

IDENTIFIKASI POLIMORFISME A1298C GEN *MTHFR* PADA PASIEN HIPERTENSI ESSENSIAL

Tiar Masykuroh Pratamawati

Departemen Genetika, Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati
dr.tyar@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Hipertensi adalah salah satu penyebab utama mortalitas dan morbiditas di Indonesia, termasuk di Jawa Barat, dan khususnya Cirebon. Seseorang yang memiliki riwayat keluarga menderita hipertensi akan memiliki kemungkinan yang lebih tinggi untuk menderita hipertensi juga. Hal ini salah satunya disebabkan oleh adanya pewarisan polimorfisme A1298C gen *MTHFR*. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa adanya peran inflamasi dalam mekanisme terjadinya hipertensi. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme A1298C gen *MTHFR* pada pasien hipertensi esensial. **Metode:** Penelitian observasional dengan desain *cross sectional* yang dilakukan di Puskesmas Plumbon dan melibatkan 37 orang. Data diperoleh dengan cara pemeriksaan langsung menggunakan metode analisis gen, PCR-RFLP. **Hasil:** Terdapat 24 subjek (65%) dengan hasil polimorfisme positif dan 13 subjek (35%) dengan hasil polimorfisme negatif. **Simpulan:** Mayoritas subjek penelitian ini memiliki polimorfisme A1298C (65%).

Kata Kunci: polimorfisme A1298C gen *MTHFR*, Hipertensi esensial, PCR-RFLP

ABSTRACT

Background: Hypertension is one of the main causes of mortality and morbidity in Indonesia, including in West Java, and especially in Cirebon. Person who has a family history of suffering from hypertension will have a higher chance of suffering from hypertension as well. This is partly due to the inheritance of the A1298C polymorphism of the *MTHFR* gene. Some research also shows that the role of inflammation in the mechanism of hypertension. **Aim:** This study aims to determine the polymorphism of the A1298C *MTHFR* gene with essential hypertension. **Methods:** An observational study with cross sectional design conducted at the Plumbon Primary Healthcare and involved 37 people. Data obtained by direct examination using the method of gene analysis, PCR-RFLP. **Results:** There were 24 subjects (65%) with positive polymorphism results and 13 subjects (35%) with negative polymorphism results. **Conclusion:** The majority of the subjects of this study had A1298C polymorphism (65%)

Keywords: polymorphism A1298C *MTHFR* gene; essential hypertension, PCR-RFL

Latar Belakang

Hipertensi adalah salah satu penyebab utama mortalitas dan morbiditas di Indonesia, hampir semua konsensus/pedoman utama, menyatakan bahwa seseorang akan dikatakan hipertensi bila tekanan darah sistolik ≥ 130 mmHg dan atau diastolik ≥ 90 mmHg, pada pemeriksaan berulang.^{1,2} Menurut *World Health Organization* (WHO) hipertensi adalah penyebab kematian di dunia sebesar 7.5 milyar atau 12,8% dari total orang meninggal dunia.³

Saat ini prevalensi hipertensi di Jawa Barat berdasarkan pengukuran pada usia ≥ 18 tahun yaitu sebesar 34,1 %, tertinggi kedua setelah Kalimantan⁴. Pada tahun 2016 di Jawa Barat ditemukan 790.382 orang kasus hipertensi, kasus hipertensi tertinggi di Cirebon (17,18 %) dan terendah di Kab Pangandaran (0,05%).⁵

Gen *MTHFR* yang berlokasi di kromosom 1 lengan pendek region 3 band ke 6 sub band 3 ini memberikan instruksi untuk membuat enzim yang disebut *methylenetetrahydrofolate reductase*. Reaksi yang dilakukan oleh enzim ini diperlukan untuk proses bertahap yang mengubah asam amino *homocysteine* menjadi asam amino lain, *methionine*.

Polimorfisme gen *Methylenetetrahydrofolate reductase* di duga menjadi salah satu penyebab peningkatan kadar homosistein dan akhirnya terjadi peningkatan tekanan darah.⁶⁻⁷ Hipertensi bertindak sebagai penentu utama disfungsi endotel dan kerusakan vaskular, menginduksi aktivasi inflamasi sel endotel, rekrutmen sel inflamasi di dinding arteri dan aktivasi elemen residen vascular.⁸

Metode

Penelitian ini termasuk dalam lingkup Genetik, Ilmu Penyakit Dalam dan Biologi Molekuler, yang dilakukan di UPTD Puskesmas Plumbon. Jenis

penelitian ini adalah penelitian deskriptif observasional, dengan desain *cross sectional*. Sampel pada penelitian ini adalah pasien hipertensi esensial yang memenuhi kriteria inklusi di Puskesmas Plumbon dengan jumlah sampel yang diteliti adalah sebanyak 37 sampel.

Dilakukan pengambilan darah terlebih dahulu, lalu dilakukan ekstraksi DNA di laboratorium Genetika FK UGJ kemudian dilakukan PCR-RFLP dengan primer *forward* 5'CAAGGAGGAGCTGCTGAAGA3' dan *reverse* 5'CCACTCCAGCATCACTCACT3'. Hasil yang diharapkan pada *wildtype* akan terpotong sedangkan jika terdapat polimorfisme tidak akan terpotong dengan enzim restriksi MboII, yaitu :

- Normal (genotip AA): 72 bp dan 28 bp
- Homozygot (genotip CA): 100 bp, 72 bp, dan 28 bp
- Heterozygot (genotip CC): 100 bp.⁹

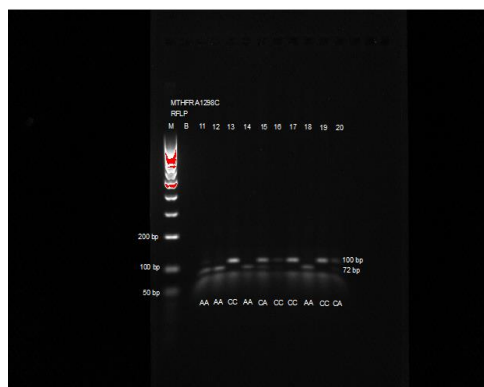
Analisis data dilakukan secara komputerisasi berupa deskripsi polimorfisme A1298C gen *MTHFR*, Frekuensi genotip, Frekuensi alel.

Hasil dan Pembahasan



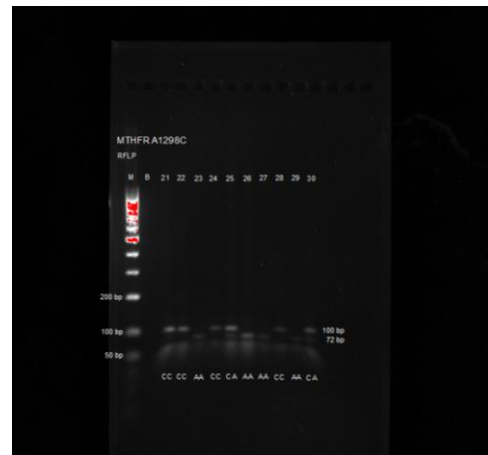
Gambar 1. Hasil PCR-RFLP sampel 1-10

Pada Gambar 1 terdapat 4 sampel normal (genotip AA), 3 sampel Homozygot mutan (genotip CA), dan 3 sampel Heterozygot mutan (genotip CC)



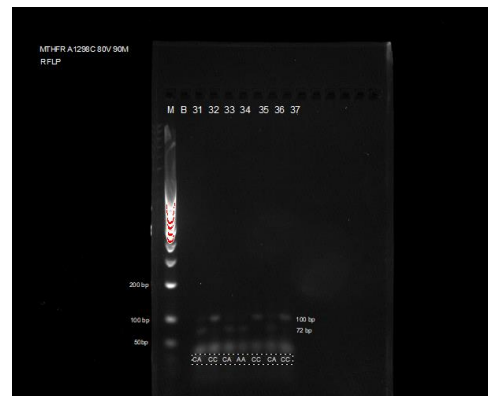
Gambar 2. Hasil PCR-RFLP sampel 11-20

Pada Gambar 2 terdapat 4 sampel normal (genotip AA), 2 sampel homozygot mutan (genotip CA), dan 4 sampel heterozygot mutan (genotip CC).



Gambar 3. Hasil PCR-RFLP sampel 21-30

Pada Gambar 3 terdapat 4 sampel normal (genotip AA), 2 sampel homozygot mutan (genotip CA), dan 4 sampel heterozygot mutan (genotip CC).



Gambar 4. Hasil PCR-RFLP sampel 30-37

Pada Gambar 4 terdapat 1 sampel normal (genotip AA), 3 sampel homozygote mutan (genotip CA), dan 3 sampel heterozygot mutan (genotip CC).

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Polimorfisme

Variabel	Frekuensi
Polimorfisme A1298C	
Ada	24 (65)
Tidak Ada	13 (35)

Tabel 1 menunjukkan bahwa mayoritas subjek penelitian ini memiliki polimorfisme A1298C (65%).

Tabel 2. Analisis Deskriptif Subjek Penelitian.

Variabel	Rerata	Standa Deviasi	Median	Min-Maks
Usia	48,78	7,94	49,00	26 – 60
Onset HT	4,53	4,77	3,00	0 - 17

Pada studi ini didapatkan menunjukkan bahwa rerata usia subjek penelitian ini adalah 48,78 tahun, awitan hipertensi rerata adalah 4,53 tahun yang lalu.

Tabel 3. Distribusi Frekuensi Genotipe

Genotype	Frekuensi (%)
AA	13 (35)
CA	10 (27)
CC	14 (38)

Distribusi frekuensi genotipe pemeriksaan polimorfisme A1298C gen *MTHFR*, terdapat 13 sampel (35%) genotipe AA, 10 sampel (27%) genotipe CA, dan 14 sampel (38%) genotipe CC.

Tabel 7. Distribusi Frekuensi Alel

Alele	Frekuensi (%)
A	36 (49%)
C	38 (51%)

Distribusi frekuensi alel A pada polimorfisme A1298C gen *MTHFR* sebanyak 36 (49%). Sedangkan untuk alel C sebanyak 38 (51%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mayoritas subjek penelitian memiliki polimorfisme A1298C gen *MTHFR* (65%) dan mengalami inflamasi pembuluh darah (70%). Distribusi frekuensi genotip menunjukkan bahwa AA = 35%, genotip AC = 27%, genotip CC = 38%, alel A = 49%, dan alel C = 51%. Hasil ini juga menjadi gambaran epidemiologis pertama di Indonesia mengenai prevalensi polimorfisme A1298C, inflamasi pembuluh darah, serta frekuensi dari berbagai genotip dan alel terkait, khususnya untuk masyarakat di wilayah Cirebon, Jawa Barat.

Perbedaan hasil penelitian ini dengan penelitian diatas dapat dikarenakan *Minor Allele Frequency* yang berbeda di setiap ras. Pada penelitian ini alel A (49%) dan alel C (51%) pada polimorfisme A1298C gen *MTHFR*, dibandingkan dengan data pada dbSNP NCBI dengan rs 1801131 yaitu 16 kali lebih besar daripada Korea dengan alel C (4%), 9 kali lebih besar daripada Vietnam dengan alel C (7%) dan 4 kali lebih besar dari Singapore alel A (15%), *MAF* yang mendekati dengan penelitian ini adalah pada populasi Siberia yaitu Alel A (50%).¹⁰⁻¹⁷

Simpulan

Mayoritas subjek penelitian ini memiliki polimorfisme A1298C gen *MTHFR* (65%) dan mengalami inflamasi pada pembuluh darah (70%). Frekuensi genotip AA = 35%, genotip AC = 27%, genotip CC = 38%, alel A = 49%, dan alel C = 51%.

Daftar Pustaka

1. Soenarta AA dkk. Pedoman Tatalaksana Hipertensi pada Penyakit Kardiovaskular. Perhimpun Dr Spesialis Kardiovaskular Indonesia. Jakarta. 2015
2. PK W, RM C, Aronow, DE C. Highlight From The 2017 Guidline for The Prevention, Detection, Evaluation and Management of High Blood Pressure in Adults. American Heart Association. 2017
3. World Heart Organization. Global Health Observatory Data: Raised Blood Pressure. WHO Raised Blood Press [Internet]. 2018. Diambil dari: https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/blood_pressure_prevalence_text/en/#
4. Kementerian Kesehatan RI. Hasil Riset Kesehatan Dasar 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Republik Indonesia. 2018.
5. Dinkes Jawa Barat. Profil Kesehatan Jawa Barat 2016. 2016
6. Genetics Home Reference. MTHFR Gene. National Library of Medicine [Internet]. 2019. Diambil dari: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/MTHFR>
7. Dinh, Quyanh, et al. Roles of Inflammation, Oxidative Stress, and Vascular Dysfunction in Hypertension. *BioMed Research International*. Hindawi Publishing corporation. Australia. 2014
8. Pauletto, Paolo. Inflammation and Hypertension : The Search for a Link. Nephro Dial Transplant. Padova. Italy. 2006
9. Muthuswamy, Srinivasan. Do the MTHFR Gene Polymorphism and Down Syndrome Pregnancy Association Stands True? A Case-Control Study of Indian Population and Meta-Analysis. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. India. 2015
10. Khalighi K, et al. Opposite impact of Methylene tetrahydrofolate reductase C677T and Methylene tetrahydrofolate reductase A1298C gene polymorphisms on systemic inflammation. *J Clin Lab Anal* [Internet] 2018 [cited 2020 Jun 12];32(5):e22401. Available from: <https://doi.wiley.com/10.1002/jcla.22401>

11. Abidi O, et al. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms (C677T and A1298C) and Hemorrhagic Stroke in Moroccan Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2018;27(7):1837–43.
12. González-Mercado MG, Rivas F, Gallegos-Arreola MP, Morán-Moguel MC, Salazar-Páramo M, González-López L, et al. *MTRR* A66G, *RFC1* G80A, and *MTHFR* C677T and A1298C Polymorphisms and Disease Activity in Mexicans with Rheumatoid Arthritis Treated with Methotrexate. *Genet Test Mol Biomarkers* [Internet] 2017 [cited 2020 Jun 12];21(11):698–704.
Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/gtmb.2017.0124>
13. Fekih-Mrissa N, et al. Methylenetetrahydrofolate Reductase (*MTHFR*) (C677T and A1298C) Polymorphisms and Vascular Complications in Patients with Type 2 Diabetes. *Can J Diabetes* 2017;41(4):366–71.
14. Perera R, et al. *MTHFR* C677T and A1298C Gene Polymorphisms and Ischemic Heart Disease (IHD) in a Sri Lankan Population-A Preliminary Study. *Indian J Mednolent Allied Sci* 2017;5(1):1–8.
15. Nursal AF, et al. *MTHFR* gene C677T and A1298C variants are associated with FMF risk in a Turkish cohort. *J Clin Lab Anal* [Internet] 2018 [cited 2020 Jun 12];32(2):e22259.
Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jcla.22259>
16. Pratamawati, MT, Winarni, IT., Hardian, Faradz H. Maternal *MTHFR* A1298C and 677T Polymorphism as The Risk Factor in Children with Down Syndrome. *Medwell Journal*. 2018
17. dbSNP NCBI : rs 180113 [internet] [cited 2020 Jun 24]
Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=1801131>