

## Identifikasi Polimorfisme Insersi/Delesi Gen *Angiotensin Converting Enzym* Intron 16 Pada Pasien Preeklampsia di RS. Dr. Muhammad Hoesin Palembang

Muthmainnah Arifin<sup>1</sup>, Mgs Irsan Saleh<sup>2</sup>, Subandrate<sup>3</sup>

1. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya
2. Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya
3. Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya  
Jln. Dr. Moh. Ali Komplek RSMH, KM. 3,5, Palembang, 30126, Indonesia

E-mail: a.muthmainnah@yahoo.com

### Abstrak

Preeklampsia adalah penyakit kehamilan dengan gejala hipertensi dan proteinuria yang timbul pada usia kehamilan diatas 20 minggu. Preeklampsia terkait dengan polimorfisme insersi/delesi (I/D) gen *angiotensin converting enzym* (ACE) intron 16. Polimorfisme ini dapat meningkatkan aktivitas ACE yang mengakibatkan gagalnya *remodelling* arteri spiralis sehingga terjadi preeklampsia. Namun, penelitian ini belum pernah dilakukan sebelumnya pada pasien preeklampsia di RSMH Palembang. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme insersi/delesi gen ACE intron 16 pada penderita preeklampsia di RSMH Palembang. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional dengan sampel sebanyak 32 orang pasien preeklampsia. Identifikasi polimorfisme insersi/delesi (I/D) gen ACE intron 16 dilakukan dengan teknik PCR amplifikasi yang ditentukan dengan menggunakan primer spesifik. Primer tersebut menggunakan teknik mutagenesis situs terarah yang mengintroduksi mutasi titik ke suatu situs tertentu. Genotipe mutan homozigot (DD) sebanyak 0%, genotipe mutan heterozigot (ID) sebanyak 40,6%, dan genotipe *wild type* (II) sebanyak 59,4%. Jumlah alel I dan D gen ACE yang ditemukan masing-masing sebanyak 79,7% dan 20,3% pada pasien preeklampsia di RSMH Palembang. Genotipe *wild type* lebih banyak ditemukan pada pasien preeklampsia di RSMH Palembang (59,4%).

**Kata kunci:** *Preeklampsia, polimorfisme, ACE, insersi/delesi, intron 16*

### Abstract

Preeclampsia (PE) is a pregnancy-related disorder characterized by hypertension and proteinuria after 20 weeks of gestation. Preeclampsia has a significant correlation with insertion/deletion ACE gene intron 16 polymorphism. This polymorphism can increase ACE gene activity which lead to failure of artery spiralis remodelling that it can finally cause preeclampsia. However, this research has not been done before in preeclamptic patients in RSMH, Palembang. Because of that, the aim of this research to identify insertion/deletion ACE gene intron 16 polymorphism at DR. Mohammad Hoesin General Hospital, Palembang. This was an observational descriptive study, done in 32 preeclampsia patients. Identification of polymorphisms insertion/deletion (I/D) ACE gene intron 16 performed by PCR amplification which was determined by using specific primers. The primers used site directed mutagenesis techniques that introduce point mutations into a particular site. 0% homozygote mutant genotype (DD), 40,6% heterozygote mutant genotype (ID), and 59,4% wild type genotype (II). The amount of I and D allele was 79,7% and 20,3% in preeclampsia patients at DR. Mohammad Hoesin general hospital, Palembang. Wild type genotype was more common in preeclampsia patients at DR. Mohammad Hoesin general hospital, Palembang (59,4%).

**Key words:** *Preeclampsia, polymorphism, ACE, insertion/deletion, intron 16*

## 1. Pendahuluan

Preeklampsia adalah suatu kondisi medis yang ditandai dengan hipertensi dalam kehamilan dan proteinuria yang terjadi pada kehamilan diatas 20 minggu.<sup>1,2</sup> Preeklampsia sering dihubungkan dengan dua komponen berupa implantasi plasenta yang abnormal serta disfungsi endotel. Disfungsi endotel mengakibatkan dilepaskannya vasokonstriktor dan prokoagulan ke pembuluh darah plasenta.<sup>3</sup>

Preeklampsia merupakan komplikasi kehamilan yang berhubungan dengan tingginya mortalitas dan morbiditas pada ibu hamil serta risiko kematian perinatal, kelahiran prematur, dan *intrauterine growth restriction*. Empat sampai tujuh persen ibu hamil di dunia menderita preeklampsia.<sup>4</sup> Di Indonesia, prevalensi preeklampsia sebesar 3-10% dan berkontribusi terhadap 39,5% dari kematian ibu pada tahun 2001 dan 55,56% pada tahun 2002.<sup>5</sup> Hal ini disebabkan perawatan dalam persalinan yang masih ditangani oleh petugas nonmedik, sistem rujukan yang belum sempurna, etiologi yang tidak jelas, dan tidak ada satu pun teori yang dianggap mutlak benar tentang terjadinya preeklampsia.<sup>5,6</sup>

Insiden preeklampsia dipengaruhi juga oleh paritas, ras, etnis, lingkungan, dan genetik. Salah satu pengaruh genetik yang berperan memicu preeklampsia adalah kelainan gen *angiotensin-converting enzym* (ACE).<sup>1</sup> ACE berperan penting dalam *renin angiotensin system* (RAS) yang mengatur tekanan darah dengan mengubah angiotensin I menjadi angiotensin II yang merupakan vasokonstriktor. Tingginya aktivitas ACE berperan pada terjadinya hipertensi sebagai akibat dari efek vasokonstriksi oleh angiotensin II.<sup>7</sup>

Gen ACE terletak pada lokus lengan panjang kromosom 17, tersusun atas 26 ekson dan 25 intron dengan panjang keseluruhan 23 kilo basa, dan berperan dalam regulasi tekanan darah.<sup>8,9</sup> Polimorfisme insersi/delesi (I/D) gen ACE terjadi karena insersi atau delesi Alu 289 pasangan basa (bp) yang terletak pada intron 16.<sup>10</sup> Polimorfisme berupa delesi (alel D) dilaporkan berperan dalam peningkatan aktivitas gen ACE. Ditemukan adanya hubungan antara gen ACE alel D atau genotipe DD dan peningkatan risiko preeklampsia atau *pregnancy-induced hypertension*.<sup>11</sup>

Polimorfisme genetik adalah adanya variasi genetik pada suatu populasi dengan frekuensi lebih dari satu persen.<sup>12</sup> Polimorfisme dapat mengakibatkan suatu penyakit.<sup>13</sup> Hubungan antara fenotipe dan lingkungan tercermin pada polimorfisme genetik, dimana pada beberapa lokus, frekuensi alel sangat berbeda pada populasi yang tinggal pada lingkungan yang berbeda. Perubahan lokasi geografi memberikan dampak terhadap genom.<sup>14</sup> Hasil interaksi antara genetik dan lingkungan disebut fenotipe, namun tidak selalu sesuai dengan genotipe.<sup>15</sup>

Kajian tentang polimorfisme gen ACE telah banyak dilakukan oleh berbagai peneliti. Salah satu bentuk polimorfisme yang sering dijumpai adalah polimorfisme I/D gen ACE. Pasha, dkk (2002) menemukan adanya hubungan polimorfisme gen ACE I/D dengan hipertensi pada populasi Indian.<sup>10</sup> Penelitian lain yang dilakukan Bereketoglu, dkk (2012) membuktikan adanya hubungan antara polimorfisme I/D gen ACE dan preeklampsia pada populasi Turki.<sup>11</sup> Zhong, dkk (2012) melaporkan adanya pengaruh polimorfisme I/D gen ACE terhadap kejadian preeklampsia pada populasi Cina.<sup>2</sup>

Namun, sejauh ini belum ada penelitian tentang hubungan antara polimorfisme I/D gen ACE dan kejadian preeklampsia di Indonesia. Mengingat pentingnya penelitian hubungan varian-varian polimorfisme I/D gen ACE pada pasien preeklampsia, diperlukan suatu penelitian yang mengidentifikasi polimorfisme I/D gen ACE pada pasien preeklampsia khususnya di Rumah Sakit Mohammad Hoesin (RSMH) Palembang.

## 2. Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif observasional, dengan teknik PCR. Populasi target pada penelitian ini adalah semua ibu hamil yang menderita preeklampsia, sedangkan populasi terjangkau pada penelitian ini adalah semua pasien preeklampsia yang datang berobat ke Poliklinik Obstetri dan Ginekologi dan Instalasi Rawat Inap Obstetri dan Ginekologi RSMH Palembang. Sampel penelitian ini adalah semua pasien preeklampsia di Poliklinik Obstetri dan Ginekologi dan Instalasi Rawat Inap Obstetri dan Ginekologi RSMH Palembang yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi, dilakukan pengambilan sampel pada bulan Agustus sampai Oktober 2013. Metode pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah *consecutive sampling*.

Kriteria inklusi, yaitu ibu hamil dengan usia kehamilan diatas 20 minggu, tekanan darah sistolik  $\geq 160$  mmHg, tekanan darah diastolik  $\geq 110$  mmHg, proteinuria (lebih dari 5 g/24 jam), dan kehamilan tunggal. Kriteria eksklusi adalah ibu hamil dengan riwayat diabetes, hipertensi kronik, penyakit jantung, hamil dengan malformasi fetus atau infeksi.

Sampel darah diambil melalui punksi vena antecubiti sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung antikoagulan *Ethylene Diamine Tetra Acid* (EDTA) untuk ekstraksi DNA dan PCR. Darah sebanyak 200  $\mu$ l diambil menggunakan pipettor lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Kemudian darah tersebut dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 1ml/1000  $\mu$ l lalu disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit. Setelah itu supernatan dibuang dan ditambahkan kembali PBS pH 7,4 sebanyak 1000  $\mu$ l kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit. Kegiatan ini diulangi sebanyak 2 kali.

Selanjutnya supernatan dibuang, lalu ditambahkan safonin (0,5% safonin dalam PBS dicampur dengan baik menggunakan vortex kemudian diinkubasi dalam es selama 5 menit). Campuran ini diinkubasi pada suhu 20°C selama 1 malam.

Setelah itu, campuran kemudian divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Lalu dicuci kembali sebanyak 3 kali dengan PBS pH 7,4 1000 µl dan disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan ditambahkan 50 µl chelex (20% dalam ddH<sub>2</sub>O pH 10,50 serta 100 µl ddH<sub>2</sub>O). Kemudian diinkubasi dalam air mendidih selama 10 menit. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. DNA berada pada bagian supernatan (DNA *containing water*) dipindahkan ke dalam tabung steril sebanyak 200 µl dan disimpan pada suhu -20°C.

DNA genom dari hasil isolasi, dengan menggunakan teknik PCR, fragmen-fragmen DNA genom dapat ditingkatkan kuantitasnya dengan cara amplifikasi secara *in vitro* dalam waktu singkat dengan menggunakan pasangan primer oligonukleotida sintetik yang membatasi daerah yang akan diperbanyak. Pada penelitian ini digunakan sepasang primer dan satu kali PCR untuk deteksi polimorfisme insersi/delesi gen ACE. Pasangan primer tersebut adalah 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3' sebagai *forward* dan 5'-GATGGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3' sebagai *reverse*. Produk PCR yang dihasilkan yaitu 190 bp (alel D) dan 490 bp (alel I).

PCR dilakukan pada mesin *i-cycler (biorad)*. Pada reaksi amplifikasi menggunakan komposisi campuran dengan volume total 25 µl, 9 µl ddH<sub>2</sub>O, 10 µl *Go tag green*, 0,5 µl primer ACE *forward*, 0,5 µl primer ACE *reverse*, DNA *template* 5 µl. Kondisi PCR pada suhu, 94°C selama 5 menit, diikuti 30 siklus pada suhu 94°C selama 1 menit, 60°C selama 1 menit, 72°C selama 2 menit, dan tahap terakhir pada suhu 72°C selama 4 menit.

Setelah itu, kualitas DNA hasil amplifikasi dengan teknik PCR dilihat dengan menggunakan teknik elektroforesis gel agarose (konsentrasi 2%), yang dilakukan di dalam aparatus elektroforesis (*Horizontal MiniSubDNA Bioard*) yang berisi TBE 1x (Tris-Boric acid-EDTA, 10,8g/L, Tris pH 8.0 yang mengandung 5,5 g/l Boric Acid dan 0.5 M EDTA pH 8.0) dan ditambahkan zat interkalator Ethidium Bromide 0,1%. DNA hasil PCR sebanyak 5µl dicampur dengan 3 µl *loading dye* (0,25% bromophenol blue, 40% b/v sukrosa), kemudian dimasukkan dalam sumuran yang terdapat pada gel. Sebagai penanda ukuran pita-pita DNA hasil elektroforesis pada gel digunakan DNA marker *ladder* tiap 100 pasang basa yang dicampur 2 µl *loading dye* dan 4.5 µl 1x TBE

buffer. Elektroforesis pada tegangan listrik 80 volt, selama 50 menit. Selanjutnya dideteksi dengan menggunakan Gel Doc 1000 (*Biorad*, USA) untuk divisualisasi dengan sinar ultra violet pada panjang gelombang 300 nm dan direkam.

### 3. Hasil

Karakteristik yang dinilai adalah dalam penelitian ini adalah karakteristik sosiodemografi dan karakteristik klinis.

Tabel 1. Distribusi karakteristik sampel penelitian

Karakteristik	N=32	%
<b>Sosiodemografi</b>		
Usia (tahun)		
>20 tahun	2	6,3
20-35 tahun	18	56,3
>35 tahun	12	37,5
<b>Tingkat Pendidikan</b>		
SD	2	6,3
SMP	6	18,8
SMA	24	75,0
<b>Lokasi Tempat Tinggal</b>		
Kab. Banyuasin	5	15,6
Kab. Musi Banyuasin	3	9,4
Kab. Ogan Ilir	1	3,1
Kab. Muara Enim	1	3,1
Palembang	22	68,8
<b>Klinis</b>		
Gravida		
1 (primigravida)	11	34,3
>1 (multigravida)	21	65,6
Partus		
0 (Nulipara)	12	37,5
1 (Primipara)	10	31,3
>1 (Multipara)	10	31,3

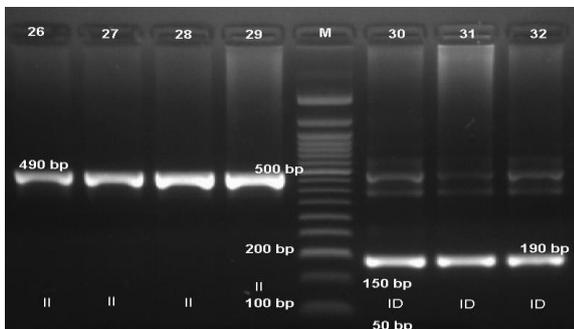
Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa pasien preeklampsia mayoritas berusia 20-35 tahun sebanyak 18 orang (56,3%), mayoritas tingkat pendidikan SMA sebanyak 24 orang (75,0%), Sebagian besar bertempat tinggal di Palembang sebanyak 22 orang (68,8%). Selain itu, pasien preeklampsia mayoritas multigravida sebanyak 21 orang (65,6%) dan pasien preeklampsia mayoritas nulipara sebanyak 12 orang (37,5%).

Produk hasil PCR berupa amplikon, dievaluasi untuk membuktikan keberhasilan ekstraksi DNA yang telah dilakukan. Proses evaluasi dilakukan dengan cara elektroforesis melalui media gel agarose konsentrasi 2% yang mengandung ethidium bromida selama 55 menit. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasi dengan menggunakan sinar ultraviolet dan dibaca pada monitor komputer.

Polimorfisme insersi/delesi gen ACE intron 16 akan tervisualisasi dengan menggunakan sinar ultraviolet. Terdapat 3 jenis genotipe yang dapat diidentifikasi dari polimorfisme gen, yaitu genotipe *wild type* (II, 490 bp), genotipe heterozigot mutan (ID, 490 bp dan 190 bp), dan homozigot mutan (DD, 190 bp). Dapat dilihat pada gambar 1.

Pada gambar 1 terlihat:

- I, 2, 3, ... : nomor urutan sampel penelitian
- M : penanda letak alel dalam *basepair*
- II : *wild type* gen ACE yang terletak pada pita posisi 490 bp, terlihat pada sampel nomor 3, 6, dan 7
- ID : alel mutan heterozigot gen ACE yang terletak pada pita posisi 490 bp dan 190 bp, terlihat pada sampel nomor 1, 2, 4, dan 5



Gambar.1 Genotipe insersi-insersi (II) pada 490 bp dan Insersi-delesi (ID) pada 190 bp.

Tabel 2. Distribusi genotipe dan alel polimorfisme insersi/delesi (I/D) gen ACE intron 16 pada pasien preeklampsia.

Gen ACE	N=32	(%)
Genotipe		
Mutan homozigot (DD)	0	0
Mutan Heterozigot (ID)	13	40,6
<i>Wild Type</i>	19	59,4
Alel		
I (Insersi)	51	79,7
D (Delesi)	13	20,3

Pada Tabel 2, menunjukkan bahwa genotipe terbayak pada pasien preeklampsia adalah *wild type* (II) sebanyak 19 orang (59,4%) dan genotipe mutan heterozigot mutan (ID) sebanyak 13 orang (40,6%). Namun, tidak ditemukan genotipe mutan homozigot (DD). Alel terbanyak pada pasien preeklampsia adalah alel I (insersi) sebanyak 51 (79,7%). Sedangkan alel delesi (D) hanya 13 orang (20,3%). Distribusi frekuensi genotipe suatu gen dipengaruhi juga oleh letak geografis, sehingga pada penelitian ini dilihat juga distribusi genotipe berdasarkan lokasi tempat tinggal. Semua subjek penelitian berasal dari Sumatera Selatan, wilayah Sumatera Selatan terdiri dari beberapa kabupaten seperti kabupaten Musi Banyuasin, kabupaten Banyuasin, Kabupaten Muara Enim, Kabupaten Lahat, Kabupaten Ogan Komering Ulu, Kabupaten Ogan Komering Ilir, Kabupaten Kayu Agung dan lain-lain. sehingga pada penelitian ini akan dijabarkan distribusi genotipe gen ACE berdasarkan kabupaten yang ada di Sumatera Selatan. Identifikasi genotipe gen ACE berdasarkan lokasi tempat tinggal berfungsi untuk melihat apakah terdapat kesamaan frekuensi distribusi genotipe gen ACE pada beberapa lokasi tempat tinggal di Sumatera Selatan. Pada tabel 3 tidak dicantumkan daerah lain atau semua kabupaten yang ada di Sumatera Selatan karena tidak didapatkan data pasien preeklampsia yang berasal dari kabupaten lain selain yang dicantumkan di tabel. Namun, pada penelitian ini tidak mengidentifikasi distribusi genotipe berdasarkan etnis mayor seperti etnis Tionghoa, Arab, India, dan Melayu yang ada di Sumatera Selatan karena data pasien didapat dari hasil rekam medis dan pada rekam medis tidak dicantumkan data etnis pasien serta tidak dilakukan pengisian *pedegree* tiga generasi pada formulir yang tersedia, sehingga penelitian ini hanya mengidentifikasi distribusi genotipe berdasarkan lokasi tempat tinggal. Distribusi genotipe berdasarkan lokasi tempat tinggal dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Distribusi genotipe berdasarkan lokasi tempat tinggal

Karakteristik	Genotipe			N=32	(%)
	II n (%)	ID n (%)	DD n (%)		
Lokasi					
Kab. Banyuasin	2 (6,2)	3 (9,4)	0 (0)	5	15,6
Kab. Musi Banyuasin	1 (3,1)	2 (6,2)	0 (0)	3	9,3
Kab. Ogan Ilir	0 (0)	1 (3,1)	0 (0)	1	3,1
Kab. Muara Enin	1 (3,1)	0 (0)	0 (0)	1	3,1
Palembang	15 (46,9)	7 (21,9)	0 (0)	22	68,8

Pada Tabel 3, menunjukkan bahwa distribusi genotipe terbanyak berdasarkan lokasi tempat tinggal adalah genotipe *wild type* (II) di Palembang sebanyak 15 orang (46,9%).

#### 4. Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan umur pasien preeklampsia terbanyak berada dalam rentang 20-35 tahun sedangkan usia < 20 tahun hanya sebagian kecil. Karakteristik umur sampel penelitian ini kurang sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa wanita yang hamil pada usia ekstrim, yaitu dibawah 20 tahun dan diatas 35 tahun memiliki risiko yang lebih tinggi dibandingkan wanita yang hamil pada usia 20-35 tahun.<sup>1,16,17,18,19</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa wanita berusia 20-35 tahun di Sumatera Selatan juga mengalami preeklampsia. Hasil penelitian pada pasien preeklampsia berdasarkan tingkat pendidikan, ternyata tingkat pendidikan SMA lebih banyak menderita preeklampsia dibandingkan tingkat pendidikan SMP dan SD. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tingkat pengetahuan pasien mempengaruhi kesadaran untuk konsultasi ataupun berobat. Pasien preeklampsia terbanyak berada di Palembang dan hanya sebagian kecil yang berlokasi tempat tinggal di luar Palembang. Pada tabel 1 tidak dicantumkan daerah lain atau semua kabupaten yang ada di Palembang karena tidak didapatkan data pasien preeklampsia yang berasal dari kabupaten lain selain yang dicantumkan di tabel. Sampel penelitian ini hanya 32 orang, dapat dikatakan jumlah sampel masih sedikit sehingga belum mewakili semua kabupaten di Palembang. Selain itu, pengambilan sampel penelitian ini tidak mendatangi setiap kabupaten karena keterbatasan waktu, sehingga pengambilan sampel hanya dilakukan di RSMH Palembang. Hasil penelitian ini dapat diterima karena penelitian ini dilakukan di RSUP yang terletak di Palembang. Walaupun RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang ini merupakan rumah sakit rujukan dari daerah, kebanyakan pasien yang berobat ke RSUP Dr. Moh. Hoesin Palembang adalah pasien yang berada di kawasan Palembang. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan dengan sampel yang lebih besar untuk mengetahui lebih lanjut mengapa pasien preeklampsia pada lokasi tertentu lebih banyak dibandingkan lokasi yang lain. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pasien preeklampsia terbanyak adalah wanita yang multigravida atau wanita yang hamil atau yang telah hamil minimal 2 kali. Didapatkan hasil tersebut karena berdasarkan pengelompokan gravida yaitu primigravida dan multigravida. Namun, bila pada kelompok multi gravida dijabarkan lagi misalnya gravida ke 3, 4, 5, dan 7, maka mengalami penurunan jumlah pasien preeklampsia sehingga pada penelitian ini dapat disimpulkan sesuai dengan literatur. Pada literatur menyebutkan bahwa wanita yang multigravida memiliki risiko menderita preeklampsia.<sup>16,17</sup> Namun, pada literatur lain menyebutkan bahwa primigravida mempunyai risiko lebih besar terjadinya hipertensi dalam kehamilan jika

dibandingkan dengan multigravida.<sup>6</sup> Pernyataan tersebut berkaitan dengan teori intoleransi imunologi.<sup>6</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pasien preeklampsia terbanyak adalah wanita yang nulipara yaitu sebanyak 12 orang (37,5%), sedangkan pada primipara dan multipara jumlahnya sama yaitu 10 orang. Hasil penelitian sesuai literatur yang menyebutkan bahwa nulipara memiliki risiko menderita preeklampsia.<sup>1,17</sup> Namun, literatur lain menyebutkan bahwa primipara memiliki risiko 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan multipara.<sup>18</sup> Dengan menggunakan primer spesifik, Sekuens mutagenik di dalam primer harus terletak di ujung 5'/di tengah (internal primer), bukan diletakkan di ujung 3' primer, sehingga polimorfisme insersi/delesi gen ACE intron 16 dapat diidentifikasi.<sup>20</sup> Setelah dilakukan PCR, untuk mengetahui secara pasti basa nitrogen yang mengalami insersi/delesi dapat dilakukan skuensing. Namun, pada penelitian ini tidak dilakukan skuensing. Bila dilakukan skuensing, maka dapat ditentukan lokasi dan basa nitrogen yang mengalami insersi/delesi seperti pada fragmen DNA gen ACE intron 16 pada alu 289 bp yang dilakukan skuensing terlihat pada gambar 2.

```
CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCTCCCATTTTTCTAGACCTGCTGCCTATACAGTC
TCTTTTTTTTTTTTTTGAGACGGAGTCTCGCTCTGTCGCCAGGCTGGAGTGC
AGTGGCGGGATCTCGGCTCACTGCAAGCTCCGCCCTCCGGGTTACGCCATTCT
CTGCCTCAGCCTCCAAGTAGCTGGGACACAGCGCCCGCCACTACGCCCG
GCTAAATTTTTGTATTTTAGTAGAGACGGGGTTTACCCTTTAGCCGGGATG
GTCTCGATCTCTGACCTCGTGATCCGCCCGCTTGCCCTCCAAAGTCTGGG
ATCACAGGCGTGATACAGTCACTTTTATGTGGTTTCGCCAATTTTATCCAGCTC
TGAAATTCCTCCGAGTCCCTTACAAGCAGAGGTGAGCTAAGGGCTGGAGCTC
AAGGCATTCAAACCCCTACCAG ATCTGACGAATGTGATGGCCACGTC
```

**Gambar 2. Sekuens 289 bp pada gen ACE intron 16. Forward dan reverse primers ditunjukkan dengan warna biru. Insersi ditandai dengan warna merah dan sekuens intron ditandai dengan warna hitam.<sup>21</sup>**

Teknik yang digunakan primer tersebut adalah *site directed mutagenesis* (mutagenesis situs terarah) yang mengintroduksi mutasi titik ke suatu situs tertentu. Strategi mutagenesis yang digunakan adalah memanfaatkan amplifikasi DNA yang diarahkan oleh primer untuk mengintroduksi mutasi. Salah satu primer didesain dengan sebuah sekuens yang berkomplemen dengan daerah di dalam DNA target, namun primer tersebut mengandung substitusi, insersi, atau delesi yang diinginkan.<sup>21</sup>

Polimorfisme yang terjadi pada gen ACE yang ditentukan dengan menggunakan primer spesifik adalah insersi (I) dan delesi (D) pada Alu 289 bp. Genotipe *wild type* yaitu insersi/insersi (II) saat divisualisasi akan memperlihatkan 1 pita pada posisi 490 bp. Sedangkan genotipe heterozigot mutan yaitu insersi/delesi (ID) saat divisualisasi akan memperlihatkan 2 pita pada posisi 490 bp dan 190 bp. Pita pada posisi 490 bp merupakan alel insersi (I) sedangkan pita pada posisi 190 bp merupakan alel delesi (D), sehingga bila muncul pita

pada kedua posisi tersebut maka genotipe yang dideteksi adalah heterozigot mutan yaitu insersi/delesi (I/D). Genotipe homozigot mutan yaitu delesi/delesi (DD) saat divisualisasi akan memperlihatkan satu pita pada posisi 190 bp.

Polimorfisme insersi/delesi gen ACE mempengaruhi kadar ACE pada sirkulasi (plasma) dan jaringan.<sup>8</sup> Polimorfisme gen ACE berupa delesi (alel D) mengakibatkan tingginya kadar dan aktivitas ACE pada sirkulasi (plasma) dan jaringan.<sup>8</sup> Pada insersi (alel I) mengakibatkan rendahnya kadar ACE atau dapat mengontrol kadar ACE.<sup>22</sup> *Angiotensin converting enzyme* (ACE) berpengaruh terhadap pengaturan tekanan darah, vasodilatasi pembuluh darah, *renin-angiotensin-aldosterone system* (RAAS), *kinin-kallikrien cascade* (menstimulus reseptor BDKRB2), dan pelepasan *nitric oxide*.<sup>23</sup> Polimorfisme gen ACE berupa delesi (alel D) mengakibatkan tingginya aktivitas ACE,<sup>11</sup> sehingga polimorfisme I/D gen ACE yang mempengaruhi sirkulasi pada uteroplasenta dan umbilikus saat kehamilan yang mengakibatkan terjadinya preeklampsia.<sup>24,25</sup>

Pada penelitian ini, terdiri dari 32 orang pasien preeklampsia, tidak didapatkan frekuensi pasien dengan genotipe mutan homozigot (DD) dan didapatkan frekuensi pasien dengan genotipe mutan heterozigot (ID) sebanyak 13 orang dan frekuensi pasien dengan genotipe *wild type* (II) sebanyak 19 orang. Dapat disimpulkan bahwa genotip terbanyak pada penelitian ini adalah genotipe *wild type* (II). Sedangkan frekuensi alel I sebanyak 51 dan alel D sebanyak 13, sehingga pada penelitian ini disimpulkan bahwa alel yang terbanyak adalah alel I. Dapat dilihat bahwa terdapat hubungan antara alel D dengan terjadinya preeklampsia, terbukti dengan ditemukannya genotipe mutan heterozigot ID pada 13 orang (40,6%) yang menderita preeklampsia meskipun tidak ada pasien preeklampsia yang memiliki genotipe mutan homozigot DD dan lebih banyak terdeteksi memiliki genotipe *wild type* (II). Hal ini terjadi karena genetik merupakan salah satu faktor predisposisi untuk terjadinya suatu penyakit.

Pasien preeklampsia terbanyak berada di Palembang dengan genotipe terbanyak adalah II. Selanjutnya disusul oleh kabupaten Banyuasin dengan genotipe terbanyak adalah ID. Genotipe terbanyak pada kabupaten Musi Banyuasin adalah ID, pada kabupaten Ogan Ilir genotipe terbanyak adalah ID, sedangkan pada kabupaten muara enim genotipe terbanyak adalah II, sedangkan genotipe DD tidak ditemukan pada kelima lokasi tersebut.

Dapat disimpulkan bahwa berdasarkan lokasi tempat tinggal tidak ditemukan genotipe DD, hanya didapatkan genotipe ID dan II. Pada beberapa lokasi ditemukan memiliki dominasi genotipe yang sama, hal tersebut kemungkinan disebabkan karena memiliki etnis yang sama. Tetapi pada penelitian ini tidak mendapatkan data

etnis pasien karena data pasien didapatkan hanya dari hasil rekam medis dan pada rekam medis tidak ada data etnis pasien. Namun, hingga saat ini belum ada penelitian mengenai hubungan antara polimorfisme I/D gen ACE dan lokasi tempat tinggal, khususnya di Sumatera Selatan.

## 5. Kesimpulan

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa karakteristik sosiodemografi pasien preeklampsia di RS. Moh. Hoesin Palembang sebagian besar berusia antara 20-35 tahun, tingkat pendidikan SMA, dan berlokasi tempat tinggal di Palembang. Berdasarkan karakteristik klinis, sebagian besar pasien preeklampsia adalah primigravida dan nulipara. Distribusi genotipe dan alel pada pasien preeklampsia di RS. Moh. Hoesin Palembang adalah tidak didapatkan genotipe mutan homozigot (DD) dan didapatkan frekuensi genotipe *wild type* (II) lebih banyak dibandingkan genotipe heterozigot (ID), serta frekuensi alel I lebih banyak daripada alel D.

## Daftar Acuan

1. Cunningham F.G., 2005. Hipertensi Dalam Kehamilan. Dalam Obstetri Williams. Edisi 23. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal. 706-747
2. Zhong. W.G. Y. Wang, H. Zhu, dan X. Zhao. 2012. Meta analysis of angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism as a risk factor for preeclampsia in Chinese women. *Genetics and Molecular Research* 11 (3): 2269.
3. Alladin. A.A dan Melinda. H. 2012. Preeclampsia: Systemic endothelial damage leading to increased activation of the blood coagulation cascade. *Journal of Biotech Research* [ISSN: 1944-3285]. 4:26.
4. Shamsi. U, Juanita. H, Azra. S, Zuberi. N, Qadri. Z, dan Saleem. S. 2010. A multicentre matched case control study of risk factors for Preeclampsia in healthy women in Pakistan. *British Medical Journal Woman's Health*. 10:14.
5. Sulistyowati. Sri, Abadi. Agus, dan Wijati. 2010. Low Class Ib (HLA-G/Qa-2) MHC Protein Expression against Hsp-70 and VCAM-1 Profile on Preeclampsia. An observation on experimental animal Mus Musculus with Endothelial Dysfunction model. *Indonesia Journal Obstetri Gynecology*. 34 (3): 103.
6. Prawirohardjo, S. 2012, Ilmu Kebidanan: "Hipertensi Dalam Kehamilan". Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, Jakarta.
7. Salimi. S, Mokhtari. M, Yaghmaei. M, Jamshidi. M, dan Naghavi. A. 2011. Association of angiotensin-converting enzyme intron 16 insertion/deletion and angiotensin II type 1 receptor A1166C gene polymorphisms with preeclampsia in south east of iran. *Journal of*

- Biomedicine and Biotechnology. Article ID 941515:1.
8. Eleni. S, Katsanidis. D, Papadopoulou. Makedou. A, Vavatsi. N, dan Gatzola. M. 2008. Angiotensin-I converting enzyme gene and I/D polymorphism distribution in the Greek population and a comparison with other European populations. *Journal of Genetics*. 87:91.
  9. Bagheri. M, Isa A.R, Mir D.O, dan Fariba. N. 2010. Angiotensin converting enzyme gene and recurrent pregnancy loss: Polymorphisms of the angiotensin converting enzyme gene in Iranian Azeri Turkish women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Human Fertility*, (2): 79.
  10. Pasha. M A Q, Amjad P. K. R. K, Rekh B R. S. K. G. dkk. 2002. Variations in angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Indian populations of different ethnic origins. *Jurnal of Biochemical Science*. 27:1
  11. Bereketoglu. C, M`ulkiye. K, Ayfer. P. 2012. Studies on angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and genotype distributions in Turkish preeclampsia patients. *Jurnal of Pregnancy*. Article ID 108206:1.
  12. *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*. 2000. Mutation: Type and Cause. (<http://http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, diakses pada 31 Mei 2013).
  13. Zintzaras E, Papathanasious AA, Stefanidis I. 2009. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and diabetic nephropathy: A hugr review and meta-analysis. *Cenetic Medicine*, 11 (10): 695-706.
  14. Burchard. Esteban González, M.D. 2003. The importance of race and ethnic background in biomedical research and clinical practice. *New England Journal Medical*. 1171-1174.
  15. Schork NJ, Fallin D, Lanchbury S. 2000. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Journal of Clinical Genetics*. 58: 250–264.
  16. Dean. S. 2011. The management of hypertensive disorders in pregnancy including severe pre-eclampsia and eclampsia. East Cheshire NHS. Version 2.0: 8.
  17. Queensland Government. 2010. Queensland Maternity and Neonatal Clinical Guideline: Hypertensive disorders of pregnancy. 8.
  18. Arusyak Harutyunyan, MD, MPH Candidate. 2009. Investigation of risk factor for preeclampsia development among reproductive age women living in Yerevan, Armenia: A case control study. Thesis pada College of Health Sciences American University of Armenia yang dipublikasi, hal. 3
  19. Moghadam. A.D, Khosravi. A, dan Sayehmiri. K. 2012. Predictive factors for preeclampsia in pregnant women: A univariate and multivariate logistic regression analysis. *59(4):673-677*.
  20. Elrod, Susan dan William Stansfield. 2007. *Schaum's Outlines: Genetika Edisi Keempat*. Jakarta: Erlangga.
  21. Moeez. S, Iqbal. T, John. P. 2013. Evidence of angiotensin converting enzyim (ACE) insertion polymorphism in rheumatoid arthritis from Pakistan patients. *International Journal of Molecular Biology. Regular Paper Actabp*. 4:87-91.
  22. Abdi-rad. I dan Bagheri. M. 2011. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in general population of west Azarbaijan, Iran. *Iran Journal of Kidney Disease*. 5(2):86-92.
  23. Thorn. Caroline F, Klein. Teri E, dan Altman. Russ B. 2010. PharmGKB summary: Very important pharmacogene information for angiotensin-converting enzyme. *Pharmacogenetic and Genomic. NIH-PA Author Manuscript*. 20(2): 143–146.
  24. Kofinas Perinatal. 2009. The Role of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene Polymorphisms in Pregnancy Complications. page 1-2.
  25. Bukreeva. L, Alexander. G, and Holger. K, dan Berthold. H. 2009. Association of angiotensin-converting-enzyme intron 16 insertion/deletion polymorphism with history of fetal loss. *Journal of Renin-Angiotensin-Aldosteron System*. 10(4):237.