



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL SKRIPSI.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN BEBAS PLAGIASI.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan.....	4
C. Tujuan	4
D. Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	5
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Dermatitis Atopik	5
2. Resiko dan Faktor Penyebab Dermatitis	9
3. Gen <i>Filaggrin (FLG)</i>	12
4. Hubungan Antara Gen <i>Filaggrin</i> dengan Penyakit Dermatitis Atopik.....	14
5. Ekspresi dan Mutasi Varian Gen <i>Filaggrin</i> Pada Manusia.....	15
6. Klasifikasi Varian Gen <i>Filaggrin</i>	16
B. Hipotesis	19
BAB III METODE	19
A. Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	19
B. Subjek Penelitian	19
1. Kriteria Inklusi	19



2. Kriteria Eksklusi	19
C. Bahan dan Alat Penelitian	20
1. Bahan	20
2. Alat	20
D. Cara Kerja	21
1. <i>Ethical Clearance</i>	21
2. Koleksi Sampel dan Kontrol	22
3. Preparasi Sampel dan Kontrol.....	24
4. Ekstraksi DNA	25
4.1.Lisis sel (<i>Cell Lysis</i>).....	25
4.2.Pengikatan DNA (<i>DNA Binding</i>).....	25
4.3.Pencucian (<i>Wash</i>).....	26
4.4.Elusi DNA (<i>DNA Elution</i>).....	26
5. Kualifikasi dan Kuantifikasi DNA <i>Nanodrop</i>	27
6. Desain Primer.....	27
7. Amplifikasi DNA	29
8. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	29
9. Elektroforesis <i>Agarose Gel</i> dan Visualisasi Pita DNA.....	31
10. <i>Sanger Sequencing</i>	33
10.1. <i>Sequencing</i> DNA untuk Deteksi Varian Gen.....	33
10.2. Analisis data	34
11. <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS).....	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
A. Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian.....	36
B. Hasil Ekstraksi DNA.....	39
C. Primer untuk Amplifikasi dan <i>Sequencing Exon 3</i> Gen <i>FLG</i>	41
D. Hasil Amplifikasi DNA dengan PCR dan Hasil Elektroforesis	41
E. Analisis Hasil <i>Sequencing</i>	42
F. <i>Sanger Sequencing</i>	43



1. Hasil penemuan Varian Gen <i>Filaggrin</i> berdasarkan metode <i>Sanger Sequencing</i>	43
2. Analisis Varian yang Terdeteksi Berasosiasi Terhadap Penyakit Pada Metode <i>Sanger Sequencing</i>	45
3. Distribusi Varian Polimorfisme gen <i>Filaggrin (FLG)</i> rs760728737 dan rs3126072.....	54
G. <i>Next-Generation Sequencing</i>	56
1. Hasil penemuan Varian Gen <i>Filaggrin</i> berdasarkan metode <i>Next-Generation Sequencing</i>	56
2. Analisis Varian yang Terdeteksi Berasosiasi Terhadap Penyakit Pada Metode <i>Next-Generation Sequencing</i>	67
H. Karakterisasi Kondisi Dermatologis pada Pasien.....	69
I. Perbedaan Kondisi dan Gejala yang Dialami Oleh Pasien Dermatitis Atopik dan Ichthyosis Vulgaris.....	71
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	74
A. Kesimpulan.....	74
B. Saran.....	74
DAFTAR PUSTAKA.....	76
LAMPIRAN.....	85



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Gambaran kondisi klinis dermatitis atopik pada berbagai usia	6
Gambar 2. Tanda-tanda klinis dermatitis atopik pada 3 ras kulit berbeda yang dilihat berdasarkan ciri kulit kemerahan dan likenifikasi kulit	7
Gambar 3. Diagram representasi faktor-faktor yang berkontribusi terhadap patogenesis dermatitis atopik.	9
Gambar 4. Gen <i>Filaggrin</i> pada manusia Pisang Raja.....	13
Gambar 5. Letak varian SNP gen <i>Filaggrin</i> 3321delA dan S2554X	16
Gambar 6. Macam kategori klasifikasi varian berdasarkan ACMG.....	17
Gambar 7. Prediksi <i>amplicon</i> hasil PCR untuk deteksi polimorfisme exon 3 gen <i>FLG</i>	41
Gambar 8. Hasil amplifikasi menggunakan PCR yang telah tervisualisasi melalui gel agarose pada gen <i>FLG</i> . Tanaman <i>V. limbata</i>	42
Gambar 9. Hasil <i>alignment sequence</i> DNA untuk deteksi SNP rs760728737 (E2555*) sebagai varian gen patogenik dengan lokasi target <i>exon 3</i> gen <i>FLG</i>	48
Gambar 10 Hasil analisis kromatogram untuk deteksi SNP rs760728737 (E2555*) sebagai varian gen patogenik dengan lokasi target <i>exon 3</i> gen <i>FLG</i>	48
Gambar 11. Data HGVS yang terdaftar pada <i>database</i> ClinVar NCBI untuk varian SNP rs760728737 (E2555*)..	49
Gambar 12. Hasil <i>alignment sequence</i> DNA untuk deteksi SNP rs3126072 (G2545R) sebagai varian gen patogenik dengan lokasi target <i>exon 3</i> gen <i>FLG</i>	51
Gambar 13. Hasil analisis kromatogram untuk deteksi SNP rs3126072 (G2545R) sebagai varian gen patogenik dengan lokasi target <i>exon 3</i> gen <i>FLG</i>	51
Gambar 14. Data HGVS yang terdaftar pada <i>database</i> ClinVar NCBI untuk varian SNP rs3126072 (G2545R).....	52



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik pasien dermatitis atopik yang berkaitan dengan etnis pasien dan gen-gen yang berasosiasi didalamnya.....	8
Tabel 2. Beberapa faktor lingkungan yang dapat memodulasi penyakit dermatitis atopik	10
Tabel 3. Beberapa gen lain yang berkaitan dan berasosiasi dengan penyakit dermatitis atopik.....	11
Tabel 4. Kategori usia dan jenis kelamin pada pasien dan kontrol	22
Tabel 5. Kategori diagnosa dari pasien dan kontrol	23
Tabel 6. Rincian Primer untuk deteksi SNP pada gen <i>FLG</i>	29
Tabel 7. Komponen <i>Master Mix</i> PCR	30
Tabel 8. Temperatur dan durasi siklus PCR	30
Tabel 9. Pengelompokkan dan rincian karakteristik pada tiap subjek penelitian	36
Tabel 10. Hasil analisis konsentrasi serta kemurnian DNA.	40
Tabel 11. Hasil penemuan Varian Gen <i>Filaggrin</i> berdasarkan metode Sanger <i>Sequencing</i>	43
Tabel 12. Macam Macam varian gen <i>Filaggrin</i> yang berasosiasi dengan penyakit melalui metode <i>Sanger Sequencing</i>	34
Tabel 13. Penggolongan macam penyakit yang terdeteksi pada tiap sampel menggunakan metode <i>Sanger Sequencing</i>	47
Tabel 14. Distribusi varian polimorfisme varian SNP rs3126072 dan rs760728737	54
Tabel 15. Hasil penemuan varian gen <i>Filaggrin</i> berdasarkan metode <i>Next-Generation Sequencing</i>	56
Tabel 16. Macam varian gen <i>Filaggrin</i> yang berasosiasi dengan penyakit melalui metode <i>Next-Generation Sequencing</i>	67
Tabel 17. Macam penyakit yang ditemukan pada analisis menggunakan metode <i>Next-Generation Sequencing</i>	68



Tabel 18. Kondisi dermatologis yang ditemukan pada pasien dermatitis Atopik di Rumah Sakit Panti Rapih Yogyakarta.....	69
Tabel 19. Perbedaan kondisi dan gejala yang dialami oleh pasien dermatitis atopik dan ichthyosis vulgaris	71



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan <i>Ethical Clearance</i> Klinik Penyakit Kulit Rumah Sakit Panti Rapih Yogyakarta.....	85
Lampiran 2. Lembar <i>Informed Consent</i>	86



DAFTAR SINGKATAN

Simbol/ Singkatan	Definisi	Muncul pertama kali pada halaman
<i>FLG</i>	Kode Gen <i>Filaggrin</i>	xv
<i>SPIK5</i>	Kode Gen <i>Serine Peptidase Inhibitor Kazal Type 5</i>	xv
<i>KIF3A</i>	Kode Gen <i>Kinesin Family Member 3A</i>	xv
<i>CARD11</i>	Kode Gen <i>Caspase Recruitment Domain Family Member 11</i>	xv
<i>DSG1</i>	Kode Gen <i>Desmoglein 11</i>	xv
<i>DSP</i>	Kode Gen <i>Desmoplakin</i>	xv
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>	xv
IGV	<i>Integrative Genomics Viewer</i>	xv
VUS	<i>Variants of Uncertain Significances</i>	xv
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>	xv
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>	xv
ISAAC	<i>International Study of Asthma and Allergies in Childhood</i>	1
IgE	<i>Immunoglobulin-E</i>	9
SC	<i>Stratum Corneum</i>	13
NMF	<i>Natural Moisturizing Factor</i>	13
TEWL	<i>Trans Epidermal Water Loss</i>	13
Lof-FLG	<i>Lost Function of Filaggrin</i>	15
LPPT	Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu	19
IGF	<i>Integrated Genome Factory Terminator Labelling</i>	18



DAFTAR SINGKATAN (Lanjutan)

Simbol/ Singkatan	Definisi	Muncul pertama kali pada halaman
EC	<i>Ethical Clearance</i>	21
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>	21