UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR ISI

		Halaman
Lembar Judul	.....	i
Lembar Pengesahan	.....	iii
Surat Peryataan	.....	iv
Peryataan Promovendus	.....	v
Sekapur Sirih	.....	vi
Kata Pengantar	.....	vii
Daftar Isi	.....	xiv
Daftar Gambar	.....	xviii
Daftar Tabel	.....	xxiii
Daftar Lampiran	.....	xxvi
Daftar Lambang dan Singkatan	.....	xxviii
Intisari	.....	xxxi
Abstract	.....	xxxii

BAB I	**PENDAHULUAN**			
	A	Latar belakang penelitian	.....	1
	B	Perumusan masalah penelitian	.....	10
	C	Tujuan penelitian	.....	13
		1. Tujuan umum	.....	13
		2. Tujuan khusus	.....	13
	D	Manfaat penelitian	.....	14
	E	Keaslian penelitian	.....	15
BAB II	**TINJAUAN KEPUSTAKAAN**			
	A	Deskripsi lokasi penelitian Kab. Timor Tengah Selatan (TTS)	.....	23
	B	*Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency* (G6PDd)	.....	24
	C	Epidemiologi penderita G6PDd	.....	25
	D	Gejala klinis dan klasifikasi G6PDd	.....	27
	E	Struktur gen G6PD	.....	31
	F	Varian G6PD berdasarkan perubahan urutan basa nukleotida di dunia	.....	35
	G	Klasifikasi G6PDd berdasarkan WHO	.....	44
	H	Karakteristik enzim G6PD	.....	45
	I	Peran enzim G6PD pada sel darah merah	.....	48

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

J Metode deteksi defisiensi enzim G6PD …….. 53
K Obat-obatan yang dapat menyebabkan hemolisis pada individu dengan defisiensi enzim G6PD …….. 60
L Jenis mutasi gen G6PDd …….. 63
M Penatalaksanaan defisiensi enzim G6PD …… 69
N Konsep Dasar Penyakit Malaria
1. Definisi malaria ……... 72
2. Etiologi penyakit malaria ……... 72
3. Penularan malaria ……... 73
4. Epidemiologi malaria …….. 73
5. Siklus hidup *Plasmodium* malaria …….. 76
6. Gejala klinis malaria …….. 80
7. Diagnosis malaria …….. 83
8. Pengobatan malaria di Indonesia dan di Kab. TTS …….. 86
O Hubungan defisiensi enzim G6PD terhadap pengobatan anti malaria …….. 90
P Hubungan defisiensi enzim G6PD dengan infeksi malaria …….. 92
Q Landasan Teori …… 94
R Kerangka Teori …….. 96
S Kerangka Konsep …….. 97
T Hipotesis Penelitian …….. 98

BAB III METODE PENELITIAN

A Rancangan Penelitian …….. 99
B Populasi dan Sampel Penelitian …….. 102
C Waktu dan Lokasi Penelitian …… 103
D Alat dan Bahan Serta Prosedur Penelitian …… 105
E Variabel Penelitian …… 136
F Skema Jalannya Penelitian …… 137
G Analisis Data …….. 138
H Definisi Operasional …….. 139
I Etika Penelitian …….. 142

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

BAB IV HASIL PENELITIAN

A	Distribusi Sampel Penelitian dan Hasil Analisis Spasial	.....	143
B	Gejala Klinis Dominan Yang Ditemukan	.....	150
C	Hasil Analisis *Bivariate* dan *Multivariate* faktor-faktor risiko defisiensi enzim G6PD	.....	151
D	Hasil Analisis *Bivariate* dan *Multivariate* Faktor risiko malaria	.....	153
E	Hasil analisis Uji Beda (*independent t-test*)	.....	157
F	Hasil analisis PCR dan analisis sekuensing gen G6PD	.....	158
G	Hasil amplifikasi *nested* PCR Identifikasi genus dan spesies *Plasmodium*	.....	177
	1. Hasil *nested PCR* pertama *Genus Plasmodium*	.....	178
	2. Hasil *nested PCR* kedua *Spesies Plasmodium vivax*	.....	178
	3. Hasil *nested PCR* kedua *Spesies Plasmodium falciparum*	.....	179
	4. Hasil *nested PCR* kedua *Spesies Plasmodium ovale*	.....	180
	5. Hasil *nested PCR* kedua *Spesies Plasmodium malariae*	.....	181
H	Analisis G6PDd dengan Perubahan Basa Nukleotida Dengan Infeksi Malaria	.....	182

BAB V PEMBAHASAN

A	Prevalensi dan Varian G6PD yang ditemukan pada populasi di Kab. TTS	.....	184
B	Gejala Klinis Dominan Pada Penderita G6PDd di Kabupaten TTS	.....	187
C	Distribusi defisiensi enzim G6PD dengan Sebaran Kasus Malaria Secara Kewilayahan di Kab. TTS	.....	189
D	Analisis Hubungan defisiensi enzim G6PD Dengan Riwayat Minum Obat Antimalaria (OAM)	.....	192
E	Analisis Hubungan G6PDd Dengan Penurunan Kadar Hb	.....	196

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

F Hubungan G6PDd Terhadap Proteksi Infeksi Malaria 199
G Analisis Hubungan defisiensi enzim G6PD Dengan Komsumsi Kacang-Kacangan (*Vicia faba*) 205
H Analisis Faktor-Faktor Risiko Kejadian Infeksi Malaria di Kab. TTS 207
J Keterbatasan Penelitian 210

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN
A Kesimpulan 212
B Saran 212

Daftar Pustaka 213
Intisari 235
Summary 258
Lampiran 277

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Keterangan	Halaman
Gambar 1	Peta distribusi dan prevalensi G6PDd di dunia.	2
Gambar 2	Distribusi kasus malaria di Indonesia berdasarkan tingkat endemisitas malaria berdasarkan *Annual Parasites Incidence* (API) di Indonesia tahun 2013.	5
Gambar 3	Tingkat endemisitas malaria disetiap provinsi di Indonesia digambarkan dengan nilai *Annual Parasites Incidence* (API) per 1.000 peduduk.	7
Gambar 4	Peta Kabupaten Timor Tengah Selatan (TTS), Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT).	23
Gambar 5	Variasi distribusi prevalensi G6PDd di dunia tahun 2011-2012.	26
Gambar 6	Distribusi prevalensi G6PDd dan varian G6PDd di Indonesia.	27
Gambar 7	Gambaran *Heinz body* pada eritrosit manusia dengan defisiensi enzim G6PD.	30
Gambar 8	Lokasi gen G6PD pada lokus X-q.28, kromosom –X	32
Gambar 9	Penurunan status G6PDd dari orang tua kepada anak.	33
Gambar 10	Lintasan jalur *penthose phosphate* dan jalur glikolisis produksi NADPH yang akan memproduksi enzim G6PD.	46
Gambar 11	Siklus *Emden-Meyerhoff* atau katabolisme glukosa, yaitu proses perubahan asetil co-A membentuk asam aseton dan badan keton.	50
Gambar 12	Peranan enzim G6PD pada sel darah merah manusia dan mekanisme stres oksidatif yang menyebabkan membran sel darah merah rentan dan mudah pecah, sehingga terjadi hemolisis.	52
Gambar 13	Contoh berbagai alat uji enzim G6PD, secara kualitatif atau perubahan warna dan kuantitatif atau secara spektrofotometer.	59
Gambar 14	Contoh mutasi tenang (*silent mutation*), perubahan basa pada DNA yang bisa menyebabkan perubahan asam amino dan yang tidak dapat merubah asam amino.	65

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Gambar	Keterangan	Halaman
Gambar 15	Jenis mutasi titik (*point mutation*), mutasi terjadi pada sebuah atau sepasang basa DNA dan merubah asam amino.	……. 66
Gambar 16	Jenis mutasi salah arti (*missense mutation*), subtitusi basa menyebabkan pergantian asam amino atau perubahan suatu kode genetik pada kodon.	……. 67
Gambar 17	Jenis mutasi tanpa arti (*nonsense mutation*) perubahan basa nukleotida menyebabkan perubahan asam amino tertentu menjadi *stop* kodon.	……. 68
Gambar 18	Jenis mutasi perubahan rangka baca (*frameshift mutation*).	……. 69
Gambar 19	Distribusi dan prevalensi *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* di Indonesia.	……. 76
Gambar 20	Siklus hidup *Plasmodium* dalam tubuh nyamuk dan tubuh manusia.	……. 78
Gambar 21	Protokol pemberian anti malaria primakuin (PQ) pada penderita malaria dengan G6PDd.	……. 88
Gambar 22	Kerangka teori hubungan defisiensi enzim G6PD dengan infeksi malaria.	……. 96
Gambar 23	Kerangka konsep penelitian.	……. 97
Gambar 24	Distribusi responden penelitian di lima kecamatan di Kab. TTS.	……. 104
Gambar 25	Tehnik penjelasan tujuan penelitian, pengumpulan data dan pelaksanaan *informed consent* terhadap responden penelitian sebelum pengumpulan data dimulai.	……. 106
Gambar 26	Tehnik pengambilan titik koordinat rumah responden penelitian dan alat GPS *Garmin*-76.	……. 107
Gambar 27	Proses pengambilan sampel darah oleh petugas kesehatan lokal dan tim peneliti serta tehnik pemisahan sampel kedalam tabung EDTA 5 mL darah oleh petugas lokal.	……. 110
Gambar 28	Alat dan bahan pembuatan hapusan darah tebal dan tipis dengan metode *Giemsa* 5% dan tehnik pengeringan objek glas.	……. 112

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Gambar	Keterangan	Halaman
Gambar 29	Petugas laboratorium lokal dan FK-UGM mengidentifikasi *Plasmodium* malaria dan perhitungan jumlah parasit menggunakan hapusan darah tebal dan tipis	 114
Gambar 30	Pelaksanaan pemeriksaan kadar Hb menggunakan Hb *stick test* dari *Bene-Check*	 116
Gambar 31	Skema jalannya penelitian	 137
Gambar 32	Distribusi responden penelitian di lima Kecamatan di Kabupaten TTS, Prov. NTT	 143
Gambar 33	Profile analisis sampel penelitian	 145
Gambar 34	Hasil amplifikasi gena G6PD exon-5 sepanjang 343 bp	 159
Gambar 35	Sekuens lengkap exon-5 gen G6PD dari *Gene Bank* (M-65226.1/ locus: HUM/G6PD/G0-5)	 160
Gambar 36	Hasil *alignment* exon-5 (n=94) yang telah disejajarkan	 161
Gambar 37	Gambar elektrophenogram sekuensing gen G6PD exon-5, blok transparan menunjukkan ditemukan dua perubahan basa nukleotida	 162
Gambar 38	Gambar elektrophenogram sekuensing gen G6PD exon-5, blok transparan menunjukkan ditemukan dua perubahan basa nukleotida (sambungan)	 163
Gambar 39	Hasil elektroforesis uji ulang varian G6PD exon-5 dengan metode PCR-RFLP varian *Vanua Lava*	 164
Gambar 40	Hasil amplifikasi gen G6PD exon-6 sepanjang 320 bp	 165
Gambar 41	Urutan sekuens lengkap gen G6PD exon-6 dari *Gene Bank* (M-65227.1/ locus: HUM/G6PD/G0-6) *Human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene*	 165
Gambar 42	Hasil *alignment* gena G6PD exon-6, yang menyimpulkan tidak ditemukan adanya perubahan urutan basa nukleotida	 166
Gambar 43	Hasil amplifikasi gena G6PD exon-9 sepanjang 333 bp	 167

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Gambar	Keterangan		Halaman
Gambar 44	Urutan sekuens lengkap gena G6PD exon-9 dari *Gene Bank* (M-65230.1/ locus: HUM/G6PD/G0-9)	.....	167
Gambar 45	Hasil *alignment* gena G6PD exon-9, menunjukkan adanya satu perubahan basa nukleotida pada 33 sampel penelitian	.....	168
Gambar 46	Gambaran elektropherogram gen G6PD exon-9	.....	169
Gambar 47	Hasil elektroforesis PCR-RFLP konfirmasi ulang mutasi varian G6PDd pada exon-9 yang ditemukan (varian *Viangchan*)	.....	170
Gambar 48	Hasil amplifikasi gena G6PD exon-11 sepanjang 157 bp	.....	171
Gambar 49	Urutan sekuens lengkap gen G6PD exon-11 dari *Gene Bank,* M-65233.1/ locus: HUM/G6PD/G-11	.....	171
Gambar 50	Hasil *alignment* gen G6PD exon-11 diduga ditemukan satu perubahan basa nukleotida	.....	172
Gambar 51	Gambaran elektropherogram exon-11 dengan kesimpulan tidak ditemukan perubahan basa nukleotida	.....	173
Gambar 52	Hasil elektroforesis PCR-RFLP konfirmasi ulang mutasi varian G6PDd pada exon-11 yang ditemukan (varian *Chatham*)	.....	173
Gambar 53	Sekuens gena G6PD exon-12 sumber dari *Gene Bank* (M-65232.1/ locus: HUM/G6PD/G-12)	.....	174
Gambar 54	Hasil amplifikasi gena G6PD exon-12 sepanjang 205 bp	.....	175
Gambar 55	Hasil *alignment* gen G6PD exon-12	.....	175
Gambar 56	Gambaran elektropherogram sekuensing gen G6PD exon-12	.....	176
Gambar 57	Hasil elektroforesis PCR-RFLP konfirmasi ulang mutasi varian G6PDd pada exon-12 yang ditemukan	.....	176
Gambar 58	Hasil amplifikasi *nested*-1 PCR genus *Plasmodium* malaria dilakukan sepanjang 1,2 Kb	.....	178

MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH
ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Gambar	Keterangan	Halaman
Gambar 59	Hasil *genotyping nested*-2 PCR, *P. vivax* sepanjang 120 bp, sebanyak 95 sampel (17,1%) positif terinfeksi *P. vivax*	 179
Gambar 60	Hasil *genotyping nested*-2 PCR *P. falciparum* sepanjang 205 bp, sebanyak 57 sampel (31,5%) positif terinfeksi *P. falciparum*	 180
Gambar 61	Hasil amplifikasi *nested*-2 *P. ovale* sepanjang 800 bp dan tidak ditemukan individu yang positif terinfeksi	 181
Gambar 62	Hasil amplifikasi *nested*-2 *P. malariae* sepanjang 144 bp dan tidak ditemukan individu positif terinfeksi	 182

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR TABEL

Tabel	Keterangan		Halaman
Tabel 1	Situasi malaria di Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) tahun 2010	……..	9
Tabel 2	Varian mutasi G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida yang di temukan pada tiap exon gen G6PD di dunia	……..	36
Tabel 3	Varian mutasi gen G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida di dunia (sambungan-1)	……..	37
Tabel 4	Varian mutasi gen G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida di dunia (sambungan-2)	……..	38
Tabel 5	Varian mutasi gen G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida di dunia (sambungan-3)	……..	39
Tabel 6	Varian mutasi gen G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida di dunia (sambungan-4))	……..	40
Tabel 7	Varian mutasi gen G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida di dunia (sambungan-5)	……..	41
Tabel 8	Varian mutasi gen G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida di dunia (sambungan-6)	……..	42
Tabel 9	Varian mutasi gen G6PD berdasarkan perubahan basa nukleotida di dunia (sambungan-7)	……..	43
Tabel 10	Klasifikasi aktifitas enzim G6PD berdasarkan WHO, 2000	……..	45
Tabel 11	Daftar obat-obatan yang dilaporkan dapat menyebabkan hemolisis pada individu dengan defisiensi enzim G6PD.	……..	61
Tabel 12	Daftar obat-obatan yang diduga berpotensi menyebabkan hemolisis pada individu dengan G6PDd (sambungan)	……..	62
Tabel 13	Protokol pengobatan malaria di Indonesia	……..	87
Tabel 14	Pengobatan malaria pada wanita hamil	……..	89
Tabel 15	Sekuens primer *forward* (F) dan*reverse* (R) gen G6PD exon 5, 6, 9, 11 dan 12	……..	122
Tabel 16	Campuran reaksi PCR amplifikasi gena G6PD yang digunakan untuk exon 5, 6, 9, 10, dan 11	……..	124

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Tabel	Keterangan		Halaman
Tabel 17	Campuran reaksi PCR-RFLP pertama identifikasi varian G6PD	……..	127
Tabel 18	Sekuens primer *forward* (F) dan *reverse* (R) yang digunakan untuk PCR-RFLP	……..	128
Tabel 19	Campuran reaksi PCR-RFLP kedua identifikasi varian G6PDd yang digunakan untuk uji ulang mutasi yang ditemukan	……..	129
Tabel 20	Enzim restriksi yang digunakan pada PCR-RFLP varian gen G6PDd	……..	130
Tabel 21	Sekuens primer (F) dan (R) yang digunakan untuk *nested* PCR identifikasi *genus* dan spesies *Plasmodium*	……..	131
Tabel 22	Campuran reaksi PCR *nested*-pertama dan kedua untuk identifikasi *genus* dan spesies *Plasmodium*	……..	132
Tabel 23	Distribusi sampel penelitian berdasarkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim G6PD, menggunakan protokol dari *Randox* G6PDd *test* PD-410	……..	146
Tabel 24	Distribusi penderita infeksi malaria berdasarkan hasil pemeriksaan *nested* PCR	……..	148
Tabel 25	Perbedaan gejala klinis pada kelompok individu G6PDd yang terinfeksi malaria dengan non terinfeksi malaria.	……..	150
Tabel 26	Hasil analisis bivariat (*chi-square*) faktor risiko kejadian G6PDd di Kabupaten Timor Tengah Selatan (TTS), Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT)	……..	151
Tabel 27	Hasil seleksi variabel untuk analisis *multivariate* (*multiple logistic reggresion*) faktor risiko kejadian G6PDd	……..	152
Tabel 28	Hasil analisis *multivariate* (*multiple logistic reggresion*) faktor risiko kejadian G6PDd di Kab. TTS, Prop. NTT	……..	153
Tabel 29	Hasil analisis bivariat (*chi-square*) faktor risiko kejadian malaria di Kab. TTS, Prop. NTT	…….	154
Tabel 30	Hasil seleksi variabel untuk analisis *multivariate* (*multiple logistic reggresion*) faktor risiko kejadian malaria	…….	155
Tabel 31	Hasil analisis *multivariate* (*multiple logistic reggresion*) faktor risiko kejadian malaria di Kab. TTS, Prov. NTT	……..	156

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Tabel	Keterangan		Halaman
Tabel 32	Hasil analisis uji beda (*Independent t-test*) kadar Hb terhadap aktivitas enzim G6PD pada individu dengan G6PDd	……..	157
Tabel 33	Deskripsi hasil *alignment* perubahan basa nukleotida yang ditemukan pada exon 5, 6, 9, 11 dan 12, *accession reference no.* X-554-48-1	……..	158
Tabel 34	Perubahan basa nukleotida yang ditemukan pada gen G6PD exon 5, 6, 9, 11 dan 12 di populasi Kab. TTS, Prop. NTT	……..	159
Tabel 35	Perubahan basa nukleotida yang ditemukan pada gen G6PD exon-5	……..	160
Tabel 36	Diduga ditemukan adanya perubahan satu basa nukleotida pada gen G6PD exon-9	……..	168
Tabel 37	Hasil *genotyping nested* PCR spesies *Plasmodium*	……..	177
Tabel 38	Hasil analisis jumlah sampel yang terinfeksi malaria dari hasil pemeriksaan *nested* PCR dan jumlah penderita G6PDd yang terinfeksi malaria	……..	183

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Keterangan		Halaman
Lampiran 1	Lembar *Ethical Clereance* dari Komite Etik FK-UGM	……..	277
Lampiran 2	Penjelasan singkat prosedur penelitian	……..	278
Lampiran 3	Pengantar kuisioner	……..	285
Lampiran 4	Persetujuan ikut penelitian atau *informed consent*	……..	286
Lampiran 5	Kuisioner penelitian	……..	287
Lampiran 6	*Institutional approval* dari Program Doktor FK-UGM	……..	298
Lampiran 7	Hasil analisis spasial kasus G6PDd dan infeksi malaria	……..	299
Lampiran 8	Sekuens gen G6PD dari NCBI *reference no* NT.025-965	……..	303
Lampiran 9	SOP tehnik *handling* sampel darah penelitian di lapangan	……..	308
Lampiran 10	SOP pengambilan sampel darah responden penelitian	……..	310
Lampiran 11	Urutan susunan asam amino gen G6PD	……..	312
Lampiran 12	Kartu identitas bagi individu dengan G6PDd	……..	314
Lampiran 13	SOP tehnik pengambilan titik koordinar rumah responden	……..	315
Lampiran 14	Contoh lembar serah terima sampel penelitian	……..	317
Lampiran 15	SOP pembuatan hapusan darah tebal	……..	319
Lampiran 16	SOP pembuatan hapusan darah tipis	……..	321
Lampiran 17	SOP prosedur pelaksanaan isolasi DNA	……..	323
Lampiran 18	SOP pelaksanaan PCR gen G6PD	……..	325
Lampiran 19	SOP pelaksanaan PCR-RFLP varian G6PDd	……..	328
Lampiran 20	Pembagian tugas tim peneliti	……..	332
Lampiran 21	Surat permohonan izin penelitian	……..	335
Lampiran 22	Surat izin penelitian dari Prov. NTT	……..	338
Lampiran 23	Surat izin penelitian dari Kab. TTS	……..	340
Lampiran 24	Surat izin penelitian dari Prov. D.I Yogyakarta	……..	343
Lampiran 25	Surat izin penelitian dari laboratorium parasitologi	……..	344

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Lampiran	Keterangan	Halaman
Lampiran 26	Permohonan izin penelitian spasial	345
Lampiran 27	Surat permohonan data KK di Kab. TTS	346
Lampiran 28	Surat bantuan tenaga peneliti lokal	347
Lampiran 29	Surat izin penelitian di B2P2VR&P, Salatiga	348
Lampiran 30	Hasil analisis statistik	349
Lampiran 31	*Project time line*	372
Lampiran 32	*Work sheet* pengerjaan PCR	373
Lampiran 33	Curriculum Vitae (CV)	376
Lampiran 34	Surat Izin Penelitian Kepada Kepala Puskesmas di Kab. Timor Tengah Selatan (TTS), Prov. Nusa Tenggara Timur (NTT)	380

MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH
ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

A	*Alanina* (ala) dan *Adenine*
AAQ	*Artesunat dan amodiakuin*
ABI	*Applied Bio System*
AHA	*Anemia Hemolitik Akut*
Alel	Susunan molekul DNA
Arg	*Arginin*
A-BC	ATP-*Binding Cassette*
ACT	*Artemisinin-Based Combination Therapy*
AKB	Angka Kematian Bayi
AKI	Angka Kematian Ibu
API	*Annual Parasites Incidence per 1.000* penduduk
AQ	*Amodiaquine* (amodiakuin)
AS	*Artesunate*
ATP	*Adenosin Tri Phosphate*
Bp	*Base Pairs* (pasangan basa)
BB	Berat Badan
BLAST	*Basic Local Alignment Search Tools*
BSC	*Biological Safety Cabinet*
B2P2V&RP	Balai Besar Penelitian, Pengembangan Vektor dan Reservoar Penyakit
BT	Bujur Timur
C	*Cys* (sisteina)
cDNA	*complementary-Deoxyribonucleic Acid*
CI	*Confident Interval*
CNSHA	*Congenital Non Spherocytic Hemolytic Anemia*
cRNA	*complementary-Ribonucleic Acid*
CQ	*Choloquine* (Klorokuin)
DAQ	*Desethyl Amodiaquine*
dATP	*deoxy-Adenosine Trifosfat*
Depkes RI	Departemen Kesehatan Republik Indonesia
DHP	*Dehidroartemisinin dan Piperakuin*
DNA	*Deoxyribonucleic acid* (asam deoksiribonukleat)
dNTP	*deoxyribo-nucleotide triphosphate* (*deoksiribonukleotida tri fosfat*)
E	*Glu* (asam glutamat)
EDTA	*Etilen Diamin Tetra Asetat*
EtBr	*Ethidium bromide*
EtOH	*Ethanol*
(F) *primers*	*Forwards primers*

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

G	*Guanine* (guanin)
GIS	*Global Information Systems*
Gly	*Glisina* (glisin)
GPS	*Global Positioning Systems*
GSH	*Glutathione* tereduksi
GSHPX	*Glutathione peroksidase*
GSSG	*Glutathione* teroksidasi
G6P	*Glucose-6-phosfate*
G6PDd	*Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency*
H	*His* (histidina)
Hb	*Haemoglobin*
H_2O_2	*Hydrogen peroxyte*
IV	Intravena
K	*Lys* (lisina)
Kemenkes R I	Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
KK	Kepala Keluarga
L	*Leu* (*Leusina*)
LU	Lintang Utara
LS	Lintang Selatan
M	*Met* (metionina)
MDG's	*Millenium Development Goal's*
Mdpl	Meter Diatas Permukaan Laut
MEGA-5	*Molecular Evolutionary Genetic Analysis-5*
Met-Hb	*Metheoglobin*
mRNA	*messenger*-RNA
NAD	*Nicotinamide Adenine Dinucleotide*
NADPH	*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-H* (NADP yang tereduksi)
NCBI	*National Center for Biotechnology Information*
NNJ	*Neonatal Jaundice*
NO	*Nitric Oxide*
N-PCR	*nested-Polymerase Chain Reaction*
NTT	Nusa Tenggara Timur
P	*Pro* (prolina)
PBS	*Phosphate Buffer Saline* (*saline buffer fosfat*)
PCR	*Polymerase Chain Reaction*
PCR-RFLP	*Polymerase Chain Reaction-Restiction Fragment Leght Polymorphism*
PHBS	Prilaku Hidup Bersih dan Sehat
P. falciparum	*Plasmodium falciparum*
P. malariae	*Plasmodium malariae*
P. ovale	*Plasmodium ovale*
P. vivax	*Plasmodium vivax*
PQ	*Primaquinine* (Primakuin)

MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH
ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

R	*Arg* (*Arginina*)
RNA	*Ribonucleic Acid*
(R) *Primer*	*Reverse Primers*
RDT	*Rapid Diagnostic Test*
ROS	*Reactive Oxygen Species*
RSU	Rumah Sakit Umum
S	*Ser* (serina)
SatScan	*Software analyzes spatial temporal and space time data using spatial*
SH	*Sulfhydryl*
SKDRT	Survei Kesehatan Dasar Rumah Tangga
SNP	*Single Nucleotide Polymorphism*
SOP	*Standart Operational Procedure*
T	*Timin*
TB	Tinggi Badan
TE	*Tris- Etilendiamin Tetra Asetat (EDTA)*
Thr	*Threonine*
Tm	*Time Melting temperature*
TTS	Timor Tengah Selatan
U	*Urasil*
UV	*Ultra violet*
V	*Val* (*Valina*)
WHO	*World Health Organization*

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

INTISARI

Latar belakang: *Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase* defisiensi (G6PDd) merupakan kelainan enzimopati terkait kromosom-X. Kelainan ini mempunyai prevalensi tinggi terutama di daerah endemis malaria. Pada tahun 2013 sebanyak 3-5 juta penduduk Indonesia terinfeksi malaria dengan kasus tertinggi di Indonesia Bagian Timur dengan spesies *Plasmodium falciparum* 62 % dan *Plasmodium vivax* 33 % dominan dengan API 15,6 per 1.000 populasi. Pengukuran aktivitas enzim G6PD dan *genotyping* varian G6PD penting dilakukan di wilayah endemik malaria karena salah satu antimalaria primakuin (PQ) dapat menyebabkan hemolisis pada individu dengan G6PDd. Penelitian ini bertujuan menganalisis distribusi dan varian G6PD secara molekuler di wilayah endemik malaria di Kab. TTS, Prov. NTT.

Metode: Survei dengan total 555 individu sehat yang dipilih secara sistematik random sampling dari 5 kecamatan. Kriteria inklusi, usia >14 tahun dan Hb >10 gr/dL. Pengumpulan data menggunakan kuisioner standar, pemeriksaan fisik dan uji laboratorium (Hb, mikroskopis, *nested* PCR, dan sekuensing). Protokol PCR dan *nested* PCR mengikuti petunjuk dari Kit PCR Promega, Madison, USA. Defisiensi enzim G6PD adalah individu dengan aktivitas enzim dari hasil pengukuran < 6,97 U/grHb dan kasus malaria adalah individu positif ditemukan *Plasmodium* dari hasil mikroskopis maupun *nested* PCR. Seluruh kasus G6PDd dan malaria selanjutnya dilakukan pemetaan menggunakan ArcGIS V.9.1 dan SatScan. Analisis statistik menggunakan bivariat dan multivariat dengan α:0.05 dan 95 % CI menggunakan *software* SPSS 16.0.

Hasil: Total 555 dari 558 responden diketahui sebanyak 16,6 % (92/555) dengan G6PDd. Analisis molekuler seluruhnya diketahui varian G6PD *Vanua Lava* 10.884 T→C, 11% (6/56) dengan satu wanita heterozygote. Analisis mutivariat menyimpulkan penurunan kadar Hb dan riwayat komsumsi antimalaria merupakan faktor risiko terhadap kejadian hemolisis (p: <0,05). Prevalensi kasus malaria hasil mikroskopis dan *nested* PCR 32,6 % (181/555) dengan *Plasmodium vivax* dominan 51,9 % (94/181). Analisis spasial ditemukan tiga pengelompokan kasus G6PDd dan malaria (p: <0,05) dengan pola distribusi penderita G6PDd ditemukan di seluruh wilayah penelitian.

Kesimpulan: Varian G6PDd *Vanua Lava* 10.884 T→C ditemukan di Kab. TTS. Sebaran kasus G6PDd ditemukan diseluruh wilayah penelitian.

Kata kunci: G6PDd, *Vanua Lava*, *P. vivax,* Kab. TTS, Indonesia Bagian Timur.

UNIVERSITAS GADJAH MADA
MUTASI GEN DAN AKTIVITAS ENZIM GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) PADA PENDUDUK DI WILAYAH ENDEMIK MALARIA KABUPATEN TIMOR TENGAH SELATAN (TTS)PROVINSI NUSA TENGGARA TIMUR (NTT)
JONTARI, S.KEP., NS., MPH, Prof. dr. Hari Kusnanto, SU., Dr.PH.; Prof. dr. Supargiyono, SU., DTM&H., Sp.Pa
Universitas Gadjah Mada, 2016 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRACT

Background: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (G6PDd) is a cytoplasmic enzyme. The major function of G6PD is prevention of oxidative damage to cells by promoting detoxification of free radicals. G6PD deficiency common in populations living in malaria endemic areas. In 2013, 3-5 million Indonesian population were infected with malaria and mostly in Eastern Indonesia by two dominant species of malaria *Plasmodium falciparum* 62 % and *Plasmodium vivax* 33 % with API 15.6 per population. G6PD variant genotype were important for malaria patients. Primaqiune (PQ) currently the only approved drug recommended in radical cure. The use of PQ in G6PDd individuals presents serious risks may induce life-threatening haemolytic events. This study will assess the distribution and variant molaculer G6PDd in South Timor Tengah District, Eastern Indonesia.

Method: 555 of 558 healthy population in 5 districts in Central South Timor District, Eastern Indonesia were selected by systematic random sampling. Data collected by standard questionnaire, physical examination and laboratory tests (Hb, PCR,, nested PCR and sequencing). All protocols followed by manufactures manual Promega, Madison, USA. Confirmed cases of G6PDd and malaria were map using ArcGIS and SatScan. Statistical analysis by multivariate with α= 0,05 and 95% CI was performed with SPSS 16.0 software package.

Result: Among the 555 samples enrolled, 16.6 % (92/555) had G6PD deficiency were 40 males and 51 females, and one female G6PDd was heterozygous. All molecular G6PD variant analysis 11 % (6/56) were *Vanua Lava* 10.884 T→C. Multivariate result decreased Hb and anti-malarial (Pq) history as the most risk factors hemolysis ($p < 0.05$). Malaria identification by microscopic and nested PCR 32.6 % (181/555) were positive malaria infection with *Plasmodium vivax* 51.9 % *(*94/181) as the dominating species. While spatial analysis indicated three distinguish significant clusters with $p < 0.05$ were G6PDd found in all studies areas.

Conclusion: G6PDd, *Vanua Lava* variant is common in Eastern Indonesia, distribution of G6PDd were found in all studies areas.

Key words: G6PDd, *Vanua Lava, P. vivax*, East Central Timor (SCT) District, Eastern Indonesia.