

MAJALAH KEDOKTERAN
SRIWIJAYA

(Medical Journal of Sriwijaya University)



ISSN 0853-1773

MKS, Th. 34, No. 1 Oktober, 2002

MKS, Th.34. No 1, Oktober 2002.



MAJALAH KEDOKTERAN SRIWIJAYA
(Medical Journal of Sriwijaya University)

ISSN 0-852 – 3835

Terakreditasi SK.No. 093/D3.4/2000.tanggal, 20 Maret 2000.

Penanggung jawab	Prof. dr. K.H.M. Arsyad, DABK, SpAnd. Dekan
Pemimpin Umum	dr. H. Mgs. Johan T. Saleh, MSc Direktur RS. Mohammad Hoesin Palembang
Wakil Pemimpin Umum	dr. H. A. Kurdi Syamsuri, SpOG (K), MSED Pembantu Dekan I. dr. H. Syahril Aziz, DAFK Pembantu Dekan II
Pemimpin Redaksi	Prof. dr. H. Azwar Agoes, DAFK, SpFK
Redaksi Pelaksana	dr. H. A. Komar Syamsuddin, Sp.OG (K) dr. Nancy Pardede, Sp.A (K) dr. H. Zulhair Ali, SpPD dr. Hermansyah, SpPD-KR dr. Muhammad Zulkarnain, MMed.Sc dr. Rusmiati Wijaya, MSc
Redaksi Ahli	Prof. dr. Robert S. Siregar, SpKK, DTM & H Prof. dr. H. Rusdi Ismail, SpA (K) dr. Hardi Darmawan, MPH & TM, FRSTM dr. H. Mgs. A. Roni Saleh, Sp.BP dr. H. Rizani Amran, Sp.OG (K) dr. Hj. Rasrinam Rasyad, Sp.S (K) dr. H. Ali Ghanie, Sp.PD-KV dr. Husnil Farouk, MPH dr. Darma Sasatrawan, Sp.M dr. H. MT. Kamaluddin, MSc dr. Chairil Anwar, DAP & E, Ph.D
Administrasi/Sirkulasi	dr. L e g i r a n Mawardi Asmuni
Penerbit Alamat Redaksi	Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Jln. Mayor Mahidin Kompleks RSMH Palembang 30126 Telp. (0711) 352342; Fax. (0711) 373438 Email – fkunsri@Palembang.Wasantara.Net.id .

Daftar Isi

Redaksi	i
Daftar Isi	ii
Dari Redaksi	iii
Petunjuk Bagi Penyumbang Karangan	iv
Brine Shirimp Lethality : Suatu Uji Aktivitas Biologik Anti Tumor Kandungan Zat Aktif Dalam Tanaman Enny Kusumastuti.....	399
Profil Obat Ains Penghambat Selektif Cox-2 Leilani F. Yodhian	406
Thalasemia β : Cacat Molekul, Gejala Kliniks dan Penatalaksanaannya. R.V. Liliani, KM.Arsyad,Safiudin.....	414
Tinjauan Biologi Medik Untuk Kasus Cleft Lip dan Cleft Palate di Palembang. Siti Hildani Thaib, Lusya Hayati, MA. Roni Saleh,KM.Arsyad.....	425
Mikroflora Usus : Manfaat dan Risiko Terhadap Kemungkinan Terjadinya Infeksi dan Alergi Pada Anak. Rusdi Ismail	431
Diagnosis dan Pengobatan Penyakit Jantung Koroner. Ali Ghanie	437
Asam Laktat : Kontrol dan Pemanfaatan Asam Laktat dalam Peningkatan Prestasi Olahraga Wen Krismadi.....	440
Doping Dalam Olah Raga; Apa dan Bagaimana. M.T.Kamaluddin	449

Thalassemia β : Cacat Molekul, Gejala Kliniks dan Penatalaksanaannya

R.V. Liliani * K.M. Arsyad ** Safudin ***

* Mahasiswa Program Magister Biomedik PPS Unsri, ** Bagian Biologi Medik FK Unsri

*** Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Unsri

Abstrak

Thalassemia β adalah kelainan darah hereditas yang disebabkan oleh berkurangnya atau tidak ada sintesa rantai globin β yang merupakan penyusun hemoglobin (Hb). Hb orang normal terdiri dari HbA ($\alpha_2\beta_2$) 93-98%, HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) 2-3,5% dan HbF < 2%. Karena sintesa rantai globin β kurang atau tidak ada maka menyebabkan gangguan pembentukan HbA dan sebagai kompensasinya akan meningkatkan kadar HbA₂ dan kadar HbF. Umumnya thalassemia β ini lebih banyak disebabkan oleh suatu mutasi titik pada beberapa urutan nukleotida gena globin β dari pada oleh delesi gen. Dari penelitian molekuler telah ditemukan lebih dari 70 jenis mutasi yang terjadi pada gena β . Di Indonesia telah diteliti sebanyak 8 mutasi. Akibat dari kelainan ini, secara klinis bisa tanpa gejala (trait thalassemia) sampai dengan gejala yang berat (thalassemia mayor). Akibat terganggunya pembentukan hemoglobin, dapat terjadi anemia yang ringan, sedang ataupun berat sampai harus di terapi dengan transfusi darah. Pada thalassemia mayor penderita tampak anemis, facies Cooley, kulit kehitaman, pertumbuhan terganggu, kurus, perut membuncit karena ada hepatospleomegali, dan adanya kelainan pada uji laboratorium darah, dari yang sederhana sampai ketinggian molekuler. Pengobatan yang sudah dilakukan adalah berupa transfusi darah (dengan desferal) dan cangkok sumsum tulang. Saat ini di Indonesia ada \pm 200.000 orang yang mengidap thalassemia trait \pm 6-10% dan di Sumatera Selatan \pm 10%. Mengingat banyaknya kasus di Indonesia dan biaya pengobatan yang tinggi, dan masih mendatangkan banyak problem, baik problem klinis, problem keluarga maupun problem sosial, maka perlu dimulai program pencegahan yaitu mencegah lahirnya penderita thalassemia baru dengan konsultasi perkawinan dan diagnosis prenatal. Informasi yang diperoleh diharapkan dapat memberikan kontribusi yang bermakna secara langsung pada kelainan molekuler yang mendasari manifestasi klinis sehingga dapat dipergunakan untuk pelaksanaan program pencegahan yang lebih mantap.

Kata kunci : Thalassemia β , cacat molekul, gejala kliniks, terapi dan pencegahan

Pendahuluan

Problem utama kesehatan masyarakat di Negara-negara berkembang khususnya di Indonesia terbanyak adalah penyakit-penyakit infeksi dan malnutrisi. Dengan semakin meningkatnya kondisi sosial ekonomi yang baik, pola distribusi penyakit juga akan berubah. Penyakit-penyakit infeksi yang semula menduduki tempat teratas, berangsur-angsur tergeser dan penyakit-penyakit kardiovaskular, penyakit degeneratif serta penyakit genetik lebih menonjol sejauh ini penelitian dan pengobatan di bidang penyakit-penyakit kardiovaskular dan degeneratif sudah berkembang, sedangkan untuk penyakit-penyakit genetik sangat kurang. Penyakit-penyakit genetik terutama kelainan darah yang merupakan penyakit genetik yang paling sering dijumpai dibandingkan dengan penyakit genetik lainnya¹.

Thalassemia telah menjadi masalah global akibat migrasi penduduk dunia. Thalassemia merupakan suatu kelompok kelainan genetika yang diturunkan secara autosomal resesif ditandai dengan adanya anemia hereditas karena menurunnya produksi atau tidak disintesisnya satu atau lebih rantai polipeptida (sub unit globin). Sub unit ini

diperlukan untuk pembentukan hemoglobin yang akan berfungsi dalam sistim pengangkutan oksigen². Karena sifat resesif dari gena globin dan pewarisannya menurut hukum Mendel autosomal, maka hanya bentuk homozigot yang menimbulkan masalah klinik.

Kata thalassemia berasal dari bahasa Yunani yaitu *Thalassa* (Laut) dan *Haima* (darah) yang berarti anemia laut. Karena dahulu penderita thalassemia banyak terdapat di Laut Tengah, maka penyakit ini sering disebut juga *Anemia Mediterania*³. Setiap tahunnya, hampir 300.000 individu lahir dengan kelainan hemoglobin yang serius, baik dari bentuk homozigot maupun heterozigot ganda⁴. Diperkirakan frekwensi pembawa sifat pada kelainan ini sebesar 7% dari populasi dunia. Kelainan hemoglobin ini dapat dibagi dalam dua kelompok besar yaitu: varian hemoglobin struktural dan thalassemia⁵. Pada awalnya thalassemia tersebar luas di negara-negara sepanjang daerah tropis⁶. Dan terjadi secara sporadik pada seluruh penduduk kelompok ras di daerah ini⁵. Kelainan bawaan ini mempunyai frekwensi tinggi di kawasan Eropa Mediterania (seperti Yunani, Italia,

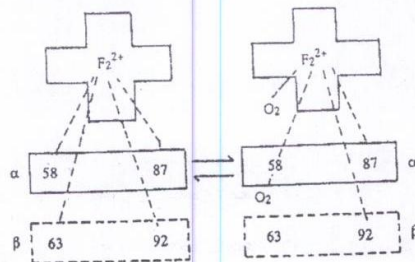
dan Cyprus), Afrika hingga Timur Tengah, India subkontinental, Birma dan Asia Tenggara (mulai dari Cina Selatan turun ke Semenanjung Malaysia, hingga ke Kepulauan Indonesia).

Di Indonesia Thalassemia β dan varian hemoglobin struktural merupakan masalah kesehatan yang sangat penting. Dari hasil beberapa penelitian pada beberapa etnik di Indonesia didapatkan frekuensi thalassemia β sebesar 3-10% dan HbE sebesar 1-25%⁹. Di Sumatera Selatan frekuensi pembawa sifat Thalassemia β sebesar $\pm 10\%$ ¹⁰. Menurut data dari Yayasan Thalassemia Indonesia saat ini di Indonesia menunjukkan 200.000 orang yang mengidap thalassemia bawaan.

Dengan populasi sekarang dan laju kelahiran pertahun sebesar 1,6% diperkirakan sekitar 2000 kasus baru akan lahir setiap tahunnya sehingga jumlah penderita bertambah menjadi 27.000 individu pada tahun 2000 dan akan meningkat terus jika program pencegahan tidak dimulai¹¹. Namun sampai saat ini hanya sekitar 2000 penderita yang tercatat mendapatkan transfusi darah secara teratur¹². Kemungkinan hal ini disebabkan sistem kesehatan yang digunakan kurang tepat dalam mendiagnosa dan menatalaksanakan penyakit ini atau masih banyak penderita yang tidak terdiagnosa karena mempunyai genotip yang ringan.¹³ Sampai saat ini pemerintah belum memprioritaskan thalassemia sebagai penyakit yang perlu mendapat perhatian.

Tinjauan Molekuler Hemoglobin Normal

Hemoglobin (Hb) merupakan pigmen pembawa oksigen pada sel darah merah yang mempunyai berat molekul 64.500 Dalton¹⁴.



Gambar 1. Ikatan molekul hem, polipeptida globin dan O₂

Diambil dari: Harujasasmita P (1999)

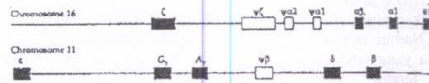
Hemoglobin adalah suatu protein terkonyugasi dengan komposisi tetramer, disusun oleh dua pasang rantai polipeptida globin yang tidak sejenis dan empat gugus prostetik hem, yang diikat secara kovalen pada sisi spesifik terhadap masing-masing rantai¹⁴. Masing-masing molekul Hb mengandung 10.000 atom. Dalam setiap sel darah merah terdapat 280 juta molekul Hb¹⁵. Globin merupakan suatu protein pematangan¹⁴. Rantai globin pada hemoglobin selalu membentuk struktur molekul tetramer yang tersusun dari 2 sub unit (sepasang) rantai globin α (141 asam amino) dan 2 sub unit rantai globin β (146 asam amino) sehingga formulasi umum molekul Hb adalah $\alpha_2\beta_2$. Dalam sistem pernafasan, molekul globin bukanlah bertindak sebagai pengangkut oksigen, tetapi molekul hem yang berikatan dengan oksigen^{17,18}. Masing-masing polipeptida globin akan terkonyugasi pada 1 molekul hem yang berfungsi mengikat oksigen, sehingga 1 molekul Hb mengandung 4 molekul hem^{14,16}.

Atom besi dari setiap molekul hem terikat pada 2 residu histidin yang terdapat pada masing-masing rantai polipeptida globin yaitu pada residu histidin (58) dan histidin (87) dari rantai globin α , dan residu histidin (63) dan histidin (92) dari rantai globin β . Masing-masing atom besi menerima 1 molekul oksigen dalam reaksi yang reversibel. Atom besi yang berikatan dengan oksigen tersebut dalam bentuk ion ferro (Fe²⁺)¹⁸. Dalam molekul oksidasi hemoglobin, kedudukan residu histidin (58) pada rantai globin α dan residu histidin β (63) diganti secara reversibel oleh oksigen.

Interaksi yang kooperatif antara ke 4 rantai globin menyebabkan molekul hem menerima atau melepaskan 4 molekul oksigen¹⁹. Dari gambaran di atas jelaslah bahwa, agar hemoglobin dapat melaksanakan fungsinya dengan baik diperlukan struktur Hb yang normal.

Karena globin adalah suatu protein maka tentu saja sintesisnya dikendalikan oleh suatu gena tertentu. Dari penelitian-penelitian terdahulu telah diketahui bahwa ternyata ada 2 kelompok gena yang bertanggung jawab pada sintesis protein globin. Kelompok pertama adalah kelompok α yang meliputi gena-gena α_1 , α_2 , ξ_1 dan ξ_2 yang dapat bereksresi dan 1 pseudo gena ($\psi \alpha_1$) yang tidak dapat bereksresi dan belum diketahui fungsinya. Kelompok gena α ini terletak pada lengan pendek

kromosom no. 16 dan panjangnya kira-kira 25000 bp (base pair = pasangan basa) atau 25 kb (kilo base). Kelompok kedua adalah gena kelompok β yang terdiri dari gena β , δ , γ , $\text{A}\gamma$ dan ϵ yang dapat bereksresi serta dua pseudo gena ($\psi\beta_2$ dan $\psi\beta_1$) yang tidak dapat bereksresi²⁰. Kelompok gena β ini terletak pada lengan pendek kromosom no. 11 dan panjangnya kira-kira 60 000 bp atau 60 kb²⁰. Perbedaan antara gena γ dan $\text{A}\gamma$ adalah pada produk asam amino posisi ke 136, yang pertama adalah glisin, sedangkan yang terakhir adalah alanin. Pada saat bayi baru lahir perbandingan rantai γ dan $\text{A}\gamma$ adalah 3 : 1, tetapi selama pasca lahir hingga dewasa rantai $\text{A}\gamma$ akan lebih dominan²¹.



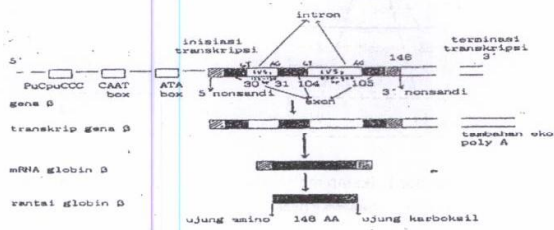
Gambar 2. Susunan kelompok gen globin pada kromosom 16 dan kromosom 11. Kotak hitam melambangkan gen fungsional, sedangkan kotak putih melambangkan pseudogen.

Diambil dari: Li WH (1997) *Molekular Evolusion*.

Struktur Genalpha dan beta.

Genalpha maupun beta merupakan rangkaian kodon (triplet nuklotida) DNA yang menjadi urutan asam amino yang sesuai pada masing-masing rantai globin. Semua gena yang dapat bereksresi mempunyai bagian *exon* (sekuens sandi) yang mengemban sandi asam amino dan intron (sekuens antara) yang tidak mengemban sandi asam amino²³. Genalpha, gamma, delta dan epsilon masing-

mempunyai 2 *intron*, yang pertama terletak antara kodon 30 dan 31 sepanjang kira-kira 122-130 bp dan yang kedua terletak antara kodon 104 dan 105 sepanjang 850-900 bp. Sedangkan gena alpha dan epsilon mempunyai 2 intron tetapi lebih kecil dibandingkan dengan intron gena kelompok beta; intron pertama terletak antara kodon 31 dan 32 sepanjang kira-kira 95 bp sedangkan yang kedua terletak antara kodon 99 dan 100 sepanjang kira-kira 125 bp²⁰.



Gambar 3. Skema gena globin dan proses transkripsi gena globin- β dan pembentukan rantai globin β hemoglobin (diadaptasi dari Vogel, 1988).

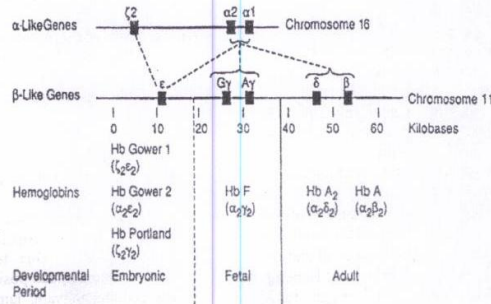
Mekanisme ekspresi gen globin terdiri dari beberapa tahap, mulai dari transkripsi, proses RNA, transportasi RNA, seleksi mRNA untuk translasi dan degradasi mRNA. Masing-masing gen globin mempunyai unsur pengatur yaitu PROMOTOR, ENHANCER dan atau SILENCER yang menentukan ketinggian tingkatan, kekhususan jaringan dan modulasi perkembangan ekspresi gen.²⁴ Sikuens promotor (TATA box, CCAAT box dan CACCC box) pada ujung 5' gen globin penting untuk pengikatan RNA polimerase dan untuk ketepatan efisiensi transkripsi RNA²⁰. Gen globin juga mempunyai sikuens Conserved, ATAAA, pada ujung 3' yang tidak menyandi yang berguna untuk proses terminasi transkripsi RNA dan untuk penambahan adenosin (A) membentuk poly A tract²⁵. Blok homolog pertama kaya akan basa adenin dan timin sehingga disebut kotak ATA dan terletak kira-kira 31 bp dari ujung 5' sedangkan blok homolog terletak kira-kira 77 bp dari ujung 5' dan kaya akan basa cytosin, adenin dan timin sehingga disebut kotak CCAAT. Selain itu kira-kira 80-100 bp pada ujung 5' terdapat juga daerah PuPuCCC (Purin-Cytosin)²⁰. Baik bagian ekson maupun intron akan

ditranskripsikan menjadi suatu prekursor mRNA yaitu nmRNA (nuclear messenger RNA). Langkah selanjutnya nmRNA akan mengalami proses splicing (pemotongan dan penyambungan kembali) membentuk mRNA yang masak. Pada proses ini bagian intron akan dipotong sehingga tidak terdapat pada mRNA yang masak fungsional.

Perkembangan Ekspresi Gen Globin

Selama 6 sampai dengan 8 minggu pertama kehidupan intra uterin, ada 3 macam Hb embrionik yang disintesis yaitu Hb Gower 1 ($\zeta_2 \epsilon_2$) Hb Portland ($\zeta_2 \gamma_2$) dan Hb Gower 2 ($\alpha_2 \epsilon_2$)^{2,15}.

Mulai kira-kira minggu ke-2, sintesis rantai globin embrionik mulai menurun dan rantai globin fetus mulai disintesis¹⁶. Hemoglobin fetus (HbF, $\alpha_2 \gamma_2$) yang terbentuk akan menjadi Hb utama dalam kehidupan janin dan akan menurun kembali sesuai dengan laju sintesis rantai globin fetus mulai minggu ke-30 kehamilan sampai kira-kira 48 minggu setelah kelahiran. HbF yang mempunyai afinitas yang tinggi terhadap oksigen bertugas menarik oksigen dari darah ibu dan mengedarkannya ke fetus (gambar 4)²⁷

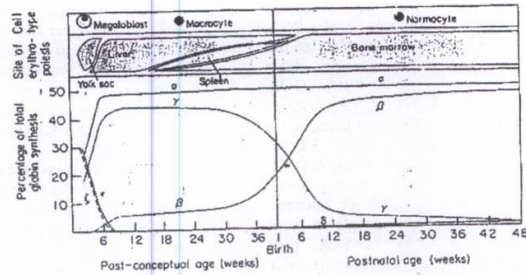


Gambar 4. Organisasi gen globin manusia dan Hb yang dihasilkan pada masing-masing stadium perkembangan manusia

Dibambil dari: Stamatoyannopoulos G and Nerihtus AW (1994)

Antara minggu ke-30 kehamilan dan minggu ke-12 setelah kelahiran sintesis globin β dan globin δ mulai meningkat lebih cepat. (Gambar 4)¹⁵. Pada usia lebih dari 6 bulan setelah kelahiran, Hb dewasa normal mulai terdiri dari 95% HbA ($\alpha_2 \beta_2$), 2-3,5% HbA₂ ($\alpha_2 \delta_2$) dan kurang dari 2% HbF.^{15,27} Pada masing-masing stadium perkembangan, gen-gen pada lokus

yang berbeda dalam kelompok gen globin akan mengalami aktivasi dan represi. Rantai globin yang berbeda yang telah disintesis pada suatu stadium akan berkombinasi pada pasangannya membentuk molekul Hb fungsional seperti yang diperlihatkannya pada gambar 5.^{28,29}



Gambar 5. Produksi rantai globin pada berbagai stadium pertumbuhan manusia beserta organ yang berperan (dikutip dari Weatherall and Clegg, 1981).

Komposisi produksi Hb pada manusia mengalami 2 kali peralihan. Selama 3 bulan kehamilan, sel darah merah mengandung Hb embrionik. Selama 6 bulan terakhir kehamilan, sel darah merah lebih banyak mengandung Hb fetus. Peralihan dari Hb fetus ke Hb dewasa terjadi pada periode perinatal dan selesai pada akhir tahun pertama²⁴.

Mekanisme Cacat Molekul Pada Thalassemia β

Pada orang normal produksi rantai globin α dan non α berlangsung seimbang. Defek di setiap bagian dari sintesa Hb dapat menyebabkan produksi globin abnormal. Hampir semua gena thalassemia yang mengalami mutasi mengubah struktur gena serta fungsinya. Mutasi-mutasi ini dapat partial atau komplet meniadakan sintesa rantai globin dari kromosom-kromosom yang terkena thalassemia β^0 akibat dari mutasi yang menyebabkan tidak ada produksi rantai globin β . Thalassemia β^+ akibat dari produksi rantai globin β yang berkurang. Beberapa macam mutasi-mutasi dapat mengganggu fungsi globin gena sebagai berikut:

Delesi gen

Seluruh cluster globin gena atau segmen dari struktur globin gena dapat mengalami delesi. Delesi DNA yang banyak ditemukan sebagai penyebab utama dari Thalassemia α dan beberapa tipe Thalassemia β^0 seperti mutasi yang karakteristik adanya delesi pada bagian 3' dari gena globin β orang-orang Indian. Kelainan yang lain adalah thalassemia $\delta\beta$, thalassemia $\gamma\delta\beta$ dan beberapa kasus dari HPFH. Delesi atau insersi nukleotida tunggal sering dijumpai sebagai penyebab utama dari

thalassemia β^0 . Mutasi-mutasi ini mengubah rangka pembacaan DNA (frameshift mutation) dan menimbulkan kodon terminator menjadi terminasi rantai yang prematur saat translasi. Mutasi yang sering dijumpai dalam grup ini adalah delesi 4 bp pada kodon 41/42 dari gena globin β .

Mutasi Titik (point mutations)

Substitusi nukleotida tunggal menyebabkan terjadinya abnormalitas pada transkripsi, pembentukan RNA dan translasi RNA (tabel 1 terlampir).

Macam-macam mutasi yang telah dilaporkan:

a. Mutasi-mutasi yang mempengaruhi transkripsi (promotor mutations)

Telah diketemukan 7 mutasi pada elemen-elemen promotor yang menyebabkan thalassemia β^+ sejak sejumlah β globin RNA mulai diukur 25-60%. Dua terletak dibagian distal elemen-elemen pada posisi 87 dan 88 dari CAP site sedangkan yang lainnya pada TATA box. Mutasi-mutasi ini telah dilaporkan sebagai thalassemia β^+ .

b. Mutasi-mutasi yang mempengaruhi proses pembentukan RNA

Intron normalnya dipindahkan oleh mekanisme yang mengenal adanya konsensus sikuens dan dinukleotida pada exon-intron junction yang sebagian menyilang tempat splice (splice site) dari sikuens konsensus yang dapat ditemui pada gen-gen struktural. Tapi splice site yang samar-samar ini jarang digunakan pada proses RNA normal kecuali ada mutasi yang menyebabkan tempat-tempat yang lebih baik untuk pembentukan struktur base-pair di

antara RNA precursor dan snRNA saat proses splicing.

Ada 4 mekanisme yang karakteristik dari mutasi yang terjadi pada pembentukan RNA

1. Mutasi pada splice site akan merusak proses normal splicing dan menggunakan splice site samar yang aktif, yang ada didekatnya. Karena itu tidak ada mRNA normal yang dihasilkan menyebabkan thalassemia β^0 .
2. Mutasi pada konsensus sikuens splice dapat mengganggu pembentukan struktur base-pair yang mengakibatkan pengurangan jumlah mRNA yang matang (*mature*), ini menyebabkan terjadinya thalassemia β^- ringan berat tergantung di mana nukleotida dalam konsensus sikuens itu diubah.
3. Mutasi pada "coding sequence" yang dapat mengaktifkan sikuens splice samar yang mengakibatkan transkripsi RNA abnormal. Bagaimanapun pemindahan intron pada splice site normal lebih baik dari pada splice site samar, karena itu 75% mRNA yang matang dapat disintesa menyebabkan thalassemia β^+ ringan (HbE).
4. Mutasi pada *Intervening sequences* (IVS). Dapat merangsang perubahan splice site baru dan juga mengaktifkan penggunaan splice site samar. Mutasi-mutasi ini menyebabkan thalassemia β^0 atau thalassemia β^- .

c. Mutasi-mutasi Pada Polyadenilasi

Transkrip RNA biasanya dimulai melalui sikuens DNA, AATAAA, sebelah ujung dari sikuens

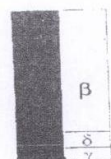
koding (*coding sequences*). Sikuens ini dapat berlaku sebagai signal untuk memotong transkripsi RNA, 20 nukleotida-nukleotida di ujung dan penambahan poly A-tract. Substitusi basa tunggal (single base) pada signal ini ditemui pada thalassemia α^+ dan thalassemia β^+ di mana sintesa transkripsi RNA lebih panjang.

d. Mutasi-mutasi yang mempengaruhi translasi

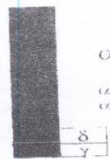
Normalnya translasi dimulai dengan kodon inisiator (AUG signal) dan berakhir pada kodon terminator (UAA, UAG, UGA) di mRNA. Mutasi pada kodon inisiator ditemui pada thalassemia α^+ . Perubahan 1 basa tunggal, ATG \rightarrow ACG pada gen α_2 yang ditemui pada 70% non delesi Sardinia. Pada HbH terjadi substitusi ATG \rightarrow GTG pada gen α yang lebih sedikit. Delesi 2 nukleotida pada kodon inisiator (posisi-2,-3) ditemui pada thalassemia α^- pada tipe- $\alpha^{2,6}$ di Algeria. Delesi ini menyebabkan reduksi proses translasi 30%-45%. Bentuk homozigot dari mutasi ini dapat menyebabkan penyakit HbH. Sebaliknya ada beberapa mutasi-mutasi yang menyebabkan terminasi translasi prematur. Ini dapat terjadi baik pada substitusi basa tunggal yang langsung merubah kodon normal ke kodon terminasi atau delesi yang menyebabkan mutasi kerangka dan pembentukan kodon terminator intraphase. Semua mutasi ini menyebabkan produksi globin tidak ada.

Dampak cacat molekul pada thalassemia β

Dampak cacat molekul pada thalassemia β
SINTESIS RANTAI GLOBIN



Normal



Thalassemia- β

α_4

$\alpha_2\delta_2 = \text{HbA}_2$ (2-3%)
 $\alpha_2\gamma_2 = \text{HbF}$ (2-98%)

Pada keadaan normal, sintesa rantai globin dalam keadaan seimbang dan berkombinasi membentuk 93-98% HbA ($\alpha_2\beta_2$), 2-3,5% HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) dan 1% HbF ($\alpha_2\gamma_2$). Pada thalassemia β sintesa rantai

Klasifikasi Thalassemia β ²²

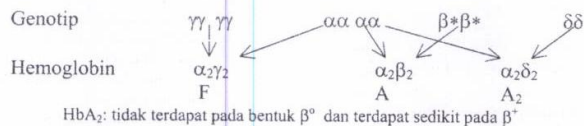
globin β inadequate, bisa menurun atau tidak disintesa sama sekali, sehingga rantai globin fungsional lainnya akan berpolimerisasi membentuk α_4 , $\alpha_2\gamma_2$ \uparrow (HbF \uparrow), $\alpha_2\delta_2$ \uparrow (HbA₂ \uparrow).

Thalassemia β ini disebabkan oleh suatu mutasi titik (noktah) pada beberapa urutan nukleotida gena globin β^1 . Dari penelitian-penelitian molekuler gena β telah diketemukan lebih dari 70 jenis mutasi yang terjadi pada gena β . Di Indonesia ada 8 jenis mutasi yang telah diteliti^{13,32}. Yaitu IVS_7-nt_1 ($G \rightarrow T$), IVS_7-nt_5 ($G \rightarrow C$), $IVS_2-nt_{6,54}$ ($C \rightarrow T$), Cd_{26} ($GAG \rightarrow AAG$), Cd_{41-42} (del CTTT), Cd_{15} ($TGG \rightarrow TAG$), Cd_{19} ($AAC \rightarrow AGC$) dan $Cd_{8,9}$.

A. Thalassemia- β

I. Berdasarkan ada tidaknya produk rantai globin β yang dibentuk oleh gena yang mengalami mutasi. Dibedakan menjadi 2 golongan:

1. **Thalassemia β^0** , jika sintesa rantai globin β oleh gena yang mengalami mutasi tidak ada sama sekali.
2. **Thalassemia β^+** , jika sintesa rantai globin β oleh gena yang mengalami mutasi hanya dalam jumlah sedikit²².



2. **Thalassemia β^0 dan Thalassemia β^+ heterozigot**

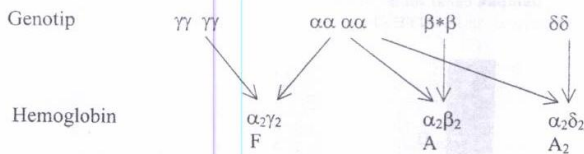
Terjadi akibat adanya mutasi pada salah satu gena β . Biasanya ditandai anemia sangat ringan (pada bentuk β^+) dan anemia ringan sampai sedang (pada bentuk β^0) tetapi secara klinis tidak

II. Berdasarkan kerusakan genanya dibagi lagi menjadi 2 golongan.

1. **Thalassemia β dan Thalassemia β homozigot.**

Disebabkan karena semua gena β mengalami mutasi pada tempat yang sama. Bentuk β menunjukkan gejala klinis yang berat dengan anemia yang sangat berat dan berakibat fatal bila tidak segera ditransfusi darah karena HbA tidak dibentuk sama sekali. Bentuk β secara klinis menunjukkan anemia berat dengan kadar HbA 5-30%⁴⁴. Kedua-duanya ada kenaikan kadar HbA₂ dan HbF, MCV menurun, MCH menurun, normoblast banyak disirkulasi. Mekanisme peningkatan HbA₂ dan HbF adalah sebagai berikut:

tanpak. Kadar MCV dan MCH menurun dan terdapat bercak-bercak (stippling) yang khas pada eritrositnya, kadar HbA₂ dan HbF dalam sirkulasi meningkat dan kadar HbA menurun⁴⁴. Mekanisme terjadinya sebagai berikut:



3. **Thalassemia β heterozigot ganda (Compound heterozigot)**

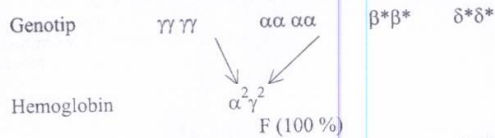
Diakibatkan oleh mutasi gena β tapi pada lokasi yang berlainan. Penampakan klinis dan hematologis sama dengan bentuk homozigot dan hanya bisa diketahui jika dilakukan analisis molekuler dengan cara mendeteksi lokasi gena yang mengalami mutasi.

III. Secara klinis Thalassemia β dibagi menjadi.

1. Thalassemia mayor atau anemia Cooley dapat dalam bentuk homozigot dan Heterozigot ganda yang ditandai dengan anemia berat.
2. Thalassemia minor (Heterozigot) ditandai dengan anemia ringan.

3. Thalassemia Intermedia adalah bentuk peralihan antara thalassemia mayor dan minor²².

B. Thalassemia β Dengan Hemoglobin Patologik
Terjadi Heterozigot ganda antara thalassemia β dengan Hb patologis yang lain misalnya dengan HbE membentuk thalassemia β^E . Mutasi terjadi codon 26 pada rantai globin β (GAG \rightarrow AAG). Di Indonesia kasus ini dilaporkan pertama kali pada tahun 1964²². 4% total penduduk Indonesia mengemban sifat HbE³³. Di Sumatera Selatan (Palembang) di ketemukaan Thalassemia β dengan Hb Malay. Kombi-nasi thalassemia β dengan sickle cell dan Hb patologik lainnya



D. Thalassemia lain selain jenis Thalassemia yang telah disebutkan di atas adalah thalassemia δ yang diakibatkan oleh mutasi pada gena δ , thalassemia $\gamma\delta\beta$ yang disebabkan oleh mutasi pada gena γ , δ , dan β serta thalassemia $\gamma\beta$ yang disebabkan oleh mutasi pada gena γ dan β ²². Selain itu dikenal juga Hb Lepore yang disebabkan oleh persilangan (*crossing over*) antara gena β dan gena δ ²¹. Dan yang terakhir adalah *Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin (HPFH)*. Jenis Thalassemia ini jarang ditemui khususnya untuk populasi Indonesia³¹.

Gambaran Klinis Thalassemia β

- Thalassemia Mayor** (Homozigot) atau disebut juga anemia Cooley yang menunjukkan gejala klinis sangat berat dan mulai tampak pada anak berumur kurang dari 1 tahun²². Gejala-gejala klinisnya anak tampak pucat dan perkembangan fisik serta berat badan kurang dari normal, hati dan limpa membesar dan mudah diraba serta menyebabkan perut tampak membuncit. Gejala akan tampak lebih jelas pada anak yang lebih besar; bentuk mukanya khas (*facies Cooley*) dengan tanda-tanda hidung pesek tanpa batang hidung, jarak antara kedua mata lebar dengan tulang dahi yang lebar pula. Hal ini disebabkan oleh karena perkembangan tulang muka dan tengkorak yang terganggu²².
- Thalassemia Minor** (Heterozigot), secara umum tidak menunjukkan gejala klinis yang

dapat pula terjadi²² tetapi sangat jarang ditemukan di Indonesia¹¹.

C. Thalassemia $\delta\beta$

Thalassemia $\delta\beta$ disebabkan oleh mutasi pada gena δ dan β , dan ditemukan baik dalam bentuk heterozigot maupun homozigot. Thalassemia $\delta\beta$ jarang ditemui dalam populasi Indonesia. Karena gangguan terjadi pada gena δ dan β maka yang terbentuk hanya fraksi HbF ($\alpha_2\gamma_2$) saja, sedangkan HbA dan HbA₂ tidak terbentuk sama sekali. Bentuk homozigot tidak separah Thalassemia β mayor karena masih terbentuk HbF²².

nyata, hanya kadang-kadang ditemukan anemia ringan yang sering dikacaukan dengan anemia mikrositik yang disebabkan oleh defisiensi besi²¹.

3. Thalassemia Intermedia

Adalah bentuk peralihan antara Thalassemia Mayor dan Minor yang menunjukkan gejala anemia sedang²².

Gambaran Hematologi Thalassemia β

Penderita Thalassemia β umumnya mengalami:

Anemia hipokrom mikrositer, kadar retikulosit sirkulasi meningkat, ukuran eritrosit bervariasi, pucat, banyak sisa-sisa yang sudah pecah (*fragmentosit*), umur eritrosit lebih pendek, kadar HbA₂ meningkat > 5% (Normal = 2%), kadar HbF meningkat: homozigot sampai 90%, heterozigot sampai 10% dan (normal = 1%), hematokrit (PCV) menurun, MCH dan MCV menurun, kadar feritin meningkat sampai 4 kali⁴⁶.

Diagnosa Thalassemia

Kita dapat mendiagnosa dengan melihat:

1. Data-data klinis

- Riwayat keluarga
- Pemeriksaan fisik:
 - Gangguan gizi \rightarrow kurus/berat badan kurang, pertumbuhan terganggu, anemis, *facies Cooley/facies rodent*, hepatomegali dan splenomegali

2. Uji laboratorium

a. Pemeriksaan darah tepi lengkap

b. Kadar hemoglobin menurun <10 gr%, jumlah eritrosit menurun, jumlah lekosit; menurun, jumlah retikulosit (Brilliant Cresyl Blue) meningkat, jumlah MCV menurun (<83 μ^3), jumlah MCH menurun (<26 μg), PCV (mikrohematokrit) menurun. Apusan darah tepi: eritrositnya anisositosis, hipokrom, mikrositer; poikilositosis; bizarre sel, fragmen sel, normoblast (asidofil) kadang-kadang sampai banyak sekali sehingga mempertinggi jumlah lekosit, basophilic stippling sel target, benda inklusi.

c. Uji Fragilitas Osmotik

Dengan menggunakan bufer salin 0,36%, RBC tidak mengalami hemolisis osmotik pada penderita Thalassemia atau trait.

d. Uji Presipitasi DCIP

Digunakan untuk menguji saring HbE. Molekul HbE akan mengalami disosiasi dan presipitasi bila diinkubasikan dengan cat tersebut pada suhu 37°C. Timbulnya banyak endapan pada dasar tabung menunjukkan HbE homozigot, keruh atau endapan ringan terdapat pada HbE heterozigot, penyakit HbH dan Thalassemia β HbE. Kekeuhan juga terdapat pada keadaan normal, defisiensi Fe, trait thalassemia dan hemoglobin Constant Spring (HbCS).

e. Pemeriksaan Kadar HbF

HbF secara kualitatif diperiksa dengan memanfaatkan sifat resistensinya terhadap asam dan alkali kuat. Secara mikroskopik, pada preparat apus darah tepi yang dipaparkan pada larutan asam, semua Hb kecuali HbF akan terelusi ke luar, sehingga eritrosit yang mengandung HbF akan tercat biru tua dengan pengecatan amido black. Sel yang tidak mengandung HbF akan tampak pucat sehingga dinamakan *Ghost Cell*. Bila jumlahnya lebih dari 5 per lapangan pandangan dianggap positif. HbF secara kuantitatif diperiksa dengan cara denaturasi alkali (cara Betke). Pada thalassemia kadarnya meningkat lebih dari 1,5%.

f. Pemeriksaan kadar HbA₂ dengan kolom kromatografi

Nilai normal : 1,5–3,5%.

f. Elektroforesis Hemoglobin

Pemeriksaan ini penting untuk diagnostik sindrom thalassemia¹. Elektroforesis dapat memisahkan berbagai jenis hemoglobin.

g. Pemeriksaan molekuler rantai globin β .

Pemeriksaan untuk deteksi lokasi mutasi gena ini meliputi:

1. Mengisolasi DNA dari darah utuh (berasal dari whole blood)
2. Deteksi mutasi DNA dengan teknik PCR – RFLP (ARMS)
3. Elektroforesis fragmen DNA dan pemotretan

Penatalaksanaan

Penyakit thalassemia sampai sekarang belum ada obat yang dapat menyembuhkannya. Pengobatan dilakukan untuk mengatasi gejala-gejala yang muncul.

1. Tranfusi

Ada 2 pendapat yang berlainan³⁵, yakni yang mengatakan bahwa tranfusi darah itu diberikan bila perlu saja^{36,37} ialah bila telah timbul tanda-tanda anak mulai lemah, kurang aktif dan tidak mau makan. Biasanya tanda-tanda ini timbul bila Hb 5–6 gr%. Pendapat kedua ialah mempertahankan kadar Hb ± 10 gr%³⁹. Dengan mempertahankan kadar Hb sekitar 10 gr% mereka tidak menemukan gangguan pertumbuhan, kelainan tulang yang berat dan pembesaran jantung. Penderita-penderitanya dapat mengalami kehidupan yang hampir sama seperti anak normal.

2. Pemberian desferal

Timbunan besi yang berlebihan dalam jaringan tubuh akibat tranfusi dikeluarkan dengan pemberian desferal (iron chelating agent). Tiap 1 gr desferal dapat mengeluarkan 8–33 mg besi⁴⁰. Sedangkan yang lain menemukan bahwa besi dapat dikeluarkan sebanyak 9,2–22,9 mg.

3. Pemberian vitamin

Diberikan bila ada tanda-tanda anemia megaloblastik.

4. Splenektomi

Tujuannya bila umur RBC sudah terlalu singkat atau bila jarak antara 2 seri transfusi sudah terlalu dekat. Diangkatnya limpa maka kebutuhan tranfusi darah dapat dikurangi³⁹.

5. Tindakan orthodontik

Untuk mengurangi atau mencegah perubahan bentuk muka dan rahang⁴².

6. Transplantasi

Transplantasi sumsum tulang dapat memberikan harapan pada si penderita tapi tidak mencegah /mengobati untuk keturunannya.

7. Terapi gen

Mengubah kelainan DNA dalam gen kromosom.

Pencegahan

1. Konsultasi Perkawinan

Menghindari perkawinan antar pembawa sifat. Bila tetap menikah, dianjurkan untuk tidak mempunyai anak.

2. Menganjurkan tidak punya anak lagi bila sudah ada anak yang klinisnya sehat.

3. Melakukan aborsi bila janin akan menjadi penderita thalassemia mayor. Sebelumnya dilakukan pemeriksaan antenatal (16-20 minggu) kehamilan⁴³. Tindakan aborsi harus mempertimbangkan faktor sosial dan agama.

Kesimpulan

Mengingat banyaknya penduduk Indonesia yang membawa sifat thalassemia- β (6-10%) dan terutama di Sumatera Selatan yang merupakan propinsi yang terbanyak mengemban thalassemia- β serta biaya pengobatan yang tinggi, maka sudah saatnya para dokter di Indonesia untuk segera memulai program pencegahan sesuai yang dianjurkan oleh WHO yaitu mencegah lahirnya penderita thalassemis baru dengan konsultasi perkawinan dan diagnosis prenatal. Bila program pencegahan lahirnya penderita thalassemia baru, dapat dilaksanakan dengan laboratorium penunjang yang akurat, maka hasil pemeriksaan maupun interpretasi dan perkiraan berat ringannya manifestasi klinis anak yang mungkin akan dilahirkan dari kombinasi cacat DNA pasangan yang akan menikah atau penderita janin yang dikandung dari pasangan pembawa sifat dapat dipertanggungjawabkan. Dengan menurunnya jumlah penderita ataupun pembawa sifat thalassemia maka dana yang digunakan untuk menangani masalah ini berkurang dan kualitas manusia Indonesia akan meningkat.

Daftar Pustaka

1. Bun F.H. and Forget B.G. 1986. Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects W.B. Saunder Comp., Philadelphia.
2. Weatherall D.J. The Thalassemias In: Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW, Majerus P, and Varmus H, editors. The Molecular Basis of Blood Diseases. Second edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994, p.157-74.
3. Giardina P and Hilgartner M. Update on thalassemia. *Pediatr rev* 1992; 13 : 55-62.
4. Voet D and Voet JG. Biochemistry. Second Edition. New York: John Wiley & Sons. Inc., 1995; p. 223-35.
5. D.j. Weatherall, ABC of clinical haematology: the hereditary anaemias., *BMJ*, 15 February 1997.
6. D.j. Weatherall, Fortnightly review: The thalassemias, *BMJ*, 7 June 1997.

7. Pasternak J.J. An Introduction to Human Molecular Genetics. Maryland: Fitzgerald Science Press Inc., p. 102-3, 446-8
8. Lau Y-L, Chan L-C, Chan Y-YA, Ha S-Y, Yeung C-Y, Waye JS, and Chui DHK. Prevalence and Genotype of α - and β -Thalassemia Carriers in Hongkong-Implications for Population Screening. *N Engl J. Med.* 1997; 336:1298-301.
9. Sofro, 1995
10. Sofro A.S.M, Clegg J.B., Lanni F., Sianipar O., Himawan Y., Liliani R.V., 1996. Application of ARMS primers for the molecular characterization of β -thalassemia carrier in Palembang, South Sumatera, Indonesian Journal of Biotechnology, Dec. : 59-65.
11. WAHIDIYAT, Tesis Doktor, Penelitian thalassemia di Jakarta 1988.
12. Yayasan Thalassemia Indonesia, majalah Nova. No. 737/XV.
13. Setianingsih, 2000
14. Hardjasamita P. Ikhtisar Biokimia Dasar A. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 1999, h. 116-24.
15. Twyman, RM. Advanced Molecular Biology. Oxford: Bio Scientific Publishers Limited, 1998. p216-7, 461-2.
16. Devlin T.M. 1986. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. 2nd edition. John Wiley & Sons Inc., Singapore.
17. Kendall AG. Thalassemias. In: Medicine. Oxford: Medical Education (International) Ltd., 1983. p. 1169-73.
18. Miller JH. Discovering Molecular Genetics. Los Angeles: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996. p.289-308.
19. Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, and Darnell J. Molecular Cell Biology. 3rd edition, New York: Scientific American Books Inc., 1995. p.64, 68-70.
20. Vogel F, and Motulsky A.G. 1986. Human Genetic Problems and Approaches. 2nd edition, New York.
21. Harris H. 1980, The Principles of Human Biochemical Genetic. 3rd edition Elsevier-North Holland Biomedical Press., Amsterdam-New York.
22. Weatherall D.J. and Clegg. J.B. 1980. the thalassemia Syndromes. 3rd edition, Blackwell Scientific Publ., Oxford, London, Edinburg, Melbourne.
23. Strickberger M.W. 1985. Genetic. 3rd edition. Mac Millan Publ. Comp., New York.
24. Stamatoyannopoulos G and Nienhuis AW. Hemoglobin Switching. In: Stamatoyannopoulos G, Nienhuis. AW, Majerus PW, and Varmus H.

- The Molecular Basis of Blood Diseases. Second edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994.p.107-40.
26. Szehely M., 1980 from DNA to Protein; the Transfer of Genetic Information. MacMilan Press LTD., London-NewYork.
 27. Quirolo K. Definition of thalassemia. Oakland: Children's Hospital, 1998.
 28. Weatherall DJ. The thalassemias In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, and Kipps TJ, editors. Williams Hermatology. Fifth ed, New York: Mc Graw-Hill Inc., 1995 p.581-615.
 29. Griffiths AJF. An Introduction to Genetic Analysis. Sixth edition. New York: WH Freeman and Company, 1996, p.222-8, 348-9, 351-2, 407-8.
 30. Wagner R.P., 1980, Introduction to Modern Genetics. John Wiley & Sans Inc., New York.
 31. Orkin S.H., and Kazazian Jr. H.H. 1984. the Mutation and Polymorphism of Human β globin gene and its surrounding DNA, Annu. Rev. Genet. 18 : 131-137.
 32. Lie Injoe L.E. 1964. Haemoglobinopathies in East Asia, Ann. Hum. Genet. 28 : 101-128.
 33. Wang H.B. 1983. thalassemia as Community health in Southeast Asia. Naskah Lengkap Kongres Nasional PHDTI, Yogyakarta 24-26 Sept 1983.
 34. dr. Liniyanti O. et al. Penelitian Hubungan HB-Malay dengan berbagai cacat molekul thalassemia β serta manifestasi kliniknya.
 35. Weatherall D.j & Clegg, J.B.: the thalassemia Syndrome; 2nd ed., (Blackwell Scientific Publ., Oxford/London/Edinburgh/Melbourne 1972)
 36. Fink, H; Transfusion Hemochromatosis in Cooley's anemia. Ann. N.Y. Acad. Sci. 119:680 (1964)
 37. Proudfoot NJ. And Brownlee 66. 3' Non-coding Region Sequences in Eucaryotic. Messenger RNA. Nature 1976; 263 : 211-4.
 38. Lehmann, H. and Huntsman, R.G.: Man's Haemoglobins. (North Holland Publ. Co., Amsterdam 1966).
 39. Wolman, I.J.; Transfusion therapy in Cooley's anemia: Growth and Health as related to long range hemoglobin levels. A progress report. Ann. N. Y. Acad. Sci. 119:736(1964).
 40. Smith, C.H.; Erlandson, M.E.; Stern G. and Schulman, I: the role of Splenectomy in the management of thalassemia. Blood 15: 197(1960)
 41. Bannerman, R.M.; Calender, S.T. and Williams, D.L.: Effect of desferrioxamine and DTPA in iron overload. Brit. Med. J.ii: 1573(1962)
 42. Hwang, Y.F., and Brown, E.B.: Studies of the effect of desferrioxamine on human iron absorption and excretion. J. Lab. Clin. Med. 62 : 885(1963)
 43. Jurkiewicz, M.J.; Pearson, H.A. and Furlow, L.T., Jr.: Reconstruction of the maxilla in thalassemia. Ann. N.Y. Acad. Sci. 165 : 437 (1969)
 44. Kan, Y.W.; Nathan, D.G.; Cividalli, G. and Frigoletto, F.: Intrauterine diagnosis of thalassemia. Ann. N.Y. Acad. Sci. 232: 145(1974^a)
 45. Todd D. and Chan V. 1989. The talassemia an update. Medical Progress. 16(10) : 51-62.
 46. WHITE J.M., Richard S.R., Jelenki G., Byrne M. and Ali M. 1986. Iron State in Alpha and beta thalassemia trait. J. Clin. Pathol, 39: 236-259.