



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010, 586297

SURAT KETERANGAN JURNAL

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan bahwa :

Nama : Ventje Ramond Kawengian

No Pokok : P0200313042

Program Pendidikan : Doktor (S3)

Program Studi : Ilmu Kedokteran

Judul Jurnal :


Distribusi Nilai Ekspresi mRNA Gen SLC22A12 terhadap Kadar Asam Urat Serum dan Kadar Fraksi Ekskresi Asam Urat pada Pria Suku Minahasa

Naskah tersebut telah terakses online pada International Journal : American Journal of Molecular Biology ISSN Print : 2161-6620 ISSN Online 21616663 website : <https://www.scrip.org/journal/ajmb>
email : ajmb@scrip.org

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar , 6 Agustus 2019

an. Dekan

 Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset
dan Inovasi



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes

NIP.19671103 199802 1 001

Distribusi Nilai Ekspresi mRNA Gen SLC22A12 terhadap Kadar Asam Urat Serum dan Kadar Fraksi Ekskresi Asam Urat pada Pria Suku Minahasa

Ventje R. Kawengian¹, Syakib Bakri², Mochammad Hatta³, Hasim Kasim⁴

¹Departement of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Sam Ratulangi University Manado Indonesia.

²Departement of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Hasanuddin University Makassar Indonesia.

³Molecular Biology and Immunology Laboratory, Faculty of Medicine, Hasanuddin University Makassar Indonesia.

⁴Departement of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Hasanuddin University Makassar Indonesia.

Abstrak Pendahuluan. Asam urat (AU) 2,6,8-trihydroxypurin C₅H₄NYO₃ adalah produksi akhir metabolisme purin pada manusia. Transportasi AU di ginjal melalui penilaian fraksi ekskresi asam urat (FEAU) yang selanjutnya difiltrasi di glomerulus. Asam urat akan melalui reabsorpsi ditubulus ginjal yang dilakukan oleh gen urat transport termasuk gen SLC22A12. Penelitian tentang genotipe gen SLC22A12 dan ekspresi mRNA serta kaitannya dengan kadar AU serum dan FEAU pada suku Minahasa belum pernah dilakukan. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai ekspresi mRNA gen SLC22A12 terhadap kadar AU serum dan kadar FEAU pada pria suku Minahasa. Metode ini adalah studi potong lintang dengan 61 subjek pria dewasa suku Minahasa (18 – 60 Tahun) di desa Watumea dan Noongan. Pasien dengan gagal ginjal, sementara minum obat TB paru dan sementara pengobatan sitostatika dikeluarkan dari penelitian ini. **Hasil.** Dalam penelitian ini terdapat perbedaan yang bermakna dimana semakin tinggi kadar AU semakin besar nilai ekspresi mRNA ($P < 0,05$) dan tidak terdapat perbandingan yang bermakna dimana semakin tinggi nilai FEAU semakin kecil nilai ekspresi mRNA ($p > 0,05$). **Kesimpulan.** Nilai ekspresi mRNA gen SLC22A12 lebih tinggi pada genotipe WW. Semakin tinggi kadar AU serum semakin tinggi pula nilai ekspresi mRNA. Semakin rendah nilai FEAU semakin tinggi nilai ekspresi mRNA.

Kata kunci: Genotipe WW dan WX, gen SLC22A12, Ekspresi mRNA, AU serum, FEAU

1. Pendahuluan

Asam urat merupakan produk akhir metabolisme purin yang terdiri dari komponen karbon, nitrogen, oksigen, dan hidrogen dengan rumus molekul 2,6,8-trihydroxypurin C₅H₄NYO₃. Purin berasal dari katabolisme asam nukleat, dimana pemecahan nukleotida purin terjadi di semua sel tetapi AU hanya dihasilkan oleh jaringan yang mengandung xantin oksidase terutama dihepar dan usus kecil.¹ Prevalensi hiperurisemia pada pria sekitar 24,5 %, dan terjadi peningkatan dalam dekade terakhir, kenaikan ini dapat dikaitkan dengan sejumlah faktor termasuk bertambahnya usia, modifikasi pola hidup

dan peningkatan penggunaan tiazid.² Prevalensi hiperurisemia pada suku di Minahasa pertama kali dilaporkan oleh Rotty dan Karema tahun 1999 yang mendapatkan prevalensi AU sekitar 34,3 % pada penduduk pria dan 23,31 % pada penduduk wanita. Penelitian terakhir dilakukan oleh Ahimsa tahun 2003 melaporkan kadar AU pada pria Minahasa dengan nilai AU serum > 9 mg/dl terdapat pada 65% pria.³

Selain makanan dan minuman penyebab lain dari hiperurisemia adalah obesitas, obat-obatan, resistensi insulin, Anti diuretik hormon dan bahan kontras. Obesitas disebutkan sebagai salah satu faktor terjadinya hiperurisemia.⁴ Penduduk Minahasa mempunyai risiko hiperurisemia dihubungkan dengan tingginya prevalensi obesitas dimana untuk Provinsi Sulawesi Utara sekitar 24 % tertinggi di Indonesia.⁵

Sebagian besar AU yang beredar difiltrasi secara bebas oleh Ginjal, sekitar 90 % diantaranya akan diserap oleh nefron. Ekskresi AU melalui ginjal mewakili sekitar 60 – 70% dari total ekskresi AU tubuh, sebagian kecil AU diekskresikan melalui usus dan selanjutnya dimetabolisme oleh bakteri usus dalam proses yang disebut urikolisis usus.⁶ FEAU adalah produk filtrasi urat yang dapat diperkirakan sebagai ultra filtrasi plasma urat dikalikan laju filtrasi glomerulus sebagai hasil urat yang difiltrasi selanjutnya diekskresikan kedalam urin.⁶ Pada pasien hiperurisemia tanpa gout, kadar FEAU lebih rendah dibandingkan normourikosuri karena gout umumnya terkait dengan klirens urat ginjal yang tidak efisien.⁷ Transportasi AU diginjal dilakukan oleh gen SLC22A12 yang merupakan jalur utama untuk reabsorpsi urat luminal pada manusia.⁶ Saat ini dilaporkan terdapat 16 polimorfisme gen SLC22A12.⁸

mRNA adalah pembawa informasi genetik dari DNA yang akan translasi untuk melakukan sintesis polipeptida.⁹ mRNA berfungsi sebagai sekuens asam amino yang spesifik dari sebuah protein.¹⁰ Penelitian tentang nilai ekspresi mRNA gen SLC22A12 telah dilaporkan oleh Joseph S, dkk, dimana dari 27 gen transporter untuk obat termasuk gen SLC22A12 ditemukan nilai ekspresi mRNA lebih tinggi pada kelompok wanita usia < 50 tahun dibandingkan dengan usia > 50 tahun dan pada pria lebih tinggi nilai ekspresi mRNA daripada wanita.¹¹ Penelitian oleh Ware menemukan nilai ekspresi mRNA 6,7 pada konsentrasi AU urin, lebih tinggi dibandingkan kelompok gen transporter AU lainnya.¹²

2. Metode

2.1 Populasi

Populasi penelitian terdiri dari 61 subjek pria dewasa suku minahasa yang tinggal didesa Watumea dan Noongan. Semua peserta ditanyakan tentang garis keturunan 3 generasi suku Minahasa. Peserta dengan penyakit ginjal kronik, penyakit TB paru dalam pengobatan dan sementara pengobatan sitostatika tidak dimasukkan pada penelitian ini. Pemeriksaan AU serum berasal dari darah vena yang dihitung dengan spektrofotometri, kadar FEAU diambil dari darah vena dan urin diperiksa dengan spektrofotometri dan dihitung dengan rumus yang baku, genotipe gen SLC22A12 diperiksa dengan PCR polimorfisme dan ekspresi mRNA diperiksa dengan *Real Time* PCR.

2.2 Analisa Statistik

Penelitian ini adalah studi potong lintang untuk mengetahui perbandingan nilai ekspresi mRNA gen SLC22A12 berdasarkan kadar AU serum dan FEAU pada suku minahasa. Analisa statistik yang dilakukan yaitu untuk mengetahui perbandingan nilai ekspresi mRNA berdasarkan AU serum adalah uji normalitas dengan Shapiro-Wilk pada satu kelompok distribusi tidak normal digunakan uji Kruskal-Wallis, karena nilai ekspresi mRNA ada yang berbeda diantara kadar AU maka digunakan uji Mann-Whitney. Untuk analisis perbandingan nilai ekspresi mRNA berdasarkan FEAU digunakan uji normalitas dengan Shapiro-Wilk karena didapatkan sebaran data ada yang tidak normal dipakai uji Mann-Whitney.

3. Hasil

Data demografi dan karakteristik umum subjek penelitian ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Umum Subjek Penelitian

Variabel	N	Min-Max	Mean	SD
Umur (tahun)	61	19,00 – 66,00	42,37	± 10,97
Kreatinin (mg/dl)	61	0,67 – 1,34	0,99	± 0,13
eLFG (CKD-EPI)	61	64,00 – 130,00	93,00	± 15,14
Asam Urat Serum (mg/dl)	61	4,80 – 10,80	7,11	± 1,31
Kreatinin Urin (mg/dl)	61	17,00 - 365,00	141,00	± 82,92
Asam Urat Urin (mg/dl)	61	4,00 – 122,00	50,88	± 25,95
Fraksi Ekskresi Asam Urat	61	2,43 – 9,88	5,01	± 1,62
Average Exp. MRNA	61	6,31 – 13,16	9,93	± 2,11

Distribusi nilai ekspresi mRNA berdasarkan kelompok umur didapatkan nilai tertinggi ekspresi mRNA gen SLC22A12 pada kelompok umur 40-60 tahun dengan nilai rerata 10,34 dan yang terendah pada kelompok umur > 60 tahun dengan nilai rerata 8,72, seperti yang ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Distribusi nilai mRNA Berdasarkan Kelompok Umur

Umur	N	Nilai Ekspresi mRNA			
		Min – Max	Mean	SD	
< 40	26	6,49 – 13,06	9,66	± 2,27	
40 – 60	31	6,60 – 13,16	10,34	± 1,93	0,384
> 60	4	6,31 – 11,84	8,72	± 2,32	

Distribusi tinggi-rendahnya nilai ekspresi mRNA berdasarkan genotipe gen SLC22A12, didapatkan dari keseluruhan subjek penelitian nilai rerata ekspresi mRNA

9,93 kebanyakan nilai ekspresi mRNA pada kelompok nilai > 93 (33 subjek) dan pada kelompok < 9,93 terdapat pada 28 subjek. Berdasarkan genotipe nilai ekspresi mRNA genotipe WX lebih rendah yaitu 6,56 dibandingkan genotipe WW dengan nilai rerata 8,05 pada kelompok < 9,93 sedangkan pada kelompok > 9,93 nilai rerata 11,67, seperti ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Distribusi Genotipe WW dan WX terhadap tinggi rendahnya nilai ekspresi mRNA.

Gnt	mRNA < 9,93					mRNA > 9,93				
	N	Min	Max	Mean	SD	N	Min	Max	Mean	SD
WW	25	6,49	9,79	8,05	1,0	33	10,30	13,16	11,67	0,83
WX	3	6,31	6,78	6,56	0,24	0	0,00	0,00	0,00	0,00

3.1 Analisis Perbandingan Nilai Ekspresi mRNA berdasarkan kadar Asam Urat Serum

Hasil uji normalitas dengan Shapiro-Wilk didapatkan pada satu kelompok distribusi tidak normal ($p < 0,05$) maka pada penelitian ini digunakan uji Kruskal Wallis. Nilai ekspresi mRNA ada yang berbeda diantara kadar asam urat serum ($p < 0,05$), sehingga untuk mengetahui kadar-kadar mana yang berbeda digunakan uji Mann-Whitney. Kesimpulan dari analisis perbandingan nilai ekspresi mRNA berdasarkan kadar AU serum, terdapat perbandingan yang bermakna dimana semakin tinggi kadar AU serum semakin banyak nilai ekspresi mRNA, pada AU serum > 9 mg/dl nilai ekspresi mRNA rerata 12,49 dibandingkan kadar AU serum 7 – 9 mg/dl nilai ekspresi mRNA rerata 10,98 dan pada kadar AU serum < 7 mg/dl semakin sedikit nilai ekspresi mRNA rerata yaitu 8,44. ($p < 0,05$), seperti ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Analisis perbandingan nilai ekspresi mRNA berdasarkan kadar AU serum.

		N	Min - Max	Rerata ± S.D	P
Kadar Asam Urat Serum	< 7	33	6,31 – 11,84	8,44 ± 1,84	0.000
	7-9	22	7,26 – 13,16	10,89 ± 1,69	
	> 9	6	11,50 – 12,88	12,49 ± 0,51	

3.2 Analisis Perbandingan Nilai Ekspresi mRNA berdasarkan FEAU

Hasil uji normalitas dengan Shapiro-Wilk didapatkan sebaran data ada yang tidak normal sehingga pada penelitian ini dipakai uji Mann-Whitney. Kesimpulan dari analisis perbandingan nilai ekspresi mRNA berdasarkan kadar AU, semakin tinggi nilai kadar FEAU semakin kecil nilai ekspresi mRNA dimana kadar FEAU 7 – 12 nilai ekspresi mRNA rerata 8,81 lebih sedikit dibandingkan nilai mRNA pada kadar FEAU < 7 yaitu 10,04, namun secara uji statistik tidak bermakna. ($p > 0,05$), seperti ditunjukkan pada tabel 5.

Tabel 5. Analisis perbandingan nilai ekspresi mRNA berdasarkan kadar FEAU.

		n	Min – Max	Rerata ± S.D	P
Kadar FEAU	< 7	56	6,31 – 13,16	10,04 ± 2,06	0.227
	7 – 12	5	6,59 – 12,61	8,81 ± 2,72	

4. Diskusi

Asam urat dengan rumus molekul $C_5H_4N_4O_3$ merupakan hasil metabolisme purin yang berasal dari katabolisme asam nukleat.¹ Sebagian besar AU yang beredar difiltrasi secara bebas oleh ginjal dan umumnya akan diserap oleh nefron. Ekskresi AU melalui ginjal mewakili sekitar 60 – 70 % dari total ekskresi AU tubuh, sebagian kecil AU

diekskresikan dalam usus dan selanjutnya dimetabolisme oleh bakteri usus dalam proses yang disebut urikolisis usus⁶ hampir 99% AU yang mengalami filtrasi akan diserap disegmen S1 dari tubulus proximalis yang dimediasi oleh transporter URAT1 yang dikode gen SLC22A12. Sekresi AU terjadi pada segmen S2 melalui peran transporter organik OAT1 dan OAT3. Reabsorpsi paska sekresi urat terjadi di S3 yang dimediasi pula oleh URAT1.¹⁴ Gen SLC22A12 dikaitkan dengan kadar AU serum secara keseluruhan dan menunjukkan bahwa gen ini sebagai jalur utama untuk reabsorpsi urat luminal pada manusia⁶ mRNA sebagai pembawa informasi genetik merupakan struktur rantai tunggal untuk sintesis protein.¹³ Penelitian nilai ekspresi mRNA berdasarkan kelompok umur dan kelamin telah dilaporkan oleh Joseph dkk yang menemukan dari 27 gen transportasi obat termasuk gen SLC22A12 nilai ekspresi mRNA lebih tinggi pada kelompok wanita usia <50 tahun dibandingkan kelompok wanita > 50 tahun. Pada pria usia < 50 tahun nilai ekspresi mRNA lebih tinggi dibandingkan wanita usia < 50 tahun dan ras Eropa-Amerika lebih tinggi nilai ekspresi mRNA dibandingkan ras Afrika-Amerika.¹⁰ Pada penelitian kami berdasarkan kelompok umur ditemukan nilai ekspresi mRNA tertinggi pada kelompok umur 40 – 60 tahun dengan nilai rerata 10,34 dan terendah pada kelompok umur > 60 tahun dengan nilai rerata 8,72.

Penelitian lainnya tentang nilai ekspresi mRNA gen SLC22A12 telah dilakukan oleh Ware yang menunjukkan hubungan gen transporter urat terhadap konsentrasi AU urin, didapatkan nilai ekspresi mRNA tertinggi pada gen SLC22A12 yaitu 6,7 diikuti gen SLC2A9 -002 sebesar 6,1, SLC2A9, SLC2A9 -001 sebesar 5,7, SLC2A9 sebesar 5,4, SLC17A1 sebesar 5,0 ABCG2 sebesar 4,6 dan yang terendah gen SLC17A3 sebesar 3,6¹¹ Pada penelitian ini kami dapatkan pada gen SLC22A12 genotipe WW dengan nilai ekspresi mRNA rerata 10,11 lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe WX dengan nilai rerata 6,56 pada penelitian ini juga kami dapatkan dari keseluruhan nilai ekspresi mRNA genotipe WW dan WX nilai reratanya 9,93 dimana nilai ekspresi mRNA umumnya pada kelompok >9,93.

Penelitian oleh Slyvka Y, dkk, menemukan pada hewan coba tikus Zucker DM tipe 2 tidak ada perbedaan protein URAT 1 dikorteks ginjal antara tikus gemuk dan kurus dimedula ekspresi mRNA URAT1 44 dan 50 kDa lebih tinggi pada tikus kurus. Ekspresi mRNA URAT1 27,50,62 kDa dikorteks lebih tinggi dibandingkan medula namun

ekspresi URAT1 70 kDa lebih tinggi dalam medula dibandingkan di korteks. Kesimpulan penelitian ini terdapat peningkatan asam urat pada kelompok obese yang berhubungan dengan penurunan protein URAT1 44 dan 50 kDa di medulla.¹⁵ Pada penelitian kami dari analisis perbedaan kadar AU serum menurut nilai ekspresi mRNA terdapat perbedaan yang bermakna dimana semakin tinggi kadar AU serum semakin tinggi pula nilai ekspresi mRNA. Pada kelompok AU serum > 9 mg/dl nilai ekspresi mRNA rerata 12,49. Pada penelitian ini juga kami menemukan perbedaan kadar FEAU menurut nilai ekspresi mRNA. Semakin tinggi nilai ekspresi mRNA semakin rendah kadar FEAU dimana pada kelompok FEAU 7-12 nilai ekspresi mRNA rerata 8,81 dan pada kelompok FEAU < 7 nilai ekspresi mRNA rerata 10,04.

5. Kesimpulan

Nilai ekspresi mRNA ditemukan paling tinggi pada kelompok umur 40-60 tahun. Nilai ekspresi mRNA tertinggi pada kelompok dengan nilai 9,93. Nilai ekspresi mRNA gen SLC22A12 lebih tinggi pada genotipe WW. Semakin tinggi kadar AU serum semakin tinggi pula nilai ekspresi mRNA. Semakin rendah nilai FEAU semakin tinggi nilai ekspresi mRNA.

Daftar Pustaka

1. Nasrul E, Sofitri. Hiperurisemia Pada Diabetes. Tinjauan Pustaka. Jurnal Kesehatan Andalas. 2012; hal 86-91
2. Jordan MK. An Update On Gout. Topical Review : Report On The Rheumatic Disease. Series 5 2004 ; 4
3. Ahimsa T, Gambaran Arthritis Gout dan beberapa faktor yang mempengaruhi kadar asam urat di Minahasa. Tesis. Program Studi Ilmu Penyakit Dalam FK UNSRAT, 2003;hal 2,51
4. Hensen, Tjokorda RP. Hubungan Konsumsi Purin Dengan Hiperurisemia Pada Suku Bali Di Daerah Parawisata Pedesaan. Jurnal Penyakit Penyakit Dalam 2007; 8 : 1
5. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hasil Utama Riskesdas 2018; hal 95

6. Bobulscu IA, Moe OW. Renal Transport Of Uric Acid: Evolving Concepts And Uncertainties. Nih Public Access : Adv Chronic Kidney Dis. 2012 ; 19(6) : 358-71
7. Kannangara DRW, Ramasamy SN, Indraratna PL, Stocker SL, Graham GG, Jones G, et al. Fractional clearance of urate: validation of measurement in spot-urine samples in healthy subjects and gouty patients. Arthritis Research & Therapy 2012 ; 14 : 189
8. Sayaka K, et al. SLC22A12 W258x Frequency According To Serum Uric Acid Level Among Japanese Health Checkup Examines. Nagoya J Med Sci 2011 ; 73 : 41-8
9. Reece JB, Lisa AU, Micaheal LC, Neil AC, Peter VM, Robert BJ, Steven AW. Biology 8th edition. 2008. Pearson Benjamin Cummings: San Fransisco. P. 351.
10. Weaver, Robert T. Molecular Biology 5th. 2008. New York: McGraw-Hill. P.31
11. Joseph S, Nicolson T, Hammons G, Word B, Green-Knox B, Lyn-Cook B. Expression of Drug Transporters in Human Kidney: Impact of Sex, Age, and Ethnicity. Biology of Sex Differences 2015; 6:4
12. Ware E. B. et al. SLC2A9 Genotype Is Associated with SLC2A9 Gene Expression an Urinar Uric Acid Concentration. PLUS ONE/ DOI:10.1371/journal.pone.0128593, 2015
13. Ngo T.C, et el. Uric Acid Nephrolitiasis: Recent Progress And Future Direction. Rev Urol 2007 ; 9(1) : 17-27
14. Solomon, Eldia P, Linda RB, Diana M. Biology 8th edition. 2008. United States of America: Thomson Brooks/Cole. p.282.
15. Slyvka Y, Nowak F.V, Wooten W.M, McCall K.D, Malgor R, Wood A.S, Inman S.R. Urate Transporter 1 Protein Kadars and Localization in Type 2 Diabetic and Non-Diabetic Zucker Rat Kidneys. Open J Endocr Metab Dis 2013; 3:63-68.