

DAFTAR ISI

Tesis	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	5
C. Pertanyaan Penelitian	6
D. Tujuan Penelitian.....	7
E. Keaslian Penelitian	7
F. Manfaat Penelitian.....	10
BAB II.....	12
A. Alkohol Sebagai Faktor Risiko	12
B. Kategori Peminum Alkohol	13
C. Kategori Minuman Beralkohol.....	14
D. Metabolisme Alkohol	22
E. Metabolisme Nonoksidatif.....	25
F. Kurva Alkohol Dalam Darah	25
G. Pengaruh Enzim–Enzim dalam Metabolisme Alkohol	28
H. Enzim Yang Berperan Dalam Metabolisme Alkohol	29
1. Alkohol Dehidrogenase (ADH).....	29
2. Alkohol Dehidrogenase 2 (ADH2).....	30
I. Patofisiologi Alkohol dan Sirosis.....	35
J. Polimorfisme Dan Kerentanan/Kelemahan Genetik Dalam Berkembangnya Sirosis.....	37
K. DNA dan Konsep Polimorfisme	39
L. Tes Fungsi Liver.....	40
M. Transaminase.....	40
N. GGT.....	41
O. Hubungan SGOT, SGPT, dan GGT	41
P. Albumin.....	42
Q. Globulin.....	43
R. Bilirubin	44
S. <i>Model for End-Stage Liver Disease</i> (MELD)	46
T. <i>Child-Turcotte-Pugh Score</i> (CTP)	47
U. NTT	48
V. Metode Penentuan Polimorfisme Gen.....	51

1.	Pengambilan Sampel.....	51
2.	Ekstraksi DNA	52
3.	Mengukur kadar kemurnian DNA	52
4.	Amplifikasi Polymerase Chain Reaction (PCR).....	53
5.	Elektroforesis dan Pewarnaan.....	55
W.	Metode Penentuan Fungsi Liver (SGOT, SGPT, dan GGT).....	60
X.	Kerangka Teori.....	61
Y.	Kerangka Konsep	62
Z.	Hipotesis.....	62
BAB III	63
A.	Desain Penelitian	63
B.	Tempat dan Waktu Penelitian	63
C.	Populasi Sampel Penelitian	63
D.	Besar Sampel Penelitian.....	64
E.	Kriteria Subyek Penelitian	65
1.	Kriteria inklusi	65
2.	Kriteria eksklusi.....	65
F.	Identifikasi Variabel Penelitian	65
G.	Definisi Operasional.....	66
H.	Cara Penelitian	68
I.	Analisa Data	75
J.	Pengendalian Penyimpangan Protokol.....	77
K.	Keterbatasan Penelitian	77
L.	Pertimbangan Etik	78
M.	Organisasi Penelitian.....	78
BAB IV	79
A.	Karakteristik Umum dan Frekuensi Distribusi Alel.....	79
B.	Proporsi ADH2 Dengan Status Fungsi Hati.....	86
C.	Proporsi ADH2 Dengan Perilaku dan Tingkat Konsumsi Alkohol	89
D.	Proporsi Polimorfisme ADH2 Pada Peminum Alkohol, Bukan Peminum Alkohol Dan SGOT	91
E.	Proporsi Polimorfisme ADH2 Pada Peminum Alkohol, Bukan Peminum Alkohol Dan SGPT	92
F.	Proporsi Polimorfisme ADH2 Pada Peminum Alkohol, Bukan Peminum Alkohol Dan GGT	93
G.	Analisis Multivariat.....	94
BAB V	97
A.	Kesimpulan.....	97
B.	Saran.....	98
PUSTAKA	100
LAMPIRAN	107

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Hubungan penyakit liver dengan penyalahgunaan alkohol kronis, HBV: Hepatitis B virus, HCV: Hepatitis C Virus, HCC: Hepatocellular carcinoma (Gaviria <i>et al.</i> , 2016).....	13
Gambar 2.	Perbandingan metabolisme etanol dan metanol dalam hati oleh alkohol dehidrogenase (ADH) dan enzim aldehida dehidrogenase (ALDH) menjadi lebih banyak metabolit toksik, asetaldehid dan formaldehida. Juga ditunjukkan adalah struktur kimia inhibitor enzim 4-metil pirazol (ADH) dan disulfiram (ALDH) (Jones, 2019).....	24
Gambar 3.	Profil konsentrasi waktu etanol dalam darah setelah tiga dosis etanol dikonsumsi pada lambung kosong dalam 15-25 menit. Kurva rata-rata untuk N=16 subjek yang menelan setiap dosis etanol. Fase Rectilinear turun ditandai untuk setiap dosis etanol (Jones, 2019)..	27
Gambar 4.	Profil konsentrasi-waktu etanol dalam darah untuk satu subjek yang minum 0,80 g/kgBB dalam 30 menit setelah puasa semalam. Metode digunakan untuk menurunkan laju penurunan β -slope/zero-order ditunjukkan sebagai gradien dari fase <i>Rectilinear</i> menurun (Jones, 2019).	27
Gambar 5.	Tiga jalur utama dalam metabolisme alkohol. ADH: Alkohol Dehidrogenase; CYP2E1: subfamily citokrom P450 2E1. ALDH: Aldehid Dehidrogenase. Metabolisme oksidatif alkohol ADH; CYP2E1, katalase, dan ALDH2 enzim yang berkontribusi memetabolisme oksidatif alkohol (Gaviria <i>et al.</i> , 2016).	29
Gambar 6.	Efek toksik metabolisme alkohol. ROS: Reaktif Oxygen Species (Gaviria <i>et al.</i> , 2016).....	35
Gambar 7.	Gambaran Geografis NTT (BIPDS, 2018)	49
Gambar 8.	Bagan proses analisis DNA	51
Gambar 9.	Absorbansi UV oleh larutan yang mengandung DNA maksimal pada 260 nm. Rasio 260 : 280 sebesar 1,91 mengindikasikan bahwa ekstrak tidak terkontaminasi oleh protein (Goodwin <i>et al.</i> , 2011). .	53
Gambar 10.	Proses PCR (Goodwin, <i>et al.</i> , 2011).	55
Gambar 11.	Identifikasi fragmen ADH3 dengan analisis <i>South Hybridation</i> . DNA ragi diisolasi dan dicerna dengan enzim restriksi, dan sampel dielektroforesis pada gel agarosa 1% (Young & Pilgrim, 1985).	56
Gambar 12.	Ukuran relatif dan posisi tujuh gen ADH manusia pada lengan panjang kromosom (Al-Tu'ma <i>et al.</i> , 2015).	57
Gambar 13.	Penyaringan ADH2 genotip pada elektroforesis gel Agarose (Al-Tu'ma <i>et al.</i> , 2015).	58
Gambar 14.	Deteksi elektroforesis microchip otomatis ADH1B dan genotipe SNP ALDH2. Jalur 1, ADH1B*2/*2 (185, 163 bp); Jalur 2, ADH1B*1/*1 (348 bp); Jalur 3, ADH1B*1/*2 (348, 185, 163 bp); Jalur 4, ALDH2*2/*2 (430 bp); Jalur 5, ALDH2*1/*1 (296, 134 bp); Jalur 6, ALDH2*1/*2 (430, 296, 134 bp). LM, penanda lebih rendah; UM, penanda atas (Hayashida, 2010).	59

- Gambar 15. Langkah Penelitian 69
- Gambar 16. Hasil PCR-RFLP. M adalah *marker* yang menandai setiap 100 bp. U adalah DNA hasil PCR yang tidak dilakukan RFLP (*uncut*). Jalur 7 adalah ADH2*1 *Wild type* homozigot *uncut* (92bp). Jalur 8, 31, 61, dan 73 adalah ADH2*2 tipe heterozigot (90 bp dan 60 bp). Jalur 57 adalah ADH2*3 tipe homozigot (60 bp)..... 81
- Gambar 17. Hasil PCR-RFLP. M adalah *marker* yang menandai setiap 100 bp. U adalah DNA hasil PCR yang tidak dilakukan RFLP (*uncut*). Jalur 2, 10, 12, 13, 16, 23, 27, 37, 45, 55, 58, 59, 60, 63, 65, 69, dan 74 adalah ADH2*2 tipe heterozigot terpotong menjadi 92 bp, 60 bp dan 30 bp (tidak terlihat). Jalur 3, 38, 40, 41, 57, dan 64 adalah ADH2*3 tipe homozigot terpotong menjadi 60 bp dan 30 bp (tidak terlihat)..... 82
- Gambar 18. Hasil PCR-RFLP. M adalah *marker* yang menandai setiap 100 bp. U adalah DNA hasil PCR yang tidak dilakukan RFLP. Jalur 75, 76, 77, 78, 85, 87, 89, 90, 94, 95, 104, 105, dan 114 adalah ADH2*2 tipe heterozigot terpotong menjadi 92 bp, 60 bp, dan 30 bp (tidak terlihat). Jalur 79, 80, 81, 91, 93, 109, 110 adalah ADH2*3 tipe homozigot terpotong menjadi 60 bp dan 30 bp (tidak terlihat). 82
- Gambar 19. Hasil PCR-RFLP. M adalah *marker* yang menandai setiap 100 bp. U adalah DNA hasil PCR yang tidak dilakukan RFLP (*uncut*). Jalur 116, 117, 118, 124, 142, dan 143 adalah ADH2*2 tipe heterozigot terpotong menjadi 92 bp, 60 bp, dan 30 bp (tidak terlihat). Jalur 125, 130, 131, 137, 144, dan 158 adalah ADH2*3 tipe homozigot terpotong menjadi 60 bp dan 30 bp (tidak terlihat). 83

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Polimorfisme ADH2, polimorfisme metabolis alkohol dan ALD (<i>Alcoholic Liver Disease</i>) (Stickel & Osterricher, 2006).	8
Tabel 2.	Hubungan efek dari konsumsi alkohol dan polimorfisme ADH2 dan ALDH2 pada kejadian kanker esofagus (Yang <i>et al.</i> , 2005).	10
Tabel 3.	Daftar standar mutu minuman beralkohol (BPOM, 2016)	15
Tabel 4.	Polimorfisme gen ADH1 dan perubahan fungsinya (He <i>et al.</i> , 2015).	30
Tabel 5.	Gen dan ekspresi protein ADH (Zakhari, 2006).	32
Tabel 6.	Distribusi ADH2 Genotip Pada Kasus Berbeda Cohort Dibandingkan Dengan Pasien Sehat Sebagai Kontrol (Basumatary <i>et al.</i> , 2017).	34
Tabel 7.	Distribusi ADH2 Genotip Pada Kasus CLD dan Sirosis Alkoholik Cohort Dibandingkan dengan AWLD; dan Kasus Sirosis Alkoholik Dibandingkan Dengan CLD (Basumatary <i>et al.</i> , 2017).	34
Tabel 8.	Penelitian polimorfisme gen ADH dan ALDH yang tampak pada beberapa populasi berbeda (Gaviria <i>et al.</i> , 2016).	38
Tabel 9.	Kriteria <i>Staging Child-Pugh</i> (Villanueva, <i>et al.</i> , 2019).	48
Tabel 10.	Karakteristik Subyek	80
Tabel 11.	Frekuensi distribusi alel ADH2	84
Tabel 12.	Proporsi karakteristik dengan alel (Korelasi Spearman untuk data ordinal dan numeric, Mann Whitney untuk data nominal).	85
Tabel 13.	Proporsi jenis kelamin dan frekuensi minum	86
Tabel 14.	Proporsi ADH2 dengan SGOT	87
Tabel 15.	Proporsi ADH2 dengan SGPT	87
Tabel 16.	Proporsi ADH2 dengan GGT	88
Tabel 17.	Proporsi <i>genotype</i> ADH2 dengan perilaku minum	89
Tabel 18.	Proporsi <i>genotype</i> ADH2 dengan tingkat konsumsi alkohol pada subyek dengan perilaku minum alkohol.	90
Tabel 19.	Proporsi polimorfisme ADH2 pada peminum alkohol, bukan peminum alkohol, dan SGOT.	91
Tabel 20.	Proporsi polimorfisme ADH2 pada peminum alkohol, bukan peminum alkohol, dan SGPT.	92
Tabel 21.	Proporsi polimorfisme ADH2 pada peminum alkohol, bukan peminum alkohol, dan GGT.	93
Tabel 22.	Proporsi merokok dengan SGOT pada tiap alel	94
Tabel 23.	Proporsi merokok dengan SGPT pada tiap alel	95
Tabel 24.	Proporsi merokok dengan GGT pada tiap alel	95

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Nilai koefisien perhitungan sampel	107
Lampiran 2.	Keterangan koefisien padarumus perhitungan sampel	107
Lampiran 3.	Standar normal deviasi (distribusi Z) untuk kesalahan α dan β .	108
Lampiran 4.	Mesin PCR.....	108
Lampiran 5.	Proses PCR ADH2	109
Lampiran 6.	Formulir Penelitian	110
Lampiran 7.	Data analisa statistik karakteristik umum.....	111
Lampiran 8.	Data analisa statistik nilai SGOT (AST), SGPT (ALT), dan GGT pada etnis NTT.	111
Lampiran 9.	Data analisa statistik Uji Chi-Square dan Kruskal-Wallis polimorfisme gen ADH2 dibandingkan dengan SGOT (AST), SGPT (ALT), dan GGT pada etnis NTT.	113
Lampiran 10.	Data analisa statistik polimorfisme gen ADH2 dibandingkan dengan karakteristik umum pada etnis NTT.	114
Lampiran 11.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme ADH2 dan jenis kelamin pada etnis NTT.	115
Lampiran 12.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan kategori BMI pada etnis NTT.	116
Lampiran 13.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan frekuensi minum pada etnis NTT.....	117
Lampiran 14.	Data analisa statistik uji Chi-Square polimorfisme gen ADH2 dan frekuensi olahraga pada etnis NTT.....	118
Lampiran 15.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan frekuensi merokok pada etnis NTT.....	118
Lampiran 16.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme ADH2 dan frekuensi pinang pada etnis NTT.....	119
Lampiran 17.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan SGPT pada etnis NTT.....	120
Lampiran 18.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan SGOT pada etnis NTT.	121
Lampiran 19.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan GGT pada etnis NTT.....	122
Lampiran 20.	Data analisa statistik Chi-Square dan Fisher antara polimorfisme gen ADH2 dan SGPT pada etnis NTT.	123
Lampiran 21.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan SGOT pada etnis NTT.	124
Lampiran 22.	Data analisa statistik uji Chi-Square antara polimorfisme gen ADH2 dan GGT pada etnis NTT.....	125
Lampiran 23.	Data analisa uji Chi-Square dan Fisher antara umur dan GGT pada etnis NTT.....	126
Lampiran 24.	Data analisa statistik uji Chi-Square dan Fisher antara jenis kelamin dan GGT pada etnis NTT.	127

Lampiran 25. Data analisa uji Chi-Squaredan Fisher antara BMI dan GGT pada etnis NTT.....	128
Lampiran 26. Data analisa uji Chi-Squaredan Fisher antara peminum alkohol, bukan peminum alkohol, dan GGT pada etnis NTT.	129
Lampiran 27. Data analisa uji Chi-Squaredan Fisher antara frekuensi minum dan GGT pada etnis NTT.	130
Lampiran 28. Data analisa uji Chi-Squaredan Fisher antara frekuensi olahraga dan GGT pada etnis NTT.	131
Lampiran 29. Data analisa uji Chi-Squaredan Fisher antara perokok, bukan perokok, dan GGT pada etnis NTT.	132
Lampiran 30. Data analisa uji Chi-Squaredan Fisher antara penginang, bukan penginang, dan GGT pada etnis NTT.....	133
Lampiran 31. Data analisa uji Chi-Squaredan Fisher antara jenis kelamin, peminum, dan bukan peminum alkohol pada etnis NTT.	134
Lampiran 32. Data analisa uji Chi-Square antara jenis kelamin dan frekuensi minum pada etnis NTT.	135
Lampiran 33. Data analisa uji Chi-Square dan Fisher antara polimorfisme gen ADH2, peminum alkohol, bukan peminum alkohol, dan SGOT pada etnis NTT.	136
Lampiran 34. Data analisa uji Chi-Square dan Fisher antara polimorfisme gen ADH2, peminum alkohol, bukan peminum alkohol, dan SGPT pada etnis NTT.	138
Lampiran 35. Data analisa uji Chi-Square dan Fisher antara polimorfisme gen ADH2, peminum alkohol, bukan peminum alkohol, dan GGT pada etnis NTT.....	140
Lampiran 36. Data analisa uji Chi-Square dan Fisher antara polimorfisme gen ADH2, perokok, bukan perokok, dan SGPT pada etnis NTT.	142
Lampiran 37. Data analisa uji Chi-Square dan Fisher antara polimorfisme gen ADH2, perokok, bukan perokok, dan SGOT pada etnis NTT. ...	144
Lampiran 38. Data analisa uji Chi-Square dan Fisher antara polimorfisme gen ADH2, perokok, bukan perokok, dan GGT pada etnis NTT.....	145

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Kepanjangan
A	Adenin
Acetyl CoA	Acetyl coenzyme A
ADH	Alcohol Dehydrogenase
ADH1C	Alcohol Dehydrogenase 1C
ADH2	Alcohol Dehydrogenase 2
ADH3	Alcohol Dehydrogenase 3
ADME	Absorption, Distribution, Metabolism, & Excretion
ALC	Alcohol Liver Cirrhosis
ALD	Alcoholic Liver Disease
ALDH	Aldehid Dehydrogenase
ALDH2	Aldehyde Dehydrogenase 2
ApoE	Apolipoprotein E
Arg	Arginin
ATP	Adenosine triphosphate
AWLD	Alcoholic Without Liver Disease
BAC	<i>Blood Alcohol Concentration</i>
Bp	Base pairs
C	Sitosin
CI	Confidence Interval
CLD	Alcoholic Chronic Liver Disease
CO ₂	Carbon Dioxide
CO ₂	Karbondioksida
CTP	Cytidine triphosphate
CYP2E1	Catalase and cytochrome P450 2E1
Dntp	Deoksinukleotida trifosfat
dsDNA	Double strain DNA
DSM-V	<i>Applying Diagnostic and Statistikal Manual of Mental Disorder</i> edisi ke-5
<i>EcoRI</i>	Restriction endonuclease enzyme dari bakteri E. coli
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EtG	etil glucuronide
EtS	ethyl sulfate
FAEE	Fatty Acid Ethyl Esters
FFA	Free Fatty Acids
FPM	First-Pass Metabolism
G	Guanin
g/kg	Gram per kilogram
g/L	Gram per liter
GERMAS	Gerakan Masyarakat Sehat
GGT	Gamma Glutamyl Transferase
GST	Glutathione S Transferase
GSTM1	Glutathione S-Transferase Mu 1
GTP	Guanosine-5'-triphosphate

H ₂ O	One Oxygen & Two Hydrogens Atom / Air
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
HBV	Hepatitis B Virus
HCC	Hepatocellular Carcinoma
HCV	Hepatitis C Virus
His	Histidin
HSCs	Hepatic Stellate Cells
Kartu FTA	Kartu Flinders Technology Associates
kb DNA	Kilobase DNA
kkal/g	Kilo kalori per gram
Km	Konstanta Michaelis
LM	Lower Marker / Penanda Bawah
MEOS	Microsomal Ethanol Oxidizing System
mg%	Miligram persen
mg/dL	Milligram per desiliter
mL	Mililiter
Mm	Milimeter
mtDNA / mtG	Genom mitokondria
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide
NAD+	Nicotinamide Adenine Dinucleotide +
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide hydrogen
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen
nDNA	Genom inti
Nm	Nanometers
NTT	Nusa Tenggara Timur
OR	Odd Ratio
PCR	Polymerase Chain Reaction
Peth	Phosphatidylethanol
Peth	Phosphatidylethanol
pg DNA	Picograms DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
ROS	Reactive Oxygen Species
SGOT	Serum Glutamin Oxaloacetic Transaminase
SGPT	Serum Glutamin Pyruvate Transaminase
SMA	Sekolah Menengah Atas
SMP	Sekolah Menengah Pertama
SNPs	Single Nucleotide Polymorphism
ssDNA	Single strain DNA
T	Timin
Tabung PST	Tabung Plasma Separator Tube
TTP	Thymidine Triphosphate
UM	Upper Marker / Penanda Atas
UV	Ultraviolet
Vd atau rho-factor	Volume distribusi
μL	μ Liter