

POLIMORFISME GEN *ANGIOTENSIN II TYPE 1 RECEPTOR* (A1166C) SEBAGAI FAKTOR RISIKO PADA PASIEN DENGAN HIPERTENSI ESENSIAL DI KABUPATEN CIREBON

Tiar M Pratamawati*, Ikrama Akbarahma*, Ahmad Fariz Malvi Z Zein*,
Catur Setiya Sulistiyana*, Eni Suhaeni*, Donny Nauphar*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Swadaya Gunung Jati
dr.tyarladala@gmail.com

Abstrak

Latar Belakang: Hipertensi merupakan salah satu penyakit dengan prevalensi tertinggi, termasuk di Kabupaten Cirebon. Salah satu penyebab hipertensi esensial adalah pengaruh genetik. Mutasi pada gen yang berhubungan dengan hipertensi dapat memengaruhi sistem renin-angiotensin dalam mengatur tekanan darah. Polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) terkait dengan peningkatan aktivitas angiotensin II dan berhubungan dengan hipertensi esensial. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) sebagai faktor risiko pada pasien hipertensi esensial di Kabupaten Cirebon. **Metode:** Penelitian ini dilakukan dengan metode observasional analitik dengan pendekatan kasus-kontrol dan melibatkan 34 pasien hipertensi dan 34 kontrol sehat. PCR-RFLP digunakan untuk memeriksa polimorfisme. Analisis data dilakukan dengan *chi square test* dan *odds ratio*. **Hasil:** Analisis data menunjukkan tidak ada hubungan yang signifikan pada polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) dengan hipertensi esensial ($p=0,050$), namun hasil perhitungan *odds ratio* menunjukkan bahwa polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) memiliki peluang 3,164 kali lebih besar berisiko untuk memiliki hipertensi esensial (OR=3,164). **Simpulan:** Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) dengan kejadian hipertensi esensial.

Kata Kunci: polimorfisme gen AGTR1 A1166C, Hipertensi

Abstract

Background: Hypertension is a disease with a fairly high prevalence, including in Cirebon Regency. One of the causes of essential hypertension is genetic influence. Mutations in genes associated with hypertension can affect the renin-angiotensin system in regulating blood pressure. AGTR1 Gen Polymorphism (A1166C) is related to increased angiotensin II activity and associated with essential hypertension. **Aim:** This study aims to determine the relationship between AGTR1 (A1166C) gene polymorphism as a risk factor in essential hypertension patients in Cirebon Regency. **Methods:** This study was conducted using an analytical observational method with a case-control approach and involved 34 hypertensive patients and 34 healthy controls. PCR-RFLP was used to check for polymorphisms. Data analysis was carried out with *chi square test* and *odds ratio*. **Result:** Data analysis showed that there was no significant relationship between the AGTR1 gene polymorphism (A1166C) and essential hypertension ($p=0.050$), however the odds ratio calculation results showed that the AGTR1 (A1166C) gene polymorphism had a 3.164 times greater chance of having essential hypertension (OR =3.164). **Conclusion:** There is no significant relationship between the AGTR1 gene polymorphism (A1166C) and the incidence of essential hypertension.

Keywords: AGTR1 gene A1166C polymorphism, Hypertension

Pendahuluan

Menurut *World Health Organization* (WHO), hipertensi adalah kondisi dimana pembuluh darah secara terus-menerus bertambah tekanannya.⁽¹⁾ Tekanan tinggi yang berlebihan pada dinding arteri yang disebabkan oleh hipertensi dapat merusak pembuluh darah bersamaan dengan fungsi organ. Hal ini dapat meningkatkan risiko untuk menimbulkan beberapa kondisi kesehatan yang

berbahaya seperti serangan jantung, stroke, gagal jantung kronis, dan penyakit ginjal.⁽²⁾

Diperkirakan ada sebanyak 1,13 milyar orang kasus hipertensi di dunia dan pada tahun 2015, 1 dari 4 laki-laki dan 1 dari 5 perempuan memiliki hipertensi.⁽¹⁾ Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) pada tahun 2018, prevalensi hipertensi berdasarkan diagnosis dokter atau minum obat hipertensi di Jawa Barat adalah sebesar 9,67%

dan provinsi Jawa Barat menduduki peringkat 7 dengan tingginya prevalensi hipertensi di Indonesia.⁽³⁾ Menurut profil kesehatan Kabupaten Cirebon pada tahun 2017, prevalensi terjadinya hipertensi mencapai 29,8%.⁽⁴⁾ Pada wilayah kerja Puskesmas Plumbon, terdapat peningkatan prevalensi terjadinya hipertensi pada tahun 2017 dibandingkan dengan tahun 2016, yaitu dari 1,29% menjadi 6,04%.⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Ada bukti yang berkembang bahwa interaksi kompleks antara beberapa gen dan beberapa faktor lingkungan memainkan peran penting dalam menentukan risiko individu dari berbagai penyakit umum termasuk hipertensi.⁽⁶⁾ Sistem renin-angiotensin-alodsteron atau *renin-angiotensin-aldosterone system* (RAAS) adalah sekelompok hormon terkait yang bekerja bersama dalam mengatur tekanan darah dengan menjaga tonus pembuluh darah dan keseimbangan air dan natrium. Reseptor Angiotensin II tipe 1 atau *Angiotensin Type II Receptor 1* (AGTR1) adalah salah satu komponen yang terlibat dalam kaskade aktivasi/efektor dari RAAS. Angiotensin II adalah vasokonstriktor kuat yang mengerahkan sebagian besar aksi seluler yang diketahui melalui AGTR1. AGTR1 adalah reseptor berpasangan protein G terikat membran yang memediasi efek vasokonstriksi Angiotensin II. Terdapat hipotesis bahwa polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) berhubungan dengan aktivitas angiotensin II sehingga berpengaruh terhadap terjadinya hipertensi esensial dan penyakit kardiovaskular. Polimorfisme genetik dalam komponen RAAS termasuk AGTR1 (A1166C) diduga memiliki kaitan dengan terjadinya hipertensi esensial.⁽⁷⁾

Metode

Penelitian ini menggunakan metode penelitian observasional analitik dengan pendekatan kasus-kontrol. Pengambilan sampel dilakukan di Puskesmas Plumbon dan pemeriksaan genetik di Laboratorium Pusat Riset Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2021.

Populasi penelitian ini adalah pasien hipertensi esensial dan orang yang tidak memiliki riwayat hipertensi di Puskesmas Plumbon. Kriteria inklusi kelompok kasus adalah pasien yang terdiagnosis hipertensi ($\geq 140/90$ mmHg) dan pasien dengan hipertensi esensial. Kriteria eksklusi kelompok kasus adalah pasien dengan hipertensi sekunder. Kriteria inklusi kelompok kontrol adalah tidak memiliki riwayat hipertensi, tidak mengonsumsi obat antihipertensi, dan usia ± 1 tahun dari sampel. Kriteria eksklusi kelompok kontrol adalah memiliki riwayat diabetes melitus.

Amplifikasi polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) dilakukan dengan menggunakan primer 5'- GCA GCA CTT CAC TAC CAA ATG GGC -3'

sebagai primer *forward* dan 5'-CAG GAC AAA AGC AGG CTA GGG AGA -3' sebagai primer *reverse* menggunakan PCR-RFLP.⁽⁸⁾

PCR berisikan 100 DNA template, 125 μ M dNTPs, 2.5 mM MgCl₂, dan 10 mM dari masing-masing primer dan 0,5 μ l *Superscript*, pada akhirnya volumenya 15 μ l. Larutan PCR ini diamplifikasi dengan menggunakan program *thermal cycler* dengan menggunakan program *thermal cycler* dengan *initial denaturation* pada 95°C selama 5 menit diikuti dengan 35 siklus dengan *denaturation* pada 94°C selama 1 menit, *annealing* pada 55°C selama 1 menit dan *extension* pada 72°C selama 1 menit. *Final extension* dilakukan pada 72°C selama 7 menit. Setelah dilakukan PCR, produk yang terbentuk (10 μ l) lalu dilanjutkan proses RFLP dengan enzim *Bacillus species BsuR1 (Fast Digest)* sebanyak 10 U (1 μ l atau 2 μ l), *nuclease free water* 18 μ l, *Buffer R/B* 2 μ l pada suhu 37°C dalam 2 jam. Fragmen akan dipisahkan oleh elektroforesis di agarose gel 2% dan teridentifikasi oleh pewarna *gel red*.⁽⁸⁾

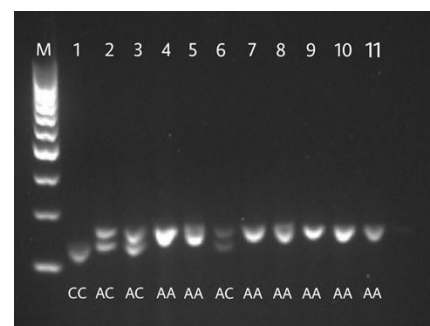
Hasil yang diharapkan pada *wildtype* tidak akan terpotong sedangkan jika terdapat polimorfisme akan terpotong dengan enzim restriksi, yaitu:⁽⁸⁾

- Normal (genotipe AA) : 255 bp
- Heterozygot (genotipe AC) : 255, 231, dan 24 bp
- Homozygot (genotipe CC) : 231 dan 24 bp

Hasil analisis data berupa deskripsi polimorfisme pada gen AGTR1 (A1166C), frekuensi genotipe, dan frekuensi alel. Analisis dilakukan secara komputerisasi. Data hasil pemeriksaan polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) pada kasus dan kontrol dianalisis dengan *chi-square test* dan *Odds Ratio*.

Hasil

Penelitian ini dilakukan di Puskesmas Plumbon dan pemeriksaan genetik dilakukan di Laboratorium Genetik FK UGJ pada bulan April 2021-Juni 2021. Penelitian ini menggunakan 34 subjek kelompok kasus yang merupakan responden dengan hipertensi esensial dan 34 subjek kelompok kontrol yang merupakan responden yang sehat. Kedua kelompok ini telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.



Gambar 1. Hasil agarose gel elektroforesis. M merupakan marker DNA Ladder. Nomor 4, 5, 7, 8, 9, 10, dan 11 menunjukkan genotipe AA (255 bp).

Nomor 2, 3, dan 6 menunjukkan genotipe AC (255, 231 bp). Nomor 2 menunjukkan genotipe CC (231 bp).

Tabel 1. Distribusi frekuensi polimorfisme

Polimorfisme	Kasus		Kontrol	
	F	%	F	%
Ada	12	35,3%	5	14,7%
Tidak Ada	22	64,7%	29	85,3%

Distribusi frekuensi polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) pada kelompok kasus, terdapat 12 subjek (35,3%) yang memiliki polimorfisme dan terdapat 22 subjek (64,7%) yang tidak memiliki polimorfisme. Pada kelompok kontrol, terdapat 5 subjek (14,7%) yang memiliki polimorfisme dan terdapat 29 subjek (85,3%) yang tidak memiliki polimorfisme.

Tabel 2. Distribusi frekuensi genotipe

Genotipe	Kasus		Kontrol	
	F	%	F	%
AA	22	64,7%	29	85,3%
AC	8	23,5%	4	11,8%
CC	4	11,8%	1	2,9%

Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) pada kelompok kasus, terdapat 22 subjek (64,7%) memiliki genotipe AA, 8 subjek (23,5%) memiliki genotipe AC, dan 4 subjek (11,8%) memiliki genotipe CC. Pada kelompok kontrol, terdapat 29 subjek (85,3%) memiliki genotipe AA, 4 subjek (11,8%) memiliki genotipe AC, dan 1 subjek (2,9%) memiliki genotipe CC.

Tabel 3. Distribusi frekuensi alel

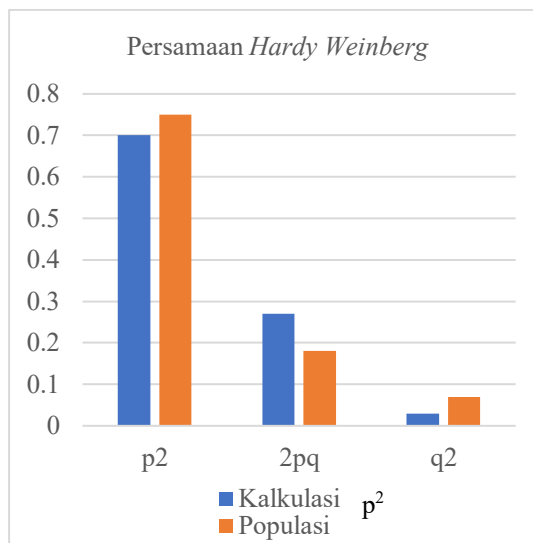
Alel	Kasus		Kontrol	
	F	%	F	%
A	52	76,5%	62	91,2%
C	16	23,5%	6	8,8%

Distribusi frekuensi alel polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) pada kelompok kasus, terdapat 52 alel A (76,5%) dan 16 alel C (23,5%). Pada kelompok kontrol, terdapat 62 alel A (91,2%) dan 6 alel C (8,8%).

Tabel 4. Persamaan Hardy Weinberg

Hardy Weinberg	Kalkulasi					Pops		
	p	q	p ²	2pq	q ²	p ²	2pq	q ²
AGTR1 Subjek	0,84	0,16	0,70	0,27	0,03	0,75	0,18	0,07

Berdasarkan persamaan Hardy Weinberg pada **Tabel 4** dan **Gambar 2**, didapatkan nilai berdasarkan kalkulasi p² sebesar 0,70, 2pq sebesar 0,27, dan q² sebesar 0,03. Pada perhitungan populasi, didapatkan nilai p² sebesar 0,75, 2pq sebesar 0,18, dan q² sebesar 0,07. Hal ini menunjukkan bahwa populasi pada penelitian ini tidak memenuhi persamaan Hardy Weinberg.



Gambar 2. Persamaan Hardy Weinberg

Tabel 5. Hubungan polimorfisme dengan hipertensi

Polimorfisme	Kasus		Kontrol		χ ² (p)	OR	CI
	F (%)	F (%)	F (%)	F (%)			
Ada	12 (35,3)	5 (14,7)	3,843	3,164	0,97-	10,31	
Tidak Ada	22 (64,7)	29 (85,3)	(0,050)				

Tabel 5 menunjukkan hasil chi square test sebesar 3,843 dengan p-value sebesar 0,050 (p = 0,05). Hasil ini menunjukkan tidak terdapat hubungan yang signifikan pada polimorfisme gen AGTR1 A1166C dengan hipertensi esensial di kabupaten Cirebon secara statistik. Pada uji statistik juga didapatkan hasil odds ratio sebesar 3,164 dengan confidence interval (CI) 95% dan diperoleh hasil CI 0,971-10,309. Nilai odds ratio dengan confidence interval (CI) 95% berkisar 0,971-10,309.

Tabel 6. Hubungan alel dengan hipertensi

Alel	Kasus		Kontrol		χ ² (p)	OR	CI
	F (%)	F (%)	F (%)	F (%)			
A	52 (76,5)	62 (91,2)	5,423	3,179	1,16-	8,71	
C	16 (23,5)	6 (8,8)	(0,020)				

Tabel 6 juga menunjukkan hasil chi square test sebesar 5,423 dengan p-value sebesar 0,020 (p < 0,05), artinya terdapat hubungan yang signifikan adanya alel C dengan hipertensi esensial di kabupaten Cirebon secara statistik. Pada uji statistik juga didapatkan hasil odds ratio sebesar 3,179. Penelitian ini dengan confidence interval (CI) 95% dan diperoleh hasil CI 1,16-8,71. Nilai odds ratio dengan confidence interval (CI) 95% berkisar 1,160-8,713. Hasil ini menunjukkan bahwa seseorang dengan polimorfisme memiliki peluang untuk 5,423 lebih besar untuk memiliki hipertensi esensial

dibandingkan dengan seseorang yang tidak memiliki polimorfisme.

Pembahasan

Pada penelitian ini, frekuensi genotipe AC dan CC sebagai tanda terdapat polimorfisme lebih banyak muncul pada kelompok kasus (35%) dibandingkan dengan kelompok kontrol (15%). Frekuensi genotipe AA yang menandakan bahwa tidak terdapat polimorfisme lebih banyak muncul pada kelompok kontrol yang tidak memiliki hipertensi esensial (85%) dibanding dengan kelompok kasus yang memiliki hipertensi esensial (65%). Hasil *odds ratio* yang didapatkan adalah sebesar 3,164, artinya seseorang yang memiliki polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) berpeluang 3,164 kali lebih besar untuk memiliki hipertensi esensial dibandingkan dengan orang yang tidak memiliki polimorfisme meskipun secara statistik menunjukkan tidak terdapat hubungan yang signifikan ($p = 0,05$) disertai dengan *confidence interval* (CI) 95% antara polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) dengan hipertensi esensial.

Pada penelitian ini alel C lebih banyak muncul pada kelompok kasus (16%) dibandingkan dengan kelompok kontrol (9%). Alel A lebih banyak muncul pada kelompok kontrol (91%) dibanding dengan kelompok kasus (76%). Pada perhitungan *odds ratio*, didapatkan hasil sebesar 3,179, artinya seseorang yang memiliki alel C pada gen AGTR1 memiliki peluang 3,179 kali lebih besar untuk memiliki hipertensi esensial dibanding dengan orang yang tidak memiliki alel C serta secara statistik menunjukkan terdapat hubungan yang signifikan (p value = 0,020) disertai dengan *confidence interval* (CI) 95% antara polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) dengan hipertensi esensial.

Hasil dari beberapa penelitian terdahulu menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Penelitian Bayramoglu *et. al.* (2015) di Turki yang melibatkan 250 sampel yang terdiri dari 142 sampel kontrol dan 108 sampel kasus menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen AGTR1 dengan hipertensi esensial.⁽⁹⁾ Hasil ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Chandra S, *et. al.* (2014) di India. Penelitian yang melibatkan 250 kelompok kontrol dan 250 kelompok kasus ini menunjukkan hasil yang

signifikan secara statistik bahwa ada hubungan antara polimorfisme AGTR1 dengan hipertensi esensial.⁽¹⁰⁾ Hasil yang berbeda didapatkan pada penelitian Ono K, *et. al.* (2003) di Jepang. Pada penelitian tersebut terdapat 3918 subjek yang terdiri dari 1492 kelompok kasus dan 2426 kelompok kontrol. Hasil penelitian tersebut menunjukkan tidak ada hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen AGTR1 dengan hipertensi esensial di Jepang.⁽¹¹⁾ Pada penelitian yang dilakukan oleh Soualmia H, *et. al.* (2014) yang melibatkan 388 kelompok kasus dan 428 kelompok kontrol mendapatkan hasil bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) dengan hipertensi esensial di Tunisia.⁽¹²⁾

Perbedaan hasil penelitian dapat disebabkan karena adanya perbedaan pada *Minor Allele Frequency* (MAF) pada tiap ras. Pada penelitian ini, didapatkan alel C sebesar 16%. Berdasarkan data MAF dari dbSNP NCBI, frekuensi alel pada populasi studi ini 1,45 kali lebih rendah dibanding dengan populasi di Eropa (29%), 1,15 kali lebih rendah dibandingkan dengan populasi Amerika (23%) dan 2,8 kali lebih tinggi dibandingkan dengan populasi Afrika (7%).⁽¹³⁾

Distribusi genotipe pada polimorfisme gen AGTR1 (A1166C) tidak memenuhi *Hardy-Weinberg equilibrium* pada penelitian ini. Frekuensi genotipe AA = 0,75, genotipe AC = 0,18, dan genotipe CC = 0,07. Distribusi frekuensi alel A = 0,84 dan alel C = 0,16.

Simpulan

Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara polimorfisme gen AGTR1 A1166C dengan kejadian hipertensi esensial. Frekuensi genotipe CC lebih banyak pada kelompok kasus (11,8%) dibandingkan dengan kelompok kontrol (2,9%), frekuensi genotipe AC lebih banyak pada kelompok kasus (23,5%) dibandingkan dengan kelompok kontrol (11,8%), dan frekuensi genotipe AA lebih banyak pada kelompok kontrol (85,3%) dibandingkan dengan kelompok kasus (64,7%). Frekuensi alel C lebih banyak pada kelompok kasus (23,5%) dibandingkan dengan kelompok kontrol (8,8%) dan terdapat hubungan yang signifikan antara alel C dengan kejadian hipertensi esensial.

Daftar Pustaka

1. World Health Organization. *Hypertension* [Internet]. 2019 [diakses pada 21 September 2020]. Tersedia dari: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
2. Olin BR, Pharm D. *Hypertension : The Silent Killer : Updated JNC-8 Guideline Recommendations*. 2018.
3. Kementerian Kesehatan RI. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Indonesia tahun 2018. Riset Kesehatan Dasar 2018. 2018. p. 182–3.
4. Dinkes Kabupaten Cirebon. Profil Kesehatan Kabupaten Cirebon. 2017.
5. Dinas Kesehatan Kabupaten Cirebon. Profil Kesehatan Kabupaten Cirebon. 2016.
6. Kuneš J, Zicha J. *The interaction of genetic and environmental factors in the etiology of hypertension*. *Physiol Res*. 2009;58(SUPPL.2):33–42.
7. Unger T, Paulis L, Sica DA. *Therapeutic perspectives in hypertension: Novel means for renin angiotensin*

- aldosterone system modulation and emerging device-based approaches*. Eur Heart J. 2011;32(22):2739–47.
8. Shamaa MM, Fouad H, Haroun M, Shamaa LA. *Angiotensin II type 1 receptor (A1166C) gene polymorphism and essential hypertension in Egyptian population*. Egypt Hear J. 2016;68(3):165–9.
 9. Bayramoglu A, Kurt H, Gunes HV, Ata N, Birdane A, Dikmen M, et al. *Angiotensin II type 1 receptor (ATI) Gene A1166C is associated with the risk of hypertension*. Genet Test Mol Biomarkers. 2015;19(1):14–7.
 10. Chandra S, Narang R, Sreenivas V, Bhatia J, Saluja D, Srivastava K. *Association of angiotensin II type 1 receptor (A1166C) gene polymorphism and its increased expression in essential hypertension: A case-control study*. PLoS One. 2014;9(7).
 11. Ono K, Mannami T, Baba S, Yasui N, Ogihara T, Iwai N. *Lack of association between angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and hypertension in Japanese*. Hypertens Res. 2003;26(2):131–4.
 12. Soualmia H, Ayadi I, Kallel A, Jemaa R, Feki M. *Angiotensin II Receptor Gene A1166C Variant and Hypertension in Tunisian Population*. International Journal of Sciences: Basic and Applied Research. 4531:86–96.
 13. National Library of Medicine. rs5186 [Internet]. [diakses pada 6 Juni 2021]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs5186>