

HUBUNGAN_POLIMORFISME_ GEN_INTERLEUKIN_12B_rs321 2227.pdf

by Lusia Hayati²

Submission date: 23-Jul-2019 10:15AM (UTC+0700)

Submission ID: 1154227448

File name: HUBUNGAN_POLIMORFISME_GEN_INTERLEUKIN_12B_rs3212227.pdf (763.84K)

Word count: 2467

Character count: 14069

HUBUNGAN POLIMORFISME GEN *INTERLEUKIN 12B rs3212227* DENGAN
KEJADIAN KANKER SERVIKS DI RSUP DR.MOHAMMAD HOESIN
PALEMBANG

ASSOCIATION BETWEEN POLYMORPHISMS OF INTERLEUKIN 12B GENE
rs3212227 AND CASES OF CERVICAL CANCER AT Dr.MOHAMMAD HOESIN
HOSPITAL PALEMBANG

Lusia Hayati¹, Triwani², Widdya Anggraini³, Mgs.H.M.Irsan Saleh⁴

1. Bagian Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya
2. Bagian Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya
3. Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya
4. Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

Jl. Dr. Moh. Ali, Kompleks RSMH, Palembang, 30126, Indonesia

Email: lusia_hayati00@yahoo.com

Abstrak

Di Indonesia kanker serviks merupakan kanker pada perempuan yang menduduki urutan teratas. Beberapa faktor risiko terjadinya kanker serviks yaitu umur >35 tahun, berganti-ganti pasangan seksual, hubungan seks di bawah usia 16 tahun, merokok, ras, paritas yang tinggi. Penyebab dari kanker serviks adalah *Human Papilloma Virus* (HPV). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan polimorfisme gen *IL-12B rs3212227* dengan kejadian kanker serviks. Terdapat 70 sampel yang dibagi 2 kelompok, yaitu 35 Kasus dan 35 Kontrol. Penentuan Genotip dan Alotip menggunakan teknik PCR-RFLP. Analisa *Chi-Square* $\alpha \leq 0,05$. Frekuensi genotip pada kelompok kasus didapatkan genotip AA (48,6%), AC (40,0%) dan CC (11,4%), sedangkan frekuensi genotip kelompok kontrol didapatkan AA (71,4%), AC (22,9%) dan CC (5,7%). Pada kelompok kasus frekuensi alel A (68,6%), dan alel C (31,4%), sedangkan pada kelompok kontrol alel A (82,9%) dan alel C (17,1%). Hasil *Chi Square* Genotip didapatkan p_{value} 0,088 *Odd Ratio* (OR) 2,647 dan 95% (CI) 0,985 – 7,113 sedangkan alel p_{value} 0,076 *Odd Ratio* (OR) 2,215 dan 95% (CI) 0,995- 4,933. Disimpulkan tidak ada hubungan antara genotip dan alel terhadap polimorfisme gen *Interleukin 12B (IL12B) rs3212227* dengan kejadian kanker serviks.

Kata Kunci : *Interleukin 12B (IL12B) rs3212227*, kanker serviks, polimorfisme

Abstract

In Indonesia, cervical cancer is the first most common cancer among all women. Risk of developing cervical cancer is increased by age more than 35years old, having many sexual partners, having sexual intercourse under 16 years old, smoking cigarettes, race, and high parity. The cause of cervical cancer is Human Papillomavirus (HPV). The purpose of this research was to determine the relationship between genetic polymorphism of IL-12B rs3212227 and cases of cervical cancer. There were 70 subjects participating as the sample of this research and they were divided into 2 groups: 35 in case group and 35 in control group. PCR-RFLP was used to determine genotype and allotype. Chi-Square Analysis used in this research was $\alpha = <0.05$. The frequency of genotypes in the case group obtained a total of AA (48.6%), AC (40.0%) and CC (11.4%), while the frequency of genotypes in the control group obtained a

total of AA (71.4%), AC (22.9%) and CC (5.7%). The frequency of the allele in case group obtained a total of A (68.6%), and C (31.4%), while the frequency of allele in control group obtained a total of A (82.9%) and C 12 (17.1%). The Chi Square of genotype was χ^2 value 0.088, Odd Ratio (OR) 2.647 and 95% (CI) 0.985-7.113, while the allele was χ^2 value 0.076, Odd Ratio (OR) 2.215 and 95% (CI) 0.995-4.933. There was no relationship between genetic polymorphism of IL-12B rs3212227 and cases of cervical cancer.

Keywords : cervical cancer, interleukin 12B (IL12B) rs3212227, polymorphism

1. Pendahuluan

Di Indonesia kanker serviks merupakan kanker pada perempuan yang menduduki urutan teratas, sedangkan di negara maju kejadian kanker serviks mengalami penurunan.² Kanker serviks pada orang Melayu dan yang disunat menunjukkan angka lebih rendah daripada keturunan India atau Cina, mungkin karena adanya *smegma* yang bersifat karsinogenik. Kanker serviks uteri pada wanita Yahudi dinegaranya lebih banyak dari pada yang merantau ke luar negeri. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh lain terhadap terjadinya kanker.¹⁴

Infeksi HPV merupakan faktor etiologi kanker serviks. Pendapat ini ditunjang oleh berbagai penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh *International Agency for Research on Cancer (IARC)* terhadap 1000 sampel dari 22 negara didapatkan adanya infeksi HPV pada sejumlah 99,7% kanker serviks.^{13,15} Kanker memiliki kerentanan genetik multifaktorial. Dimana sistem kekebalan tubuh dapat menyebabkan risiko genetik untuk kanker; pertama, imunitas bawaan dapat memberikan stimulasi pertumbuhan sel oleh peradangan, yang terkenal dengan sebutan faktor promosi tumor, dan kedua, kekebalan adaptif dapat mendeteksi dan menghilangkan sel-sel kanker sesuai dengan imunosurveilans hipotesis.¹⁰

Respon kekebalan tubuh diatur oleh interaksi limfosit dengan antigen-presenting sel, dan sitokin. Salah satu

yang paling menarik adalah *interleukin-12 (IL-12)*, pengatur penting sitokin yang memiliki fungsi penting dalam inisiasi dan regulasi respon imun seluler.⁹ *IL-12* adalah sitokin heterodimerik, dikodekan oleh dua gen yang terpisah; yaitu *IL12A* yang mengkode subunit p35 dan *IL12B* yang mengkode subunit p40. Subunit p40 adalah sebuah blok bangunan umum *IL-12* dan *IL-23* cytokines.¹⁷ Subunit p40 diungkapkan terutama oleh makrofag dan diaktifkan sel B. Fungsi subunit *IL-12B (p40)* di sistem kekebalan tubuh merupakan varian genetik dalam gen yang mengkode sitokin penting dalam menyebabkan kelainan immunoregulatory.⁹

Salah satu polimorfisme pada *IL12B* adalah *rs3212227*. Pada penelitian di Tiongkok menyatakan *IL12B rs3212227* berinteraksi terhadap risiko kanker serviks, terutama di kalangan pasien tahap awal, menunjukkan bahwa polimorfisme nukleotida tunggal menjadi biomarker untuk kerentanan kanker serviks.¹⁹

Belum adanya data penelitian yang dilakukan di Sumatera Selatan Khususnya di Palembang mengenai hubungan polimorfisme gen *IL-12B rs3212227* dengan kejadian kanker serviks menarik minat penulis untuk melakukan penelitian tersebut.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain Kasus Kontrol (*Case-Control*). Sampel

dalam penelitian ini yaitu 70 sampel spesimen darah yang telah menjadi koleksi sampel di laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Unsri, yang masing-masing 35 spesimen pada kelompok kasus dan 35 pada kelompok control. Analisis DNA menggunakan metode PCR-RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphisms)

Setelah dilakukan ekstraksi/isolasi DNA sampel darah kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan *Polimerase Chain reaction* (PCR) *gen IL12B rs 3212227* menggunakan primer *forward* 5'-GATATCCTTGCTGTATTTGTATAGTT-3' dan primer *reverse* 5'-AATATTTAAATAGCATGAAGGC-3'.

Proses sintesis DNA dilakukan sebanyak 30 siklus berlangsung dalam 3 tahap, yaitu denaturasi, annealing, dan ekstensi. Pre denaturasi awal 95°C selama 4 menit, dilanjutkan denaturasi 95°C selama 30 detik, kemudian tahap annealing 59°C selama 30 detik, tahap ekstensi 72°C selama 35 detik, dan ekstensi tambahan 72°C selama 7 menit. Produk hasil PCR berupa amplicon dievaluasi untuk membuktikan keberhasilan ekstraksi DNA yang telah dilakukandengan cara elektroforesis melalui media gel agarose konsentrasi 2% yang mengandung *ethidium bromide* selama 25 menit dengan kekuatan 100 volt dan kecepatan 400 ampere. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasi dengan menggunakan sinar Ultra Violet (UV) dan dibaca pada monitor komputer.

Setelah tahap PCR dilanjutkan dengan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) yaitu tahapan restriksi menggunakan enzim *TaqI*, dengan cara mencampur produk hasil PCR (amplicon) dengan enzim restriksi *TaqI* pada suhu 65°C selama 2 jam. Setelah proses RFLP selesai dilanjutkan dengan tahap elektroforesis kembali menggunakan gel agarose 4% yang mengandung *ethidium bromide* selama 25 menit dengan kekuatan 100 volt dan kecepatan 400 ampere.

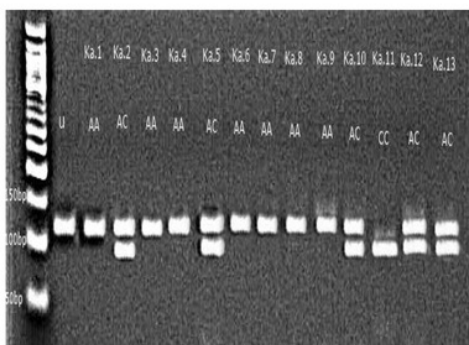
3. Hasil Penelitian

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Karakteristik Umum Subjek Penelitian

Karakteristik	Kasus n (%)	Kontrol n (%)
Usia		
< 50 tahun	15 (42,9)	30 (85,7)
≥ 50 tahun	20 (57,1)	5 (14,3)
Riwayat Keluarga		
Ada kanker	22 (62,9)	11 (31,4)
Tidak Ada	13 (37,1)	24 (68,6)
Usia Pertama Melahirkan		
≥ 25 tahun	4 (11,4)	12 (34,3)
< 25 tahun	31 (88,6)	23 (65,7)
Paritas		
≥ 2 anak	22 (62,9)	32 (91,4)
< 2 anak	13 (37,1)	3 (8,6)

Polimorfisme *gen IL12B rs3212227* akan tervisualisasi dengan menggunakan sinar ultraviolet, terlihat 3 variasi genotip hasil pemotongan enzim restriksi *TaqI* terhadap produk ekstraksi/isolasi DNA, yaitu : Genotip AA (*wild type*) menunjukkan gambaran 1 pita pada 118 bp yang berarti tidak

terjadi pemotongan pada kedua alel, Genotip CC (*homozygote mutant*) menunjukkan gambaran 2 pita yaitu 92 bp dan 26 bp berarti terjadi pemotongan pada kedua alel, Genotip AC (*heterozigot mutant*) menunjukkan gambaran 3 pita yaitu 118 bp, 92 bp, 26 bp berarti terjadi pemotongan pada satu alel dan tidak terjadi pemotongan pada alel pasangannya.



Gambar 1.
Analisis RFLP polimorfisme gen *IL12B* *rs3212227* dengan enzim restriksi *TaqI*

Tabel 2
Analisis Hubungan Polimorfisme Genotip Gen *IL12B* dengan Kejadian Kanker Serviks

Geno tip Gen	Kelompok		P value	OR (95% CI)
	Kasus n (%)	Kontro n (%)		
AA	17 (48,6)	25 (71,4)		2,647
CC/ AC	18 (51,4)	10 (28,6)	0,088	(0,985- 7,113)

Berdasarkan hasil uji *Chi-Square* didapatkan nilai $p= 0,088$, *Odd Ratio* (OR)=2,647 dan 95% CI(*Confidence Interval*)= 0,985- 7,113 yang artinya tidak ada hubungan polimorfisme genotip pada Gen *IL 12B rs3212227*, akan tetapi berdasarkan *Odd Ratio* dapat

diartikan bahwa varian genotip Gen *IL12B rs3212227* CC/AC berhubungan dengan peningkatan risiko terjadinya kanker serviks dimana individu yang mengalami mutasi memiliki 2,647 kali lebih besar untuk terjadi kanker serviks.

Tabel 3
Analisis Hubungan Polimorfisme Alel Gen *IL12B* dengan Kejadian Kanker Serviks

Alel Gen	Kelompok		P value	OR
	Kasus n (%)	Kontrol n (%)		
A	48(68,6)	58(82,9)		2,215 (0,995- 4,933)
C	22(31,4)	12(17,1)	0,076	

Hasil uji *Chi-Square* polimorfisme Alel didapatkan nilai $p= 0,076$, OR=2,215 dan 95%CI= 0,995-4,933 yang artinya tidak ada hubungan polimorfisme alel pada Gen *IL 12B rs3212227*, akan tetapi berdasarkan *Odd Ratio* dapat diartikan bahwa varian alel C (alel mutan) Gen *IL12B rs3212227* berhubungan dengan peningkatan risiko terjadinya kanker serviks dimana individu yang mengalami mutasi memiliki 2,215 kali lebih besar untuk terjadi kanker serviks.

4. Pembahasan

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Xiaojun (2009)¹⁹ di Tiongkok yang menyatakan bahwa tidak ada hubungan polimorfisme Gen *IL12B rs3212227* dengan kejadian kanker serviks, akan tetapi varian genotip *rs3212227* AC/CC dihubungkan dengan peningkatan risiko 30% untuk terjadinya kanker serviks dengan signifikan pada

ambang batas (OR=1,30,95% CI,0,97-1,75). Begitupun dengan penelitian yang dilakukan Li Liu (2011) yang meneliti polimorfisme Gen *IL12B rs3212227* dengan kejadian kanker hati di populasi Cina yang menyatakan bahwa tidak ada hubungan polimorfisme Gen *IL12B rs3212227* dengan kejadian kanker hati ($p=0,983$), OR=0,83, 95%CI=0,59-1,16.

Interleukin 12 (*IL12*) adalah sitokin yang menginduksi pembentukan IFN- γ yang menyebabkan diferensiasi sel Th1.

Setelah transformasi malignansi, terjadi resistensi terhadap pengaruh IFN. Sel yang terinfeksi HPV dapat lepas dari pengaruh sitokin proinflamasi. Dari berbagai bukti penelitian dapat disimpulkan bahwa sel tumor mempunyai kemampuan untuk menghindari dan menghambat ekspresi sitokin proinflamasi.¹⁰

5. Kesimpulan

Tidak ada hubungan polimorfisme genotip maupun alel gen *IL12B rs3212227* dengan kejadian kanker serviks.

6. Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap polimorfisme Gen *IL12* di Gen dan titik yang berbeda seperti Gen *IL12A rs568408* dengan sampel yang lebih banyak, dan juga pada Ras dan Etnis yang berbeda dengan menggunakan data-data yang secara langsung didapatkan dari pasien.

Daftar Pustaka

1. Anderson, Price Sylvia. 1991. *Patofisiologi Edisi 2 Bagian 4*. Jakarta : Hiprokrates
2. Andrijono. 2007. Vaksinasi HPV Merupakan Pencegahan Primer Kanker Serviks. Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/ RumahSakit Dr. CiptoMangunkusumo, Jakarta. *Majalah Kedokteran Indonesia*, Volum: 57, Nomor: 5, Mei 2007
3. Brooks, Geo F., Janet S. Butel., Stephen A. Morse. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Pertama*. Jakarta : Salemba Medika : 184-195
4. Dwipoyono, B. 2007. Kanker serviks dan Vaksin HPV. *Indonesian Journal of cancer* 3,87-91
5. Fadda. M.E., M.B. Pisano, L. Scaccabarozzi, V. Mossa, M. Deplano, P. Moroni, M. Liciardi, S. Cosentino. Use of PCR-RFLP for identification of yeast species isolated from bovine intramammary infection. *Journal of Dairy Science*. Published Online: October 14, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6996>.
6. Hakim, Lukman. *Biologi dan Patogenesis Human Papiloma Virus*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. PKB “ New Perspective Of Sexually Transmitted

- Infection Problems” Surabaya 7-8 Agustus 2010
7. Hall, MA., E McGlinn., G Coakley., SA Fisher., K Boki., D Middleton., E Kaklamani5., H Moutsopoulos., TP Loughran Jr., WER Ollier., GS Panayi and JS Lanchbury.2000. Genetic polymorphism of IL-12 p40 gene in immunemediated disease. *Genes and Immunity* (2000) 1, 219–224 Ó 2000 Macmillan Publishers Ltd All rights reserved 1466-4879/00 www.nature.com/gene
 8. Hamza, Therwa., John B. Barnett and Bingyun Li. 2010. Interleukin 12 a Key Immunoregulatory Cytokine in Infectio Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2010, 11, 789-806;doi:10.3390/ijms1103078.
 9. Huang D, MP, Cancilla and G Morahan. 2000. Complete primary structure, chromosomal localisation, and definition of polymorphisms of the gene encoding the human interleukin-12 p40 subunit. *Complex Genetic Diseases Laboratory, and Cooperative Research Centre for Discovery of Genes for Common Human Diseases, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, PO Royal Melbourne Hospital, Victoria 3050, Australia.* *Genes and Immunity* (2000) 1, 515–520 Ó 2000 Macmillan Publishers Ltd All rights reserved 1466-4879/00 www.nature.com/gene
 10. Kaarvatn, M. H., J. Vrbanec., A. Kulićš., J. Knezevic., B. Petricevic., S. Balen., D. Vrbanec., Z. Dembic. 2012. Single Nucleotide Polymorphism in the Interleukin12B Gene is Associated with Risk for Breast Cancer Development. *Scandinavian Journal of Immunology* _ 2012 Blackwell Publishing Ltd. doi: 10.1111/j.1365-3083.2012.02736.
 11. Lanlan Weia, Ming Chuc, Qingmeng Zhang, Yan Wang, Qinglong Shang, Yunyan Zhang., Guangmei Zhang. 2013. Interleukin-12 gene adjuvant increases the immunogenicity of virus-like particles of human papillomavirus type 16 regional variant strain. *Braz j infect dis.* 2014;18(1):65–70
 12. Li Liu, Yan Xu, Zheng Liu, Jianguo Chen, Yixin Zhang, Jian Zhu, Jibin Liu, Sheng Liu, Guozhong Ji, Haibin Shi, Hongbing Shen, and Zhibin Hu. IL12 Polymorphisms, HBV Infection and Risk Of Hepatocellular Carcinoma In a High-Risk Chinese Population. *International Journal Of Cancer*:128, 1692-1696(2011)
 13. Munoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, Gissmann L. 2006. HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*;24:1-10.
 14. Pasaribu, Emir Taris. 2006. *Epidemiologi dan Etiologi Kanker. Divisi Onkologi Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara/RumahSakit H. Adam Malik. Majalah Kedokteran*

Nusantara 266 Volume 39. No. 3
September

15. Sawaya GF, McConnell KJ, Kulasingam SL. Risk Of Cervical Cancer Screenings. *Engl Med Journal* 2003,67, 349-416
16. Surbakti, 2005. Pendekatan Faktor Risiko Sebagai Rancangan Alternatif dalam Penanggulangan Kanker Serviks Uteri Di Rumah Sakit Dr.Pimgadi Medan. Medan : Universitas Sumatera Utara
17. Trinchieri, Giorgio., Stefan Pflanz., Robert A. Kastelein. 2003. The IL-12 Family of Heterodimeric Cytokines: New Players in the Regulation of T Cell Responses. *Immunity*, Vol. 19, 641-644, November, 2003, Copyright 2003 by Cell Press
18. World Health Organization., 2008. *World Cancer Report 2008*. WHO Press.
19. Xiaojun, Chen., Suping Han., Sumin Wang., Xiaoyi Zhou., Mingfeng Zhang., Jing Dong., Xiaoyan Shi., Nianfeng Qian., Xinru Wang., Qingyi Wei., Hongbing Shen., and ZhibinHu. 2009. Interactions of IL-12A and IL-12B Polymorphisms on the Risk of Cervical Cancer in ChineseWomen.*Clin Cancer Res* 2009;15(1) January 1. Downloaded from clincancerres.aacrjournals.org on December 26, 2014. © 2009 American Association for Cancer Research

HUBUNGAN_POLIMORFISME_GEN_INTERLEUKIN_12B_rs32.

ORIGINALITY REPORT

19%

SIMILARITY INDEX

14%

INTERNET SOURCES

13%

PUBLICATIONS

10%

STUDENT PAPERS

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

2%

★ G Morahan. "Polymorphisms in the Il12b gene affect structure and expression of IL-12 in NOD and other autoimmune-prone mouse strains", Genes and Immunity, 05/21/2002

Publication

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches < 1%