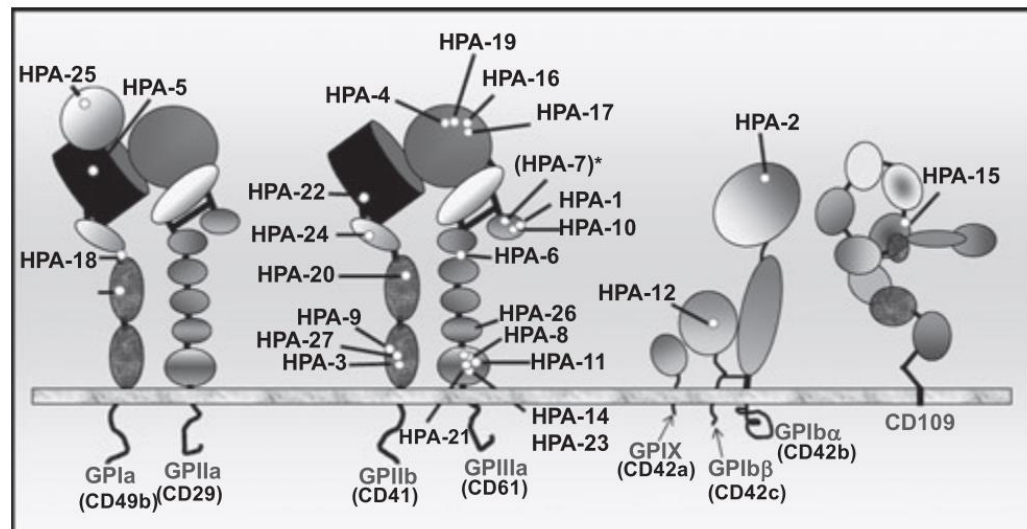
SNP berbeda dengan variasi genetik akibat mutasi titik (*point mutation*) yang bersifat patologis, karena variasi SNP dapat pula ditemukan pada individu normal (Sadewa, 2015).

*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) dapat ditemukan pada *coding region* maupun *non coding region*. (Lonetti et al., 2016) *Single Nucleotide Polymorphism* yang terletak pada *coding region* dinamakan cSNP yang memiliki peluang untuk mempengaruhi fungsi gen karena dapat mengubah urutan asam amino dan mempengaruhi struktur protein sehingga menyebabkan gangguan monogenik resesif maupun dominan. Mutasi/polimorfisme pada *non coding* (tipe *mutant*) lebih beresiko atau berpeluang terjadi keganasan dan memiliki kerentanan genetik lebih tinggi dibandingkan polimorfisme pada *coding* (*wild type*). (Wang et al., 2001)

Gangguan monogenik adalah gangguan akibat adanya mutasi gen tunggal alel resesif atau dominan yang diwariskan induk ke keturunannya (Babar, 2017). *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) dapat digunakan sebagai penanda (*marker*) yang efektif dalam mendeteksi keragaman genetik yang umumnya terjadi dengan frekuensi sekitar satu SNP dalam 1000 nukleotida pada DNA genom (Campbell et al., 2000).

Pada awalnya, polimorfisme trombosit dinamakan dalam golongan darah berdasarkan nama antibodi yang timbul. Alloantigen yang menyebabkan alloimunitas ini kemudian diklasifikasikan berdasarkan sistem imunogenetik HPA oleh Von Dem Borne dan Decary pada tahun

1990 (Gambar 4). Nomenklatur tersebut direvisi pada tahun 1998 oleh Santoso dan Kiefel. Nomenklatur HPA sedikit lebih mudah dibandingkan yang sebelumnya, yang memberikan data yang penting mengenai perubahan nukleotida dan mengenai data perubahan nukleotida pada protein tersebut (Tabel 2). (Rozman P, 2002 ; *European Bioinformatics Institute*, 2015)



Gambar 5. Ilustrasi yang menggambarkan struktur glikoprotein (GP) trombosit, GPIIb/IIIa, GPIa/IIa, GPIb/IX, dan CD109, dan lokasi prediksi dari 27 *human platelet alloantigen* (HPA) yang berbeda diekspresikan.

(Rozman P. Platelet antigens. The role of human platelet alloantigens (HPA) in blood transfusion and transplantation. *Transplant Immunology*. 2002)

*Human platelet alloantigen* (HPA) diberikan nomor berdasarkan kronologis waktu penemuannya disertai pemberian kode 'a' untuk antigen dengan frekuensi yang lebih banyak dan kode 'b' untuk antigen dengan frekuensi lebih sedikit. *Human platelet alloantigen* (HPA) yang diketahui antibodi hanya berespon terhadap satu dari dua antigen tersebut diberikan

label 'w' yang berarti *workshop*, seperti HPA-8bw. Meskipun frekuensi HPA lebih cenderung diteliti pada populasi kaukasian, sebaiknya perlu diketahui bahwa frekuensi tidak selalu ditentukan oleh ras dan etnik. (Curtis BR, 2014)

Dampak dari alel-alel yang mengkode setiap GP adalah adanya sejumlah alloepitop pada masing-masing protein. GPIIIa, sejauh ini membawa sejumlah epitop, HPA-1, HPA-4, HPA-6, HPA-7, HPA-8, HPA-10, dan HPA-11, yang dibentuk oleh residu asam amino 33, 143, 489, 407, 636, 62, dan 633, masing-masing. (*European Bioinformatics Institute*, 2015 ; Rozman P, 2002)

*Human Platelet Antigen* adalah bentuk polimorfisme imunogenik dari GP dan fosfolipid membran trombosit, masing-masing terdiri dari subunit  $\alpha$  dan  $\beta$  yang tidak terkait secara konvensional. Alel frekuensi yang lebih tinggi ditetapkan sebagai " $\alpha$ " (seperti HPA-1 $\alpha$ ) dan alel frekuensi rendah " $\beta$ " (seperti HPA-1 $\beta$ ) (Tabel 2). Frekuensi alel HPA dapat bervariasi di antara kelompok ras yang berbeda misalnya, HPA-1 $\beta$  diekspresikan pada trombosit sekitar 15% orang-orang keturunan Eropa, tetapi kurang dari 1% pada orang keturunan Asia. (Kunichi TJ, 2007)

Di Asia, 12 HPA dikelompokkan menjadi enam binial (HPA1 $\alpha$ /1 $\beta$ , 2 $\alpha$ /2 $\beta$ , 3 $\alpha$ /3 $\beta$ , 4 $\alpha$ /4 $\beta$ , 5 $\alpha$ /5 $\beta$ , dan 15 $\alpha$ /15 $\beta$ ). (Kunichi TJ, 2007) Studi distribusi HPA pada 300 populasi orang Thailand yang sehat, dipilih secara acak. Pemeriksaan menggunakan teknik *sequence specific primer-*

*polymerase chain reaction* (PCR-SSP), frekuensi HPA-1, -2, -3, -4, -5 dan -6 ditentukan. Frekuensi fenotipe 100% untuk HPA-1a, 4a, 5a, dan 6a. Untuk HPA-1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 5b dan 6b, frekuensinya masing-masing adalah 5,7%, 99,7%, 12,3%, 78,0%, 71,3%, 7,3% dan 3,0 %. HPA-4b tidak ditemukan. Frekuensi HPA pada subjek penelitian ini cukup mirip dengan populasi Asia Tenggara tetapi berbeda dari Kaukasia. (Rompasuk et al, 2000)

Suatu penelitian yang dilakukan pada 120 populasi donor di Makassar menunjukkan data frekuensi HPA 1a (100%), HPA 2a (100%), HPA 2b (80,83%), HPA 3a (75,83%) , HPA 3b (57,5%), HPA 4a (99,17%), HPA 5a (39,75%), dan HPA 5b (2,5%). (Muhiddin R, *et al*, 2019)

Tabel 2. Tatanama *Human Platelet Antigen*. (Kunichi TJ, 2007)

Alloantigen	Allelic forms	Synonim	Phenotypic frequency	GP Location Amino Ac. Change	Nucleotide Substitution
HPA-1	HPA-1 $\alpha$ HPA-1 $\beta$	PI <sup>A1</sup> ,Zw <sup>a</sup> PI <sup>A2</sup> ,Zw <sup>b</sup>	72% $\alpha/\alpha$ 26% $\alpha/\beta$ 2% $\beta/\beta$	GP1IIa /Leu <sup>33</sup> GP1IIa/Pro <sup>33</sup>	T <sup>106</sup> (196T>C) C <sup>106</sup>
HPA-2	HPA-2 $\alpha$ HPA-2 $\beta$	Ko <sup>b</sup> Ko <sup>a</sup> , Sib <sup>a</sup>	85% $\alpha/\alpha$ 14% $\alpha/\beta$ 1% $\beta/\beta$	GP1b/Thr <sup>145</sup> GP1b/Met <sup>145</sup>	C <sup>524</sup> (524C>T) T <sup>524</sup>
HPA-3	HPA-3 $\alpha$ HPA-3 $\beta$	Bak <sup>a</sup> ,Lek <sup>a</sup> Bak <sup>b</sup>	37% $\alpha/\alpha$ 48% $\alpha/\beta$ 15% $\beta/\beta$	GP1Ib/Ile <sup>843</sup> GP1Ib/Ser <sup>843</sup>	T <sup>2622</sup> (2622T>G) G <sup>2622</sup>
HPA-4	HPA-4 $\alpha$ HPA-4 $\beta$	Yuk <sup>b</sup> ,Pen <sup>a</sup> Yuk <sup>a</sup> ,Pen <sup>b</sup>	>99% $\alpha/\alpha$ 0.1% $\alpha/\beta$ 0.1% $\beta/\beta$	GP1IIa/Arg <sup>143</sup> GP1IIa/Gln <sup>143</sup>	G <sup>526</sup> (526G>A) A <sup>526</sup>
HPA-5	HPA-5 $\alpha$ HPA-5 $\beta$	Br <sup>b</sup> ,Zav <sup>b</sup> Br <sup>a</sup> ,Zav <sup>a</sup> ,HC <sup>a</sup>	80% $\alpha/\alpha$ 19% $\alpha/\beta$ 1% $\beta/\beta$	GP1Ia/Glu505 GP1Ia/Lys505	G <sup>1648</sup> (1648G>A) A <sup>1648</sup>
HPA-6	HPA-6bw	Ca <sup>a</sup> ,Tu <sup>a</sup>	1% $\beta/\beta$	GP1IIa/Gln489 GP1IIa/Arg489	A <sup>1564</sup> (1564A>G) G <sup>1564</sup>
HPA-7	HPA-7bw	Mo <sup>a</sup>	1% $\beta/\beta$	GP1IIa/Ala <sup>407</sup> GP1Ib/Pro <sup>407</sup>	G <sup>1317</sup> (1317G>C) C <sup>1317</sup>
HPA-8	HPA-8bw	Sr <sup>a</sup>	<1% $\beta/\beta$	GP1IIa/Cys <sup>536</sup> GP1IIa/Arg <sup>536</sup>	T <sup>2004</sup> (2004T>C) C <sup>2004</sup>
HPA-9	HPA-9bw	Max <sup>a</sup>	<0.1% $\beta/\beta$	GP1b/Met <sup>637</sup> GP1b/Val <sup>637</sup>	A <sup>2603</sup> (2603A>G) G <sup>2603</sup>
HPA-10	HPA-10bw	La <sup>a</sup>	1% $\beta/\beta$	GP1IIa/Gln <sup>62</sup> GP1IIa/Arg <sup>62</sup>	A <sup>281</sup> (281A>G) G <sup>281</sup>
HPA-11	HPA-11bw	Gro <sup>a</sup>	<1% $\beta/\beta$	GP1IIa/GPHis <sup>633</sup> GP1IIa/Arg <sup>633</sup>	A <sup>1096</sup> (1096A>G) G <sup>1096</sup>
HPA-12	HPA-12bw	ly <sup>a</sup>	<1% $\beta/\beta$	GP1b/Glu <sup>15</sup> Gly <sup>15</sup> GP1b/Gly <sup>15</sup>	A <sup>141</sup> (141A>G) G <sup>141</sup>
HPA-13	HPA-13bw	Sit <sup>a</sup>	<1% $\beta/\beta$	GP1a/Met <sup>799</sup> GP1a/Thr <sup>799</sup>	T <sup>2531</sup> (2531T>C) C <sup>2531</sup>
HPA-14	HPA-14bw	Oe <sup>a</sup>	<1%	GP1IIa/ $\Delta$ Lys <sup>611</sup> GP1IIa/Lys <sup>611</sup>	$\Delta$ AAG <sup>1626-31</sup> AAG <sup>1626-31</sup>
HPA-15	HPA-15 $\alpha$ HPA-15 $\beta$	Gov <sup>b</sup> Gov <sup>a</sup>	35% $\alpha/\alpha$ 42% $\alpha/\beta$ 23% $\beta/\beta$	CD109/Ser707 CD109/Thr703	C <sup>2108</sup> (2108C>A) A <sup>2108</sup>
HPA-16bw		Duv <sup>a</sup> Va <sup>a</sup> Pe <sup>a</sup>	<1%	GP1IIa/Ile140 GP1IIa/Thr140	T <sup>517</sup> (517T>C) C <sup>517</sup>
HPA-17bw			<1%	GP1IIa /Thr <sup>195</sup> GP1IIa /Met <sup>195</sup>	C <sup>622</sup> (622 C>T) T <sup>622</sup>
HPA-18bw			<1%	GP1a/Q718H	G <sup>2235</sup> (2235 G>T) T <sup>2235</sup>
HPA-19bw			<1%	GP1IIa/K137Q	A <sup>487</sup> (487 A>C) A <sup>487</sup>
HPA-20bw			<1%	GP1b/T619M	C <sup>1940</sup> (1940 C>T) T <sup>1940</sup>
HPA-21bw			<1%	GP1IIa/G628K	G <sup>1960</sup> (1960 G>A) A <sup>1960</sup>

<sup>a</sup>Phenotypic frequencies for the antigen system shown are for the Caucasian population only

Glikoprotein (GP) membran trombosit diekspresikan dalam bentuk polimorfik akibat *single nucleotide polymorphisms* (SNP) pada gen-gen yang mengkode/menyandi glikoprotein. Perubahan-perubahan asam amino berasal dari SNP ini yang akan menginduksi perubahan pada struktur glikoprotein untuk membentuk antigen yang dapat memicu produksi antibodi melalui proses kehamilan atau transfusi trombosit. Sejumlah antibodi yang terbentuk terhadap *Human Platelet Alloantigen* (HPA) secara klinis penting dalam gangguan imun trombosit. Respon alloimunisasi trombosit yang dapat menyebabkan manifestasi klinik trombositopenia autoimun, seperti *Fetal Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia* (FNAIT), *Post Transfusion Purpura* (PTP), dan *Platelet Transfusion Refractory* (PTR), *Idiopathic Thrombocytopenic Purpura* (ITP). (Mangerona CM, et al, 2015) (Curtis BR, 2014) (Pai SC, et al, 2013) Diagnosis laboratorium biasanya dibuat dengan perbandingan genotip ibu dan ayah serta pemeriksaan serologi antibodi pada plasma atau serum ibu yang bereaksi dengan trombosit paternal. (Kunichi TJ., Nugent DJ., 2007)

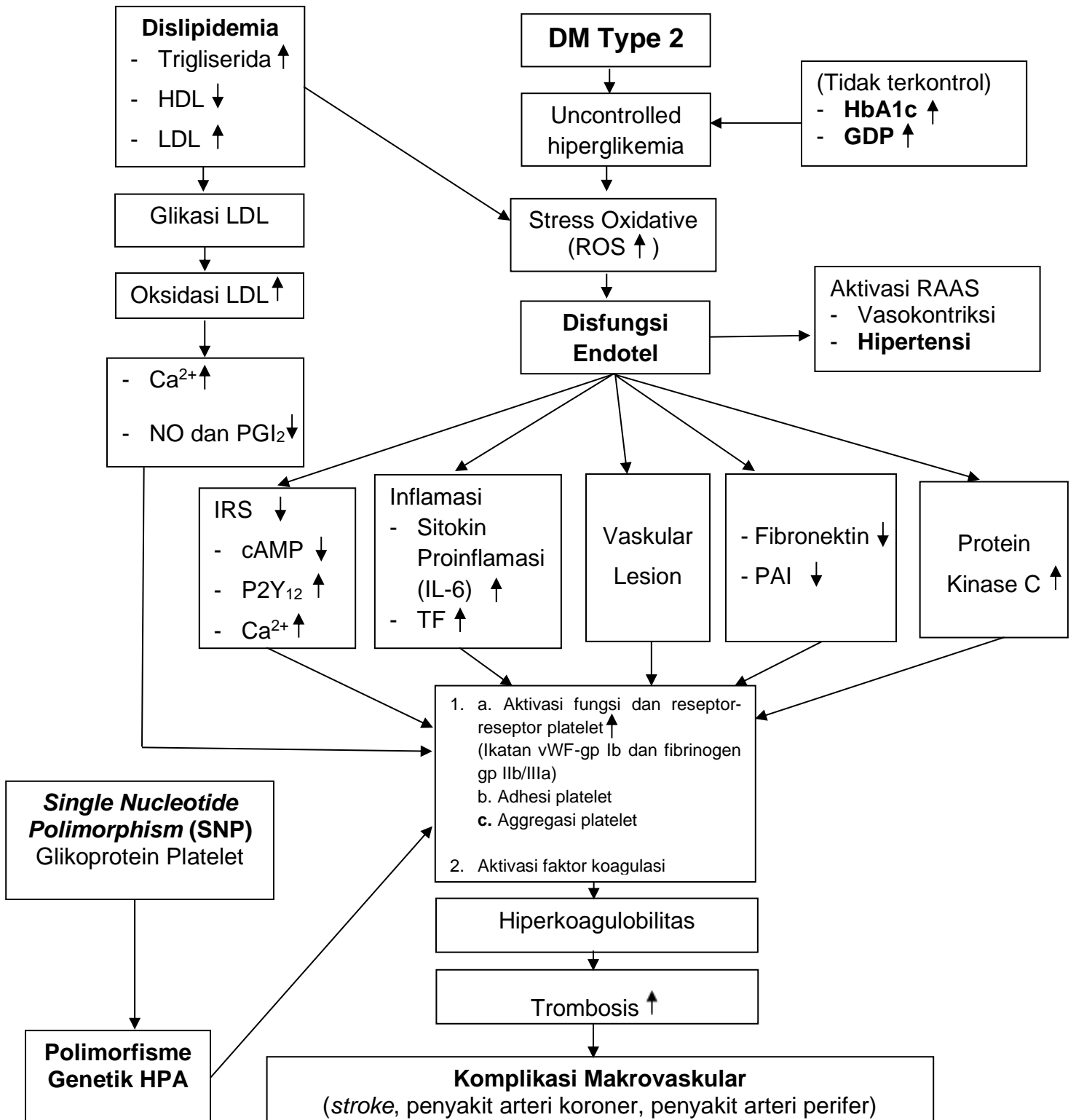
Pada penelitian Kunichi TJ tahun 2007, antibodi HPA-1 $\alpha$  penyebab terbanyak terjadinya FNAIT. Pada penelitian lain mendapatkan pasien dengan homozigot HPA-1 $\beta$  pada GP-IIIa, penyebab terbanyak kasus *Post-Transfusion Purpura* sebanyak >60%, data ini didasarkan pada adanya antibodi pada serum pasien. (Kunichi TJ., Nugent DJ., 2007)

Marzena D., *et al*, 2018, pada penelitian menganalisis frekuensi alloimunisasi HPA-1 $\alpha$  pada wanita hamil di Polandia. Hasil penelitian Marzena menunjukkan wanita dengan HPA-1 $\alpha$  negatif (kira-kira 2,5% dari semua pasien hamil) berisiko alloimunisasi dengan antigen HPA-1 $\alpha$  dari janinnya dan mengembangkan FNAIT. Wanita ini dapat menjadi donor trombosit bagi anaknya, dengan mengeliminasi antibodi dari trombosit konsentrat. Khaspekova, 2019, pada penelitiannya mendapatkan bahwa dalam populasi Rusia, penyebab paling umum dari NAIT adalah berkaitan dengan HPA-1 $\alpha$ , HPA-1 $\beta$  dan HPA-15 $\alpha/\beta$ .

*Human Platelet Antigen* (HPA-1a) adalah HPA yang paling sering terlibat dalam FNAIT dan PTP menyusul kompleks glikoprotein trombosit lainnya, seperti **GPIb**/V/IX, GPIa/IIa pada populasi Kaukasia. Selain sebagai marker HPA, trombosit juga mengekspresikan antigen ABO dan antigen leukosit manusia (HLA), antibodi-antibodi tersebut penting dalam terjadinya FNAIT. (Curtis, McFarland, 2014)

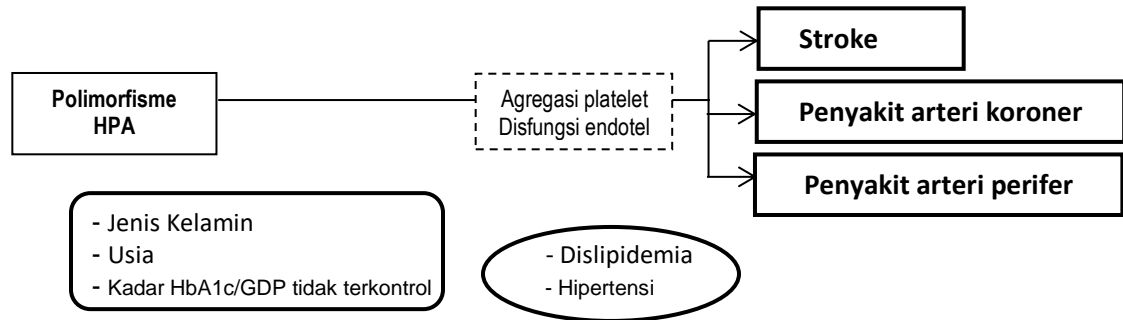
Selain itu, dengan adanya perbedaan sensitivitas reseptor trombosit, polimorfisme pada glikoprotein trombosit secara langsung berdampak terhadap kecenderungan trombosit untuk mengalami stimulus aktivasi, yang berkaitan erat dengan peningkatan risiko kejadian aterotrombotik, diantaranya infark miokard, stroke, penyakit arteri perifer. (Carlsson LE, *et al*, 1997 ; Saidi S, *et al*, 2008 ; Cassar K, *et al*, 2003).

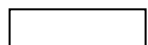
### D. Kerangka Teori

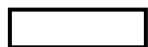


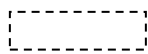


## E. Kerangka Konsep



 : variabel bebas

 : variabel terikat

 : variabel antara

 : variabel perancu

 : variabel kendali