

**PERANAN POLIMORFISME GEN *COLLAGEN TYPE 1 ALPHA 1*  
(COL1A1) TERHADAP PENURUNAN DENSITAS MINERAL  
TULANG VERTEBRA LUMBAL AKSEPTOR KB SUNTIK  
DEPOMEDROKSI PROGESTERON ASETAT (DMPA)**

***THE ROLE OF POLYMORPHISM OF COLLAGEN TYPE I ALPHA 1 (COL1A1)  
GENE TO THE DECREASED OF BONE MINERAL DENSITY OF LUMBAR  
SPINE IN ACCEPPTORS OF DEPOMEDOXY PROGESTERONE ACETATE  
INJECTION***



**OLEH :**

**ANDI MARDIAH TAHIR  
P.02.003.01.003**

**Program studi : Ilmu Kedokteran  
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR, 2007**

## **PENGESAHAN SEMINAR PRAPROMOSI**

### **PERANAN POLIMORFISME GEN *COLLAGEN TYPE 1 ALPHA 1 (COL1A1)* TERHADAP PENURUNAN DENSITAS MINERAL TULANG VERTEBRA LUMBAL AKSEPTOR KB SUNTIK DEPOMEDROKSI PROGESTERON ASETAT (DMPA)**

Diajukan oleh

Andi Mardiah Tahir  
P02.003.01.003

Menyetujui

Tim Promotor

Prof. DR.dr. Edu Tehupeior, Sp.PD-K

Promotor

Tanggal : .....Agustus 2007

Prof. DR.dr. H.A.Arifuddin Djuanna, Sp.OG-K

Ko-promotor

Tanggal Agustus 2007

dr. Budu, Ph.D, Sp.M

Ko-promotor

Tanggal Agustus 2007

Ketua Program Studi  
Ilmu Kedokteran

Prof. DR.dr. Suryani As'ad, Sp.GK, M.Sc

**PERANAN POLIMORFISME GEN *COLLAGEN TYPE 1 ALPHA 1 (COL1A1)*  
TERHADAP PENURUNAN DENSITAS MINERAL TULANG VERTEBRA  
LUMBAL AKSEPTOR KB SUNTIK DEPOMEDROKSI PROGESTERON  
ASETAT (DMPA)**

Disertasi  
Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor

Program Studi  
Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

Andi Mardiah Tahir

P02.003.01.003

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR

2007

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Andi Mardiah Tahir

Nomor Induk Mahasiswa : P02.003.01.003

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa isi disertasi ini adalah hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 6 Agustus 2007

Yang menyatakan

**Andi Mardiah Tahir**

**KATA PENGANTAR**  
**Bismillahirrahmanirrahim**

Dengan memanjatkan puji syukur dan terima kasih kehadirat Allah Subhanahu Wa Taala atas segala karunia, nikmat dan limpahan rahmatNya, sehingga saya dapat menyelesaikan studi saya pada program pascasarjana UNHAS.

Terima kasih sedalam-dalamnya saya sampaikan kepada Tim promotor dan co-promotor saya, Prof. Dr. dr. Edu Tehupeior, Sp.PD-K, Prof. Dr. dr. H.A.Arifuddin Djuanna, Sp.OG-K dan dr. Budu, Sp.M, Ph.D, yang secara tulus bersedia menjadi pembimbing dengan arif dan bijaksana, menerima konsultasi dan mendorong saya dalam menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Rasa hormat dan terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada :  
Prof. dr. A.Husni Tantra, Ph.D, Sp.An-K selaku Direktur Pascasarjana Unhas serta Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran pada masanya, yang telah memberi dorongan semangat yang tiada hentinya sehingga saya sampai pada tahap ini.  
Kepada Prof.Dr.dr.Razak Thaha, MSc beserta seluruh jajaran pimpinan Program Pascasarjana dan staf administrasi, serta Prof.Dr.dr.Suryani As'ad, MSc selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran sekaligus sebagai Tim penilai, atas segala bantuan dan dorongannya sehingga disertasi ini selesai.

Penghargaan dan terima kasih secara khusus saya sampaikan kepada Prof. dr. Biran Affandi, Sp.OG-K, Ph.D, Prof. Dr. dr. Idrus A.Paturusi, Sp.BO-FICS, Prof. dr. Irawan Yusuf, Ph.D yang telah meluangkan waktu yang sangat berharga untuk memberikan penilaian dan masukan yang sangat bermanfaat demi kesempurnaan disertasi ini. Kepada Dr. dr. Ilhamjaya A. Patellongi, MS yang secara khusus meluangkan waktunya untuk memberi masukan dalam pengolahan data dan statistik, terima kasih yang tak terhingga atas bantuannya.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Prof.dr.John MF Adam, Sp.PD-K / Klinik Osteoporosis Stella, pimpinan dan staf Laboratorium Prodia, PKP Unhas, Lembaga Biologi Molekuler Eijkman Jakarta (Sdr.Turyadi), posyandu Dahlia, RS Pelamonia, yang telah memberi fasilitas untuk melakukan penelitian ini. Begitu pula rasa terima kasih saya ucapkan kepada Ketua Bagian, seluruh Staf dan Residen Bagian

OBGIN FK Unhas, juga staf administrasi Bagian Obgin dan FK Unhas, atas dukungan dan kerjasamanya selama ini.

Kepada seluruh guru-guru saya sejak TK sampai program S3 yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat, terima kasih yang tak terhingga untuk semuanya.

Perkenankan pula saya menghaturkan terima kasih yang tulus kepada kedua orang tua saya H. Andi Tahir Hamid, S.H dan Hj. Andi Kalaru Oddang atas doanya yang tiada terputus untuk kesuksesan saya. Seluruh keluarga besar saya, atas dorongan morilnya.

Kepada suami tercinta dr. A.Jayalangkara Tanra, Sp.KJ-K, Ph.D dan ketiga buah hati kami: Rama, Hiro dan Akita, terima kasih atas kesabaran, doa, dukungan semangat dan pengertian yang telah diberikan, dengan penuh cinta saya haturkan terima kasih.

Dan masih banyak lagi nama yang telah berjasa bagi saya dalam penyelesaian disertasi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, dengan ketulusan yang sangat dalam saya ucapkan terima kasih. Semoga amal tersebut diterima oleh Allah SWT dan mendapat balasan yang berlipat ganda. Amin ya Rabbal alamin.

Makassar, Agustus 2007

Andi Mardiah Tahir

## ABSTRAK

**ANDI MARDIAH TAHIR.** Peranan polimorfisme *gen Collagen type 1 alpha 1 (COL1A1)* terhadap penurunan densitas mineral tulang vertebra lumbal akseptor KB suntik Depomedroksi progesteron asetat (DMPA). (Dibimbing oleh Edu Tehupeiory, H.A.Arifuddin Djuanna, Budu)

Osteoporosis yang ditandai dengan menurunnya Densitas Mineral Tulang (DMT) merupakan masalah kesehatan yang serius, oleh karena insidensinya semakin meningkat serta tingginya biaya pengobatan terutama akibat fraktur tulang yang ditimbulkannya. Kontrasepsi Depomedroksi Progesteron Asetat (DMPA) diduga sebagai salah satu penyebab terjadinya penurunan Densitas Mineral Tulang pada akseptor KB tersebut. Juga sudah sejak lama diketahui bahwa faktor genetik memegang peranan penting pada kejadian osteoporosis. Dilakukan penelitian untuk menilai dampak pemakaian kontrasepsi suntik DMPA pada densitas mineral tulang Vertebra Lumbal (VL.1-4) pada akseptor jangka pendek pada saat sebelum suntikan ke-3 (minggu ke 24 atau 6 bulan) dan sebelum suntikan ke-5 (minggu ke-48 atau 1 tahun) dibandingkan dengan wanita bukan akseptor sebagai kontrol dan akseptor jangka panjang (=5 tahun), dengan alat *Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA)*, sekaligus melihat apakah ada peranan faktor genetik dalam hal ini polimorfisme *gen Collagen Type 1 Alpha 1 (COL1A1)* terhadap penurunan densitas mineral tulang pada akseptor KB suntik DMPA tersebut dengan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)*.

Penelitian dilakukan di Makassar antara Januari 2006 – Maret 2007 pada 33 orang akseptor KB suntik DMPA jangka pendek (1 tahun), 31 orang akseptor suntik DMPA jangka panjang (=5 tahun), dan 33 orang wanita bukan akseptor KB sebagai kontrol. Karakteristik sampel berdasarkan umur rerata :  $25,7 \pm 3,1$  tahun (akseptor 1 tahun) dan  $27,2 \pm 4,8$  tahun (kontrol). Indeks Massa Tubuh (IMT) rerata :  $21,9 \pm 1,7$   $\text{kg/m}^2$  (akseptor KB 1 tahun) dan  $21,5 \pm 1,2$   $\text{kg/m}^2$  (kontrol), homogen secara statistik. Sebelum perlakuan, tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara DMT VL.1-4 kedua kelompok ( $p > 0,05$ ). Setelah perlakuan, DMT VL.1-4 pada akseptor 1 tahun menjadi lebih rendah dibanding kontrol pada semua level vertebra lumbal, dengan uji Mann Whitney menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Besarnya perubahan DMT antara akseptor 1 tahun dan kontrol menunjukkan perbedaan yang bermakna, dimana perubahan pada akseptor 1 tahun lebih besar daripada kontrol ( $p < 0,005$ ). Bahkan pada kontrol hampir tidak ada perubahan (0,0). Angka kejadian osteopenia lebih tinggi pada akseptor 5 tahun daripada akseptor 1 tahun dan akseptor 1 tahun lebih tinggi daripada kontrol pada semua level VL. Kejadian osteopenia berhubungan dengan lama pemakaian KB suntik DMPA. Kejadian osteopeni lebih banyak ditemukan pada akseptor yang memiliki gen heterozigot daripada akseptor yang mempunyai gen normal. Polimorfisme gen COL1A1 hanya ditemukan pada kelompok akseptor 5 tahun, sedangkan pada akseptor 1 tahun dan kontrol, tidak ditemukan polimorfisme gen. Jadi polimorfisme gen COL1A1 belum dapat dibuktikan berperan pada terjadinya penurunan DMT pada akseptor KB suntik DMPA, terutama pada pemakaian jangka pendek.

Kata kunci : DMT, DMPA, polimorfisme Gen COL1A1.

## ABSTRACT

**ANDI MARDIAH TAHIR.** THE ROLE OF POLYMORPHISM OF COLLAGEN TYPE I ALPHA 1 (COL1A1) GENE TO THE DECREASED OF BONE MINERAL DENSITY OF LUMBAR SPINE IN ACCEPTORS OF DEPOT MEDROXY PROGESTERONE ACETATE INJECTION (UNDER SUPERVISION OF EDU TEHUPEIORY, A. ARIFUDDIN DJUANNA, BUDU)

Osteoporosis, marked by decreased mineral bone density is a serious health problem, because the incidence is increasing and high cost of therapy for bone fracture as the consequence. Contraception such as Depomedroxy Progesterone Acetate (DMPA) was thought responsible for the decreased of mineral bone density beside genetic factor. Study was conducted to assess the impact of contraception DMPA injection to bone mineral density of lumbar spine (LS1-4) for short term acceptors (before the 3<sup>rd</sup> injection on the 24<sup>th</sup> week or 6 months and before the 5<sup>th</sup> injection on the 48<sup>th</sup> week or 1 year) compared to non-acceptor women as control and long term acceptors ( $\geq 5$  years) using Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA), and the role of genetic factor such as polymorphism of Collagen Type 1 Alpha 1 gene (COL1A1) to the decreased of bone mineral density in DMPA injection acceptors using PCR.

The study was conducted in Makassar from January 2006 to March 2007, 33 short term DMPA injection acceptors, 33 non-acceptor, and 31 long term DMPA injection acceptors were recruited. The samples were homogen by statistic, mean age:  $25.7 \pm 3.1$  years for short term acceptors;  $27.2 \pm 4.8$  years for controls. Mean Body Mass Index:  $21.9 \pm 1.9$  kg/m<sup>2</sup> for short term acceptors;  $21.5 \pm 1.2$  kg/m<sup>2</sup> for controls. No significant difference in bone mineral density of lumbar vertebrae 1-4 were found between the two groups before study ( $p > 0.05$ ). After six month exposed, the BMD LS 1-4 of short term acceptors were lower than controls and there is significance difference by Mann Whitney Test ( $p < 0.05$ ). Changing of BMD for short term acceptors were significance ( $p < 0.005$ ), where as no significant difference were found in control group (0.0). The incidence of osteopenia was higher for long term acceptors group than short term acceptors group, and short terms acceptors group was higher than control group on all lumbar spine. The incidence of osteopenia was related to the duration of using DMPA injection. The incidence of osteopenia was higher in heterozygote gene acceptors than normal gene acceptors. Polymorphism of the COL1A1 gene were found only in long term acceptors group and none were found in short term acceptors and control group. As the result the role of polymorphism of COL1A1 gene hasn't been establish especially in short term acceptors of DMPA injection.

Key word: BMD, DMPA, Polymorphism of COL1A1 gene



## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
<i>ABSTRACT</i>	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR, TABEL DAN GRAFIK	vii
DAFTAR SINGKATAN	viii
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan masalah	4
1.3. Tujuan penelitian	4
1.4. Manfaat penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Depo Medroksi Progesteron Asetat	7
2.2. Tulang	13
2.3. Osteoporosis	23
2.4. Pengaruh polimorfisme gen collagen type 1 Alpha 1 (COL1A1) dengan densitas mineral tulang	29
III. KERANGKA KONSEP DAN VARIABEL PENELITIAN	
3.1 Kerangka konsep	34
3.2 Diagram hubungan variabel	35
3.3 Hipotesis penelitian	36
IV. METODE PENELITIAN	
4.1. Rancangan penelitian	37
4.2. Waktu penelitian	37
4.3. Populasi dan sample penelitian	37
4.4. Kriteria inklusi dan eksklusi sampel	37
4.5. Cara pengambilan sampel	38
4.6. Besar sampel	39
4.7. Definisi operasional	39
4.8 Bahan dan cara	41
4.9 Alur penelitian	46
4.10 Analisis data	47
V. HASIL PENELITIAN	48
5.1. Hasil Penelitian	
5.1.1. Karakteristik sampel	49
5.1.2. Densitas Mineral Tulang (skor-T) sebelum perlakuan	49

5.1.3. Densitas Mineral Tulang (skor-T) sesudah perlakuan	50
5.1.4. Perbedaan besarnya perubahan Densitas Mineral Tulang (skor-T)	51
5.1.5. Angka Kejadian Osteopenia setelah perlakuan	52
5.1.6. Angka Kejadian Osteopenia pada ketiga kelompok	52
5.1.7. Distribusi angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen <i>COL1A1</i> pada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun, akseptor 5 tahun dan kontrol	55
5.1.8. Distribusi angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen <i>COL1A1</i> pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun.	
5.1.9. Angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme gen <i>COL1A1</i> pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun	58
VI. PEMBAHASAN	60
6.1. Karakteristik sampel	60
6.2. Dampak Penggunaan Kontrasepsi suntik DMPA pada DMT (VL) Akseptor	61
6.3. Perbedaan Densitas Mineral Tulang antara akseptor KB suntik 1 tahun dan 5 tahun.	63
6.4. Peranan polimorfisme gen <i>Collagen Type 1 Alpha 1 (COL1A1)</i> terhadap perubahan DMT VL akseptor KB Suntik DMPA	65
6.5. Kelemahan	71
VII. KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1. Kesimpulan	72
7.2. Saran	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN	
Lampiran 1. Lembar Naskah penjelasan untuk responden	79
Lampiran 2. Lembar Surat persetujuan tindakan medik	81
Lampiran 3. Lembar Keterangan Kelaikan Etik	82
Lampiran 4. Lembar Formulir Penelitian	83
Lampiran 5. Lembar Tabulasi Data	87
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	90

## DAFTAR GAMBAR, TABEL DAN GRAFIK

Gambar 1 : Biosintesis Steroid Gonadal	hal. 11
Gambar 2 : Proses osteoporosis dan homeostasis kalsium	hal. 14
Gambar 3 : Kromosom 17 (lokasi gen COL1A1)	hal. 32
Gambar 4 : Target amplifikasi PCR	hal. 32
Gambar 5 : Diagram alir pemeriksaan	hal. 45
Gambar 6 : Hasil sekuensing	hal. 59
Tabel 1 : Karakteristik sampel (Umur dan IMT)	hal. 49
Tabel 2 : Hasil DMT sebelum perlakuan pada kedua kelompok	hal. 50
Tabel 3 : Hasil DMT sesudah perlakuan pada kedua kelompok	hal. 51
Tabel 4 : Perbedaan besarnya perubahan skor-T DMT antara Kedua kelompok	hal. 51
Tabel 5 : Distribusi angka kejadian osteopeni pada VL.1	hal. 53
Tabel 6 : Distribusi angka kejadian osteopeni pada VL.2	hal. 54
Tabel 7 : Distribusi angka kejadian osteopeni pada VL.3	hal. 54
Tabel 8 : Distribusi angka kejadian osteopeni pada VL.4	hal. 55
Tabel 9 : Distribusi angka kejadian osteopeni menurut polimor- fisme gen COL1A1 pada semua kelompok	hal. 56
Tabel 10: Distribusi angka kejadian osteopeni menurut polimor- fisme gen COL1A1 pada akseptor KB 5 tahun	hal. 57
Grafik 1 : Angka kejadian osteopeni setelah perlakuan	hal. 52
Grafik 2 : Angka kejadian osteopeni pada ketiga kelompok	hal. 52
Grafik 3 : Angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme Gen COL1A1 pada akseptor KB DMPA 5 tahun	hal. 58

## DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

DMPA	:	Depo medroksi progesteron asetat.
DMT	:	Densitas mineral tulang
DEXA	:	Dual energy x-ray absorptiometry
QUS	:	Quantitative Ultrasound
IMT	:	Indeks massa tubuh
PUS	:	Pasangan Usia Subur
KB	:	Keluarga Berencana
IUD	:	Intra Uterine Device
WHO	:	World Health Organization
FDA	:	Food and Drug Administration
COL1A1	:	Collagen type 1 alpha 1
LH	:	Luteinizing Hormon
FSH	:	Follicle Stimulating Hormone
GH	:	Growth Hormone
PTH	:	ParaThyroid Hormone
IGF	:	Insulin- like Growth Factor
1,25 (OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	:	1,25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub>
TGF	:	Transforming Growth Factor
IL	:	Interleukin kB Ligand
RANKL	:	Receptor Activator Nuclear Factor kB Ligand
OPG	:	Osteoprotegerin
ER	:	Estrogen Reseptor
PCR	:	Polymerase Chain Reaction
DNA	:	Deoxyribo Nucleic Acid
VL	:	Vertebra Lumbal



## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **I.1. LATAR BELAKANG**

Osteoporosis adalah suatu penyakit sistemik tulang yang ditandai oleh menurunnya densitas mineral tulang dan kelainan mikroarsitektur, sehingga tulang akan menjadi rapuh, dengan akibatnya mudah patah (fraktur) (Morgan SI dkk,2001;Iqbal MM,2000). Penyakit sistemik ini merupakan salah satu masalah kesehatan sangat yang penting, dihubungkan dengan menurunnya kualitas hidup dan tingginya biaya perawatan. Dampak pada penurunan kualitas hidup tercermin pada meningkatnya angka ketergantungan terhadap orang lain, meningkatnya insidens depresi, menurunnya fungsi sosial oleh karena terjadinya fraktur dan rasa nyeri tulang yang berkepanjangan. Penurunan kualitas hidup bahkan berdampak pada beban ekonomi yang sangat besar, bahkan di AS biaya perawatan osteoporosis mencapai 13,8 milyar dollar per tahun (Ray FR dkk, 1995).

Pada tahun 1995, lebih 28 juta orang Amerika menderita osteoporosis, yang 80% di antaranya adalah wanita (Riggs & Melton, 1995). Lebih dari 200 juta wanita di seluruh dunia menderita osteoporosis. Angka fraktur karena osteoporosis di seluruh dunia, diproyeksikan akan meningkat dari 1,66 juta pada tahun 1950 menjadi 6,26 juta pada tahun 2050. Peningkatan angka fraktur sangat menyolok terjadi di Asia, yang diproyeksikan meningkat dari 600.000 pada tahun 1950 menjadi 3,2 milyar orang pada tahun 2050 (Cooper C dkk, 1992). Dampak yang sangat serius ini, dan terutama menimpa

sebagian besar wanita, memerlukan strategi pencegahan yang segera, termasuk pengembangan penelitian terhadap risiko terjadinya fraktur osteoporosis melalui deteksi terhadap penurunan densitas mineral tulang (DMT) pada wanita.

Penurunan DMT pada wanita, dikaitkan dengan menurunnya kadar estrogen sebagai faktor yang berperan dalam pembentukan tulang. Hal ini dapat terjadi oleh karena beberapa faktor seperti kehamilan, menyusui, dan penggunaan kontrasepsi progestin jangka panjang, di antaranya adalah kontrasepsi suntik Depo Medroksi Progesteron Asetat (DMPA).

Penggunaan kontrasepsi suntik DMPA di Indonesia, sangat populer oleh karena kerjanya yang efektif, pemakaiannya yang praktis, harganya yang relatif murah dan aman ( Baziad A, 2003; Saifuddin AB, 2003). Pada umumnya uji klinis melaporkan tingkat kegagalan kontrasepsi ini yang kurang dari 1 kehamilan per 100 wanita (Affandi B, 2002). Diperkirakan sekitar 40 juta wanita di seluruh dunia pernah menggunakan metode kontrasepsi ini, dan kurang lebih 20 juta wanita masih menggunakan metode ini (Population Reports, 1995).

Berdasarkan data Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) tahun 2002-2003, dilaporkan bahwa sebagian besar pasangan usia subur (PUS) di Indonesia memakai KB suntik hormonal (46,1%), kemudian diikuti dengan pil (21,9%) (Statistics Indonesia, 2007). Angka pemakaian kontrasepsi suntik di Sulawesi Selatan sampai akhir tahun 2003 mencapai 35,9% (281.785 orang akseptor suntik dari 754.925 orang akseptor KB secara keseluruhan), sementara di Makassar sendiri terdapat 37.794 orang akseptor suntik diantara 92.662 orang akseptor KB secara keseluruhan cara (40,8%), KB pil menempati urutan kedua (35%), diikuti KB IUD dan KB implant (BKKBN Sulsel, 2003).

Beberapa penelitian melaporkan, adanya efek DMPA terhadap penurunan densitas mineral tulang pada akseptor DMPA jangka panjang, oleh karena mekanisme kerja DMPA yang menekan terjadinya ovulasi. Mekanisme ini melalui penghambatan terjadinya lonjakan *Lutenizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) karena mekanisme umpan balik positif ke hormon pituitari. Hal ini mengakibatkan terjadinya suasana hipoestrogenik yang pada akhirnya berdampak negatif pada absorpsi kalsium diusus sehingga pembentukan mineral tulang terganggu (Boroditsky & Guilbert, 2002; Cundy T dkk, 2002; Berenson AB dkk, 2001; Rachman IA, 2000). Selain itu, DMPA mempunyai sifat seperti glukokortikoid yang menghambat formasi tulang (Cundy T dkk, 1991; Scholes D dkk,1999), namun bersifat reversibel bila suntikan dihentikan (Cundy T dkk,1994; Scholes D dkk, 2005; Westhoff, 2002; Boroditsky & Guilbert, 2000). Sebuah systematic review pendek membahas 36 studi *Randomized Controlled Trial* (RCT) tentang efek *Medroxy Progesteron Acetate* (MPA) oral dan suntikan, 3 di antaranya RCT tentang DMPA, menyimpulkan efek penurunan densitas tulang yang signifikan secara linier dengan waktu dalam 2 tahun pertama pada pemakai DMPA oral dan suntikan (Wannmacher L, 2005).

Pada November 2004, US Food and Drug Administration (FDA) dan UK Committee on Safety of Medicine (CSM) mengeluarkan pernyataan agar pemakaian DMPA memperhatikan aspek kesehatan tulang, bila digunakan lebih dari 2 tahun (FDA 2004; UK CSM, 2004). Pernyataan keras FDA dan CSM ini, dikenal sebagai "Depo-Provera's Black Box". World Health Organization (WHO) merespon pernyataan tersebut dengan melaksanakan kajian multisenter tentang dampak DMPA terhadap DMT pada tanggal 20-21 Juni 2005, yang akhirnya mengeluarkan rekomendasi pada bulan Juli 2005,



bahwa tidak ada pembatasan penggunaan DMPA, termasuk pembatasan lama pemakaian di antara wanita usia 18-45 tahun, pada mereka yang memungkinkan untuk menggunakan metode ini (WHO, 2005).

Sebuah Editorial dalam Jurnal Contraception September 2005, yang mendukung rekomendasi WHO ini, mengemukakan pertimbangan kesehatan tulang seyogyanya tidak mencegah para klinisi dan akseptor untuk terus menggunakan DMPA, mengingat dampak yang lebih besar dan luas yang mungkin timbul akibat kehamilan yang tidak diinginkan, aborsi dan lonjakan jumlah penduduk.

Kontroversi seputar efek DMPA terhadap DMT masih mengemuka, walaupun hasil penelitian terakhir cukup meyakinkan, data prospektif tentang efek DMPA jangka panjang terhadap DMT pada populasi yang berbeda masih tetap dibutuhkan. Mengingat bahwa penduduk Indonesia sebagian besar hidup dalam taraf ekonomi menengah kebawah, yang berkaitan dengan kurangnya asupan nutrisi - di antaranya kalsium, sementara dilain pihak, strata ini merupakan pemakai/akseptor suntik DMPA terbanyak di Indonesia dan dalam jangka waktu cukup lama, maka kami berasumsi bahwa akseptor suntik DMPA pada populasi ini mempunyai risiko untuk mengalami penurunan densitas mineral tulang (DMT).

Densitas mineral tulang (DMT) adalah marker yang berguna untuk mewakili risiko fraktur dan merupakan sifat yang sangat diturunkan/diwariskan. Varian genetik yang mendasari kontribusi ini masih belum diketahui secara jelas. Akhir-akhir ini telah dilaporkan adanya hubungan antara variasi genetik (gen kolagen tipe 1a 1 / COL1A1) dengan densitas mineral tulang (DMT), dimana individu dengan variasi gen COL1A1

diduga mempunyai kontribusi genetik untuk risiko penurunan densitas mineral tulangnya. (Williams & Spector, 2006; Reneland RH dkk, 2005; Liu PY dkk,2004).

Penelitian tentang efek penyuntikan DMPA jangka panjang terhadap DMT akseptor KB suntik DMPA di Indonesia masih sangat kurang, terlebih lagi bila dihubungkan dengan adanya pengaruh faktor genetik, belum pernah dilaporkan di Indonesia. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang seberapa besar kontribusi faktor genetik berdampak pada semakin beratnya penurunan DMT akseptor DMPA pada populasi masyarakat kita, terutama karena penelitian-penelitian selama ini sebagian besar dilakukan di negara-negara maju.

## **I.2. RUMUSAN MASALAH**

### **RUMUSAN MASALAH :**

- Apakah ada penurunan DMT pada akseptor KB suntik DMPA setelah pemakaian 1 tahun dibandingkan dengan kelompok kontrol ?
- Apakah ada perbedaan penurunan DMT antara akseptor KB DMPA 1 tahun, 5 tahun dan kelompok kontrol ?
- Bagaimana angka kejadian osteopeni pada akseptor KB DMPA 1 tahun, 5 tahun dan kelompok kontrol ?
- Apakah ada perbedaan penurunan DMT antara akseptor KB DMPA berdasarkan lama pemakaian (1 tahun dan 5 tahun) menurut polimorfisme gen COL1A1 ?
- Bagaimana peranan polimorfisme gen COL1A1 terhadap penurunan DMT vertebra lumbal akseptor KB DMPA baik akseptor jangka pendek (= 1tahun) maupun jangka panjang (= 5tahun)

### **I.3. TUJUAN PENELITIAN**

**UMUM** : Menilai peranan faktor genetik ( polimorfisme gen *Collagen Type 1 Alpha 1 / COL1A1*) terhadap penurunan densitas mineral tulang vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA.

#### **KHUSUS :**

1. Menilai pengaruh KB suntik DMPA terhadap densitas mineral tulang (DMT) vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA 1 tahun.
2. Menilai perbedaan penurunan DMT vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA 1 tahun , 5 tahun dan kelompok kontrol ( bukan akseptor ).
3. Mengetahui angka kejadian osteopeni pada akseptor KB DMPA 1 tahun, 5 tahun dan kelompok kontrol.
4. Menilai perbedaan penurunan DMT vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA berdasarkan lama pemakaian (1 tahun dan 5 tahun) menurut polimorfisme gen COL1A1.
5. Menilai peranan polimorfisme gen *Collagen Type 1 alpha 1* (COL1A1) terhadap penurunan DMT vertebra lumbal akseptor KB DMPA baik akseptor jangka pendek (= 1tahun) maupun jangka panjang (= 5tahun)

### **I.4. MANFAAT PENELITIAN**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat :

1. Memberi informasi ilmiah tentang pengaruh penggunaan KB suntik DMPA dan faktor genetik khususnya gen kolagen tipe 1 alfa 1 terhadap densitas mineral

tulang vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA, sehingga dapat menjadi dasar untuk praktisi medis dalam memberikan konseling untuk menentukan jenis KB yang tepat bagi kliennya

2. Menjadi bahan acuan dan data dasar untuk penelitian selanjutnya yang berhubungan dengan densitas mineral tulang dan faktor genetik yang mempengaruhinya.

## BAB II

### TINJAUAN KEPUSTAKAAN

#### 2.1 TULANG

##### 2.1.1 Struktur dan Metabolisme Tulang

Tulang merupakan jaringan ikat khusus yang bersama-sama dengan tulang rawan membentuk sistem rangka skeletal. Kerangka tubuh manusia selama kehidupannya sebenarnya tidak saja merupakan struktur tulang yang merupakan komponen mineral (70% dari berat kering tulang), tapi juga substansi organik tulang yang terdiri dari matriks tulang dan sel. Matriks tulang terdiri dari protein kolagen tipe 1 dan protein non kolagen (Daud R, 2000; Setiyohadi B, 2000).

Struktur Tulang (Daud R, 2000) :

##### I. Substansi organik (30%) :

1. Sel (2%) : osteoblast, osteosit, osteoklast.
2. Matriks (95%) :
  - **kolagen tipe 1** (95%)
  - Protein non kolagen (5%) : osteokalsin, osteonektin, proteoglikan tulang, protein morfogenik tulang, proteolipid, fosfoprotein tulang.

##### II. Substansi mineral (70%) :

1. Hidroksi apatit (95%) : kalsium, fosfat, karbonat.
2. Sejumlah kecil (5%) : Mg, Na, K, F, Cl, Sr, PB.

Proses pembentukan dan pertumbuhan kerangka tubuh telah dimulai sejak masa *janin in utero*. Proses terus berlangsung selama dua sampai tiga dekade melalui tahapan yang sangat teratur. Pertumbuhan tulang terjadi sampai pada puncak massa tulang usia 30 tahun (*peak bone mass*). Proses pembentukan ini disebut *modelling* yaitu pertumbuhan

dan pembentukan tulang yang ditandai oleh proses formasi tulang yang lebih tinggi dari pada resorpsi. Proses ini ditentukan secara genetik dan diregulasi oleh sistem endokrin, biofisika dan proses biokimia (Djuanna A, 2002; Daud R, 2000; Setiyohadi B, 2000).

### **2.1.2. Proses *Remodelling* Tulang**

Proses *remodelling* tulang merupakan proses yang kompleks dan terkoordinasi yang terdiri dari proses resorpsi dan formasi tulang baru yang menghasilkan pertumbuhan dan penggantian tulang. *Remodelling* adalah penggantian tulang yang sudah tua / rusak yang diawali dengan resorpsi tulang oleh osteoklas diikuti oleh formasi tulang oleh osteoblas. Keduanya berjalan seimbang artinya tulang yang diresorpsi akan diikuti oleh formasi tulang dalam jumlah yang persis sama, hal ini disebut *coupling*. *Remodelling* biasanya berlangsung setelah umur 30 tahun (Rachman IA, 2000). Proses ini berlangsung sampai umur sekitar 40 tahun (Sambo AP, 2002). Hasil akhir dari *remodelling* tulang adalah terpeliharanya matriks tulang yang termineralisasi dan kolagen. Proses *remodelling* tulang diatur oleh sejumlah hormon dan faktor-faktor lokal lainnya. Hormon yang berperan pada proses remodeling tulang adalah hormon paratiroid (*PTH*), insulin, *Growth Hormone*, vitamin D, kalsitonin, glukokortikoid, hormon seks dan hormon tiroid (Setiyohadi B, 2000).

Glukokortikoid mempunyai efek merangsang resorpsi tulang, mungkin melalui penurunan absorpsi kalsium yang kemudian diikuti oleh peningkatan *PTH*. Pemberian glukokortikoid jangka pendek pada konsentrasi fisiologik dapat merangsang sintesis kolagen tulang. Tetapi pemberian jangka panjang dapat menurunkan replikasi sel preosteoblastik, sehingga jumlah osteoblas menurun dan pembentukan matriks tulang

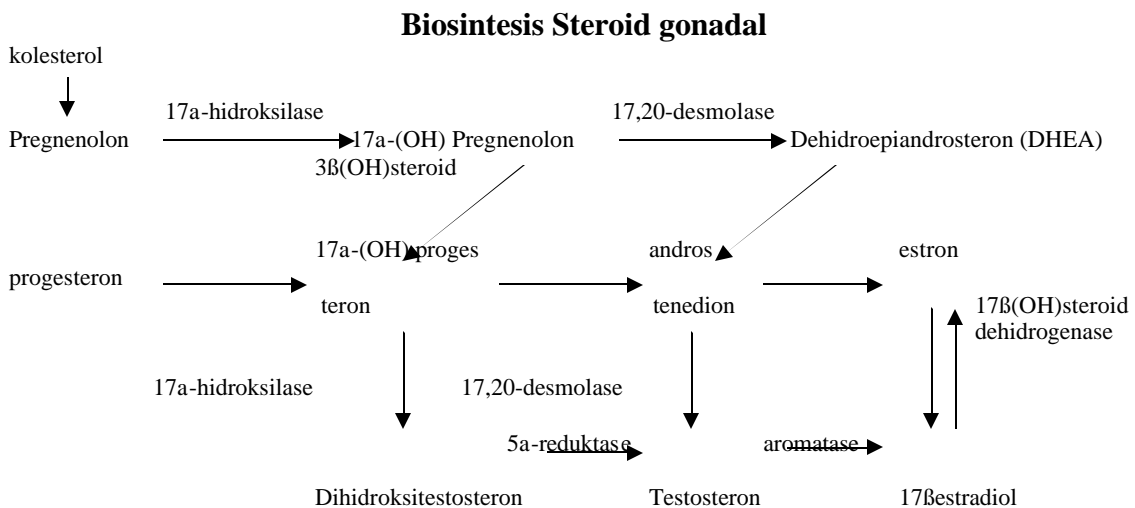
terhambat. Selain itu, glukokortikoid juga menghambat sintesis *IGF I* oleh sel tulang dan hal ini mungkin berperan pada penghambatan formasi tulang (Setiyohadi B,2000).

Selain faktor hormonal, juga terdapat faktor-faktor lokal yang turut berperan mengatur *remodelling* tulang, seperti *IGF*, *transforming -growth factor (TGF)*, *fibroblast growth factor* , *platelet derived growth factor*, *inter leukin (IL)*, *limfotoksin*, *colony stimulating factor (CSF)*, dan *interferon - γ (IFN- γ)*.( Setiyohadi B,2000).

### **2.1.3. Pengaruh Estrogen dan Progesteron pada Metabolisme Tulang**

Hubungan antara hormon estrogen dan kejadian osteoporosis telah diketahui oleh Albright ± 65 tahun yang lalu. Hal ini dihubungkan dengan penurunan hormon estrogen secara fisiologi pada usia premenopause, menopause dan pascamenopause, yang menyebabkan penurunan aktivitas osteoblas dan peningkatan aktivitas osteoklas. Akibatnya tulang diresorpsi oleh osteoklas tanpa dibentuk lagi dengan sempurna oleh osteoblas sehingga terjadilah osteoporosis primer pada pascamenopause (Rahman IA, 2002). Kejadian osteoporosis sangat tergantung pada puncak massa tulang yang sangat dipengaruhi oleh faktor genetik. Selain itu juga tergantung asupan kalsium, aktifitas fisik, paparan sinar matahari, gaya hidup (alkohol, rokok) serta obat-obatan (kortikosteroid, **kontrasepsi hormonal**) serta status hormon estrogen pada masa-masa reproduksi (keteraturan haid). Baik wanita maupun pria yang memasuki dekade kehidupan kedua, akan terjadi kehilangan massa tulang 0,3-0,5% pertahun, khususnya pada wanita usia premenopause dimana kadar estrogen menurun sehingga kehilangan massa tulang mencapai 10x lipat (Sambo AP,2004; Rahman IA, 2002; Kass & Wolff JH, 2001; Connor EB, 2000; Daud R, 2000; Jacob TZ & Baziad A,1994).

Berbeda dengan estrogen, efek langsung progesteron terhadap tulang tidak diketahui secara pasti Progesteron selain memiliki aktifitas biologik sendiri, juga berperan sebagai prekursor hormon steroid lainnya, yaitu estron, estradiol dan testosteron. Enzim aromatase merupakan enzim yang sangat penting untuk sintesis estron dan estradiol, baik dari androstenedion, maupun testosterone. Enzim ini merupakan enzim sitokrom P-450 yang terdapat dalam ovarium, testis, adiposit dan sel tulang. Baik estron maupun estradiol berada dalam keseimbangan yang reversibel, dan keseimbangan ini diatur oleh enzim  $17\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenase yang dihasilkan oleh hati dan usus (Suparman E, 2002). Gestagen sintetik mungkin dapat pula menghambat rangkaian sintesis steroid, terutama perubahan pregnenolon melalui progesterone menjadi androstenedion dan dengan demikian estrogen juga ikut dihambat melalui hambatan enzim yang bersangkutan, seperti pada skema dibawah (Jacob TZ & Baziad A,1994).



**Gambar 1. Biosintesis Steroid gonadal** (Dikutip dari Setiyohadi B. Kalsium, vitamin D, estrogen dan osteoporosis. Dibawakan dalam : 1<sup>s</sup> Indonesian Course on Osteoporosis; 2000 Mar 3-5 Sukabumi).



Estrogen dan androgen memegang peranan yang sangat penting pada maturasi tulang yang sedang tumbuh dan mencegah kehilangan massa tulang. Estrogen berperan besar dalam mempertahankan massa tulang dan mencegah terjadinya osteoporosis. Efek utama estrogen adalah menghambat resorpsi tulang dengan cara menghambat pembentukan dan fungsi osteoklas (Daud R,2000; Setiyohadi,2000).

#### **2.1.4. Peranan estrogen dalam mencegah timbulnya osteoporosis**

Estrogen adalah suatu hormon wanita yang sangat penting peranannya dalam mempertahankan massa tulang dan mencegah terjadinya osteoporosis. Estrogen sendiri mempunyai reseptor pada sel osteoblas, osteoklas dan pada kelenjar paratiroid. Pada keadaan normal estrogen mempunyai peranan sebagai anti resorpsi tulang melalui peranannya pada RANKL (Reseptor Aktivator Nuklear Faktor  $\kappa$ B Ligand) dan OPG (Osteoprotegerin) antara lain (Sambo AP,2002):

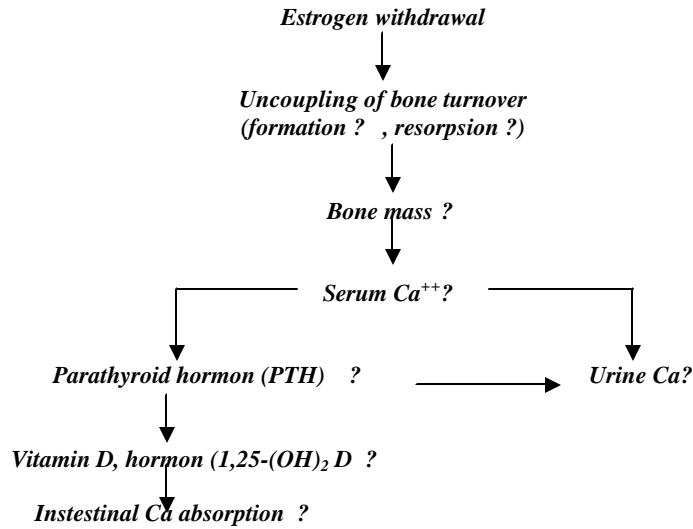
1. Estrogen merangsang ekspresi OPG pada sel osteoblastik dan sel stromal melalui aktivasi dan transkripsi reseptor estrogen  $\alpha$  (ER-  $\alpha$ ).
2. Pada keadaan defisiensi estrogen ekspresi OPG menurun, RANKL meningkat dan kedua hal ini dapat dicegah dengan pemberian estrogen.
3. Estrogen dapat mencegah respon sel prekursor osteoklas terhadap RANKL.
4. Estrogen merangsang pembentukan TGF  $\beta$  yang selanjutnya akan merangsang produksi OPG.

Penelitian lain menemukan adanya defisiensi estrogen akan menimbulkan (Sambo,2002)

1. Efek langsung pada osteoklas melalui reseptornya dengan akibat osteoklas matur dan aktif meningkat dan menurunkan atau mencegah apoptosis.

2. Produksi interleukin 6 meningkat. Pada binatang percobaan, estrogen dapat mencegah produksi IL-6 terhadap rangsangan PTH. Seperti diketahui bahwa IL-6 diproduksi oleh sel-sel osteoblastik dan sel stromal atas rangsangan PTH.
3. Pada keadaan estrogen turun, maka prostaglandin E akan meningkatkan produksi RANKL pada sel pre limposit B.
4. Defisiensi estrogen akan meningkatkan produksi IL-1, TNF a, M-CSF.

Selain itu estrogen juga mempunyai efek langsung pada tulang yaitu pada osteoblas. Dengan ditemukannya reseptor estrogen  $\alpha$  dan  $\beta$  pada tulang yang ada di sel osteoblas menyebabkan tulang membentuk kolagen I. Sejalan dengan itu, kalsitriol (berasal dari vitamin D-D3+D2) yang juga mempunyai reseptor kalsitriol di osteoblas, membentuk mineralisasi tulang. Adanya pembentukan kolagen tipe 1 dan mineralisasi tulang merupakan formasi tulang yang sempurna (Rambulangi J, 2004; Rahman IA, 2002; Kass dkk, 2001; Merki-Feld dkk, 2000). Estrogen diduga menghambat aktivitas hormon paratiroid terhadap proses resorpsi tulang melalui peningkatan kalsitonin. Berbeda dengan estrogen, efek langsung progesteron terhadap tulang tidak diketahui secara pasti. Bila kekurangan estrogen maka akan terjadi juga penurunan absorpsi kalsium di usus dan meningkatkan eksresi kalsium di urin. Penurunan absorpsi kalsium di usus berhubungan dengan penurunan kadar 1,25 (OH)<sub>2</sub>D total, karena estrogen berperan pada sintesis protein pembawa 1,25 (OH)<sub>2</sub>D di hepar. Pemberian estrogen per oral akan meningkatkan sintesis protein tersebut, tetapi pemberian estrogen transdermal tidak akan meningkatkan sintesis hormon tersebut, karena transportasinya tidak melalui hepar. Defisiensi estrogen di ginjal, akan menurunkan reabsorpsi kalsium di tubulus dan terjadinya hipereksresi kalsium lewat urin (Setiyohadi, 2000, Suparman E, 2002).



**Gambar 2. Proses osteoporosis dan homeostasis kalsium** (Dikutip dari Suparman E., Patofisiologi/gejala klinik masa perimenopause. Dibawakan dalam Pertemuan Ilmiah Fertilitas Endokrin Reproduksi; 2002 Bandung).

Mekanisme kerja DMPA menghambat hipofisis dalam membentuk hormon gonadotropin, dan hal ini menyebabkan penekanan terhadap proses ovulasi dan steroidogenesis ovarium. Penggunaan kontrasepsi DMPA dapat menyebabkan penekanan terhadap produksi estradiol ovarium (Kaunitz AM, 2000; Boroditsky R & Guilbert E, 2000; Scholes D dkk,1999). Sehingga ada anggapan bahwa osteopenia dapat terjadi pada wanita yang menggunakan kontrasepsi DMPA (Westhoff C,2002; Berenson AB dkk,2001; Kass & Wolff JH, 2001; Merki-Feld dkk, 2000). Akibatnya risiko terjadinya fraktur pada *postmenopause* akan meningkat (Kaunitz AM, 2000).

## 2.2. OSTEOPOROSIS

Osteoporosis (WHO,1961) adalah suatu penyakit sistemik tulang yang disifati oleh berkurangnya massa tulang dan kelainan mikroarsitektur jaringan tulang, sehingga

tulang akan menjadi rapuh dengan akibat tulang akan mudah patah. Manifestasi klinis dari osteoporosis adalah patah tulang yang dapat terjadi pada semua tulang, tetapi yang paling sering adalah tulang panggul, tulang belakang dan pergelangan tangan. Dengan semakin meningkatnya kelompok usia lanjut di negara kita, maka osteoporosis akan menjadi masalah kesehatan yang serius di kemudian hari. Walaupun demikian sama halnya dengan hipertensi, hiperkolesteronemi, dan obesitas, osteoporosis adalah suatu penyakit yang dapat dicegah dan dapat diobati (Sambo AP,2004; Adam JMF, 2002).

Osteoporosis menurut etiologinya dapat dikelompokkan dalam **osteoporosis primer dan sekunder**. Osteoporosis primer adalah yang terjadi pada wanita pascamenopause dan oleh karena proses penuaan, sedangkan osteoporosis sekunder adalah osteoporosis yang disebabkan oleh berbagai hal antara lain : kehamilan dan menyusui yang lama, kelainan endokrin (anovulasi), gangguan fungsi ginjal, penyakit hati, defisiensi Vit D, gangguan hematologi, kelainan saluran cerna dan berbagai macam obat-obatan (Sambo AP, 2004).

Salah satu penyebab osteoporosis sekunder adalah akibat pemberian obat-obatan yang berdampak negatif terhadap metabolisme tulang seperti **glukokortikoid**. Obat jenis ini banyak dipakai untuk terapi berbagai penyakit radang kronik bukan infeksi, seperti asthma, penyakit paru, artritis rematoid, dan pada transplantasi. Efek samping glukokortikoid antara lain menyebabkan hambatan pada osteoblastogenesis dan meningkatkan apoptosis dari osteoblas dan osteosit, juga menurunkan sintesis kolagen tipe 1 tulang (Manolagas SC & Weinstein RB,1999). Penggunaan kontrasepsi suntik Depot Medroksi Progesteron Asetat (DMPA) mempunyai efek serupa dengan glukokortikoid. Penggunaan suntikan ini akan menyebabkan penurunan formasi tulang

melalui penurunan sintesis hormon seks-steroid akibat penekanan pada hormon pituitari, sehingga terjadi suasana yang hipoestrogenik, yang akan menyebabkan ovulasi tidak terjadi. Bila kadar estrogen turun, akan mempengaruhi absorpsi kalsium di usus halus dan meningkatkan resorpsi tulang melalui peningkatan aktifitas osteoklas. (Sambo AP, 2004; Setyohadi B, 2002;)

### **2.2.1 Epidemiologi Osteoporosis.**

Hingga tahun 1993, di Indonesia penelitian tentang osteoporosis relatif masih sedikit. Darmawan (1982-1986) melakukan survey di Bandung, dekat Semarang, dengan pemeriksaan berdasarkan X-ray tangan dan kaki. Penelitian ini kemudian dibandingkan dengan penelitian di Zoetermeer Belanda, dengan cara penilaian yang sama. Ditemukan bahwa Osteoporosis didapat 12-18 kali lebih sering pada wanita Indonesia premenopause di banding wanita di Zoetermeer Belanda. Sedangkan wanita post menopause hanya 1,5 kali lebih besar (Tehupeiory E, 2002).

Berdasarkan hasil penelitian diatas, kemungkinan beberapa faktor tambahan yang menginduksi terjadinya osteoporosis pada wanita usia subur di Indonesia adalah (Tehupeiory E,2002). :

1. Kurangnya asupan kalsium dalam makanan.
2. Pengeluaran kalsium yang berlebihan karena masa menyusui anak yang terlalu lama dan jumlah paritas yang tinggi.
3. Obat-obatan (termasuk terapi steroid jangka panjang dan tidak rasional)

### 2.2.2 Penilaian Densitometri

Untuk menilai hasil pemeriksaan densitometri tulang, digunakan Kriteria Kelompok Kerja WHO, yaitu (Adam JMF, 2002; Kaniawati M, 2002; Tehupeiory, 2002; Setiyohadi B,2000):

- ✍ Normal, bila densitas mineral tulang diatas  $-1$  SD rata-rata nilai densitas massa tulang orang dewasa (skor T).
- ✍ Osteopenia, bila densitas mineral tulang diantara skor T  $-1$  SD s/d  $-2,5$  SD
- ✍ Osteoporosis, bila densitas mineral tulang skor T =  $-2,5$  SD .
- ✍ Osteoporosis berat, yaitu osteoporosis yang disertai adanya fraktur.

Interpretasi skor T yang disebut juga *young adult Z score*, penting untuk diagnosis Osteoporosis, karena : nilai yang paling relevan secara klinis dalam laporan DMT, menggambarkan massa tulang yang dibandingkan dengan puncak massa tulang wanita / pria dewasa muda sehat dalam bentuk standard deviasi ( SD ), di mana untuk setiap SD dibawah nilai normal dewasa muda, resiko fraktur menjadi 2 kali lipat.

Interpretasi skor Z : menggambarkan massa tulang pasien dibandingkan dengan rata-rata *age-matched* dan *sex-matched* dalam bentuk SD. Sebaiknya tidak digunakan untuk mendiagnosis osteoporosis (Jeannette E,2002; Kaniawati M,2002; Tirtarahardja G,2002; Kanis JA, 2000).

### 2.2.3 Diagnosis Osteoporosis

Diagnosis osteoporosis terdiri atas a) berdasarkan gambaran klinis, b) pemeriksaan biokimia, c) pemeriksaan pencitraan (Adam JMF,2002).

### **2.2.3.1. Gambaran Klinis**

Riwayat penyakit dan pemeriksaan fisik biasanya baru ditemukan pada keadaan penyakit yang sudah lanjut, sehingga kurang manfaatnya untuk mendiagnosis osteoporosis. Pada penderita osteoporosis tidak jarang diagnosis baru diketahui setelah terjadi patah tulang (Adam JMF, 2002; Tehupeiory, 2002).

Pada pemeriksaan fisik, penderita harus diukur tinggi badan dan berat badan. Bekas operasi pada tiroid, sklera biru, bercak *café-au-lait* perlu diperiksa (Tehupeiory, 2002).

### **2.2.3.2. Pemeriksaan Biokimia Tulang**

Pemeriksaan biokimia tulang terdiri dari kalsium total dalam serum, ion kalsium, kadar fosfor dalam serum, kalsium urin, fosfat urin, osteokalsin serum, hormon paratiroid, vitamin D (Kaniawati M, 2002).

### **2.2.3.3 Pemeriksaan Pencitraan Tulang (Densitometri)**

Pemeriksaan densitometri terutama bertujuan untuk menentukan kepadatan massa tulang. Digunakan untuk memprediksi risiko dan mencegah terjadinya fraktur. Pemeriksaan ini sama halnya dengan pemeriksaan kadar kolesterol untuk penyakit jantung koroner atau tekanan darah untuk mencegah stroke (Pocock N, 2000).

Densitometri tulang merupakan pemeriksaan yang akurat untuk menilai massa tulang, sehingga dapat digunakan untuk menilai faktor prognosis, prediksi fraktur dan bahkan diagnosis osteoporosis (Adam JMF, 2002; Kaniawati M, 2002; Tehupeiory, 2002).

Pemeriksaan pencitraan tulang (*bone imaging*) dapat dibagi atas pemeriksaan radiologi konvensional, pemeriksaan dengan radioisotop (*foton nukleotida*), *Quantitative*

*Computed Tomography (QCT), Magnetic Resonance Imaging (MRI), Ultrasonografi(USG), X-ray absorptiometry.* Saat ini yang paling banyak digunakan yaitu ultrasonografi dan *X-ray absorptiometry*. (Jeannette E,2002; Kaniawati M,2002; Tirtarahardja G, 2002; Kanis JA,2000;).

#### **2.2.3.3.1 Pemeriksaan ultrasonografi (sonodensitometry)**

Pengukuran densitas tulang berdasarkan kecepatan gelombang suara menembus tulang disebut "*quantitative ultrasound*" (*QUS*). Pada saat ini *QUS* hanya mengukur tulang perifer saja yaitu calcaneus, tibia dan jari tangan (Adam JMF, 2002; Jeannatte,2002; Kaniawati M,2002; Tehupeior E, 2002). Pemeriksaan untuk skrining dapat dilakukan dengan menggunakan alat pemeriksaan tulang perifer seperti *QUS* atau *SXA*.

#### **2.2.3.3.2 X-ray absorptiometry**

Pemeriksaan *X ray absorptiometry* menggunakan radiasi sinar X tapi dosis yang sangat kecil. Dikenal 2 jenis yaitu *single X-ray absorbtometry (SXA)* untuk mengukur densitas tulang perifer, seperti radius dan kalkaneus, dan *dual energy X-ray absorbtometry (DXA = DEXA)* untuk mengukur densitas tulang vetebra, tungkai atas bagian proksimal atau tubuh secara total (Kaunitz AM,2000). Saat ini "*gold standar*" untuk mendiagnosis osteoporosis adalah dengan alat DEXA. Pemeriksaan DEXA merupakan pemeriksaan yang sangat akurat untuk menilai densitas mineral tulang sebab memberikan efek radiasi yang minimal dengan biaya yang lebih rendah dibandingkan beberapa metode lain (Adam JMF,2002; Jeannette,2002; Kaniawati M,2002; Tehupeior,2002).



Perbandingan beberapa tes BMD (Tirtarahardja G,2002)

Metode	DEXA	SXA	QCT/pQCT	DPA
Bagian tubuh	Vertebra,femur, radius,calcaneus	calcaneus, radius	Vertebra, Femur	Vertebra, femur, calcaneus
Akurasi	4 – 10%	2-5%	2-15%	1-10%
Presisi	1 - 2 %	1-2%	0,5 – 6%	2-4%
Lama pemeriksaan	5 menit	15 menit	15 menit	20 menit
Dosis radiasi efektif	?l mSn ( < standar Foto thoraks)	< 1 mSn	50-100 lebih besar ding DPA	< standar Foto thoraks

Akurasi : Faktor kesalahan terhadap nilai aktual.

Presisi : Faktor kesalahan terhadap pengukuran tulang. .

Di negara maju, pemeriksaan *DEXA* merupakan pemeriksaan rutin yang dilakukan di klinik osteoporosis. Dengan pemeriksaan *DEXA* akan memberikan hasil sebagai berikut (Adam JMF,2002) :

- ? DMT dalam gram/cm<sup>2</sup>
- ? Skor T dalam %, yaitu kadar rerata mineral tulang orang tersebut dibandingkan dengan kadar rerata mineral tulang orang dewasa muda etnis yang sama (misalnya orang Asia harus dibandingkan dengan orang Asia).
- ? Skor Z dalam % kadar rerata mineral tulang orang tersebut dibandingkan dengan kadar rerata mineral tulang dengan umur yang sama.

Kriteria diagnosis

Walaupun hasil pemeriksaan *DEXA* tercantum *T-score* dan *Z-score*, sesuai dengan kriteria WHO maka nilai diagnosis osteoporosis didasarkan atas *T-score* bukan *Z score*.

## Tempat tulang yang diperiksa

Sedikitnya dua tempat yang diperiksa untuk mendiagnosis osteoporosis, dan paling sering diperiksa adalah vertebra (L1-L4), dan femur bagian proximal (caput, leher dan trochanter). Pada umumnya diperiksa sekaligus tiga tempat yaitu femur, vertebra dan radius. Pemeriksaan khusus untuk hiperparatiroidisme sebaiknya pada radius yaitu mid-radius. Pemeriksaan vertebra lateral dikhususkan pada penderita dengan kelainan degeneratif pada vertebra seperti osteoarthritis.

### **2.3 DEPOMEDROKSI PROGESTERON ASETAT (DMPA)**

Kontrasepsi hormonal adalah merupakan salah satu metode kontrasepsi yang paling efektif dan reversibel untuk mencegah terjadinya konsepsi (Baziad A,2003). Berbagai jenis estrogen dan progesteron alamiah atau sintetik telah banyak digunakan sebagai kontrasepsi. Sediaan yang mengandung progesteron dapat berupa pil, depo dalam bentuk injeksi, ADR atau implant (Saifuddin AB dkk, 2003) . Salah satu jenis kontrasepsi injeksi yang mengandung progesteron adalah depo medroksi progesterone asetat (DMPA). DMPA merupakan suspensi mikrokristal yang membentuk depo, mengandung 150 mg depo medroksi progesteron asetat yang diberikan setiap 12 minggu dengan cara penyuntikan intramuskuler dalam, lebih baik di daerah gluteus (Baziad A,2002/2003; Speroff L dkk,1999; Saifuddin AB dkk 2003; Bhathena RK dkk, 2001).

Persyaratan medis kontrasepsi DMPA oleh WHO, terdapat 4 kategori yaitu (Kaunitz AM,2000) :

1. Kondisi dimana tidak ada larangan untuk menggunakan metode kontrasepsi.
2. Kondisi dimana keuntungan menggunakan kontrasepsi secara umum melebihi risiko

teoritis atau yang terbukti.

3. Kondisi dimana risiko teoritis atau yang terbukti biasanya melebihi keuntungan menggunakan metode tersebut.
4. Kondisi dimana terdapat risiko kesehatan yang tidak membolehkan jika metode kontrasepsi digunakan.

### **2.3.1 Mekanisme Kerja dan Kemanjuran Kontrasepsi**

Dosis progestogen yang relatif tinggi sangat efektif, terutama karena fungsinya dalam penghambatan ovulasi. Diperkirakan angka kegagalan DMPA kurang dari satu atau sekitar 0 – 0,7 per 100 tahun wanita (Affandi B, 2002; Bhathena RK, 2001). Mekanisme DMPA menekan sekresi LH preovulatorik sehingga ovulasi paling sedikit akan tertekan selama 3 bulan (Baziad A, 2002). Meskipun hingga kini sebagian besar proses ovulasi masih belum seluruhnya terungkap, tetapi yang sudah pasti diketahui adalah bahwa proses dasar ovulasi merupakan rangkaian perubahan biokimia dan morfologik yang diatur oleh gonadotropin dan steroid seks. Rangkaian proses sentral terdiri dari : (a) sistem pengaturan ovarium; (b) pusat tonik dan siklik yang mengatur fase ovulasi (Jacoeb TZ & Baziad A,1993).

Sesaat sebelum ovulasi, konsentrasi estradiol dan progesteron dalam zalir folikel dijumpai mencapai nilai 2 ug/ml. Penyuntikan kontrasepsi DMPA akan mencegah lonjakan LH yang penting untuk ovulasi. Selain itu juga, akan menyebabkan penekanan terhadap produksi estradiol ovarium (Jacoeb TZ & Baziad A,1993) .

Farmakokinetik MPA setelah penyuntikan 150 mg DMPA secara intramuskuler diteliti oleh *Mishell* pada tahun 1996 dengan menggunakan *radioimmunoassay methods*

melaporkan, bahwa setelah penyuntikan, kadar DMPA kurang lebih dalam waktu 24 jam akan mencapai kadar aktif ( $>0,5$  ng/ml) (Kaunitz AM, 2000). Kadar MPA dalam serum tidak mengalami penurunan yang drastis karena adanya sifat lipofil yang tinggi dari MPA, serta kelarutannya juga rendah. Dalam bulan-bulan berikutnya akan terjadi penurunan secara perlahan-lahan. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya depo primer, yang memungkinkan terlepasnya steroid dalam jumlah yang relatif sama dari depo ke dalam serum. Akibatnya, kadarnya dalam serum akan tetap (Baziad A,2002). Sehingga walaupun terdapat variasi antar individu, kadar MPA mendekati kadar 1 ng/ml dalam serum dan menetap selama 3 bulan. Saat kadar medroksi progesteron asetat di dalam serum kurang 0,1 ng/ml, ovulasi akan terjadi kembali (Kaunitz AM,2000, Jacob TZ & Baziad A,1994)

Efek kontrasepsi yang utama sebagaimana yang dipaparkan sebelumnya, ditunjang pula oleh peningkatan viskositas lendir serviks, sehingga akan menghambat penetrasi sperma dan oleh perubahan endometrium, dapat menghalangi terjadinya implantasi. Medroksi progesteron asetat menyebabkan perubahan bentuk sekretorik sesaat yang lambat laun akan berubah menjadi atropi (Baziad A,2002; Bhathena RK,2001; Speroff L 1999).

Suntikan sebaiknya diberikan dalam 5-7 hari pertama siklus menstruasi, 6 minggu post partum pada wanita yang menyusui atau 3 minggu post partum yang tidak menyusui dan segera setelah terminasi kehamilan pada trimester pertama atau kedua (Saifuddin AB dkk, 2003).

### 2.3.2. Efek Metabolik DMPA

Penyuntikan progestogen akan menyebabkan kadar HDL kolesterol serum sedikit menurun dan sebaliknya terjadi peningkatan kadar LDL kolesterol. Walaupun demikian, tidak ada data yang membuktikan bahwa kelainan klinik yang terjadi ada hubungannya dengan perubahan diatas. Beberapa laporan menganggap pemberian suntikan progestogen akan menyebabkan gangguan toleransi glukosa oral ringan, dengan tes respons glukosa dan terjadi peningkatan respons terhadap insulin (Baziad A,2002, Bhathena RK, 2000).

Tidak ada perubahan yang berarti terhadap tekanan darah sistolik maupun diastolik. Suntikan Progestogen tidak memberi kelainan terhadap fungsi hati, demikian juga terhadap koagulasi darah dan proses fibrinolisis. Data dari negara Afrika, Asia, Eropa dan Amerika Latin yang dikumpulkan oleh *WHO Collaborative Study* mengemukakan bahwa tidak terjadi peningkatan risiko terjadinya infark miokard, stroke atau tromboemboli vena setelah penyuntikan DMPA (Bhathena RK, 2000).

Beberapa keuntungan pemakaian kontrasepsi DMPA yaitu : sangat efektif, pencegahan kehamilan jangka panjang, tidak memiliki pengaruh terhadap ASI, tidak mengandung estrogen sehingga tidak berdampak serius terhadap penyakit jantung dan gangguan pembekuan darah, dapat dipergunakan oleh perempuan usia diatas 35 tahun sampai menopause, secara umum gejala premenstrual dan dismenore akan berkurang, menurunkan krisis anemia bulan sabit, mencegah beberapa penyakit radang panggul (Saifuddin AB dkk, 2003).

Kekurangan DMPA yang paling sering ditemukan adalah gangguan haid. Kurang lebih hanya 10% akseptor DMPA yang mempunyai siklus normal dalam tahun pertama

pemakaian, sementara bila dibandingkan dengan pemakai kontrasepsi oral yang 59%-87% mempunyai siklus normal setelah 1 tahun pemakaian (Affandi, 2002). Keterbatasan DMPA lainnya adalah: klien tergantung tempat sarana pelayanan kesehatan, tidak dapat dihentikan sewaktu-waktu, terlambatnya kembali kesuburan setelah penghentian pemakaian, pada penggunaan jangka panjang terjadi perubahan lipid serum, serta dapat menimbulkan kekeringan pada vagina, gangguan emosi (jarang), sakit kepala, dan jerawat (Saifuddin AB dkk, 2003).

Efek DMPA terhadap densitas mineral tulang, dilaporkan terjadi pengurangan densitas mineral tulang yang signifikan pada wanita yang telah menggunakan DMPA selama bertahun-tahun dan wanita yang memulai pemakaian DMPA sebelum proses mineralisasi tulang terbentuk dengan sempurna, di mana kelompok ini merupakan kelompok risiko tinggi (Westhoff C, 2002; Berenson AB dkk, 2001; Kass & Wolff JH, 2001; Merki-Feld GS dkk,2000; Boroditsky R dkk,1999,).

### **2.3.3. Pengaruh DMPA terhadap Densitas Mineral Tulang**

Pada tahun 1991, Cundy dan kawan-kawan (dikutip dari Boroditsky R, Guilbert E) melaporkan hasil penelitian tentang densitas mineral tulang pada 30 wanita yang menggunakan DMPA selama minimal 5 tahun. Hasil yang diperoleh, densitas mineral tulang pada pengguna DMPA lebih rendah dibanding kelompok kontrol premenopause. Pada tahun 1998, peneliti yang sama dengan metode penelitian yang sama yaitu secara *cross sectional*, meneliti 200 akseptor DMPA (lama pemakaian 2-26 tahun) dibandingkan 350 subjek kontrol. Ternyata terjadi pengurangan densitas mineral tulang yang signifikan pada wanita yang telah menggunakan DMPA selama bertahun-tahun dan wanita memulai

pemakaian DMPA sebelum proses mineralisasi tulang terbentuk dengan sempurna merupakan kelompok risiko tinggi. Pada penelitian ini timbul pertanyaan bagaimana cara mengontrol faktor-faktor yang berpengaruh terhadap densitas mineral tulang dan bagaimana seleksi kontrol dilakukan (Boroditsky R & Guilbert E, 2000).

Penelitian yang dilakukan kerjasama *US Army Medical Research dan The National Osteoporosis Foundation* di *University of Texas Medical Branch* dengan menggunakan pemeriksaan DEXA pada sisi vertebra lumbal menunjukkan terjadi pengurangan densitas mineral tulang akseptor DMPA 2,74% sesudah 12 bulan pemakaian dibandingkan dengan kelompok control yang mengalami pengurangan sebanyak 0,37%. Pada penelitian ini dilakukan kontrol terhadap indeks massa tubuh, asupan kalsium, aktivitas, dan merokok. Mekanisme dari efek DMPA terhadap densitas mineral tulang tidak diketahui secara pasti. Meskipun demikian, penelitian telah menunjukkan bahwa pengguna DMPA memiliki kadar E2 serum yang lebih rendah secara signifikan dibanding pengguna kontrasepsi non hormonal. Dalam keadaan hipoestrogenik, resorpsi tulang melampaui proses pembentukannya, sehingga terjadi penurunan massa tulang. Dengan demikian, cukup logis, bila kehilangan densitas mineral tulang yang dihubungkan dengan penggunaan DMPA, disebabkan oleh hipoestrogenisme. Kemungkinan lain, penurunan densitas mineral tulang dapat berhubungan dengan efek mirip glukokortikoid eksogen dari DMPA (Scholes D dkk,1999).

Scholes dan kawan-kawan tahun 1994 hingga 1999 secara kohort prospektif melakukan penelitian terhadap 457 wanita yang tidak hamil usia 18-39 tahun. Terdapat 183 diantaranya adalah akseptor DMPA dan 274 bukan akseptor (dinilai setiap 6 bulan selama 3 tahun). Pada penelitian ini ditemukan adanya pengurangan densitas mineral

tulang pada semua situs anatomik. Rerata perbedaannya adalah 2,5% untuk tulang belakang dan 2,2% pada kolum femur. Perbandingan umur yang spesifik menunjukkan perbedaan utama densitas mineral tulang antara pemakai dan bukan pemakai terjadi pada kelompok umur yang paling muda (18-21 tahun). Pada penelitian ini disimpulkan bahwa kontrasepsi DMPA khususnya penggunaan jangka panjang, dapat mengganggu densitas mineral tulang pada wanita usia 18-21 tahun dan pengaruhnya terhadap kesehatan tulang di masa yang akan datang, masih memerlukan penelitian lebih lanjut (Westhoff C, 2002; Berenson AB dkk, 2001; Scholes D dkk, 1999).

Walaupun demikian, terdapat penelitian lain yang memperlihatkan hasil berbeda yaitu penelitian di Portsmouth dan Manchester pada 185 wanita usia 17-52 tahun (rata-rata 33,3 tahun) pengguna DMPA lebih dari 5 tahun, menunjukkan tidak ada efek merugikan terhadap densitas mineral tulang, walaupun dalam penelitian ini ditemukan penurunan berarti konsentrasi serum estradiol. Penelitian lain di Thailand pada 50 wanita pengguna DMPA lebih dari 3 tahun, menunjukkan hasil yang sama (Bhathena RK, 2001, Kaunitz AM, 2000).

Saat ini terdapat beberapa penelitian yang khusus melihat bagaimana pengaruh DMPA terhadap densitas mineral tulang pada usia remaja. Penelitian tersebut merupakan studi prospektif kohort dalam skala kecil yang membandingkan densitas mineral tulang vertebra lumbal pada wanita usia 14 hingga 21 tahun, 17 wanita yang tidak mendapatkan hormon, 31 wanita menerima hormon DMPA, levonorgestrel implan, atau kontrasepsi oral. Sesudah pemakaian 1 tahun, didapatkan hasil terjadinya penurunan densitas tulang pada pengguna DMPA, dan peningkatan densitas tulang pada pengguna kontrasepsi oral, levonorgestrel implan, dan yang tidak menerima hormon. Sesudah dua tahun, terjadi



total penurunan densitas tulang 3,1% pada pengguna DMPA, dan total peningkatan densitas tulang 15,5% dan 15,3% terutama pada pengguna levonorgestrel implant, dan yang tidak menerima hormon. Penelitian lain yang sejenis, dengan menggunakan studi *cross-sectional*, dengan membandingkan 183 pengguna DMPA usia 18-35 tahun dan 274 subjek yang tidak menggunakan DMPA, pada kelompok usia sama. Hasil yang diperoleh, terjadi perbedaan yang signifikan antara densitas tulang pengguna DMPA dan yang tidak. Selain itu, respon dosis pada lama pemakaian DMPA ditemukan pada kelompok usia muda (18-21 tahun). Dua penelitian ini berpendapat bahwa dengan penggunaan DMPA pada masa remaja akan mengganggu proses mineralisasi tulang (Bhathena RK, 2001; Kaunitz AM, 2000). Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan apakah keuntungan kontrasepsi DMPA pada individu dalam kelompok usia ini mungkin lebih banyak daripada resikonya (Kaunitz AM, 2000).

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh penggunaan kontrasepsi DMPA terhadap densitas mineral tulang di berbagai pusat penelitian. Tahun 1992, WHO mengubah anjuran suntikan progestogen untuk akseptor usia >16 th dari WHO kelas 1 (tidak dilarang) ke WHO kelas 2 (manfaatnya lebih banyak daripada risiko yang mungkin terjadi) (Kaunitz AM, 2000).

#### **2.4. PENGARUH FAKTOR GENETIK TERHADAP DENSITAS MINERAL TULANG**

Faktor genetik sudah sejak lama dikenal memegang peranan penting pada terjadinya osteoporosis dan fenotip yang menyertainya, termasuk densitas mineral tulang (DMT) dan massa tulang. Penelitian-penelitian pada keluarga kembar memperkirakan 50-

85% variasi pada massa tulang ditentukan oleh genetik. Sayangnya, hanya sedikit data yang menjelaskan tentang fraktur osteoporotik yang disebabkan oleh faktor genetik dikarenakan mahalnya biaya penelitian dan sulitnya mendapatkan sampel penelitian yang adekuat. Beberapa penelitian memperlihatkan adanya riwayat fraktur dalam keluarga merupakan risiko tinggi untuk terjadinya fraktur, tidak tergantung pada densitas mineral tulangnya. Tidak bisa dipungkiri, bahwa faktor lingkungan juga sangat berperan penting disamping faktor genetik. Banyak contoh-contoh penyakit tulang yang bersifat diturunkan, misalnya osteogenesis imperfekta (mutasi pada gen kolagen tipe 1 / COL1A1 dan COL1A2) , sindroma osteoporosis-pseudoglioma (kelainan pada autosom resesif, berhubungan dengan kromosom 11q12-13), dan sindroma yang disertai dengan mutasi tidak aktif dari reseptor estrogen alfa dan gen aromatase dan beberapa penyakit lainnya(William FMK & Spector TD, 2006; Nguyen TV dkk, 2005; Liu PY dkk,2004).

Beberapa metode yang dipakai untuk mengidentifikasi adanya faktor genetik pada osteoporosis, antara lain reseptor vitamin D (VDR), kolagen tipe 1 (COL1A1&2), reseptor estrogen dan gen aromatase, adanya polimorfisme pada beberapa gen misalnya TGF $\beta$ -1 dan lokus IL-6, lokus pada gen fosfodiesterase 4D pada kromosom 5q12 (Stewart TL dkk, 2006; William FMK & Spector TD, 2006; Nguyen TV dkk, 2005; Reneland RH dkk, 2005; Todhunter CE dkk, 2005; Liu PY dkk 2004;).

#### **2.4.1. Polimorfisme Gen *Collagen Type I Alpha 1 (COL1A 1)***

Kerangka tubuh manusia selama kehidupannya sebenarnya tidak saja merupakan struktur tulang yang merupakan komponen mineral (70% dari berat kering tulang), tapi juga substansi organik tulang yang terdiri dari matriks tulang dan sel. Matriks tulang

terdiri dari **protein kolagen tipe 1** dan protein non kolagen (Daud R, 2000; Setiyohadi B, 2000), merupakan 95% dari substansi organik tulang.

Gen yang mengkode kolagen tipe I (COL1A 1 dan 2) sangat penting dan sudah banyak diteliti sebagai kandidat patogenesis dari osteoporosis. Polimorfisme pada gen ini sudah dibuktikan meningkat prevalensinya pada penderita osteoporosis. Hubungan yang positif antara polimorfisme COL1A 1 Sp1 dan massa tulang atau fraktur osteoporotik, sudah dilaporkan pada beberapa populasi. Perbedaan etnik juga telah dilaporkan, dimana prevalensi alel COL1A1 Sp1 dengan polimorfisme, didapatkan banyak pada etnik *Caucasian* tetapi jarang pada etnik Afrika dan China. Keseluruhan dari data menduga bahwa polimorfisme COL1A1 Sp1 menyebabkan suatu gangguan fungsi yang memberi dampak merugikan pada komposisi (matriks) tulang dan kekuatan mekanik tulang. Polimorfisme COL1A1 mungkin tidak bernilai sebagai target pengobatan tetapi sebagai marker risiko fraktur osteoporotik (Williams & Spector, 2006; Liu PY dkk, 2004; Ralston SH, 2002; Uitterlinden AG dkk, 1998).

Gen COL1A1 mengkode komponen dari kolagen tipe 1, yang merupakan suatu jenis kolagen fibriler, yang ditemukan hampir pada semua jaringan penyambung, dan merupakan tipe satu-satunya yang ditemukan pada tulang kartilago.

Gen COL1A1 adalah sebuah gen yang menyiapkan instruksi pembuatan komponen kolagen. Protein kolagen inilah yang memperkuat dan mendukung beberapa jaringan penunjang dalam tubuh seperti kartilago, tulang, tendo, kulit, dan sklera (mata). Gen COL1A1 memproduksi sebuah komponen tipe 1 kolagen yang dikenal sebagai pro-alpha1 (I) chain. Pro-alpha1 ini bergabung dengan pro-alpha2 yang diproduksi oleh Gen

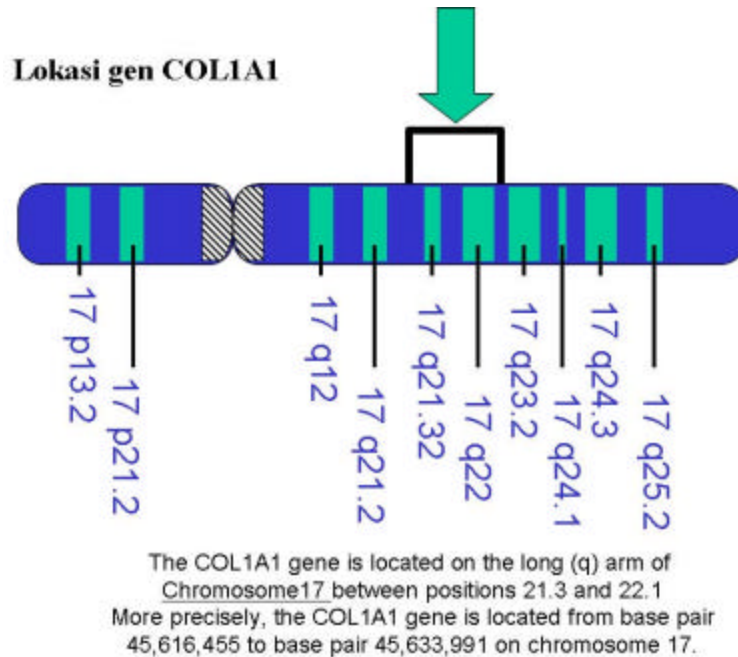
COL1A2 untuk membuat molekul prokollagen tipe 1. (Genetic home reference,2006; Mann V,2003; Ralston SH 2002; Setiyohadi B, 2000).

Gen COL1A1 adalah gen yang terlibat banyak pada kejadian osteoporosis. Gen ini berlokasi pada **kromosom 17q21.31-q22** dan mengkode alpha 1 chain tipe 1 kolagen. Gen COL1A1 manusia yang berukuran 18 kb dan terdiri atas 51 exon, sedangkan Gen COL1A2 berukuran 38 kb dan terdiri atas 52 exon dan berlokasi pada kromosom 7. Walaupun kedua unit kolagen ini tidak berhubungan satu dengan lainnya, tapi secara fungsional saling berkoordinasi untuk membentuk fungsional *triple helical type 1 collagen* (Genetic home reference, 2006; Stewart TL dkk, 2006; Liu PY dkk, 2004).

Regulator transkripsi dari kedua subunit ini (*repressor* dan *enhancer*) terletak pada daerah promotor, termasuk yang paling sering diteliti adalah polimorfisme yang terletak di intron 1. Sebuah penelitian fungsional memperlihatkan bahwa polimorfisme Sp1 pada intron 1 akan merubah *binding site* Sp1, sehingga akan mempengaruhi transkripsi dari Gen COL1A1, produksi protein kolagen, serta sifat biomekanik dari suatu tulang (Stewart TL dkk, 2006; Liu PY dkk, 2004).

Pemakaian DMPA secara luas sebagai kontrasepsi, terutama oleh wanita usia muda, sering tanpa mempertimbangkan kemungkinan adanya efek samping DMPA, di antaranya penurunan densitas mineral tulang. Keadaan ini diperberat oleh data epidemiologis yang menunjukkan, bahwa dibandingkan dengan negara maju, keadaan densitas mineral tulang di masyarakat kita cenderung lebih rendah, sementara peran faktor genetik juga tidak dapat disingkirkan. Adanya Interaksi pengaruh lingkungan, ras, dan genetik akan mempengaruhi bentuk fenotip yang terekspresi. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti dampak pemakaian kontrasepsi DMPA terhadap densitas mineral tulang akseptor,

dihubungkan dengan faktor genetik sehingga diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna terhadap praktisi medis maupun akseptor DMPA itu sendiri.



**Gambar 3 Lokasi Gen COL1A1 pada Kromosom 17**

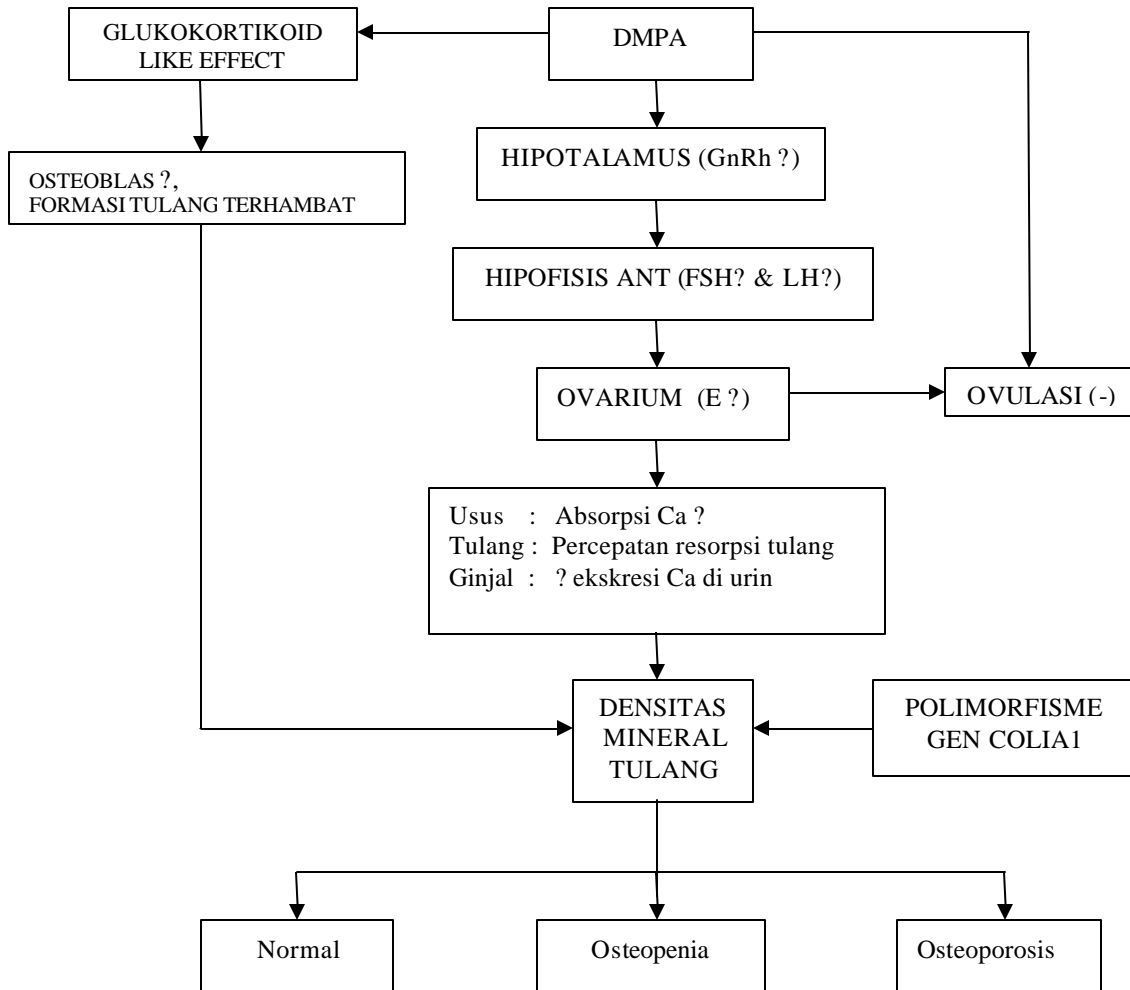
## Target amplifikasi PCR



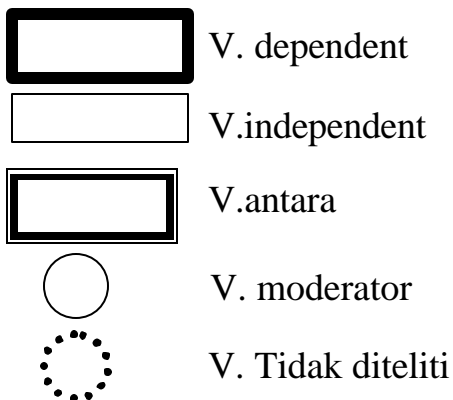
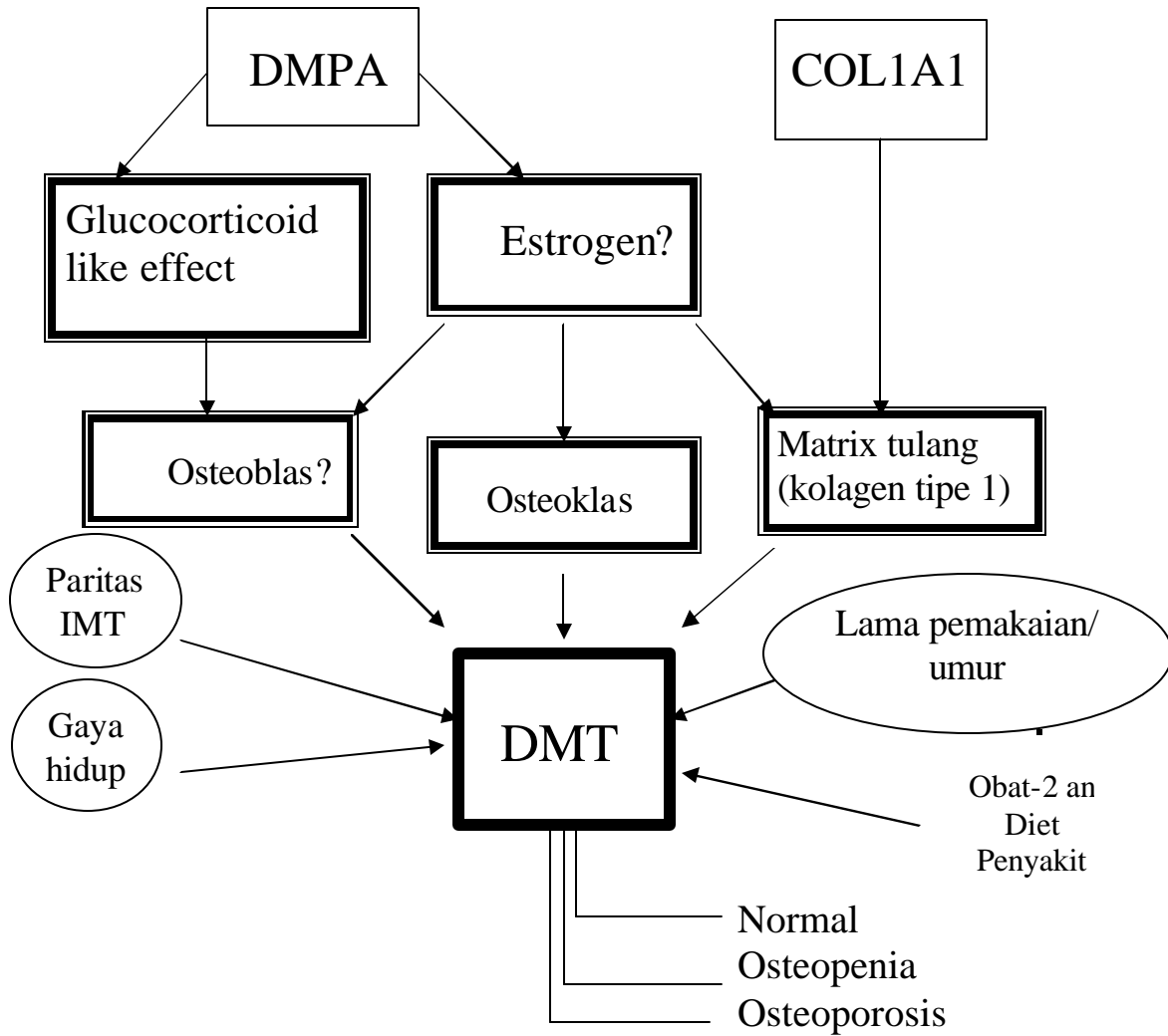
**Gambar 4. Target amplifikasi PCR, dimana posisi G digantikan oleh T**

**BAB III**  
**KERANGKA KONSEP**

**3.1. KERANGKA TEORITIS**



### 3.2. DIAGRAM HUBUNGAN VARIABEL



### 3.3. HIPOTESIS PENELITIAN

1. Ada penurunan densitas mineral tulang (DMT) vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA setelah pemakaian 1 tahun
2. Ada perbedaan penurunan densitas mineral tulang (DMT) vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA 1 tahun dan 5 tahun
3. Angka kejadian osteopeni lebih tinggi pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun daripada akseptor 1 tahun
4. Ada perbedaan penurunan densitas mineral tulang (DMT) vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA 1 tahun dan 5 tahun berdasarkan polimorfisme gen COL1A1
5. Ada peranan polimorfisme gen *Collagen type 1 alpha 1 (COL1A1)* terhadap penurunan densitas mineral tulang (DMT) vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1. RANCANGAN PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian Eksperimental dengan pendekatan *non randomized Pre-Post test control group desain* (dalam rangka mengetahui pengaruh KB suntik DMPA terhadap DMT vertebra lumbal akseptor selama pemakaian 1 tahun), dikombinasikan dengan *Cross Sectional Study* (dengan tujuan membandingkan DMT vertebra lumbal akseptor KB suntik DMPA 1 tahun dan 5 tahun).

#### **4.3. WAKTU PENELITIAN**

Dimulai bulan Januari 2006 sampai dengan bulan Maret 2007

#### **4.3. POPULASI DAN SAMPEL**

**Populasi** adalah semua wanita usia reproduksi sehat (20-35th) yang berkunjung di poliklinik KB RS Pelamonia, Posyandu Dahlia dan tempat praktek pribadi.

**Sampe**l adalah Akseptor KB suntik DMPA dan kontrol yang memenuhi kriteria inklusi sampel dan telah menandatangani *Informed Consent*.

#### **4.4. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI SAMPEL**

##### **Kriteria inklusi :**

- Akseptor KB suntik DMPA yang telah mendapatkan suntikan kedua dan berniat melanjutkan KBnya minimal sampai suntikan keempat, akseptor KB =5tahun dan kelompok kontrol yang belum pernah menjadi akseptor KB sebelumnya.
- Tidak sedang menyusui eksklusif, tidak menderita malnutrisi, tidak mengkonsumsi secara rutin minuman beralkohol dan bersoda.
- Bukan atlet profesional, tidak menderita penyakit yang mengganggu metabolisme tulang (hipertiroid, kelainan endokrin, DM, gangguan fungsi ginjal, gangguan fungsi hati, kelainan saluran pencernaan, defisiensi vit.D).
- Tidak mengkonsumsi hormon, obat-obatan (kortikosteroid, heparin, diuretika, antikonvulsan, tiroksin dan suplemen kalsium dan vit.D).
- Tidak ada riwayat operasi salpingooforektomi bilateral (SOB), reseksi usus, paratiroidektomi dan pengobatan DMPA lain.
- Tidak ada riwayat gangguan haid (amenorea sekunder) sebelum menjadi akseptor KB

##### **Kriteria eksklusi :**

- Ingin berhenti ber KB atau ingin ganti cara KB sebelum penelitian berakhir.
- Ada efek samping lain DMPA yang sangat mengganggu sehingga penyuntikan DMPA tidak dapat dilanjutkan, misalnya sakit kepala hebat, perdarahan yang tidak diketahui sebabnya, peningkatan berat badan yang berlebihan, hipertensi, dan lainnya.
- Imobilisasi oleh karena sesuatu sebab.

#### 4.5. CARA PENGAMBILAN SAMPEL

Sampel diambil non random dari populasi sampel secara *consecutive sampling* yaitu semua yang masuk kriteria inklusi sampel akan diambil sebagai sampel sampai jumlah sampel memenuhi.

#### 4.6. BESAR SAMPEL

Diperoleh dengan menggunakan rumus :

$$n = \frac{2 \text{ PI}^2 \cdot P (1-P)}{(p1 - p2)^2}$$

Keterangan rumus :

n = perkiraan besar sampel satu kelompok

p1 = proporsi akseptor DMPA yang mengalami perubahan DMT setelah penggunaan 48 minggu

p2 = proporsi bukan akseptor (kontrol) yang mengalami perubahan DMT setelah 48 minggu

PI = power indeks (2,99) yang sesuai dengan power = 85% dan alfa 0,05

$$P = \frac{p1 + p2}{2}$$

Jumlah sampel minimal pada penelitian ini adalah 30 akseptor DMPA tahun pertama, 30 non akseptor (kontrol) dan 30 akseptor DMPA = 5 tahun

#### 4.7. DEFINISI OPERASIONAL

- Paritas :Jumlah anak viable yang pernah dilahirkan, baik lahir hidup maupun mati
- Primipara : Wanita yang baru pertama kali melahirkan anak yang viable, baik yang lahir hidup maupun mati
- Umur : Umur ibu dinyatakan dalam tahun, mulai saat lahir hingga ulang tahun terakhir. Pada penelitian ini diambil usia reproduksi sehat yaitu 20 – 35 tahun
- Akseptor KB : Pelaku/akseptor KB suntik DMPA
- Kontrol : adalah wanita usia reproduksi sehat (20-35tahun) yang bukan akseptor KB yang memenuhi kriteria inklusi sampel
- Lama pemakaian : Tanggal mulainya penyuntikan kontrasepsi pertama hingga penyuntikan terakhir (dibagi atas 2 kategori yaitu pemakai tahun pertama dan pemakai = 5tahun)
- IMT (Indeks Massa Tubuh) : Berat badan dalam kilogram dibagi kuadrat tinggi badan dalam meter ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), normal IMT antara 20 – 25  $\text{kg}/\text{m}^2$
- BMD (Bone Mineral Density)/DMT (Densitas Mineral Tulang) : Kepadatan massa tulang yang diukur dengan menggunakan alat DEXA, dinyatakan dalam  $\text{gr}/\text{cm}^2$
- Skor T : Merupakan nilai perbandingan kandungan densitas mineral tulang seseorang bila dibandingkan dengan nilai puncak pembentukan massa tulang (*peak bone mass*) yang lazim dicapai pada usia 20-35 tahun
- DMPA (Depo Medroxy Progesterone Acetat) : Adalah salah satu jenis kontrasepsi suntikan progestogen yang bersifat cair yang diberikan dengan cara suntikan intra

muskuler dalam pada m.gluteus setiap 12 minggu dengan dosis 150mg, buatan UpJohn

- DEXA ( Dual Energy X-ray Absorpsiometry) : Adalah alat untuk mengukur densitas mineral tulang menggunakan radiasi sinar x dengan dosis yang sangat kecil pada tulang vertebra, tulang femur proksimal,atau tubuh secara total dan merupakan “*gold standard*” untuk diagnosis adanya osteoporosis
- Tulang normal : Bila nilai DMT didapatkan skor  $T > -1 SD$
- Osteopenia : Adalah suatu keadaan dimana pada pemeriksaan DMT didapatkan skor  $T -1 s/d -2,5 SD$
- Osteoporosis : Adalah suatu keadaan dimana pada pemeriksaan DMT didapatkan skor  $T < -2,5 SD$
- Olah raga : Melakukan aktifitas olah raga berjalan kaki, bersepeda atau berenang paling sedikit 2 kali seminggu secara teratur
- Merokok : menghisap rokok setiap hari
- Alkoholik : mengkonsumsi minuman beralkohol setiap hari

#### **4.8. BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA**

##### **A. Wawancara dan penyuntikan DMPA/ pemeriksaan Densitas Mineral Tulang.**

Bahan dan alat : Lembaran kuesioner

Densitometer *Dual Energy X-ray Absorptiometry ( DEXA)*

Timbangan badan (Camry) dan pita meteran,

Tensimeter Air Raksa (Nova) & Stetoskop (Littman)

Jarum *Spoit disposable 3ml (Terumo)*, Depogestin (DMPA),

kapas dan larutan alkohol 70%, vakutainer dengan EDTA + jarumnya, pita fiksasi.

Cara kerja :

- . Penandatanganan persetujuan mengikuti prosedur penelitian
- . Wawancara dengan menggunakan lembaran kuesioner
- . Pemeriksaan fisis (Tensi, Nadi, Pernapasan, Berat Badan & Tinggi Badan)
- . Penyuntikan KB DMPA 150 mg/i.m pada m.gluteus sesuai jadwal suntikan
- . Pemeriksaan densitas mineral tulang (DMT) dengan alat Densitometer (DEXA) pada tulang vertebra lumbal yang dilakukan di “klinik Osteoporosis Stella”.  
Pemeriksaan I pada akseptor yang telah mendapatkan suntikan DMPA yang kedua pada minggu ke 24 sebelum dilakukan penyuntikan ketiga. Dilakukan juga pemeriksaan DMT I untuk kelompok kontrol
- . Pemeriksaan II dilakukan pada akseptor yang sama yang telah mendapatkan Suntikan DMPA yang keempat pada minggu ke 48 sebelum penyuntikan kelima. Demikian juga pemeriksaan DMT II untuk kelompok kontrol yang sama.
- . Pemeriksaan DMT juga dilakukan pada akseptor suntik DMPA = 5 tahun
- . Dilakukan pengambilan contoh darah 3 ml dari v.cubiti (lipat siku) dengan cara:  
Identifikasi pembuluh darah v.cubiti pada lengan yang akan ditusuk, kemudian difiksasi dengan pita fiksasi agar tidak mudah bergeser, usapkan antiseptik alkohol 70% didaerah pembuluh darah tersebut. Tusukkan jarum disposable yang dihubungkan dengan vacuteiner dengan EDTA secara steril (pada saat selesai evaluasi hasil pemeriksaan DMT pada akseptor KB DMPA dan

kontrol). Darah ini disimpan dalam lemari pendingin  $-20^{\circ}\text{C}$  (diPKP/Lab.Prodia) untuk selanjutnya diisolasi DNA, PCR & sekuensing (melihat faktor genetik).

## B. Studi Molekuler

Isolasi DNA Genom dan amplifikasi dengan PCR dilakukan pada Laboratorium Biomedis di Gedung Pusat Kegiatan Penelitian Unhas, bila diperlukan proses sekuensing akan dilakukan pada Lembaga Penelitian Eijkman, Jakarta.

### Studi Molekuler

1. Aspirasi darah perifer : sebanyak 3 cc darah perifer diaspirasi dan dimasukkan ke dalam vacumtainer yang berisi EDTA. Darah ini disimpan dalam refrigerator  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk dijadikan bahan isolasi DNA genom.

### 2. Isolasi DNA Genom

Untuk isolasi DNA genom :

- Darah sebanyak 200  $\mu\text{l}$  dicuci dengan larutan PBS dengan sentrifugasi 5.000 rpm selama 5 menit, dicampurkan dengan larutan 0,5% saphonin dalam PBS 800  $\mu\text{l}$  dan disimpan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit.
- Campuran ini disentrifuge 12.000 rpm selama 10 menit dalam suhu ruangan.
- Buang *supernatant* dan endapan yang terbentuk dicuci dengan larutan PBS 3x. sentrifuge 5.000 rpm selama 5 menit, dan kemudian buang supernantannya kembali.
- Tambahkan endapan dengan 50  $\mu\text{l}$  20% chelex dan 150  $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O (air steril) dan campur secara homogen.

- Tabung kemudian diinkubasi dalam air mendidih selama 10 menit, Untuk memisahkan DNA, tabung *disentrifuge* pada 12.000 rpm selama 10 menit dalam suhu ruangan.
- Pindahkan *supernatant* ke tabung eppendorf yang baru (supernatant inilah yang mengandung DNA genom)
- Hasil isolasi DNA ini kemudian dijadikan cetakan (template) pada proses PCR (pada amplifikasi gen COL1A1)

### 3. Amplifikasi gen COL1A1

Gen COL1A1 diamplifikasi dengan menggunakan DNA genom sebagai bahan cetakan amplifikasi dalam metode nested polymerase chain reaction (PCR).

Pasangan primer yang digunakan untuk mencetak polimorfisme gen COL1A1 pada intron 1 adalah:

Tahap 1 :

COL1A1 (sense) : 5`-AAG ATG TCT AGG TGC TGG AGG-3`

COL1A1 (antisense) : 5`-ATC CTT AAA AGC TCG CCT GCT C-3`

PCR tahap 2 dengan produk DNA 306 bp

COL1A1 (sense) : 5`- GAG GTA CAT TTC AAG TCT TGG-3`

COL1A1 (antisense) : 5`-CAA AGC TTT AGT CCG CGG TG-3`

Komposisi PCR adalah 50mM Tris-HCL pH 8.3, 1.5 mM MgCL<sub>2</sub>, 800nM primer sense, 800 nM primer antisense, 200 µM dNTP dan 5 µl DNA template. Untuk PCR tahap kedua, semua komposisi sama kecuali template DNA yang digunakan dari produk PCR tahap pertama sebanyak 1 µl.



Kondisi PCR : Denaturasi 94°C selama 30 detik, annealing 50°C selama 30 detik dan elongasi 72°C selama 1 menit dengan jumlah siklus 35 kali. Pada awal reaksi dilakukan pre denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit dan pada akhir reaksi dilakukan elongasi/extension akhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

Kondisi PCR pada tahap kedua sama dengan yang dilakukan pada tahap pertama.

#### 4. Visualisasi produk PCR

Untuk mengetahui ketepatan hasil amplifikasi PCR pada area gen COL1A1 yang meliputi intron 1 maka produk PCR diambil 5 $\mu$  dianalisa dalam gel elektroforesis (2%) yang terendam larutan TAE . Elektroforesis dijalankan pada voltase 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi dibawah sinar UV.

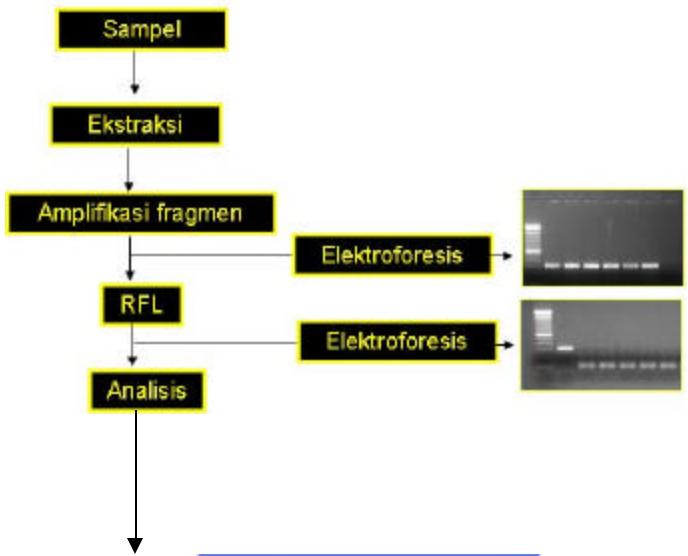
#### 5. Enzim Restriksi DNA sekuensing

Enzim restriksi yang digunakan adalah Bsl I : 5'-CCNNNNN'NNGG-3'

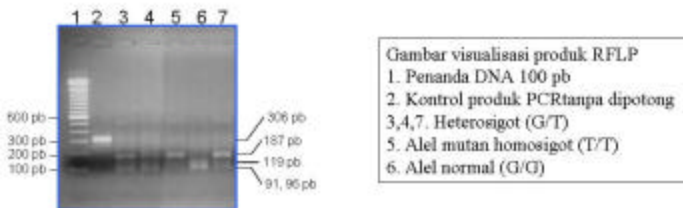
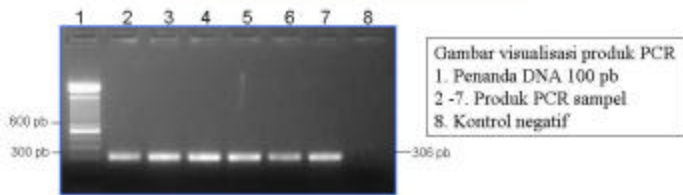
5'-GGNN'NNNNCG-3'

Sekuensing DNA akan dilakukan pada masing-masing perwakilan polimorfisme DNA, baik wild type allele maupun mutant allele untuk melihat secara langsung perubahan pasangan basa pada intron 1 gen COL1A1.

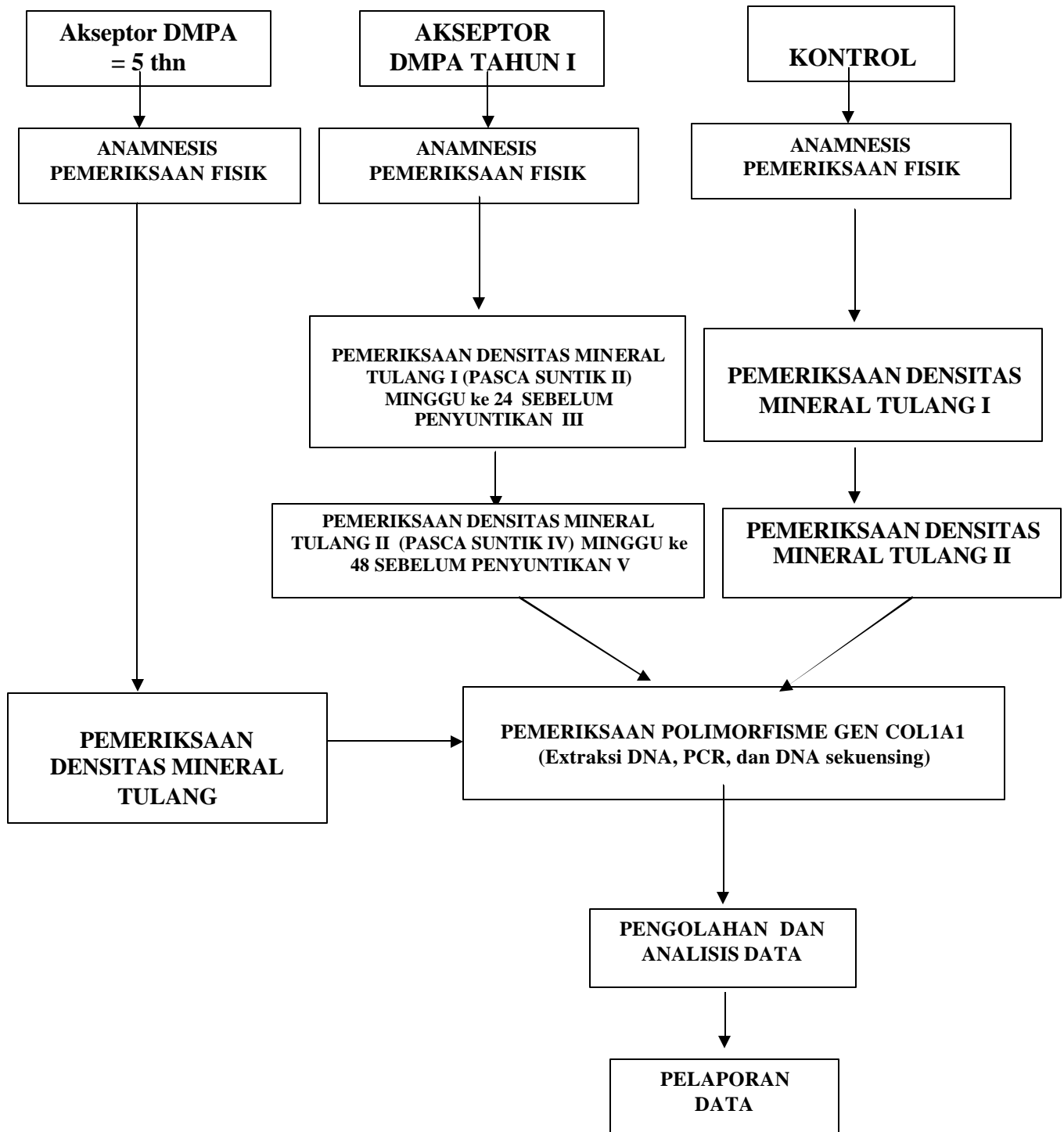
**DIAGRAM ALIR PEMERIKSAAN**



**HASIL VISUALISASI PCR DAN RFLP**



#### 4.9. ALUR PENELITIAN.



#### **4.10.ANALISIS DATA**

Data yang diperoleh dianalisis dengan program statistik SPSS versi 11.5. Dilakukan analisis univariat, bivariat dan uji lainnya sesuai dengan tujuan dan skala ukur yang sesuai. Hasil yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk narasi dan diperjelas oleh tabel atau grafik. Untuk uji statistik, tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 5% ( $p < 0,05$ ).

## **BAB V**

### **HASIL PENELITIAN**

#### **5.1. Hasil Penelitian**

Selama periode bulan Januari 2006 sampai dengan Maret 2007 telah dilakukan penelitian untuk menilai dampak pemakaian kontrasepsi suntik DMPA pada densitas mineral tulang akseptor. Penelitian dilakukan dalam dua tahap pemeriksaan. Pada **tahap pertama** dilakukan pemeriksaan terhadap 70 wanita yang terdiri dari 35 wanita akseptor suntik DMPA, yang telah mendapat 2 kali penyuntikan pada minggu ke 24 sebelum mendapat suntikan ketiga / bulan ke-6 (sebagai kelompok **kasus** jangka pendek <1 tahun) dan 35 wanita yang bukan akseptor DMPA sebagai kelompok **kontrol**. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan **tahap kedua** setelah akseptor mendapat penyuntikan ke 4 pada minggu ke 48 sebelum mendapat suntikan kelima / 1 tahun (bulan ke-12), dengan jarak 24 minggu setelah pemeriksaan pertama. Juga dilakukan pemeriksaan densitas mineral tulang pada 31 akseptor suntik DMPA jangka panjang (=5 tahun)

Pada pemeriksaan **tahap ke 2**, baik pada kelompok akseptor 1 tahun maupun kelompok kontrol bukan akseptor: Terdapat 2 akseptor yang tidak dapat diikuti dalam penelitian, karena 1 akseptor berpindah kota dan 1 akseptor tidak dimasukkan lagi dalam penelitian karena mengkonsumsi obat-obatan yang tidak jelas (obat gemuk ?). Sedangkan pada kelompok kontrol, ada 2 sampel yang hamil, Sehingga pada tahap kedua dilakukan pemeriksaan hanya terhadap 33 akseptor yang telah diperiksa pada tahap pertama demikian juga pada kelompok kontrol yang sesuai dengan kelompok akseptor. Ke 66 subjek penelitian ditambah dengan 31 akseptor suntik DMPA jangka panjang (=5 tahun) dimasukkan dalam analisis.

Setelah selesai seluruh proses pemeriksaan densitas mineral tulang, selanjutnya dilakukan pengambilan darah dari v.kubiti sebanyak 3 ml pada semua subjek ( 33 orang akseptor <1 tahun , 33 orang akseptor =5 tahun dan 31 orang kontrol ) untuk pemeriksaan genetik (polimorfisme gen COL1A1).

Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan data SPSS 14,0 for windows. Hasil yang diperoleh diuraikan sebagai berikut. :

### 5.1.1. Karakteristik sampel

Diperoleh 66 orang sample penelitian, yang dibagi menjadi 2 kelompok masing-masing 33 orang untuk kelompok perlakuan yang memperoleh suntikan KB DMPA dan 33 orang lainnya sebagai kelompok kontrol. Adapun hasil analisis perbedaan umur dan IMT antara kedua kelompok menunjukkan bahwa kedua kelompok dapat dianggap homogen berdasarkan umur dan Indeks Massa Tubuh (IMT) (tabel 1).

**Tabel 1. Umur dan Indeks Massa Tubuh (IMT) pada Kedua Kelompok**

<b>Karakteristik</b>	<b>Perlakuan (n=33) Mean (SD)</b>	<b>Kontrol (n=33) Mean (SD)</b>	<b>Independent Sample T test</b>
Umur (tahun)	25,7 (3,1)	27,2 (4,8)	p=0,150
IMT (kg/m <sup>2</sup> )	21,9 (1,7)	21,5 (1,2)	p=0,273

### 5. 1. 2. Densitas Mineral Tulang (skor-T) sebelum perlakuan

Hasil analisis *Mann Whitney Test* menunjukkan bahwa pada keadaan awal (sebelum penelitian dimulai), skor-T DMT antara kelompok perlakuan (akseptor KB suntik DMPA bulan ke-6) dengan kelompok kontrol (tanpa perlakuan) tidak

menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) pada semua level vertebra lumbal (tabel 2).

**Tabel 2. Hasil Densitas Mineral Tulang (DMT) sebelum perlakuan pada kedua Kelompok**

Vertebra	Skor-T DMT		<i>Mann Whitney Test</i>
	Perlakuan (n=33)	Kontrol (n=33)	
<b>Lumbal</b>	Min – Maks; Median (Md)	Min – Maks; Median (Md)	
VL1	(- 2,1) – (2,0); Md= - 0,20	(-1,2) – (1,9); Md= 0,1	p=0,175
VL2	(-2,0) – (2,0); Md= - 0,30	(-1,5) – (1,4); Md= 0,1	p=0,119
VL3	(-1,9) – (2,4); Md= 0,00	(-1,7) – (1,6); Md= 0,7	p=0,232
VL4	(-2,6) – (1,8); Md= - 0,10	(-1,3) – (1,7); Md= 0,3	p=0,156

### 5.1.3. Densitas Mineral Tulang (skor-T) sesudah perlakuan

Pada kelompok perlakuan (1 tahun pemakaian) skor-T DMT menjadi lebih rendah dibanding skor-T DMT pada kelompok kontrol di semua level vertebra lumbal, dan hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ), (tabel 3).

**Tabel 3. Hasil Densitas Mineral Tulang (DMT) sesudah Perlakuan pada Kedua Kelompok**

Vertebra	Skor-T DMT		Mann Whitney Test
	Perlakuan (n=33)	Kontrol (n=33)	
<b>Lumbal</b>	Min – Maks; Median (Md)	Min- Maks; Median (Md)	
VL1	(-2,6) – (2,0); Md= - 0,9	(-1,2) – (2,0); Md= 0,1	p=0,005
VL2	(-2,5) – (2,0); Md= - 0,7	(-1,4) – (1,5); Md= 0,3	p=0,001
VL3	(-2,2) – (1,3); Md= - 0,1	(-1,8) – (1,5); Md= 0,4	p=0,032
VL4	(-2,6) – (1,0); Md= - 0,4	(-2,1) – (1,7); Md= 0,1	p=0,002

#### 5.1.4. Perbedaan besarnya perubahan Densitas Mineral Tulang (skor-T)

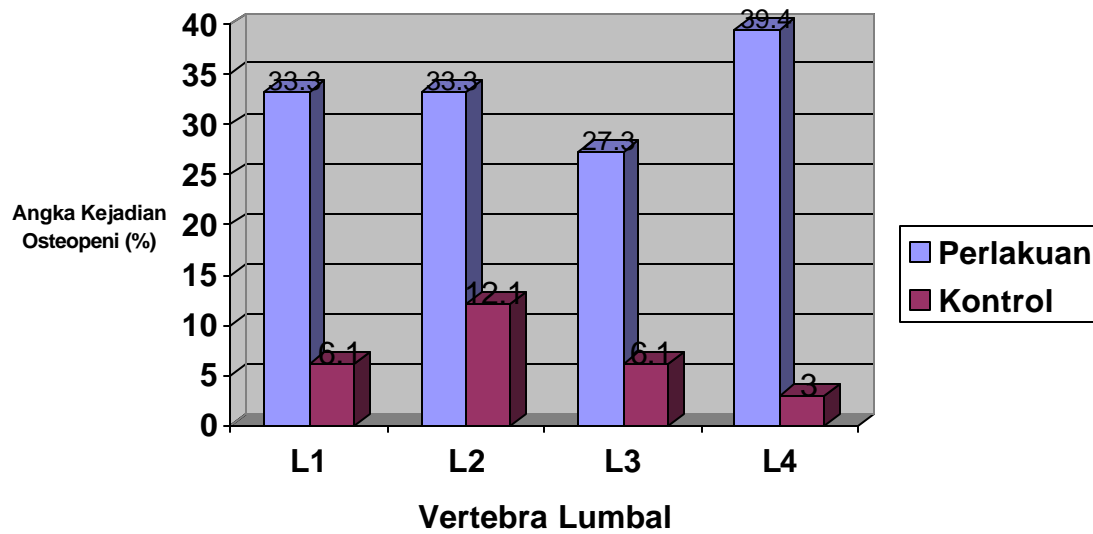
Hasil uji *Mann Whitney* yang menganalisis perbedaan besarnya perubahan skor-T DMT antara kelompok perlakuan dengan kontrol menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada semua level vertebra lumbal, dimana perubahan pada kelompok perlakuan lebih besar daripada kontrol. Bahkan pada kelompok kontrol hampir tidak ada perubahan ( $p < 0,05$ ), (tabel 4).

**Tabel 4. Perbedaan besarnya perubahan skor-T Densitas Mineral Tulang (DMT) antara kedua Kelompok perlakuan dan kontrol**

Vertebra	perubahan skor-T DMT		Mann Whitney Test
	Perlakuan (n=33)	Kontrol (n=33)	
<b>Lumbal</b>	Min – Maks; Median (Md)	Min- Maks; Median (Md)	
VL1	(-1,0) – (2,8); Md= 0,2	(-0,7) – (0,9); Md= 0,0	p=0,026
VL2	(-1,0) – (1,6); Md= 0,2	(-1,2) – (0,9); Md= - 0,1	p=0,007
VL3	(-1,2) – (1,8); Md= 0,3	(-0,8) – (1,0); Md= 0,0	p=0,017
VL4	(-0,8) – (2,0); Md= 0,5	(-1,0) – (1,6); Md= 0,0	p=0,001



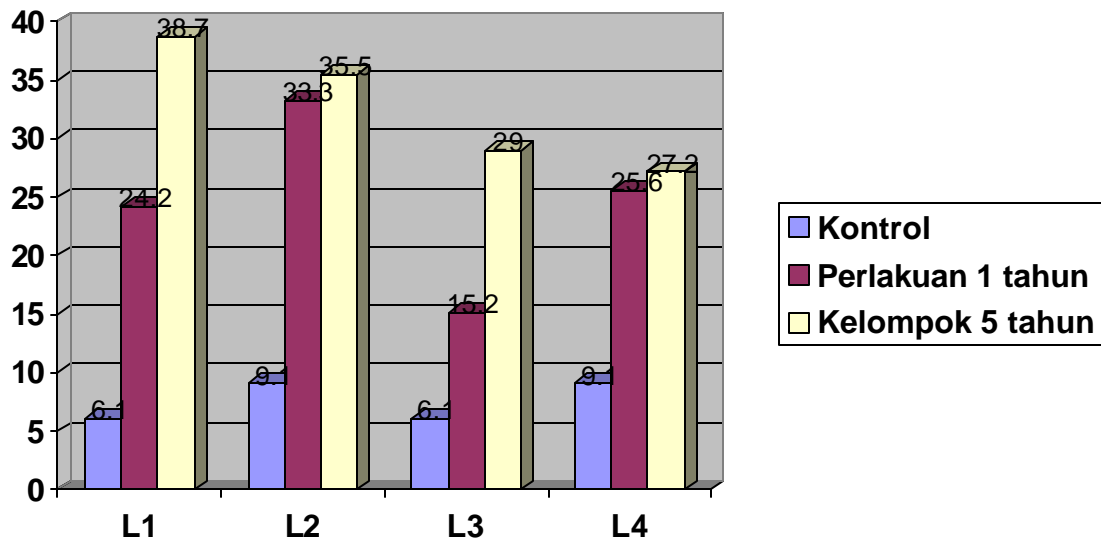
### 5.1.5. Angka Kejadian Osteopenia setelah perlakuan



**Grafik 1. Angka Kejadian osteopenia setelah Perlakuan pada Kedua Kelompok**

Grafik 1 menunjukkan bahwa, angka kejadian osteopenia lebih tinggi pada kelompok akseptor KB 1 tahun daripada kontrol, pada semua level vertebra lumbal.

### 5. 1. 6. Angka Kejajadian Osteopenia pada ketiga kelompok



**Grafik 2. Angka Kejadian osteopeni pada ketiga kelompok**

Grafik 2 menunjukkan bahwa angka kejadian osteopeni lebih tinggi pada kelompok 5 tahun daripada kelompok 1 tahun dan kelompok 1 tahun lebih tinggi daripada kelompok kontrol pada semua level vertebra lumbal. Hal ini menunjukkan bahwa angka kejadian osteopeni berhubungan dengan pemakaian KB suntik DMPA dan lama pemakaian KB suntik DMPA. Semakin lama pemakaian KB suntik DMPA, semakin tinggi angka kejadian osteopeni.

Angka kejadian osteopeni pada VL.1 kelompok akseptor DMPA lebih tinggi daripada kontrol (bukan akseptor DMPA) masing-masing dengan OR (odds rasio) 4,7 untuk akseptor DMPA 1 tahun dan 5,2 untuk akseptor DMPA 5 tahun. Artinya, akseptor DMPA 1 tahun 4,7 kali lebih besar untuk mengalami osteopeni daripada kelompok kontrol dan untuk akseptor DMPA 5 tahun 5,2 kali lebih besar (tabel 5).

**Tabel 5. Distribusi angka kejadian osteopeni pada Vertebra Lumbal 1 menurut kelompok**

Kelompok	Normal		Osteopeni		OR	95% for OR
	n	(%)	n	(%)		
Kontrol	29	(87,9%)	4	(12,1%)	1,0	
DMPA 1 th	20	(60,6%)	13	(39,4%)	4,7	1,3 – 16,6
DMPA 5 th	18	(58,1%)	13	(41,9%)	5,2	1,5 – 18,6

**Keterangan:** OR=Odds Rasio; CI=Confidence Interval

Angka kejadian osteopeni pada VL.2 kelompok akseptor DMPA lebih tinggi daripada kontrol (bukan akseptor DMPA) masing-masing dengan OR (odds rasio) 5,0 untuk akseptor DMPA 1 tahun dan 6,3 untuk akseptor DMPA 5 tahun. Artinya, akseptor DMPA 1 tahun 5,0 kali lebih besar untuk mengalami osteopeni daripada kelompok kontrol dan untuk akseptor DMPA 5 tahun 6,3 kali lebih besar (tabel 6).

**Tabel 6. Distribusi angka kejadian osteopeni pada Vertebra Lumbal 2 menurut kelompok**

Kelompok	Normal		Osteopeni		OR	95%CI for OR
	n	(%)	n	(%)		
Kontrol	30	(90,9%)	3	(9,1%)	1,0	
DMPA 1 th	22	(66,7%)	11	(33,3%)	5,0	1,0 – 20,1
DMPA 5 th	19	(73,2%)	12	(38,7%)	6,3	1,6 – 25,3

**Keterangan:** OR=Odds Rasio; CI=Confidence Interval

Angka kejadian osteopeni pada VL.3 kelompok akseptor DMPA lebih tinggi daripada kontrol (bukan akseptor DMPA) masing-masing dengan OR (odds rasio) 6,7 untuk akseptor DMPA 1 tahun dan 8,5 untuk akseptor DMPA 5 tahun. Artinya, akseptor

DMPA 1 tahun 6,7 kali lebih besar untuk mengalami osteopeni daripada kelompok kontrol dan untuk akseptor DMPA 5 tahun 8,5 kali lebih besar (tabel 7).

**Tabel 7. Distribusi angka kejadian osteopeni pada Vertebra Lumbal 3 menurut kelompok**

Kelompok	Normal		Osteopeni		OR	95% for OR
	n	(%)	n	(%)		
Kontrol	31	(93,9%)	2	(6,1%)	1,0	
DMPA 1 th	23	(69,7%)	10	(30,3%)	6,7	1,3 – 33,8
DMPA 5 th	20	(71,0%)	11	(35,5%)	8,5	1,7 – 42,5

Keterangan: OR=Odds Rasio; CI=Confidence Interval

Angka kejadian osteopeni pada VL.4 kelompok akseptor DMPA lebih tinggi daripada kontrol (bukan akseptor DMPA) masing-masing dengan OR (odds rasio) 7,4 untuk akseptor DMPA 1 tahun dan 7,2 untuk akseptor DMPA 5 tahun. Artinya, akseptor DMPA 1 tahun 7,4 kali lebih besar untuk mengalami osteopeni daripada kelompok kontrol dan untuk akseptor DMPA 5 tahun 7,2 kali lebih besar (tabel 8).

**Tabel 8. Distribusi angka kejadian osteopeni pada Vetrebra Lumbal 4 menurut kelompok**

Kelompok	Normal		Osteopeni		OR	95% for OR
	n	(%)	n	(%)		
Kontrol	30	(90,9%)	3	(9,1%)	1,0	
DMPA 1 th	19	(57,6%)	14	(42,4%)	7,4	1,9 – 29,0
DMPA 5 th	18	(58,1%)	13	(41,9%)	7,2	1,8 – 28,8

Keterangan: OR=Odds Rasio; CI=Confidence Interval

**5.1.7. Distribusi angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen *COL1A1* pada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun, akseptor 5 tahun dan kontrol .**

Pada penelitian ini ditemukan hal yang menarik bahwa tidak satupun polimorfisme gen ditemukan pada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun maupun pada kelompok kontrol. Baik pada akseptor 1 tahun yang mempunyai DMT VL yang osteopeni maupun pada DMT VL yang normal, demikian juga pada kelompok kontrol. Sedangkan pada 31 orang akseptor suntik DMPA 5 tahun didapatkan : 19 orang dengan DMT VL normal (61,3%), 12 orang dengan DMT VL yang osteopeni (38,7%). Dari 31 orang tersebut, 17 orang dengan genetik normal (54,8%), 14 orang dengan polimorfisme gen *COL1A1* (45,2%) yang terdiri dari =

- . 7 orang dengan polimorfisme gen heterozigot (G/T) memiliki DMT VL Osteopenia ,
- . 4 orang dengan polimorfisme gen homozigot (T/T) memiliki DMT VL yang normal,
- . 3 orang dengan polimorfisme gen heterozigot (G/T) memiliki DMT VL yang normal,
- . serta 5 orang yang tanpa polimorfisme gen (G/G) memiliki DMT VL yang osteopeni.

(Tabel 9)

**Tabel 9. Distribusi angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen *COL1A1* pada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun, akseptor 5 tahun dan kontrol .**

KELOMPOK				DMT		Total
				Normal	Osteopeni	
Kontrol	POLIMORFISME	G/G	n	29	4	33
			%	87.9%	12.1%	100.0%
	Total		n	29	4	33
			%	87.9%	12.1%	100.0%
DMPA 1 Tahun	POLIMORFISME	G/G	n	21	12	33
			%	63.6%	36.4%	100.0%
	Total		n	21	12	33

DMPA 5 Tahun	POLIMORFISME		%	63.6%	36.4%	100.0%
		G/G	n	12	5	17
			%	70.6%	29.4%	100.0%
		G/T	n	3	7	10
			%	30.0%	70.0%	100.0%
		T/T	n	4	0	4
			%	100.0%	0.0%	100.0%
	Total		n	19	12	31
			%	61.3%	38.7%	100.0%

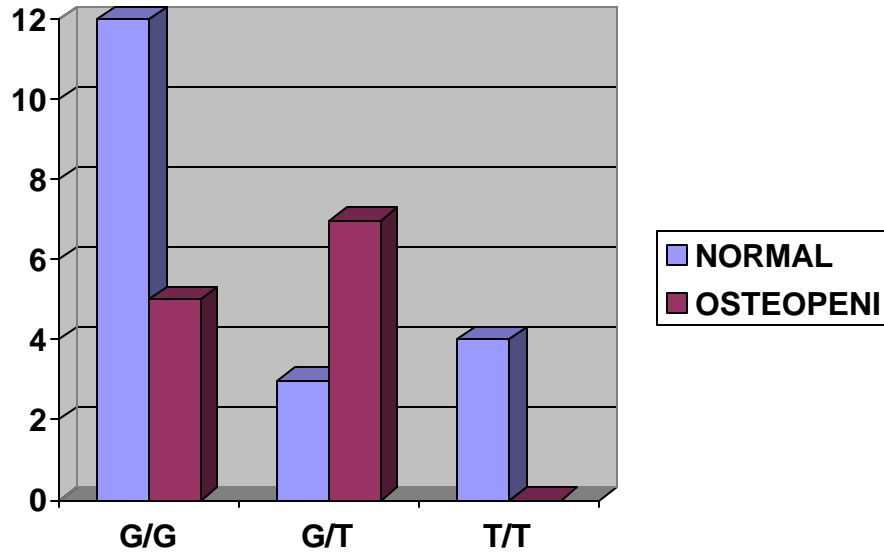
**5.1.8. Distribusi angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen *COL1A1* pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun.**

Ditemukan perbedaan distribusi kejadian osteopeni yang bermakna pada polimorfisme gen *COL1A1* ( $p=0,026$ ,  $p<0,05$ ). Kejadian osteopeni lebih banyak ditemukan pada akseptor yang memiliki gen heterozigot daripada akseptor yang mempunyai gen normal ( $p<0,05$ ). Pada akseptor yang memiliki gen homozigot tidak ditemukan kejadian osteopeni. (Tabel 10 dan Grafik 3)

**Tabel 10. Distribusi angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme gen *COL1A1* pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun**

			DMT		Total
			Normal	Osteopeni	
POLIMORFISME	G/G	n	12	5	17
		%	70.6%	29.4%	100.0%
	G/T	n	3	7	10
		%	30.0%	70.0%	100.0%
	T/T	n	4	0	4
		%	100.0%	.0%	100.0%
Total	n	19	12	31	
	%	61.3%	38.7%	100.0%	

**5.1.9. Angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme gen COL1A1 pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun**

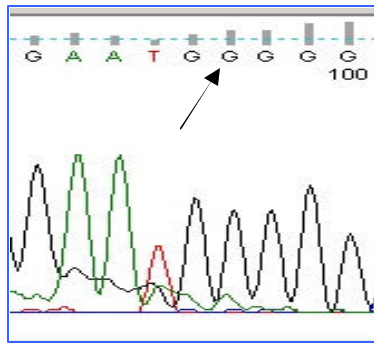
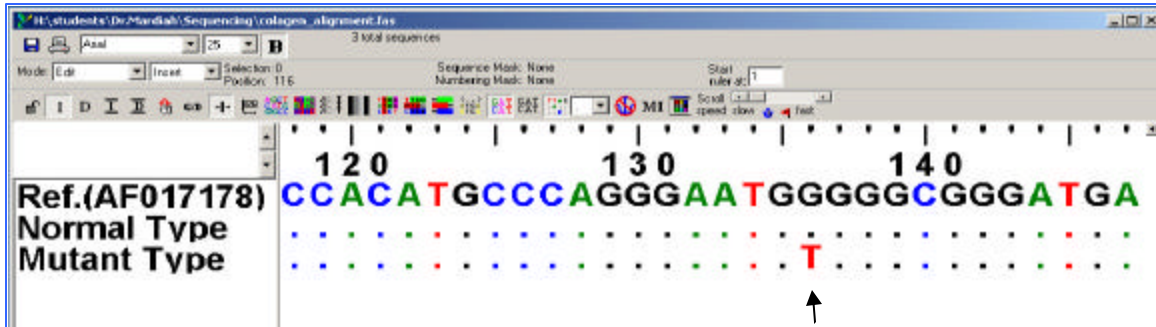


**Grafik 3. Angka kejadian osteopeni menurut polimorfisme gen COL1A1 pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun.**

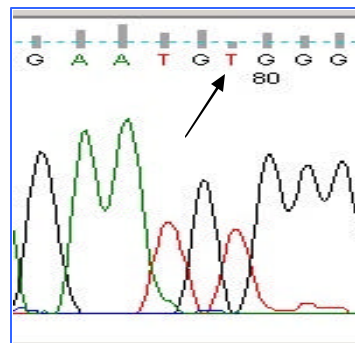
Grafik 3. menunjukkan bahwa angka kejadian osteopeni pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen heterozigot (G/T) lebih tinggi daripada akseptor yang memiliki gen normal (G/G), dan tidak ditemukan kejadian osteopeni pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T). Ini menunjukkan bahwa akseptor yang memiliki polimorfisme gen yang heterozigot (G/T) memiliki kecenderungan untuk menderita osteopeni lebih tinggi daripada akseptor yang memiliki gen normal (G/G). Dipihak lain, akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T) justru cenderung tidak menderita osteopeni.



## HASIL SEKUENSING



Alel G : GAATG**G**GGG



Alel T : GAATG**T**GGG

## **BAB VI**

### **PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk melihat adanya pengaruh polimorfisme gen *Collagen Type 1 Alpha 1 (COL1A1)* terhadap perubahan Densitas Mineral Tulang (DMT) pada akseptor KB suntik Depo Medroksi Progesteron Asetat (DMPA). Pembahasan akan mengacu kepada tujuan umum dan khusus serta hipotesis yang telah ditetapkan dalam penelitian ini..

#### **6.1. Karakteristik sampel**

Penelitian ini terdiri dari 66 Sampel, yaitu 33 kelompok akseptor DMPA dan 33 kelompok kontrol bukan akseptor. Rentang usia yang dipilih sebagai sampel dan kontrol adalah antara 20 – 35 tahun dengan usia rata-rata sampel :  $25,7 \pm 3,1$  dan kontrol :  $27,2 \pm 4,2$  dengan nilai  $p= 0,150$  dan Index Massa Tubuh rata-rata sampel :  $21,9 \pm 1,7$  dan kontrol :  $21,5 \pm 1,2$  dengan nilai  $p=0,273$  dengan uji *t test* dinyatakan homogen (Tabel 1). Rentang usia ini dipilih dengan pertimbangan sesuai dengan usia reproduksi sehat, dimana kontrasepsi sangat diperlukan oleh pasangan usia subur untuk menunda atau menjarangkan kelahiran anaknya. Juga berhubungan dengan tercapainya puncak massa tulang. Pada saat usia seperti ini, bila puncak massa tulang tidak tercapai dengan sempurna, akan berdampak pada pertahanan tulangnya dikemudian hari, misalnya saat terpapar zat-zat yang dapat mempengaruhi Densitas Mineral Tulangnya, diduga salah satunya adalah kontrasepsi suntik DMPA, akan berakibat buruk bahkan dapat terjadi penurunan kepadatan tulang (osteopenia sampai osteoporosis). Seperti yang dilaporkan oleh penelitian Cundy (1991) dan juga Scholes dkk (1994 – 1999 (US), melaporkan bahwa terjadi penurunan DMT pada akseptor KB suntik DMPA terutama pada kelompok

usia 18 – 21 tahun (kelompok risiko tinggi) karena proses mineralisasi tulang belum terbentuk dengan sempurna.

Penelitian ini juga ingin melihat DMT pada 31 orang akseptor KB suntik DMPA jangka panjang (=5 tahun) dan membandingkannya dengan kelompok sampel dan kontrol, dimana jelas terlihat perbedaan DMT yang sangat bermakna antara ketiga kelompok tersebut. Cundy, dkk (dikutip dari Boroditsky R, Guilbert E) melaporkan hasil penelitian tentang DMT dari 30 akseptor DMPA minimal 5 tahun dimana DMT akseptor tersebut lebih rendah dibanding kelompok kontrol premenopause.

## **6.2. Dampak Penggunaan Kontrasepsi suntik DMPA pada DMT (VL) Akseptor**

Skor -T DMT Vertebra Lumbal 1-4 (VL.1-4) akseptor DMPA dan kontrol sebelum perlakuan dapat dilihat pada Tabel.2. Tampak bahwa skor-T DMT pada VL.1-4 akseptor dibandingkan dengan skor-T DMT pada VL.1-4 kelompok kontrol, dengan uji statistik Mann Whitney tidak berbeda bermakna ( $p>0,05$ ).

Skor -T DMT Vertebra Lumbal 1-4 (VL.1-4) akseptor DMPA dan kontrol sesudah perlakuan dapat dilihat pada Tabel.3. Tampak bahwa skor-T DMT pada VL.1-4 akseptor dibandingkan dengan skor-T DMT pada VL.1-4 kelompok kontrol dengan uji statistik Mann Whitney didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p<0,05$ ).

Skor-T DMT (VL.1-4) akseptor DMPA sebelum dan sesudah perlakuan (akseptor 24 minggu / bulan ke-6 dan akseptor 48 minggu / bulan ke-12) dibandingkan dengan skor-T DMT (VL.1-4) kontrol bukan akseptor dapat kita lihat pada Tabel 4 dan Grafik 1. Pada tabel / grafik tersebut nampak bahwa penurunan skor-T DMT lebih banyak ditemukan pada kelompok akseptor, dengan nilai Median masing-masing pada VL.1

turun 0,7, VL.2. turun 0,4, VL.3. turun 0,1 dan VL.4. turun 0,3 (turun secara bermakna) dibandingkan dengan kelompok kontrol dimana nilai Median masing-masing pada VL.1 tidak ada perubahan (tetap 0,1 sebelum dan setelah pengamatan), VL.2. turun 0,2, VL.3. naik 0,3 dan VL.4. naik 0,2 (tidak bermakna). Hal ini menunjukkan bahwa pemakaian DMPA selama 24 minggu / 6 bulan, mempunyai risiko untuk mengalami penurunan skor-T DMT dibandingkan dengan kontrol yang tidak memakai DMPA. Hasil uji statistik Mann Whitney menunjukkan bahwa perbedaan tersebut sangat signifikan ( $p < 0,05$ ).

Penelitian yang dilakukan kerjasama *US Army Medical Research dan The National Osteoporosis Foundation di University of Texas Medical Branch* dengan menggunakan DEXA pada sisi Vertebra Lumbal menunjukkan terjadinya pengurangan DMT akseptor DMPA 2,74% sesudah 12 bulan pemakaian dibandingkan dengan kelompok kontrol yang mengalami pengurangan DMT sebanyak 0,37%. Pada penelitian ini dilakukan kontrol terhadap Indeks Massa Tubuh, asupan kalsium, aktivitas dan merokok. Mekanisme dari efek DMPA terhadap densitas mineral tulang tidak diketahui secara pasti. Meskipun demikian penelitian telah menunjukkan bahwa pengguna DMPA memiliki kadar E2 serum yang lebih rendah secara signifikan dibanding pengguna kontrasepsi non hormonal. Dalam keadaan hipoestrogenik, resorpsi tulang melampaui proses pembentukan sehingga terjadi penurunan massa tulang. Dengan demikian, tampaklah logis bahwa kehilangan tulang yang dihubungkan dengan penggunaan DMPA disebabkan oleh hipoestrogenisme. Kemungkinan lain, penurunan densitas mineral tulang dapat berhubungan dengan efek mirip glukokortikoid eksogen dari DMPA (Scholes D dkk, 1999).

Scholes dan kawan-kawan tahun 1994 hingga 1999 secara kohort prospektif terhadap 457 wanita yang tidak hamil usia 18-39 tahun (183 diantaranya adalah akseptor DMPA dan 274 bukan akseptor (dinilai setiap 6 bulan selama 3 tahun). Pada penelitian ini ditemukan adanya pengurangan densitas mineral tulang pada semua situs anatomik. Mean perbedaannya adalah 2,5% untuk tulang belakang dan 2,2% pada kolum femur. Perbandingan umur yang spesifik menunjukkan perbedaan utama densitas mineral tulang antara pemakai dan bukan pemakai terjadi pada kelompok umur yang paling muda (18-21 tahun). Pada penelitian ini disimpulkan bahwa kontrasepsi DMPA khususnya penggunaan jangka panjang dapat mengganggu densitas mineral tulang pada wanita usia 18-21 tahun dan pengaruhnya terhadap kesehatan tulang dimasa yang akan datang masih memerlukan penelitian lebih lanjut (Westhoff C,2002; Berenson AB dkk,2001; Scholes D dkk,1999).

### **6.3. Perbedaan Densitas Mineral Tulang antara akseptor KB suntik 1 tahun dan 5 tahun.**

Pada Grafik 2 dipaparkan angka kejadian osteopenia lebih tinggi pada kelompok akseptor 5 tahun daripada kelompok akseptor 1 tahun dan akseptor 1 tahun lebih tinggi daripada kontrol (bukan akseptor). Hal ini menunjukkan bahwa kejadian osteopenia berhubungan dengan pemakaian KB suntik DMPA dan lamanya pemakaian. Semakin lama menjadi akseptor suntik DMPA, semakin tinggi angka kejadian osteopenia. Namun dapat dilihat bahwa penurunan DMT pada 1 tahun pertama pemakaian terjadi lebih cepat kemudian menurun secara perlahan-lahan pada pemakaian 5 tahun (tabel 5,6,7,8)

Angka kejadian osteopeni pada kelompok akseptor DMPA lebih tinggi daripada kontrol (bukan akseptor DMPA) masing-masing dengan **OR (odds rasio):**

Untuk akseptor 1 tahun masing-masing VL.1: 4,7, VL.2: 5,0, VL.3: 6,7 dan VL.4: 7,4

Untuk akseptor 5 tahun masing-masing VL.1: 5,2, VL.2: 6,3, VL.3: 8,5 dan VL.4: 7,2

**Artinya :**

Untuk akseptor 1 tahun masing-masing: pada VL.1: 4,7 kali, VL.2: 5,0 kali, **VL.3: 6,7** kali dan VL.4: 7,4 kali lebih besar untuk mengalami osteopeni daripada kelompok kontrol, dan

Untuk akseptor DMPA 5 tahun masing-masing: pada VL.1: 5,2 kali, VL.2: 6,3 kali, **VL.3: 8,5** kali dan VL.4: 7,2 kali lebih besar untuk mengalami osteopeni daripada kelompok kontrol (tabel 5,6,7,8).

Dari hasil perhitungan Odd Rasio tersebut diatas terlihat bahwa VL.3 dan VL.4 adalah vertebra yang paling banyak mengalami risiko untuk terjadi osteopeni dibanding kedua vertebra lumbal lainnya. Mungkin berhubungan dengan situs anatomi tubuh, dimana tulang vertebra lumbal 3 dan 4 lah yang paling banyak menerima beban untuk menyanggah berat tubuh manusia.

Dibandingkan dengan penelitian Cundy dkk (New Zealand, 1993) secara *cross-sectional* pada pengguna DMPA = 3 tahun terjadi penurunan DMT (VL) vertebra lumbal 9%, femoral neck 5,7%. Gbolade dkk ( UK,1998) secara Cross-sectional pada pengguna DMPA 1-16 tahun terjadi penurunan DMT (VL) vertebra lumbal 3,3 %. Tang dkk (China, 1999) secara Cross-sectional pada pengguna DMPA 5 – 15 tahun terjadi penurunan DMT (VL) vertebra lumbal 1,1 %, *femoral neck* 2,3%, trochanter 2,4 %, *Wards triangle* 3,5%.

Sebagaimana diketahui bahwa mekanisme kerja DMPA menghambat hipofisis membentuk hormon gonadotropin dan hal ini menyebabkan penekanan terhadap proses ovulasi dan steroidogenesis ovarium. Penggunaan kontrasepsi DMPA dapat menyebabkan penekanan terhadap produksi estradiol ovarium (Boroditsky R&Guilbert E,2000; Kaunitz AM,2000; Scholes D dkk,1999). Sehingga ada anggapan bahwa osteopenia dapat terjadi pada wanita yang menggunakan kontrasepsi DMPA (Westhoff C,2002; Berenson AB dkk,2001; Kass&Wolff JH, 2001; Merki-Feld GS dkk,2000). Akibatnya risiko terjadinya fraktur pada *postmenopause* akan meningkat (Kaunitz AM, 2000).

Walaupun demikian, terdapat penelitian lain yang memperlihatkan hasil berbeda yaitu penelitian di Portsmouth dan Manchester pada 185 wanita usia 17-52 tahun (rata-rata 33,3 tahun) pengguna DMPA lebih dari 5 tahun, menunjukkan tidak ada efek merugikan yang penting secara klinis terhadap densitas mineral tulang walaupun ditemukan penurunan berarti konsentrasi serum estradiol. Penelitian lain di Thailand pada 50 wanita pengguna DMPA lebih dari 3 tahun, menunjukkan hasil yang sama (Bhathena RK, 2001, Kaunitz AM, 2000).

#### **6.4. Peranan polimorfisme gen *Collagen Type 1 Alpha 1 (COL1A1)* terhadap perubahan DMT VL akseptor KB Suntik DMPA.**

Dari hasil penelitian ini ditemukan polimorfisme gen COL1A1 pada intron 1 (Sp1 site / **G-T** ) pada 14 dari 97 subjek penelitian (14,4%), semuanya ditemukan pada akseptor KB DMPA 5 tahun atau 14 dari 31 subjek (**45,2%**), masing-masing: 10 subjek (**32,3%**) dengan polimorfisme gen **heterozigot** (G/T) dan 4 subjek (**12,9%**) dengan

polimorfisme gen **homozigot** (T/T). Alel umum “G” pada banyak literatur dikenal sebagai alel “S” dan variasi yang jarang alel “T” dikenal sebagai alel “s” . Tidak satupun polimorfisme gen ditemukan pada akseptor KB 1 tahun maupun pada kontrol, baik dengan DMT VL normal maupun DMT VL yang osteopeni (Tabel 9).

Polimorfisme adalah variasi genetik yang ditemukan lebih dari 1% populasi dan kejadiannya dapat ditemukan pada populasi orang normal. Prevalensi polimorfisme gen COL1A1 pada penelitian ini 14,4% (10,3% G/T dan 4,1% T/T) jauh lebih rendah dibandingkan dengan yang ditemukan di Australia yaitu 35% (30,6% G/T dan 4,4% T/T) pada pasien nonfraktur dan 44,9% (34,8% G/T dan 10,1% T/T) pada pasien fraktur tulang panggul. Di Inggris ditemukan 47% (27% G/T dan 20% T/T), di Belanda 33% (30% G/T dan 3% T/T) pada pasien postmenopause. Beaven,dkk (1998) dan Raslon SH (2007) melaporkan bahwa prevalensi polimorfisme gen COL1A1 *Sp1 binding site* berbeda untuk tiap populasi dan jenis etnik etnik, sangat umum ditemukan pada etnik Kaukasia tetapi jarang pada etnik Afrika dan Asia.

Pertanyaan selanjutnya yang perlu dijawab adalah bagaimana pengaruh polimorfisme gen COL1A1 terhadap perubahan DMT VL akseptor KB suntik DMPA pada penelitian ini?

Hasil penelitian pada tabel 10 dan grafik 3 memperlihatkan angka kejadian osteopenia menurut polimorfisme gen COL1A1. Polimorfisme gen COL1A1 Sp1 yang ditemukan pada 14 subjek penelitian, masing-masing 10 subjek dengan variasi heterozigot (G/T atau Ss) yang terdiri dari 7 subjek dengan DMT VL osteopenia dan 3 subjek dengan DMT VL normal, kemudian 4 subjek dengan variasi homozigot (T/T atau ss) yang semuanya memiliki DMT VL normal. Kejadian osteopenia lebih banyak ditemukan pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen heterozigot (G/T atau Ss)



daripada yang mempunyai gen homozigot normal (G/G atau SS) = ( $p < 0,05$ ), dan tidak ditemukan kejadian osteopeni pada akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T). Ini menunjukkan bahwa akseptor yang memiliki polimorfisme gen yang heterozigot (G/T) memiliki kecenderungan untuk menderita osteopeni lebih tinggi daripada akseptor yang memiliki gen normal (G/G). Dipihak lain, akseptor yang memiliki polimorfisme gen homozigot (T/T) justru cenderung tidak menderita osteopeni.

Dari hasil studi Meta analisis yang dilakukan pada populasi fraktur oleh Efstathiadou Z, dkk tahun 2001 melaporkan bahwa ada hubungan antara polimorfisme gen COL1A1 Sp1 dengan risiko terjadinya fraktur tulang. Mekanisme apa yang menyebabkan “alel s” dari gen COL1A1 berdampak pada DMT dan risiko fraktur sampai sekarang masih belum diketahui. COL1A1 adalah sebuah gen yang mengkode kolagen tipe 1, komponen pembentuk tulang yang berbentuk heterotrimer/triple helix terdiri atas 2 polipeptida kolagen alfa 1 dan 1 polipeptida kolagen alfa 2 yang sama strukturnya, tetapi secara genetik berbeda. Gen yang mengatur biosintesis rantai alfa 1 ditemukan pada kromosom 17, sedangkan biosintesis rantai alfa 2 ditemukan pada kromosom 7 (Williams & Spector, 2006; Efstathiadou Z dkk, 2001; Setiyohadi B, 2000; Uitterlinden AG dkk, 1998). Mekanisme terjadinya predisposisi osteopeni pada variasi heterozigot gen COL1A1 Sp1 telah dijelaskan oleh Mann, dkk (2001) dan Stewart T, dkk (2006). dikatakan bahwa alel T (“s alel”) memiliki afinitas yang tinggi terhadap *protein binding site Sp1*, yang menyebabkan transkripsi alel-spesifik pada variasi jenis heterozigot. Keadaan ini disertai dengan meningkatnya produksi kolagen tipe 1 alfa 1 chain osteoblast secara abnormal pada kultur dengan variasi heterozigot G/T (“Ss alel”). Peningkatan ini berakibat meningkatnya rasio alfa 1 terhadap alfa 2 (Ketidakseimbangan antara produksi

kolagen tipe 1 alfa 1 & alfa 2) sehingga terbentuk molekul homotrimer. Keadaan ini menyebabkan menurunnya kekuatan tulang & massa tulang pada “carrier alel s” dengan secara tidak langsung mempengaruhi mineralisasi tulang. Dengan tes biokimia didapatkan bahwa sampel tulang dengan variasi G/T (“Ss”) dengan bentuk homotrimer memiliki kekuatan dan mineralisasi tulang yang lebih rendah dibanding dengan variasi G/G (“SS”).

Pada laporan lainnya dijelaskan bahwa subjek dengan variasi heterozigot “s alel” memiliki kemampuan transkripsi 3 kali lebih tinggi dibanding dengan “S alel” sehingga menimbulkan kemungkinan gangguan fungsional dari gen COL1A1, seperti yang terjadi pada penyakit osteogenesis imperfekta.

Di sisi lain, penelitian ini melaporkan bahwa ada 3 subjek dengan variasi heterozigot G/T (Ss alel) dan 4 subjek dengan variasi homozigot T/T (ss alel) memiliki DMT VL yang normal. Mann V,dkk (2001) menjelaskan bahwa subjek yang memiliki 1 atau 2 “s alel” memiliki penurunan kekuatan tulang. Subjek dengan genotip heterozigot Ss memiliki risiko fraktur osteoporosis 52% lebih tinggi dibanding “SS alel”. Subjek dengan homozigot “ss alel” memiliki risiko fraktur osteoporosis 86% lebih tinggi dibanding dengan “SS alel”. Efstathiadou ,dkk (2001) juga menyimpulkan bahwa risiko fraktur pada seseorang yang memiliki polimorfisme gen COL1A1 tipe heterozigot (Ss) 1.25 kali lebih tinggi daripada yang memiliki gen normal (SS), pada orang yang memiliki polimorfisme gen tipe homozigot (ss) 1.68 kali lebih tinggi daripada yang memiliki gen normal (SS), dan 1.35 kali pada tipe homozigot (ss) dari pada tipe heterozigot (Ss). Hasil penelitian kali ini yang menemukan nilai DMT VL normal pada 3 subjek heterozigot (G/T atau Ss) dan bahkan 4 subjek dengan variasi gen homozigot (T/T atau ss), tidak

sejalan dengan pernyataan tersebut diatas. Keadaan yang sama pernah dilaporkan oleh Todhunter CE, dkk (2005) bahwa variasi homozigot “ss” tidak bermakna pada penggunaan steroid terhadap DMT dibanding dengan variasi SS dan Ss pada kasus penyakit Crohn disease.

Namun potensial heterogenitas antara kelompok etnik, umur dan situs tulang mungkin perlu diklarifikasi pada penelitian selanjutnya, karena hasil yang didapatkan belum sepenuhnya disetujui dalam hal tipe yang mana (SS, Ss atau ss) yang benar-benar berhubungan dengan risiko fraktur. Dikatakan juga bahwa pengaruh dari “s alel” belum konsisten diantara beberapa studi, bahkan 2 penelitian di Asia yang dilakukan oleh Han KO, dkk (Korea, 1999) dan Nakajima T, dkk (Jepang, 1999) yang dikutip oleh Efstathiadou Z, dkk, 2001. justru tidak menemukan “s alel” pada populasi Asia.

Penelitian lain (Uitterlinden AG dkk, 1998) di Nederland, yang dilakukan pada wanita *postmenopause* menemukan adanya hubungan antara polimorfisme gen COL1A1 dengan DMT vertebra lumbal dan tulang panggul, dimana DMT tertinggi pada wanita dengan genotip SS, DMT sedang pada genotip Ss dan DMT terendah pada genotip ss. Subjek yang mempunyai polimorfisme gen “s alel” dihubungkan dengan menurunnya DMT pada vertebra lumbal, kolum femoralis dan fraktur vertebra (Stewart TL, dkk, 2006). Beberapa hal yang dapat menjadi faktor perancu antara lain Indeks Massa Tubuh, umur, etnik dan jenis kelamin (Mann V dkk, 2001).

Kenyataan yang ditemukan pada penelitian ini dan yang dilaporkan oleh Todhunter CE, dkk (2005) tersebut diatas dapat dijelaskan dari berbagai sudut pandang. Alasan **pertama** adalah sangat mungkin berhubungan dengan faktor etnis (Asia Tenggara) seperti yang dijelaskan oleh Ralston SH (2007) dan Liu PY (2004) bahwa

prevalensi polimorfisme gen COL1A1 Sp1 berbeda untuk tiap populasi etnik, sangat umum ditemukan pada etnik Kaukasian tetapi jarang pada etnik Afrika dan Asia. Pada sebuah studi meta analisis dijelaskan bahwa implikasi klinik dari polimorfisme gen COL1A1 Sp1 tergantung pada perbedaan prevalensi dari tiap populasi, sehingga karakter dari *dose-response* yang didapatkan dari penelitian ini sebaiknya tidak diekstrapolasi ke etnik Asia akan tetapi hanya berlaku untuk populasi Eropa dan Amerika.

**Kedua** adalah studi tentang efek fenotipik dari polimorfisme gen COL1A1 masih sangat bervariasi terhadap umur subjek. Subjek pada penelitian ini adalah usia reproduksi/premenopause (20-35 tahun), sementara itu Efstathiadou,dkk (2001) mengatakan bahwa ada efek yang sangat berbeda akan muncul dari variasi Ss dan ss pada populasi umur pasien (< 65 tahun dengan umur yang lebih tua). Perbedaan ini bisa terjadi secara kebetulan atau karena persoalan data antara peneliti yang melaporkan hasil berdasarkan umur 20-35 tahun saja. Alasan lain, bahwa DMT yang dinilai pada penelitian ini hanya pada vertebra lumbal saja, kebanyakan studi tentang variasi “alel s” terfokus pada fraktur pada 3 situs anatomi yaitu tulang vertebra, pergelangan tangan dan tulang panggul. Walaupun perbedaan ini bisa terjadi secara kebetulan akan tetapi sampel penelitian dari tulang yang berbeda sebaiknya menjadi bagian penting dari penelitian-penelitian selanjutnya. (Mann V, Ralston SH,2003).

Perbedaan juga bisa muncul oleh karena adanya pengaruh gen lain atau adanya interaksi antara gen dan gen, atau gen dengan lingkungan. Beberapa jenis gen yang telah dilaporkan berpengaruh terhadap DMT dan risiko terjadinya fraktur antara lain : Gen IL-6, Gen Reseptor Vitamin D (VDR), Gen Estrogen Reseptor Alfa dan CYP19 (William FMK,2006). Uitterlinde SAG,dkk (2001) melakukan studi pada 1.000 subjek

postmenopause dan melihat adanya interaksi antara gen COL1A1 dan gen Vitamin D reseptor (VDR) memberi pengaruh yang signifikan terhadap terjadinya fraktur tulang. Nguyen TV, dkk (2005) melaporkan bahwa saling interaksi antara variasi gen VDR (Variasi CC) dengan variasi gen COL1A1 (TT) meningkatkan risiko fraktur tulang panggul pada wanita Kaukasia.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa peranan polimorfisme gen COL1A1 terhadap kejadian osteopenia pada akseptor suntik DMPA belum dapat dibuktikan, masih perlu diteliti lebih lanjut khususnya pada akseptor suntik DMPA jangka pendek (1 tahun) dan juga kontrol.

## **6.5. Kelemahan**

Disadari bahwa terdapat beberapa kelemahan dalam penelitian ini antara lain : pemeriksaan DMT dilakukan hanya pada satu sisi / situs anatomi yaitu vertebra lumbal saja, sehingga tidak dapat menggambarkan secara keseluruhan status densitas mineral tulang. Kelemahan lain adalah tidak dilakukannya pemeriksaan DMT sebelum sampel mendapat kontrasepsi DMPA, melainkan sampel yang diambil adalah akseptor suntik DMPA yang sudah mendapat suntikan yang kedua (akseptor 6 bulan), sehingga tidak homogen secara sempurna dengan kontrol, walaupun setelah diuji secara statistik tidak ditemukan perbedaan yang bermakna. Demikian pula pada kelompok akseptor 5 tahun, diambil secara *Cross sectional* saja tanpa melihat proses yang terjadi sebelumnya. Selain itu pada penelitian ini penentuan subjek penelitian dilakukan dengan metode wawancara (subjektif) tidak ditunjang oleh pemeriksaan laboratorium (objektif).

## **BAB VII**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A.KESIMPULAN**

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Densitas Mineral Tulang Vertebra Lumbal akseptor KB suntik DMPA menurun secara bermakna setelah pemakaian 1 tahun
2. Densitas Mineral Tulang Vertebra Lumbal akseptor KB suntik DMPA 1 tahun lebih rendah daripada kelompok kontrol yang tidak memakai kontrasepsi.
3. Densitas Mineral Tulang Vertebra Lumbal akseptor KB suntik DMPA 5 tahun lebih rendah daripada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun.
4. Angka kejadian osteopeni lebih tinggi pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun daripada akseptor 1 tahun
5. Densitas Mineral Tulang Vertebra Lumbal akseptor KB suntik DMPA 5 tahun lebih rendah daripada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun berdasarkan polimorfisme gen COL1A1
6. Peranan polimorfisme gen *Collagen Type 1 Alpha 1 (COL1A1)* terhadap Densitas Mineral Tulang akseptor KB suntik DMPA, belum dapat disimpulkan dengan pasti. Ada kecenderungan ditemukan polimorfisme gen COL1A1 pada akseptor suntik DMPA 5 tahun (jangka panjang), namun tidak ditemukan pada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun (jangka pendek) dan kontrol yang tidak memakai kontrasepsi.

## B. SARAN

1. Didalam mencermati fenomena penurunan Densitas Mineral Tulang pada akseptor KB suntik DMPA, terutama pada pemakaian jangka panjang, maka peranan faktor genetik / polimorfisme gen *Collagen Type 1 Alpha 1 (COL1A1)* tidak bisa diabaikan sebagai salah satu faktor risiko.
2. Perlunya konseling yang benar terhadap seluruh calon akseptor KB, terutama yang memilih kontrasepsi suntik DMPA, akan adanya risiko penurunan Densitas Mineral Tulang, terutama pada pemakaian jangka panjang. Meskipun demikian, sesuai dengan rekomendasi WHO bahwa tidak perlu adanya pembatasan pemakaian DMPA, karena keuntungan kontrasepsi ini jauh lebih besar daripada dampak negatif yang ditimbulkannya, pertimbangan kesehatan tulang seyogyanya tidak mencegah para klinisi dan akseptor untuk terus menggunakan DMPA, mengingat dampak yang lebih besar dan luas yang mungkin timbul bila tanpa perlindungan kontrasepsi seperti kehamilan yang tidak diinginkan, aborsi dan lonjakan jumlah penduduk.
3. Bila oleh karena sesuatu alasan, KB suntik DMPA merupakan pilihan satu-satunya bagi seorang calon akseptor maka sebaiknya disertai dengan nasihat untuk berperilaku hidup sehat yang bermanfaat bagi kesehatan tulang, anamnesis yang cermat tentang riwayat penyakit tulang / fraktur dalam keluarga, bila perlu dilakukan pemeriksaan densitas mineral tulang sebelum menjadi akseptor.
4. Perlu penelitian lanjutan untuk melihat faktor-faktor lain selain gen *Collagen Type 1 Alpha 1 (COL1A1)* yang dapat mempengaruhi densitas mineral tulang akseptor KB suntik DMPA., mengingat penyebab terjadinya penurunan DMT adalah multifaktorial.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam JMF. Diagnosis osteoporosis. Dibawakan dalam Kursus dan Pelatihan Metabolisme Kalsium dan Osteoporosis ; 2002 Sept 14-15 Makassar.
- Affandi B. Long-acting progestogens. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology* 2002; 16:2: 169-79.
- Baziad A. Kontrasepsi hormonal yang mengandung gestagen saja. Dalam : Kontrasepsi hormonal. Jakarta : Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2002. h.32-46
- Baziad A. Estrogen dan progesteron. Dalam : Endokrinologi ginekologi. Edisi ke 2. Jakarta: Media Aesculapius FKUI; 2003, h.153-22.
- Berenson AB, Redeck CM, Grady JJ, Rickert VI, Thomas A. A Prospective, controlled study of the effects of hormonal contraception on bone mineral density. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* 2001 Oct; 98(4): p 576-82
- Bhathena RK, The long-acting progestogen- only contraceptive injections : an update. *The Br J Obstet Gynaecol* 2001 Jan; 10: 3-8.
- BKKBN, Sulsel. Pencapaian KB aktif per mix kontrasepsi tahun 2003 menurut kabupaten/kota se Sulawesi Selatan, 2003
- Boroditsky R, Guilbert E. Injectable Medroksyprogesterone acetat for contraception. *J Soc. Obstet Gynecol Can* 2000 August; 22 (8): 616-20.
- Connor EB. Risk factors for bone loss, fall, and fractures. *Proceeding of The 3<sup>rd</sup> International Training Course on Osteoporosis for Industry, Specialists, and General Practitioners : The Pathophysiology of Osteoporosis and Bone Disease;* 2000 Sept 1-3 Melbourne.
- Cooper C, Campion G, Melton LJ: Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporosis Int* 1992; 2:285-289.
- Cundy T, Cornish J, Evans MC, Roberts H, Reid IC. Recovery of bone density in women who stop using medroxyprogesterone acetate. *BMJ*. 1994;308:247-248.
- Cundy T, Cornish J, Roberts H, Reid IR. Menopausal bone loss in long-term users of depot medroxyprogesterone acetate contraception. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:978-83.



- Cundy T, Evans M, Roberts H, Wattie D, Ames R, Reid IR. Bone density in women receiving depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *BMJ*. 1991;208:13-16.
- Darmasetiawan MS. Aktivitas seluler dan metabolisme tulang serta kaitannya dengan osteoporosis. Abstrak. Dibawakan dalam Pertemuan Ilmiah Fertilitas Endokrin Reproduksi; 2002 Bandung.
- Daud R. Struktur dan metabolisme tulang serta hubungannya dengan patogenesis osteoporosis. Dibawakan dalam : 1<sup>st</sup> Indonesian Course on Osteoporosis; 2000 Mar 3-5 Sukabumi.
- Direktorat pemantauan dan pelaporan program BKKBN. Pencapaian peserta KB aktif (PA) per metode kontrasepsidan presentase peserta KB aktif (PA) terhadap PUS sampai bulan Agustus 2000. Available from : <http://www.bkkbn.go.id/hqweb/data/KBAKTIF.htm>. Accessed April 31.2003.
- Djuanna A. Penanganan osteoporosis pasca menopause. *Jurnal Medika Nusantara* 2002 Okt-Des ; 767, h 767.
- Efstathiadou Z, Tsatsoulis A, Ioannidis JPA. Association of Collagen 1 alpha 1 Sp1 Polymorphism with the risk of fractures : A Meta-Analysis. *J Bone Miner Res* 2001;16:1586-92
- Genetics home reference. COL1A1. Available from : <http://ghr.nlm.nih.gov/gene=collal>. Accessed December 20,2006
- Grant SEA, et al. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphism Sp1 binding site in the collagen type 1 alpha 1 gene. *Nature Genetics* 1996;14:203-5
- Harkins GJ, Davis GD, Dettori J, Hibbert ML, Hoyt RA. Decline in bone mineral density with stress fractures in a woman on depot medroxyprogesterone acetate. A case report. Department of Obstetrics and Gynecology, Madigan Army Medical Center. Tacoma, Washington. Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=Display&DB=PubMed>. Accessed, January 27, 2004.
- Iqbal MM. Osteoporosis: Epidemiologi, diagnosis and treatment. *South Med J* 2000; 93(1):2-18.
- Jacob TZ, Baziad A. Fisiologi ovulasi dan faktor-faktor yang mempengaruhinya. Dalam Anovulasi : patofisiologi dan penanganannya. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 1993. h. 1-18.

- Jacob TZ, Baziad A. Endokrinologi ovarium. Dalam Endokrinologi reproduksi fisiologi dan kontrasepsi. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 1994. h. 11-23.
- Jacob TZ, Baziad A. Kontrasepsi hormonal. Dalam Endokrinologi reproduksi fisiologi dan kontrasepsi. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 1994. h. 75-815.
- Jeannette E. Osteoporosis: Part II. Nonpharmacologic and pharmacologic treatment. Am Fam Physician 2001;63(6):1121-8. Available from <http://www.mdconsult.com/das/journal/view/Accessed December 12, 2002>.
- Kaunitz AM. Injectable contraception. Available from : <http://www.mdconsult.com/> Accessed, Desember 1, 2000.
- Kaniawati M. Pemeriksaan petanda biokimia untuk osteoporosis. Dibawakan dalam Kursus dan Pelatihan Metabolisme Kalsium dan Osteoporosis ; 2002 Sept 14-15 Makassar.
- Kanis JA. Definition of osteoporosis. Proceeding of The 3<sup>rd</sup> International Training Course on Osteoporosis for Industry, Specialists, and General Practitioners : The Pathophysiology of Osteoporosis and Bone Disease; 2000 Sept 1-3 Melbourne.
- Kass, Wolff JH. Bone loss in adolescents using depo-provera. J Soc Pediatr Nurs. 2001 Jan-mar ; 6(1).
- Liu PY, Lu Y, Long JR, Xu FH, Shen H, Recker RR, Deng HW. Common variants at the PCOL2 and Sp1 binding sites of the *COL1A1* gene and their interactive effect influence bone mineral density in Caucasians. J M Genetics 2004;41:752-7
- Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SFA, Robins SP, Aspden RM, Ralston SH. A *COL1A1* Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. J. Clin. Invest 2001; 107:899-907
- Merki-Feld GS, Neff M, Keller PJ. A 2 year prospective study on effects of depot medroxyprogesterone acetate on bone mass-response to estrogen and calcium therapy in individual user. Contraception. 2000, Feb; 67 (2).
- Morgan SL, Saag KG. Osteopenic bone disease a textbook of Rheumatology. 14<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincot William & Wilkins.
- Nguyen TV, Esteban LM, White CP, Grant SF, Center JR, Gardiner EM, Eisman JA. Contribution of the collagen 1 alpha 1 and vitamin D receptor genes to the risk of hip fracture in elderly women. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:6575-9
- Pocock N. Measurements techniques in osteoporosis. Dual energy x-ray absorptiometry, quantitative ultrasound. St Vincents Hospital, Darlinghurst, Sydney Australia.

- Population Reports. 1995. New Era for Injectables. Series K. Number 5.
- Rachman IA. Terapi sulih hormon pada osteoporosis pasca menopause (osteoporosis primer). Dibawakan dalam: Kursus dan Pelatihan Metabolisme Kalsium dan Osteoporosis 2002; 58-64.
- Rachman IA. Osteoporosis : an overview. Dibawakan dalam : 1<sup>st</sup> Indonesian Course on Osteoporosis 2000; Mar 3-5 Sukabumi.
- Raitsz LG. Osteoporosis : current approaches and future prospect in diagnosis, pathogenesis, and management. *J Bone Miner Metab* 1999;17 :79-89.
- Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, June 2002;87(6):2460-6
- Ralston SH, Mann V. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. 2003;32(6):711-7
- Rambulangi J. Fitoestrogen sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan osteoporosis pada wanita menopause. Dibawakan dalam Pertemuan Ilmiah Tahunan Nasional ke dua Perhimpunan Osteoporosis Indonesia; 2004 Juli 24-25 Makassar.
- Ray FR, Chan JK, Thamer M, et al. Medical expenditures for the treatment of osteoporotic fractures in the United States in 1995: Report from the National Osteoporosis Foundation. *J Bone Miner Res*. 1997;12:24-35.
- Riggs BL, Melon LJ III. The worldwide problem of osteoporosis; insights afforded by epidemiology. *Bone*. 1995; 17 (5 suppl): 505S-511S.
- Reneland RH, et al. Association between a variation in the phosphodiesterase 4D gene and bone mineral density. *BMC Med Gen* 2005, 6:9
- Saifuddin AB, Affandi B, Lu ER, editor. Kontrasepsi progestin. Dalam : Buku panduan praktis pelayanan kontrasepsi. Jakarta : Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo ; 2003. MK 40-71.
- Sambo AP. Patogenesis osteoporosis. Dibawakan dalam Kursus dan Pelatihan Metabolisme Kalsium dan Osteoporosis ; 2002 Sept 14-15 Makassar.
- Sambo AP. Osteoporosis sekunder akibat glukokortikoid. Dibawakan dalam Pertemuan Ilmiah Tahunan Nasional ke dua Perhimpunan Osteoporosis Indonesia ; 2004 Juli 24-25 Makassar.
- Scholes D, Lacroix A, Ott SM, Ichikawa LE, Barlow WE. Bone mineral density in women using depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *The American College of Obstetricians and Gynecologists* 1999 Feb 2; 93: p 233-8.

- Scholes D, Lacroix A, Ott SM, Ichikawa LE, Barlow WE. Injectable hormone contraception and bone density : Results from a prospective study. *Epidemiology* 2002 Sep 13;5: p581-7
- Scholes D, Lacroix A, Ott SM, Ichikawa LE, Barlow WE. Change in bone mineral density among adolescent women using and discontinuing Depot Medroxy progesterone Acetate Contraception. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2005;159:139-44
- Setiyohadi B. Kalsium, vitamin D, estrogen dan osteoporosis. Dibawakan dalam : 1<sup>st</sup> Indonesian Course on Osteoporosis; 2000 Mar 3-5 Sukabumi.
- Setiyohadi B. Pendekatan klinis osteoporosis. Dibawakan dalam : 1<sup>st</sup> Indonesian Course on Osteoporosis; 2000 Mar 3-5 Sukabumi.
- Speroff L, Glass RH, Kase NG. Long acting methods of contraception. In : *Clinical gynecology and infertility.* 6<sup>th</sup> ed. Baltimore : Lippincott William & Wilkins; 1999 p. 947-74.
- Statistics Indonesia. Available on: <http://www.datastatistik-indonesia.com>. Last accessed on: September 2007.
- Stewart TL, Jin H, McGuigan FEA, Albagha OME, Giralt NG, Bassiti A, Grinberg D, Balcells S, Reid DM, Ralston SH. Haplotypes defined by promoter and intron 1 polymorphisms of the COL1A1 gene regulate bone mineral density in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3575-83
- Suparman E,. Patofisiologi/gejala klinik masa perimenopause. Dibawakan dalam *Pertemuan Ilmiah Fertilitas Endokrin Reproduksi*; 2002 Bandung.
- Tang OS, Tang G, Yip PSF, Li B. Further evaluation on long-term depot medroxyprogesterone acetate use and bone mineral density: a longitudinal cohort study. *Contraception* 2000 Sep; 62:p 161-4
- Tehupeiory E. Epidemiologi dan aspek klinis osteoporosis. Dibawakan dalam *Kursus dan Pelatihan Metabolisme Kalsium dan Osteoporosis* ; 2002 Sept 14-15 Makassar.
- Tirtarahardja G. Dasar-dasar densitometri pada osteoporosis. Dibawakan dalam *Kursus dan Pelatihan Metabolisme Kalsium dan Osteoporosis* ; 2002 Sept 14-15 Makassar.
- Todhunter CE, Craggs AS, Bartram SA, Donalson PT, Daly AK, Francis RM, Mansfield JC, Thompson NP. Influence of IL-6, COL1A1, and VDR gene polymorphisms on bone mineral density in Crohn's disease. *Gut* 2005;54:1579-84

Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, Yue F, McGuigan FEA, Grant SFA, Hofman A, Van Leeuwen J, Pols HAP, Ralston SH. Relation of alleles of the collagen type 1A1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1998;338:1016-21

Wannmacher. Possible deletion of medroxyprogesterone from the 14<sup>th</sup> WHO model list of essential medicines. 2005

Westhoff C. Bone mineral density and DMPA. *J Reprod Med* 2002 Sep; 47 (9suppl): p 795-9.

Williams FMK, Spector TD. Recent advances in the genetics of osteoporosis : Review Article . *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006;6(1):27-35

World Health Organization. Statement on hormonal contraception and bone health. Special program of Research,. Development and Research Training in Human Reproduction. July 2005.

## **Lampiran 1.**

### **PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN (INFORMED CONSENT) NASKAH PENJELASAN UNTUK RESPONDEN (SUBJEK)**

#### **Apakah tujuan penelitian ini?**

Kontrasepsi suntik Depo Medroksi Progesteron Asetat (DMPA) yang dikenal sebagai KB suntik 3 bulanan banyak diminati oleh ibu-ibu peserta KB untuk menjarangkan kehamilan/kelahiran anak karena keuntungan pemakaian suntik DMPA banyak, a.l. murah, mudah didapat, efektif untuk 3 bulan sekali suntik, dan masih banyak keuntungan lainnya. Namun disamping keuntungan tsb diatas, **diduga** KB suntik DMPA mempunyai dampak yang merugikan terhadap kepadatan massa tulang pemakainya berupa penurunan kepadatan tulang (keropos tulang), terutama dalam jangka waktu pemakaian yang lama.

Untuk itulah, kami bermaksud melakukan penelitian untuk membuktikan apakah benar bahwa KB suntik 3 bulanan ini dapat menyebabkan keropos tulang. Juga untuk melihat apakah ada peranan faktor keturunan (genetik) terhadap kejadian keropos tulang ini, pada ibu-ibu pemakai KB suntik 3 bulanan.

Pada hari pemeriksaan dokter akan mencatat identitas anda (Nama, alamat, umur, penyakit yang sedang atau pernah diderita, serta faktor risiko menderita penyakit keropos tulang, dan memeriksa berat badan, tinggi badan, tekanan darah, nadi, suhu, status penampilan fisik anda).

Dilakukan pengambilan foto tulang belakang dengan alat pengukur kepadatan tulang (Densitometri DEXA) di klinik keropos tulang „Stella“ dipimpin oleh seorang profesor dokter ahli Ilmu Penyakit Dalam dan staf yang sudah terlatih dalam bidang Radiologi dan sinar yang digunakan adalah dosis kecil yang tidak membahayakan kesehatan ibu, tidak menimbulkan rasa sakit, tidak ada efek samping.

Kemudian Darah anda sebanyak 3 cc dari pembuluh darah pergelangan siku akan diambil dengan jarum suntik untuk diperiksa laboratorium. Pengambilan darah akan dilakukan oleh staf laboratorium Prodia yang sudah terlatih, didampingi oleh dokter peneliti sendiri sehingga risiko yang mungkin terjadi akan minimal karena dilakukan dengan teknik yang steril. Memar ringan bisa terjadi bila pengambilan darah sukar

dikerjakan. bila ada efek samping akibat pengambilan darah akan ditangani sebagaimana mestinya.

Keuntungan mengikuti penelitian ini, adalah bahwa anda dapat mengetahui status kepadatan tulang anda, dan status kesehatan anda secara umum dan Cuma-Cuma (tidak dikenakan biaya).

Anda diberikan kesempatan untuk menanyakan segala sesuatu yang belum jelas, serta mendapatkan keterangan dari peneliti.

Partisipasi anda dalam penelitian ini akan memberikan sumbangan yang sangat berarti bagi perkembangan ilmu pengetahuan dalam hal ini penentuan ramalan terjadinya suatu penyakit keropos tulang dan antisipasi pencegahan / pengobatan penyakit keropos tulang pada akseptor suntik DMPA di kemudian hari.

Perlu diketahui bahwa identitas anda dan hasil penelitian ini dijamin kerahasiaannya. Hanya dokter peneliti, anggota komisi etik, anggota peneliti lain yang bisa melihat data anda. Bila data akan dipublikasikan, kerahasiaannya tetap akan dijaga.

Jika anda setuju untuk berpartisipasi, diharapkan menandatangani surat persetujuan mengikuti penelitian. Atas kesediaan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

**Peneliti,**

**Andi Mardiah Tahir**

---





**Lampiran 3. Keterangan Kelaikan Etik**

**KOMISI ETIK PENELITIAN BIOMEDIS PADA MANUSIA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK**  
**(ETHICAL CLEARANCE)**

Komisi Etik Biomedis pada Manusia, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin telah mempelajari dengan seksama Rancangan Penelitian yang diajukan dengan judul :

***“PENGARUH POLIMORFISME GEN COL1A1 PADA PERUBAHAN DENSITAS  
MINERAL TULANG V.LUMBAL AKSEPTOR KB DMPA”***

Nama : Andi Mardiah Tahir

Nomor pokok : P02.003.01.003

Promotor : Prof. Dr. dr. Edu Tehupeior, Sp.PD-K

Menyatakan memenuhi persyaratan etik untuk pelaksanaan penelitian dengan catatan sewaktu-waktu komisi dapat melaksanakan pemantauan.

Makassar, 30 Desember 2006

Ketua Komisi Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran

**Prof. dr. Suryani As'ad, Sp.GK, MSc**

## Lampiran 4

### FORMULIR KUESIONER

**“PENGARUH POLIMORFISME GEN COL1A1 PADA PERUBAHAN DENSITAS  
MINERAL TULANG V.LUMBAL AKSEPTOR KB DMPA”**

Nama :	Tanggal :
Umur :	No.Register :
Pendidikan :	No.sampel/kode :

#### I : Anamnesis :

- 1 Paritas :
- 2 Usia menarke : ..... tahun
- 3 Hari pertama haid terakhir : Tgl. ....
- 4 Tanggal penyuntikan pertama : Tgl .....
- 5 Riwayat menggunakan kontrasepsi hormonal lain : Tidak. Bila Ya ; jenis .:
- 6 Riwayat menggunakan kontrasepsi lain :Tidak. Bila Ya; jenis KB:.....
- 7 Penyakit yang pernah/sementara diderita :
  1. Hipertiroid (ya/tidak)
  2. Kelainan endokrin (ya/tidak)
  3. Diabetes Melitus (DM) (ya/tidak)
  4. Gangguan pencernaan (ya/tidak)
  5. Gangguan fungsi ginjal (ya/tidak)
  6. Gangguan fungsi hati (ya/tidak)
  7. Gangguan haid (amenorea sekunder sebelum menjadi akseptor KB): Ya/Tidak
- 8 Riwayat penyakit tulang dalam keluarga (ya/tidak), bila ya (jenisnya) : ....
- 9 Sedang memakai obat-obatan : Ya /tidak Jenisnya : .....
- 10 Merokok : Ya / Tidak. Bila Ya : .....batang/hari
- 11 Minum alkohol : Ya / Tidak Bila Ya : .....gelas/hari/minggu

- 12 Riwayat operasi : Histerektomi (ya/tidak), Salpingooforektomi Bilateral (ya/tidak), Paratiroidektomi (ya/tidak), Reseksi usus (ya/tidak). Gastrektomi (ya/tidak). Rawat inap di RS yang lama (ya/tidak)
- 13 Penggunaan suplementasi kalsium : Minum susu teratur / tiap hari (Ya / tidak), suplementasi kalsium (ya/tidak).suplementasi vitamin D3 (ya/tidak)
- 14 Mengonsumsi minuman : Coca cola (Ya/tidak), Soda (Ya/tidak)
- 15 Aktivitas : Olah raga teratur (ya/tidak).Bila Ya : ..... jam/hari/minggu
- 16 Konsumsi makanan sehari-hari : .....

## II: Pemeriksaan Fisik

- i. Tinggi Badan : m
- ii. Berat badan : kg
- iii. Hipertiroid : (ya/tidak)

## III . Pemeriksaan densitas mineral tulang

### 1.Pemeriksaan I

1.1 (akseptor DMPA yang telah menerima suntikan II, minggu ke 24 sebelum suntikan III)

1.2 Pemeriksaan DMT kelompok kontrol I

### 2.Pemeriksaan II

2.1 (akseptor DMPA yang sama setelah suntikan IV, minggu 48 sebelum suntikan V)

2.2 Pemeriksaan kelompok kontrol II

### 3.Pemeriksaan DMT akseptor DMPA jangka panjang (= 5 tahun)

## IV. Pemeriksaan genetik (polimorfisme gen Collagen type I alpha 1 / COL1A1)

1.Aspirasi darah perifer : sebanyak 3 cc darah perifer diaspirasi dan dimasukkan ke dalam vacumtainer yang berisi EDTA. Darah ini disimpan dalam refrigerator -20<sup>0</sup> C untuk dijadikan bahan isolasi DNA genom.

### 2. Studi Molekuler

Isolasi DNA Genom dan amplifikasi dengan PCR dilakukan pada Laboratorium Biomedis di Gedung Pusat Kegiatan Penelitian Unhas, bila diperlukan proses sekuensing akan dilakukan pada Lembaga Penelitian Eijkman, Jakarta.

Untuk isolasi DNA genom :

- Darah sebanyak 200  $\mu$ l dicuci dengan larutan PBS dengan sentrifugasi 5.000 rpm selama 5 menit, dicampurkan dengan larutan 0,5% saponin dalam PBS 800  $\mu$ l dan disimpan pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 5 menit.
- Campuran ini disentrifuge 12.000 rpm selama 10 menit dalam suhu ruangan.
- Buang supernatant dan endapan yang terbentuk dicuci dengan larutan PBS 3x. sentrifuge 5.000 rpm selama 5 menit, dan kemudian buang supernatannya kembali.
- Tambahkan endapan dengan 50  $\mu$ l 20% chelex dan 150  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O (air steril) dan campur secara homogen.
- Tabung kemudian diinkubasi dalam air mendidih selama 10 menit, Untuk memisahkan DNA, tabung disentrifuge pada 12.000 rpm selama 10 menit dalam suhu ruangan.
- Pindahkan supernatant ke tabung eppendorf yang baru (supernatant inilah yang mengandung DNA genom)
- Hasil isolasi DNA ini kemudian dijadikan cetakan (template) pada proses PCR (pada amplifikasi gen COL1A1)

### 3. Amplifikasi gen COL1A1

Gen COL1A1 diamplifikasi dengan menggunakan DNA genom sebagai bahan cetakan amplifikasi dalam metode nested polymerase chain reaction (PCR).

Pasangan primer yang digunakan untuk mencetak polimorfisme gen COL1A1 pada intron 1 adalah:

Tahap 1 :

COL1A1 (sense) : 5`-AAG ATG TCT AGG TGC TGG AGG-3`

COL1A1 (antisense) : 5`-ATC CTT AAA AGC TCG CCT GCT C-3`

PCR tahap 2 dengan produk DNA 306 bp

COL1A1 (sense) : 5`- GAG GTA CAT TTC AAG TCT TGG-3`

COL1A1 (antisense) : 5`-CAA AGC TTT AGT CCG CGG TG-3`

Komposisi PCR adalah 50mM Tris-HCL pH 8.3, 1.5 mM MgCL<sub>2</sub>, 800nM primer sense, 800 nM primer antisense, 200 µM dNTP dan 5 µl DNA template. Untuk PCR tahap kedua, semua komposisi sama kecuali template DNA yang digunakan dari produk PCR tahap pertama sebanyak 1 µl.

Kondisi PCR : Denaturasi 94°C selama 30 detik, annealing 50°C selama 30 detik dan elongasi 72°C selama 1 menit dengan jumlah siklus 35 kali. Pada awal reaksi dilakukan pre denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit dan pada akhir reaksi dilakukan elongasi/extension akhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

Kondisi PCR pada tahap kedua sama dengan yang dilakukan pada tahap pertama.

#### 4. Visualisasi produk PCR

Untuk mengetahui ketepatan hasil amplifikasi PCR pada area gen COL1A1 yang meliputi intron 1 maka produk PCR diambil 5µ dianalisa dalam gel elektroforesis (2%) yang terendam larutan TAE . Elektroforesis dijalankan pada voltase 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi dibawah sinar UV.

#### 5. Enzim Restriksi DNA sekuensing

Enzim restriksi yang digunakan adalah Bsl I : 5'-CCNNNNN'NNGG-3'

5'-GGNN'NNNNNCG-3'

Sekuensing DNA akan dilakukan pada masing-masing perwakilan polimorfisme DNA, baik wild type allele maupun mutant allele untuk melihat secara langsung perubahan pasangan basa pada intron 1 gen COL1A1

## RIWAYAT HIDUP

Nama : Andi Mardiah Tahir  
Tempat / Tanggal lahir : Makassar, 14 Mei 1959  
N I P : 131 792 015  
Jabatan/ Golongan : Lektor Kepala / III d  
Alamat Kantor : Bagian OBGIN Fakultas Kedokteran Unhas /  
RS BLU DR. Wahidin Sudirohusodo, KM.11 Tamalanrea,  
Makassar  
Alamat rumah : Jl. Kelinci No.9, Makassar – 90131  
Telpon : 0411-874948 / 832194  
Nama suami : dr. H.A. Jayalangkara Tanra, Ph.D, Sp.KJ-K  
Nama anak : - A. M. Pramatadie  
- A. M. Primabudi  
- Akita Dhianty

### **Pendidikan Formal :**

1966-1971 : SD Muhammadiyah, Sengkang  
1972-1975 : SMP Muhammadiyah / SMP Neg.II, Pare-Pare  
1976-1979 : SMA Neg.I, Makassar  
1979-1986 : Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar  
1995-2000 : Pendidikan Dokter Spesialis Obstetri dan Ginekologi,  
FK Unhas, Makassar  
2001-2007 : Pendidikan Doktor, Program Pascasarjana, Unhas, Makassar

### **Pendidikan Tambahan / Kursus Tambahan :**

1991-1992 : Research student on Clinical treatment in gynecology oncology,  
Hiroshima University, Japan  
1993-1995 : Infertility course, Hiroshima University, Japan  
1999 : Course (Diploma) on Reproductive Medicine and Reproductive  
Biology, Geneve University, Switzerland  
1999 : Colposcopy course, Geneve University, Switzerland  
1999 : Observership on IVF-ET Laboratory, Geneve University,  
Switzerland

### **Kursus / Seminar / Workshop dalam negeri :**

27 Nov-4 Des 1996 : Clinical Training Skill (CTS), National Network of Clinical  
Training for Reproductive Health, (NRC), Surabaya  
14-15 Februari 1997 : Workshop on Molecular Biological approach to diagnosis and  
PCR technology application, FK Unhas, Makassar  
10-19 Maret 1997 : Advance Training Skill (ATS), National Network of Clinical  
Training for Reproductive Health, (NRC), Surabaya  
13 Juni 1997 : Workshop Bioteknologi, Pusat Kegiatan Penelitian, UNHAS

- 25 Feb-1 Maret 2001 : 11<sup>th</sup> International meeting of Society for the advancement of reproductive care, Denpasar-Bali
- 2-3 Oktober 2002 : Workshop on Laparoscopy and Histeroscopy, Bandung
- 10 Oktober 2002 : Workshop on Invitro Fertilization and Embryo Transfer, Denpasar-Bali
- 15-20 September 2003: (TOT) ALARM International Course, Jakarta
- 22-23 Mei 2004 : Workshop on Ultrasonography, Makassar
- 2004-2005 : (Trainer) on ALARM Course, Makassar
- 5-6 Juli 2006 : (Trainer) on ALARM Course, PraPIT POGI, Manado

### **RIWAYAT PEKERJAAN :**

- 1987 – sekarang : PNS ( DIKNAS)
- 1988-1989 : Staf pengajar Lab. Ilmu Gizi, FK Unhas
- 1990 – sekarang : Staf pengajar Bagian OBGIN FK Unhas
- 1997 – sekarang : (Trainer) untuk Pelatihan Keterampilan Klinik, P2KS/POGI
- 2000 – sekarang : Staf pengajar Bagian OBGIN FK UMI-Makassar
- 2004 – sekarang : Staf pengajar Bagian OBGIN FK-UMJ-Jakarta
- 2004 – sekarang : Pelatih Nasional untuk Kursus ALARM (POGI)
- 2004-2007 : (Trainer) untuk Team Pengembangan Kurikulum Berdasar Kompetensi, FK UNHAS, FK-UMI, FK-UMJ, FK-UNSRAT
- 2006 : Sekretaris Bagian OBGIN FK Unhas, Makassar
- 2007 : Sekretaris Subbagian Fertilitas Endokrin Reproduksi, Bagian Obgin FK UNHAS, Makassar

### **RIWAYAT ORGANISASI:**

- 2002 – 2006 : Sekretaris POGI Cabang Makassar
- 2002 – 2006 : Pengurus IDI Cabang Makassar

### **KARYA TULIS DAN PENELITIAN :**

- 1999 : Tubal Infertility ( Karya tulis pada Post Graduate Course, Geneva University, Switzerland)
- 2000 : Hubungan antara aktifitas radikal bebas plasenta dengan kadar peroksida lemak dan tekanan arteri rata-rata pada penderita preeklampsia (Tesis PPDS1 OBGIN / Abstrak pada MOGI, Juli 2001)
- 2003 : Gestational Diabetes Mellitus (Jurnal Medika Nusantara 2003. 24;2:931-7)
- 2005 : Gambaran Densitas Mineral Tulang pada akseptor KB suntik DMPA 1 tahun
- 2006 : Densitas Mineral Tulang pada remaja putri
- 2007 : Dampak olahraga pembebanan terhadap Densitas Mineral Tulang wanita usia reproduksi
- 2007 : Gambaran Densitas Mineral Tulang pada akseptor KB suntik DMPA 5 tahun
- 2007 : Efek jangka panjang pemakaian KB suntik Depo Medroksiprogesteron Asetat (Jurnal Medika Nusantara 2007.28;4: In Press)
- 2007 : Peranan Polimorfisme gen COL1A1 terhadap penurunan Densitas Mineral

Tulang akseptor KB suntik DMPA ( Disertasi )