

## DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
PERNYATAAN PROMOVENDUS .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
DAFTAR SINGKATAN .....	xix
INTISARI.....	xxi
ABSTRACT .....	xxii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	7
C. Tujuan Penelitian .....	7
D. Manfaat Penelitian .....	8
E. Keaslian Penelitian .....	9
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Penyakit Hirschsprung .....	12



B. Sistem Saraf Enterik .....	18
C. Sel Cajal .....	23
D. Gen yang berperan dalam HSCR .....	25
E. <i>Rearranged during Transfection receptor</i> .....	30
F. <i>Endothelin-<math>\beta</math> Receptor</i> .....	38
G. <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	45
H. Polimorfisme dan <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> ...	47
I. Landasan Teori .....	51
J. Kerangka Konsep Penelitian.....	53
K. Hipotesis .....	53
III. METODE PENELITIAN	
A. Desain Penelitian .....	55
B. Tempat dan Waktu Penelitian .....	55
C. Populasi dan Sampel .....	55
D. Variabel Penelitian .....	56
E. Definisi Operasional .....	57
F. Pemeriksaan Laboratorium . .....	58
G. Analisis Data .....	65
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Karakteristik Subyek Penelitian .....	66
I. Jenis kelamin .....	66

2. Panjang segmen aganglionik .....	67
3. Kelainan bawaan penyerta .....	69
B. Polimorfisme c135G>A gena RET.....	70
1. Gambaran elektroforesis hasil digesti enzim restriksi <i>EagI</i> .....	70
2. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c135G>A gena RET pada subyek HSCR dan kontrol .....	71
3. Distribusi frekuensi alel polimorfisme c135G>A gena RET pada subyek HSCR dan kontrol .....	73
4. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c135G>A gena RET berdasarkan jenis kelamin pada subyek HSCR dan kontrol .....	74
5. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c135G>A gena RET berdasarkan panjang segmen aganglionik.....	75
6. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c135G>A gena RET dan panjang segmen aganglionik pada subyek HSCR berdasarkan jenis kelamin.. .....	78
7. Pemeriksaan <i>Exonic Splicing Enhancer</i> .....	79
C. Polimorfisme c2307T>G gena RET .....	82
1. Gambaran elektroforesis hasil digesti enzim restriksi <i>TagI</i> .....	82
2. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol .....	83
3. Distribusi frekuensi alel polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol .....	85

4. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET berdasarkan jenis kelamin pada subyek HSCR dan kontrol .....	87
5. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET berdasarkan panjang segmen aganglionik.....	88
6. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET dan panjang segmen aganglionik pada subyek HSCR berdasarkan jenis kelamin.. .....	89
D. Polimorfisme c2712C>G gena RET.....	90
E. Polimorfisme c831G>A gena EDNRB.....	93
F. Pola Haplotipe Polimorfisme gena RET.....	96
1. Pola genotipe pada polimorfisme c135G>A dan c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol.....	96
2. Pola haplotipe pada polimorfisme c135G>A dan c2307T>G gena RET pada subyek HSCR berdasarkan panjang segmen aganglionosis .....	99
3. Pola haplotipe pada polimorfisme c135G>A dan c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol berdasarkan jenis kelamin .....	100
G. Kombinasi polimorfisme gena RET dan gena EDNRB pada HSCR .....	102
H. Keterbatasan Penelitian .....	106



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan .....	107
B. Saran .....	108
RINGKASAN .....	109
SUMMARY .....	131
DAFTAR PUSTAKA .....	148
CURICULUM VITAE PROMOVENDUS .....	157
LAMPIRAN .....	158

## DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Epidemiologi dan risiko kejadian HSCR.....	17
Tabel 2. Abnormalitas kromosom yang disertai dengan HSCR .....	18
Tabel 3. Analisis mutasi pada gena yang terlibat pada kasus HSCR.....	27
Tabel 4. Primer dan suhu annealing pada masing-masing ekson.....	60
Tabel 5. Primer dan suhu <i>annealing</i> pada masing-masing ekson dalam pemeriksaan dHPLC .....	62
Tabel 6. Hubungan panjang segmen aganglionik dengan jenis kelamin pada subyek HSCR di Yogyakarta .....	68
Tabel 7. Distribusi genotipe polimorfisme c135G>A gena RET pada subyek HSCR dan kontrol di Yogyakarta .....	72
Tabel 8. Distribusi alel polimorfisme c135G>A gena RET pada subyek HSCR dan kontrol di Yogyakarta.....	73
Tabel 9. Perbandingan distribusi alel ekson 2 polimorfisme gena RET pada penyakit Hirschsprung.....	74
Tabel 10. Distribusi genotipe polimorfisme c135G>A gena RET berdasarkan jenis kelamin pada subyek HSCR dan kontrol di Yogyakarta .....	75
Tabel 11. Distribusi genotipe polimorfisme c135G>A gena RET pada subyek HSCR berdasarkan panjang segmen aganglionik di Yogyakarta.....	76
Tabel 12. Distribusi frekuensi polimorfisme c135G>A gena RET pada subyek HSCR berdasarkan panjang segmen aganglionik pada beberapa negara .....	78
Tabel 13. Distribusi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol berdasarkan jenis kelamin di Yogyakarta.....	79
Tabel 14. Hasil pemeriksaan ESE menggunakan <i>ESEFinder</i> .....	80
Tabel 15. Distribusi frekuensi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol di Yogyakarta .....	84



Tabel 16.	Distribusi frekuensi alel polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol di Yogyakarta .....	85
Tabel 17.	Distribusi frekuensi alel polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol di beberapa negara.....	86
Tabel 18.	Distribusi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET dan panjang segmen aganglionik pada subyek HSCR berdasarkan jenis kelamin di Yogyakarta.....	87
Tabel 19.	Distribusi genotipe polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR berdasarkan panjang segmen aganglionik di Yogyakarta.....	88
Tabel 20.	Distribusi frekuensi polimorfisme c2307T>G gena RET pada subyek HSCR berdasarkan panjang segmen aganglionik pada beberapa negara .....	89
Tabel 21.	Distribusi genotip polimorfisme c2307T>G gena RET berdasarkan panjang segmen aganglionik pada subyek HSCR pada laki-laki dan perempuan di Yogyakarta.....	90
Tabel 22.	Distribusi frekuensi alel polimorfisme c2712C>G gena RET pada subyek HSCR dan kontrol di beberapa negara.....	92
Tabel 23.	Perbandingan distribusi alel ekson 4 polimorfisme gena EDNRB pada penyakit Hirschsprung di beberapa negara.....	94
Tabel 24.	Distribusi frekuensi haplotipe polimorfisme c135G>A dan c2307T>G pada subyek HSCR dan kontrol.....	97
Tabel 25.	Distribusi frekuensi haplotipe polimorfisme c135G>A dan c2307T>G pada subyek HSCR berdasarkan panjang segmen aganglionosis.....	100
Tabel 26.	Analisis distribusi frekuensi haplotipe polimorfisme c135G>A dan c2307T>G pada subyek HSCR dan kontrol berdasarkan jenis kelamin.....	101

## DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 1. Sistem saraf enterik .....	13
Gambar 2. Kolonisasi sel krista neuralis .....	19
Gambar 3. Kontribusi sel krista neuralis pada ENS.....	20
Gambar 4. Fenotipe tikus dengan mutasi gena pada jalur sinyal Ret/Gfra1/Gdnf dan Ednr/Edn-3.....	29
Gambar 5. Posisi promoter, ekson dan intron pada gena RET.....	30
Gambar 6. Struktur RET.....	33
Gambar 7. Model aktivasi RET.....	34
Gambar 8. Model aktivasi <i>cis</i> dan <i>trans</i> .....	36
Gambar 9. Protein heptahelik EDNRB.....	39
Gambar 10. Proses enzimatik preproendotelin ke dalam proendotelin....	41
Gambar 11. Mutasi pada gena EDNRB.....	42
Gambar 12. Langkah-langkah dalam <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	46
Gambar 13. Gambaran metode analisis c135G>A.....	50
Gambar 14. Kerangka konsep .....	53
Gambar 15. Metode skrining mutasi dengan dHPLC .....	63
Gambar 16. Metode pemeriksaan <i>sequencing</i> DNA .....	64
Gambar 17. Produk digesti polimorfisme c135G>A gena RET.....	71
Gambar 18. Produk digesti polimorfisme c2307T>G gena RET.....	83
Gambar 19. Hasil sekuensing DNA pada ekson 15 gena RET.....	91
Gambar 20. Hasil Pemeriksaan dHPLC .....	94
Gambar 21. Interaksi sinyal yang diperantarai RET dan EDNRB .....	105



## DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
Lampiran 1. Isolasi DNA .....	158
Lampiran 2. <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	161
Lampiran 3. PCR-RFLP .....	162
Lampiran 4. Pemeriksaan dHPLC .....	166
Lampiran 5. Protokol untuk sekuensing.....	167
Lampiran 6. Hasil pemeriksaan dHPLC .....	169
Lampiran 7. <i>Informed Consent</i> .....	171
Lampiran 8. <i>Ethical clearance</i> .....	172

## DAFTAR SINGKATAN

A	: <i>Adenine</i>
ART	: <i>Artemine</i>
bp	: <i>base pair</i>
C	: <i>Cytosine</i>
CHD	: <i>Congenital Heart Disease</i>
DAG	: <i>Diacyl Glycerol</i>
ddH <sub>2</sub> O	: <i>double destilated H<sub>2</sub>O</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTP	: <i>deoxy Nucleoside Tri Phosphate</i>
ECCEs	: <i>Enteric Neural Crest Cells</i>
ECE-1	: <i>Endothelin Converting Enzyme-1</i>
EDN-3	: <i>Endothelin-3</i>
EDNRA	: <i>Endothelin A Receptor</i>
EDNRB	: <i>Endothelin B Receptor</i>
ENS	: <i>Enteric Nervous System</i>
G	: <i>Guanine</i>
GDNF	: <i>Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor</i>
GFLs	: <i>GDNF Family Ligand</i>
GFR $\alpha$	: <i>GDNF Family Receptor <math>\alpha</math></i>
GPI	: <i>Glycocyl Phosphatidylinositol</i>
HSCR	: <i>Hirschsprung Disease</i>
ICC	: <i>Interstitial Cells of Cajal</i>
IP <sub>3</sub>	: <i>Inositol Triphosphate</i>
KL	: <i>Kit-ligand</i>
LSA	: <i>Long Segment Aganglionosis</i>
MAPK	: <i>Mitogen Activated Proteine Kinase</i>
NTN	: <i>Neurturine</i>
OR	: <i>Odd Ratio</i>
PBS	: <i>Phosphate-Buffered Saline</i>

PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCR-RFLP	: <i>PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PHOX2B	: <i>Paired Like Homeobox 2B gene</i>
PI3K	: <i>Phosphatidylinositol-3-Kinase</i>
PSPN	: <i>Persephine</i>
Ret	: <i>Proto-oncogene Rearranged During Transfection (gena)</i>
RET	: <i>Proto-oncogene Rearranged During Transfection (protein)</i>
RM	: <i>Retardasi Mental</i>
SIP1	: <i>Smad Interacting Protein-1</i>
SOX10	: <i>SRY Box 10 gene</i>
SSA	: <i>Short Segment Aganglionosis</i>
T	: <i>Thymine</i>
TAE	: <i>Tris-Acetat Acid-EDTA</i>
<i>Taq DNA polymerase: Termus Aquaticus DNA Polymerase</i>	
TBE	: <i>Tris Boric Acid-EDTA</i>
TGF- $\beta$	: <i>Tumor Growth Factor-<math>\beta</math></i>
U	: <i>Uracil</i>
UTR	: <i>untranslated region</i>
ZFHX1B	: <i>Zinc Finger Homeobox 1B gene</i>