



**GENOTYPING GEN ICAM-1 PADA IBU PREEKLAMPSIA DENGAN
MENGUNAKAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*
RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM
(PCR-RFLP)**

Satriani Syarif¹, Dian Sasmita² Sanatang³
D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Mandala Waluya
Email: sasmitadian15@gmail.com

ABSTRAK

Preeklampsia adalah komplikasi kehamilan pada trimester 2 dan trimester 3 yang ditandai dengan hipertensi dan proteinuria yang terjadi setelah minggu ke-20 kehamilan. Invasi trofoblas pada arteri spiralis uterus dengan gejala klinis hipertensi, proteinuria dan edema, yang berasal dari perubahan patologis dalam vaskularisasi endotelium ibu atau mengakibatkan disfungsi endotel pada plasenta. Preeklampsia meningkatkan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 pada permukaan sel endotel yang berinteraksi dengan ligannya pada permukaan leukosit. Munculnya sitokin inflamasi mengakibatkan peningkatan aktifitas makrofag dan netrofil pada pembuluh darah arteri spiralis sehingga akan mengakibatkan disfungsi endotel. Penelitian bertujuan untuk mengetahui adanya genotip gen ICAM-1 pada ibu preeklampsia dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP).

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif laboratorium. Populasi dalam penelitian ini yaitu pada ibu preeklampsia yang berumur 26-40 tahun dengan usia kehamilan ≥ 20 minggu (Trimester 2 dan trimester 3) sebanyak 6 responden. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) dengan menggunakan enzim restriksi *BstU1* (*Bsh1236I*).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil visualisasi tersebut dari 6 sampel pasien preeklampsia diperoleh hasil 4 positif (66%) yang menjadi gen ICAM-1. Hasil PCR dengan menggunakan serum pasien ibu preeklampsia adalah genotipe KK (100 %) ditandai dengan adanya hasil positif gen ICAM-1 pada 4 sampel dengan terbentuk pita DNA berukuran 223 bp dan setelah dilakukan digesti DNA dengan enzim restriksi *BstU1* (*Bsh1236I*) ditemukan hasil membawa genotipe KK terbentuk pita DNA berukuran 223 bp (50%) dan genotipe EK terbentuk pita DNA berukuran 223 bp, 136 bp dan 87 bp (50%) yang menandakan adanya mutasi gen ICAM-1, sedangkan pada genotipe EE (0%).

Kesimpulannya Polimorfisme gen ICAM-1 exon 6 pada serum pasien ibu preeklampsia dengan menggunakan enzim restriksi *BstU1* (*Bsh1236I*) diperoleh hasil pita DNA yang berukuran 223 bp (KK) dan 223 bp, 136 bp dan 87 bp (EK) yang menandakan adanya mutasi gen ICAM-1.

Kata Kunci : Preeklampsia, ICAM-1, PCR-RFLP, Mutasi

Daftar Pustaka : 60 (2002- 2022)



PENDAHULUAN

Kehamilan merupakan bertemunya sel telur dan sperma di dalam atau diluar rahim dan berakhir dengan keluarnya bayi dan plasenta melalui jalan lahir. Masa kehamilan dimulai dari konsepsi sampai lahirnya bayi dengan lama 280 hari atau 40 minggu yang dihitung dari hari pertama haid terakhir. Lama masa kehamilan umumnya 37-42 minggu. Namun, beberapa kasus kehamilan yang tidak normal melebihi dari 42 minggu. Pada kelompok ibu hamil, memiliki resiko tinggi terserang hipertensi. Hipertensi yang berkelanjutan dapat menyebabkan resiko preeklampsia (Riswati dkk., 2021).

Preeklampsia adalah suatu kondisi medis yang ditandai dengan hipertensi dalam kehamilan dan proteinuria yang terjadi pada kehamilan diatas 20 minggu. Preeklampsia sering dihubungkan dengan 2 komponen berupa implantasi plasenta yang abnormal serta disfungsi endotel. Preeklampsia merupakan komplikasi kehamilan dan salah satu penyebab utama dari kesakitan dan kematian ibu hamil di Indonesia (Arifin, dkk.

2014).

Angka Kematian Ibu (AKI) merupakan salah satu indikator untuk melihat keberhasilan upaya kesehatan ibu. Angka Kematian Ibu adalah rasio kematian ibu selama masa kehamilan, persalinan, dan nifas atau pengelolaannya, yang disebabkan oleh kehamilan, persalinan, dan nifas atau pengelolaannya, tetapi bukan karena sebab-sebab lainnya. Perdarahan mencapai 38,24% (111,2/100.000 kelahiran hidup), preeklampsia berat 26,47 % (76,97/100.000 kelahiran hidup), akibat penyakit bawaan 19,41% (56,44/100.000 kelahiran hidup) dan infeksi 5,88%. AKI mencapai 305/100.000 kelahiran (17,09/100.000 kelahiran hidup). Kematian ibu di Indonesia masih didominasi oleh tiga penyebab: perdarahan, hipertensi dalam kehamilan (HDK), dan infeksi. Perdarahan dan infeksi cenderung mengalami penurunan, tetapi hipertensi dalam kehamilan (preeklampsia dan eklampsia) proporsinya semakin meningkat (Amalina dkk., 2022).

Menurut *World Health Organization* (WHO) angka kematian ibu (AKI) masih



sangat tinggi, sekitar 810 wanita meninggal diseluruh dunia akibat komplikasi terkait kehamilan atau persalinan dan sekitar 295.000 wanita meninggal selama 462/100.000 kelahiran hidup angka kematian ibu di negara berkembang. Sedangkan angka kematian ibu dan angka kematian bayi di negara maju sebesar 11/100.000 kelahiran hidup tingginya disebabkan oleh beberapa faktor, seperti perdarahan hebat, infeksi, komplikasi dari persalinan, aborsi tidak aman dan salah satunya adalah preeklampsia dan eklampsia (Pratiwi, 2020).

Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara (2021) melaporkan bahwa pada tahun 2020 terdapat 61 kasus kematian ibu hamil di Sulawesi Tenggara. Kematian ibu di Provinsi Sulawesi Tenggara umumnya disebabkan oleh hipertensi dalam kehamilan (HDK), perdarahan, gangguan sistem peredaran darah, infeksi, gangguan metabolisme dan penyebab lain-lain (*Retensio urin, asma bronkial, demam, post section caesarea, sesak nafas, dekompensasi kordis, plasenta previa*, komplikasi tuberkulosis,

tiroiditis, tirotoksikosis, tuberkulosis) (Hikmawati dkk., 2021).

Data yang didapatkan dari RSUD Dewa Sartika Kota Kendari pada tahun 2022 selama 3 bulan terakhir terdapat 8 orang yang mengalami preeklampsia yang berusia 26-40 tahun. Pada bulan juli terdapat 2 ibu hamil yang mengalami preeklampsia, bulan agustus terdapat 3 ibu hamil yang mengalami preeklampsia dan pada bulan agustus meningkat menjadi 3 ibu hamil yang melakukan pemeriksaan kehamilan yang mengalami preeklampsia (Rekam Medik RSUD Dewa Sartika Kota Kendari, 2022).

Preeklampsia umumnya terjadi pada trimester 2 sampai trimester 3 kehamilan. Proses terjadinya preeklampsia ini dimulai pada awal kehamilan dimana sel sitotrofoblas menginvasi arteri spiral uteri, mengganti lapisan endothelial dari arteri tersebut dengan merusak jaringan elastis medial, muskular dan neural secara berurutan. Sebelum trimester kedua kehamilan berakhir, arteri spiral uteri dilapisi oleh sitotrofoblas dan sel endothelial tidak lagi ada pada bagian endometrium atau



bagian superfisial dari miometrium (Mandang, 2016).

Gangguan kehamilan yang spesifik ditandai dengan hipertensi dan protein urin yang meningkat terjadi setelah minggu ke-20 kehamilan. Invasi trofoblas pada arteri spiralis uterus dengan gejala klinis hipertensi, proteinuria dan edema, yang berasal dari perubahan patologis dalam vaskularisasi endotelium ibu atau mengakibatkan disfungsi endotel pada plasenta. Vasokonstriksi perfusi uteroplasenta yang disebabkan sel trofoblas yang gagal mengadakan remodeling dan adhesi ke dinding arteri spiralis. Hal tersebut memicu munculnya sitokin-sitokin inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Interleukin-1 α* (IL1 α), IL-1 β , IL-6 yang dapat ditemukan pada serum dan plasma. Preeklampsia juga meningkatkan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 pada permukaan sel endotel yang berinteraksi dengan ligannya pada permukaan leukosit. Munculnya sitokin inflamasi mengakibatkan peningkatan aktifitas makrofag dan netrofil pada pembuluh darah arteri spiralis sehingga

akan mengakibatkan disfungsi endotel.

Disfungsi endotel merupakan kegagalan endotel dalam melakukan adaptasi adekuat terhadap stimulasi yang disebabkan paparan sitokin inflamasi dan peningkatan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 (Firdaus, 2019).

Beberapa peneliti telah menganalisa hubungan preeklampsia dengan gen ICAM-1. Tabatabai (2014) dalam penelitiannya yang berjudul genotipe KE dan EE polimorfisme gen ICAM-1 K469E dikaitkan dengan preeklampsia berat mendapatkan bahwa preeklampsia dapat mempengaruhi hampir setiap sistem organ dengan prevalensi yang bervariasi dari 5% sampai 10%. Hal ini secara klinis ditandai dengan proteinuria dan hipertensi setelah 20 minggu kehamilan dan berhubungan dengan mortalitas dan morbiditas yang signifikan pada ibu dan janin. Mekanisme patofisiologi yang diusulkan untuk itu kompleks dan termasuk iskemia plasenta, jalur inflamasi, stres oksidatif, sistem renin-angiotensin, aktivasi trombosis dan faktor genetik. Tanda klinis yang umum dari



preeklampsia adalah disfungsi endotel; namun, faktor spesifik yang memicu disfungsi endotel pada preeklampsia tidak jelas. Meskipun etiologi preeklampsia belum dijelaskan, studi keluarga menunjukkan bahwa faktor genetik memainkan peran penting dalam etiologinya. Molekul adhesi antar sel-1 (ICAM-1) terlibat dalam mekanisme patogenetik yang bertanggung jawab untuk penyakit yang dimediasi kekebalan termasuk gangguan sistem reproduksi wanita seperti endometriosis, sindrom. Penentuan genotip dengan menggunakan gen ICAM-1 karena merupakan salah satu gen yang terlibat dalam mekanisme patogenetik penyakit yang disebabkan gangguan reproduksi wanita.

Metode RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) digunakan untuk penentuan polimorfisme ICAM-1 kodon 241 (G241R) (Akin dkk., 2016). RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) adalah teknik yang umum digunakan untuk penentuan genotip (*genotyping*) melalui pemotongan sekuen DNA dengan enzim restriksi. Fragmen DNA hasil restriksi

dipisahkan menggunakan elektroforesis dan divisualisasi menggunakan teknik *southern blotting*. Menurut Siti dkk. (2013) metode RFLP sebagai salah satu metode untuk mengetahui polimorfisme dalam mengkaji sejarah evolusi populasi manusia (garis keturunan/silsilah) dan untuk mengetahui adanya mutasi. Metode RFLP adalah metode analisis menggunakan enzim restriksi yang memotong urutan nukleotida khas pada lokasi tertentu yang berbeda sehingga dihasilkan fragmen yang panjangnya berbeda-beda (Khaira dkk., 2022).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melihat genotip gen ICAM-1 pada ibu preeklampsia sebagai sampel uji dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif laboratorium, dengan melihat adanya genotip gen yang ada pada serum pasien ibu preeklampsia.



HASIL

1. Kriteria Responden Berdasarkan Umur

Pada penelitian ini responden merupakan pasien preeklampsia

Tabel 4. Data rentang usia responden

No	Umur	Jumlah responden	Presentase %
1	26-30	1	17
2	31-35	2	33
3	36-40	3	50
Total		6	100

(Sumber data primer, 2023)

Pada Tabel 4 menunjukkan distribusi responden menurut usia pasien. Diketahui rata-rata responden berumur 25-30 tahun berjumlah 1 responden dengan presentase 17%, responden yang berumur 31-35 tahun berjumlah 2 responden dengan presentase 33% dan responden yang berumur 35-40 tahun berjumlah 3 responden dengan presentase 50%.

2. Kriteria Responden Berdasarkan

Usia Kehamilan

Tabel 5. Data usia kehamilan pada pasien

No	Usia kehamilan	Jumlah responden	Presentase %
----	----------------	------------------	--------------

1	Trimester 2 (14- 26 minggu)	2	33
2	Trimester 3 (27- 40 minggu)	4	67
Total		6	100

(Sumber data primer, 2023)

Pada Tabel 5 menunjukkan distribusi responden menurut usia kehamilan pasien. Diketahui rata-rata responden dengan usia kehamilan trimester 2 (14-26 minggu) berjumlah 2 responden dengan presentase 33% dan responden dengan usia kehamilan trimester 3 (27-40 minggu) berjumlah 4 responden dengan presentase 67%.

3. Kriteria Responden Berdasarkan

Tekanan Darah

Tabel 6. Hasil pemeriksaan tekanan darah pasien preeklampsia

No	Tekanan darah	Jumlah responden	Presentase %
1	Normal (120/80 mmHg)	-	-
2	Ringan (140-150/ 90 mmHg)	3	50
3	Berat (≥160/ ≥100 mmHg)	3	50
Total		6	100

(Sumber data primer, 2023)

Pada Tabel 6 menunjukkan distribusi



responden menurut hasil pemeriksaan tekanan darah pasien. Diketahui rata-rata responden dengan tekanan darah 140-150/≥90 mmHg berjumlah 3 responden dengan presentase 50% dan responden dengan tekanan darah ≥160/≥100 mmHg berjumlah 4 responden dengan presentase 50 %.

4. Hasil pengukuran kualitas dan kuantitas DNA

Sampel yang digunakan adalah serum dari pasien ibu preeklampsia. Untuk mengetahui konsentrasi dan kemurnian DNA dapat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Hasil pengukuran DNA yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji kualitas dan kuantitas DNA

Sampel	Konsentrasi DNA (g/mL)	A260	A280	Ratio
S1	435	0,174	0,181	1,847
S2	772,5	0,309	0,316	2,725
S3	640	0,256	0,259	3,915
S4	690	0,276	0,285	1,973
S5	535	0,214	0,220	1,965
S6	562,5	0,225	0,230	3,493

(Sumber data primer, 2023)

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 7 sampel yang memenuhi standar rasio dari 1,8- 2,0 yaitu sampel S1, S4 dan S5.

5. Hasil Visualisasi DNA Gen ICAM-1

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil identifikasi gen ICAM-1 pada serum pasien ibu preeklampsia dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil visualisasi produk PCR gen ICAM-1, Ket: M= Marker 100 bp DNA Ladder Tiangen, S1-S6= Sampel.

Tabel 8. Hasil elektroforesis fragmen gen ICAM-1 pada serum pasien ibu preeklampsia menggunakan primer ICAM-1 R dan F

Kode sampel	Positif	Negatif
S1	+	
S2	+	
S3		-
S4	+	
S5		-
S6	+	

(Sumber data primer, 2023)

Berdasarkan Tabel 8 dapat diketahui bahwa hasil visualisasi gen ICAM-1 pada 6 sampel ditemukan 4 sampel yang menghasilkan pita DNA berukuran 223 bp pada responden S1, S2, S4 dan S6.



Gambar 7. Hasil visualisasi digesti produk PCR fragmen gen ICAM-1, Ket: M= Marker 100 bp DNA Ladder Tiangen, S1-S6= Sampel.

Hasil visualisasi tersebut dari 6 sampel pasien ibu preeklampsia diperoleh hasil 4 positif yang menjadi gen ICAM-1. Namun setelah di digesti dengan enzim *BstU1* tidak diperoleh pita yang menandakan adanya mutasi gen ICAM-1.

Tabel 9. Hasil digesti mutasi gen ICAM-1 pada pasien ibu preeklampsia

Hasil PCR	Kode sampel	Jumlah	Presentase %
KK	S1,S6	2	50
EK	S2,S4	2	50
EE	-	-	-

(Sumber data primer, 2023)

Berdasarkan Tabel 9 hasil digesti

menggunakan enzim *BstU1* pada kode sampel S1 dan S6 ditemukan hasil membawa genotipe KK, dan kode sampel S2 dan S4 ditemukan hasil membawa genotipe EK sedangkan EE tidak ditemukan sama sekali.

PEMBAHASAN

Preeklampsia adalah gangguan multisistem idiopatik yang ditandai dengan hipertensi, proteinuria, dan respon inflamasi sistemik. Faktor yang mempengaruhi terjadinya preeklampsia seperti obesitas, genetika, paritas, atau sistem inflamasi. Gen ICAM-1 merupakan salah satu gen yang terlibat dalam mekanisme patogenetik penyakit yang disebabkan gangguan reproduksi wanita, seperti preeklampsia, kista, ovarium dan lain- lain (Tabatabai dkk., 2014).

ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*) juga dikenal sebagai CD54 (*Cluster of Differentiation 54*) adalah protein yang pada manusia dikodekan oleh gen ICAM-1. Gen ini mengkodekan glikoprotein permukaan sel yang biasanya diekspresikan pada sel endotel. ICAM-1 mengkode protein yang muncul pada membran leukosit dan sel



endotel dalam konsentrasi rendah. Stimulasi sitokin, misalnya *Interleukin-1* (IL-1) dan *Tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) yang diekspresikan oleh endotel vaskular, makrofag dan limfosit yang akan menyebabkan peningkatan konsentrasi yang signifikan (Shrikant dkk., 2014).

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa dari 6 sampel, umur terbanyak 36-40 tahun berjumlah 3 responden dengan presentase (50%). Hal ini sejalan dengan penelitian Sumarni dkk. (2014) usia ibu yang terlalu tua saat hamil mengakibatkan gangguan fungsi organ general karena proses degenerasi salah satunya organ reproduksi. Proses degenerasi organ reproduksi karena usia akan berdampak langsung pada kondisi ibu saat menjalani proses kehamilan dan persalinan yang salah satunya adalah preeklampsia. Pada usia <20 tahun belum siap secara fisik dan mental dalam menghadapi kehamilan dan persalinan. Dari segi fisik rahim dan panggul belum tumbuh mencapai ukuran dewasa, sedangkan dari segi mental ibu belum siap untuk menerima tugas dan

tanggung jawab sebagai orang tua. Pada usia 35 tahun atau lebih, rentan terjadinya berbagai penyakit dalam bentuk hipertensi dan preeklampsia. Hal ini disebabkan karena terjadinya perubahan pada jaringan alat-alat kandungan dan jalan lahir juga tambah kaku sehingga terjadi persalinan macet dan perdarahan. Selain itu, proses degeneratif yang mengakibatkan perubahan struktural dan fungsional yang terjadi pada pembuluh darah perifer yang bertanggung jawab terhadap perubahan tekanan darah seiring dengan pertambahan usia. Sehingga pada usia 35 tahun atau lebih dapat cenderung meningkatkan risiko terjadinya preeklampsia (Manuaba dkk., 2010).

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa preeklampsia banyak diderita pada usia kehamilan trimester 3 yaitu 27-40 minggu dengan presentase (67%). Penderita preeklampsia pada usia kehamilan trimester 2 yaitu 14-26 minggu dengan presentase (33%). Hasil yang didapat telah sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Lestariningsih (2011) menunjukkan bahwa



sebagian besar ibu hamil yang mengalami preeklampsia adalah kehamilan aterm (37-40 minggu) yaitu sebesar 74,71%. Preeklampsia sering muncul pada usia kehamilan lebih dari 20 minggu, hal ini disebabkan kerja plasenta yang semakin aktif bekerja mengalirkan nutrisi bagi janin sehingga menyebabkan kenaikan tekanan darah sebagai reaksi peningkatan metabolisme organ tubuh ibu.

Hasil ini juga sesuai dengan penelitian Dian (2016) ibu hamil dengan preeklampsia terjadi pada kehamilan trimester 3 sebanyak 60%. Hal ini dikarenakan hipertensi pada kehamilan muncul pada >20 minggu setelah kehamilan. Secara fisiologis kehamilan normal, arteria spiralis yang terdapat pada desidua mengalami pergantian sel dengan trofoblas endovaskuler yang akan menjamin tetap terbukanya lumen untuk memberikan aliran darah tetap, nutrisi cukup dan oksigen seimbang. Proses pergantian sel ini seharusnya pada trimester pertama, yaitu minggu ke-16 dengan perkiraan pembentukan plasenta telah berakhir. Invasi endovaskuler trofoblas terus berlangsung pada trimester

kedua dan masuk kedalam arteria miometrium. Hal ini menyebabkan pelebaran dan tetap terbukanya arteri sehingga kelangsungan aliran darah, nutrisi, dan oksigen tetap terjamin. Hal tersebut dibutuhkan janin dalam rahim. Invasi trimester kedua pada preeklampsia tidak terjadi sehingga terjadi hambatan pada saat memerlukan tambahan aliran darah untuk memberikan nutrisi dan oksigen dan menimbulkan situasi *iskemia region uteroplacental* pada sekitar minggu ke-20. Pada keadaan ini dapat menerangkan bahwa preeklampsia baru akan terjadi mulai minggu ke-20 kehamilan.

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 6 menunjukkan bahwa responden mengalami preeklampsia ringan dengan tekanan darah 140-150/ \geq 90 mmHg dengan presentase (50%) dan preeklampsia berat dengan tekanan darah \geq 160/ \geq 100 mmHg dengan presentase (50%). Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Saraswati dan Murdiana (2015) yang mendapatkan hasil p value 0,0001 (p \leq 0,05)



dan nilai OR = 6,026 yang berarti ada hubungan yang signifikan antara riwayat hipertensi dengan preeklampsia pada ibu hamil dan ibu hamil yang memiliki riwayat hipertensi sebelumnya mempunyai resiko 6,026 kali mengalami kejadian preeklampsia dibandingkan dengan ibu hamil yang tidak memiliki riwayat hipertensi. Salah satu faktor risiko terjadinya preeklampsia adalah riwayat hipertensi. Ibu yang mempunyai riwayat hipertensi berisiko lebih besar mengalami preeklampsia, serta dapat meningkatkan angka morbiditas dan mortalitas maternal (Wiknjastro, 2011).

Pada ibu hamil dengan hipertensi akan mengalami penyempitan vaskuler yang menyebabkan hambatan aliran darah dan menerangkan proses terjadinya hipertensi arteriol. Kemungkinan vasospasme membahayakan pembuluh darah sendiri, karena peredaran darah dalam vasa vasorum terganggu, sehingga terjadi kerusakan vaskuler. Pelebaran segmental, yang biasanya disertai penyempitan arteriol segmental, mungkin mendorong lebih jauh timbulnya

kerusakan vaskuler mengingat keutuhan endotel dapat terganggu oleh segmen pembuluh darah yang melebar dan teregang. Lebih lanjut, angiotensin II tampaknya mempengaruhi langsung sel endotel dengan membuatnya berkontraksi. Semua faktor ini dapat menimbulkan kebocoran sel antar endotel, sehingga melalui kebocoran tersebut, unsur-unsur pembentuk darah, seperti trombosit dan fibrinogen, tertimbun pada lapisan subendotel. Perubahan vaskuler yang disertai dengan hipoksia pada jaringan setempat dan sekitarnya, diperkirakan menimbulkan terjadinya preeklampsia (Ningrum dan Norhoeriyah, 2015).

Analisis kualitas dan kuantitas hasil isolasi DNA dilakukan menggunakan spektrofotometer. Prinsip metode spektrofotometer sinar absorbansi UV adalah pemanfaatan panjang gelombang tertentu yang dapat ditangkap oleh molekul DNA. Kemurnian DNA ini diperlukan untuk efektifitas kerja enzim restriksi dalam memotong genom DNA (Prayoga dkk.,2020). Berdasarkan Tabel 7 sampel yang memenuhi



standar rasio dari 1,8-2,0 yaitu sampel S1, S4 dan S5. Pada penelitian ini sampel yang tidak memenuhi standar rasio 1,8-2,0 menandakan bahwa adanya kontaminasi pada DNA hasil isolasi, angka yang memiliki nilai perbandingan $\lambda_{260}/\lambda_{280}$ kurang dari 1,8 menunjukkan adanya kontaminan fenol atau senyawa protein yang ikut terbawa selama proses ekstraksi berlangsung. Sedangkan jika rasionya lebih dari 2,0 maka DNA masih mengandung RNA. Nilai DNA yang tidak murni dapat disebabkan oleh fenol karena serapan maksimal fenol berada di panjang gelombang 270 nm dan mampu memberikan serapan dipanjang gelombang 260 nm (Wirajana dkk., 2013).

Konsentrasi maupun kemurnian DNA yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh faktor teknis selama pengerjaan isolasi DNA, diantaranya adalah faktor pemindahan supernatan yang mengandung DNA setelah diinkubasi ke dalam tabung eppendorf yang baru dan pengeringan isolat Pemindahan harus dilakukan secara teliti agar jaringan-jaringan yang telah hancur dan berada dibagian bawah

tabung tidak ikut terambil, sedangkan pengeringan DNA yang berupa pelet pada tahap akhir isolasi harus benar-benar kering dari larutan sebelumnya yang dipakai untuk purifikasi. Jika pengeringan kurang sempurna, maka larutan purifikasi seperti alkohol atau etanol dapat menurunkan nilai kemurnian DNA pada saat pengukuran pada spektrofotometer. Selain faktor teknis, faktor alat dan bahan yang digunakan juga akan sangat berpengaruh pada kualitas DNA yang dihasilkan. Alat-alat seperti tabung eppendorf, tabung PCR, tip, harus steril sebelum digunakan untuk mengisolasi DNA (Nugroho, 2015).

Kualitas DNA yang baik merupakan hal penting yang dibutuhkan dalam aplikasi biologi molekuler. Isolasi DNA digunakan untuk berbagai macam keperluan seperti amplifikasi dan analisis DNA melalui elektroforesis maupun spektrofotometri. Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Melalui isolasi DNA kita dapat memperoleh DNA



murni, yaitu tanpa protein maupun RNA dari suatu sel dalam jaringan. Keberhasilan proses isolasi DNA dapat diukur melalui beberapa proses, di antaranya adalah melalui pengecekan keberadaan band DNA dengan metode elektroforesis atau melalui pengukuran konsentrasi DNA terlarut dengan metode spektrofotometri (Sundari dan Bambang, 2019).

Hasil isolasi DNA kemudian di PCR menggunakan primer ICAM R dan F, selanjutnya dilakukan visualisasi DNA dengan gel agarose 1,5% menggunakan UV transluminator. Dari 6 sampel pasien ibu preeklampsia didapatkan hasil 4 sampel positif dan 2 sampel negatif (Gambar 6 dan Tabel 8). Sampel positif ditandai dengan munculnya pita DNA berukuran 223 bp dan 2 sampel negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya pita DNA berukuran 223 bp. Sampel positif menunjukkan terdeteksinya gen ICAM-1 pada sampel tersebut, sedangkan sampel negatif tidak terdeteksi gen ICAM-1. Menurut William dkk. (2009) fragmen yang tidak muncul disebabkan tidak terjadinya

amplifikasi, dapat terjadi karena primer yang digunakan tidak sesuai dengan DNA cetakan. Beberapa bukti percobaan menunjukkan bahwa perbedaan satu pasang basa saja sudah cukup menyebabkan ketidaksesuaian cetakan primer yang kemudian mencegah amplifikasi. Menurut Azizah (2009) Hasil amplifikasi yang kurang baik dapat disebabkan oleh ketidaksesuaian primer, efisiensi, dan optimasi proses PCR. Optimasi PCR juga diperlukan untuk menghasilkan karakter yang diinginkan. Optimasi ini menyangkut suhu denaturasi dan annealing DNA dalam mesin PCR. Suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan belum terbukanya DNA utas ganda sehingga tidak dimungkinkan terjadinya penempelan primer. Proses penempelan primer pada utas DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimum, sebab suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan amplifikasi tidak terjadi karena primer tidak menempel atau sebaliknya suhu yang terlalu rendah menyebabkan primer menempel pada sisi lain genom yang bukan sisi homolognya. Hal ini menyebabkan teramplifikasi banyak daerah tidak spesifik



dalam genom tersebut (Sinaga dkk, 2017).

Hasil amplifikasi dengan PCR sampel yang positif kemudian di digesti dengan menggunakan enzim *BstU1* (*Bsh1236I*). Pada Gambar 7 hasil digesti produk PCR gen ICAM-1 memperlihatkan pita DNA berukuran 223 bp pada sampel S1 dan S6, kemudian pita DNA berukuran 223 bp, 136 bp dan 87 bp pada sampel S2 dan S4. Pada Tabel 9 hasil digesti menggunakan enzim *BstU1*, pada 2 sampel membawa genotipe KK (50%) ditandai dengan munculnya pita DNA berukuran 223 bp. Pada 2 sampel membawa genotipe EK (50%) ditandai dengan munculnya pita DNA berukuran 223 bp, 136 bp dan 87 bp. Sedangkan pada genotipe EE diperoleh hasil negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya pita DNA berukuran 136 bp dan 87 bp.

Menurut Tabatabai dkk. (2014) Gen ICAM-1 memiliki dua polimorfisme *singel base* yang merupakan variasi genetik umum yang terkait dengan penyakit: Glycine atau Arginine pada kodon 241 ekson 4 (G241R) dan Lisin atau Glutamin pada kodon 469

ekson 6 (K469E). Dua alel yang berbeda dari gen ICAM-1 dapat diidentifikasi (alel E dan K), menghasilkan tiga kemungkinan genotipe EE, EK dan KK. Pada penelitian ini alel K pada K469E gen ICAM-1 yang merupakan faktor resiko terjadinya preeklampsia karena dari 6 responden, 4 responden membawa alel K. Penelitian sejalan dengan Tabatabai dkk. (2014) menunjukkan bahwa frekuensi alel K dan genotipe KK lebih tinggi pada pasien preeklampsia. Studi menunjukkan bahwa polimorfisme nukleotida tunggal pada ekson keenam gen ICAM-1 (K469E) dapat menghasilkan substitusi asam amino dari asam glutamat (E) menjadi lisin (K) dalam domain mirip imunoglobulin 5 dari protein ICAM-1. Domain ini penting untuk aktivitas protein ICAM-1 pada banyak penyakit. Lin dkk. (2013) menunjukkan bahwa polimorfisme nukleotida tunggal ICAM-1 dikaitkan dengan kerentanan kanker mulut dan perkembangan klinikopatologis.

Polimorfisme ICAM-1 K469E dapat berkontribusi pada modifikasi fungsional produk gen dan dapat mempengaruhi



fungsinya. Banyak penelitian mengilustrasikan hubungan antara polimorfisme ICAM-1 K469E dan penyakit arteri oklusif perifer, penyakit radang usus, penyakit arteri koroner, diabetes mellitus dan endometriosis. Abnormalitas pada protein ICAM-1 dan/atau kadar ICAM-1 (sICAM-1) terlarut dapat mengganggu fungsi kekebalan normal dan meningkatkan resiko penyakit terkait kekebalan. Menurut penelitian Kim dkk. (2011) melaporkan peningkatan kadar sICAM-1 hanya pada preeklampsia berat. Meskipun perubahan yang dimediasi peradangan pada ekspresi dan fungsi ICAM-1 telah terlihat pada beberapa penelitian. Hasil serupa ditemukan oleh Lim dkk. (2008) Sebuah laporan baru-baru ini dari Korea termasuk 42 pasien preeklampsia dan 138 kontrol menunjukkan bahwa frekuensi alel K dan genotipe KK lebih tinggi pada pasien preeklampsia dari pada kontrol, tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa

Polimorfisme gen ICAM-1 exon 6 pada serum pasien ibu preeklampsia dengan menggunakan enzim restriksi *BstU1* diperoleh hasil pita DNA yang berukuran 223 bp (KK) dan 223 bp, 136 bp dan 87 bp (EK) yang menandakan adanya mutasi gen ICAM-1.

DAFTAR PUSTAKA

- Abalos, E., Cuesta, C. dan Grosso, A.L. 2013. Global and Regional Estimates of Preeclampsia and Eclampsia: A Systematic Review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 170, 1-6
- Adrianti, E. 2017. Analisis kadar *intercellular adhesion moleculer- 1* (ICAM- 1) pada Diabetes Melitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol. Universitas Hasanudin: Fakultas Kedokteran
- Akin, F. E., Gulai, G. C., Aylin, D. B, Cerita, T. Y., Mustafa, T., Eyup, S., Naciye, S. B. dan Osman, E. 2016. Association Of Celiac Disease With an ICAM- 1 gene Polymorphism in Turkey. *Journal Ozgun Arastirma*.
- Amalia, E., Maghfiroh, R. N., Lusua, H, dan Dwi, H. 2015. Identifikasi Mutasi Gen *rpoB* Ser531Leu *Mycobacterium tuberculosis* Yang Berhubungan Dengan Resistensi Rifampisin. *Biomedical Journal of Indonesia*, Vol. 1, No.1.
- Amalina, N., Rahmi, S. K., dan Ainal, M. 2022. Faktor Yang Mempengaruhi Kejadian Preeklampsia Pada Ibu Hamil. *Jurnal Voice Of Midwifery*. Vol. 12, No. 1
- Arifin, M., Irsan, S. dan Subandrate. 2014.



- Identifikasi Polimorfisme
Insersi/Delesi Gen Angiotensin
Converting Enzym Intron 16 Pada
Pasien Preeklampsia di RS. Dr.
Muhammad Hoesin Palembang. *MKS*.
Vol. 46, No. 3
- Arini, Y. 2022. Identifikasi mutasi gen ICAM-1 pada serum pasien Diabetes Melitus tipe 2 dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR- RFLP).
- Azizah, A. 2009. Perbandingan Pola Pita Amplifikasi DNA Daun, Bunga Kelapa Sawit Normal dan Abnormal. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Bartsch, F., Riefler, P., & Diamantopoulos, A. (2016). A Taxonomy and Review of Positive Consumer Dispositions Toward Foreign Countries and Globalization. *Journal of International Marketing*. Vol.24, No.1
- Berg, R. H. 2012. Restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified restriction fragment length polymorphism afied fragments (PCR-RFLP) and gel electrophoresis – valuable tool for genotyping and genetic fingerprinting. In: Magdeldin, S. (ed.) *Gel Electrophoresis – Principles and Basics*, InTech, London.
- Bui Hannah L. dan Wiesolek, R. S. 2020. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *Journal Of Leukocyte Biology*
- Denantika, O., Joserizal, S. dan Gusti, R. 2015. Hubungan Status Gravida dan Usia Ibu terhadap Kejadian Preeklampsia di RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2012-2013. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Vol. 4, No. 1
- Erni, E. dan Wathon, S. 2018. Pengembangan sistem deteksi hpv (Human Papilloma Virus) berbasis marka molekuler pcr-rflp. *Biotrends*. Vol. 9, No. 2
- Erwanto, Y., Sugiyono , Abdul, R., Mohammad, Z. A. dan Dwi Ariyani. 2012. Identifikasi Daging Babi Menggunakan Metode Pcr-Rflp Gen Cytochrome B Dan PCR Primer Spesifik Gen Amelogenin. *Agritech*. Vol. 32, No. 4
- Fadlun. 2020. *Asuhan keperawatan maternitas*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Fatchiyah, E.L.A., Sri, W. dan Sri, R . 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analitis*. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Fiirdaus, N. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Juwet (*Syzygium Cumini*) Terhadap Ekspresi Molekul Adhesi 1 (ICAM-1) Pada Model Huvecs Yang Dipapar Plasma Preeklamsia. *Java Health Journal*. Vol. 6, No. 2
- Gerungan, J. C., Syuul, A. dan Fredrika, N. L. 2014. Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Asfiksia Neonatorum Di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal Ilmiah Bidan*. Vol. 2, No. 1
- Handayani, N. S. N., dan Andika, T. O. 2014. Identifikasi Mutasi Gen β Globin Ekson 1 Pada Pembawa Thalassemia. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. Vol 2, No. 1
- Hikmawati, Nur, I. P. dan Rahmawati. 2021. Faktor Risiko Kejadian Preeklampsia Pada Ibu Hamil. *Jurnal Ilmiah Obsgin*. Vol. 13, No. 3
- Indah, S. N. dan Ety, A. 2016. Hubungan antara Preeklamsia dalam Kehamilan dengan Kejadian Asfiksia pada Bayi Baru Lahir. *Majority*. Vol. 5, No. 5
- Iqbal, M., Ibnu, D.B. dan Nia, K. 2016.



- Analisis perbandingan metode isolasi DNA untuk deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan*. Vol. 8, No. 1
- Khaira, A., Livia, J., Nafisa, A., Rinti, M. S. dan Afifatul, A. 2022. Analisis variasi genetik Sapi (*Bos Taurus*) pada sekuen gen Cytochrome Oxidase Subunit 1(COI) menggunakan RFLP in silico. *Prosiding SEMNAS BIO*. ISSN : 2809-8447
- Kim, Y.S., Ryu, H.M. dan Yang, J.H. 2011. VCAM-1, ICAM-1 dan E-Selectin pada Preeklampsia. *Jurnal Ilmu Kedokteran Korea*. Vol. 19, No. 3
- Lim, J.H., Park, Y.S. dan Kim, Y.S. 2008. Polimorfisme Gen Molekul Adhesi Antar Sel-1 (K469E) pada Wanita Preeklampsia di Korea. *Journal Of Genetics Medical*. Vol. 5, No. 2
- Marmi, Suryaningsih, A.R.M. dan Fatmawati E. 2015. Asuhan Kebidanan Patologi. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Manuaba. 2010. *Ilmu Kebidanan, Penyakit Kandungan Dan KB*. Jakarta: EGC
- Nugroho, K. 2016. Metode ekstraksi DNA pada *Jatropha* spp. tanpa menggunakan nitrogen cair. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. Vol. 22, No. 4
- Nur, F dan Adhar, A. 2017. Faktor Risiko Kejadian Preeklampsia Pada Ibu Hamil Di RSUD Anutapura Kota Palu. *Jurnal Kesehatan Tadulako*. Vol. 3 No. 2
- Nursal, D. G. A., Pratiwi, T. dan Fitriyeni. 2015. Faktor Risiko Kejadian Preeklampsia Pada Ibu Hamil Di RSUD Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*. Vol. 10, No. 1.
- Octavia Devi, Arnia, S.M., Irfan, M., Mimin dan Herman, R. 2021. Isolasi DNA Tumbuhan Hasil Eksplorasi di Nusakambangan dengan Metode Kit di Laboratorium Treub, Kebun Raya Bogor. *Jurnal Biologi Fakultas Sains dan Teknologi*, UIN Alauddin Makassar
- Onggo, A. T. dan Handayani, N. S. N. 2014. Identifikasi Mutasi Gen β^2 Globin Ekson 1 Pada Pembawa Thalassemia. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biolgi*. Vol. 2, No. 1
- Pranoto Ibnu. 2013. Patologi Kebidanan. Fitramaya: Yogyakarta
- Pratiwi, D. 2020. Faktor Maternal Yang Mempengaruhi Kejadian Preeklamsia Pada Acces Kehamilan. *Jurnal Medika Hutama*, Vol. 12, No. 1
- Prawirohardjo, S. 2011. Ilmu kandungan Edisi 3. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo: Jakarta
- Prawirohardjo, S. 2014 . Ilmu Kebidanan Edisi 4. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo: Jakarta
- Prayogo, F.A., Anto, B., Kusumaningrum, H.P., Wijanarka, W., Agung, S. dan Nurhayati, N. 2020. Metagenomic applications in exploration and development of novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 18:39
- Putri, H. dan Warih, R. 2018. Determinan Kejadian Preeklampsia Di RSUD Kalisat Jember. *Jurnal Kesehatan dr. Soebandi* Vol. 6, No. 2
- Rizqa, T. 2021. Perubahan Kadar *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1) Pada Pasien Diabetes Melitus dan Non Diabetes Melitus Selama Puasa Ramadan = Changes in Levels of Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) in Diabetes Mellitus and



- Non Diabetes Mellitus Patients During Ramadan Fasting. Program Study Ilmu Penyakit Dalam: Jakarta
- Saraswati, N. dan Murdiana. 2015. Faktor Risiko Yang Berhubungan Dengan Kejadian Preeklampsia Pada Ibu Hamil (Studi Kasus Di RSUD Kabupaten Brebes Tahun 2014). *Jurnal Kesehatan Masyarakat Unnes*. Vol. 5, No.2
- Sinaga, A.O.Y., Lollie, A.P.P. dan Luthfi, A.M.S. 2015. Analisis keragaman genetik andaliman Sumatera Utara menggunakan marka RAPD. *Jurnal Agroekoteknologi*. Vol. 3, No. 1
- Siti, H. H. M., Gun, G. G., Desy, N. dan Achmad, S. N. 2013. Variasi Urutan Nukleotida Daerah D-Loop DNA Mitokondria Manusia pada Dua Populasi Asli Indonesia Tenggara. P. 440-446.
- Sulimai, N., Jason, B. dan David, L. 2021. Fibrinogen Interaction with Astrocyte ICAM-1 and PrPC Results in the Generation of ROS and Neuronal Death. *International Journal of molecular Sciences*.
- Sumarni. 2014. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kematian Ibu Di Kabupaten Banyumas Jawa Tengah Periode Tahun 2009- 2011. *Bidan Prada : Jurnal Ilmiah Kebidanan*, Vol. 5, No. 1
- Sundari Sri dan Bambang Priadi. 2019. Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Ikan Tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. Vol.17, No. 2
- Sunny. 2016. Penanda Disfungsi Endotel Dilemahkan oleh Resveratrol pada Preeklampsia..
- Susanto dan Fitriana. 2019. Asuhan Pada Kehamilan. Pustaka Baru Press: Yogyakarta.
- Tabatabai, E., Saeedeh, S., Milad, M. K., Minoo, Y, Mojgan, M., Farzaneh, F., Mashhadi,dan Anoosh, N. 2014. KE and EE genotypes of ICAM-1 gene K469E polymorphism is associated with severe preeclampsia. *Hindgawi Publishing Corporation*
- Tarach, P. 2021. Application of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (RFLP-PCR) in the analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs). *journal ISSN* :2083-8484, 1730-2366
- Tolinggi, S Kasma, M. dan Nuryani. 2018. Kejadian Preeklampsia dan Faktor Risiko yang Mempengaruhinya. *Gorontalo Journal of Public Health*. Vol.1, No. 2
- Utami, N. A. 2019. Perubahan Fisiologis Otak pada Pasien Preeklampsia. *Jurnal Kedokteran Nanggroe Medika*. Vol. 2, No. 1
- Wahyuningsih. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Flavonoid Dan Steroid Dari Gedi (Abelmoschus Manihot) Sebagai Antiobesitas Dan Hipolipidemik Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 2, No. 2
- Wiknjosastro. 2011. *Ilmu Kebidanan Sarwono Prawirohardjo*. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo
- William. JG. 2009. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetik markers. *Nucleic Acids*. Vol. 18, No. 22
- Wirajana, I N., Yuliana, D. A. dan Ratnayani, K. 2013. Isolasi DNA metagenomik dari tanah hutan mangrove Pantai Suwung Bali. *Jurnal Kimia*. Vol.7, No.1
- Xing, Y., Jiang, H. L., Hou, L. dan Wang, X. 2020. Expression of ICAM-1 in placental tissues and the association



between its gene polymorphisms and pathogenesis of preeclampsia. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*.

Yeriska, F., Muhammad, Z. U., Nada, W. H., Reza, F. dan Afifatul, A. 2021. Analisis Variasi Genetik Sekuen Gen Pengkode Protein Spike Virus MERS-CoV (PopSet : 1843801421) Menggunakan RFLP Secara In Silico. *Prosiding SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri Padang*. ISBN : 2809-8447

Yousuf, S. D., Mohammad, A. G., Mohammad, A. Z., Syajr, U. A., Gulzar A. B., Akbar, M. dan Fouzia, R. 2017. Polimorfisme Lys469glu/K469E dari Molekul Adhesi Antar Sel Inflamasi Gen-1 Tidak Memiliki Peran yang Jelas dalam Sindrom Ovarium Polikistik pada Wanita Kashmir: Studi Kontrol Kasus. *Jurnal Pencegahan Kanker Asia Pasifik*, Vol. 18. No. 11

Yua, X., Hong, S. dan Yongjun, J. 2020. ICAM-1 in HIV infection and underlying mechanisms. *Journal Cytokine*.

Yulaikhah, L. 2019. *Buku Ajaran Asuhan Kebidanan Kehamilan*. Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah.