



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

HUBUNGAN POLIMORFISME GEN CYP11A1, HORMON STRES KORTISOL DAN HORMON TESTOSTERON DENGAN AKNE VULGARIS

DISERTASI



Endang Herliyanti Darmani
0930313007

**PROGRAM S3 ILMU KEDOKTERAN
PROGRAM PASCA SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2014**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Endang Herliyanti Darmani

No. BP : 0930313007

Dengan ini menyatakan bahwa disertasi saya akan diuji pada ujian tertutup tanggal 14 Agustus 2014 yang berjudul “Hubungan Polimorfisme Gen CYP1A1, Hormon Stres Kortisol dan Hormon Testosteron Dengan Akne Vulgaris” adalah hasil karya cipta saya sendiri. Apabila dikemudian hari ternyata pernyataan saya ini tidak benar, maka saya siap menanggung konsekuensi sesuai dengan ketentuan dan perundangan yang berlaku.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dan ditandatangani untuk dapat dipergunakan dan dimaklumi.

Pekanbaru, Agustus 2014

Saya yang menyatakan

Endang Herliyanti Darmani

LEMBARAN PERSETUJUAN

Oleh Komisi Pembimbing

Ketua



Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA (K)

Anggota



Prof. Dr. dr. Irma D Roesyanto, SpKK (K)

Anggota



Dr. dr. Adnil Edwin Nurdin, SpKJ

Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran
Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran
Universitas Andalas
Padang



Prof. Dr. dr. Yanwirasti, PA (K)

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Ketua : Prof.DR.dr.Eryati Darwin, PA (K)

Anggota : DR.dr. Adnil Edwin Nurdin, SpKJ

Prof.DR.dr. Irma D Roesyanto, SpKK (K)

Prof.DR.dr. Yanwirasti, PA (K)

Prof. Dr. Ir. Sumaryati Syukur, Ph.D

DR.dr. Hafni Bachtiar, MPH

Prof. Dr. Dra. Nuzulia Irawati MS

Prof. DR.dr. Endang Sutedja, SpKK(K), FINS-DV

KATA PENGANTAR

Sujud syukur kehadiran Allah Subhanahuwata'ala atas segala rahmat, taufik, hidayah dan karuniaNya yang telah dilimpahkan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan dengan baik penelitian disertasi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan disertasi ini banyak peran serta, dukungan moril, bimbingan dan pengarahan dari pembimbing, para guru besar, PJMK dan seluruh staff pengajar di program pasca sarjana Universitas Andalas. Untuk itu perkenankanlah penulis menyampaikan ucapan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

Rektor Universitas Andalas dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Pasca Sarjana di Universitas Andalas Padang.

Prof. Dr. dr. Yanwirasti, PA (K) sebagai Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Pasca Sarjana Universitas Andalas dan sebagai anggota tim penyangga yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dengan penuh ketelatenan dan kesabaran kepada penulis dalam menyelesaikan disertasi ini.

Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA (K) sebagai promotor yang telah dengan sabar dan ikhlas memberikan bimbingan, motivasi dan semangat yang menjadi suatu dorongan yang sangat berarti bagi penulis dalam menyelesaikan disertasi ini.

Prof. Dr. dr. Irma D. Roesyanto, Sp.KK (K) sebagai ko-promotor yang telah banyak memberikan bimbingan dan dukungan dengan telaten dan penuh kesabaran serta memberikan jalan keluar bagi penulis pada setiap kali menemui kesulitan dalam menyelesaikan dan menyempurnakan disertasi ini.

Dr. dr. Adnil Edwin Nurdin, Sp.KJ sebagai ko-promotor yang telah memberikan banyak bimbingan, dukungan, dan koreksi kepada penulis, khususnya di bidang keilmuan kedokteran jiwa sehingga penulisan disertasi ini dapat disempurnakan dengan baik.

Prof. Dr. Ir. Sumaryati Syukur, Ph.D; Prof. Dr. Dra. Nuzulia Irawati MS sebagai anggota tim penyangga yang telah memberikan masukan dan kritikan untuk perbaikan dan perluasan wawasan keilmuan khususnya di bidang biomolekuler sehingga disertasi ini dapat lebih disempurnakan.

Dr. dr. Hafni Bachtiar, MPH sebagai anggota tim penyangga yang telah memberikan masukan dan saran dalam metodologi dan analisis statistik dalam penyusunan dan penyelesaian disertasi ini.

Seluruh staff pengajar Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang telah memberikan bekal ilmiah, filosofi dan arahan dalam pelaksanaan penulisan sampai penyelesaian disertasi : Prof. Dr. dr. Yanwirasti, PA(K), Prof.Dr.dr.Eryati Darwin, PA(K), Prof.dr.Fadil Oenzil,PhD, SpGL, Prof. DR. dr. Nasrul Zubir, Sp.PD, Prof. DR. Ellyza Nasrul, Sp.PK(K), Prof. Ir. Sumaryati Syukur, PhD, Prof. Dr. dr. Rizanda M Mahmud, M.Kes, Dr. dr. Hafni Bachtiar, MPH, Prof. Drh. Hj. Endang Purwati, MS, Ph.D, Dr. Djong Hon`Tjong, Msi, Dr. dr. Adnil Edwin Nurdin,Sp.KJ, Prof.DR.Ir. Jamsari, MP,

DR. Ir. Syaifullah Zulkhar, Msc, Prof. DR. Ir. Helmi, MSc, DR. dr. Masrul, MSc, Prof. dr. Nur Indrawati Lipoeto, MSC, PhD.

Prof. Dr. dr. Endang Sutedja, Sp.KK(K), FINS-DV, Guru Besar Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung yang dengan tulus dan ikhlas telah memberikan bimbingan dan waktunya dalam penelitian ini serta meluangkan waktu di tengah segala kesibukannya untuk bersedia hadir sebagai penguji pada ujian tertutup ini.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Riau Dr. dr. Dedi Affandi, Sp.F, DFM; Direktur RSUD Arifin Achmad Pekanbaru dr. Anwar Bet, Sp.PD yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan program S3 Ilmu Kedokteran Pasca Sarjana di Universitas Andalas, ketua bagian/Kepala SMF Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin dr. Noorsaid Masadi, Sp.KK yang telah memberikan dorongan, semangat dan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan S3 ini.

Seluruh staff pengajar Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Riau/ RSUD Arifin Achmad yang telah memberikan dukungan moril dan kerja samanya selama penulis menjalani pendidikan.

Kepala Laboratorium Biomedik Universitas Andalas Padang Prof. Dr. dr. Yanwirasti PA(K) beserta staff Dessi, Ifa dan Edo yang telah bekerja sama dengan kompak dan baik selama penelitian ini berlangsung sampai penulisan disertasi ini selesai.

Ayahanda R. Soedarsono dan Ibunda Hery Choeriyah yang telah mengasuh, mendidik, mendukung dan memotivasi penulis untuk selalu menimba ilmu yang bermanfaat untuk orang banyak, tabah dan tegar dalam menghadapi segala halangan dan rintangan serta selalu santun dan rendah hati.

Suami tercinta Ir. Rona Ikhsan Sofyan yang telah mendampingi dengan penuh kesabaran, doa dan kasih sayang serta ananda tercinta Nabila Ananda Putri sebagai sumber inspirasi dan semangat dalam menjalani kehidupan.

Akhir kata penulis hanya dapat berdoa kepada Allah Subhanahuwata'ala, semoga amal ibadah semua pihak yang turut serta berpartisipasi dalam penyelesaian disertasi ini, mendapatkan balasan pahala kebaikan dan keselamatan dunia dan akhirat.

Pekanbaru, Agustus 2014

Penulis

RINGKASAN

HUBUNGAN POLIMORFISME GEN CYP1A1, HORMON STRES KORTISOL DAN HORMON TESTOSTERON DENGAN AKNE VULGARIS

Endang Herliyanti Darmani

Akne vulgaris merupakan penyakit kulit kronis yang tersering didapatkan diberbagai negara termasuk Indonesia dan hampir 85% terjadi pada kelompok usia 12-25 tahun (Cunliffe., 1998). Insidensi dan keparahan tertinggi pada usia antara 14-17 tahun pada wanita dan pada usia antara 16-19 tahun pada pria (William et al., 2012). Akne vulgaris dapat menjadi masalah dalam pengobatannya karena sering kali resisten terhadap terapi yang ada sehingga bukan saja penyembuhannya yang sukar dan perjalanan penyakit yang berkepanjangan tapi juga dapat menimbulkan dampak psikososial yang buruk bagi penderitanya (Ernawati., 2011). Etiopatogenesis akne vulgaris bersifat multifaktorial, diantaranya adalah faktor genetik, hormonal dan stres.

Gen CYP1A1 merupakan salah satu gen yang diduga berhubungan dengan kejadian akne. Gen ini berperan mengatur fungsi enzim human sitokrom P-450 yang berada di glandula sebacea kulit. Enzim CYP1A1 merupakan enzim sitokrom P-450 yang berperan pada proses metabolisme vitamin A atau retinol. Retinol dan metabolit retinoid aktifnya penting pada diferensiasi epitel, proliferasi dan diferensiasi sel. Retinoid juga dapat mempengaruhi proliferasi keratinosit epidermal dan sebosit (Golnick., 2003). Sampai saat ini sudah teridentifikasi dua *alel* yang berhubungan dengan kejadian akne vulgaris yaitu *alel m1* dan *alel m2*. Beberapa penelitian menunjukkan polimorfisme gen CYP1A1 memberikan faktor resiko terjadinya akne vulgaris (Paraskevaidis et al., 1998).

Polimorfisme gen CYP1A1 dapat terjadi akibat paparan bahan-bahan yang berasal dari lingkungan maupun obat-obatan (*xenobiotic*). Adanya polimorfisme gen CYP1A1 menyebabkan perubahan kapasitas metabolik vitamin A atau retinol sehingga metabolit alami aktif yang dihasilkan berubah menjadi metabolit yang inaktif. Akibatnya terjadinya diferensiasi sebosit yang abnormal dan hiperkeratinisasi kanalis folikularis sehingga timbul akne (Paraskevaidis et al., 1998).

Kulit merupakan organ tubuh yang secara terus menerus terpapar oleh *stressor-stressor* lingkungan maupun psikologis. Pada saat tubuh terpapar oleh *stressor*, sensor stres yang berlokasi di sentral akan melakukan persepsi yang kemudian diikuti dengan respon HPA aksis sentral. Aksis sentral ini dijalankan melalui pelepasan CRH yang diproduksi oleh hipotalamus, yang mana CRH ini

kemudian akan menstimuli reseptornya yang berada di pituitari. CRH akan meningkatkan produksi dan sekresi neuropeptida yang berasal dari bagian anterior pituitari POMC, α MSH, ACTH dan β endorfin. Selama pelepasannya ke sirkulasi ACTH akan menuju ke glandula adrenal dan mengaktivasi MC2 reseptor yang kemudian akan menginduksi produksi dan sekresi kortisol. Kortisol merupakan glukokortikoid yang akan memicu sitokin-sitokin proinflamasi kulit (Slominski et al., 2000).

Hormon androgen merupakan hormon seks pria yang diduga berhubungan dengan terjadinya akne vulgaris. Pada usia prepubertas hormon androgen yang diproduksi oleh adrenal muncul sebagai pengaktif glandula sebacea (Ebling et al., 1998). Pada usia ini konsentrasi DHEA dan DHEAS plasma secara normal mulai meningkat. Onset ini kemudian akan diikuti dengan kemunculan androstenedion adrenal, yang mana pada waktu bersamaan terjadi peningkatan produksi testosteron dari gonad. Hormon testosteron diperlukan untuk perkembangan organ seksual sekunder dan sistem reproduksi. Selain gonad, hormon androgen juga dapat diproduksi dan dimetabolisir di kulit. Testosteron merupakan hormon androgen paling aktif yang beredar didalam sirkulasi. Unit pilosebacea merupakan target dari androgen yang bersirkulasi (Depleuski., 2000). Testosteron akan berikatan dengan reseptor androgen yang berada di lapisan basal glandula sebacea. Stimulasi yang berlebihan dari testosteron terhadap glandula sebacea kulit menyebabkan peningkatan produksi sebum di kulit yang akan memicu terjadinya akne.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan polimorfisme gen CYP1A1 hormon stress kortisol dan hormon testosteron dengan akne vulgaris dan untuk mengetahui faktor yang paling dominan berhubungan dengan terjadinya akne. Penelitian ini bersifat observasional dengan pengkajian analitik komparatif dan rancangan studi kasus kontrol (case - control study). Penelitian ini dilakukan terhadap 70 pria berusia 17-18 tahun yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu 35 orang pasien akne sebagai kelompok kasus dan 35 orang pasien tidak akne sebagai kelompok kontrol. Pada sampel darah dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk polimorfisme gen CYP1A1 melalui analisis DNA dengan PCR, RFLP dan Sekuensing, untuk kadar kortisol dan kadar testosteron dilakukan pengukuran konsentrasi serum dengan uji ELISA. Data dianalisis dengan menggunakan uji *Chi-square*, *Odds Ratio* dan Regresi logistik.

Pada penelitian ini ditemukan *alel ml* gen CYP1A1 sebagai restriksi menjadi tiga fragmen (*heterozigot wt/ml*) dan sekuens DNA gen CYP1A1 sebagai perubahan transisi *Thymine* menjadi *Cytosine* pada tempat pemotongan enzim restriksi MspI pada ujung 3' 130 bp dibawah ekson 7. Didapatkan persentase polimorfisme gen CYP1A1 *alel ml* 82,90% pada kelompok kasus dan 68,57% pada kelompok kontrol (OR : 2,21. 95% *confidence interval* 0,71-6,87, $p = 1,94$).

Kadar kortisol tinggi didapatkan 54,3% pada kelompok kasus dan 51,4% pada kelompok kontrol (OR : 1,12 , 95% *confidence interval* 0,44-2,87 $p=0,057$). Pada kelompok kasus lebih banyak ditemukan kadar testosteron rendah yaitu 60% dan 40% pada kelompok kontrol (OR : 0,44, 95% *confidence interval* 0,17-1,16 $p=2,80$). Polimorfisme gen CYP1A1 merupakan faktor yang paling dominan berhubungan dengan terjadinya akne dibandingkan faktor hormon kortisol maupun faktor hormon testosteron.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

Tidak ada hubungan signifikan polimorfisme gen CYP1A1 dengan kejadian akne, tetapi terdapat kecenderungan peluang untuk terjadinya akne pada polimorfisme gen CYP1A1 dibandingkan dengan yang tidak polimorfisme gen CYP1A1.

Tidak ada hubungan signifikan kadar hormon kortisol dengan kejadian akne, tetapi terdapat kecenderungan peluang untuk terjadinya akne pada kadar kortisol tinggi dibandingkan kadar kortisol rendah.

Tidak terdapat hubungan signifikan kadar hormon testosteron, dengan terjadinya akne. Tetapi terdapat kecenderungan perlindungan terhadap terjadinya akne pada kadar testosteron tinggi dibandingkan kadar testosteron rendah.

Faktor polimorfisme gen CYP1A1, merupakan faktor paling dominan terhadap kejadian akne

Saran dari penelitian ini adalah :

Pada penelitian hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne, diharapkan pada penelitian selanjutnya dikaitkan dengan faktor lingkungan seperti polutan yang memapar area Pekanbaru.

Pada penelitian hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne, diharapkan pada penelitian selanjutnya dikaitkan dengan faktor herediter.

Sintesa lipid yang meningkat pada glandula sebacea tidak hanya disebabkan oleh hormon stres tetapi juga dapat dipengaruhi oleh faktor lain, seperti makanan sehingga disarankan pada penelitian selanjutnya dilakukan juga pada variabel faktor makanan.

SUMMARY

LINK BETWEEN CYP1A1 GENE POLYMORPHISM, CORTISOL STRESS HORMONE, AND TESTOSTERONE HORMONE IN ACNE VULGARIS

Endang Herliyanti Darmani

Acne vulgaris refers to the most frequent chronic skin disease in various countries, including Indonesia and almost 85% cases occur at 12-25 years old age group (Cunliffe.,1998). The highest incidence and severity was found between 14-17 years old in female and between 16-19 years old in male (William et al., 2012). Acne vulgaris can become a problem in its therapy because patient often resistance with the available therapy. It not only makes the healing process becomes difficult, but also would cause bad psychosocial impact for patient prolonged disease period (Ernawati., 2011). The aetiopathogenesis of acne vulgaris are multifactorial, such as genetic factor, hormone, and stress.

CYP1A1 is one of the gene which is considered having correlation with acne incident. This gene regulates the function of human cytochrome P-450 enzyme in skin sebaceous gland. CYP1A1 enzyme is a cytochrome P-450 enzyme which has a role on vitamin A or retinol metabolism. Retinol and active retinoid metabolites have important role on epithelial differentiation, proliferation, and cell differentiation. Retinoid also workson epidermal keratinocytes proliferation and sebocytes (Golnick., 2003). In this time, there are two alleles related to acne vulgaris that had been identified. They are m1 allele and m2 allele. Several studies show that CYP1A1 gene polymorphism contributes on risk factor of acne vulgaris incident. (Paraskevaidis et al., 1998).

CYP1A1 gene polymorphism could occur because of the exposure against materials from environment and drugs (xenobiotic). CYP1A1 gene polymorphism leads vitamin A and retinol metabolic capacity change. It causes active metabolites to turn to inactive metabolites. As a result, there is an abnormal sebocyte differentiation, follicular canal hyperkeratinization, and then it arises as acne (Paraskevaidis et al., 1998).

Skin is an organ which is exposed continuously with enviromental and psychosocial stressors. When our body exposes to stressors, stress censor in central nervous system will interpret it and then will be followed by HPA central axis response. This central axis is run by CRH releasing produced by

hypothalamic. CRH will stimulate its receptors in pituitary gland. CRH will increase production and secretion of neuropeptide from anterior pituitary, such as POMC, α MSH, ACTH, and β -endorphin. During its releasing to circulation, ACTH goes to adrenal gland and activate MC2 receptor, and then induces cortisol production and secretion. Cortisol is a glucocorticoid which will induce proinflammatory cytokines in skin (Slominski et al., 2000).

Androgen hormone is a male sex hormone related to acne vulgaris incident. In pre-pubertal age, androgen produced by adrenal gland appears as sebaceous gland activator (Ebling et al., 1998). At this age, DHEA and DHEAS level in blood plasma set up normally. This onset will be followed by formation of adrenal androstenedione, at the same time, testosterone production from gonadal increased. Testosterone is required for secondary sexual organs development and reproduction system. Besides gonadal, androgen is also produced and metabolized in skin. Testosterone is the most active type of androgen hormone in human circulation. Pilosebaceous unit is circulated androgen's target (Depleuski., 2000). Testosterone binds to androgen receptor in basal line of sebaceous gland. Over stimulation from testosterone against skin sebaceous gland will increase sebum production in skin and will lead acne incident.

The aim of this study are to analyze the link between CYP1A1 gene polymorphism, cortisol stress hormone, and testosterone hormone with acne vulgaris and also to find the most dominant factor related with acne vulgaris occurrences. This is an observational study with comparative analysis and case control group design. This study was held on 70 males among 12-18 years old divided into 2 groups as 35 acne patients in case group and 35 non-acne patient in control group. At the blood samples, laboratorium examination for CYP1A1 gene polymorphism was done through DNA analysis with PCR, RFLP, and sequencing. The examination of cortisol hormone and testosterone hormone level in serum was done by ELISA test. The result was examined in semi-quantitative and analyzed in univariate with Chi-Square test, Odds Ratio, and in multivariate with logistic regression test.

In this study, we found m1 allele of CYP1A1 gene as restriction into three fragments (heterozygous wt/m1) and CYP1A1 gene sequence as thiamine transition into cytosine on cutting side of MspI restriction enzyme at the end of 3'130 bp under exon 7. We found the percentage of m1 allele of CYP1A1 gene polymorphism in case group is 82,9% and 68,57% in control group (OR : 2,21. 95% confidence interval 0,71-6,87, $p = 1,94$). High level of cortisol hormone was found in case group in the amount of 54,3% and 51,4% in control group (OR : 1.12, 95% confidence interval 0,44-2,87 $p = 0,057$). In case group, we found lower testosterone level in amount of 60% and 40% in control group (OR : 0,44, 95% confidence interval 0,17-1,16 $p = 2,80$). CYP1A1 gene

polymorphism is the most dominant factor related with acne incident if compared to cortisol hormone factor and testosterone hormone factor.

Summaries of this study are:

There is no significant correlation between CYP1A1 gene polymorphism with acne vulgaris incidence, but there is a tendency of acne vulgaris incidence in people with CYP1A1 gene polymorphism than in people without with CYP1A1 gene polymorphism.

There is no significant correlation between cortisol level with acne vulgaris incidence, but there is a tendency of acne vulgaris incidence in high level cortisol than low level cortisol.

There is no significant correlation between testosterone level with acne vulgaris incidence, but there is a tendency of protection from acne vulgaris in high level testosterone then in low level testosterone.

CYP1A1 gene polymorphism factor is the most dominant factor related with acne vulgaris.

Recommendations of this study are:

In study of correlation between CYP1A1 gene polymorphism with acne, it is expected to relate it with environment factors such as exposed pollutant in Pekanbaru in the next study.

In study of correlation between CYP1A1 gene polymorphism with acne, it is expected to relate it with hereditary factor in the next study.

Increasing of lipid synthesis in sebaceous gland is not only caused by stress hormone but also influenced by other factor, such as food. So, that is suggested to investigate food factor in the next study.

ABSTRAK

HUBUNGAN POLIMORFISME GEN CYP1A1, HORMON STRES KORTISOL DAN HORMON TESTOSTERON DENGAN AKNE VULGARIS

Endang Herliyanti Darmani

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis adanya hubungan antara polimorfisme gen CYP1A1, hormon stres kortisol dan hormon testosteron antara penderita akne vulgaris dan orang normal, serta untuk mengetahui faktor yang paling dominan berhubungan dengan terjadinya akne vulgaris.

Metoda : Penelitian ini bersifat observasional dengan analisis komparatif dan rancangan kasus kontrol yang dilakukan terhadap 70 orang pria berusia 17-18 tahun yang terdiri dari 35 penderita akne dan 35 kontrol. Dilakukan pemeriksaan polimorfisme gen CYP1A1 melalui potongan restriksi fragmen polimorfisme dengan alat PCR, pemeriksaan kadar hormone kortisol serum dan kadar hormone testosterone serum dengan uji ELISA. Data dinilai secara semi kuantitatif dan dianalisis secara univariat dengan uji *Chi-Square*, *Odds Ratio* dan secara multivariate dengan uji regresi logistik.

Hasil : Ditemukan *alel ml* gen CYP1A1 sebagai restriksi menjadi tiga fragmen (*heterozigot wt/ml*) dan sekuens DNA gen CYP1A1 sebagai perubahan transisi Thymine menjadi Cytosine pada tempat pemotongan enzim restriksi *MspI* pada ujung 3' 130 bp dibawah ekson 7. Didapatkan persentase polimorfisme gen CYP1A1 *alel ml* 82,90% pada kelompok kasus dan 68,57% pada kelompok kontrol (OR : 2,21, 95% *confidence interval* 0,71-6,87, $p = 1,94$). Kadar kortisol tinggi didapatkan 54,3% pada kelompok kasus dan 51,4% pada kelompok kontrol (OR : 1,12 , 95% *confidence interval* 0,44-2,87 $p=0,057$). Pada kelompok kasus lebih banyak ditemukan kadar testosteron rendah yaitu 60% dan 40% pada kelompok kontrol (OR : 0,44, 95% *confidence interval* 0,17-1,16 $p=2,80$). Polimorfisme gen CYP1A1 merupakan faktor yang paling dominan berhubungan dengan terjadinya akne dibandingkan faktor hormon kortisol maupun faktor hormon testosterone.

Kesimpulan : Tidak ada hubungan signifikan polimorfisme gen CYP1A1 dengan kejadian akne vulgaris. Polimorfisme gen CYP1A1 meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris. Tidak ada hubungan signifikan kadar kortisol dengan kejadian akne vulgaris. Kadar kortisol tinggi meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris. Tidak ada hubungan signifikan kadar testosteron dengan kejadian akne vulgaris. Kadar testosteron tinggi memberikan perlindungan terhadap terjadinya akne. Polimorfisme gen CYP1A1 merupakan faktor yang paling dominan berhubungan dengan terjadinya akne vulgaris.

Kata kunci: akne vulgaris, Polimorfisme gen CYP1A1, kortisol, testosteron

ABSTRACT

LINK BETWEEN CYP1A1 GENE POLYMORPHISM, CORTISOL STRESS HORMONE, AND TESTOSTERONE HORMONE IN ACNE VULGARIS

Endang Herliyanti Darmani

Aim : The aims of this study are to analyze the link among CYP1A1 gene polymorphism, cortisol stress hormone, and testosterone hormone in patient with acne vulgaris and in normal people, and also to find out the most dominant factor related to acne vulgaris incident.

Method : This is an observational study with comparative analysis and case control group design on 70 males among 12-18 years old. It consists of 35 patients with acne vulgaris and 35 controls. CYP1A1 gene polymorphism examination was done through polymorphism fragment restriction piece from PCR. The examination of cortisol hormone and testosterone hormone level in serum was done by ELISA test. The result was examined in semi-quantitative and analyzed in univariate with Chi-Square test, in Odds Ratio, and in multivariate with logistic regression test.

Result : In this study, we found m1 allele of CYP1A1 gene as restriction into three fragments (heterozygous wt/m1) and CYP1A1 gene sequence as thiamine transition into cytosine on cutting side of MspI restriction enzyme at the end of 3'130 bp under exon 7. We found the percentage of m1 allele of CYP1A1 gene polymorphism in case group is 82,90% and 68,57% in control group (OR : 2,21, 95% confidence interval 0,71-6,87, $p = 1,94$). High level of cortisol hormone was found in case group in the amount of 54,3% and 51,4% in control group (OR : 1.12, 95% confidence interval 0,44-2,87 $p = 0,057$). In case group, we found lower testosterone level in the amount of 60% and 40% in control group (OR : 0,44, 95% confidence interval 0,17-1,16 $p = 2,80$). CYP1A1 gene polymorphism is the most dominant factor related to acne incident if it compared to cortisol hormone factor and testosterone hormone factor.

Conclusion : There is no significant correlation between CYP1A1 gene polymorphism with acne vulgaris incidence. Polymorphism of CYP1A1 gene increases susceptibility of acne vulgaris. There is no significant correlation between cortisol level with acne vulgaris incidence. High level of cortisol increases risk to get acne vulgaris. There is no significant correlation between testosterone level with acne vulgaris incidence. High level of testosterone protects people from acne vulgaris. CYP1A1 gene polymorphism is the most dominant factor related to acne incident.

Keywords : acne vulgaris, CYP1A1 gene polymorphism, cortisol, testosterone.

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL LUAR	i
SAMPUL DALAM	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN PANITIA.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
RINGKASAN	x
SUMMARY	xiii
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
DAFTAR ISI	xviii
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR GAMBAR	xxii
DAFTAR SINGKATAN.....	xxiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxv
BAB. 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	8
1.4. Manfaat Penelitian.....	9
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Anatomi glandula sebacea	10
2.2 Fisiologi glandula sebacea.....	11
2.2.1 Sebum	11
2.3 Akne vulgaris	12
2.3.1 Definisi.....	12
2.3.2 Epidemiologi.....	12
2.3.3 Etiologi.....	13
2.3.3.1 Faktor genetik	13
2.3.3.1.1 Herediter	13
2.3.3.1.2 Gen CYP1A1	14
2.3.3.1.2.1 Gen CYP1A1.....	14
2.3.3.1.2.2 Induksi CYP1A1	15
2.3.3.1.2.3 Variasi genetik CYP1A1	17
2.3.3.2 Faktor hormon androgen.....	19
2.3.3.2.1. Pubertas.....	19
2.3.3.2.2. Hormon testosterone	20
2.3.3.2.3. Akne hormonal androgen.....	21
2.3.3.3 Faktor eksogen.....	22
2.3.3.3.1 Stres	22
2.3.3.3.1.1 Hormon kortisol	26

2.3.4	Patogenesis.....	28
2.3.5	Gambaran klinis AV	40
2.3.5.1	Lesi non inflamasi.....	40
2.3.5.2	Lesi inflamasi.....	40
2.3.5.3	Jaringan parut/sikatrik/scars	41
2.3.6	Klasifikasi AV	41

BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konseptual.....	44
3.2	Keterangan kerangka konsep	45
3.3	Hipotesis penelitian	49

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1	Jenis dan Desain penelitian.....	50
4.2	Populasi dan Sampel	50
4.2.1	Populasi.....	50
4.2.2	Sampel	50
4.2.3	Jumlah Sampel	50
4.2.4	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	51
4.2.5	Teknik Pengambilan Sampel	51
4.3	Variabel penelitian dan defenisi operasional	52
4.3.1	Variabel penelitian	52
4.3.2	Defenisi operasional	52
4.4	Bahan dan Instrumen Penelitian	54
4.4.1	Bahan penelitian.....	54
4.4.2	Instrumen penelitian	54
4.4.3	Cara pemeriksaan laboratorium	55
4.5	Persyaratan Etik penelitian	61
4.6	Pemantapan mutu.....	62
4.6.1	Persyaratan subyek.....	63
4.6.2	Pengambilan sampel	63
4.6.3	Penyimpanan sampel	63
4.6.4	Pengiriman sampel.....	63
4.6.5	Pemeriksaan sampel.....	64
4.6.6	Pencatatan hasil	64
4.7	Tempat dan Waktu Penelitian.....	64
4.7.1	Tempat penelitian	64
4.7.2	Waktu penelitian	64
4.8	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	65
4.9	Kerangka Operasional Penelitian.....	66
4.10	Pengolahan Data	67

BAB V. HASIL PENELITIAN

5.1	Gambaran umum subyek penelitian	68
5.2	Hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne vulgaris.....	70
5.3	Hubungan kadar kortisol dengan akne vulgaris.....	76
5.4	Hubungan kadar testosteron dengan akne vulgaris.....	76
5.5	Faktor paling dominan berhubungan dengan akne	77

BAB VI. PEMBAHASAN

- 6.1 Hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne vulgaris 79
- 6.2 Hubungan antara kadar kortisol dengan akne vulgaris 81
- 6.3 Hubungan antara kadar testosterone dengan akne vulgaris ... 84
- 6.4 Faktor paling dominan berhubungan dengan akne 85

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

- 7.1 Kesimpulan 87
- 7.2 Saran 87

DAFTAR PUSTAKA 89

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Karakteristik subyek penelitian.....	69
Tabel 5.2 Tipe akne pada subyek penderita akne.....	70
Tabel 5.3 Hasil RFLP polimorfisme gen CYP1A1 pada subyek Penelitian.....	75
Tabel 5.4 Hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne vulgaris	75
Tabel 5.5 Hubungan kadar kortisol dengan akne vulgaris	76
Tabel 5.6 Hubungan antara kadar testosteron dengan akne vulgaris	76
Tabel 5.7 Analisa regresi logistik antara polimorfisme gen CYP1A1, kortisol dan testosteron dengan akne vulgaris	78

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Glandula sebacea multilobuler	10
Gambar 2.2 Gen map of Human Cytochrome P-4501A1 (CYP1A1).....	17
Gambar 2.3 Polimorfisme CYP1A1.....	18
Gambar 2.4 Untaian nukleotida primer yang digunakan dalam amplifikasi DNA untuk mendeteksi situs polimorfisme dari CYP1A1	18
Gambar 2.5 Jalur metabolisme androgen kutaneus dan perubahan enzim	20
Gambar 2.6 Brain-skin cross-talk selama pajanan oleh faktor stres psikologis atau faktor stres environmental.....	23
Gambar 2.7 Sebosit HPA like axis.....	24
Gambar 2.8 Metabolisme kortisol.....	27
Gambar 2.9 Glandula sebacea normal , komedo dan lesi inflamasi	29
Gambar 2.10 Patogenesis akne.....	31
Gambar 2.11 Akne komedonal.....	42
Gambar 2.12 Akne Papulopustular	42
Gambar 2.13 Akne nodulokistik atau konglobata	43
Gambar 4.1 Diagaram kerangka operasional penelitian	66
Gambar 5.1 Hasil elektroforesis DNA subyek penelitian	71
Gambar 5.2 Hasil amplifikasi DNA dengan primer P79 dan P80	71
Gambar 5.3 Hasil sekuensing dari sampel A1	72
Gambar 5.4 Hasil BLAST sampel nomor A1	72

Gambar 5.5 Hasil analisa sekuensing sampel no. A1 dengan software genius.....	73
Gambar 5.6 Hasil RFLP gen CYP1A1 dengan enzim MSPI.....	74

DAFTAR SINGKATAN

ACTH	= Adeno Corticotropic Hormone
AH	= Aromatic Hydrocarbon
AHA	= Alfa Hydroxy Acid
AV	= Akne Vulgaris
BP	= Binding Protein
CRH	= Corticotropin Releasing Hormone
CYP	= Cytochrome P-450
DDS	= Dimetil Diamino Sulfon
DHEA	= Dehydroepiandrosterone
DHEAS	= Dehydroepiandrosterone Sulfat
DHT	= Dehydrosestestosterone
DNA	= Deoxyribo Nucleic Acid
ED	= Endorphin
EGF	= Epidermal Growth Factor
FSH	= Follicle Stimulating Hormon
GCs	= Glucocorticoids
Gh	= Growth hormone
GNRH	= Gonadotropin Releasing Hormone
HPA	= Hypothalamic-pituitary-adrenal
HSD	= Hydroxysteroid Dehydrogenase
ICAM	= Intercellular Adhesion Molecule
IGF	= Insulin-like Growth Factor
IL	= Interleukin
LH	= Luteinizing Hormone
MCR	= Melanocortin Reseptor
MSH	= Melanocyte Stimulating Hormone
NP	= Neuro peptide
PA	= Propionebacterium Acnes
PAF	= Platelet Activating Factor
PCR	= Polymerase Chain Reaction
POMC	= Protiomelanocortin
PPARs	= Peroxisome Proliferator-activated Receptors
PRL	= Prolactin
RFLP	= Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	= Ribo Nucleic Acid
SER	= Serum Excretion Rate
SP	= Substance P
SREBP	= Sterol Response Element Binding Protein
TLRs	= Tool-like Receptors
TNF	= Tumor Necrosis Faktor
UV	= Ultraviolet
QoI	= Quality of Life

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Keterangan Lolos Kaji Etik Penelitian	94
Lampiran 2. Formulir Penjelasan Penelitian.....	95
Lampiran 3. Formulir Inform Consent.....	96
Lampiran 4. Formulir Identitas dan Pemeriksaan Status Dermatologi ...	97
Lampiran 5. Master Tabel	98
Lampiran 6. Hasil elektroforesis	103
Lampiran 7. Hasil PCR	105
Lampiran 8. Identifikasi CYP1A1 Genbank.....	109
Lampiran 9. Hasil BLAST	117
Lampiran 10. Hasil analisa sekuensing dengan software Genious	121
Lampiran 11. Hasil RFLP	132
Lampiran 12. Hasil Pemeriksaan Kadar Kortisol	136
Lampiran 13. Hasil Pemeriksaan Kadar Testosteron.....	139
Lampiran 14. Hasil Analisa Statistik Antar Variabel.....	142

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Akne vulgaris (AV) merupakan penyakit kulit kronis yang sering terjadi di masyarakat. Akne vulgaris dapat menjadi masalah dalam pengobatannya karena seringkali resisten terhadap terapi yang ada sehingga bukan saja penyembuhannya yang sukar dan perjalanan penyakit yang berkepanjangan (persisten) tapi juga dapat menimbulkan dampak psikososial yang buruk pada penderitanya (Ernawati., 2011).

Penelitian mengenai pengaruh penyakit terhadap kualitas hidup (*Quality of Life /QoL*) menunjukkan tingginya angka kasus bunuh diri atau pemikiran bunuh diri pada penyakit kulit kronis, salah satunya adalah AV (Legiawati., 2011). Laporan penelitian *QoL* mendapatkan 16 kasus bunuh diri pada penderita penyakit kulit dan 7 diantaranya adalah penderita AV (Cotteril *et al.*, 1997). Sedangkan Gupta *et al* (1997) mendapatkan 480 penderita penyakit kulit mempunyai pemikiran bunuh diri, dimana 5,6 % merupakan penderita AV.

Berdasarkan patogenesis, AV merupakan penyakit yang hanya mengenai *folikel pilosebacea* (Odom., 2000), sehingga sering disebut sebagai penyakit seborea, hal ini disebabkan karena AV terutama mengenai area kulit yang berminyak. Area wajah bagian pipi lebih sering dikenai daripada bagian hidung, bagian depan kepala dan dagu (Cunliffe., 1998).

Perjalanan penyakit AV dimulai dengan tersumbatnya muara folikel oleh proses hiperkeratinisasi epidermis folikel yang disebabkan perubahan pola

hiperkeratinisasi folikel (Webster., 2007). Sel-sel stratum korneum infra infundibulum menjadi lebih banyak mengandung desmosom, tonofilamen, butir-butir keratohialin dan lipid tetapi mengandung lebih sedikit butir-butir lamelar sehingga stratum korneum menjadi lebih tebal dan lebih melekat, timbul sebagai mikrokomedo yang merupakan *prekursor* terbentuknya komedo (Gollnick., 2001). Glandula sebacea akan memproduksi sebum lebih. Sebum diuraikan oleh *Propionebacterium Acnes* (PA) yang merupakan flora atau mikroorganisme normal yang hidup di folikel kelenjar sebacea (Ebling *et al.*, 1998).

Propionebacterium Acnes yang berada dalam komedo akan mengeluarkan enzim lipase. Enzim lipase ini akan menguraikan sebum yang berupa trigliserida menjadi asam lemak bebas yang dapat meningkatkan kolonisasi PA dan menginduksi respon inflamasi (Thiboutot *et al.*, 2003). Mikroorganisme ini juga mengeluarkan faktor kemotaktik yang larut dalam air dan mempunyai berat molekul rendah sehingga tidak memerlukan komplemen untuk aktivitasnya serta dapat keluar dari folikel untuk menarik sel neutrofil. Bila sel netrofil memasuki komedo maka sel neutrofil akan memakan PA sehingga terjadi pelepasan enzim hidrolitik yang akan merusak dinding folikular sehingga komedo akan pecah, isi komedo (lipid sebacea, rambut, PA dan keratin) akan masuk ke dermis dan terpajan dengan sistem imun sehingga terjadi proses inflamasi (Cunliffe *et al.*, 2001). Banyak sitokin yang terlibat dalam proses inflamasi AV. Interleukin-1 α yang disekresi oleh keratinosit akan memicu peradangan di folikel pilosebacea dan kemotaksis neutrofil polimorfonuklear (Bergfeld *et al.*, 2004).

Selama ini berbagai formula terapi terhadap AV telah diterapkan oleh Divisi kosmetik Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin di rumah sakit Indonesia,

namun dari hasil laporan rumah sakit di beberapa kota besar di Indonesia, ternyata kasus AV cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Data dari divisi dermatologi kosmetik Rumah sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta terjadi peningkatan angka kejadian AV dari 28,45% pada tahun 2003, menjadi 50% pada tahun 2004 (Barira., 2006). Data dari Palembang didapatkan 68,2% dari 5024 orang penduduk menderita AV dengan 78,9% pada laki-laki (Tjekyan., 2008) dan data dari Divisi Dermatologi kosmetik Rumah Sakit Arifin Achmad Pekanbaru Riau didapatkan kenaikan angka kejadian AV dari 32,12% pada tahun 2011 menjadi 39,13% pada tahun 2012. Data dari rekam medis poliklinik Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin RSUD Arifin Achmad terdapat kenaikan angka kejadian AV dari 5,31% menjadi 10,05% pada tahun 2012 (Darmani., 2012).

Faktor genetik merupakan faktor penting yang berkaitan dengan AV. Data literatur disebutkan bahwa AV merupakan penyakit warisan walaupun bukti-bukti detailnya masih kurang dan gen mana tepatnya yang terlibat masih sedang diteliti. Banyak gen-gen yang diduga terlibat dalam patogenesis akne. Diantaranya adalah gen *Human Sitokrom P-450*. Gen *Sitokrom P-450* ini merupakan *supergene* famili dari enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme yang luas dari campuran bahan endogen dan bahan asing. *Human sitokrom P-450 1A1* juga disebut sebagai CYP1A1. Diantara famili enzim ini CYP1A1 merupakan sub famili izozim yang paling aktif (Paraskevaidis *et al.*, 1998).

CYP1A1 pada kulit didapatkan pada glandula sebacea dan berperan dalam metabolisme vitamin A (retinol). Vitamin A merupakan retinoid endogen dan hasil metabolitnya bekerja di glandula sebacea. Vitamin A (retinol) dan metabolit retinoid aktif berperan penting pada diferensiasi epitel, proliferasi keratinosit dan

sebosit. Variasi genetik yang terdapat pada izozim CYP1A1 menyebabkan perubahan kapasitas metabolik secara interindividu (Paraskevaidis *et al.*, 1998).

Gen human CYP 1A1 berlokasi pada *long arm* kromosom 15 (15q22-q24) dan berisi 7 *exon* dan 6 *intron* dengan panjang total 5,810 bp. Mutasi yang pertama kali ditemukan disebut sebagai alel *m1* merupakan transisi *Thymine* menjadi *cytosine* (T menjadi C) terjadi pada posisi 6235 membuat tempat *cleavage* tambahan untuk *MspI* pada 3' *flanking region* 1,194 bp dibawah *exon 7* (Paraskevaidis *et al.*, 1998).

Ketiadaan tempat *MspI* pada kedua alel mewakili *homozygous wild-type genotype* (*w1/w1*) dimana karakteristik berupa 335-bp fragmen tunggal. Individu dengan alel *m1* pada *homozygous state* (*m1/m1*) ditunjukkan pada fragmen-fragmen 206-bp dan 129bp. Individu *heterozygous* dengan *wild-type* dan alel *m1-mutated* (*w1/m1*) ditunjukkan pada fragmen tambahan 205-bp dan 134-bp (Paraskevaidis *et al.*, 1998).

Pada AV terjadi kecenderungan representasi yang tinggi dari alel *m1*, sebagai suatu *marker* dari perubahan pada tempat regulasi dan efikasi biologis dari retinoid-retinoid alami yang aktif menjadi komponen yang inaktif. Kurangnya retinoid alami yang aktif pada folikel pilosebacea menimbulkan diferensiasi sebosit yang abnormal dan hiperkeratinisasi dari kanalis folikularis. Hiperkeratinisasi kanalis folikularis dan diferensiasi sebosit yang abnormal akan memicu timbulnya AV (Paraskevaidis *et al.*, 1998).

Faktor lain yang juga merupakan salah satu dari multi faktor yang dapat memacu atau memperburuk AV adalah stres yang meliputi stres *enviromtmental/lingkungan* dan stres psikologis/emosional (Arck *et al.*, 2006).

Seperti organ tubuh manusia lainnya kulit juga merupakan organ yang secara kontinyu terekspos oleh stresor-stresor baik endogen maupun eksogen. Kulit merupakan organ terluas yang lokasinya strategis sebagai barier antara *environment* eksterna dan interna, dimana secara permanen selalu dipajan oleh stresor seperti sinar matahari/ultraviolet, *solar*, *thermal*, mekanik/fisik dan kimia. Kulit juga merupakan target organ dari stresor psikologis/emosional (Arck *et al.*, 2006).

Pada saat tubuh terpajan oleh stresor, otak sebagai sistem saraf pusat akan merespon dengan mengaktifkan sistem *HPA-axis* sentral (Nurdin., 2009). Respon sistemik *HPA Axis* dilakukan oleh sensor stres yang berlokasi di sentral. Aksi sentral ini dimulai dengan pelepasan *Corticotropin Releasing Hormone* (CRH) yang diproduksi oleh hipotalamus yang mana CRH ini akan menstimuli reseptor di *pituitary* (Slominshi., 2000). CRH akan meningkatkan produksi dan sekresi bagian *anterior pituitary* yang diatur oleh *propiomelanocortin* (POMC), berupa peptida *melanocyte stimulating hormone* (MSH), ACTH dan *endorphin*. Selama pelepasannya ke sirkulasi, ACTH akan menuju ke glandula adrenal dan mengaktivasi *MC2 reseptor* (MC2-R) yang menginduksi produksi dan sekresi kortisol (Slominshi., 2000, Bohm., 2009). Pada stres yang ringan, perubahan peningkatan sekresi kortisol tidak bersifat patologis karena mekanisme homeostasis akan segera mengembalikannya ke keseimbangan. Bila stres berlangsung berat, mekanisme homeostasis tidak mampu lagi mempertahankan keseimbangannya sehingga peningkatan sekresi kortisol akan memicu sistem imun untuk melepaskan sitokin-sitokin proinflamasi IL-6 dan IL-8 yang dalam hal ini akan menimbulkan inflamasi di glandula sebacea sehingga terjadi akne

vulgaris (Nurdin., 2013). Kadar kortisol darah dapat menggambarkan kondisi stres seseorang.

Hormon Androgen juga merupakan salah satu faktor pencetus AV. Pada masa pubertas terjadi peningkatan hormon *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH), *Gonadotropin Luteinizing Hormon* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan seks hormon estradiol atau testosteron (Pinyerd *et al.*, 2002).

Mikrokomedo yang merupakan lesi awal dari akne muncul pada masa *adrenache* dimana hormon androgen dari adrenal mulai menstimulasi hiperkeratosis folikular dan hiperplasia sebacea pada unit pilosebacea di wajah (Bergfeld., 2004). Adrenal dan Gonad memproduksi mayoritas dari androgen yang bersirkulasi (Zouboulis., 2004).

Selama periode pre pubertas androgen adrenal muncul sebagai pengaktif glandula sebacea (Bramswig *et al.*, 2009). Pada masa ini konsentrasi *Dehydroepiandrosterone* (DHEA) dan *Dehydroepiandrosterone Sulfat* (DHEAS) plasma secara normal mulai meningkat. Onset ini diikuti dengan kemunculan adrenal *Androstenedione* satu atau dua tahun kemudian, yang waktunya bersamaan dengan peningkatan produksi Testosteron gonadal (*Gonadarche*) (Dellemare *et al.*, 2008).

Pada masa gonadal, fungsi gonad mengambil alih fungsi adrenal dalam mensintesa testosteron. Kulit dan glandula sebacea juga mampu memproduksi dan memetabolisir hormon androgen. Unit pilosebacea merupakan target dari androgen yang bersirkulasi. Androgen yang bersirkulasi akan mengikat ke reseptor androgen yang berlokasi di lapisan basal glandula sebacea. Testosteron dan DHT adalah androgen yang berinteraksi dengan reseptor androgen

(Zouboulis *et al.*, 2004). Stimulasi yang berlebihan dari hormon androgen terhadap glandula sebacea menyebabkan produksi sebum berlebihan. Selanjutnya sebum akan bercampur dengan sel kulit mati dari folikel yang mengalami hiperkeratosis dan bakteri yang ada dipermukaan kulit membentuk sumbatan di pori-pori sebagai suatu komedo (Gollnick *et al.*, 2001). Pada sumbatan pori atau komedo tersebut bakteri akan bermultiplikasi dan menyebabkan inflamasi. Dinding sel bakteri PA yang terdiri dari Peptidoglikan dan asam *lipoteichoic* dapat memperkuat aktivitas imun dari keratinosit dan sebosit yang distimulasi androgen dengan peningkatan pelepasan sitokin seperti IL-1 α , IL-8, TNF α dari sel-sel tersebut (Bergfeld *et al.*, 2004).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah, maka dapat dibuat perumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah ada hubungan antara polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1* dengan akne vulgaris?
2. Apakah polimorfisme gen CYP1A1 dapat meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris?
3. Apakah ada hubungan antara kadar hormon stres kortisol dengan akne vulgaris?
4. Apakah hormon stres kortisol dapat meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris?
5. Apakah ada hubungan antara kadar hormon testosteron dengan akne vulgaris?

6. Apakah hormon testosteron dapat meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris?
7. Faktor apa diantara faktor di atas yang paling dominan berkaitan dengan terjadinya akne vulgaris?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengkaji hubungan polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1*, hormon stres kortisol, dan hormon testosteron dengan akne vulgaris.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Membuktikan adanya hubungan antara polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1* dengan akne vulgaris
2. Membuktikan polimorfisme gen CYP1A1 dapat meningkatkan resiko terjadinya akne vulgaris
3. Membuktikan adanya hubungan antara kadar hormon stres kortisol dengan akne vulgaris
4. Membuktikan kadar hormon stress kortisol tinggi dapat meningkatkan resiko terjadinya akne vulgaris
5. Membuktikan adanya hubungan antara kadar hormon testosteron dengan akne vulgaris
6. Membuktikan kadar hormon testosteron tinggi dapat meningkatkan resiko terjadinya akne vulgaris
7. Mengetahui faktor yang paling dominan diantara faktor-faktor di atas dalam kaitan dengan terjadinya akne vulgaris

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Kepentingan Akademik

Untuk meningkatkan pengetahuan mengenai faktor pencetus terjadinya AV yang multifaktorial seperti polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1*, stres dan hormonal dan mengetahui faktor mana yang paling dominan.

1.4.2 Kepentingan Masyarakat

Hasil penelitian ini akan memberikan pemahaman atau informasi yang benar pada masyarakat mengenai penyakit akne vulgaris, faktor penyebabnya dan penatalaksanaannya, sehingga dapat memperbaiki kualitas hidup penderitanya dan tidak timbul dampak psikososial buruk yang dapat memicu terjadinya kasus bunuh diri dan pemikiran bunuh diri.

1.4.3 Kepentingan Aplikasi

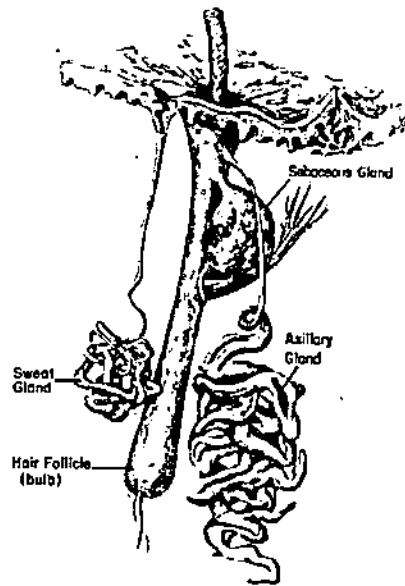
Sebagai pedoman bagi para klinisi dengan makin banyak diketahuinya komponen-komponen faktor penyebab akne dapat dikembangkan intervensi terapeutik yang lebih spesifik sehingga dapat menurunkan insidensi Akne Vulgaris yang persisten dan resisten terhadap pengobatan dan menurunkan insidensi kasus bunuh diri dan pemikiran bunuh diri sebagai dampak psikososial yang buruk serta memberikan perbaikan kualitas hidup penderitanya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi Glandula sebacea

Glandula sebacea merupakan suatu glandula holokrin yang terletak diantara folikel rambut dan otot-otot *erektor pili*. Glandula sebacea dan folikel rambut tersusun membentuk suatu unit pilosebacea kulit.



Gambar 2.1 Glandula sebacea multilobuler melekat di antara folikel rambut dan musculus erektor fili. Glandula sebacea mengeluarkan sebum melalui duktus sebaceus ke infundibulum folikel rambut (Strauss., 1991)

Glandula sebacea ditemukan hampir di seluruh permukaan kulit kecuali di telapak tangan dan telapak kaki. Pada daerah kepala, dahi, wajah dan dada atas didapatkan 400-900 unit/cm², sedangkan pada area tubuh lainnya berjumlah sekitar 100 unit/cm² (Strauss., 1991). Pada masa kehidupan fetus 13-15 minggu, glandula sebacea mulai dibuat di dalam perhubungan *cephalocaudal* folikel rambut. Tetes lipid baru terlihat di bagian pusat glandula pada usia 17 minggu kehidupan. Duktus untuk sekresi mengelilingi asinus dari glandula sebacea pada

awalnya tampak sebagai tali. Sel-sel yang menyusun tali tersebut berisi sebum dan pada suatu saat sel-sel tersebut kehilangan ikatan, ruptur dan membentuk kanal pilosebacea pertama. Asinus baru dihasilkan dari dinding duktus sebaceus perifer, pengaturan sel pada asinus sebacea neonates terdiri dari sebosit yang menetap, sebosit yang berubah dan sebosit matur. Jumlah glandula sebacea tetap konstan selama kehidupan tapi ukurannya akan meningkat sesuai dengan penambahan usia. Pada setiap unit glandula didapatkan asinus yang berdiferensiasi dan asinus yang matur (Zouboulis., 2002, Zouboulis., 2004).

2.2 Fisiologi Glandula Sebacea

Fisiologi glandula sebacea meliputi produksi dan sekresi sebum serta produksi dan metabolisme hormon androgen. Sel sebaceus akan mensintesis sebum pada minggu pertama setelah lahir dan kemudian akan melambat. Kemunculannya kembali sebum pada usia sekitar 9 tahun (*adrenarche*) akan terus berlangsung sampai usia 17 tahun, setelah pubertas sekresi sebum akan menurun secara perlahan (Zouboulis., 2004).

2.2.1 Sebum

Sebum merupakan suatu kompleks lipid campuran yang diproduksi dan disekresikan oleh glandula sebacea yang sudah matur, dibentuk dari disintegrasi sel-sel glandular ke dalam folikel duktus unit pilosebaceus. *Discharge* sebum ini merupakan tahap akhir dari diferensiasi sel sebosit, sebagai hasil akumulasi tetes lipid sitoplasma dan disintegrasi sel yang mana kemudian dilepaskan ke dalam folikel. Fungsi sebum pada manusia adalah sebagai : *photoprotection*, antimikroba, mengantarkan antioksidan ke permukaan kulit dan aktivitas-

aktivitas pro dan anti inflamasi. Sebum manusia terdiri dari *squalen*, *ester gliserol*, *wax*, dan kolesterol sebagai kolesterol bebas dan asam lemak bebas. *Squalen* dan *wax* merupakan produk sekresi glandula sebacea yang paling karakteristik (Picardo *et al.*, 2009). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa perubahan komposisi lipid sebum berkaitan dengan usia dan aktivitas glandula sebacea. Efek androgen pada proliferasi dan diferensiasi sel sebosit tergantung dari asal glandula sebacea, glandula sebacea wajah lebih sensitive terhadap androgen (Zouboulis., 2004).

2.3 Akne vulgaris

2.3.1 Definisi

Akne vulgaris (AV) merupakan peradangan kronik unit folikel pilosebacea dengan gambaran klinis adanya lesi berupa komedo, papula, pustula, nodula, kista maupun jaringan parut di tempat predileksi wajah, leher, lengan atas, dada bahu dan punggung (Odom., 2000, Wasitaatmaja., 2010).

2.3.2 Epidemiologi

Akne vulgaris merupakan penyakit kulit yang tersering di berbagai negara dan hampir 85% terjadi pada kelompok usia 12-25 tahun (Cunliffe., 1998). Insidensi dan keparahan tertinggi terjadi pada usia antara 14-17 pada perempuan dan pada usia antara 16-19 tahun pada laki-laki (William *et al.*, 2012).

Berdasarkan data rekam medis poliklinik Divisi Dermatologi kosmetik Departement Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo terdapat kenaikan insiden AV tipe ringan dari 18,11% pada tahun 2003 menjadi 38,26% pada tahun 2004, AV tipe sedang 28,45% tahun 2003

menjadi 50% tahun 2004 dan AV tipe berat dari 4,23% pada tahun 2003 menjadi 9,14% pada tahun 2004 (dikutip dari Barira S., 2006). Data dari Palembang didapatkan 68,2% dari 5024 orang penduduk menderita AV dengan 78,9% pada laki-laki (Tjekyan., 2008) dan data dari Divisi Dermatologi kosmetik Rumah Sakit Arifin Achmad Pekanbaru Riau didapatkan kenaikan angka kejadian AV dari 32,12% pada tahun 2011 menjadi 39,13% pada tahun 2012. Data dari rekam medis poliklinik Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin RSUD Arifin Achmad terdapat kenaikan angka kejadian AV dari 5,31% menjadi 10,05% pada tahun 2012 (Darmani., 2012).

2.3.3 Etiologi

2.3.3.1. Faktor genetik

2.3.3.1.1 Herediter

Faktor herediter atau genetik merupakan faktor penting yang berkaitan dengan AV. Selalu dikatakan bahwa AV merupakan penyakit warisan walaupun bukti-bukti detailnya masih kurang. Banyak penelitian dilakukan untuk membuktikan keterkaitan faktor genetik dengan AV, dengan menggunakan model kembar identik maupun non identik (Bataille *et al.*, 2002). Pada penelitian yang melibatkan 95 pasang kembar identik dengan AV, 97,9% (*monozygot*) dua-duanya menderita Akne tetapi tingkat keparahannya tidak identik walaupun *Serum Excretion Rate (SER)* nya identik. Hal ini menunjukkan bahwa faktor eksternal seperti kolonisasi bakteri menentukan tingkat keparahan AV. Cuma 1 dari sepasang kembar 45,8% (*dizygot*) yang menderita AV, tingkat keparahan AV dan SER tidak identik (Cunliffe., 1998). Beberapa ahli mengatakan bahwa AV merupakan penyakit yang berupa suatu gabungan, bukan hanya tingkat

keparahannya tetapi juga tipe lesi yang didapatkan dan lokasinya. Beberapa penderita AV hanya mengenai wajah tetapi tidak ada lesi didaerah tubuh yang lain, sedangkan pada penderita AV lain hanya mengenai di badan saja (Ghodsi., 2009). Beberapa mempunyai banyak lesi non inflamasi dan sedikit lesi inflamasi, dan yang lain sebaliknya. Semua ini mungkin berkaitan dengan usia penderita AV dan durasi AV, tetapi semua itu harus ada dasar genetiknya. Penelitian mengenai AV yang diturunkan didapatkan hasil pada semua set kembar identik muncul AV berat pada waktu yang bersamaan. Penelitian lain menunjukkan 82% penderita AV mempunyai riwayat menderita AV paling sedikit satu sibling dan 60% mempunyai riwayat AV dari satu atau kedua orang tuanya. Von Schleicher mendapatkan bahwa pada penderita AV berat mempunyai riwayat yang kuat keluarganya juga menderita AV. Sudah dilakukan penelitian mengenai hubungan antara AV dengan banyak gen (Bataille *et al.*, 2011).

2.3.3.1.2 Gen CYP1A1

Sejak tahun 1995 sudah dilaporkan 481 gen P450 dan 22 *pseudogen* dari 85 *eukariot* (termasuk vertebrata, invertebrata, fungi dan tanaman). Sejauh ini sudah didapatkan lebih dari 74 famili gen, 14 famili ada pada semua mamalia, yang terdiri dari 26 subfamili dan 20 subfamili diantaranya sudah didapatkan dalam genom manusia (Nelson *et al.*, 1996). Setiap subfamili menunjukkan kelas gen-gen yang berikatan erat. Setiap gen P450 menghasilkan suatu protein tunggal. Untuk itu, kemunculannya disana hanya sebagai suatu pengecualian dari aturan ini dimana terjadi perubahan pembelahan dari salinan P450 seperti semua ekson atau sebagian ekson dirubah perintah untuk memproduksi enzim dengan aktivitas katalis yang baru (Nelson *et al.*, 1993).

Cytochrome P450 (CYP) adalah suatu superfamili hemoprotein yang penting pada proses metabolisme oksidatif, peroksidatif dan reduktif dari berbagai macam komponen endogen seperti steroid, asam-asam empedu, asam-asam lemak, prostaglandin, leukotrin, biogenik amin, retinoid, lipid hidroperoksida dan fitoaleksin (Nelson *et al.*, 1996). CYP juga akan memetabolisir komponen eksogen seperti obat-obatan, bahan kimia dan polutan (Nebert., 1991).

Stimulasi eksogen sebagaimana juga faktor regulasi endogen, mengatur ekspresi spesifik dari CYP (Gotoh *et al.*, 1999). Subfamili CYP1A mempunyai dua anggota yaitu CYP1A1 dan CYP1A2. Diantara famili enzim ini CYP1A1 merupakan enzim yang paling aktif. Gen CYP1A1 merupakan gen yang diduga berhubungan dengan kerentanan terjadinya akne vulgaris. Enzim *cytochrome P450 (CYP1A1)* berperan dalam proses metabolisme di kulit (Paraskevaidis *et al.*, 1998)

Enzim CYP1A1 pada kulit didapatkan pada glandula sebacea dan berperan dalam metabolisme vitamin A atau retinol. Retinol dan metabolit retinoid aktifnya penting pada differensiasi epitel, proliferasi dan differensiasi sel. Retinoid juga dapat mempengaruhi proliferasi keratinosit epidermal dan sebosit (Gollnick., 2003).

2.3.3.1.2.2 Induksi CYP1A1

Enzim CYP1A1 selain diperlukan untuk metabolisme komponen endogen, juga akan memetabolisir bahan eksogen seperti obat-obatan, bahan-bahan kimia dari lingkungan dan polutan (Nelson *et al.*, 1995).

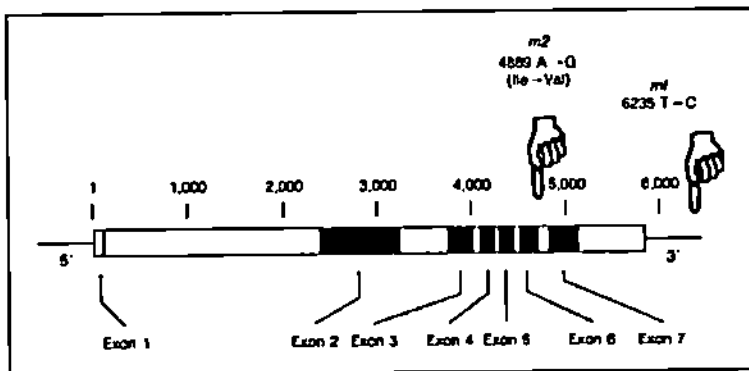
Pajanan komponen eksogen terhadap organisme akan mengakibatkan mekanisme molekuler spesifik sebagai ekspresi CYP1A1 bukan saja di hati tetapi

juga pada paru-paru dan ginjal (Kuriyama *et al.*, 1992). Sebagian besar molekul-molekul CYP dapat diinduksi oleh bahan-bahan penginduksi. Pemberian bahan-bahan kimia pada hewan percobaan akan menginduksi hemoprotein ini di berbagai jaringan termasuk kulit. Mekanisme regulasi proses induksi protein sudah diteliti dengan metoda transfer DNA dengan menggunakan DNA gen yang diisolasi. Sedikitnya didapatkan dua *sekuens* DNA pengatur *cis-acting* pada lokasi 5'*upstream-gen*. Satu *sekuens* didistribusikan lima kali pada kisaran 0,5-3,5 kB dan berfungsi sebagai *Xenobiotic Responsive Element* (XRE) yang lain berlokasi di *upstream* dari sekuen TATA dan berperan sebagai elemen pengatur untuk membentuk ekspresi. Induksi CYP1A1 dengan *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) sebagai pajanan *xenobiotic* akan menyebabkan peningkatan transkripsi pada gen CYP1A1 yang bersesuaian. Analisis mekanisme induksi menggunakan pendekatan genetik, biokimia dan biologi molekuler menemukan suatu jalur regulasi transkripsi yang baru yang melibatkan *heterodimerisasi ligant* antara dua protein dasar *Ah-reseptor* dan *Arnt*, interaksi *heterodimer* dengan penambah respon dari *xenobiotic*, transmisi induksi sinyal dari suatu penambah terhadap *promoter* CYP1A1 dan mengubah struktur kromatin. Induksi CYP1A1 mengakibatkan polimorfisme gen pada strain tikus. Polimorfisme membatasi suatu lokus genetik, *Ah-R* yang mengkode suatu protein pengatur, yang akan mengikat penginduksi dan menimbulkan respon induksi. Penelitian pada tikus percobaan menunjukkan implikasi *Ah-R* pada beberapa respon penyesuaian dan respon buruk terhadap hidrokarbon aromatik, mengatur induksi enzim yang memetabolisir *xenobiotic* sampai perubahan homeostasis yang mengubah pertumbuhan sel dan diferensiasi sel.

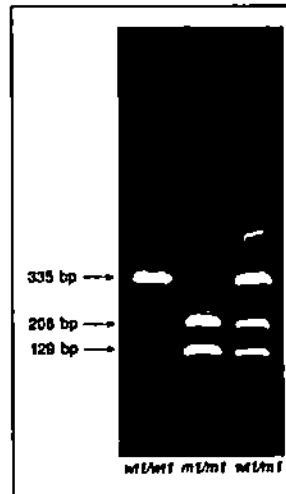
2.3.3.1.2.3 Variasi genetik CYP1A1

Enzim *cytochrome* P450 (CYP1A1) bertanggung jawab terhadap aktivasi atau inaktivasi metabolisme, sebagian besar dari penggunaan obat-obatan dan banyak toksin. Ini merupakan keberadaan variasi interindividu pada aktivitas enzim P450 pada manusia, yang dapat meningkatkan atau menurunkan kerentanan terhadap efek kimia yang menguntungkan atau toksik. Bagian terbesar dari variasi interindividu dijelaskan melalui polimorfisme gen P450 yang menyebabkan perubahan kapasitas metabolik atau ekspresi enzim yang diencode.

Adanya variasi genetik pada isozim CYP1A1 sebagai polimorfisme gen *CYP1A1* akan menyebabkan perubahan kapasitas metabolik secara interindividu. Gen *human CYP1A1* berlokasi pada *long arm* kromosom 15 (15q22-q24) dan berisi 7 *exon* dan 6 *intron* dengan panjang total 5,810 bp. Mutasi yang pertama kali ditemukan disebut sebagai alel *m1* merupakan transisi *Thymine* menjadi *Cytosine* (T menjadi C) terjadi pada posisi 6235 membuat tempat celah tambahan untuk *Msp1* pada 3' *flanking region* 1,194 bp *downstream exon 7* (Paraskevaidis *et al.*, 1998).



Gambar 2.2 Gen map of *Human Cytochrome P-4501A1* (CYP1A1). Tampak 7 exon dan 6 intron, exon pertama tidak diterjemahkan. Mutasi terjadi pada 3' flanking region (*m1*) yang menciptakan tempat *cleavage msp1* (Paraskevaidis *et al.*, 1998).



Gambar 2.3 Polimorfisme panjang fragmen restriksi *MspI* dari 3' flanking region *CYP1A1*, pre-amplifikasi dengan primer pairs P79-P80; *wt*=wild type; *ml*= mutation at nt6235 (Paraskevaidis *et al.*, 1998)

Primer	Position	Fragment Length, bp	Nucleotide sequence
P79(5')	6106-6126	335	5'-AAGAGGTGTAGCCGCTGCACT-3'
P80(3')	6440-6420		5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3'
3' = Downstream primer; 5' = Upstream primer			

Gambar 2.4 Untaian nukleotida primer yang digunakan dalam amplifikasi DNA untuk mendeteksi situs polimorfisme dari *CYP1A1* (Paraskevaidis *et al.*, 1998)

Ketiadaan tempat *MspI* pada kedua alel mewakili *homozygous wild-type genotype* (*wt/wt*) karakteristik dengan 335-bp fragmen tunggal. Individu dengan alel *ml* pada *homozygous state* (*ml/ml*) ditunjukkan pada *fragmen-fragmen* 206-bp dan 129bp. Individu *heterozygous* dengan *wild-type* dan alel *ml-mutated* (*wt/ml*) ditunjukkan pada *fragmen* 335-bp dan *fragmen* tambahan 205-bp dan 134-bp (Paraskevaidis *et al.*, 1998).

Pada AV terjadi kecenderungan representasi yang tinggi dari alel *ml*, sebagai suatu *marker* dari perubahan pada tempat regulasi dan efikasi biologis dari retinoid-retinoid alami yang aktif menjadi komponen yang inaktif. Kurangnya

retinoid alami yang aktif pada folikel pilosebacea menimbulkan diferensiasi sebosit yang abnormal dan hiperkeratinisasi dari kanalis folikularis. Hiperkeratinisasi kanalis folikularis dan diferensiasi sebosit yang abnormal akan memicu timbulnya AV (Paraskevaidis *et al.*, 1998).

2.3.3.2. Faktor Hormon Androgen

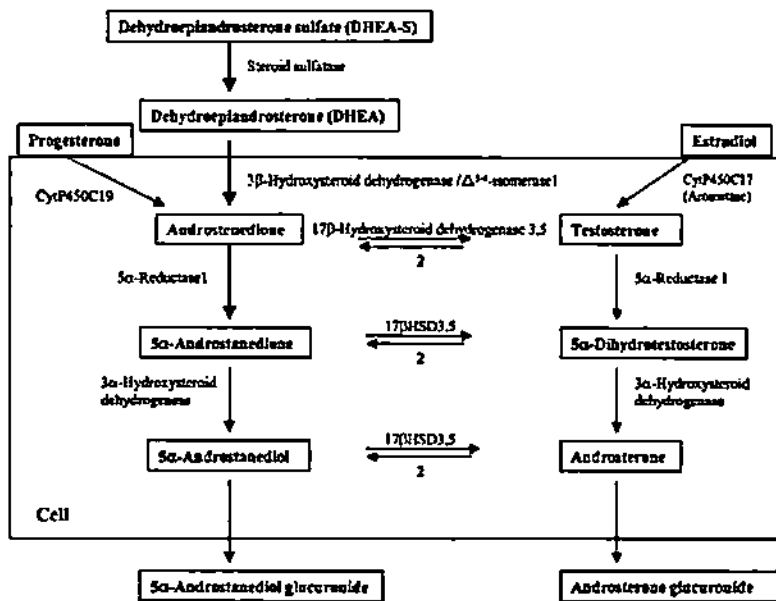
2.3.3.3.1 Pubertas

Pada masa pubertas hipotalamus akan memproduksi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yang berfungsi meregulasi pertumbuhan dan perkembangan serta fungsi testis pada pria dan ovarium pada wanita. *GnRH* akan memicu glandula pituitari untuk mensekresi *Lutenizing Hormone* (LH) dan *folicle Stimulating Hormone* (FSH). LH dan FSH dikenal sebagai *gonadotropin*. Pada pria LH akan menstimulasi produksi testosteron dan FSH diperlukan untuk produksi sperma. Pada wanita LH dan FSH akan menstimuli produksi ovarium seperti estrogen, progesteron dan testosteron.

Ada dua proses yang mendukung manifestasi pubertas yaitu *gonadarche* dan *adrenarche*. Pada *gonadarche* terjadi peningkatan GnRH, LH dan FSH. Pada *adrenarche* terjadi peningkatan produksi *hormone* androgen dari glandula adrenal. Perkembangan organ seksual primer gonad dan genital dan sekunder terjadi selama masa pubertas sedangkan perkembangan sistem reproduksi terjadi pada masa *adolescent* atau dewasa muda (Pinyerd and William., 2002). Mikrokomedo yang merupakan lesi awal dari akne muncul pada masa *adrenache* dimana hormon androgen dari adrenal mulai menstimulasi *hyperkeratosis* folikular dan hiperplasia sebaceus pada unit pilosebacea di wajah (Bergfeld., 2004).

2.3.3.3.2 Produksi dan metabolisme testosteron

Gonad dan adrenal, menghasilkan testosteron melalui dua jalur yaitu jalur *progesterone* — *17ahidroxyprogesterone* — *androstenedion* dan jalur *17a hidroxyprogrenolone* — *DHEA* — *androstenediol* (Whitt and Thorneycroft., 1990). Pria memproduksi testosteron 6-8 mg per hari.



Gambar 2.5 Jalur metabolisme androgen kutaneus dan perubahan enzim (Zouboulis *et al.*, 2004)

Kulit dan glandula sebacea mampu memproduksi dan memetabolisir hormon androgen. Semua enzim yang diperlukan untuk transformasi dari kolesterol menjadi steroid dan prekursor adrenal seperti *dehydroepiandrosterone* (DHEA) sulfat dan DHEA berlokasi di kulit (Ewadh., 2011).

Dehydroepiandrosterone sulfat tidak hanya ditransformasi secara sistemik, tetapi juga secara lokal menjadi DHEA dengan mendistribusikan *steroid sulfatase*. *Dehydroepiandrosterone* dimetabolisir menjadi *androstenedion* dan *testosterone* oleh *3β-hydroxysteroid dehydrogenase-Δ isomerase* dan *17β-HSD* yang berlokasi

di glandula sebacea. Konversi intraseluler testosteron menjadi *5 α -dihydrotestosterone* (DHT) dilakukan oleh enzim *5 α reduktase*. *5 α -dihydrotestosterone* merupakan androgen yang paling poten di jaringan (Zouboulis *et al.*, 2004). Ada dua tipe *5 α -reduktase* yang dapat diisolasi dari tubuh manusia. *Isoform tipe I* merupakan tipe yang dominan diekspresikan pada kulit dan dapat berlokasi di glandula sebacea, kelenjar keringat dan epidermis yang mana aktifitas tertinggi terjadi di glandula sebacea terutama di glandula sebacea wajah dan kulit kepala. Testosteron dapat diaktivasi menjadi estradiol oleh enzim *aromatase* (Haufman *et al.*, 1996). Unit pilosebacea mensintesis hormon androgen yang relatif lemah seperti DHEA dan DHEAS (Zouboulis., 2002, Zouboulis., 2004). Unit pilosebacea juga mampu mengubah DHEAS menjadi Androstenedion dengan enzim *3 β - hydroxisteroid dehydrogenase* (*3- β HSD*) dan mengubah Androstenedion menjadi androgen yang lebih poten yaitu Testosteron dengan enzim *17 β HSD*. Testosteron diubah oleh *5 α reduktase* menjadi Dehidrotestosteron (DHT) yang merupakan metabolit androgen yang paling aktif di unit pilosebacea (Ewadh., 2011).

Konsentrasi testotestosterone dan DHT dapat menurun karena konversi lokal menjadi esterogen, menjadi androgen yang lebih lemah seperti *3 α -androstenediol* atau menjadi *konjugat glukoronid* seperti *3 α -androstenediol glukoronid* yang secara cepat akan menghilang dari sirkulasi.

2.3.3.3 Akne hormonal androgen

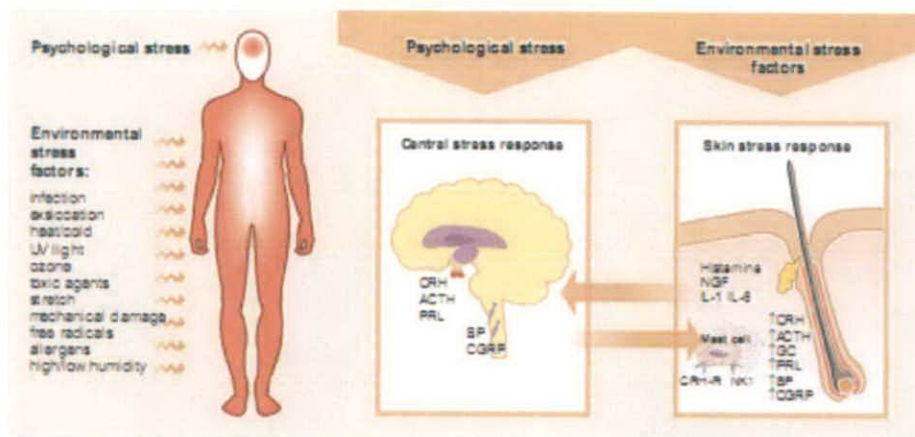
Unit pilosebacea merupakan target dari androgen yang bersirkulasi (Deplewski., 2000). *Circulating androgen* akan mengikat ke reseptor androgen yang berlokasi di lapisan basal glandula sebacea. Androgen yang berinteraksi

dengan reseptor androgen adalah Testosteron dan DHT (Kushlinskii., 1997). Stimulasi yang berlebihan dari hormon androgen terhadap glandula sebacea menyebabkan produksi sebum yang berlebihan (Ewadh., 2011). Selanjutnya sebum akan bercampur dengan sel kulit mati dari folikel yang mengalami hiperkeratosis dan bakteri yang ada dipermukaan kulit membentuk sumbatan di pori-pori sebagai suatu komedo. Komedogenesis mungkin sebagian diatur oleh peningkatan interleukin Ia (Bergdeld., 2004). Pada sumbatan pori atau komedo tersebut bakteri akan bermultiplikasi dan menyebabkan inflamasi (Cunliffe *et al.*, 2001). Dinding sel bakteri PA yang terdiri dari *Peptidoglican* dan asam *lipoteichoic* dapat memperkuat aktivitas imun dari keratinosit dan sebosit yang distimulasi androgen dengan peningkatan pelepasan sitokin seperti IL- Ia, IL-8, TNF α dari sel-sel tersebut (Bergfeld., 2000).

2.3.3.3. Faktor Eksogen

2.3.3.3.1 Stres

Kulit sebagaimana organ tubuh lainnya juga secara terus-menerus terpapar oleh faktor eksogen, termasuk didalamnya stresor fisik atau lingkungan dan stresor psikologis atau emosional. Kulit merupakan organ terluas yang lokasinya strategis sebagai barier antara *environmental* eksternal dan internal yang secara permanen dipajan oleh stresor-stresor seperti sinar matahari/ultraviolet, *solar*, *thermal*, mekanik, fisik dan kimia. Kulit juga merupakan *target organ* stresor psikologis/emosional.

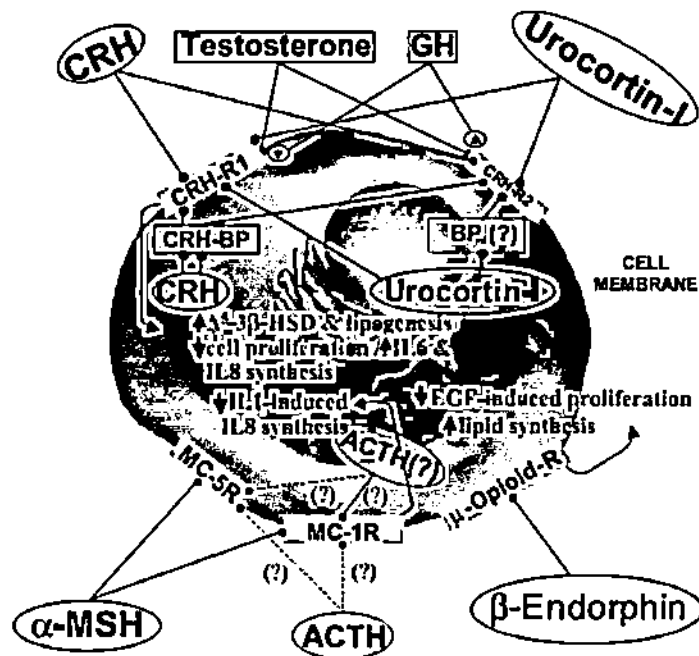


Gambar 2.6 *Brain-skin cross-talk* selama pajanan oleh faktor stres psikologis atau faktor stres *environmental* (Arck *et al.*, 2006).

Sudah lama dipostulasikan adanya hubungan kausa antara stres psikologis dengan akne. Pada saat kulit terpajan oleh stresor otak sebagai sistem saraf pusat akan merespon dengan cara mengaktifkan sistem *HPA axis* sentral. Sudah ditetapkan bahwa kulit dan apendiksnya merupakan organ yang mempunyai fungsi perifer *ekivalen* secara penuh dengan *HPA axis* sentral berupa suatu sistem respon stres lokal yang independen (*kutaneus HPA axis*). Sehingga dengan demikian otak dan kulit dalam proses respon terhadap stres keduanya akan mengaktifasi sistem *HPA axis* sentral dan lokal (Arck *et al.*, 2006).

Pada respon sistemik *HPA Axis* sentral terhadap stresor akan dilakukan persepsi oleh sensor stres yang berlokasi di sentral dan aksi sentral ini dimulai dijalankan melalui pelepasan CRH yang diproduksi oleh hipotalamus yang mana CRH ini akan menstimuli reseptor di pituitari (Slominski., 2000). CRH akan meningkatkan produksi dan sekresi bagian *anterior pituitary* yang diatur oleh *propiomelanocortin* (POMC), berupa peptida *melanocyt stimulating hormone* (MSH), ACTH dan *endorphin*. Selama pelepasannya ke sirkulasi ACTH akan menuju ke glandula adrenal dan mengaktifasi MC2 reseptor (MC2-R) yang

menginduksi produksi dan sekresi kortisol (Slominski., 2000, Bohm., 2009). Pada stres yang ringan, perubahan peningkatan sekresi kortisol tidak bersifat patologis karena mekanisme homeostasis akan segera mengembalikannya ke keseimbangan. Bila stres berlangsung kronik atau berat, mekanisme homeostasis tidak mampu lagi mempertahankan keseimbangannya sehingga peningkatan sekresi kortisol akan memicu sistem imun untuk melepaskan sitokin-sitokin proinflamasi IL-6 dan IL-8 yang dalam hal ini akan menimbulkan inflamasi di glandula sebacea sehingga terjadi patogenesis akne vulgaris (Nurdin., 2013). Penilaian stres berdasarkan atas kadar kortisol darah.



Gambar 2.7 *Sebosit HPA like axis* menyebabkan proliferasi, diferensiasi dan aktivasi sebosit (Zouboulis *et al.*, 2004).

Corticotropin Releasing Hormone (CRH) merupakan *modul proksimal* dari *HPA-Axis cutaneus/peripheral*. *Corticotropin Releasing Hormone (CRH)* akan mengikat pada protein sebagai *CRH binding protein (CRH BP)* dan pada *reseptor corticotrophin (CRHR)*. *Pro CRH* diproses menjadi CRH yang sama

pada tingkat sentral maupun periferal termasuk kulit. *Corticotropin Releasing Hormone*, CRHBP, CRHR1, CRHR2 diekspresikan pada sebosit glandula sebacea. CRH kemudian akan menginduksi sintesis lipid dan meningkatkan ekspresi $\Delta 5-3\beta$ *hydroxysteroid dehydrogenase* ($\Delta 5-3\beta$ HSD) yang merupakan enzim yang merubah DHEA menjadi testosteron pada sel sebosit (Zouboulis *et al.*, 2004). Selanjutnya testosteron dan *growth hormone* yang juga meningkatkan sintesis lipid sebacea merupakan antagonis CRH dengan cara menghambat atau memodifikasi ekspresi CRHR. Pada sisi lain CRH akan meningkatkan aktivitas imun keratinosit dengan meningkatkan *interferon gamma* yang menstimulasi ekspresi *Intercellular Adhesion molecule* satu (ICAM 1) dan *HLADR* antigen yang mana akan meningkatkan IL-6 dan menginhibisi produksi IL-1 β dari keratinosit (Sullivan *et al.*, 1998). Alfa MSH akan menuju ke reseptornya di glandula sebacea yaitu *melanocortin reseptor* (MC1R). Selanjutnya α -MSH akan meningkatkan sekresi sebum bersinergis dengan testosteron. α -MSH menghambat IL-1 β yang menginduksi sekresi IL-8 sebagai bukti utama dari aktivitas langsung α -MSH di sebosit. Ekspresi MC1R pada sebosit yang berasal dari kulit wajah menunjukkan bahwa α MSH meningkatkan lipogenesis. Ekspresi RNA dari *precursor protein*, *proopiomelanocortin* (POMC) ditemukan pada glandula sebacea. α MSH berperan mengatur lipogenesis dan produksi sitokin *proinflammatory*. β *endorphin* (β -ED) merupakan *neuropeptida endogenous opioid family* yang juga mempunyai aktivitas sebacea. Reseptor μ *opioid* yang mengikat β -ED diekspresikan pada glandula sebacea akan menginduksi proliferasi dan menstimulasi lipogenesis dan secara spesifik meningkatkan asam lemak (Zouboulis *et al.*, 2004).

Substance P merupakan suatu substansi *imuno reaktif* serabut syaraf yang berlokasi dekat dengan glandula sebacea. Ekspresi *substance P inactivating enzyme* berupa suatu *neutral endopeptidase* yang ditemukan pada sebosit (Arck *et al.*, 2006, Xia *et al.*, 2008).

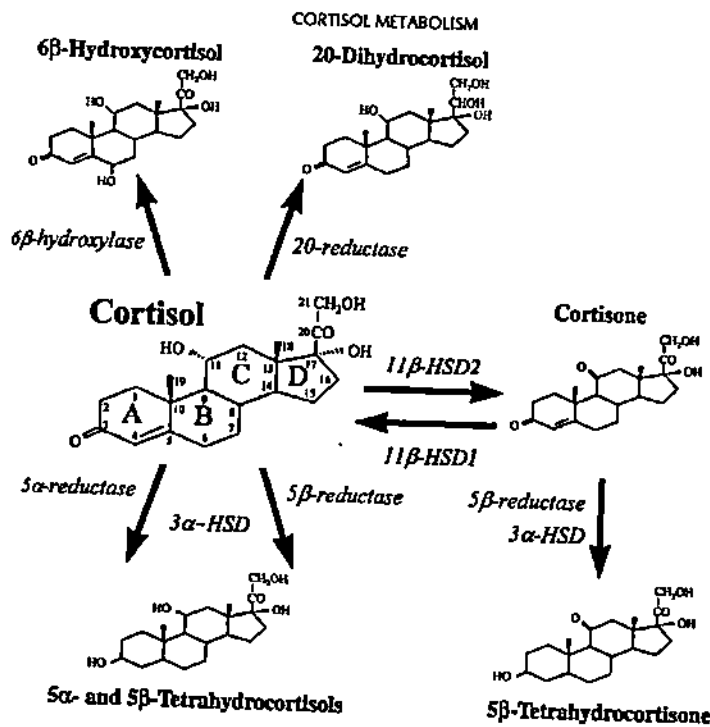
Selanjutnya *nerve Growth Hormone* akan menimbulkan imunoreaktivasi dari sebosit dengan meningkatkan jumlah *sel mast* dan ekspresi *endothelial leucocyte adhesion molekul* satu pada kapiler vena yang berdekatan dengan glandula sebacea. Interleukin-6 merupakan molekul yang diproduksi *sel mast* yang akan menginduksi sel sebosit untuk memproduksi *nerve Growth factor* (Bohm., 2009). Semua hal diatas menunjukkan indikasi bahwa stres sentral atau lokal/perifer merupakan *regulasi feedback* dari glandula sebacea yang menginduksi inflamasi pada lesi akne (Zouboulis *et al.*, 2004).

2.3.3.3.1.1 Hormon kortisol

Kortisol merupakan hormon glukokortikoid yang utama pada manusia, menyokong pengaturan homeostasis dari metabolime basal dan keseimbangan elektrolit serta mengatur respon terhadap stres. Pada orang dewasa normal, glandula adrenal mensekresi kortisol sekitar 5-15 mg per hari (Walker *et al.*, 2001). Hanya sedikit fraksi yang diekspresikan sebagai kortisol bebas pada urin, saliva atau empedu. Sisanya disaring melalui banyak jalur metabolisme sebelum mengkonjugasi dan diekskresi melalui urin. Melalui perubahan-perubahan *reversible* dengan metabolit inaktif, konsentrasi kortisol intraseluler tertinggi dapat menjadi target terhadap jaringan spesifik (Andrew *et al.*, 1999). Semua ini, bersama dengan *modulasi* sekresi kortisol oleh *HPA-axis* dan modulasi dari ekspresi reseptor kortikosteroid dan pemberi isyarat

melengkapi suatu kompleks sistem dari regulasi aktivitas glukokortikoid pada jaringan yang spesifik (Webster *et al.*, 2002). Semua ini mempengaruhi perbedaan faktor yang menentukan aktivitas kortisol, sebagai contoh rata-rata penyaringan metabolik dari kortisol oleh enzim-enzim perifer akan mempengaruhi kadar kortisol sirkulasi dan akan mempengaruhi kortisol umpan balik dari *HPA-axis* (Slominski *et al.*, 2000).

Enzim-enzim yang secara langsung memetabolisir kortisol meliputi *A-ring reductase* (5α dan 5β reduktase), 6β -hydroxylase, 20 -reduktase dan 11β -hydroxysteroid dehydrogenase.



Gambar 2.8 Metabolisme kortisol

Isoenzim 11β -hydroxysteroid dehydrogenase (11β -HSDs) mengkatalisa perubahan kortisol (atau kortikosteron) dengan metabolit inaktif kortison (atau 11β -dehydrokortikosteron) (Monder *et al.*, 1993). 11β -HSD diekspresikan dalam

kadar rendah pada organ paru dan kulit. Isoenzim 11β -HSD tipe 2 akan secara cepat merubah kortisol menjadi kortison (Stewart *et al.*, 1994). Isoenzim 11β -HSD1 merupakan suatu enzim reduktase yang akan mereaktivasi kortison *inert* menjadi kortisol (Jamieson *et al.*, 1995). Isozim 11β -HSD1 diekspresikan secara luas di berbagai jaringan seperti hati, paru-paru, *pituitary anterior*, otak dan korteks adrenal (Ricketts *et al.*, 1998).

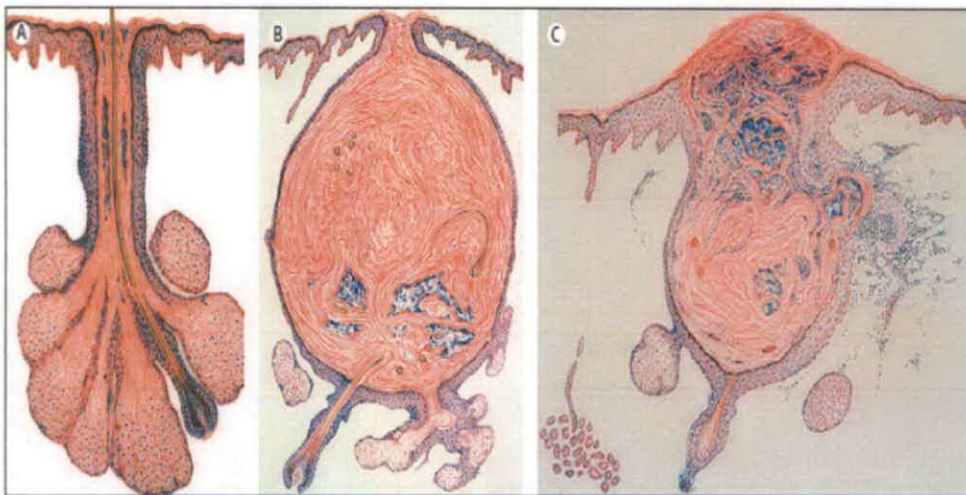
Enzim 5α dan 5β reduktase mengkatalisa reduksi dari 4,5 *double bound* pada *A-ring* membentuk 5α atau 5β dihidrokortisol. Pada reaksi selanjutnya kebanyakan metabolit kortisol diekskresikan sebagai 5α atau 5β tetrahidrokortisol. Waktu paruh kortisol di sirkulasi sekitar 90 menit. Proses metabolisme akan merubah kortisol menjadi kortison. Di dalam plasma *diurnal* memungkinkan untuk direaktivasi dengan adanya enzim 11β -HSD1. Kadar kortisol plasma (~ 500 nM puncaknya pada pagi hari dan ~ 100 nM pada menjelang sore) adalah lebih tinggi dari kadar kortison (~ 70 nM). Kortison tidak seperti kortisol, kortison tidak mudah berikatan dengan protein dan tidak ada variasi *diurnal*, sehingga terutama sore hari konsentrasi kortison bebas melampaui kadar kortisol (Walker *et al.*, 1992). Kortison pada sirkulasi sistemik dapat direaktivasi menjadi kortisol oleh 11β -HSD1 di berbagai tempat (Walker *et al.*, 2001).

2.3.4 Patogenesis

Berdasarkan patogenesisnya AV merupakan penyakit yang hanya mengenai folikel pilosebacea (Odom., 2000) sehingga sering disebut sebagai penyakit seborea, karenanya AV terutama mengenai area kulit yang berminyak (Cunliffe., 1998). Pada patogenesis AV didapatkan perubahan-perubahan penting yang terjadi pada folikel pilosebacea (Tolman., 1992). Dimulai dengan

tersumbatnya muara folikel oleh proses hiperkeratinisasi epidermis folikel karena adanya perubahan pola hiperkeratinisasi folikel (Webster., 2007). Sel-sel stratum korneum infrainfundibulum menjadi lebih banyak mengandung desmosom, tonofilamen, butir-butir keratohialin dan lipid tetapi mengandung lebih sedikit butir-butir *lamelar* sehingga stratum korneum menjadi lebih tebal dan melekat, timbul sebagai mikrokomedo yang merupakan *prekursor* terbentuknya komedo.

Pada AV glandula sebacea memproduksi sebum lebih banyak daripada kulit yang normal. Komposisi sebum AV tidak berbeda dengan normal, kecuali terdapat penurunan jumlah asam linoleat yang bermakna (Picardo *et al.*, 2000). Sebum diuraikan oleh propionebakterium aknes yang merupakan flora atau mikroorganisme normal yang hidup di folikel kelenjar sebacea (Ebling *et al.*, 1998).



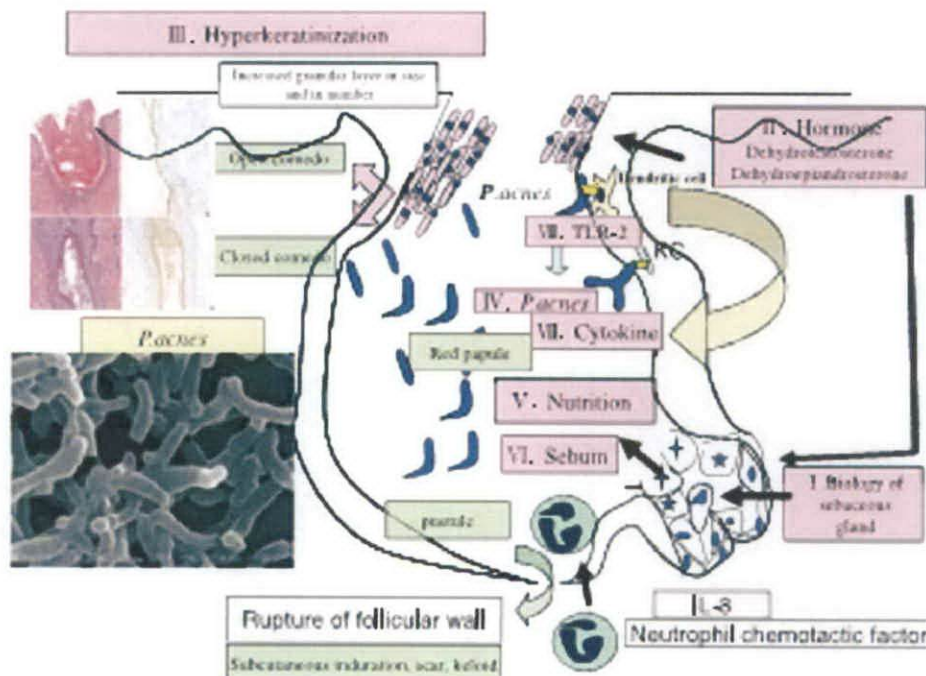
Gambar 2.9 Glandula sebacea normal (a), komedo (b) dan lesi inflamasi dengan ruptur dinding folikel dan infeksi sekunder (c) (William., 2003)

Propionebakterium aknes yang berada dalam komedo akan mengeluarkan enzim lipase, enzim lipase ini akan menguraikan sebum yang berupa trigliserida menjadi asam lemak bebas yang dapat meningkatkan kolonisasi PA dan

menginduksi respon inflamasi (Thiboutot *et al.*, 2003). Mikroorganisme ini juga mengeluarkan faktor kemotaktik yang larut dalam air dan mempunyai berat molekul rendah sehingga tidak membutuhkan komplemen untuk aktivitasnya serta dapat keluar dari folikel untuk menarik sel netrofil (Cunliffe *et al.*, 2001). Bila netrofil memasuki komedo, maka sel-sel netrofil akan memakan PA sehingga terjadi pelepasan enzim hidrolitik yang akan merusak dinding folikuler sehingga komedo akan pecah. Isi komedo akan masuk ke dermis dan terpajan dengan sistem imun sehingga terjadi proses inflamasi (Cunliffe *et al.*, 2001).

Banyak sitokin yang terlibat dalam proses inflamasi AV. interleukin-1 α yang disekresi oleh keratinosit akan memicu peradangan di folikel pilosebacea dan kemotaksis netrofil polimorfonuklear (Bergfeld., 2004).

Perkembangan baru dalam pemahaman patogenesis dan penatalaksanaan AV sudah banyak dilakukan selama beberapa tahun terakhir. Didasari dari hasil berbagai penelitian mengenai AV maka didapatkan berbagai patogenesis dari AV.



Gambar 2.10 Patogenesis akne. Biologi glandulasebasea (I) faktor hormonal (II) yang terlibat dalam ekskresi sebum (VI) dan hiperkeratinisasi di infundibulum (III). Akne dimulai sebagai mikrokomedo yang dihasilkan dari hiperkeratinisasi di infundibulum dengan penambahan ukuran dan jumlah lapisan granular. Mikrokomedo perlahan berubah menjadi komedo terbuka dan komedo tertutup. Kolonisasi propionebakterium aknes (IV) disaluran folikuler berkembang dan menstimulasi produksi sitokin (VII) melalui *Toll-like reseptor* (VII) menyebabkan lesi inflamasi. Nutrisi (V) mungkin terlibat dalam patogenesis akne. IL-8, faktor kemotaktik netrofil, menarik netrofil ke dalam dinding folikel. Pada suatu saat dinding folikel akan ruptur, terjadi lesi granulomatous dengan indurasi subkutaneus, jaringan parut dan keloid (Kurorawa *et al.*, 2009).

a. Biologi glandula sebacea

Glandula sebacea merupakan kelenjar holokrin dimana hasil sekresinya dibentuk dari sel-sel glandula yang mengalami disintegrasi. Peningkatan produksi sebum merupakan kejadian yang sejalan dengan timbulnya lesi akne. Dengan berkembangnya penelitian yang menggunakan glandula sebacea manusia sebagai model eksperimen didapatkan perluasan

pemahaman dari banyak aspek baru dari fungsi glandula dibandingkan dengan normal.

b. Neuropeptida dan glandula sebacea

Neuropeptida (NPs) merupakan grup peptide heterogen yang secara biologi bersifat aktif, yang didapatkan pada neuron baik pada sistem saraf pusat maupun sistem saraf perifer. Pada glandula sebacea ditemukan ekspresi reseptor NPs, seperti CRH, melanokortin, β -endorphin, *vasoactive intestinal polypeptide*, *NP Y* dan *kalsitonin*. Reseptor-reseptor ini memodulasi produksi sitokin, proliferasi, diferensiasi, lipogenesis, dan metabolisme androgen di sebosit. *NP substansi P* (SP) ekspresinya ditemukan pada saraf kulit di sekitar glandula sebacea pada penderita AV. Substansi P menyokong proliferasi dan diferensiasi glandula sebacea dan meningkatkan imunoreaktivitasnya dan ekspresi RNA dari faktor-faktor proinflamatori. Hal ini akan menginduksi ekspresi *endopeptidase neutral* (CD 10) pada sel-sel *germinatif* sebacea dan *E-selectin* pada venula-venula perisebacea. *Endopeptidase dipeptidyl peptidase IV* (DP IV atau CD26) dan *aminopeptidase N* (APN atau CD 13) terlibat dalam degradasi NPs terutama SP. Ekspresi SP ditemukan sangat tinggi pada sebosit *in vivo* dan *in vitro*

c. Hormon

Hormon androgen mempunyai peranan esensial pada patogenesis akne. Sudah dipostulasikan bahwa androgen berperan pada awal inisiasi timbul akne atau sebagai produksi berlebihan lokal androgen di kulit dan atau tingginya ekspresi dan sensitivitas reseptor androgen yang mana keadaan

ini menerangkan formasi dari lesi akne. Pada glandula sebacea ditemukan ekspresi dari enzim-enzim yang penting dari sistesis testosteron *de novo* dari kolesterol, dari substansi *5- α reduktase* dan dari dehidroepiandrosteron sirkulasi. Pengaruh androgen dalam patogenesis akne berupa terjadinya proliferasi, diferensiasi sebosit dan keratinosit infrainfundibulum. Ada tiga hal penting yang terjadi pada glandula sebacea dalam patogenesis akne yang berkaitan dengan hormon androgen yaitu proliferasi sebosit, diferensiasi sebosit dan lipogenesis, dan komedogenesis. Proliferasi sebosit merupakan hasil dari efek stimulasi testosteron dan DHT.

- Proliferasi sebosit

Testosteron dan 5α DHT akan menstimulus proliferasi sebosit di glandula sebacea

- Diferensiasi sebosit dan lipogenesis

Kombinasi testosteron dan asam linoleat menunjukkan efek sinergis pada lipid sebacea. Dihidrotestosteron akan menambah tetesan lipid intraseluler yang berlangsung lama sehingga terjadi akumulasi trigliserida. Proliferasi, diferensiasi dan lipogenesis melibatkan jalur SREBP (*sterol response element binding protein*) yang merupakan regulator kunci lipogenesis. Ekspresi SREBP dapat dideteksi pada sebosit.

- Komedogenesis

Hiperproliferasi/hiperkeratinisasi terjadi di infrainfundibulum saluran folikel, hal ini menunjukkan tingginya aktivitas tipe I *5 α -reduktase*

yang berlokasi di folikel infrainfundibulum berkaitan dengan diferensiasi keratinosit yang abnormal.

Semua hal tadi merupakan bukti bahwa androgen dapat menstimuli lipid sebacea

d. Hiperkeratinisasi

Kejadian awal yang paling krusial dalam timbulnya lesi akne adalah hiperkeratinisasi di folikel infundibulum dan duktus sebaceus yang menyebabkan timbulnya mikrokomedo. Pola hiperkeratinisasi menunjukkan retensi hiperkeratinisasi dengan meningkatkan jumlah dan ukuran granula-granula keratohialin dan akumulasi tetesan lipid dan menumpuknya skuama di folikel itu sendiri sehingga menimbulkan efek penekanan. Interleukin 1- α pernah dilaporkan dapat menginduksi hiperkeratinisasi dalam folikel infundibulum *in vitro* dan *in vivo*. Keratinisasi yang abnormal berhubungan dengan gangguan diferensiasi keratinosit infundibulum yang berkaitan dengan peningkatan ekspresi *filaggrin* (protein agregat filamen). Bukan hanya terjadi hiperkaratinisasi tetapi juga hiperproliferasi dapat diobservasi di dalam keratinosit infundibulum melalui ekspresi dari *markers hiperproliferatif keratin* (K)6 dan K16. Interleukin 1- α mengaktivasi keratinosit basal dengan menginduksi ekspresi produksi K16 di sel-sel suprabasal pada tahap aktif. Hal ini menunjukkan bahwa siklus aktivasi keratin dan keratinosit berhubungan dengan hiperproliferasi keratinosit yang terbatas di infrainfundibulum. Pada respon hormonal, peningkatan DHT yang bekerja dalam keratinosit infundibulum menyebabkan hiperkeratinisasi abnormal.

Keratinisasi folikel mungkin dipacu oleh kurangnya asam linoleat dan peroksida di dalam sebum. Baru-baru ini diketahui bahwa PA ikut berperan dalam pembentukan mikrokomedo.

e. Bakteri

Keterlibatan PA dalam pathogenesis AV masih kontroversial karena faktanya menunjukkan bahwa PA merupakan penghuni normal. Pengkodean *genome* PA menunjukkan potensi patogen dari bakteri ini. Kemungkinan ini kemudian didukung dengan observasi PA menginduksi ekspresi peptide antimikroba dan sitokin/kemokin proinflamasi yang berasal dari berbagai tipe sel. Sifat-sifat patogenik alami dari PA dikaitkan dalam pathogenesis akne yang menimbulkan kemungkinan bahwa strain-strain PA dapat menyebabkan infeksi oportunistik yang memperburuk lesi AV. Kelas *phylogenetic* PA ini berbeda tidak hanya dalam produksi sekret protein tapi juga kemampuannya untuk menginduksi respon imun yang berbeda di keratinosit dan sebosit. Perbedaan utama adalah pada kemampuan untuk menginduksi ekspresi hBD-2. Walaupun hBD-2 tidak mempunyai efek langsung antimikroba terhadap PA tetapi dia mempunyai aktivitas yang sinergis dengan *cathelicidine*. Aktivitas total antimikroba PA di unit pilosebacea disebabkan karena adanya peptide-peptida anti mikroba dan juga lipid-lipid anti bakteri yang bekerja bersama-sama. Berbagai peptide antimikroba diekspresikan pada kulit yang sehat tanpa adanya tanda-tanda inflamasi yang dapat terlihat, menunjukkan peptida antimikroba menginduksi keadaan hilangnya sitokin proinflamasi/

kemokin. Mikrobiota penghuni kulit dapat memfasilitasi induksi peptide antimikroba tanpa inflamasi.

f. Sebum

Peningkatan produksi sebum karakteristik dengan AV walaupun bukan suatu kaitan yang erat dengan terbentuknya lesi AV. Pertumbuhan glandula sebacea dan peningkatan ekskresi sebum menunjukkan fenomena yang dialami oleh semua orang dewasa tapi hanya beberapa kasus yang berkaitan dengan gangguan metabolisme lipid. Beberapa variasi metabolisme lipid yang pernah didapatkan pada pasien AV, termasuk penurunan asam linoleat. Banyak penelitian membuktikan bahwa desaturasi asam lemak sebaceous dapat menyokong timbulnya AV dengan peningkatan rasio saturasi/monosaturasi bersama dengan reduksi desaturasi enzimatis dari C16:2 berkaitan dengan jumlah lesi. Kekhasan sebum yang didapatkan pada pasien akne adalah didapati lipoperoksida, utamanya karena peroksidasi sekualen dan penurunan kadar vitamin E sebagai antioksidan utama dari sebum. Kelanjutan menjadi reaksi inflamasi diawali dengan hiperkeratinisasi di akroinfundibulum dan manifestasi dari lesi AV. dalam konteks ini baik lipoperoksida maupun asam lemak monosaturasi (MUFAs) mampu untuk menginduksi proliferasi dan diferensiasi keratinosit oleh karena itu peroksida mampu untuk menginduksi produksi sitokin proinflamasi dan mengaktifasi *Peroxisome Proliferator-activated Reseptor* (PPARs). Keadaan seborea tidak bertanggung jawab atas timbulnya AV. hal ini ditunjukkan dengan keberhasilan terapi dengan bahan yang tidak berefek pada ekskresi sebum

dapat menghambat proses inflamasi, seperti antibiotik, retinoid topikal, *azelaic acid* dan *benzoil peroxide*.

g. Nutrisi

Akne vulgaris dikendalikan oleh hormon dan *growth factor* (*insulin-like growth factor* (IGF-1)) yang beraktivitas di glandula sebacea dan di keratinosit kanalis pilaris. Produk makanan yang berisi *5- α reduced steroid hormone* dan *precursor steroid* DHT yang mengatur fungsi glandula sebacea dan fungsi keratinosit filaris. Kadar IGF-1 selama masa remaja sejalan dengan aktivitas AV dan sinergis dengan hormon steroid. Vitamin A sangat dibutuhkan untuk fungsi normal folikel dan kadar vitamin A tersebut selalu kurang pada usia remaja. Diet asam lemak mempengaruhi inflamasi, beberapa proinflamasi, beberapa antiinflamasi. Asam linoleat berperan ambivalen pada AV. Akne vulgaris dapat diatasi dengan mengontrol hormon dan inflamasi., yang mana keduanya dapat dipengaruhi oleh diet. Suplemen vitamin A mungkin dapat membantu mereduksi sumbatan di pori-pori. Penyumbatan kanalis pilaris menimbulkan efek mekanik. Produksi keratinosit ke dalam sistem yang tertutup menyebabkan peningkatan tekanan *intrakanal* sehingga menyebabkan hipoksia di bagian pusat dari duktus. Hal ini membuktikan bahwa lingkungan yang anoksik yang menimbulkan pertumbuhan koloni PA intraduktus kemudian diikuti dengan pecah dinding duktus, pelepasan antigen dan menyebabkan atau memperburuk AV berupa lesi inflamasi papula. Jalur inflamasi ini disebabkan oleh mediator-mediator, sitokin-

sitokin dan kemokin-kemokin yang menyebabkan epifenomena kimia dan biologis pada AV.

h. Sitokin

Pada glandula sebacea normal didapatkan sitokin-sitokin, dan sitokin-sitokin ini dipengaruhi oleh banyak faktor. Interleukin-1 α , TNF- α , IL-6 dan IL-8 dilepaskan ke dalam *supernatan* dari sebosit yang tidak mengalami stres. Pada sebosit dengan lingkungan stres jumlah sitokin yang dilepaskan akan meningkat. Pada pasien AV didapatkan ekspresi IL-6 yang lemah pada kulit yang tidak sakit dan ekspresi kuat didapatkan pada kulit yang sakit. IL-8 menunjukkan ekspresi kuat di sebosit pasien yang sakit dibandingkan dengan sebosit pada orang yang normal. CRH meningkatkan pelepasan IL-6 dan IL-8 dari sebosit melalui jalur IL-1 β independen. Pada sistem POMC α -MSH peptide menekan IL-1 β yang menginduksi pelepasan IL-8. Alfa MSH merupakan *mediator proinflamasi* pusat pada patogenesis akne dengan inflamasi. Pada kultur sebosit didapatkan ekspresi *Platelet Activating Factor Reseptor* (PAF-R). *Platelet Activating Factor Reseptor* ini terlibat dalam regulasi ekspresi mediator-mediator inflamasi termasuk diantaranya *cyclooxygenase-2*, prostaglandin dan IL-8. Ektopeptidase yang didapatkan pada sebosit juga memodulasi regulasi sitokin. Penghambatan ektopeptidase ini menimbulkan penekanan *endogenous IL-1 resptor antagonis*.

i. Toll-like Reseptor (TLRs)

Toll-like reseptor merupakan protein transmembran yang berperan penting dalam respon imun yang segera terhadap mikroba atau penyerang lain.

Ada sepuluh jenis TLRs yang dapat ditemukan pada manusia. Ekspresi TLRs terutama pada sel-sel imun seperti monosit, makrofag, sel dendritik dan granulosit. Stimulus TLRs memicu aksi IL-1 α dan menyokong produksi sitokin proinflamasi, prostaglandin, leukotrin (LT) dan kemokin. Sistem sitokin pada monosit mampu diinduksi oleh aktivasi TLR2 oleh PA tapi ekspresi TLR2 yang aktif di keratinosit menunjukkan implikasi PA dan TLR2 mempengaruhi timbulnya lesi inflamasi. Semua ini menunjukkan bahwa melalui jalur ini, sistem imun segera dapat mengenali komponen mikroba dan kemudian menginduksi sistem sitokin pada pathogenesis AV. pada kultur sebosit manusia didapatkan ekspresi TLR2, TLR4, CD14, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 dan IL-8. Sebosit mampu memproduksi lipid antimikroba, peptide antimikroba yang menunjukkan aktivitas sinergis dan menginduksi sitokin proinflamasi melalui mekanisme TLR dan CD14. Glandula sebacea sudah ditetapkan mempunyai fungsi dengan *link* antara lipid, metabolisme lipid, protein antimikroba, *innate immunity epithelial*, yang mana semua ini merupakan hal penting yang terlibat dalam patogenesis AV.

Folikel pilosebacea merupakan manifestasi dari patogenesis AV yang secara berulang dipengaruhi oleh multifaktor seperti peningkatan produksi sebum, perubahan kualitas lipid sebum, regulasi steroidogenesis di kulit, aktivitas androgen, interaksi dengan NPs, bahan-bahan pro dan antiinflamasi, hiperkeratinisasi folikuler dan proliferasi PA di dalam folikel. Peningkatan ekskresi sitokin merupakan hal utama yang berkaitan dengan timbulnya AV. Asam lemak beraktivitas dalam bentuk terikat pada reseptor inti seperti PPARs.

Lipid glandula sebacea mempunyai bahan-bahan langsung pro dan antiinflamasi yang dapat menginduksi jalur *5-lipooksigenase* dan *siklooksigenase2* di sebosit yang kemudian diikuti dengan produksi lipid proinflamasi. Selanjutnya hormon androgen akan mengatur ukuran glandula sebacea dan produksi sebum.

2.3.5 Gambaran klinis AV (Longshore, 2003)

2.3.5.1. Lesi non inflamasi

Lesi non inflamasi adalah lesi yang tidak disertai dengan peradangan.

1. Mikrokomedo adalah muara folikel rambut yang tersumbat oleh keratin epidermis folikel yang hanya terlihat secara mikroskopis
2. Komedo terbuka atau *blackhead* komedo adalah komedo dengan muara folikel terbuka dan terlihat ujung hitam karena mengandung pigmen
3. Komedo tertutup atau *whitehead* komedo adalah komedo dengan muara folikel tertutup, berupa papul milier berwarna putih kekuningan, bila pecah menyebabkan lesi inflamasi di dermis.

2.3.5.2. Lesi inflamasi

Lesi inflamasi adalah lesi yang disertai peradangan.

1. Pustula merupakan gelembung berisi nanah, berukuran kurang dari 0,5 cm garis tengah, berwarna kemerahan.
2. Papula merupakan benjolan padat yang berwarna kemerahan, sirkumskrip, berukuran kurang 0,5 cm garis tengah.
3. Nodula merupakan benjolan berwarna kemerahan dengan ukuran lebih kecil dari 1 cm garis tengah, dapat berisi nanah dan dapat menyebabkan timbulnya jaringan parut atau sikatrik.

4. Kista merupakan benjolan yang terdiri dari ruangan berdinding yang berisi hasil dari dindingnya sendiri, berukuran 1 cm garis tengah.

2.3.5.3. Jaringan parut / sikatrik / scars

Jaringan parut / sikatrik / scars dapat berupa atrofik, hipertrofik, keloid dan *pitted*, terdiri dari jaringan yang tidak utuh, relif kulit tidak normal, permukaan kulit licin dan tidak terdapat adneksa kulit. Lesi atrofik kulit akan mencekung, lesi hipertrofik menonjol karena kelebihan jaringan ikat atau keloid menonjol lebih tinggi dari permukaan kulit dan *pitted* kulit tampak seperti berlubang-lubang kecil.

2.3.6 Klasifikasi AV (Dreno *et al.*, 2004)

Klasifikasi AV dibuat berdasarkan atas tipe atau variasi dari penyakit, ada tidaknya inflamasi dan dari bentuk atau morfologi lesi. Berdasarkan ada tidaknya inflamasi AV dibagi menjadi dua bagian yaitu :

1. Lesi non inflamasi atau tanpa peradangan :
 - a. Mikrokomedo
 - b. Komedo terbuka dan komedo tertutup
2. Lesi inflamasi atau dengan peradangan
 - a. Pustula
 - b. Papula
 - c. Nodula
 - d. Kista
3. Jaringan parut / scars / keloid

Klasifikasi berdasarkan morfologi lesi :

1. Akne komedonal

Lesi hanya terdiri dari komedo terbuka dan komedo tertutup



Gambar 2.11 Akne komedonal (Dreno *et al.*, 2004)

2. Akne papulopustular

Lesi sebagian besar terdiri dari papula dan pustul



Gambar 2.12 Akne papulopustular (Dreno *et al.*, 2004)

3. Akne nodulokistik atau konglobata

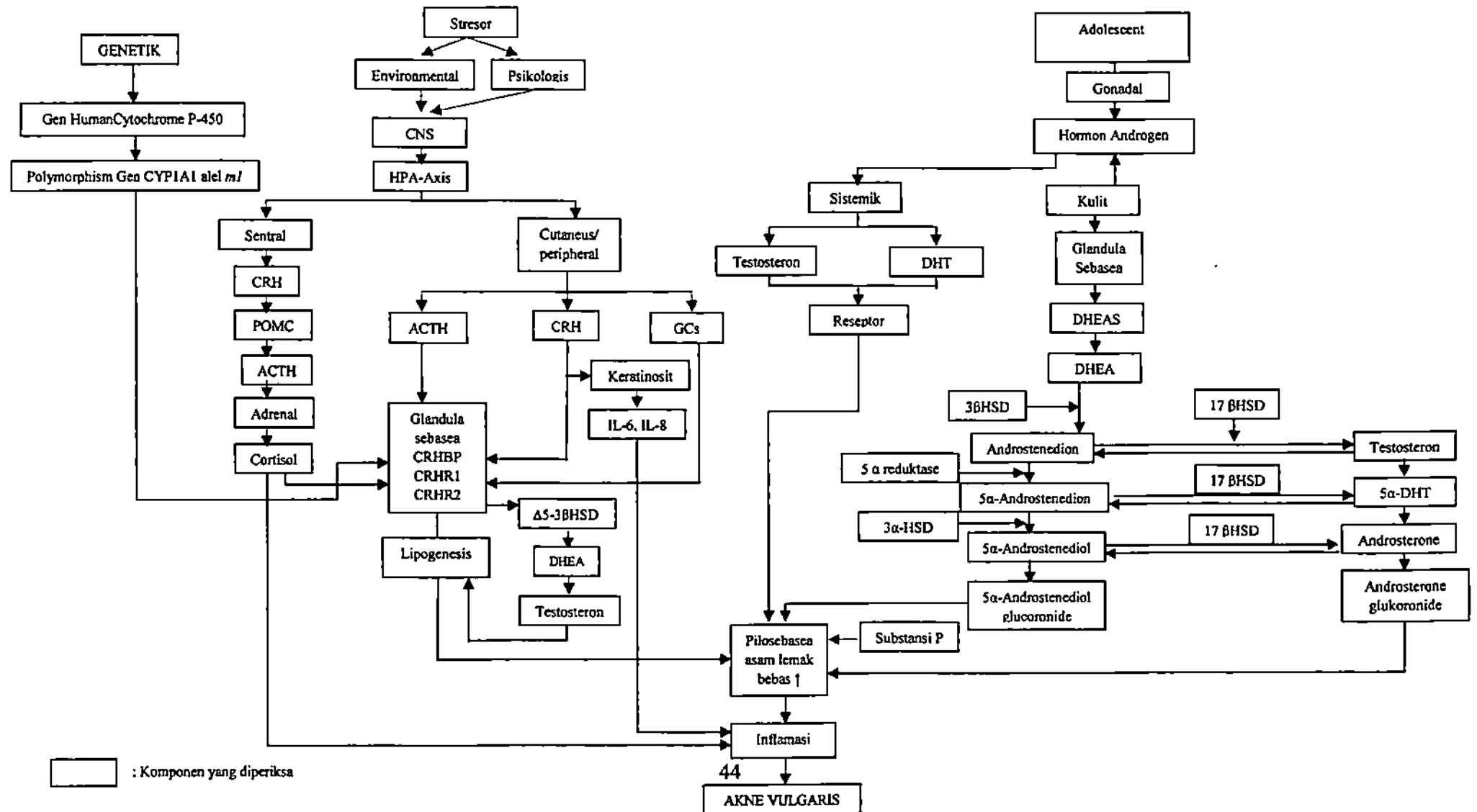
Lesi sebagian besar berupa nodul dan kista



Gambar 2.13 Akne nodulokistik atau konglobata (Longshore., 2003)

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Faktor genetik, kondisi stres dan hormonal merupakan faktor-faktor yang mempunyai peranan penting dalam terjadinya penyakit kulit. AV merupakan penyakit kulit tersering terjadi di berbagai negara. Pada AV terjadi perubahan-perubahan penting pada glandula sebacea kulit, meliputi hiperkeratinisasi folikel pilosebacea sehingga menyebabkan terjadinya sumbatan di kanalis folikularis sebacea, produksi sebum meningkat akibat differensiasi sebosit yang abnormal, diikuti dengan kolonisasi bakteri PA yang akan memicu inflamasi akibat pecahnya komedo ke jaringan dermis.

Gen sitokrom *P-450* merupakan supergen famili dari enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme yang luas. *Human sitokrom P-450 1A1* yang disebut juga sebagai CYP1A1 merupakan subfamili isozim paling aktif dalam metabolisme vitamin A. Gen *human sitokrom P-450 CYP1A1* mengatur enzim CYP1A1. Vitamin A (retinol) sebagai retinoid endogen alami dan metabolitnya berperan dalam proliferasi keratinosit epidermis dan sebosit. Adanya variasi genetik pada isozim CYP1A1 menyebabkan perubahan kapasitas metabolik secara interindividu. Gen human CYP 1A1 berlokasi pada *long arm* sitokrom 15 (15q22-q24) dan berisi 7 *exon* dan 6 *intron* dengan panjang total 5,810 bp. Mutasi yang pertama kali ditemukan disebut sebagai alel m1 merupakan transisi *Thymine* menjadi *cytosine* (T menjadi C) terjadi pada posisi 6235 membuat tempat *cleavage* tambahan untuk Msp1 pada 3' *flanking region* 1,194 bp *downstream exon 7*.

Polimorfisme gen CYP1A1 alel m1 menimbulkan perubahan efikasi biologis dari retinoid alami yang aktif menjadi komponen yang tidak aktif sehingga kurangnya

retinoid alami yang aktif menyebabkan hiperkeratinisasi dari kanalis folikularis pilosebacea sehingga terjadi penyumbatan dan differensiasi sebosit yang abnormal sehingga jumlah sebum meningkat dengan akibat timbul komedo yang kemudian akan diikuti dengan peningkatan kolonisasi PA yang akan memicu pelepasan sitokin proinflamasi sehingga terjadi AV.

Kulit manusia merupakan organ yang secara kontinu terekspos stresor endogen maupun eksogen. Stresor lingkungan/*environment* seperti sinar matahari, iklim, termal secara permanen akan memajan kulit, demikian juga dengan stresor psikologis/emosional, sebagaimana diketahui kulit merupakan target organ dari stresor psikologis/emosional. Pada saat tubuh terpajan oleh stresor, otak sebagai sistem saraf pusat akan merespon dengan mengaktifkan sistem *HPA-axis* sentral. Kulit dan apendiksnya mempunyai fungsi periferal yang *ekuivalen* dengan *HPA-axis* sentral sebagai suatu sistem respon stres lokal sebagai kutaneus *HPA-axis*. Sehingga dapat dijelaskan, hubungan otak dan kulit dalam proses respon terhadap stres dimana kedua sistem *HPA axis* (sentral dan lokal) dapat diaktifkan. Pada respon sistemik *HPA Axis* sentral terhadap stresor akan dilakukan persepsi oleh sensor stres yang berlokasi di sentral dan aksi sentral ini dimulai dijalankan melalui pelepasan CRH yang diproduksi oleh hipotalamus yang mana CRH ini akan menstimuli reseptor di pituitari. CRH akan meningkatkan produksi dan sekresi bagian *anterior pituitary* yang diatur oleh POMC (*propiomelanocortin*), berupa *peptida melanocyt stimulating hormone* (MSH), ACTH dan *endorphin*. Selama pelepasannya ke sirkulasi ACTH akan menuju ke glandula adrenal dan mengaktifasi MC2 reseptor (MC2-R) yang menginduksi produksi dan sekresi kortisol (Bohm., 2009).

Peningkatan produksi dan sekresi kortisol dari glandula adrenal kedalam darah akan memicu timbulnya inflamasi pada glandula sebacea sehingga terjadi AV.

Pada respon HPA-axis kutaneus/perifer terhadap stres, kulit akan merespon dengan memproduksi secara lokal CRH, ACTH dan GCs, pelepasan sitokin-sitokin proinflamasi dan pertunasan serabut-serabut saraf SP. *Coticotropin releasing hormone* merupakan modul proksimal dari *HPA-Axis* kutaneus/perifer. *Coticotropin releasing hormone* akan mengikat pada protein sebagai *CRH binding protein* (CRH BP) dan pada *reseptor coticotropin* (CRHR). CRH, CRHBP, CRHR1, CRHR2 diekspresikan pada sebosit glandula sebacea. CRH kemudian akan menginduksi sintesa lipid dan meningkatkan ekspresi $\Delta 5-3\beta$ *hydroxysteroid dehidrogenase* ($\Delta 5-3\beta$ HSD) yang merupakan enzim yang merubah DHEA menjadi testosteron pada sel sebosit. CRH juga akan meningkatkan aktivitas imun keratinosit dengan meningkatkan interferon gamma yang menstimulasi ekspresi *Intercellular Adhesion molecule* satu (ICAM 1) dan HLADR antigen yang mana akan meningkatkan IL-6 dan menginhibisi produksi IL-1 β dari keratinosit. *Substansi P* merupakan suatu substansi imuno reaktif serabut syaraf yang berlokasi dekat dengan glandula sebacea. Ekspresi *substance P inactivating enzyme* berupa suatu *neutral endopeptidase* yang ditemukan pada sebosit. Selanjutnya *nerve Growth Hormone* akan menimbulkan imunoreaktivasi dari sebosit dengan meningkatkan jumlah sel mast dan ekspresi *endothelial leucocyte adhesion molecule* satu pada kapiler vena yang berdekatan dengan glandula sebacea. Interleukin-6 merupakan molekul yang diproduksi *sel mast* yang akan menginduksi sel sebosit untuk memproduksi *nerve Growth factor*. Semua hal diatas menunjukkan indikasi bahwa stres sentral atau lokal/perifer akan memicu

perubahan di glandula sebacea berupa peningkatan lipogenesis, diferensiasi sel keratinosit epidermis dan sebosit, pelepasan sitokin-sitokin proinflamasi yang pada akhirnya akan memicu timbulnya AV.

Hormon androgen pada masa prepubertas diproduksi oleh korteks adrenal, muncul sebagai pengaktif glandula sebacea. Pada masa ini konsentrasi DHEA (*Dehydroepiandrosterone*) dan DHEAS (*Dehydroepiandrosteron Sulfat*) plasma secara normal mulai meningkat. Onset ini diikuti dengan kemunculan adrenal *Androstenedione* 1 atau 2 tahun kemudian, yang mana kira-kira pada waktu yang bersamaan terjadi peningkatan produksi *testosterone gonadal* (*Gonadarche*). Pada masa gonadal, fungsi gonad mengambil alih fungsi korteks adrenal dalam mensintesa testosteron. Pada masa ini hormon androgen diproduksi oleh gonad dan glandula adrenal, dimana androgen yang diproduksi merupakan mayoritas dari androgen yang bersirkulasi. Unit pilosebacea merupakan target dari *circulating androgen*. *Circulating androgen* akan mengikat ke reseptor androgen yang berlokasi di lapisan basal glandula sebacea. Androgen yang berinteraksi dengan reseptor androgen adalah testosteron dan DHT. Kulit dan glandula sebacea juga mampu untuk memproduksi dan memetabolisir hormon androgen. Unit pilosebacea mensintesa hormon androgen yang relatif lemah seperti DHEA dan DHEAS. Pilosebacea unit juga mampu mengubah DHEAS menjadi *Androstenedione* dengan enzim 3β - *hydroxysteroid dehydrogenase* (3β HSD) dan mengubah *Androstenedione* menjadi androgen yang lebih poten yaitu Testosteron dengan enzim 17β HSD. Testosteron diubah oleh 5α reduktase menjadi *Dehydrotestosteron* (DHT) yang merupakan metabolit androgen yang paling aktif di unit pilosebacea. Hormon androgen testosteron yang berlebihan

akan menyebabkan produksi sebum yang berlebihan pada glandula sebacea. Selanjutnya sebum akan bercampur dengan sel kulit mati dari folikel yang mengalami hiperkeratosis dan bakteri yang ada dipermukaan kulit membentuk sumbatan di pori-pori sebagai suatu komedo. Pada sumbatan pori atau komedo tersebut bakteri akan bermultiplikasi dan menyebabkan inflamasi. Dinding sel bakteri PA yang terdiri dari *Peptidoglican* dan asam *lipoteichoic* dapat memperkuat aktivitas imun dari keratinosit dan sebosit yang distimulasi androgen dengan peningkatan pelepasan sitokin seperti IL-1 α , IL-8, TNF α dari sel-sel tersebut. Sehingga pada akhirnya keadaan di atas akan memicu timbulnya AV.

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Adanya hubungan antara polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1* dengan akne vulgaris?
2. Polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1* meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris
3. Adanya hubungan hormon stres kortisol dengan akne vulgaris
4. Kadar kortisol tinggi meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris
5. Adanya hubungan hormon testosteron dengan akne vulgaris
6. Testosteron meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan pendekatan *cross-sectional study comparative* dimana variabel dependen dan independen di periksa dalam waktu yang bersamaan.

4.2 Populasi dan sampel

4.2.1. Populasi

Populasi penelitian adalah seluruh pasien yang menderita AV dan tidak menderita AV berjenis kelamin pria yang berusia 17-18 tahun yang bertempat tinggal di kota Pekanbaru yang datang berobat ke poliklinik Kulit dan Kelamin RSUD Arifin Achmad Pekanbaru.

4.2.2. Sampel

Sampel penelitian adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi

4.2.3. Jumlah Sampel

Jumlah sampel diambil dengan menggunakan rumus : (Snedecor & Cochran., 1967, Lemeshowb., 1997, dikutip dari Suyatno., 2013)

$$N1 = N2 = \frac{Z^2 \cdot P \cdot Q}{d^2}$$

N = jumlah sampel minimal yang diperlukan

d = Peyimpangan terhadap populasi = 0,1

Z = Derivat baku dengan tingkat kepercayaan = 0,05

$P = \text{Proporsi penyakit} = 0,1$

$Z = 1,96 (\alpha 0,05)$

$Q = 1 - 0,1 = 0,9$

$$N1 = N2 = \frac{(1,96)^2 \times 0,1 \times 0,9}{(0,1)^2}$$

$N1 = N2 = 35$

jumlah sampel dan kontrol = 70

4.2.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria Inklusi

- a. Semua pasien pria berusia 17-18 tahun

Pada saat penelitian dilakukan, usia subyek lebih dari 16 tahun 6 bulan dan kurang dari 18 tahun 6 bulan.

- b. Bertempat tinggal di Pekanbaru
- c. Pola tidur dalam batas normal (6-8 jam)
- d. Bersedia menandatangani informed consent

Kriteria eksklusi

- a. Mendapatkan terapi obat-obatan terhadap penyakit akne (topikal/sistemik) kurang dari 1 bulan sebelum pemeriksaan.
- b. Menderita penyakit peradangan

Definisi kontrol

Adalah subyek yang didiagnosis bukan akne vulgaris yang memenuhi kriteria inklusi dan ekskresi.

4.2.5. Teknik Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel dilakukan dengan cara *konsekutif*, dimana sampel diambil secara berurutan, setiap pasien yang terdeteksi menderita akne

dihitung sebagai sampel, sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi sampai jumlah sampel yang diperlukan terpenuhi. Seleksi kelompok kontrol yaitu subyek yang tidak menderita akne diambil dengan cara yang sama secara bersamaan dari pasien yang datang berobat ke poliklinik Kulit dan Kelamin RSUD Arifin Achmad Pekanbaru.

4.3 Variabel penelitian dan definisi operasional variabel

4.3.1 Variabel penelitian

4.3.1.1 Variabel bebas

1. Polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1*
2. Hormon stres kortisol
3. Hormon testosteron

4.3.1.2 Variabel Tergantung

Akne Vulgaris

4.3.2 Definisi Operasional Variabel Penelitian

Variabel Bebas

1. Polimorfisme Gen CYP1A1 alel *m1*
 - a. Definisi : keragaman gen CYP 1A1 yang merupakan salah satu subfamili isozim yang paling aktif dalam metabolisme retinoid endogen dan vitamin A endogen pada glandula sebacea.
 - b. Cara ukur : memeriksa polimorfisme gen CYP1A1
 - c. Alat ukur : PCR - RFLP
 - d. Hasil ukur : restriksi dan tidak restriksi
 - e. Skala ukur : nominal

2. Hormon kortisol

- a. Definisi : hormon glukokortikoid utama yang disekresi oleh korteks adrenal, mempunyai aktivitas immunosupresif dan antiinflamasi sebagai *feedback negative* dan peningkatan kadarnya dapat terjadi pada stimulus stres berat. Kadar hormon kortisol adalah konsentrasi kortisol serum yang diukur dari subyek penelitian pada waktu dan keadaan iklim lingkungan yang sama.
- b. Cara ukur : mengukur kadar hormon kortisol darah
- c. Alat ukur : ELISA
- d. Hasil ukur : kadar dalam ng/mL
- e. Skala ukur : ratio

3. Hormon testosteron

- a. Definisi : hormon androgen utama yang bersifat poten, beredar dalam darah, merupakan hormon seks steroid yang berperan pada manifestasi pubertas internal dan eksternal, yang pada awal prepubertas diproduksi oleh korteks adrenal dan kemudian setelah pubertas pada pria hormon ini diproduksi di testis dan glandula adrenal. Kadar hormon testosteron adalah konsentrasi testosteron serum yang diukur dari subyek penelitian.
- b. Cara ukur : mengukur kadar hormon testosteron darah
- c. Alat ukur : ELISA
- d. Hasil ukur : kadar dalam ng/mL
- e. Skala ukur : ratio

Variabel Terikat

Akne vulgaris

- a. Definisi : penyakit kulit berupa peradangan unit pilosebacea yang ditandai dengan adanya lesi berupa komedo, papula, pustule, nodula, kiste dan atau jaringan parut pada tempat predileksi wajah, leher, lengan atas, dada, bahu atau punggung (Odom., 2000).
- b. Cara ukur : pemeriksaan fisik inspeksi, palpasi dermatologis
- c. Alat ukur : Loop
- d. Hasil ukur : akne vulgaris dan tidak akne vulgaris
- e. Skala ukur : nominal

4.4. Bahan dan instrumen penelitian

4.4.1. Bahan yang diperlukan dalam penelitian

Darah vena cubiti penderita 10mL diambil pada jam 08.00 pagi untuk pemeriksaan polimorfisme gen CYP1A1, kadar kortisol dan kadar testosteron.

4.4.2. Instrumen penelitian

1. Kaca pembesar (Loop)
2. Timbangan berat badan merk Healtho Meter dengan ketelitian 0,1kg
3. Microtoise merk Stanley Molo dengan ketelitian 0,1 mm
4. PCR dan elektroforesis
5. Reagensia untuk pemeriksaan gen CYP1A1
6. Human Cortisol ELISA Kit

7. Testosterone Human ELISA Kit

8. ELISA

4.4.3. Cara pemeriksaan laboratorium

1. Polimorfisme Gen CYP1A1 alel *m1* (Paraskevaidis *et al*, 1998)

- Prosedur isolasi DNA dari sampel darah
 - Pipet darah sebanyak 200 μ L kedalam tabung mikrotube 1,5ml
 - Tambahkan 200 μ L buffer BB, vortex sampai homogeny
 - Kemudian tambahkan 20 μ L proteinase K, vortex sampai homogeny
 - Inkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit
 - Setelah selesai inkubasi kemudian tambahkan 200 μ L etanol absolute, vortex sampai homogeny
 - Pindahkan semua larutan ke dalam tabung spin column
 - Kemudian sentrifuge pada kecepatan 5000 g selama 1 menit
 - Buang larutan di bawahnya, kemudian tambahkan 500 μ L wash buffer 1
 - Kemudian sentrifuge pada kecepatan 5000 g selama 1 menit
 - Buang larutan di bawahnya, kemudian tambahkan 500 μ L wash buffer 2
 - Kemudian sentrifuge pada kecepatan 5000 g selama 1 menit
 - Buang larutan di bawahnya, kemudian tambahkan 500 μ L wash buffer 2
 - Kemudian sentrifuge pada kecepatan 14000 g selama 3 menit

- Ganti spin column dengan tabung mikrotube 1.5ml, kemudian tambahkan 100 μ L elution buffer yang telah dipanaskan pada suhu 65°C
- Kemudian sentrifuge pada kecepatan 5000 g selama 1 menit
- Simpan larutan di bawahnya pada suhu -20°C
- Cara kerja PCR
 - Tambahkan ke dalam tube PCR
 - ✓ 12,5 μ L deram taq
 - ✓ 8,5 μ LdH₂O
 - ✓ 1 μ L primer P79
 - ✓ 1 μ L primer P80
 - ✓ 3 μ L DNA sampel
 - Kemudian tube PCR dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan program
 - ✓ Pre denaturasi = 94°C selama 2 menit
 - ✓ Denaturasi = 94°C selama 20 detik
 - ✓ Anaeling = 62°C selama 10 detik
 - ✓ Extensi = 72°C selama 30 detik
 - ✓ Final extensi = 72°C selama 5 menit
- Hasil produk PCR dielektroforesis selama 1 jam dengan 120 volt
- Hasil elektroforesis dilihat pada tabel gel doc, hal ini bertujuan untuk melihat apakah ada gen target yang teramplifikasi

- Setelah didapatkan gen target kemudian produk PCR ditambahkan enzim restriksi dengan komposisi
 - ✓ Produk PCR = 20 μ L
 - ✓ Nuclease free water = 6,5 μ L
 - ✓ Buffer V2 = 5 μ L
 - ✓ Enzim MspI = 0,5 μ L
- Kemudian diinkubasi selama 16 jam pada suhu 37⁰C dan 65⁰C selama 20 menit
- Kemudian hasilnya dielektroforesis selama 1 jam dengan voltase 120 volt
- Setelah itu dilihat pada tabel gel doc untuk melihat apakah gen target terpotong atau tidak

2. Hormon Kortisol (*R&D systems*)

- Prinsip pemeriksaan

Pemeriksaan ini didasarkan atas teknik pengikatan kompetitif pada kortisol yang didapatkan pada sampel bersaing dengan sejumlah kortisol yang dilabel dengan HRP (*Horseradish Peroksidase*) untuk menempati pada antibodi monoklonal tikus. Selama inkubasi, antibodi monoklonal akan berikatan dengan antibodi kambing yang dilapisi anti tikus. Diikuti pencucian untuk melepaskan *konjugat eksel* dan sampel yang tidak terikat, suatu larutan substrat ditambahkan pada sumur untuk menentukan aktifitas enzim pengikat. Perubahan warna dihentikan dan hasil absorpsi dibaca pada 450nm. Intensitas

warna adalah secara sebaliknya proporsional untuk konsentrasi dari sampel kortisol (menunjukkan konsentrasi kortisol sampel).

- Cara pemeriksaan
 - Encerkan sampel dan buat larutan standar
 - Tambahkan 150 μ l calibrator diluents RD5-43 ke dalam sumur NSB
 - Tambahkan 100 μ l calibrator diluents RD5-43 ke dalam sumur zero
 - Tambahkan 100 μ l sampel dan standart ke masing-masing sumur
 - Tambahkan 50 μ l cortisol conjugate ke semua sumur.
Larutan akan berubah warna menjadi merah
 - Tambahkan 50 μ l primary antibody solution ke semua sumur. Semua larutan akan berwarna ungu (violet) kecuali NSB yang tetap berwarna merah
 - Tutup lempeng dengan plastik film
 - Inkubasi pada suhu ruang selama 2 jam sambil di shaker
 - Siapkan larutan wash buffer dengan konsentrasi 1x
 - Setelah inkubasi buang semua larutan dan cuci dengan wash buffer dengan volume 300 μ l. ulangi pencucian dengan total pengulangan 4x.
 - Keringkan lempeng di atas kertas tisu
 - Siapkan substrat solution

- Tambahkan 200 μ l substra solution ke semua sumur dan inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang serta lindungi dari cahaya
- Setelah selesai inkubasi tambahkan 50 μ l stop solution ke semua sumur. Larutan akan berubah warna dari biru menjadi kuning
- Baca dengan panjang gelombang 450nm.

3. Hormon Testosteron (*R&D systems*)

- Prinsip pemeriksaan

Pemeriksaan ini didasarkan atas teknik pengikatan bersaing suatu antibodi monoklonal spesifik untuk testosteron akan berikatan dengan antibodi kambing yang dilapisi anti tikus kedalam plat mikro. Diikuti pencucian untuk melepaskan eksese antibodi monoklonal. Testosteron sampel bersaing dengan sejumlah testosteron yang dilabel HRP (*Horseradish Peroksidase*). Kemudian diikuti dengan pencucian lain untuk melepaskan eksese konjugat dan sampel yang tidak mengikat. Suatu larutan substrat dimasukkan kedalam sumur untuk menentukan aktifitas enzim. Perkembangan warna dihentikan dan hasil absorpsi dibaca pada 450 nm. Intensitas warna menunjukkan konsentrasi testosteron sampel.

- Cara pemeriksaan

- Siapkan reagen, standart dan sampel
- Tambahkan primary antibody solution ke semua sumur

- Semua sumur akan berwarna biru
- Inkubasi selama 1 jam pada suhu ruang sambil di aduk dengan kecepatan 500 rpm
- Buang semua larutan, kemudian cuci dengan wash buffer (300 μ L). Ulangi pencucian sampai total pencucian 3 kali. Kemudian balikkan lempeng di atas kertas tisu sampai kering
- Tambahkan 100 μ L calibrator diluents RD5-48 ke semua sumur
- Tambahkan 100 μ L calibrator diluents RD2-48 ke sumur blank sebagai standart 0
- Tambahkan 100 μ L standart dan sampel ke masing-masing sumur
- Tambahkan 50 μ L testosteron conjugate ke semua sumur, tutup lempeng dengan adhesive strip
- Inkubasi selama 3 jam pada suhu ruang sambil di aduk dengan 500 rpm
- Ulangi langkah kelima
- Tambahkan 200 μ L substrate solution ke semua sumur, inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang
- Tambahkan 50 μ L stop solution ke semua sumur. Larutan akan berubah warna dari biru menjadi kuning
- Baca lempeng dengan panjang gelombang 450 nm

4. Akne vulgaris : pemeriksaan fisik inspeksi, palpasi dermatologis

4.5. Persyaratan Etik Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada manusia dan bahan yang dipakai adalah darah vena. Sebelum melakukan penelitian, dimintakan persetujuan etik kepada Panitia Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Riau. Di dalam protokol penelitian dilampirkan informasi yang disampaikan kepada subyek penelitian yang bisa dibaca oleh calon subyek penelitian yang dikenal dengan istilah Penjelasan Sebelum Persetujuan (PSP) yang menerangkan tujuan dan manfaat penelitian serta alasan calon subyek diikutsertakan dalam penelitian, diberi informasi dimana subyek bebas menolak bila tidak berkenan ikut penelitian ini, waktu yang diperlukan, imbalan yang didapat, pemberitahuan hasil penelitian, resiko penelitian dan manfaat langsung. Setelah calon subyek penelitian menyatakan kesediannya ikut dalam penelitian, subyek penelitian menandatangani persetujuan (*informed consent*).

Implikasi etik pada penelitian ini mengikuti ketentuan Deklarasi Helsinki. Pelaksanaan penelitian ini dikelola melalui organisasi penelitian, dengan jalan antara lain :

1. Semua tenaga yang terlibat dalam penelitian ini diberikan pembekalan terlebih dahulu dengan :
 - Memberikan informasi yang lengkap dan jelas tentang tujuan penelitian.
 - Memberikan pelatihan sesuai dengan kegiatan yang akan dilakukan.

- Kemampuan dan ketetapan dalam melakukan pencatatan dan memverifikasinya.
 - Mempersiapkan laporan hasil penelitian dengan baik.
2. Peneliti menjamin kerahasiaan dokumen yang berkaitan dengan data subyek.
 3. Penelitian ini dilakukan dan diawasi oleh dokter yang mempunyai kompetensi.
 4. Peneliti sangat menghormati kepentingan subyek dan selalu mengutamakan dari kepentingan ilmiahnya sendiri.
 5. Peneliti akan memberikan informasi yang akurat kepada pihak yang berkepentingan apabila diperlukan.
 6. Segala akibat yang ditimbulkan pada pelaksanaan penelitian ini yang menyangkut tindakan intervensi terhadap pasien adalah menjadi tanggung jawab peneliti.

4.6. Pemantapan Mutu (*Quality assurance*)

Pada penelitian ini dilakukan pemantapan mutu untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium. Cakupan pemantapan mutu meliputi tahap praanalitik, analitik dan paskaanalitik. Dalam penelitian ini upaya pemantapan mutu sudah dimulai dari persiapan subyek, pengambilan sampel, pengiriman dan penyimpanan sampel pemeriksaan dan pencatatan hasil.

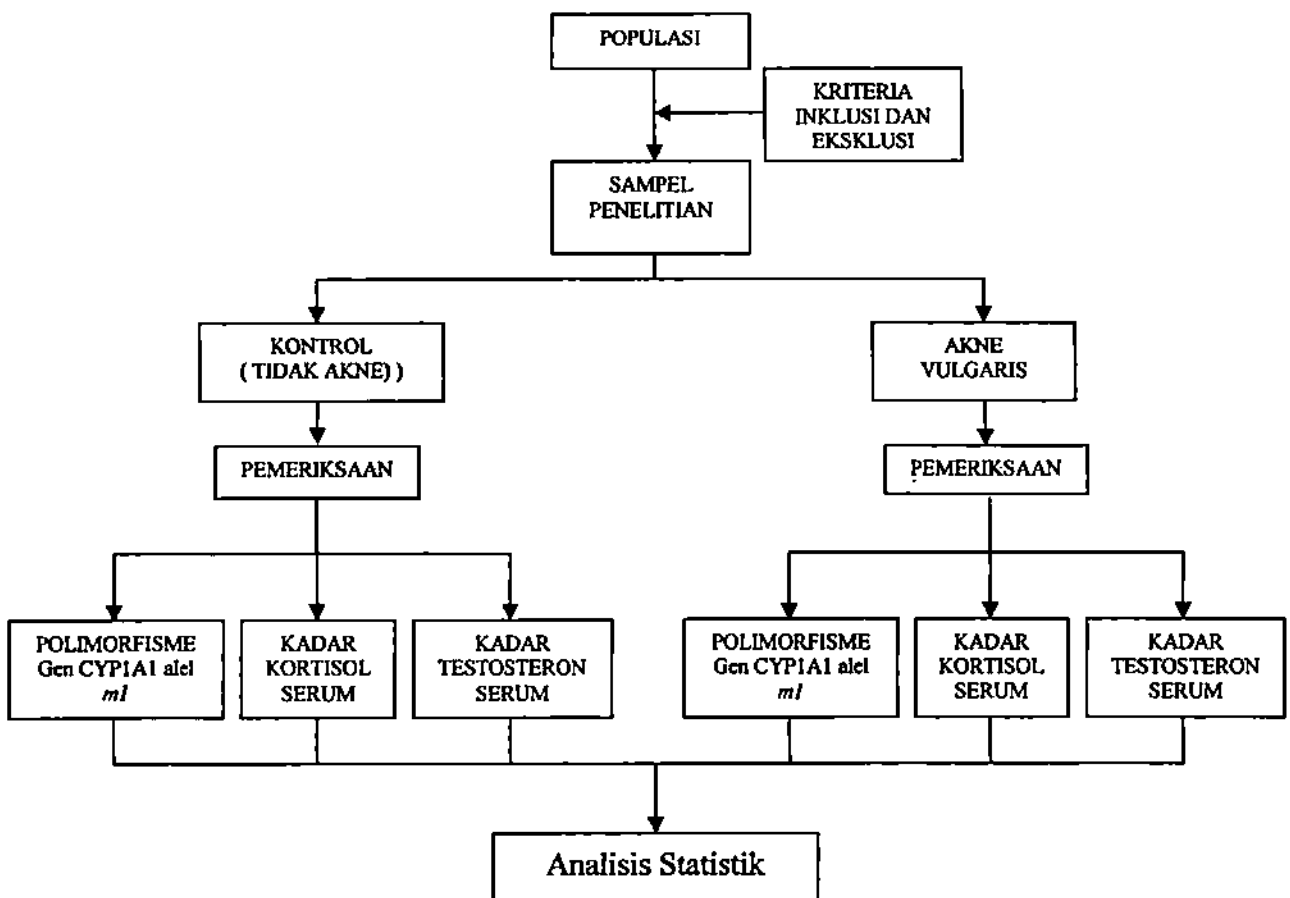
4.8. Prosedur pengambilan dan pengumpulan data penelitian

Data dikumpulkan dengan mengikuti langkah-langkah yang sudah disepakati sebagai suatu prosedur tetap. Langkah-langkah pengumpulan data adalah sebagai berikut :

1. Mempersiapkan protokol, formulir penelitian/status penderita, persiapan kit pemeriksaan laboratorium, dan perizinan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan dan Kepala Bagian Kulit dan Kelamin RSAA/FK UR.
2. Setiap akan memulai pemeriksaan dilakukan simulasi terlebih dahulu agar dicapai sinergi sesama anggota tim, kemudian dilakukan pemeriksaan pada calon subyek.
3. Setelah subyek penelitian diberi penjelasan (persetujuan setelah penjelasan = PSP) untuk berpartisipasi pada penelitian ini dan menyetujuinya, maka diikuti dengan penandatanganan *informed consent*.
4. Dilakukan pengisian formulir identitas subyek lengkap seperti usia subyek, jenis kelamin, suku, tempat tinggal, pekerjaan, hasil pemeriksaan fisik tinggi badan dan berat badan.
5. Dilakukan seleksi calon subyek sesuai dengan kriteria inklusi
6. Anggota tim pengamat (observer) melakukan telaah terhadap kelengkapan dan nilai data yang dicantumkan dan disamping itu peneliti pendamping mempunyai tanggung jawab melakukan koding data. Upaya yang dilakukannya adalah memeriksa segala kekurangan atau ketidaklengkapan pencatatan sebelum formulir data dikirimkan untuk data entry.

7. Formulir yang sudah ditelaah dan diterima kemudian disimpan dalam komputer
8. Langkah terakhir adalah mendeskripsikan data dan melakukan koding yang selanjutnya data siap dianalisis.

4.9. Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.1 Diagram kerangka operasional penelitian

4.10. Pengolahan dan Analisis Data

Setelah dilakukan proses *editing*, *coding*, *processing* dan *cleaning* data diolah secara komputerisasi (Sopiyudin., 2009).

4.10.1. Analisis univariat

Analisis univariat digunakan untuk melihat distribusi data masing-masing variable dan kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan diagram. Data terdiri dari karakteristik polimorfisme gen CYP1A1, kadar hormon Testosteron darah dan kadar hormon Kortisol darah.

4.10.2. Analisis bivariat

Setelah variabel bebas dan variabel tergantung diketahui selanjutnya dilakukan analisis bivariat untuk menentukan hubungan dan kemaknaan dengan melakukan uji *chi square*.

4.10.3. Analisis multivariat

Untuk melihat variabel yang paling dominan maka uji statistik yang digunakan adalah regresi logistik. Tahapan analisis multivariat meliputi pemilihan variabel kandidat multivariat dan analisis interaksi.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Gambaran umum subyek penelitian

Pengumpulan data dilakukan di poliklinik rawat jalan ilmu penyakit kulit dan kelamin Rumah Sakit Umum Daerah Arifin Achmad Pekanbaru dari bulan Desember tahun 2013 sampai dengan bulan Maret tahun 2014. Subyek penelitian adalah pasien yang datang berobat ke poliklinik ilmu penyakit kulit dan kelamin yang mana dilakukan pemeriksaan status dermatologis kulit dikelompokkan sebagai kelompok kasus dengan gambaran klinis akne vulgaris sebanyak 35 subyek dan sebagai kelompok kontrol adalah subyek dengan gambaran klinis tidak menderita akne vulgaris sebanyak 35 subyek. Pemilihan subyek penelitian dilakukan dengan memperhatikan kriteria inklusi dan eksklusi.

Sebaran subyek penelitian berdasarkan karakteristik dapat dilihat pada tabel 5.1. Sebaran karakteristik subyek penelitian berdasarkan umur, Indeks masa tubuh, suku dan pendidikan.

Tabel 5.1. Karakteristik subyek penelitian

	Kelompok		Kemaknaan
	Kasus n=35	Kontrol n=35	
1. Umur			
17 tahun	18 (51,4%)	15 (42,9%)	t = 0,480
18 tahun	17 (48,6%)	20 (57,1%)	
Rerata	17,5 ± 0.5	17,6 ± 0.5	
2. Indeks Masa Tubuh (IMT)			
Normal	33 (94,3%)	33 (94,3%)	p = 1,000
Kegemukan	2 (5,7%)	2 (5,7%)	
3. Suku			
Minang	8 (22,9%)	11 (31,4%)	p = 0,857
Melayu	18 (51,4%)	15 (42,9%)	
Batak	2 (5,7 %)	3 (8,6%)	
Jawa	5 (14,3%)	5 (14,3%)	
China	1 (2,9%)	1 (2,9%)	
Nias	1 (2,9%)	0 (0,0%)	
4. Pendidikan			
Mahasiswa	19 (54,3%)	21 (60,0%)	p = 0,174
SMA	13 (37,1%)	7 (20,0%)	
SMK	3 (8,6%)	7 (20,0%)	

Keterangan: t = uji t ; X^2 = uji chi-square bermakna bila $p < 0,05$

Dari tabel 5.1 didapatkan rerata usia subyek penelitian pada kelompok kasus setara dengan usia subyek penelitian pada kelompok kontrol. Indeks masa tubuh (IMT) subyek penelitian pada kedua kelompok umumnya normal, masing-masing sama banyak yaitu 33 subyek (94,3%). Pada kedua kelompok subyek penelitian suku melayu didapatkan lebih banyak daripada suku lainnya, yaitu 18 orang (51,4%) pada kelompok kasus dan 15 orang pada kelompok kontrol. Pendidikan subyek penelitian lebih dari separuh adalah mahasiswa yaitu 19 orang (54,3%) pada kelompok kasus dan 21 orang (60,0%) pada kelompok kontrol.

Hasil uji statistik menunjukkan kesetaraan umur, IMT, suku maupun pendidikan antara kelompok kasus dan kelompok kontrol.

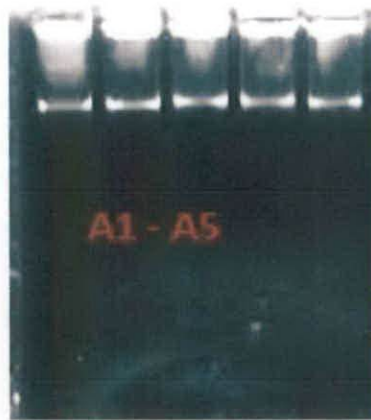
Tabel 5.2 Tipe akne pada subyek penderita akne

Tipe akne	Kelompok kasus
Komedonal	2 (5,7%)
Papulopustul	33 (94,3%)
Nodulokistik	0 (0,0%)

Jika ditelusuri lebih lanjut tentang tipe akne pada subyek penderita akne maka tabel 5.2 menunjukkan bahwa mayoritas akne adalah tipe papulopustul, diikuti dengan tipe komedonal. Pada penelitian ini tidak didapatkan tipe nodulokistik.

5.2 Hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne vulgaris

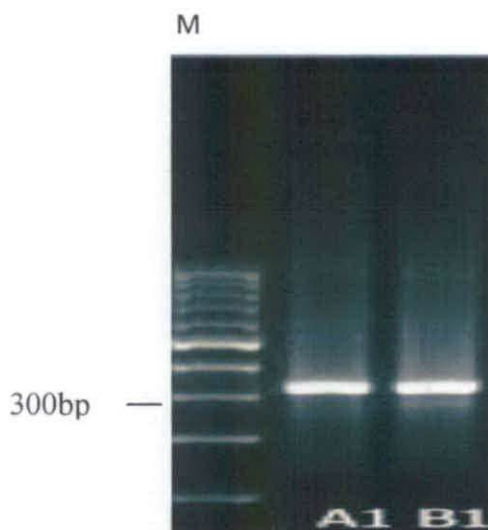
Polimorfisme gen CYP1A1 diperoleh dari hasil analisis DNA dari 300 μ L darah subyek penelitian. Ekstraksi DNA dilakukan terhadap semua sampel penelitian ($n = 70$) oleh peneliti dibantu seorang analisis menggunakan vivantis GF-1 kit di laboratorium Biomedik UNAND. Selanjutnya ekstraksi DNA dielektroforesis menggunakan agarose 1%.



Gambar 5.1 Hasil elektroforesis DNA subyek penelitian
(M=marker sampel no. A1-A5)

Gambar 5.1 menunjukkan hasil elektroforesis DNA dari lima sampel penelitian. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa intensitas DNA yang diperoleh cukup baik.

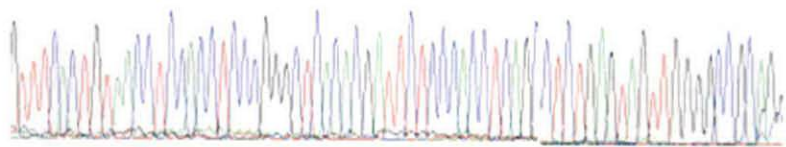
Setelah DNA diperoleh, selanjutnya dilanjutkan proses amplifikasi dengan menggunakan primer P79 dan P80 dengan alat PCR. Gambar 5.2 menunjukkan hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan primer P78 dan P80.



Gambar 5.2 Hasil amplifikasi DNA dengan primer P79 dan P80
(M = marker, sampel no. A1 dan B1)

Pada gambar 5.2 terlihat hasil amplifikasi PCR 2 sampel penelitian dengan menggunakan primer P79 dan P80 menunjukkan hasil amplifikasi adalah DNA gen CYP1A1 karena memiliki ukuran 335bp.

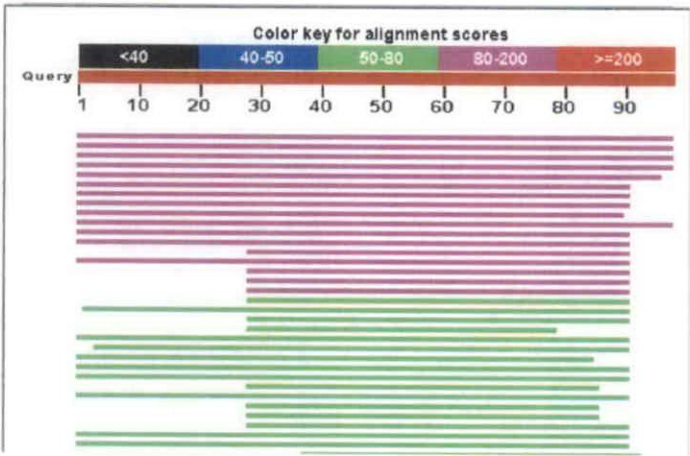
Setelah proses amplifikasi selesai, untuk mengkonfirmasi polimorfisme gen CYP1A1 *alel m1* maka dilakukan proses sekuensing pada beberapa sampel. Gambar 5.3 menunjukkan hasil sekuensing dari sampel A1.



TTGTTTCACTGTAACCTCCACCTCCC
GGGCTCACACGATTCTCCACCTCA

Gambar 5.3 Hasil sekuensing dari sampel A1

Setelah hasil sekuens subyek penelitian didapatkan selanjutnya untuk konfirmasi, data *sekuens* dimasukkan ke data NCBI atau proses BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), untuk memastikan apakah gen tersebut benar merupakan gen CYP1A1. Gambar 5.4 menunjukkan hasil BLAST dari sampel nomor A1.



Gambar 5.4 Hasil BLAST sampel nomor A1.

Dari gambar 5.4 terlihat bahwa alignment sampel A1 menunjukkan garis-garis merah yang sesuai dengan skor alignment 80-200 dan >200 pada kunci warna skor *alignment*. Data gambar BLAST dari NCBI disertai keterangan *sequences producing significant alignment* bahwa sekuens subyek A1 adalah *Homo sapiens Cytochrom P450, family 1, subfamily A polypeptide 1 (CYP1A1) gene complex (max score 176, total score 176 query cover 100%, E-value 3e-41 ident 99%, accession EF 094025.1)*.

Setelah proses BLAST selesai, dilanjutkan dengan konfirmasi hasil sekuens yang dianalisis dengan *software Geneious version 7.0 created by biomatters*, untuk mengetahui polimorfisme dari gen CYP1A1 subyek penelitian. Dengan hasil analisis seperti terlihat pada gambar 5.5.



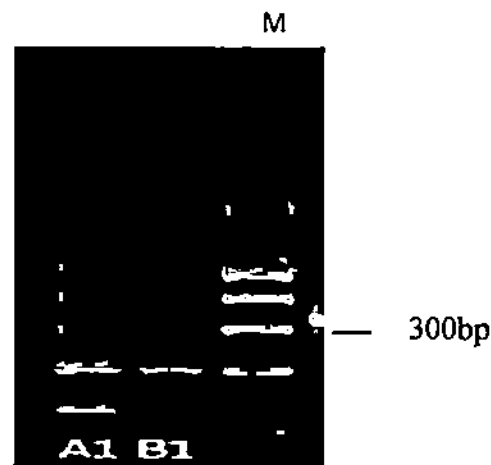
Gambar 5.5 Hasil analisis sekuensing sampel no. A1 dengan software genius

Pada polimorfisme gen CYP1A1, alel m1 gen CYP1A1 akan mengalami perubahan atau transisi dari *Thymine* menjadi *Cytosine* (T menjadi C). Pada gambar 5.5 tampak alel m1 gen CYP1A1 sampel nomor A1 terlihat mengalami perubahan atau transisi *Thymine* menjadi *Cytosine* (T menjadi C) pada tempat pemotongan enzim restriksi MspI pada area ujung 3' 130bp dibawah dari ekson 7. Enzim restriksi MspI mempunyai sisi pengenalan CCGG. Semua ini

membuktikan bahwa pada sampel A1 didapatkan alel *m1* sebagai polimorfisme gen CYP1A1.

Setelah konfirmasi analisis sekuensing dengan software Genious selesai, dilanjutkan dengan RFLP dengan menggunakan enzim restriksi MSP1 untuk membuktikan adanya restriksi pada polimorfisme gen CYP1A1. Diketahui DNA yang tidak menunjukkan restriksi sebagai alel homozigot *wt1/wt1*, DNA yang menunjukkan restriksi 3 fragmen sebagai alel heterozigot *wt1/m1* dan DNA yang menunjukkan restriksi 2 fragmen sebagai alel homozigot *m1/m1*.

Gambar 5.6 menunjukkan hasil RFLP dari sampel A1 dengan menggunakan enzim restriksi MspI pada suhu 37⁰ C selama 16 jam.



Gambar 5.6 Hasil RFLP gen CYP1A1 dengan enzim MSPI
(M=marker, no sampel A1 dan B1)

Gambar 5.6 menunjukkan bahwa pada sampel A1 dan B1 dapat direstriksi oleh enzim MspI, menjadi 3 fragmen dengan panjang 335bp, 206bp dan 129bp ini berarti alelnya adalah heterozigot *wt1/m1*. Tabel 5.3 menunjukkan hasil RFLP subyek penelitian.

Tabel 5.3 Hasil RFLP polimorfisme gen CYP1A1 pada subyek penelitian

Polimorfisme gen CYP1A1	Akne	Tidak akne
Tidak ada restriksi (wt1/wt1)	6 (17,1%)	11 (31,43%)
Restriksi 3 fragmen (wt1/m1)	29 (82,9%)	24 (68,57%)
Restriksi 2 fragmen (m1/m1)	0 (0%)	0 (0%)
Total	35 (100%)	35 (100%)

Dari tabel 5.3 diketahui bahwa pada kelompok akne didapatkan 6 subyek (17,1%) yang tidak mengalami restriksi, 29 subyek (82,9%) yang mengalami restriksi tiga fragmen dan tidak ada subyek yang mengalami restriksi 2 fragmen (0%). Sedangkan pada kelompok tidak akne didapatkan 11 subyek (31,43%) yang tidak mengalami restriksi, 24 subyek (68,57%) yang mengalami restriksi tiga fragmen dan tidak ada subyek yang mengalami restriksi 2 fragmen (0%).

Tabel 5.4 menunjukkan hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne vulgaris.

Tabel 5.4 Hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne vulgaris

Polimorfisme gen CYP1A1	Kelompok		P value	OR
	Akne	Tidak Akne		
Ada restriksi	29 (82,9%)	24 (68,57%)	1,94	2,21
Tidak ada restriksi	6 (17,1%)	11 (31,43%)		
Total	35 (100%)	35 (100%)		

Dari tabel 5.4 didapatkan perbedaan jumlah kejadian restriksi (polimorfisme gen CYP1A1 alel m1) pada kelompok akne dan kelompok tidak akne dimana lebih banyak kejadian restriksi pada kelompok akne yaitu 29 subyek (82,9%) sedangkan pada kelompok tidak akne adalah 24 subyek (68,57%), pada uji *Chi-square* tidak didapatkan hubungan signifikan antara restriksi polimorfisme CYP1A1 dengan kejadian akne ($p > 0,05$). Tetapi terdapat

kecenderungan peluang untuk terjadinya akne 2,21 kali lebih besar pada yang ada restriksi polimorfisme gen CYP1A1 dibandingkan dengan yang tidak ada restriksi polimorfisme gen CYP1A1 ($OR > 1$).

5.3 Hubungan kadar kortisol dengan akne vulgaris

Tabel 5.5 Hubungan kadar kortisol dengan akne vulgaris

Kortisol	Kelompok		p	OR
	Akne	Tidak akne		
tinggi	19 (54.3%)	18 (51.4%)	0,057	1,12
rendah	16 (45.7%)	17 (48.6%)		
Total	35 (100%)	35 (100%)		

Tabel 5.5 ini menunjukkan bahwa kejadian kadar kortisol tinggi lebih banyak ditemukan pada kelompok akne (54,3%) dari pada kelompok tidak akne yaitu (51,4%). Dengan uji *Chi-square* tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar kortisol antara kelompok akne dan tidak akne ($p > 0,05$). Tetapi terdapat kecenderungan peluang untuk terjadi akne 1,12 kali lebih besar pada kadar kortisol tinggi dibandingkan dengan kadar kortisol rendah ($OR > 1$).

5.4 Hubungan kadar testosteron dengan akne vulgaris

Tabel 5.6 Hubungan antara kadar testostosterone dengan akne vulgaris

Testosteron	Kelompok		p	OR
	Akne	Tidak akne		
tinggi	14 (40%)	21 (60%)	2,80	0,44
rendah	21 (60%)	14 (40%)		
Total	35 (100%)	35 (100%)		

Tabel 5.6 menunjukkan pada kelompok akne lebih banyak ditemukan kadar testosteron rendah (60%) dibandingkan kelompok tidak akne (40%). Kadar testosteron rendah kelompok akne masih dalam batasan normal berdasarkan nilai standar normal kadar hormon testosteron serum. Hasil uji *Chi-square* menunjukkan tidak terdapat perbedaan kadar testosteron yang bermakna pada kelompok akne dan kelompok tidak akne ($p>0,05$) tetapi terdapat kecenderungan perlindungan untuk terjadinya akne 0,44 kali lebih besar pada kadar testosteron tinggi dibandingkan dengan kadar testosteron rendah ($OR<1$)

5.5 Faktor paling dominan berhubungan dengan akne vulgaris

Untuk mengetahui faktor yang paling dominan berhubungan dengan akne vulgaris, maka dilakukan analisis multivariat. Tahapan analisis multivariat meliputi pemilihan variabel kandidat multivariat dan analisis interaksi. Kemudian dilakukan analisis regresi logistik. Hasil analisis regresi logistik dapat dilihat pada table 5.7.

Table 5.7. Analisa regresi logistik antara polimorfisme gen CYP1A1, kortisol dan testosteron dengan akne vulgaris

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	POLI	1,191	,592	4,051	1	,044	3,289
	KOR	,028	,027	1,090	1	,297	1,029
	TEST	-,064	,071	,818	1	,366	,938
	Constant	-1,310	1,545	,719	1	,397	,270
Step 2 ^a	POLI	1,121	,579	3,753	1	,053	3,069
	KOR	,018	,025	,558	1	,455	1,019
	Constant	-1,794	1,455	1,519	1	,218	,166
Step 3 ^a	POLI	1,049	,569	3,404	1	,065	2,856
	Constant	-,773	,494	2,454	1	,117	,462

Hasil analisis regresi logistik pada tabel 5.7 memperlihatkan variabel polimorfisme gen CYP1A1 merupakan faktor yang paling dominan pada terjadinya akne vulgaris.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne vulgaris

Gen CYP1A1 merupakan salah satu gen yang diduga berhubungan dengan kejadian akne. Sampai saat ini sudah teridentifikasi dua polimorfisme gen CYP1A1 yang berhubungan dengan kejadian akne, yaitu *m1* dan *m2*.

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi adanya polimorfisme gen CYP1A1 *m1* pada penderita akne dibandingkan dengan orang normal. Ditemukan alel *m1* pada posisi 6235 dimana terjadi mutasi dari *Thymine* (T) menjadi *Cytosine* (C) yang mana pada RFLP tampak sebagai restriksi menjadi tiga fragmen pada panjang 335bp, 205bp dan 134bp yang berarti adanya alel *m1* heterozigot (*wt1/m1*). Pada kelompok akne jumlah subyek yang mengalami restriksi-Polimorfisme gen CYP1A1 alel *m1* lebih banyak dibandingkan dengan kelompok tidak akne yaitu 82,9% pada kelompok akne dan 68,5% pada kelompok tidak akne. Uji statistik menunjukkan tidak ada hubungan bermakna antara Polimorfismen gen CYP1A1 dengan kejadian akne vulgaris pada subyek penelitian. Uji faktor resiko menunjukkan subyek dengan Polimorfisme gen CYP1A1 beresiko 2,21 kali lebih besar untuk menderita akne vulgaris (odds ratio = 2,21 95% confidence limits 0,71 - 6,87).

Hasil penelitian ini bersesuaian dengan hasil penelitian sejenis yang dilakukan sebelum ini oleh Paraskevaidis (1998) di Jerman yang melibatkan 96 pasien akne dan 408 orang normal. Melalui pengamatan restriksi fragmen sebagai polimorfisme alel *m1* pada penderita akne dibandingkan dengan orang normal.

Didapatkan presentasi tinggi dari alel *m1* pada penderita akne dengan frekuensi alel *m1* 8,33% pada penderita akne dan 6,99% pada orang normal (odds ratio 1,21 95% confidence limits 0,68-2,16 $p = 0,057$).

Penelitian oleh Tsai tahun 2005 mengenai polimorfisme gen CYP1A1 dan GSTM1 merupakan predisposisi terjadinya lesi kulit berupa *chloracne*, gangguan kuku, hiperkeratosis dan alergi kulit pada populasi yang terpapar oleh polutan polichlorinated biphenyls (PCBs) dan dibenzofurans (PCDFs) yang mengkontaminasi minyak makan di Taiwan, yang melibatkan 393 orang yang terpapar dan 181 orang yang tidak terpapar. Pada subyek yang terpapar kuat didapatkan prevalensi gangguan kulit lebih tinggi pada kelompok yang terpapar, kombinasi CYP1A1-Msp1 mutan genotype dan GSTM1-null genotype berhubungan dengan peningkatan risiko terjadinya *chloracne* (OR=2,8) sedangkan pada kelompok yang terpapar sedang, *GSTM1-null* berhubungan dengan alergi kulit dan *GSTM1-null genotype* tidak berhubungan dengan kerentanan gangguan kulit. Hasil penelitian Tsai ini mendapatkan polimorfisme gen CYP1A1 dan GSTM1 mungkin berhubungan dengan kerentanan gangguan kulit yang diinduksi PCB/PCDFs.

Meskipun mekanisme hubungan patogenesis akne dengan polimorfisme gen CYP1A1 masih belum jelas tapi hipotesis variasi genetik CYP1A1 akan menyebabkan perubahan kapasitas metabolik vitamin A atau retinol di glandula sebacea kulit sehingga terjadi peningkatan oksidasi dan ekskresi vitamin A, menimbulkan efek sama dengan defisiensi vitamin A (Nilsson and Hakansson., 2002). Oksidasi berlebihan dari vitamin A dapat memicu terjadinya akne. Gen CYP1A1 diketahui berhubungan dengan stress oksidatif

akibat TCDD (Nebert et al., 1993). Pernah dilaporkan TCDD sebagai penyebab yang dapat meningkatkan oksidasi dan ekskresi vitamin A serta reduksi retinoid hepar (Nilsson et al., 2000). Defisiensi retinoid alami aktif akan memicu diferensiasi sebosit yang abnormal dan hiperkeratinisasi kanalis folikularis sehingga timbul akne. Polimorfisme CYP1A1 berdampak terhadap kerentanan seseorang untuk menderita akne vulgaris (Paraskevaidis et al., 1998). Retinoid juga dapat mempengaruhi proliferasi keratinosit epidermal dan sebosit (Gollnick., 2003).

Pada kelompok kontrol juga didapatkan adanya polimorfisme gen CYP1A1 walaupun gambaran klinisnya tidak menunjukkan adanya akne. Hal ini mungkin disebabkan adanya asupan makanan yang mengandung bahan retinoid atau vitamin A. Sehingga kekurangan retinoid alami yang terjadi pada kelompok ini dapat digantikan dengan retinoid yang berasal dari makanan.

6.2 Hubungan antara kadar kortisol dengan akne vulgaris

Pada penelitian ini tidak dijumpai perbedaan kadar kortisol yang bermakna terhadap timbulnya penyakit akne, walaupun demikian, dari hasil uji statistik dijumpai peningkatan resiko atau kerentanan pada kelompok kasus dengan kadar kortisol tinggi terhadap terjadinya akne (odds ratio 1,12 95% confidence limits 0,43-2,86). Artinya seseorang yang mendapatkan stres akan mengalami peningkatan kadar kortisol serum, dimana peningkatan kadar kortisol tersebut dapat memicu bertambah parahnya akne yang diderita.

Hasil penelitian lain mengenai hubungan stress dengan akne vulgaris yang dilakukan oleh Kraaus untuk membuktikan hubungan antara stress dan akne serta

asam lemak bebas di kulit dilakukan penelitian pada 8 subyek pria dan 1 subyek wanita mahasiswa fakultas kedokteran tahun pertama. Pemeriksaan dilakukan dalam waktu sepuluh minggu selama waktu ujian pendidikan. Hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan bermakna antara jumlah asam lemak bebas permukaan kulit dan kejadian akne vulgaris pada subyek penelitian yang mendapatkan stress selama waktu ujian.

Penelitian Chiu tahun 2003 mengenai respon kulit terhadap stress dilakukan dengan melibatkan 22 subyek (15 wanita, 7 pria) selama menjalani ujian pendidikan. Penilaian diukur dengan menggunakan alat *photomumeric leeds acne scale*. Dengan menggunakan analisis regresi dan menilai efek dari variabel coundfounding seperti waktu tidur, kualitas tidur dan jumlah serta kualitas makanan per hari. Secara statistik menunjukkan hubungan bermakna antara peningkatan keparahan akne dengan peningkatan level stress ($r=0,61$, $p<0,01$).

Penelian Zouboulis tahun 2009 mengenai hubungan stress dengan akne vulgaris yang melibatkan 33 pasien akne dan 8 orang normal dengan usia yang hampir sama. Penelitian dilakukan dengan memeriksa ekspresi CRH, CHR-BP dan CRH-R pada glandula sebacea lesi akne dibandingkan dengan kulit normal secara imunohistokimia. Hasil penelitian menunjukkan ekspresi kuat dari CRH pada sel glandula sebacea kulit dengan lesi akne dan lemahnya ekspresi CRH pada kulit tanpa lesi akne dan pada kulit normal. Penelitian ini membuktikan adanya peranan CRH sistem pada patogenesis akne vulgaris. Uji statistik menunjukkan adanya hubungan bermakna antara ekspresi CRH dengan akne vulgaris.

Stres perifer maupun sentral akan mengaktifkan sistem HPA-Axis sentral di otak dan sistem HPA-Axis kutaneus karena kulit dan apendiknya mempunyai

fungsi perifer yang ekuivalen dengan HPA-axis sentral. Respon sistemik HPA-axis sentral dimulai dijalankan melalui pelepasan CRH yang diproduksi oleh hipotalamus yang mana CRH ini akan menstimuli reseptor di *pituitary*. CRH akan meningkatkan produksi dan sekresi bagian *anterior pituitary* yang diatur oleh POMC (*proopiomelanocortin*) berupa peptide MSH, ACTH dan endorfin. Selama pelepasannya ke sirkulasi ACTH akan menuju ke glandula adrenal dan mengaktivasi MC2R yang menginduksi produksi dan sekresi kortisol (Bohm., 2009). Peningkatan produksi sekresi kortisol glandula adrenal ke dalam darah akan menyebabkan peningkatan sintesis lipid sehingga pada akhirnya akan memicu timbulnya inflamasi pada glandula sebacea sebagai akne vulgaris.

Pada respon HPA-axis kutaneus terhadap stress, kulit akan merespon dengan memproduksi secara lokal CRH, ACTH dan GCs. CRH akan mengikat pada protein sebagai CRH-BP dan pada reseptor kortikotropin (CRH-R). CRH, CRH-BP dan CRH-R diekspresikan pada sebosit glandula sebacea, dimana CRH kemudian akan menginduksi sintesis lipid sehingga akhirnya akan terjadi akne. Dengan demikian dapat dipahami bahwa pada respon terhadap stress di kulit terjadi hubungan langsung antara produksi dan ekspresi CRH di glandula sebacea kulit yang akan memicu sintesis lipid sehingga timbul akne.

Pada kelompok kontrol ternyata didapatkan subyek penelitian dengan kadar kortisol tinggi. Hal ini mungkin disebabkan adanya faktor lain yang menyebabkan hormon kortisol pada orang tersebut tidak memicu terjadinya proliferasi dan diferensiasi sebosit dan keratinosit serta tidak terjadi peningkatan sintesa lipid di kulit, diantaranya adalah faktor makanan.

6.3 Hubungan kadar testosteron dengan akne vulgaris

Pada penelitian ini tidak dijumpai perbedaan kadar testosteron yang bermakna terhadap timbulnya akne. Tetapi didapatkan kecenderungan perlindungan terhadap terjadinya akne vulgaris 0,44 kali lebih besar pada kadar testosteron tinggi dibandingkan kadar testosteron rendah.

Hasil yang berbeda didapatkan pada penelitian yang sejenis yang telah dilakukan oleh Ewadh tahun 2009 di kota Hilla Irak pada 73 pasien akne yang terdiri dari 38 pria dan 35 wanita sebagai kelompok kasus dan 41 subyek sebagai kontrol yang terdiri dari 19 pria dan 22 wanita. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan dari peningkatan level serum testosteron antara kelompok kasus dan kelompok kontrol pada grup pria dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada grup wanita.

Pada penelitian kami didapatkan kadar testosteron rendah lebih banyak ditemukan pada kelompok kasus daripada kelompok kontrol, tidak didapatkan hubungan bermakna antara kadar testosteron dengan kejadian akne. Namun pada kelompok akne kadar testosteron rendah masih dalam batasan normal berdasarkan nilai standar normal kadar testosteron serum. Sehingga dapat dikatakan bahwa kadar testosteron kelompok akne masih normal. Kadar testosteron kelompok akne masih dalam batas normal kemungkinan disebabkan karena subyek penelitian pada penelitian ini adalah pria berusia 17-18 tahun dimana pada usia tersebut terjadi peningkatan produksi hormon testosteron yang diperlukan untuk perkembangan organ seksual sekunder dan sistem reproduksi. Sehingga peningkatan kadar testosteron tersebut masih dalam batas normal dan tidak akan memicu timbulnya akne. Dengan demikian akne yang muncul pada kelompok

kasus menunjukkan kemungkinan bukan disebabkan oleh testosteron serum melainkan disebabkan oleh faktor lain seperti genetik, makanan atau stress.

Adanya perbedaan hasil dengan penelitian yang dilakukan oleh Ewadh, kemungkinan disebabkan karena perbedaan usia subyek penelitian yang dilibatkan sehingga untuk penelitian lebih lanjut diharapkan melibatkan lebih banyak subyek penelitian dengan usia yang lebih bervariasi, sehingga hormon testosteron yang didapat tidak dipengaruhi oleh proses alami peningkatan produksi hormon testosteron.

6.4 Faktor yang paling dominan berhubungan dengan akne vulgaris

Faktor paling dominan berhubungan dengan akne vulgaris diantara faktor polimorfisme gen CYP1A1, faktor kadar hormon stress kortisol dan faktor kadar hormon testosterone dalam hubungan dengan terjadinya akne vulgaris adalah polimorfisme gen CYP1A1 sebagai faktor yang paling dominan terhadap terjadinya akne vulgaris. Hal ini menunjukkan bahwa polimorfisme gen CYP1A1 merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap terjadinya akne vulgaris daripada pengaruh kadar hormon stress kortisol maupun kadar hormon testosteron.

Pada variasi genetik CYP1A1 sebagai polimorfisme gen CYP1A1, terjadi mutasi pada gen CYP1A1 yang berperan mengatur fungsi enzim CYP1A1 pada metabolisme vitamin A atau retinol di glandula sebacea, karena gen CYP1A1 dan enzim CYP1A1 sama-sama merupakan bahan protein, maka perubahan pada protein gen juga dapat mengakibatkan perubahan pada protein enzim. Perubahan pada protein gen maupun enzim bersifat menetap, sehingga adanya perubahan atau mutasi pada gen CYP1A1 menyebabkan perubahan kapasitas metabolik enzim CYP1A1 sehingga retinoid alami yang aktif berubah menjadi komponen

yang inaktif. Kurangnya retinoid alami pada glandula sebacea menyebabkan diferensiasi sebosit yang abnormal dan hiperkeratinisasi kanalis folikularis, yang mana keduanya dapat memicu akne. Hormon kortisol dan hormon testosteron keduanya sama-sama terbuat dari bahan protein dan sama-sama dapat berpengaruh terhadap proliferasi dan diferensiasi keratinosit dan sebosit di glandula sebacea tetapi perubahan pada hormon kortisol atau hormon testosteron tidak bersifat menetap melainkan tergantung dari kondisi yang menyebabkan tinggi rendahnya kadar hormone tersebut didalam darah, sehingga apabila gen CYP1A1 berfungsi normal maka proses proliferasi dan diferensiasi ketatinosit dan sebosit yang dipicu oleh hormon kortisol atau hormon testosteron dapat diatasi oleh metabolit retinoid sebagai komponen alami yang aktif yang dihasilkan dari metabolisme retino oleh enzim CYP1A1 normal, sehingga tidak terjadi hiperkeratinosis dan diferensiasi sebosit yang abnormal. Sebaliknya, bila gen CYP1A1 mengalami mutasi, maka walaupun kadar hormone stress kortisol maupun kadar hormon testosteronnya normal pada subyek penelitian tetap bisa terjadi akne vulgaris karena adanya defisiensi metabolit retinoid aktif yang menyebabkan hiperkeratinisasi dan diferensiasi sebosit yang abnormal di glandula sebacea yang akan memicu timbulnya akne vulgaris. Penelitian ini mempunyai kekurangan karena pemeriksaan kortisol tidak dilakukan di kulit, tetapi di darah. Walaupun sudah dilakukan eksklusi terhadap sampel yang memungkinkan peningkatan kortisol darah tetapi kemungkinan ini masih dapat terjadi. Demikian juga dengan pemeriksaan testosteron dimana pada penelitian ini faktor makanan tidak menjadi perhatian, sehingga kemungkinan mempengaruhi hasil bisa saja terjadi.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Tidak terdapat hubungan bermakna polimorfisme gen CYP1A1 dengan kejadian akne vulgaris.
2. Polimorfisme gen CYP1A1 meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris.
3. Tidak terdapat hubungan bermakna kadar hormon stress kortisol dengan kejadian akne vulgaris
4. Kadar hormon kortisol tinggi meningkatkan resiko untuk menderita akne vulgaris.
5. Tidak terdapat hubungan bermakna kadar hormon testosteron dengan kejadian akne vulgaris
6. Kadar testosteron tinggi meningkatkan perlindungan terhadap terjadinya akne vulgaris.
7. Polimorfisme gen CYP1A1, merupakan faktor paling dominan terhadap kejadian akne vulgaris.

7.2 Saran

1. Pada penelitian hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne, diharapkan pada penelitian selanjutnya dikaitkan dengan faktor lingkungan seperti polutan yang memapar area Pekanbaru.

2. Pada penelitian hubungan polimorfisme gen CYP1A1 dengan akne, diharapkan pada penelitian selanjutnya dikaitkan dengan faktor herediter.
3. Sintesa lipid yang meningkat pada glandula sebacea tidak hanya disebabkan oleh hormon stres tetapi juga dapat dipengaruhi oleh faktor lain, seperti makanan sehingga disarankan pada penelitian selanjutnya dilakukan juga pada variabel faktor makanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrew RC, Walker BR. 1999. Glucocorticoid and insulin resistance: old component, new target. *Clin Sci*, 18; 241-268.
- Arck PC, Slominski A, Theoharides TC, Peters EMJ, Paus R, 2006. Neuroimmunology of Stress : Skin Takes Center Stage. *J. Invest.Dermatol*, 126; 1697-1704
- Arvat E, Divito L, Lanfranco F, Maccano M, Rosetto R, Camanni F, 2000. Stimulatory effect of adrenocorticotropin of cortisol, aldosterone and dehydroepiandrosterone secretion in normal humans: Dose-Response Study. *J. Clin. Endocrinology and Metabolism*, 85; 3141 – 3146
- Azwar A. 2004. Tubuh sehat ideal dari segi kesehatan-seminar kesehatan obesitas; 1-7.
- Barira S, 2006. Proporsi kepodiatifan dan pola resistensi propione bacterium aknes terhadap antibiotika oral pasien akne vulgaris tipe sedang dan berat, Tesis, Universitas Indonesia
- Bergfeld WF, 2004. The Pathophysiology of acne vulgaris in children and adolescent part I, *cutis*, 74; 92 - 97
- Bramswig J, Dubbers A, 2009. Disorders of pubertal development. *Dtsch Arztebl Int*, 106 (17) ; 295 - 304
- Bohm M, 2009. Neuroendocrine regulators. *Dermato endocrinology*, 1 ; 136 – 140
- Bataille V, Snieder H, MacGregor AJ, Sasieni P, Spector TD, 2002. The Influence of Genetics and Environmental Factors in pathogenesis of acne : A twin study of acne in women. *J. Invest. Dermatol*, 119 ; 1317 – 1322
- Bataille V, Lens M, Spector TD, 2011. The use of the twin model to investigate the genetics and epigenetics of skin diseases with genomic, transcriptomic and methylation data. *JEADV*, 10 ; 1 – 6
- Cunliffe WJ, 1989. Natural history of acne. In *acne* London: Martin Dunitz Ltd, pp 2 – 10
- Cunliffe WJ, Gollnick HPM, 2001. Acne inflammatory. In *acne diagnosis and management* London : Martin Dunitz Ltd, pp 37 – 45
- Cusabio biotech. Human Cortisol ELISA Kit. <http://www.cusabio.com>
- Chen weche, Thiboutot D, Zouboulis CC, 2002. Cutaneous androgen metabolism : Basic Research and Clinical perspectives. *J. Invest Dermatol*, 119 ; 992 – 1007
- Chiu AB, Chon SY, Kimball AB, 2003. The Respon of Skin Diseases to Stress. *Arch. Dermatol*, 139 ; 897 – 900

- Cotteril, Cunliffe WJ, 1997. Suicide and Suicidal ideation. *British Journal Dermatology*. 137 : 246-50
- Deplewski D, Rosenfield RL, 2000. Role of Hormone in Pilosebaceous unit Development. *Endocrine review*, 21; 363 – 392
- Deplewski D, Rosenfield RL, 1999. Growth Hoemone and Insulin-like Growth Factor have Different Effect on Sebeceus Cell Growth and Differentiation. *Endocrine Society*. 140 : 4089-94
- Dellemare EM, Felius B, Dellemare HA, 2008. Inducing Puberty, *Eur. J. Endocrinology*, 159 ; 9 – 15
- Dreno B, Khammari A, 2004. Inflammation of the pilosebaceous follicle – the most frequent cutaneus illness of modern time. *North American Pharmacoterapy*, 2 : 181-185
- Ebling FJG, Cunliffe WJ, 1998. Diseases of sebaceous glands. In (Champion RH, Burton JL, Burn DA, Breanach SM, eds), *Rook/ Wilkinson / Ebling Textbook of Dermatology*. 6th ed. Oxford : Black Well Science Ltd, pp 1940 – 1980
- Ewadh MJ, Shemran KA, Al-hamdany KJ, 2011. The Correlation of Some Hormones with Acne Vulgaris, *ISJN*, 2 ; 713 – 717
- Evans DM, Kirk KM, Nyholt DR, Novac C, Martin NG, 2005 . Teenage Acne is Influenced by Genetic Factor, *Brith J.Dermatol*, 152 ; 579 -581
- Ernawati D, 2011. Counseling and ethics of Patient with Acne Vulgaris. *National Congress of Dermatology and Venereology Indonesia*, pp 1 - 8
- Gancevicine R, Bohm M, Fimmel S, Zouboulis CC, 2009. The Role of Neuropeptides in The Multifactorial Pathogenesis of Acne Vulgaris. *Dermato Endocrinology*, 3 : 170 – 176
- Ghodsi SZ, Orawa H, Zouboulis CC, 2009. Prevalence, Severity, and Severity Risk Factors of Acne in High Scholl Pupils: A Community-Based Study. *J of Invest Dermatology*, 129: 2136-2141
- Gollnick HPM, Cunliffe WJ, 2001. Follicular Keratinization. In *Acne Diagnosis and Management*. London, Martin Dunitz Ltd, pp : 15 – 27
- Glaser R, Glaser JK, Marucha PT, MacCallum RC, Laskowski BF, Malarkey WB, 1999. Stress Related Changes in Pro Inflammatory Cytokine Production in Wounds. *Arch. Gen. Psychiatry*, 56 : 450 – 456
- Golpour M, Hosseini SH, Khademloo M, Molehmi H, 2010. Mental Health and Suicidal Ideation in Patient with Dermatologic Disorders, *world applied science journal*, 11 : 573 – 577
- Gupta, 1998. Depression and Suicidal Ideation in Dermatology Patient with Acne, Alopecia Areata, Atopic Dermatitis and Psoriasis. *Brith J. Dermatol*, 139 : 846 – 850

- Herane MI, Ando I, 2003. Acne in Infancy and Acne Genetics, *Dermatology*, 2006 : 24 – 28
- Jamiesson PM, Chapman KE, Edwards CRW, Seckl JR. 1995. 11- β Hychoxystenol dehidrogenase is an exclusive 11- β reductase in primary culture of rat hepatocytes; effect of physicochemical and hormonal manipulations. *Endocrinology*, 136: 4754-4761.
- Koreck A, Pivarsci A, Dobozy A, Kemeny L. 2003. The Role of Innate Imunity in the Pathogenesis of Acne. *Dermatology*, 206 : 96-105
- Kushlinskii NE, Salamova IV, Masyukova SH, Muhammad AK, Degtyar VG, Samsonov VA, 1997. Sex Hormone Binding Globulin, Serum Testosterone and Androgen Receptor in The Skin in Papulopustular and Conglobata Forms of Acne Vulgaris. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 123: 163 – 165
- Kurokawa I, *et al*, 2009. New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. *Experimental Dermatology*, 18 : 821-832
- Legiawati L, 2011. Myths, Studies and Social Impact of Acne Vulgaris. *National Congress of Dermatology and Venereology Indonesia*, pp 1 – 28
- Longshore SJ, 2003. Acne vulgaris : one treatment does not fit all. *Dept. of dermatology*, 70 : 670-680
- Monder C, White PC.1993. 11-Hydroxysteroid dehidrogenase in Vitam Horn; 47: 187-271.
- Mostl E, Palme R, 2002. Hormones as Indicators of Stress, *Domestic Animal Endocrinology*, 23 ; 67 -74
- Nathan BM, Palmert MR, 2005. Regulation and Disorders of Pubertal Timing, *Endocrinol Metab Clin.N.Am*, 34 : 617 – 641
- Nebert DW, Puga A, Vailiou V. 1995. Role of the Ah receptor and the dioxin-inducible (Ah) gen battery in toxicity, cancer and signaling transduction. *Ann. Ny acad. Sci* 685; 624-640
- Nelson DR, et.al. 1995. P450 superfamily: update of new segmen, gene mapping, accession numbers and nomenclature *pharmacogenetic*, 6; 1-42
- Nilsson CB, Hakamsson H. 2002. The retinoid signaling system-a target in dioxin toxicity. *Crit. Rev. Toxicol*, 32; 211-232
- Nilsson CB, Hoegberg, Trossvik C, Azais-Braesco V, Blaner WS, Fex G, et al. 2000. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin increases serum and kidney retinoic acid level and kidney retinoid esterification in the rat *taxicol aplll*. *Pharmacol*. 169; 121-131
- Nurdin AE, 2009. Homeostasis, Stress dan Sistem Imun, Dalam *Psikoneuroimmunologi Dasar*, Padang, Universitas Andalas, pp 13 – 43

- Nuridin AE, 2013. Homeostasis, Stress dan Sistem Imun, Dalam Psikoneuroimmunologi Dasar, Padang, Universitas Andalas
- Odom RB, James WD, Berger TG, 200. Acne. In Andrew's Disease of the Clinical Dermatology, 9th ed. Philadelphia WB Saunders Co, pp 284 – 306
- Parashevaides A, Prakoulis N, Roots I, Orfanos C.E, Zoubulis CC. Polymorphism in the Human Cytochrome P-450 1A1 Gen (CYP1A1) as a Factor for Developing Acne. *Dermatology*, 196 : 171 – 175
- Pei CT, Weuya H, Yeu CL, Shih H, Yueliang LG. 2006. Genetic polymorfisme in CYP1A1 and GSTM1 predispose humans to PCBs/PCDFs-induced skin lesions. *J Chemosphere*, 63; 1410-1418
- Picardo M, Offaviani M, Camera E, Mastro Fransesco A, 2000. Sebaceous Gland lipids. *Dermato Endriconology* 1 : 68 – 72
- Pinyerd B, Zipf WB, 2000. Puberty timing is everything BWRsearch@columbusrr.com
- Rickets ML, Verhaeg JM, Bujalska S, Howie AJ, Raivey WE, Stewart PM. 1998. Immunohistochemical localization of type I 11- β -Hydroxysteroid dehidrogenase in human tissue. *J Clin Endocrin Metab*, 83:1325-1335
- Souria A, Richard V, labrie F, Labrie C. 2000. Exclusive androgenic effect of dehydro epiandro sterone in sebaceous gland of rat skin. *Journal of Endocrinology* 166 : 455 – 462
- Stewart PM, Murry BA, Mason JJ. 1994. Type 2 11- β -hydroxysteroid dehidrogenase in human fetal tissue. *J Clin Endocrinol Metab*; 78: 1529-1532
- Strauss JS, 1991. Acne and Rosacea In (Orchin M, Maibach HJ, Dahl MV). 1st ed Connecticut. Prentice-Hall International Inc. pp 332 – 339
- Sopiyudin, M. Dahlan. 2009. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. Seri Evidence Based Medicine 1. Edisi 4. Penerbit Salemba Medika : 1-26
- Slominski A, Worstmen J, Luger T, Paus R, Sulammon S, 2000. Corticotropin Releasing Hormone and Proopiomelanocortin Involvement in the Cutaneous Response to Stress. *Physiological Review*. Vol. 80. No 3 : 979
- Sullivan M, Lipper G, Lerner EA, 1998. The Neuro-Immune Cutaneous-Endocrine Network : Relationship of Mind and Skin. *Arch Dermatol*. 134 ; 1431-1435
- Suyatno, 2013. Menghitung Besar Sampel Penelitian Kesehatan Masyarakat. Sub bagian gizi, Fakultas Kesehatan Masyarakat UNDIP Semarang
- Thiboutot DM, Strauss JS. 2003. Disease of Sebaceous Glands In (Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolf K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, eds) *Dermatology in General Medicine*, 6th ed. New York : Mc Graw Hill, pp 672 - 687

- Tjekyan S. 2008. Kejadian dan Faktor Resiko Akne Vulgaris. *Media Medika Indonesia*. 43 : 37-43
- Tolman EL. 1992. Acne and Acneiform Dermatitis In (Moschella SL, Hurley H, eds). *Dermatology* 3th ed. Philadelphia : WB Saunders Co, pp 1477 – 1492
- Walker BR, Campbell JC, Fraser R, Stewart RM, Edwards CRW. 1992. Mineralocorticoid excess and inhibition of 11- β hydroxysteroid dehydrogenase in patient with ectopic ACTH . *Clin Endocrinol*, 27; 483-492
- Webster GF, 1995. Inflammation in Acne Vulgaris. *Journal American Academic Dermatology*. 33 : 247-53
- Webster GF, 2002. Acne Vulgaris. *BMJ* 325 : 475 – 479
- Webster JI, Tonelli L, Stenberg EM, 2002. Neuroendocrine Regulation og Immunity. *Annu Rev Immunol*, 20 : 125-163
- William HC, Dellavalle RP, Garner S. 2012. Acne Vulgaris *Lancet* 379 : 361 – 372
- Wasitaatmadja SM. 2010. Pemahaman dan Penatalaksanaan Acne. *National Symposium & Workshop in Cosmetic Dermatology* pp 1 – 16
- Walker BR, Sechl JR. 2001. Kortisol Metabolism. *International Text Book of Obesity* : 241 – 268
- Xia L, zouboulis CC, Ju Q, 2009. Culture of Human Sebocyte in vitro. *Dermato endocrinology*. 1 : 92-95
- Yosipovith G, Tang M, Dawn AG, Chen M, Goh CL, Chom YH, Seng LF, 2007. Study of Psychological Stress, Sebum Production and Acne Vulgaris in Adolescent. *Acta Derm Venereol* 87 : 135 – 139
- Zouboulis CC, 2002. Corticotropin Releasing Hormone, An Autocrine Hormone that promote lipogenesis in human sebocytes. *PNAS*. 99 : 7148-53
- Zouboulis CC, 2004. Acne and Sebaceous Gland Function *J.Chin. Dermatol* 22 : 360-366
- Zouboulis CC, Bohm M, 2004. Neuroendocrine regulation of sebocytes-a pathogenic link between stress and acne. *Experimental Dermatology*. 13 : 31-35
- Zouboulis CC, Degitz K, 2004. Androgen Action on Human Skin from Basic Research to Clinical Significance. *Experimental Dermatology* 13 : 5-10

Lampiran 1

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS RIAU
FAKULTAS KEDOKTERAN

Unit Etika Penelitian Kedokteran dan Kesehatan
Jl. Diponegoro 1, Pekanbaru, Riau, Indonesia
Telp : +62-761-839264, Fax : +62-761-572725
E-mail : erb.fkur@gmail.com



MINISTRY OF EDUCATION AND CULTURE
UNIVERSITY OF RIAU
FACULTY OF MEDICINE

Ethical Review Board for Medicine & Health Research
R. Diponegoro 1, Pekanbaru, Riau, Indonesia
Phone : +62-761-839264, Fax : +62-761-572725
E-mail : erb.fkur@gmail.com

Nomor : 352/UN19.1.28/UEPKK/2013

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL – CLEARANCE

Unit Etika Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul :

Ethical Review Board for Medicine & Health Research of the Faculty of Medicine University of Riau, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled :

**HUBUNGAN POLIMORFISME GEN CYP1A1 , HORMON STRES KORTISOL
DAN HORMON TESTOSTERON DENGAN AKNE VULGARIS**

Peneliti utama

: ENDANG HERLIYANTI DARMANI

Name of the principal investigator

Nama Institusi

:PROGRAM S3 ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN,UNIV ANDALAS

Name of institution

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

Pekanbaru, 29 November 2013

Ketua

Chairman.

Dr.dr. Dedi Afandi, DFM, SpF

**PENJELASAN MENGENAI PENELITIAN TENTANG
"HUBUNGAN POLIMORFISME GEN CYP 1A1, HORMON STRESS KORTISOL
DAN HORMON TESTOSTERON DENGAN AKNE VULGARIS"**

Tim peneliti di Bagian / SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Arifin Achmad Pekanbaru / Fakultas Kedokteran Universitas Riau, sedang melakukan penelitian untuk mengetahui Hubungan Polimorfisme Gen CYP1A1, Hormon Stress Kortisol dan Hormon Testosteron dengan Akne Vulgaris. Hal ini penting dilakukan karena Akne vulgaris merupakan penyakit kulit yang sulit disembuhkan dan sering berkepanjangan karena penyebabnya yang bersifat multifaktorial.

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui faktor penyebab Akne vulgaris tersering yang didapatkan di Pekanbaru yang berhubungan dengan Gen dan Hormonal sehingga pemberian terapi pada penderita dapat lebih spesifik dan hasil terapi yang didapatkan lebih maksimal.

Pria berusia 17-18 tahun akan diikutsertakan dalam penelitian ini. Untuk mendapatkan data yang dapat mempresentasikan hasil penelitian dibutuhkan 70 orang subyek yang terdiri dari penderita Akne Vulgaris dan tidak menderita Akne vulgaris (kulit normal). Anda merupakan pria berusia 17-18 tahun dan karena itu diminta ikut serta dalam penelitian ini.

Bila anda bersedia ikut serta, anda akan diminta kesediaannya untuk dilakukan pemeriksaan kulit dan pengambilan sampel darah sebanyak 4cc untuk diperiksa secara laboratorium terhadap gen dan hormon.

Anda bebas untuk menolak dalam penelitian ini. Semua data penelitian ini akan diperlakukan secara rahasia sehingga tidak memungkinkan orang lain menghubungkannya dengan anda.

Anda diberi kesempatan untuk menanyakan semua hal yang belum jelas sehubungan dengan penelitian ini.

Bila sewaktu-waktu membutuhkan informasi tambahan anda dapat menghubungi :

dr. Endang Herliyanti Darmani, Sp.KK
Jl. Marsan Selatan No. 7 Pekanbaru
Telp. 08127519307

PERNYATAAN PERSETUJUAN SUBYEK
(Informed Consent)

Penelitian :

“Hubungan Polimorfisme Gen CYP 1A1, Hormon Stress Kortisol dan Hormon Testosteron dengan Akne Vulgaris”.

Saya telah membaca risalah Penjelasan mengenai Penelitian dan telah menerima salinannya. Penelitian ini telah dijelaskan secara detail dan seluruh pertanyaan saya telah dijawab dengan baik oleh dr. Endang Herliyanti Darmani, Sp.KK. Saya juga telah diberi tahu tentang tujuan penelitian, prosedur yang akan dilakukan dan kegunaan serta resikonya. Atas dasar itu saya bersedia secara sukarela berpartisipasi dalam penelitian ini.

Dengan menandatangani formulir ini, saya tidak melepaskan hak hukum yang saya miliki sebagai subyek dalam penelitian ini. Saya juga telah diberitahu bahwa saya akan memperoleh salinan formulir persetujuan yang telah ditandatangani dan dibubuhi tanggal untuk catatan saya.

Saya menyatakan bahwa informasi diberikan dalam bahasa yang saya fahami

Tanggal

.....

Nama/Tanda Tangan Subyek



dr. Endang H. Darmani, Sp.KK

Nama/Tanda Tangan Pemberi Penjelasan

STATUS PESERTA

Nama :
Umur/Tgl. Lahir :
Jenis Kelamin :
Pekerjaan :
Alamat :
Status :
Pendidikan :
Agama :
Suku :

Pemeriksaan Fisik :

Tinggi Badan : cm
Berat Badan : kg

Status Dermatologis

Lokasi :

Efloresensi :

Diagnosis :

Lampiran 5. Master tabel

No. Urut	Umur	BB (kg)	TB (cm)	IMT (Indeks Masa Tubuh)	Suku	Pendidikan	Penyakit Akne Vulgaris	Tipe Acne	Polimorfisme Gen CYP 1A1	Kadar kortisol (ng/ml)	Kadar testosterone (ng/ml)
A1	18	84	182	25,37	0	0	1	1	1	39,13	11,30
A2	18	50	165	18,38	1	0	1	1	1	59,94	13,47
A3	18	62	165	22,79	0	0	1	1	1	54,48	14,16
A4	18	50	168	17,73	1	0	1	1	1	52,94	14,89
A5	17	63	161	24,32	2	0	1	1	1	61,50	19,95
A6	17	60	164	22,30	0	1	1	1	1	60,20	15,57
A7	17	66	174	21,78	0	1	1	0	1	63,30	13,27
A8	18	46	162	17,56	1	1	1	1	1	53,78	18,41
A9	18	60	175	19,61	0	0	1	1	1	44,90	15,42
A10	18	55	174	18,15	1	0	1	1	1	55,00	17,32
A11	17	40	163	15,04	1	0	1	1	1	54,48	13,07
A12	18	65	171	22,26	3	0	1	1	1	56,56	11,20
A13	17	55	175	17,97	1	0	1	1	1	56,04	16,84
A14	18	59	170	20,42	1	0	1	1	1	41,52	14,64
A15	17	59	169	20,63	4	2	1	1	1	56,04	16,23
A16	17	50	158	20,00	2	2	1	1	0	48,78	18,58
A17	18	98	172	33,11	3	0	1	1	1	44,38	16,74
A18	17	64	173	21,40	5	2	1	1	1	41,26	13,88
A19	18	55	164	20,45	3	0	1	1	1	58,90	21,90
A20	18	55	165	20,22	1	0	1	1	1	50,86	14,92
A21	18	50	177	17,57	1	0	1	1	1	51,38	21,57
A22	17	53	168	18,79	1	0	1	1	0	58,38	18,61
A23	18	63	168	22,34	3	0	1	1	0	54,22	14,61

No. Urut	Umur	BB (kg)	TB (cm)	IMT (Indeks Masa Tubuh)	Suku	Pekerjaan	Penyakit Akne Vulgaris	Tipe Acne	Polimorfisme Gen CYP 1A1	Kadar kortisol (ng/ml)	Kadar testosterone (ng/ml)
A24	17	55	175	17,97	3	1	1	1	1	30,10	15,19
A25	17	70	172	23,65	1	1	1	1	0	47,22	15,19
A26	17	88	171	30,13	1	1	1	1	0	52,68	21,67
A27	17	48	163	18,05	1	1	1	0	0	59,68	16,64
A28	18	63	186	18,21	0	1	1	1	1	56,04	12,66
A29	17	51	167	18,28	1	1	1	1	1	66,68	23,92
A30	17	59	165	21,69	1	1	1	1	1	47,74	14,49
A31	17	50	168	17,73	1	1	1	1	0	67,98	15,73
A32	17	66	174	21,78	0	1	1	1	1	61,24	17,40
A33	17	41	165	15,07	0	1	1	1	1	52,68	11,58
A34	18	50	177	15,97	1	0	1	1	1	47,74	15,80
A35	18	48	177	15,33	1	0	1	1	1	47,74	19,82
B1	18	55	168	19,50	1	0	0	-	1	52,16	20,96
B2	18	61	172	20,61	1	0	0	-	1	49,04	16,38
B3	18	53	175	17,32	1	0	0	-	1	47,48	18,66
B4	18	66	163	24,81	1	0	0	-	1	54,48	19,32
B5	18	65	175	21,24	1	0	0	-	1	55,26	18,31
B6	17	46	171	15,75	3	1	0	-	1	76,02	29,29
B7	18	65	175	21,24	3	0	0	-	1	50,34	17,55
B8	17	48	169	16,78	0	1	0	-	0	51,38	13,60
B9	17	70	168	24,82	4	0	0	-	0	43,08	10,21
B10	18	60	170	20,76	0	0	0	-	1	56,56	16,26
B11	18	92	176	29,67	0	0	0	-	1	50,08	15,17

No. Urut	Umur	BB (kg)	TB (cm)	IMT (Indeks Masa Tubuh)	Suku	Pekerjaan	Penyakit Akne Vulgaris	Tipe Acne	Polimorfisme Gen CYP 1A1	Kadar kortisol (ng/ml)	Kadar testosterone (ng/ml)
B12	18	62	171	21,23	3	0	0	-	1	45,16	16,66
B13	18	64	165	23,53	0	0	0	-	0	51,38	21,06
B14	18	73	165	26,83	1	0	0	-	1	39,70	19,24
B15	18	57	175	18,63	3	0	0	-	1	59,94	18,33
B16	18	65	173	21,74	0	0	0	-	0	50,86	19,37
B17	18	56	173	18,73	3	1	0	-	0	45,66	16,81
B18	18	70	176	22,58	1	0	0	-	1	58,12	23,09
B19	18	50	177	15,97	1	0	0	-	1	54,74	17,85
B20	18	86	171	29,45	1	0	0	-	1	40,48	17,70
B21	17	54	174	17,82	0	1	0	-	1	57,86	16,71
B22	17	45	162	17,18	0	1	0	-	0	50,60	9,40
B23	17	50	175	16,34	0	2	0	-	1	59,68	11,83
B24	17	45	160	17,58	1	2	0	-	1	59,68	11,45
B25	17	55	175	17,97	2	2	0	-	0	59,94	17,47
B26	17	55	176	17,74	2	2	0	-	0	62,00	18,46
B27	17	49	162	18,70	0	1	0	-	1	60,72	11,70
B28	17	48	167	17,20	1	2	0	-	0	63,30	24,93
B29	17	44	160	17,19	0	2	0	-	0	56,56	17,62
B30	17	65	160	25,39	2	0	0	-	1	40,22	7,73
B31	18	41	163	15,41	1	0	0	-	1	57,34	18,08
B32	18	50	165	18,38	1	0	0	-	1	64,86	15,17
B33	17	43	165	15,80	0	1	0	-	0	63,04	8,44
B34	17	40	160	18,62	1	2	0	-	1	45,92	14,39
B35	18	55	172	18,58	1	0	0	-	1	33,22	12,21

Keterangan :

SUKU :

0 = Minang

1 = Melayu

2 = Batak

3 = Jawa

4 = Cina

5 = Nias

Pendidikan :

0 = Mahasiswa

1 = Pelajar SMA

2 = Pelajar SMK

PENYAKIT :

0 = tidak penderit akne

1 = 1penderit akne

TIPE AKNE :

0 = komedonal

1 = papulo pustule

2 = nodulokistik

POLIMORFISME GEN CYP1A1 RESTRIKSI :

0 = Tidak ada restriksi

1 = ada restriksi

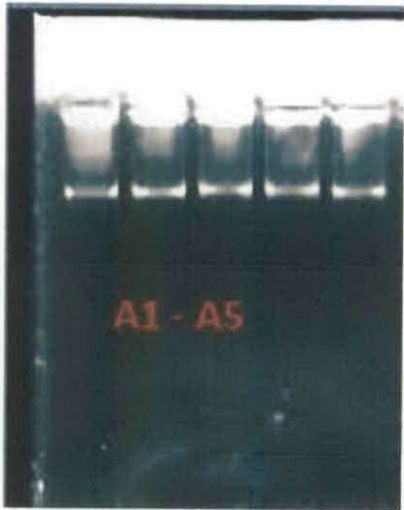
$$* \text{Rumus IMT} = \frac{\text{BB(Kg)}}{\text{TB x TB (m)}}$$

Status Gizi	Laki-laki
Normal	18-25
Kegemukan	25-27
Obesitas	>27

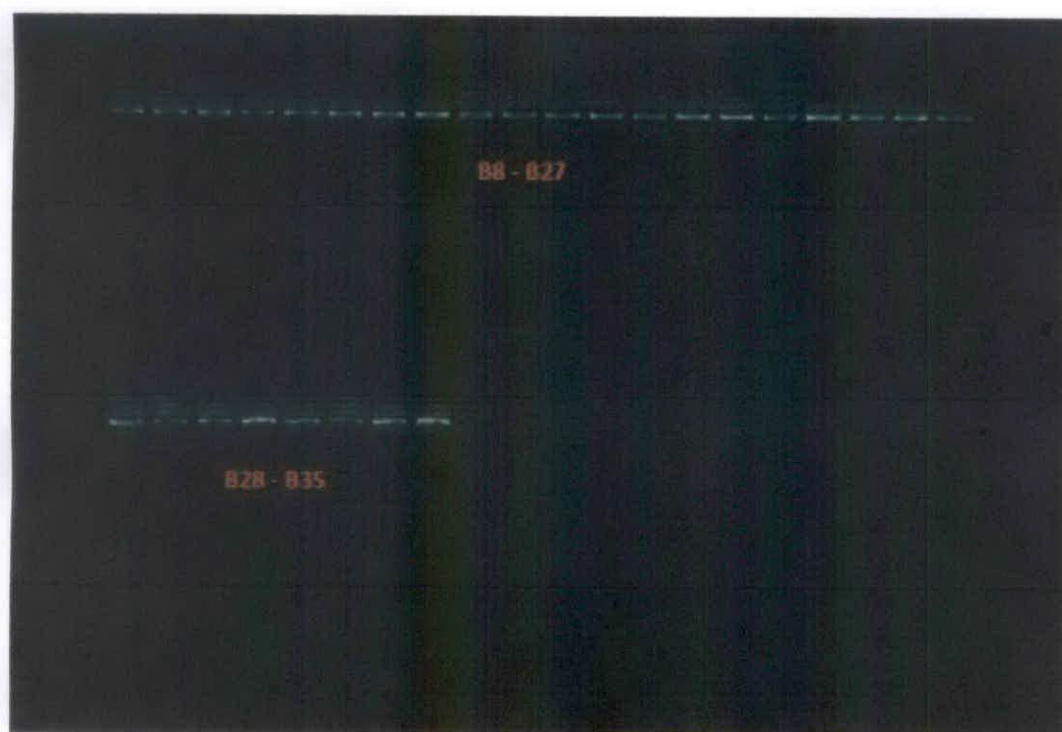
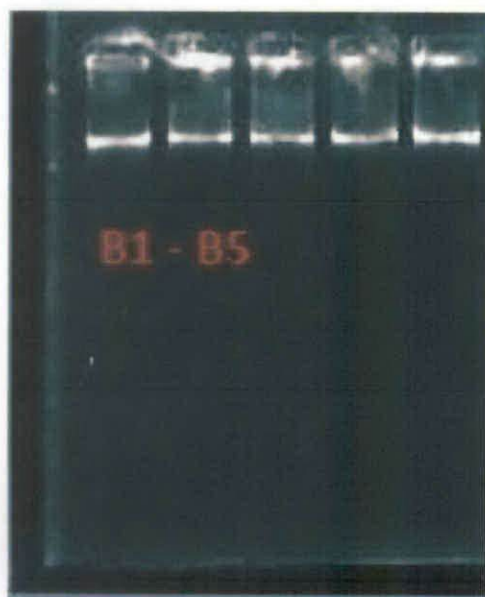
*Dikutip dari Prof. Dr.dr. Azrul Azwar, MPH, 2004

Lampiran 6. Hasil elektroforesis DNA

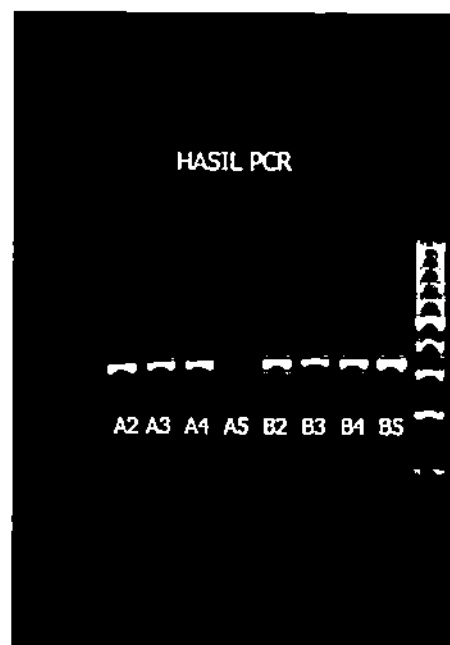
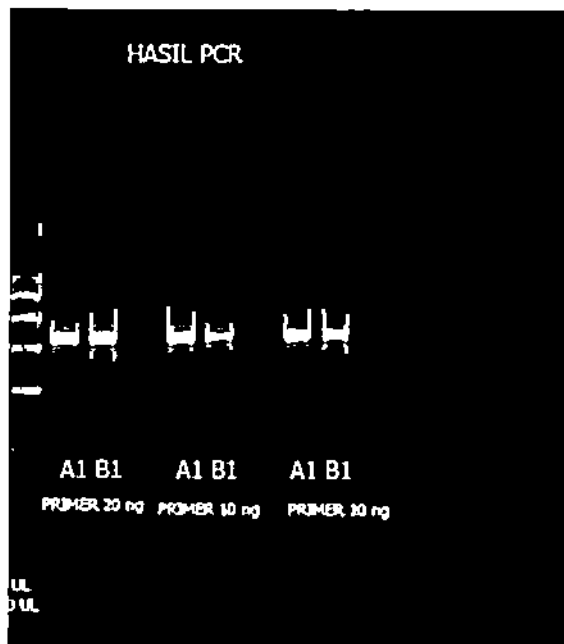
Sampel A

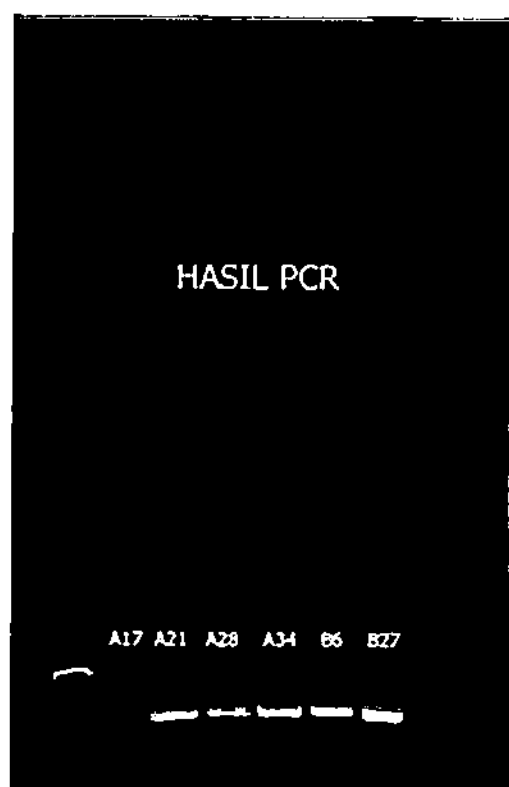
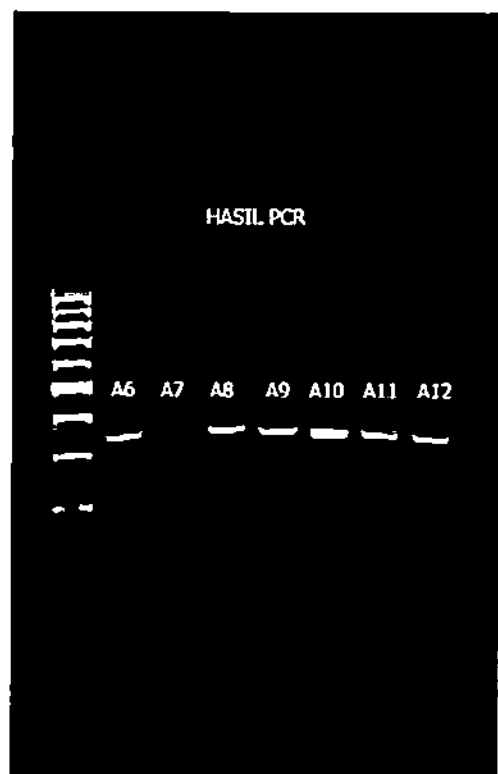


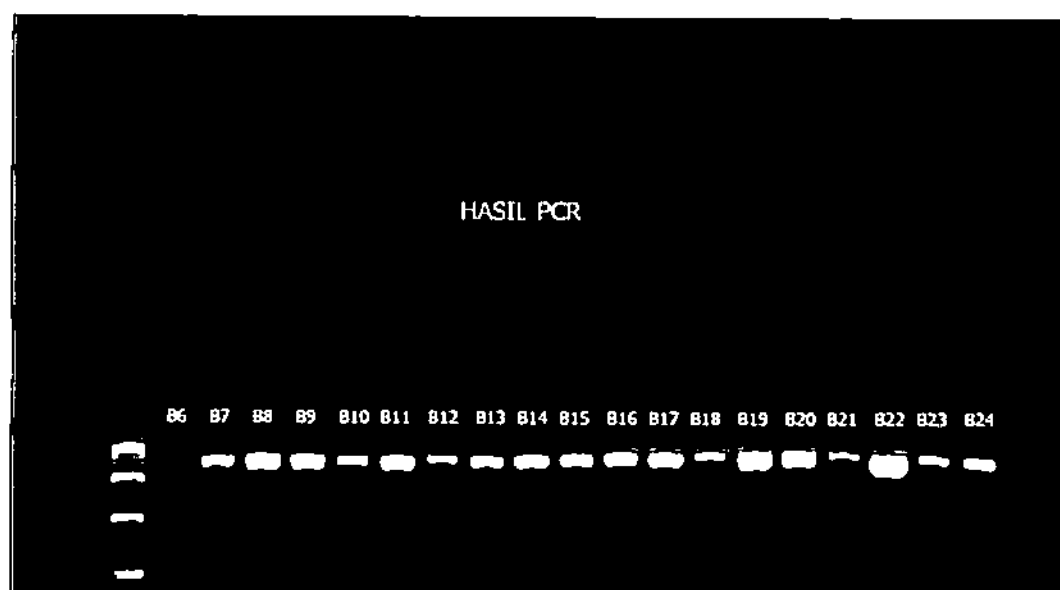
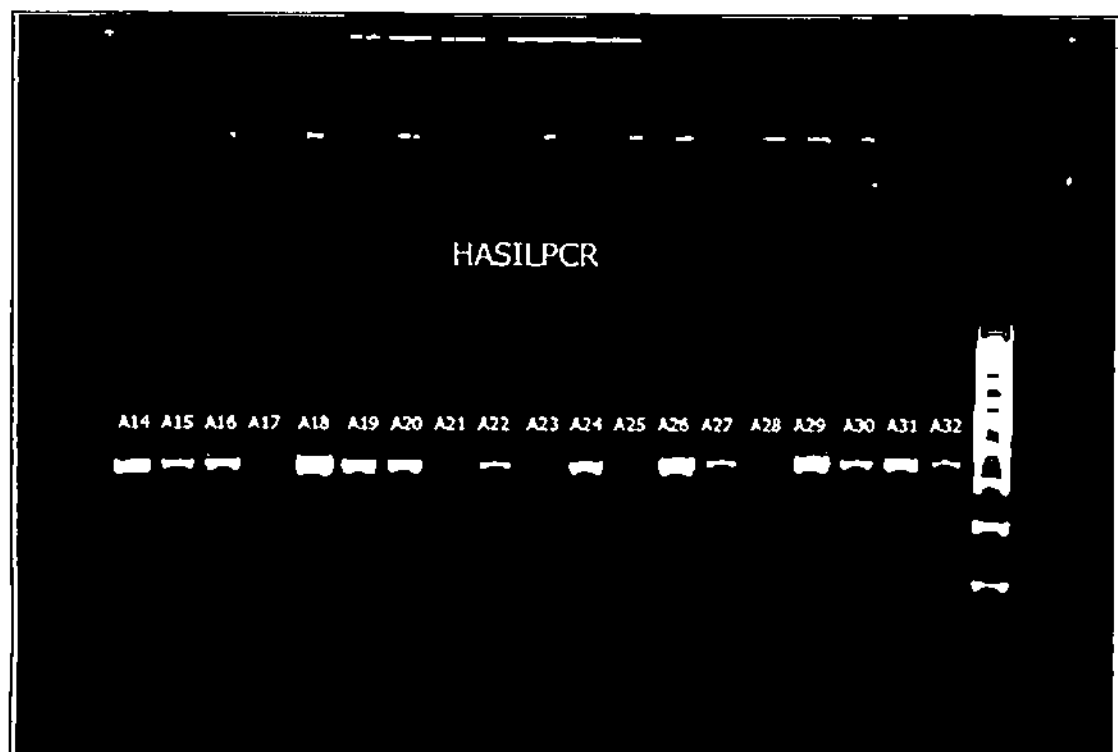
Sampel B

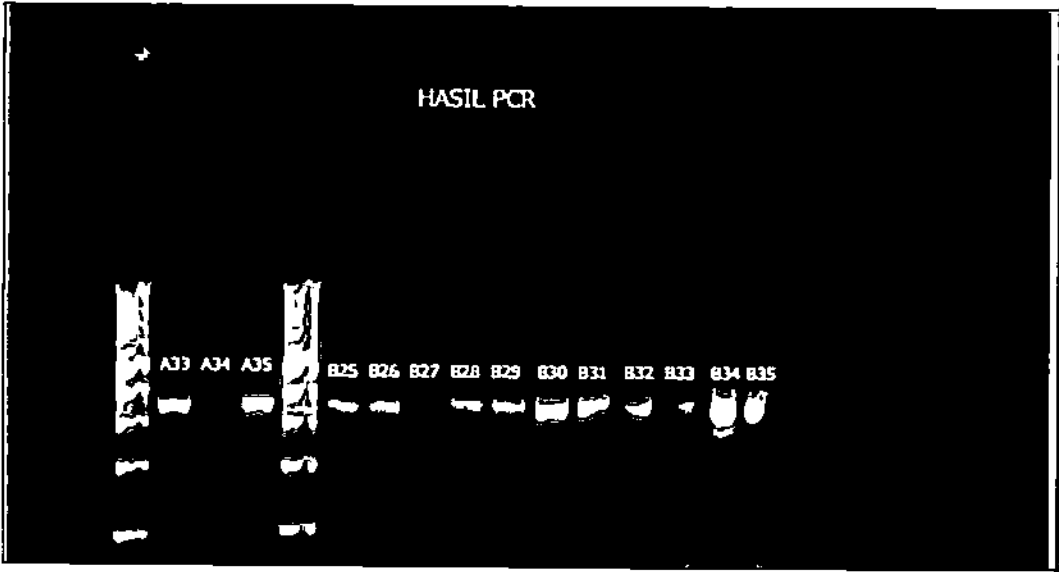


Lampiran 7. Hasil PCR









Lampiran 8. Identifikasi CYP1A1 Genbank

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/117606757?report=genbank>

Homo sapiens cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) gene, complete cds

GenBank: EF094025.1

FASTA Graphics

LOCUS EF094025 9663 bp DNA linear PRI 13-NOV-2006

DEFINITION Homo sapiens cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) gene, complete cds.

ACCESSION EF094025

VERSION EF094025.1 GI:117606757

KEYWORDS .

SOURCE Homo sapiens (human)

ORGANISM Homo sapiens
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo.

REFERENCE 1 (bases 1 to 9663)

AUTHORS Livingston,R.J., Rieder,M.J., Shaffer,T., Bertucci,C., Baier,C.N., Rajkumar,N., Willa,H.T., Stanaway,I.B., Nguyen,C.P., Gildersleeve,H., Johnson,E.J., Swanson,J.E., McFarland,I., Park,C. and Nickerson,D.A.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (30-OCT-2006) Genome Sciences, University of Washington, 1705 NE Pacific, Seattle, WA 98195, USA

COMMENT To cite this work please use: NIEHS-SNPs, Environmental Genome Project, NIEHS ES15478, Department of Genome Sciences, Seattle, WA (URL: <http://egp.gs.washington.edu>).

FEATURES

Location/Qualifiers

source 1..9663
/organism="Homo sapiens"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:9606"

repeat_region 29..306
/rpt_family="L2"
/rpt_type="dispersed"

variation 248
/frequency="0.09"
/replace="a"

variation 253
/frequency="0.01"

```

misc_feature      422..800
                  /replace="t"
                  /note="Region not scanned for variation"
variation         880
                  /frequency="0.03"
                  /replace="a"
variation         1357
                  /frequency="0.03"
                  /replace="a"
variation         1367
                  /frequency="0.01"
                  /replace="t"
variation         1479
                  /frequency="0.01"
                  /replace="t"
gene              1820..7807
                  /gene="CYP1A1"
mRNA              join(1820..1915,4233..5083,5639..5765,5853..5942,
                  6034..6157,6303..6389,6582..7807)
                  /gene="CYP1A1"
                  /product="cytochrome P450, family 1, subfamily A,
                  polypeptide 1"
repeat_region     2027..2122
                  /rpt_family="MIR"
                  /rpt_type=dispersed
variation         2090
                  /gene="CYP1A1"
                  /frequency="0.01"
                  /replace="g"
variation         2213
                  /gene="CYP1A1"
                  /frequency="0.02"
                  /replace="t"
variation         2521
                  /gene="CYP1A1"
                  /frequency="0.24"
                  /replace="t"
repeat_region     2879..2994
                  /rpt_family="MIR"
                  /rpt_type=dispersed
variation         3048
                  /gene="CYP1A1"
                  /frequency="0.01"
                  /replace="c"
variation         3395
                  /gene="CYP1A1"
                  /frequency="0.01"
                  /replace="c"
variation         3505
                  /gene="CYP1A1"
                  /frequency="0.36"
                  /replace="t"
repeat_region     3547..3657
                  /rpt_family="MIR"
                  /rpt_type=dispersed
variation         3707
                  /gene="CYP1A1"
                  /frequency="0.01"
                  /replace="a"
variation         3790

```

```

        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.01"
        /replace="a"
repeat region 3887..4073
        /rpt_family="MIR"
        /rpt_type="dispersed"
variation 3910
        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.01"
        /replace="c"
variation 4039
        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.01"
        /replace="g"
CDS join(4259..5083,5639..5765,5853..5942,6034..6157,
        6303..6389,6582..6867)
        /gene="CYP1A1"
        /codon_start=1
        /product="cytochrome P450, family 1, subfamily A,
        polypeptide 1"
        /protein_id="ABK41999.1"
        /db_xref="GI:117606758"

/translation="MLFPISMSATEFLLASVIFCLVFWVIRASRPQVPKGLKNPPGPW
GWPLIGHMLTLGKNPHLALSRMSQQYGDVLQIRIGSTPVVVLSGLDTIRQALVRQGDD
FKGRPDLYTFTLISNGQSMSFSPDSGPFVWAARRRLAQNGLKSFSIASDPASSTSCYLE
EHVSKEAEVLISTLQELMAGPGHFNPYRYVVVSVTNVICAICFGRRYDHNHQELLSLV
NLNNNFGEVVGSGNPADFIPIRLYPNPISLNAFKDLNEKFYSEMQKMVKEHYKTFEKG
HIRDITDSLIEHCQEKQLDENANVQLSDEKIINIVLDLFGAGFDTVTTAISWSLMYLV
MNPRVQRKIQEELDTVIGRSRRPRLSDRSHLPYMEAFILETFRHSSFPFTIPHSTTR
DTSLKGFYIPKGRCVFNQWQINHDQKLWVNPSEFLPERFLTPDGAIDKVLSEKVIIF
GMGKRKCIGETIARWEVFLFLAILLQRVFEFSVPLGVKVDMTPIYGLTMKHACCEHFQM
QLRS"
variation 4392
        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.04"
        /replace="a"
variation 4491
        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.02"
        /replace="c"
variation 4536
        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.01"
        /replace="a"
variation 4661
        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.01"
        /replace="t"
variation 5114
        /gene="CYP1A1"
        /frequency="0.01"

```

<u>variation</u>	/replace="a" 5128 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="g"
<u>variation</u>	5418 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="t"
<u>variation</u>	5554 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="g"
<u>variation</u>	6710 /gene="CYP1A1" /frequency="0.02" /replace="a"
<u>variation</u>	6712 /gene="CYP1A1" /frequency="0.19" /replace="g"
<u>variation</u>	6718 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="a"
<u>variation</u>	6775 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="t"
<u>variation</u>	6801 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="t"
<u>variation</u>	6803 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="g"
<u>variation</u>	7053 /gene="CYP1A1" /frequency="0.02" /replace="t"
<u>variation</u>	7210 /gene="CYP1A1" /frequency="0.03" /replace="g"
<u>variation</u>	7215 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="t"
<u>variation</u>	7226 /gene="CYP1A1" /frequency="0.03" /replace="g"
<u>variation</u>	7480 /gene="CYP1A1" /frequency="0.01" /replace="g"
<u>variation</u>	7490 /gene="CYP1A1" /frequency="0.03"

```

      /replace="c"
variation 7580
      /gene="CYP1A1"
      /frequency="0.03"
      /replace="t"
variation 7678
      /gene="CYP1A1"
      /frequency="0.05"
      /replace="a"
variation 7945
      /frequency="0.01"
      /replace="g"
repeat region 7978..8255
      /rpt_family="Alu"
      /rpt_type=dispersed
variation 8056
      /frequency="0.31"
      /replace="c"
variation 8106
      /frequency="0.01"
      /replace="c"
variation 8486
      /frequency="0.03"
      /replace="c"
variation 8500
      /frequency="0.03"
      /replace="t"
variation 8503
      /frequency="0.01"
      /replace="a"
repeat region 8515..8809
      /rpt_family="Alu"
      /rpt_type=dispersed
variation 8527
      /frequency="0.24"
      /replace=""
variation 8642
      /frequency="0.01"
      /replace="t"
variation 8658
      /frequency="0.04"
      /replace="c"
variation 8802
      /frequency="0.03"
      /replace="a"
variation 9121
      /frequency="0.01"
      /replace="t"
variation 9135
      /frequency="0.01"
      /replace="t"
variation 9205
      /frequency="0.01"
      /replace="c"
variation 9304
      /frequency="0.97"
      /replace=""
repeat region 9370..9654
      /rpt_family="L1"
      /rpt_type=dispersed

```

variation

9491

/frequency="0.02"

/replace="c"

ORIGIN

```

1  cacattgatt cttgactcca cactcctgcc tctctccgca aggccttccc tgacccccctt
61  gttttgaatt gcaatctgcc ctacacataat cegtacgect tttctgttta attttttttca
121 accgcacttt ttacctcttc acattctcta gatttggggc atattacttg tctccttcca
181 tcagaatgta aactccacga gattaggagt gctgtcagct gtgttccctt ctctgtcaat
241 cgcagcgccc tccgaacagc tcttggcaca tagtagttgc ttggtaaata tttgtgcaat
301 gcacgaggcc gcatatgacc ggaatgggag gtgaggggat tattttctgg cctggaccag
361 cgacggatgg tgggtgccacc gggttgggga gcacgtcggg gatggcgctg aacgatgtta
421 gctggggcca ggttgagcta ggcacgcaaa tacaactttt ttttccctgg aaacctgtta
481 acaggaaggt tccggaggggc gggacagcgt cggaggcagg cagctaggcc atgccaaatg
541 gcactggggc ttcgtgtcgt gccacaggcg tggaccgaaa atgcgacac atgcaggctg
601 cctctcctcg caggcagaag ccacacgcag acctagaccc tttgcaccgc atccccctat
661 tcaatcgcg acccgccacc cttegcacagt tctctccct ccaccccaac cccacgcgcg
721 gcgcgaggct ggccctttaa gagccccgcc ccgactccct ccccccctcg gtgactgca
781 gccccgcgc cgggcggggg aatgggtcgg ctgggtggct gcgcgggctt cgggtccttc
841 tcacgcaacg cctgggcacc gcgcctccgg gccagggtgg gcggggacgg gccgcctgac
901 ctctgcccc tagagggatg tcgcggcgcc acgcaagcta gccgggggta ggggtggggc
961 tcgcgcgcag gtgccccctc cgtggtccct gggcccgagt ctttccgtgg cccccgcgcg
1021 ccggatttct gtgctctgcc aatcaaagca ctagccacc cgggagccaa gagggacct
1081 caagggcccg tgggtcctgg ctggaggagc cgcgcgttgc aatcagcact aaggcgatcc
1141 tagaggctgc gaggagccgc tagtgagcgc tcagcgagcc tgccccctcg ccatccattc
1201 cgatccttca atcaagaggg gcgaacctca gctagtcgcc cgggctctgg gggacaggtc
1261 cagccccgcg gcgcctctgg ccttccggcc cccgtgacct cagggtctgg gtgcgcgcgc
1321 ttctcacgcg agccgggact cagtaacccc gggaaggagg tcaccacggg gcagccccgc
1381 cccgcctgc cgagtctctg taggtgttag cgtgggggag gcatctgcac gccagcgctt
1441 ccagtgggtg caaaaatgac gaagaggagt cccgcgcgcc caggatggag cttcccgtag
1501 cctctcttcg ggctgtcctg ggaacttctc ctcaagcccc ctctcggctt gggttctgca
1561 ctgcccttgg gacgccttgg aattgggact tccagggtgt cccagccctc acccctctat
1621 gtacaggcac cgagatgtgt cccatagtgg gttcttgccc acccgacccc ccacccccgc
1681 cgcctccgc cacccttctc tccaatccca gagagaccag cccggttcag gctgcttctc
1741 cctccatctc agctcgctcc aggggaaggag gcgtggccac acgtacaagc ccgcctataa
1801 aggtggcagt gccttcaccc tcacctgaa ggtgacagtt ccttggaaac ttccctgata
1861 cttgtgatcc caggctccaa gagtccaccc ttccagctc agctcagtac ctcagggtgag
1921 ttgctggggg acttctggct tgcccccttct ctcccaataa aaggaaacatt ttggtgcctc
1981 caggacttct taggtagcta cctgtctagc acctccaaa aaggaggctc agagtgtttt
2041 tagtgaccag gcagtctagc cccctagtgg ggaactgag gccaggggaa gaggaggact
2101 tgcccatggt cccacagctg gtaccagacc tctagatata gatggcatct cattcaggac
2161 ttcaggaccc aggtccagc tccatccctt agtgagtgtc tccctgccta ccctggggct
2221 tccccatcaa ggccacctgg caggctggaa tatgtgcagc cctccctca ggctttctga
2281 tgacaggggc ttctccttgg gtggacaggg tggatggagg ggggtgggctg ggttcttacc
2341 agctgtaccc tgccctagcc taagaagcta cccctggcag attttacct cctaagggtg
2401 gcttgtcagt gctgagatgt cctagacagc tgggacaata gaggcagatc tgtgcaggag
2461 tcccaggcct ttctatctc attgaccatc ttcttgtcc tttgctggga gacaatcagg
2521 gtgacagatt gccaaactgca gggagctgga aataaccagtc cctaaaaact caccagtcac
2581 atctcccttg gcctcctacc atcttcaaaa ggctgcaggt ccttgggata cccactgtgc
2641 agaaggggac accatagcac accaaagcct ggcaactgtc cctgttgact cagggatcta
2701 gtgtgctttg atatttagcc cctccaggaa gcctccctcc actataatac ttgtggtagg
2761 aaccatccat ctccctgtct tgtgaggttc tcctgtgggg agcctaactg gtaagactgt
2821 caggttcccc acagcagatc tgggttttct ctccctctg gatccagctg ggtactctga
2881 actgagagat cttgtcttac cctctctcag atgttgaaat tggaccccag aaaagtaaaa
2941 tgtgcagtc aagatcaact tgactagaat gttgggtcta ctgacctcta gtccagggta
3001 acaggcagag atgcctgata tgttgagag agtggtttat gaatttaaac acccttttta
3061 ggtcaagctt acagagaaag tattgcctca gtttcccttc agtttagatc cattcctgat
3121 ttccctgatt ccagtctggg gttttcttac agcctagtgg gaaccttcca tttattctct
3181 gctctctggt aacctgcaaa agggggagggt ccaaactgtt cattcattga gaattgagcc
3241 aaaaaaaaaa cctggcctgg atttctctga ctaaagagct caatctagct ggtctccagc
3301 tgcctttaaa ctgtggatca gttgaactca gagagctggg gctgaaagca atgtggtttg

```


3361 ggaagtggcc atcctgtccc ctatctcttc ctcagtctgt cctgggggtct ggtgggattt
 3421 cctgcatcct gggattgagc agcagagaac tgaggggtct gggaaaattc cttcattgat
 3481 ctgaccactc ttcaaaagga ggtacatgtg acagcagctg gaaatttcca ggaagtgtc
 3541 cctaaggagt ctgagtcctg gctctgtcac tgattgctgg gggactttgg acaagtgcg
 3601 gctgcttccc ccaaagtta aatgaggcta aaggatcaga tgatccctaa tccccctgag
 3661 aacatgattt tctaagtgt ggtgggtagg actcgggggtg atacaccttg attatgtgtt
 3721 tattttaatg tgttagggga aaaatcaaac ttgtactttc acatagatat tgtttatgat
 3781 gatatgtagg tagatttaaa gttgatttta ggaaaatgtg aagtaataaa cagtactggt
 3841 actatgtgga aatcacagat tgacattgga agatgtcagt ttagattggt acagcagtta
 3901 agagaaagcg ttctggaatt aggcaacttg gcttgggagt ctgcatccaa cactttctgg
 3961 ctgtgtgacc ttgggcaagt tacttacctt ctctgagcct cattgcaggc tacttcatag
 4021 atttgtggcc agggctgaat gaagaaggac tgtgaaattc ttagcccaca gtggtagttc
 4081 aacaacttct cccacactca ccctcttctt catgccagt aagcagttct ggtggaaagg
 4141 tttccctttt ccctgacact ctagatattg gcttttctca tcccccaatc tgacggcttg
 4201 actttttttt ttctgcacc ttctctcagc agccacctcc aagatcccta cactgatcat
 4261 gcttttccca atctccatgt cggccacgga gtttcttctg gcctctgtca tcttctgtct
 4321 ggtattcttg gtaatcaggg cctcaagacc tcaggtcccc aaaggcctga agaatccacc
 4381 agggccatgg ggtggcctc tgattgggca catgctgacc ctgggaaaga acccgacct
 4441 ggcactgtca aggatgagcc agcagtatgg ggacgtgctg cagatccgaa ttggctccac
 4501 acccgtgggt gtgctgagcg gctggacac catccggcag gccctggtgc ggcagggcga
 4561 tgatttcaag ggcgggcccg acctctacac cttcacctc atcagtaatg gtcagagcat
 4621 gtccttcagc ccagactctg gaccagtgtg ggtgcccgc cggcgccctg ccagaaatgg
 4681 cctgaaaagt ttctccattg cctctgacce agcctctca acctctgct acctggaaga
 4741 gcatgtgagc aaggaggctg aggtcctgat aagcacgttg caggagctga tggcagggcc
 4801 tgggcacttt aacccctaca ggtatgtggt ggtatcagtg accaatgtca tctgtgccat
 4861 ttgctttggc cggcgctatg accacaacca ccaagaactg cttagcctag tcaacctgaa
 4921 taataatttc ggggaggttg ttggctctgg aaaccagct gacttcatcc ctattctctg
 4981 ctacctacc aaccttccc tgaatgcctt caaggacctg aatgagaagt tctacagctt
 5041 catgcagaag atggtcaagg agcactacaa aacctttgag aaggtacagt ctgggaaag
 5101 gcaggtgggt ggtgggaagc agatggcatc agggcctggg aggtcaaagg taagaggaaac
 5161 tgcatggggc ttggcaagtt ctcaggaagg cttcaacctg ggatcttgaa gccagttgtg
 5221 gaatagtctt cttccttggc agggaaatag aactttatct tgactaacco ttcctatgctt
 5281 ccacagacag caatagccac tgaagagtca ttacatgcag gacctggggg cagttgctga
 5341 gggagccagg aagagttaaa gagttcatct cctggcctca taatagaaag aagataaaga
 5401 gcacatccag atgataacag tacaagacgc tgtgtgtcaa atgtcccatg agttggggct
 5461 agcagcattc taaggtagta ggagagagcc ttgcagaggc agagagaagc tgggacaaca
 5521 gcctcagggg gcatcacctc cagaacaaat gtgctaggaa tagtgaagga ccagacctgg
 5581 atggagaggt agctctgggt ttgagatctt gctcacctgt ggactttccc tacctaaggg
 5641 ccacatccgg gacatcacag acagcctgat tgagcactgt caggagaagc agctggatga
 5701 gaacgccaat gtccagctgt cagatgagaa gatcattaac atcgtcttgg acctctttgg
 5761 agctggtatg gttaccccat tgtgtccttc ctgtgtcaa gtgcccagac ctgctgtctg
 5821 ctgcctaact tcttctgttc taccctgtcc agggtttgac acagtcacaa ctgctatctc
 5881 ctggagcctc atgtatttgg tgatgaacct cagggtagag agaaagatcc aagaggagct
 5941 aggtaggtag tggctccctt caaaggggtc agtggcaggg gtctggccag gctaggcag
 6001 cccctgcatc catcttgtcc ctgtgttctg cagacacagt gattggcagg tcacggcggc
 6061 cccggtcttc tgacagatcc catctgccct atatggaggc cttcatcctg gagaccttcc
 6121 gacactcttc cttcgtcccc ttcaccatcc cccacaggta aggcccatg gagccactgc
 6181 tgtctgttac tgatcttact ccggaccaca tacctgatta gggtagtgag gagggacacg
 6241 gcatgggaga caggagatt tgctgttgc cctgagcctg actgagcttc ctttctccct
 6301 agcacaacaa gagacacaag tttgaaaggc ttttacatcc ccaagggcg ttgtgtctt
 6361 gtaaaccagt ggcagatcaa ccatgaccag taagttcaga gatgcagagg aaaggctggg
 6421 tccacctctc taagctctta tatatgatta atacaatcat tgcattgatc ctctgtcca
 6481 tgggtgctt gctgtcttc tatcctttgg ggtggagct ccactcactt gacacttctg
 6541 agccctgaac tgccacttca gctgtctccc tctggttaca ggaagctatg ggtcaacca
 6601 tctgagttcc tacctgaacg gtttctcacc cctgatggtg ctatcgacaa ggtgttaagt
 6661 gagaagggtg ttatctttgg catgggcaag cggaagtgtg tcggtgagac cattgcccgc
 6721 tgggaggtct ttctcttctt ggctatcctg ctgcaacggg tggaaatcag cgtgccactg
 6781 ggcgtgaagg tggacatgac ccccatctat gggctaacca tgaagcatgc ctgaggccta
 6841 cacttccaaa tgcagctgcg ctcttaggtg cttgagagcc ctgaggccta gactctgtct
 6901 acctggtctg gttgggcagc cagaccagca ggctggccta tgtggtctaa ggttcagcct

6961 gaaactcata gacactgac tggctgcagt ttgtctatct gggctgtggg caagcctaag
 7021 ggatcctgcc tgcctctacc ctggacttgc ctctgcacac cctccagaga caacaggtaa
 7081 aacagggcca catagatgct gatggagcct tcccaagttg tgcttgagcc agggaggcctg
 7141 ctaggggttag gaggtcctta ggctctgag aagctctgaa gaactctctg gaagccctg
 7201 ggcccagtac ctactgtgct ctgtgagggg gctgactggc ttcagcaagt tagaactagc
 7261 caaaccagga cctgttccaa tctttgacaa ttgggagctg ccaagagtga agggaagaga
 7321 cagcccagga tactggcaca gaggtagtct cactgcttga actaggctga gcaatctgac
 7381 cctatgggtc taggacacag ttcttgggaa catcacatc ctctgccctt cctgcaggca
 7441 ggaacaaaca gggctgcctt ctggccttgt aagaccctta ttgtctctct ggaggggctg
 7501 gggacttgtg tctgcgggga tcagagcgca caggagagtgc acatatccag gcaccaggac
 7561 tagggctgga gtgagggggg ggtatttcaa ttactctcta ttggtctccc ttctctacac
 7621 tcttgtaata aaatgtctat ttttaatgtt tgtacacaac aatccttcta ttctagcctg
 7681 cattgagctt gcatgcttgc ataagagctt aagaaccatt gatttaatgt aatagggaaa
 7741 attctaacc cctataggtg gagatttttt gaatacactac ctgagctaaa taaagatatt
 7801 gttcagaaat cctataggtg gagatttttt gaatacactac ctgagctaaa taaagatatt
 7861 tactcaccct gaaccccatc ctgtgttggg ttttactgta gggaggaaga agaggaggta
 7921 gcagtgaaga ggtgtagccg ctgcacttaa gcagtctgtt tgagggacaa gactctatct
 7981 tttagacacg ggtccccagg tcatccagge tggagtgcac tggtagcatt ttgtttcact
 8041 gtaacctcca cctcctgggc tcacacgatt ctcccacctc agcctctgag tagttggggc
 8101 cgcaggcaca cgccaccaca gctttttttt tttttttttt ttttttttgt agagatgggg
 8161 ttaccacatg ttgcccagge tgggtctcaaa ctctgagct caagtgatcc acctgectca
 8221 gcctcccaaa gtgctgggat tacaggcatg agacaagact cctaactcact gtgctgactt
 8281 acgcccctct taacttatca caaattgatg aagcgtatc tccgaattag gcaataaggg
 8341 tatcaagtga atatagtaca gtccctgctt tcaagaacct cctaccagac agatgcatac
 8401 tgacacataa acacatcatt caattcattg tggtcagAAC tctaccagac agatgcatac
 8461 gggaggtggg gtccagagge tgggttgggg agtgggcacc gcgagatttc caggtctttt
 8521 tttttttgag acggagtctc actgtgtcgc ccaggctgga gtgcagtggc gcgagatttc
 8581 ctactgcaa gctctgcctc cggcgttcac accattctcc tgcctcagcc tcccaagtag
 8641 ccgggactac aggcgcctgc caccacaccc ggctaatttt ttgtatttt tagtagagat
 8701 ggggtttcac catgttagcc aggatggtct cgatctctg acctcctgat ccgccacct
 8761 cggcctccca aagtgtggg attacaggcg tgagccacca cggccggctc caggtcttga
 8821 gactatctga gccaaagcct ccttgaagga tgagagacag tctttcattt gggactgata
 8881 gcattagatg ctgaagtcca agtgggtagg ctctggtcac agttttgtgg ggagaggggt
 8941 tctcagctca gcagttgtaa tctgtgtctc actcttcatg ccttggcgtg ggttctacaa
 9001 tcacattaga accacatct caatgtgaa agccctgtc catctgagat ggcagagtgg
 9061 tgggtgatgcc aagtatggca gaggtgaa cccatagcc aggagctgaa gggagacaca
 9121 ccttgggatg tgacctcct accccacccc agaccagctt tcttctgaa gcattgcgta
 9181 gtggccagca gttgtgttcc atgcaccgtg gctcccgtc accaggagct tcaggctact
 9241 gcaaggaaca accaagctga agtcagctgc ggcaacctgc tttgtgcagc ggcggccggg
 9301 ggggatgaga aatttgggtg tcaatcattc ttgtagtgt ttatatattt tacttaaaact
 9361 ataacttgca tttatgtat atacataaac aagccatgaa agcatgctac gtgaaagaag
 9421 ccagacacaa aaggcgtgt attgtatgac tccatgtgta tgaaaagttc agaataaggta
 9481 aatttatagg gacagaaagt agatgagagg ttgccaggga atgtggggca gggagaattg
 9541 ggagatgcag agtttactta ggggtgatgg aaatattcta gaattagata gtggtgatgg
 9601 ttgaacagct ttgtgaatat actaaaaacc agtgacttat gcagttcaaa atggcttaaa
 9661 tgg

Lampiran 9. HASIL BLAST SAMPEL A1

BLAST® By NCBI

[Home](#) [Recent Results](#) [Saved Strategies](#) [Help](#) [Sign In](#) [Registered](#)

NCBI BLAST/blastn suite/Formatting Results - PKU49VJJ014

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#) [You](#) [Info](#) [How to read this page](#) [Blast report description](#)

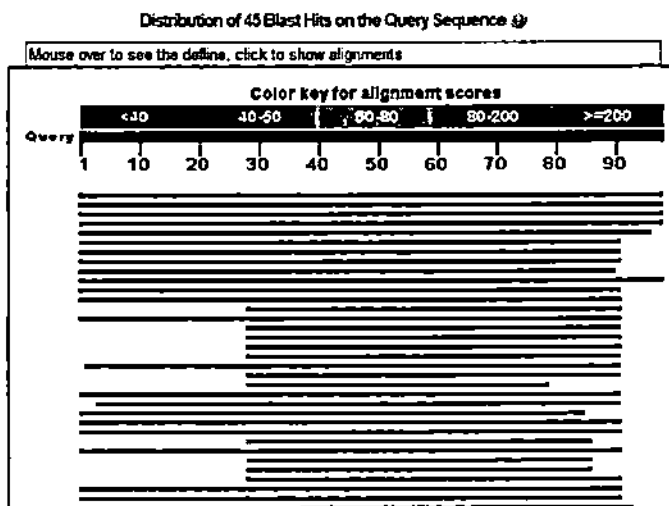
A1

RID: PKU49VJJ014 (Expires on 05-08 16:02 pm)

Query ID: Id123343 Database Name: nr
 Description: None Description: Nucleotide collection (nr)
 Molecule type: nucleic acid Program: BLASTN 2.2.29+ [P Citation](#)
 Query Length: 98

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance trees of results](#)

Graphic Summary



Descriptions

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐ Homo sapiens CYP1A1, CYP1A2 locus, having a bidirectional 5' flank promoter of exactly	176	176	100%	3e-41	99%	U008431.1
☐ Homo sapiens cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) gene, con	176	176	100%	3e-41	99%	EF094025.1
☐ Homo sapiens chromosome 15, clone RP11-414J4, complete sequence	176	176	100%	3e-41	99%	AC091230.23
☐ Homo sapiens cytochrome P450 (CYP1A1) and cytochrome P450 (CYP1A2) genes, comp	176	176	100%	3e-41	99%	AF253322.1
☐ Homo sapiens gene for cytochrome P450A1, 3' flanking region	172	172	97%	4e-40	99%	D12525.1
☐ Human DNA sequence from clone RP11-388K2 on chromosome 20, complete sequence	97.1	97.1	92%	2e-17	86%	AL121584.24
☐ Pongo abelii chromosome UNK clone CH276-B1H12, complete sequence	91.6	91.6	92%	1e-15	85%	AC168112.1
☐ Homo sapiens PAC clone RP5-1158B1 from 7q11.2-q22, complete sequence	91.6	91.6	92%	1e-15	85%	AC004980.5
☐ Homo sapiens chromosome 17, clone RP11-807C20, complete sequence	89.8	89.8	91%	4e-15	85%	AC055039.9
☐ Human DNA sequence from clone RP3-776F14 on chromosome 20p12.2-13, complete s	87.9	87.9	100%	1e-14	83%	AL109658.5
☐ Homo Sapiens gene for CYP1A1, 3' flanking region, complete sequence	86.4	86.4	92%	5e-11	84%	U008431.1

Alignments

Download ▾ GenBank Graphics

▼ Next ▲ Previous ▲ Descriptions

Homo sapiens CYP1A1_CYP1A2 locus, having a bidirectional 5' flank promoter of exactly 23,306 bp (CYP1A1-CYP1A2), RefSeqGene on chromosome 15

Sequence ID: [gb|NG_008421.1](#) Length: 41003 Number of Matches: 1

Range 1: 1710 to 1807 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
176 bits(95)	3e-41	97/98(99%)	0/98(0%)	Plus/Minus
Query 1	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACTCCCGGGCTCACAG 60			
Subject 1807	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACTCCCGGGCTCACAG 1749			
Query 61	ATTCTCCCACTCAGCCTCTGAGTAGTTGGGGCCGAG 98			
Subject 1747	ATTCTCCCACTCAGCCTCTGAGTAGTTGGGGCCGAG 1710			

Related Information

[Map Viewer](#) - aligned genomic context

Download ▾ GenBank Graphics

▼ Next ▲ Previous ▲ Descriptions

Homo sapiens cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) gene, complete cds

Sequence ID: [gb|EF094025.1](#) Length: 9663 Number of Matches: 1

Range 1: 8008 to 8105 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
176 bits(95)	3e-41	97/98(99%)	0/98(0%)	Plus/Plus
Query 1	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACTCCCGGGCTCACAG 60			
Subject 8008	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACTCCCGGGCTCACAG 8067			
Query 61	ATTCTCCCACTCAGCCTCTGAGTAGTTGGGGCCGAG 98			
Subject 8068	ATTCTCCCACTCAGCCTCTGAGTAGTTGGGGCCGAG 8105			

Related Information

[Gene](#) - associated gene details
[GEO Profiles](#) - microarray expression data
[Map Viewer](#) - aligned genomic context

Download ▾ GenBank Graphics

▼ Next ▲ Previous ▲ Descriptions

Homo sapiens chromosome 15, clone RP11-414J4, complete sequence

Sequence ID: [gb|AC091230.23](#) Length: 206482 Number of Matches: 1

Range 1: 154619 to 154716 GenBank Graphics

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
176 bits(95)	3e-41	97/98(99%)	0/98(0%)	Plus/Plus
Query 1	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACTCCCGGGCTCACAG 60			
Subject 154619	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACTCCCGGGCTCACAG 154678			
Query 61	ATTCTCCCACTCAGCCTCTGAGTAGTTGGGGCCGAG 98			
Subject 154679	ATTCTCCCACTCAGCCTCTGAGTAGTTGGGGCCGAG 154716			

Related Information

[Map Viewer](#) - aligned genomic context

HASIL BLAST SAMPEL A27

BLAST® My NCBI 

[Home](#) [Recent Results](#) [Saved Strategies](#) [Help](#) [Sign In \(Required\)](#)

NCBI/BLAST/blastn suite Formatting Results - PKUN7VTF014

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#) [You \(0/0\)](#) [How to read this page](#) [Blast report description](#)

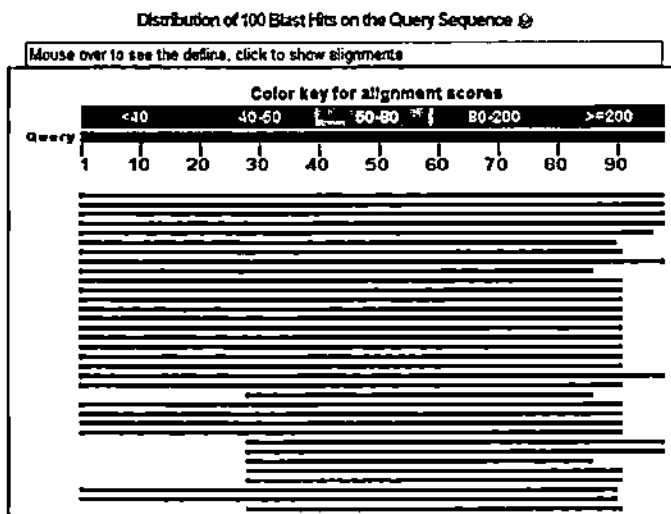
A27

RID: **PKUN7VTF014** (Expires on 05-08 16:11 pm)

Query ID: **Id|3891** Database Name: **nt**
 Description: **None** Description: **Nucleotide collection (nt)**
 Molecule type: **nucleic acid** Program: **BLASTN 2.2.29+** [Citation](#)
 Query Length: **98**

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#)

Graphic Summary



Descriptions

Sequences producing significant alignments:

Select [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments							
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Homo sapiens CYP1A1, CYP1A2 locus, having a bidirectional 5' flank promoter of exons 2,3,5	182	182	100%	6e-43	100%	NG_008431.1
☐	Homo sapiens cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) gene, complete	182	182	100%	6e-43	100%	EF094025.1
☐	Homo sapiens chromosome 15, clone RP11-414J4, complete sequence	182	182	100%	6e-43	100%	AC091239.23
☐	Homo sapiens cytochrome P450 (CYP1A1) and cytochrome P450 (CYP1A2) genes, complete	182	182	100%	6e-43	100%	AF253322.1
☐	Homo sapiens gene for cytochrome P450A1, 3' flanking region	178	178	97%	8e-42	100%	D12525.1
☐	Homo sapiens chromosome 17, clone RP11-607C20, complete sequence	95.3	95.3	91%	8e-17	86%	AC055839.9
☐	Homo sapiens 3P4CRP13-8108 (Roswell Park Cancer Institute Human PAC Library) contig	91.6	91.6	92%	1e-15	85%	AC023981.28
☐	Homo sapiens chromosome 17, clone RP11-452M15, complete sequence	87.9	87.9	100%	1e-14	83%	AC068531.9
☐	Human chromosome 14 DNA sequence PACR-114015 of library RPC1-11 from chromosome	87.9	87.9	87%	1e-14	65%	AL591770.3
☐	Homo sapiens gamma-glutamyl hydrolase (convase, leucine gamma-glutamyl hydrolase)	86.1	86.1	92%	5e-14	84%	NG_028126.1
☐	Homo sapiens membrane-bound transcription factor, peridase, site 2 (MATP2) RefSeqGene	86.1	86.1	92%	5e-14	84%	NG_012797.1

Alignments

Download GenBank Graphics

Next Previous Descriptions

Homo sapiens CYP1A1, CYP1A2 locus, having a bidirectional 5' flank promoter of exactly 23,308 bp (CYP1A1-CYP1A2),
RefSeqGene on chromosome 15

Sequence ID: [g81NG_008431.1](#) Length: 41009 Number of Matches: 1

Range 1: 1710 to 1807 GenBank Graphics

Related Information

[Map Viewer](#) - aligned genomic
context

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
182 bits(98)	6e-43	98/98(100%)	0/98(0%)	Plus/Minus
Query 1	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACCTCTCTGGGCTCAGCG 60			
Subject 1807	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACCTCTCTGGGCTCAGCG 1749			
Query 61	ATTCTCCCACTTCAGCCTCTGAGTASTTGGGGCCGCG 98			
Subject 1747	ATTCTCCCACTTCAGCCTCTGAGTASTTGGGGCCGCG 1720			

Download GenBank Graphics

Next Previous Descriptions

Homo sapiens cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) gene, complete cds

Sequence ID: [gb|EF094025.1](#) Length: 9663 Number of Matches: 1

Range 1: 8008 to 8105 GenBank Graphics

Related Information

[Gene](#) - associated gene details
[GEO Profiles](#) - microarray
expression data
[Map Viewer](#) - aligned genomic
context

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
182 bits(98)	6e-43	98/98(100%)	0/98(0%)	Plus/Plus
Query 1	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACCTCTCTGGGCTCAGCG 60			
Subject 8008	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACCTCTCTGGGCTCAGCG 8067			
Query 61	ATTCTCCCACTTCAGCCTCTGAGTASTTGGGGCCGCG 98			
Subject 8068	ATTCTCCCACTTCAGCCTCTGAGTASTTGGGGCCGCG 8105			

Download GenBank Graphics

Next Previous Descriptions

Homo sapiens chromosome 15, clone RP11-414J4, complete sequence

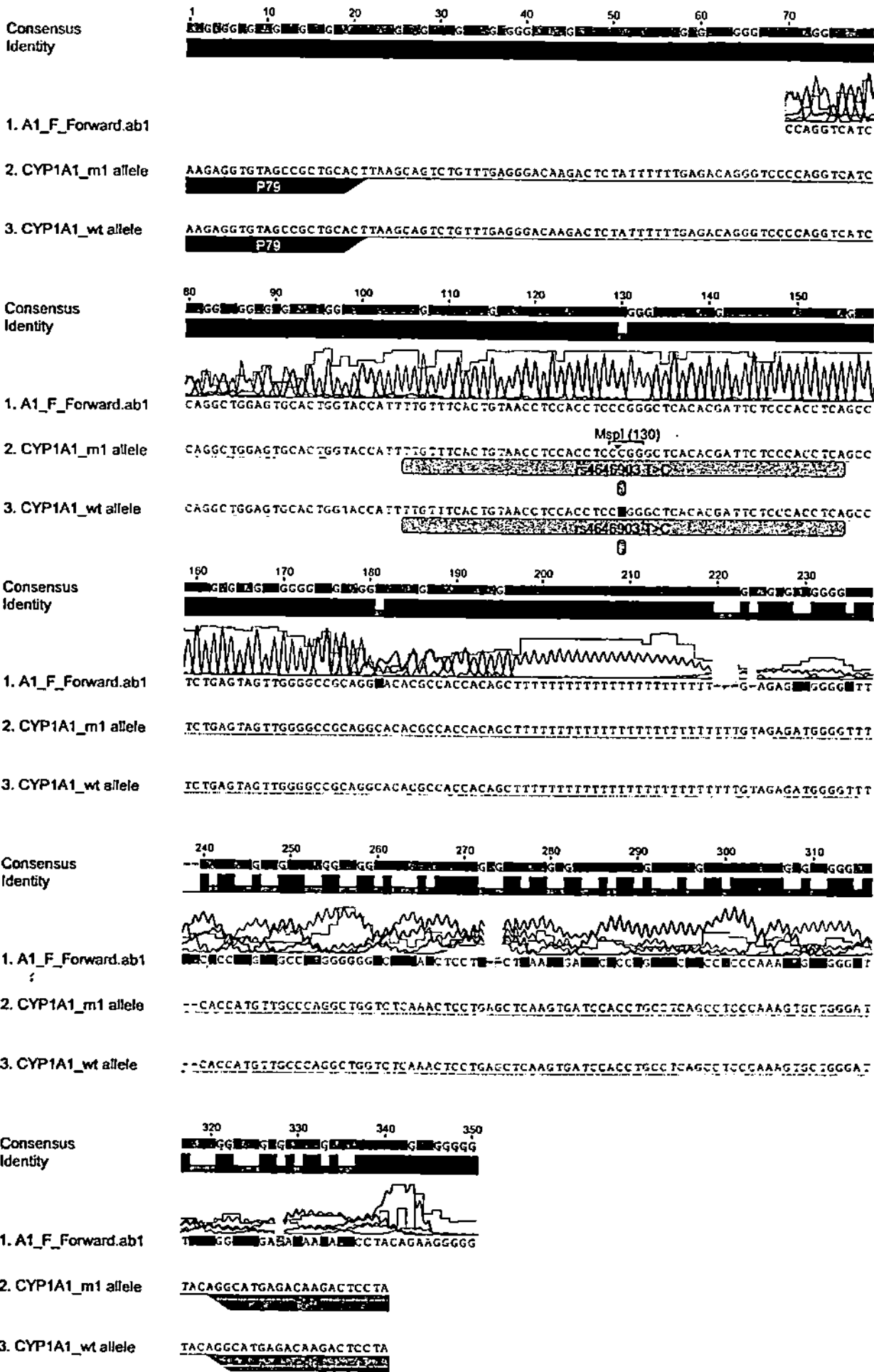
Sequence ID: [gb|AC091230.23](#) Length: 205482 Number of Matches: 1

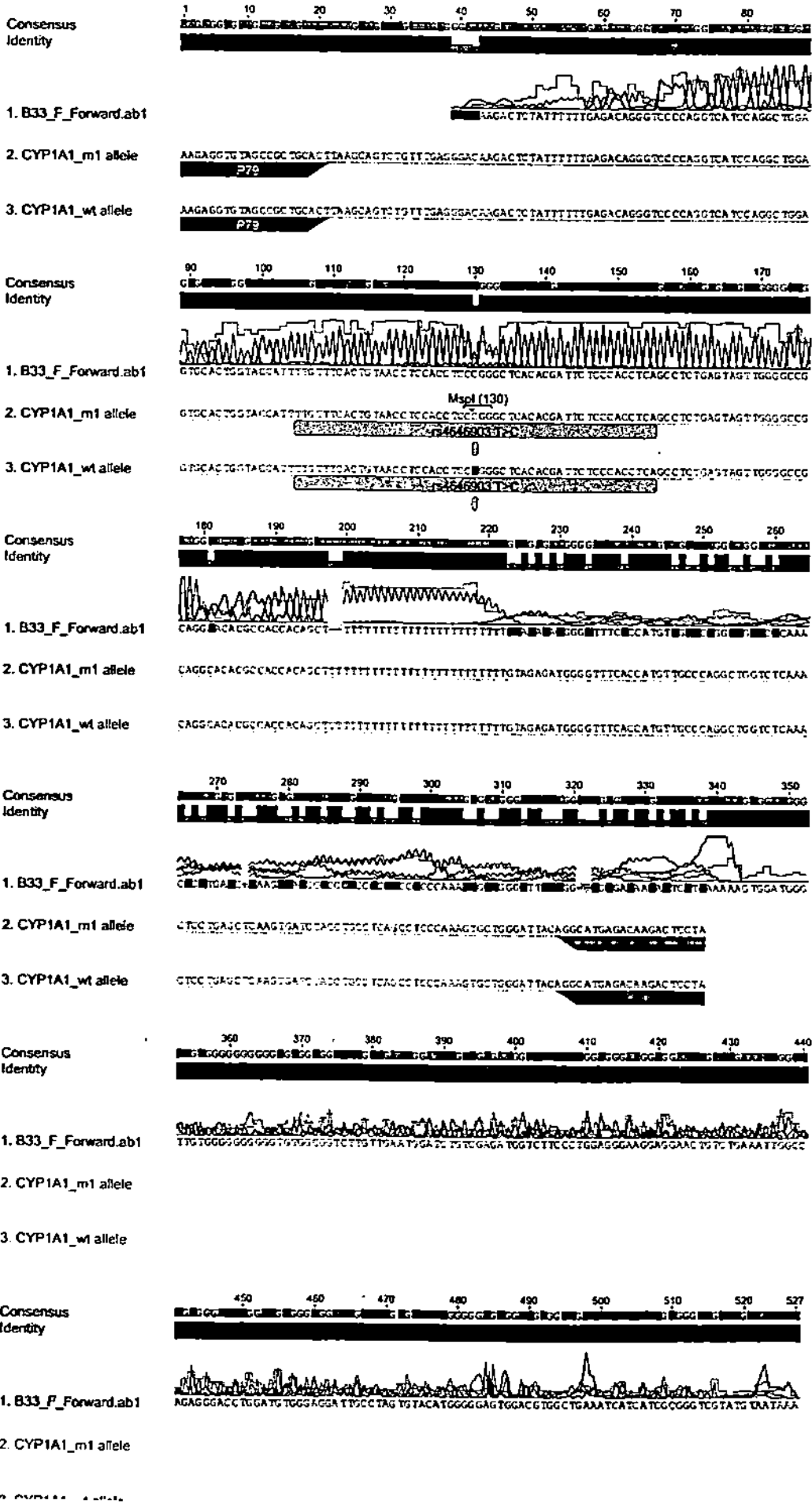
Range 1: 154619 to 154716 GenBank Graphics

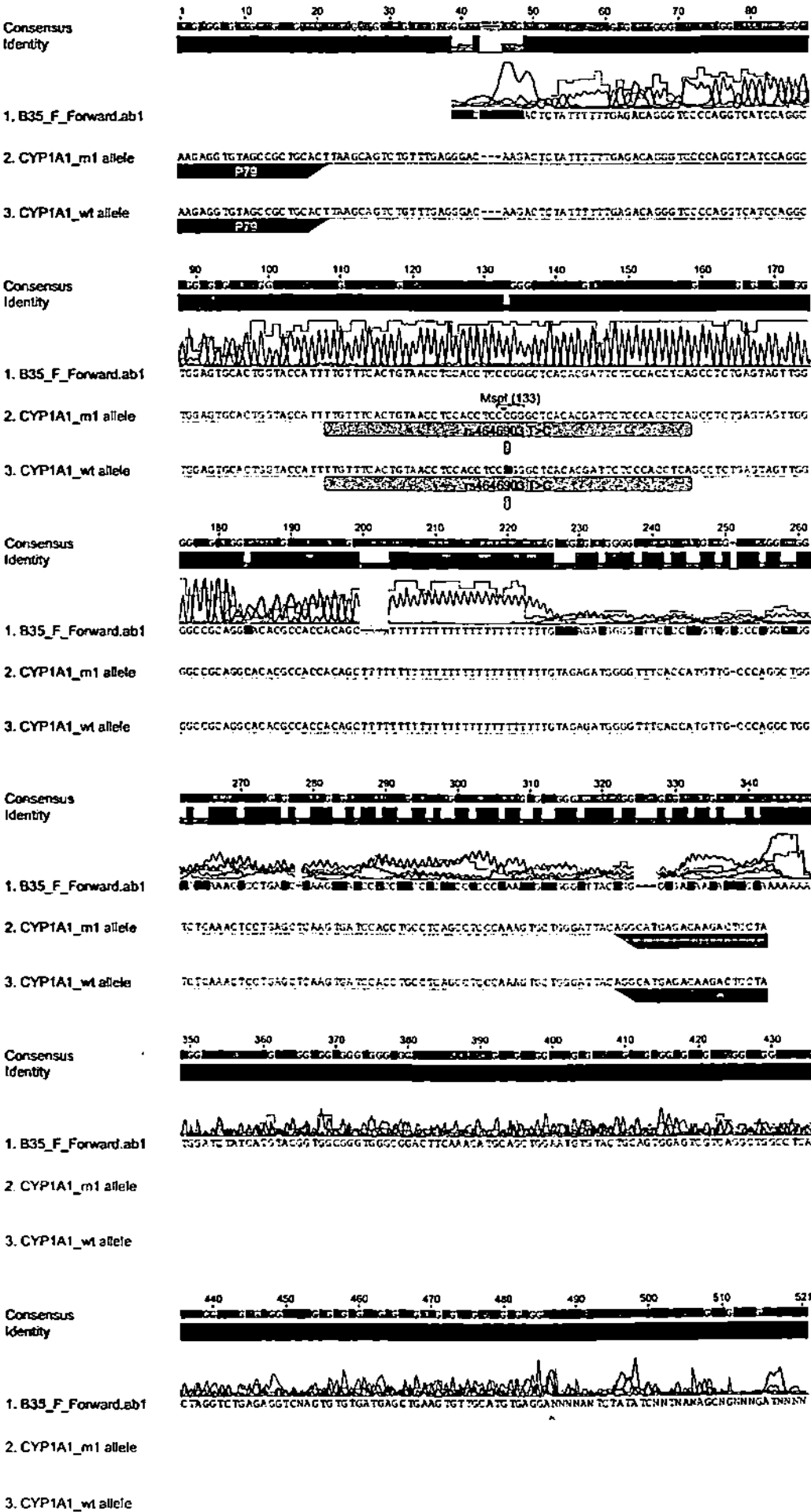
Related Information

[Map Viewer](#) - aligned genomic
context

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
182 bits(98)	6e-43	98/98(100%)	0/98(0%)	Plus/Plus
Query 1	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACCTCTCTGGGCTCAGCG 60			
Subject 154619	GGCTGGAGTGCACCTGGTACCAATTTGTTTCACTGTAACTCCACCTCTCTGGGCTCAGCG 154678			
Query 61	ATTCTCCCACTTCAGCCTCTGAGTASTTGGGGCCGCG 98			
Subject 154679	ATTCTCCCACTTCAGCCTCTGAGTASTTGGGGCCGCG 154716			







1 10 20 30 40 50 60 70 80

1. CYP1A1_m1 allele

AAGAGGTGTAGCCGCTGCACCTTAAGCAGTCTGTTTGAGGGACAGACCTTAITTTTGTGACACAGGCTCCCAGGTCAATCCAGGCT
P79

- 2. A1_F_Forward.ab1
- 3. A27_F_Forward.ab1
- 4. A29_F_Forward.ab1
- 5. A31_F_Forward.ab1
- 6. A32_F_Forward.ab1
- 7. B9_F_Forward.ab1
- 8. B22_F_Forward.ab1
- 9. B30_F_Forward.ab1
- 10. B33_F_Forward.ab1
- 11. B35_F_Forward.ab1

GGCT
GGCT
GGCT
GGCT
GGCT
GGCT
GGCT
GGCT
GGCT
GGCT
GGCT

90 100 110 120 130 140 150 160 170

MspI (130)

1. CYP1A1_m1 allele

GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG

- 2. A1_F_Forward.ab1
- 3. A27_F_Forward.ab1
- 4. A29_F_Forward.ab1
- 5. A31_F_Forward.ab1
- 6. A32_F_Forward.ab1
- 7. B9_F_Forward.ab1
- 8. B22_F_Forward.ab1
- 9. B30_F_Forward.ab1
- 10. B33_F_Forward.ab1
- 11. B35_F_Forward.ab1

GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG
GGAGTGCAC TGGTACCA TTTTGTTTCTACTGTAACCTCCACCTCCGGGGCTCACAGATTCTCCACCTCAGCCCTCTGAGTAGTTG

180 190 200 210 220 230 240 250

1. CYP1A1_m1 allele

GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGTAGAGATGGGGTTTCACCA TGTGCCCAGGCT

- 2. A1_F_Forward.ab1
- 3. A27_F_Forward.ab1
- 4. A29_F_Forward.ab1
- 5. A31_F_Forward.ab1
- 6. A32_F_Forward.ab1
- 7. B9_F_Forward.ab1
- 8. B22_F_Forward.ab1
- 9. B30_F_Forward.ab1
- 10. B33_F_Forward.ab1
- 11. B35_F_Forward.ab1

GGGCCGCGAG
GGGCCGCGAG
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC TT
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC TT
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC T
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC TT
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC TT
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC T
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC
GGGCCGCGAGGCACAGCCACCACAGC

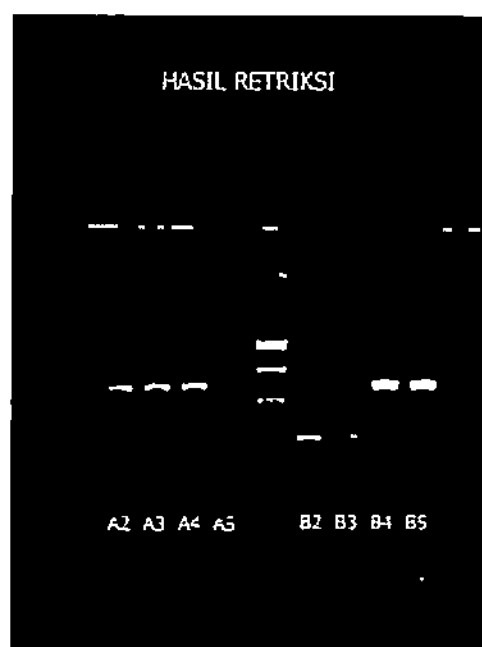
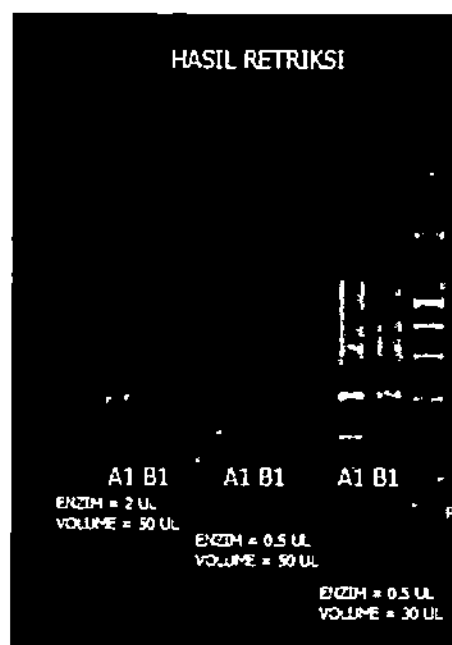
260 270 280 290 300 310 320 330 338

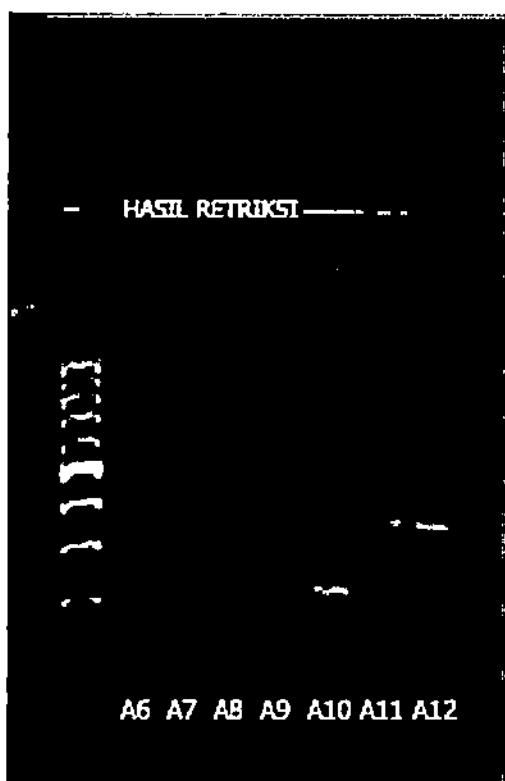
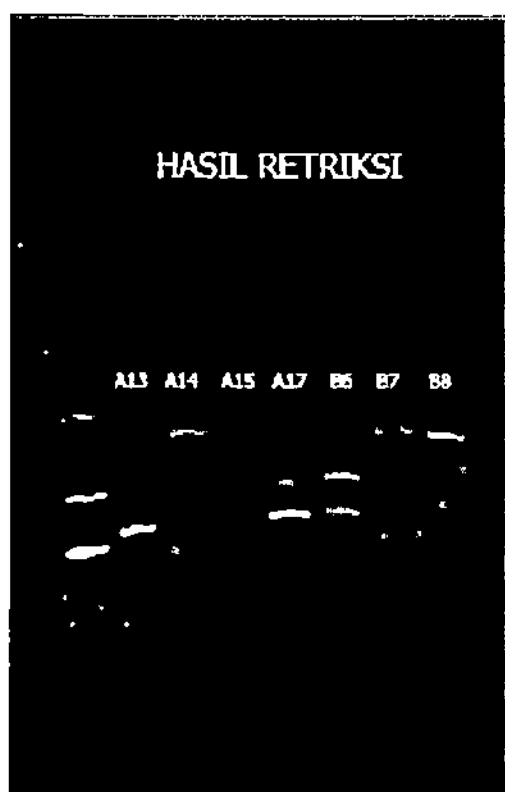
1. CYP1A1_m1 allele

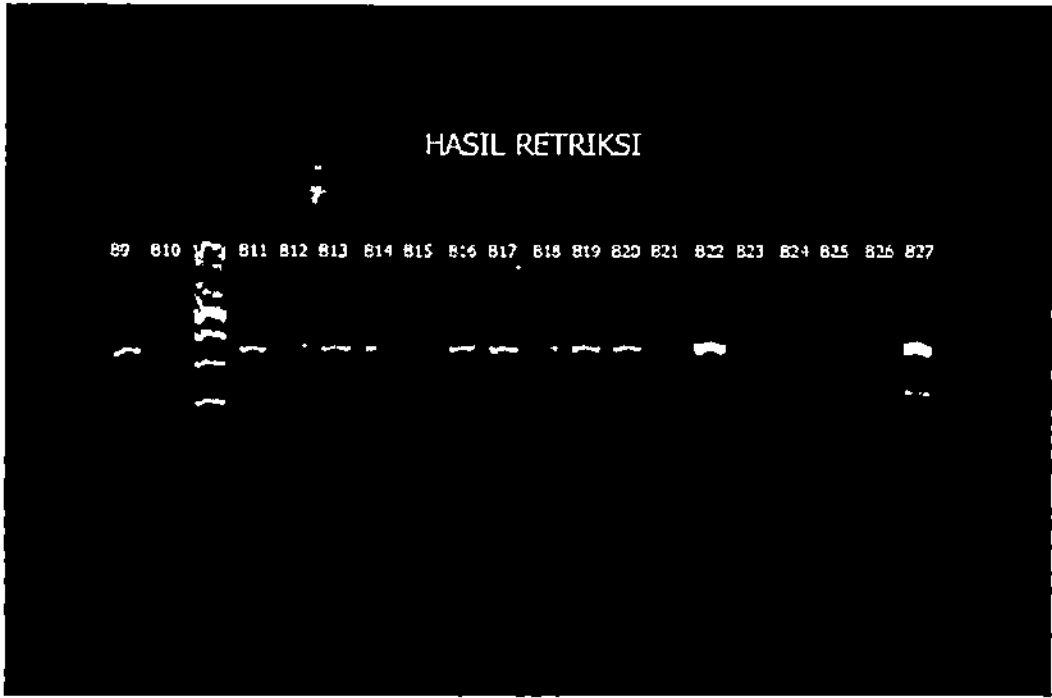
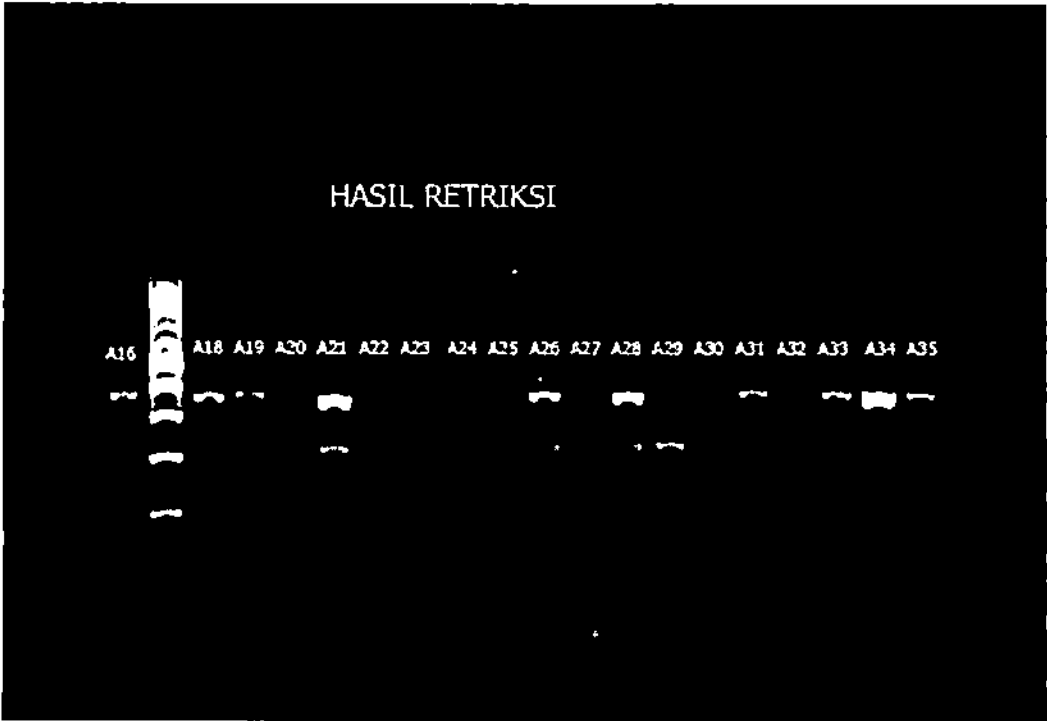
GGTCTCAAACTCC TGAAGTGA TCCACCTGCTCTACGCTCCCAAAGTGTGGGATTACAGGCAATGAGACAAGACTCCCTA

- 2. A1_F_Forward.ab1
- 3. A27_F_Forward.ab1
- 4. A29_F_Forward.ab1
- 5. A31_F_Forward.ab1
- 6. A32_F_Forward.ab1
- 7. B9_F_Forward.ab1
- 8. B22_F_Forward.ab1
- 9. B30_F_Forward.ab1
- 10. B33_F_Forward.ab1
- 11. B35_F_Forward.ab1

Lampiran 11. Hasil RFLP









Lampiran 12. Hasil Pemeriksaan Kadar Kortisol

Title

Protocol

Date/Time 07/31/2009 14:56:51

Technician

Plate ID

Unit

Reader Setup Endpoint Single 450.0nm Mix off Temp
25.3

Reader Model # xMark

Reader Serial # 10108

Reader Version 2.02.05
#

Comments

Using Standard Data Set from Current Experiment.

Linear Fit: $Y = \text{slope} \times X + \text{intercept}$ 20/50/80%: $X = 1,798 / 1,052 / 0,305$ $Y = 0,176 / 0,234 / 0,292$ intercept: $0,315 (+/-0,015)$, slope: $-0,077 (+/-0,013)$ $\chi^2=0,003$, $\text{RMS}=0,026$, $r^2=0,904$

Standards Report:

Std #	Conc	Well	Replicates	Mean	SD	%CV
1	0	H1	0,330	0,330	(*)	(*)
2	0.15625	G1	0,323	0,323	(*)	(*)
3	0.3125	F1	0,296	0,296	(*)	(*)
4	0.625	E1	0,226	0,226	(*)	(*)
5	1.25	D1	0,204	0,204	(*)	(*)
6	2.5	C1	0,138	0,138	(*)	(*)

Data Analysis Report:

Sample	ID	Well	Replicates	Mean	Conc	SD (Conc)
A01		B2	0,164	0,164	1,959	(*)
A02		C2	0,084	0,084	2,997	(*)
A03		D2	0,105	0,105	2,724	(*)
A04		E2	0,111	0,111	2,647	(*)

A05	F2	0,078	0,078	3,075	(*)
A06	G2	0,083	0,083	3,010	(*)
A07	H2	0,071	0,071	3,165	(*)
A08	A3	0,107	0,107	2,698	(*)
A09	B3	0,142	0,142	2,245	(*)
A10	C3	0,103	0,103	2,750	(*)
A11	D3	0,105	0,105	2,724	(*)
A12	E3	0,097	0,097	2,828	(*)
A13	F3	0,099	0,099	2,802	(*)
A14	G3	0,155	0,155	2,076	(*)
A15	H3	0,099	0,099	2,802	(*)
A16	A4	0,127	0,127	2,439	(*)
A17	B4	0,144	0,144	2,219	(*)
A18	C4	0,156	0,156	2,063	(*)
A19	D4	0,088	0,088	2,945	(*)
A20	E4	0,119	0,119	2,543	(*)
A21	F4	0,117	0,117	2,569	(*)
A22	G4	0,090	0,090	2,919	(*)
A23	H4	0,106	0,106	2,711	(*)
A24	A5	0,199	0,199	1,505	(*)
A25	B5	0,133	0,133	2,361	(*)
A26	C5	0,112	0,112	2,634	(*)
A27	D5	0,085	0,085	2,984	(*)
A28	E5	0,099	0,099	2,802	(*)
A29	F5	0,058	0,058	3,334	(*)
A30	G5	0,131	0,131	2,387	(*)
A31	H5	0,053	0,053	3,399	(*)
A32	A6	0,079	0,079	3,062	(*)
A33	B6	0,112	0,112	2,634	(*)
A34	C6	0,131	0,131	2,387	(*)
A35	D6	0,131	0,131	2,387	(*)
B01	E6	0,114	0,114	2,608	(*)
B02	F6	0,126	0,126	2,452	(*)
B03	G6	0,132	0,132	2,374	(*)
B04	H6	0,105	0,105	2,724	(*)
B05	A7	0,102	0,102	2,763	(*)
B06	B7	0,022	0,022	3,801	(*)
B07	C7	0,121	0,121	2,517	(*)
B08	D7	0,117	0,117	2,569	(*)

B09	E7	0,149	0,149	2,154	(*)
B10	F7	0,097	0,097	2,828	(*)
B11	G7	0,122	0,122	2,504	(*)
B12	H7	0,141	0,141	2,258	(*)
B13	A8	0,117	0,117	2,569	(*)
B14	B8	0,162	0,162	1,985	(*)
B15	C8	0,084	0,084	2,997	(*)
B16	D8	0,119	0,119	2,543	(*)
B17	E8	0,139	0,139	2,283	(*)
B18	F8	0,091	0,091	2,906	(*)
B19	G8	0,104	0,104	2,737	(*)
B20	H8	0,159	0,159	2,024	(*)
B21	A9	0,092	0,092	2,893	(*)
B22	B9	0,120	0,120	2,530	(*)
B23	C9	0,085	0,085	2,984	(*)
B24	D9	0,085	0,085	2,984	(*)
B25	E9	0,084	0,084	2,997	(*)
B26	F9	0,076	0,076	3,100	(*)
B27	G9	0,081	0,081	3,036	(*)
B28	H9	0,071	0,071	3,165	(*)
B29	A10	0,097	0,097	2,828	(*)
B30	B10	0,160	0,160	2,011	(*)
B31	C10	0,094	0,094	2,867	(*)
B32	D10	0,065	0,065	3,243	(*)
B33	E10	0,072	0,072	3,152	(*)
B34	F10	0,138	0,138	2,296	(*)
B35	G10	0,187	0,187	1,661	(*)

Lampiran 13. Hasil Pemeriksaan Kadar Testosteron

Title	
Protocol	
Date/Time	08/01/2009 15:44:02
Technician	
Plate ID	
Unit	
Reader Setup	Endpoint Single 450.0nm Mix off Temp 22.2
Reader Model #	xMark
Reader Serial #	10108
Reader Version #	2.02.05
Comments	

Using Standard Data Set from Current Experiment.

Linear Fit: $Y = \text{slope} \cdot X + \text{intercept}$

20/50/80%: $X = 1,665 / 0,893 / 0,121$ $Y = 0,503 / 0,808 / 1,114$

intercept: 1,162 (+/-0,097), slope: -0,395 (+/-0,082)

$\chi^2 = 0,120$, $\text{RMS} = 0,173$, $r^2 = 0,852$

Standards Report:

Std #	Conc	Well	Replicates	Mean	SD	%CV
1	0	H1	1,317	1,317	(*)	(*)
2	0.15625	G1	1,237	1,237	(*)	(*)
3	0.3125	F1	0,938	0,938	(*)	(*)
4	0.625	E1	0,767	0,767	(*)	(*)
5	1.25	D1	0,496	0,496	(*)	(*)
6	2.5	C1	0,300	0,300	(*)	(*)

Data Analysis Report:

Sample ID	Well	Replicates	Mean	Conc	SD (Conc)
A01	A2	0,715	0,715	1,130	(*)
A02	B2	0,629	0,629	1,347	(*)
A03	C2	0,602	0,602	1,416	(*)
A04	D2	0,573	0,573	1,489	(*)
A05	E2	0,373	0,373	1,995	(*)

A06	F2	0,546	0,546	1,557	(*)
A07	G2	0,637	0,637	1,327	(*)
A08	H2	0,434	0,434	1,841	(*)
A09	A3	0,552	0,552	1,542	(*)
A10	B3	0,477	0,477	1,732	(*)
A11	C3	0,645	0,645	1,307	(*)
A12	D3	0,719	0,719	1,120	(*)
A13	E3	0,496	0,496	1,684	(*)
A14	F3	0,583	0,583	1,464	(*)
A15	G3	0,520	0,520	1,623	(*)
A16	H3	0,427	0,427	1,858	(*)
A17	A4	0,500	0,500	1,674	(*)
A18	B4	0,613	0,613	1,388	(*)
A19	C4	0,296	0,296	2,190	(*)
A20	D4	0,572	0,572	1,492	(*)
A21	E4	0,309	0,309	2,157	(*)
A22	F4	0,426	0,426	1,861	(*)
A23	G4	0,584	0,584	1,461	(*)
A24	H4	0,561	0,561	1,519	(*)
A25	A5	0,561	0,561	1,519	(*)
A26	B5	0,305	0,305	2,167	(*)
A27	C5	0,504	0,504	1,664	(*)
A28	D5	0,661	0,661	1,266	(*)
A29	E5	0,216	0,216	2,392	(*)
A30	F5	0,589	0,589	1,449	(*)
A31	G5	0,540	0,540	1,573	(*)
A32	H5	0,474	0,474	1,740	(*)
A33	A6	0,704	0,704	1,158	(*)
A34	B6	0,537	0,537	1,580	(*)
A35	C6	0,378	0,378	1,982	(*)
B01	D6	0,333	0,333	2,096	(*)
B02	E6	0,514	0,514	1,638	(*)
B03	F6	0,424	0,424	1,866	(*)
B04	G6	0,398	0,398	1,932	(*)
B05	H6	0,438	0,438	1,831	(*)
B06	A7	0,004	0,004	2,929	(*)
B07	B7	0,468	0,468	1,755	(*)
B08	C7	0,624	0,624	1,360	(*)

B09	D7	0,758	0,758	1,021	(*)
B10	E7	0,519	0,519	1,626	(*)
B11	F7	0,562	0,562	1,517	(*)
B12	G7	0,503	0,503	1,666	(*)
B13	H7	0,329	0,329	2,106	(*)
B14	A8	0,401	0,401	1,924	(*)
B15	B8	0,437	0,437	1,833	(*)
B16	C8	0,396	0,396	1,937	(*)
B17	D8	0,497	0,497	1,681	(*)
B18	E8	0,249	0,249	2,309	(*)
B19	F8	0,456	0,456	1,785	(*)
B20	G8	0,462	0,462	1,770	(*)
B21	H8	0,501	0,501	1,671	(*)
B22	A9	0,790	0,790	0,940	(*)
B23	B9	0,694	0,694	1,183	(*)
B24	C9	0,709	0,709	1,145	(*)
B25	D9	0,471	0,471	1,747	(*)
B26	E9	0,432	0,432	1,846	(*)
B27	F9	0,699	0,699	1,170	(*)
B28	G9	0,176	0,176	2,493	(*)
B29	H9	0,465	0,465	1,762	(*)
B30	A10	0,856	0,856	0,773	(*)
B31	B10	0,447	0,447	1,808	(*)
B32	C10	0,562	0,562	1,517	(*)
B33	D10	0,828	0,828	0,844	(*)
B34	E10	0,593	0,593	1,439	(*)
B35	F10	0,679	0,679	1,221	(*)

Lampiran 14. Hasil Analisa Statistik Antar Variabel

KARAKTERISTIK SUBYEK PENELITIAN**T-Test****Group Statistics**

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Umur	Tidak penderita Acne	35	17,5714	,50210	,08487
	Penderita Acne	35	17,4857	,50709	,08571

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Umur	Equal variances assumed	,627	,431	,711	68	,480	,08571	,12062	-,15498	,32641
	Equal variances not assumed			,711	67,993	,480	,08571	,12062	-,15498	,32641

Indek Masa Tubuh * Responden Crosstabulation

			Responden		Total
			Ya	Tidak	
Indek Masa Tubuh	Normal	Count	33	33	66
		% within Indek Masa Tubuh	50,0%	50,0%	100,0%
	Obesitas	Count	2	2	4
		% within Indek Masa Tubuh	50,0%	50,0%	100,0%
Total		Count	35	35	70
		% within Indek Masa Tubuh	50,0%	50,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,000 ^a	1	1,000	1,000	,693
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,000	1	1,000		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	,000	1	1,000		
N of Valid Cases	70				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,00.

b. Computed only for a 2x2 table

SUKU

Crosstab

		Kelompok		Total	
		Tidak penderita Acne	Penderita Acne		
Suku	Minang	Count	11	8	19
		% within Kelompok	31,4%	22,9%	27,1%
	Melayu	Count	15	18	33
		% within Kelompok	42,9%	51,4%	47,1%
	Batak	Count	3	2	5
		% within Kelompok	8,6%	5,7%	7,1%
	Jawa	Count	5	5	10
		% within Kelompok	14,3%	14,3%	14,3%
	Cina	Count	1	1	2
		% within Kelompok	2,8%	2,8%	2,8%
	Nias	Count	0	1	1
		% within Kelompok	0,0%	2,9%	1,4%
	Total	Count	35	35	70
		% within Kelompok	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1,946 ^a	5	,857
Likelihood Ratio	2,336	5	,801
Linear-by-Linear Association	,376	1	,540
N of Valid Cases	70		

a. 6 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,50.

Pendidikan

Crosstab

			Kelompok		Total
			Tidak penderita Acne	Penderita Acne	
Pendidikan	Mahasiswa	Count	21	19	40
		% within Kelompok	60,0%	54,3%	57,1%
	Pelajar	Count	7	13	20
		% within Kelompok	20,0%	37,1%	28,6%
	Pelajar	Count	7	3	10
		% within Kelompok	20,0%	8,6%	14,3%
	Total	Count	35	35	70
		% within Kelompok	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,500 ^a	2	,174
Likelihood Ratio	3,574	2	,167
Linear-by-Linear Association	,106	1	,745
N of Valid Cases	70		

a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5,00.

Tipe Acne

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Papulo pustul	22	62,9	62,9	62,9
	Papulo vesikel	11	31,4	31,4	94,3
	Komedonal	2	5,7	5,7	100,0
	Total	35	100,0	100,0	

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Kortisol	Kadar Testosteron
N		70	70
Normal Parameters(a,b)	Mean	2,6589	1,6408
	Std. Deviation	,41352	,38816
Most Extreme Differences	Absolute	,064	,067
	Positive	,053	,067
	Negative	-,064	-,044
Kolmogorov-Smirnov Z		,539	,557
Asymp. Sig. (2-tailed)		,933	,915

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Statistics

		Kadar Kortisol	Kadar Testosteron
N	Valid	70	70
	Missing	0	0
Mean		2,6589	1,6408
Median		2,7175	1,6510

HUBUNGAN POLIMORFISME DENGAN AKNE VULGARIS

Crosstab

			responden		Total
			ya	tidak	
polimorfisme gen	ya	Count	29	24	53
		% within polimorfisme gen	54.7%	45.3%	100.0%
	tidak	Count	6	11	17
		% within polimorfisme gen	35.3%	64.7%	100.0%
Total		Count	35	35	70
		% within polimorfisme gen	50.0%	50.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.942 ^a	1	.163	.265	.132
Continuity Correction ^b	1.243	1	.265		
Likelihood Ratio	1.965	1	.161		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	1.915	1	.166		
N of Valid Cases	70				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,50.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for polimorfisme gen (ya / tidak)	2.215	.714	6.873
For cohort responden = ya	1.550	.779	3.087
For cohort responden = tidak	.700	.442	1.108
N of Valid Cases	70		

HUBUNGAN KADAR HORMON KORTISOL DENGAN AKNE VULGARIS

Crosstab

			Kelompok		Total
			Akne	Tidak akne	
kortisol	tinggi	Count	19	18	37
		% within kortisol	51.4%	48.6%	100.0%
	rendah	Count	18	17	33
		% within kortisol	48.5%	51.5%	100.0%
Total	Count		35	35	70
	% within kortisol		50.0%	50.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.057 ^a	1	.811	1.000	.500
Continuity Correction ^b	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.057	1	.811		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	.057	1	.812		
N of Valid Cases	70				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 16,50.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for kortisol (tinggi / rendah)	1.122	.439	2.868
For cohort responden = ya	1.059	.661	1.697
For cohort responden = tidak	.944	.591	1.508
N of Valid Cases	70		

HUBUNGAN KADAR HORMON TESTOSTERON DENGAN AKNE VULGARIS

Testosteron * Kelompok Crosstabulation

			Kelompok		Total
			Penderita Acne	tidak penderita acne	
Testosteron	Tinggi	Count	14	21	35
		% within Testosteron	40.0%	60.0%	100.0%
	Rendah	Count	21	14	35
		% within Testosteron	60.0%	40.0%	100.0%
Total		Count	35	35	70
		% within Testosteron	50.0%	50.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2.800 ^a	1	.094	.151	.076
Continuity Correction ^b	2.057	1	.151		
Likelihood Ratio	2.819	1	.093		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	2.760	1	.097		
N of Valid Cases	70				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 17,50.

b. Computed only for a 2x2 table

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Testosteron (Tinggi / Rendah)	.444	.171	1.157
For cohort Kelompok = Penderita Acne	.667	.409	1.086
For cohort Kelompok = tidak penderita acne	1.500	.921	2.443
N of Valid Cases	70		

ANALISIS REGRESI

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Step 1 ^a	POLI	1,191	,592	4,051	1	,044	3,289
	KOR	,028	,027	1,090	1	,297	1,029
	TEST	-,064	,071	,818	1	,366	,938
	Constant	-1,310	1,545	,719	1	,397	,270
Step 2 ^a	POLI	1,121	,579	3,753	1	,053	3,069
	KOR	,018	,025	,558	1	,455	1,019
	Constant	-1,794	1,455	1,519	1	,218	,166
Step 3 ^a	POLI	1,049	,569	3,404	1	,065	2,856
	Constant	-,773	,494	2,454	1	,117	,462

a. Variable(s) entered on step 1: POLI, KOR, TEST.