

**Deteksi Sindrom *Fragile X* dengan Pemeriksaan
Sitogenetik dan PCR Pada Siswa SLB Hj. Soemiyati
Himawan Semarang**

*Detection of Fragile X Syndrome by Cytogenetic and PCR Examination among
Mentally Retarded Students in SLB Hj. Soemiyati Himawan Semarang*

ARTIKEL ILMIAH

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan guna
mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**NURDITA KARTIKA
G2A006129**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2010**

DETEKSI SINDROM FRAGILE X DENGAN PEMERIKSAAN SITOGENETIK DAN PCR PADA SISWA SLB HJ. SOEMIYATI HIMAWAN SEMARANG

Nurdita Kartika¹, Sultana MH Faradz²

Latar belakang: Retardasi mental adalah keadaan dimana fungsi intelektual yang secara signifikan berada dibawah rata-rata, yang disertai dengan keterbatasan fungsi adaptasi. Penyebab dari retardasi mental sangat beragam, dimana faktor genetik memiliki peran 25-50%. Sindrom *Fragile X* merupakan kelainan genetik kedua yang paling banyak menyebabkan retardasi mental setelah sindrom Down. Pemeriksaan sitogenetika dan genetika molekuler perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi adanya sindrom *Fragile X*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah penderita sindrom *Fragile X* pada SLB HSH.

Metode: Desain penelitian yang digunakan bersifat deskriptif observasional. Cara pengambilan sampel menggunakan jenis *non-probability sampling* dengan metode *concecutive sampling*. Tiga puluh delapan siswa yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan pemeriksaan sitogenetik dan kemudian dilakukan pemeriksaan genetika molekuler (PCR).

Hasil: Jumlah sampel curiga Sindrom *Fragile X* berdasarkan pemeriksaan sitogenetik adalah 2 dari 38 sampel. Sampel yang terkonfirmasi sebagai penderita Sindrom *Fragile X* berdasarkan pemeriksaan PCR adalah 2 sampel yaitu 1 sampel dengan full mutasi pada gen *FMRI* dan 1 sampel dengan pola mosaik premutasi-full mutasi. Didapat kelainan kromosom lain yaitu Sindrom Down trisomi 21 sebanyak 1 sampel.

Simpulan: Penderita sindrom *Fragile X* yang telah melalui pemeriksaan PCR masih harus di konfirmasi melalui pemeriksaan Southern Blot sebagai diagnosis pasti adanya sindrom *Fragile X*. Penelusuran terhadap keluarga penderita juga perlu dilakukan untuk tindak lanjut agar dapat diketahui anggota keluarga lain yang memiliki kelainan genetik serupa.

Kata Kunci : Sindrom *Fragile X*, pemeriksaan sitogenetik, PCR untuk gen *FMRI*

¹ Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

² Departemen Histologi/ Unit Sitogenetik dan Genetika Molekuler, Laboratorium Bioteknologi Medis, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

Detection of Fragile X Syndrome by Cytogenetic and PCR Examination among Mentally Retarded Student in SLB Hj. Soemiyati Himawan Semarang

Nurdita Kartika¹, Sultana MH Faradz²

ABSTRACT

Background: Mental retardation is a condition in which the intellectual function is significantly below the average and accompanied by limitation in adaptive behavior. Causes of mental retardation varies widely, in which genetic factors play role for about 25-50%. Fragile X syndrome is the second most genetic disease that cause mental retardation after Down syndrome. Cytogenetics and molecular genetic examination should be done to confirm the presence of Fragile X syndrome. The aim of this study is to determine the number of students with Fragile X syndrome at HSH SLB.

Methods: This descriptive observational study used non-probability sampling with consecutive sampling method. Thirty eight students at special school who met the inclusion criteria were being examined with cytogenetic and molecular genetic examination (PCR).

Results: Two out of 38 samples were suspicious of Fragile X Syndrome based on cytogenetic examination. Two samples were confirmed as Fragile X Syndrome based on PCR, one showed full mutation in the FMR1 gene, while the other has a mosaic pattern pre-mutation-full mutation. Other chromosomal abnormalities obtained in this study was Down Syndrome trisomy 21 in one sample.

Conclusion: Patients with Fragile X syndrome who have been examined by PCR still needs confirmation with Southern Blot examination as a definitive diagnostic test of Fragile X syndrome. Tracing the family of the patient also important in order to figure out other family members who have similar genetic abnormalities.

Keywords: Fragile X Syndrome, cytogenetic examination, PCR for FMR1 gene

¹ Undergraduate student of Diponegoro University School of Medicine

² Department of Histology/ Cytogenetic and Molecular Genetic Unit, Medical Biotechnology Laboratory, Diponegoro University School of Medicine, Semarang

PENDAHULUAN

Retardasi mental ditemukan sekitar 2-3% dari seluruh populasi di negara berkembang.¹ Retardasi mental adalah keadaan dimana fungsi intelektual yang secara signifikan berada dibawah rata-rata, yang disertai dengan keterbatasan fungsi adaptasi dalam minimal dua dari kemampuan berikut : komunikasi, perawatan diri, keterampilan social/interpersonal, kehidupan di tempat tinggal, fungsi akademik, pekerjaan, kesehatan dan keamanan, pemanfaatan waktu luang, dimana onset tersebut muncul sebelum umur 18 tahun.²

Retardasi mental secara sederhana dapat dibagi berdasarkan tingkat kecerdasan intelektual (*Intelligence Quotient*, IQ) penderita, mulai dari retardasi mental ringan hingga sangat berat.³ Penderita retardasi mental berat baik anak-anak maupun dewasa memerlukan pendidikan atau pelatihan khusus serta pengawasan baik di rumah maupun pada institusi dengan pelayanan pribadi.⁴

Penyebab dari retardasi mental sangat beragam, dimana faktor genetik memiliki peran 25-50% sebagai penyebab dari retardasi mental. Sindrom Fragile X merupakan kelainan genetik kedua yang paling banyak menyebabkan retardasi mental setelah sindrom Down.^{4,5} Pada sindrom Fragile X, terjadi perluasan jumlah trinukleotida DNA *CGG repeat* pada promotor gen *FMRI*, dimana jumlah *CGG repeat* pada keadaan normal adalah antara 5-50. Perluasan *CGG repeat* dapat berupa premutasi (52-200) atau mutasi penuh (>200).⁶

Mutasi penuh yang terjadi dapat menekan ekspresi gen, sehingga menyebabkan terhentinya produksi *Fragile X Mental Retardation Protein* (FMRP). Dengan tidak terproduksinya FMRP pada keadaan ini menyebabkan kelemahan fungsi kognitif pada penderita.⁵ Pemeriksaan sitogenetika dan genetika molekuler perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi adanya sindrom Fragile X.

Deteksi sindrom Fragile X sejak dini akan membantu dalam pencegahan, penanganan/pengobatan, intervensi dan program pendidikan, karena itu peneliti merasa perlu untuk melakukan penelitian ini. Penelitian ini akan dilakukan di SLB Hj. Soemiyati Himawan Semarang. Pemilihan lokasi ini karena di SLB tersebut dapat diperoleh sampel dalam jumlah yang cukup banyak, mengingat angka kejadian retardasi mental sebesar 2-3% sehingga mungkin akan sulit dilakukan pada populasi.

Berdasarkan latar-belakang permasalahan tersebut, maka perumusan masalah studi ini adalah; “Berapa jumlah siswa SLB-C Hj. Soemiyati Himawan yang menderita sindrom *Fragile X*”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah penderita sindrom Fragile X pada SLB-S Hj. Soemiyati Himawan Semarang.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini mencakup bidang ilmu Genetika Dasar. Penelitian bertempat di SLB Hj. Soemiyati Himawan dan laboratorium CEBIOR Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif observasional.

1. Pengambilan Sampel

Penelitian ini dilakukan selama enam bulan yaitu pada periode tahun 2009 sampai dengan 2010 dengan menggunakan 38 sampel. Sampel penelitian adalah semua siswa yang menderita retardasi mental yang dibina di SLB Hj. Soemiyati Himawan yang belum diketahui penyebabnya tanpa kelainan Sindrom Down dengan pemeriksaan fisik terbatas.

Setelah pendataan identitas, dilakukan pemeriksaan fisik terbatas terhadap penderita retardasi mental dan setelah *informed consent* terhadap orang tua, darah vena diambil sebanyak 10 ml menggunakan spuit. Kemudian dimasukkan kedalam tabung berheparin. Darah kemudian dikirim/ dibawa ke laboratorium penelitian di Centre for Biomedical Research (CEBIOR) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro untuk dilakukan penelitian sitogenetik.

2. Analisis Kromosom (Sitogenetik)

Preparasi kromosom dibuat dengan pengkulturan pada 2 tabung, masing-masing 7 tetes “buffy coat” atau 10 tetes darah dalam 2 tube berisi 5 ml media yang berbeda (TC

199 dan MEM) yang mengandung 10% Fetal Bovine Serum dan 10 μ l Phytohaemagglutinin-P. Menginkubasi pada suhu 37⁰ C selama 3 hari (72 jam) dengan sudut kemiringan tabung 45⁰ agar memberi peluang pada tumbuhnya sel di permukaan tabung. Dua puluh empat jam sebelum pemanenan, tabung dengan media MEM ditambahkan 0,1 ml thymidine dengan konsentrasi akhir 0,3 μ g/ml. Setelah dikultur selama 72 jam dilakukan pemanenan. Enam puluh menit sebelum pemanenan masing-masing tabung ditambahkan 3 tetes calcemid, dan inkubasi selama 60 menit. Kemudian memusingkan tabung selama 10 menit dengan kecepatan 1100 rpm. Membuang supernatan, meresuspensikan endapan, dan menambahkan larutan hipotonik hangat KCl 0,075 M sebanyak 10 ml, kemudian meresuspensikan kembali agar terbentuk larutan homogen dan menginkubasi tabung pada suhu 37⁰ C dalam waterbath selama 15 menit. Memusingkan tabung kembali pada 1100 rpm selama 10 menit, membuang supernatan, dan menambahkan 5 ml larutan fiksasi Carnoys (3 metanol : 1 asam asetat) pelan-pelan melalui dinding tabung, lalu kocoknya, dan mensentrifus kembali. Pemberian larutan fiksasi diulangi tiga kali sampai didapatkan presipitat yang jernih lalu meresuspensikan residu dengan larutan Carnoys secukupnya sesuai dengan banyaknya pelet. Menyebarkan pada gelas obyek dengan meneteskan dua tetes suspensi pada lokasi yang berbeda. Kemudian preparat dicat dengan Giemsa 10% dalam larutan buffer Phosphat pH 6,8 selama 1-10 menit. Pembuatan larutan Giemsa selalu baru untuk setiap periode pengecatan (1 staining jar). Pengecatan Giemsa hanya dipakai untuk skrining sel, tidak digunakan untuk analisis/ diagnosis.

Untuk menganalisis diperiksa sidikan 20 sel, bila didapatkan positif *fragile-X site*, penghitungan diteruskan sampai 100 sel. Slide yang positif *fragile-X site* dicatat koordinatnya. Kemudian sediaan dihilangkan catnya (*di-destaining*) kemudian di cat *G-banding* untuk konfirmasi. Untuk konfirmasi diagnosis dilakukan pemeriksaan molekuler (analisis gen FMR-1). Yang pertama harus dilakukan adalah ekstraksi DNA.

3. Analisis Molekuler gen FMR-1

3.a Ekstraksi DNA

Sampel yang dipakai adalah darah vena dengan menggunakan anti koagulan EDTA dengan volume minimal 2 ml.

Dilakukan hemolisis sel darah merah: Memasukkan 5-10 cc darah dari tabung EDTA ke tabung 50 cc. Menambahkan NH₄Cl lysis buffer hingga volume 50 cc. Membiarkan darah hemolisis selama 10-30 menit di suhu dingin. Sentrifuge tabung selama 10 menit pada 3500 rpm. Membuang supernatan, pelet diresuspensikan sempurna dengan selentikan jari. Lakukan seperti diatas hingga pelet putih.

Pencernaan protein: menambahkan 2 cc Strong TE buffer ke dalam pelet putih, pelet harus diresuspensikan dengan selentikan jari. Menambahkan 30-50 µl proteinase K. Menambahkan 100 µl 10% SDS, campur sempurna. Masukkan kedalam 50 derajat water bath semalam. Ambil tabung dari water bath dan biarkan dingin disuhu kamar paling sedikit 30 menit.

Ekstraksi dan presipitasi: tambahkan NaCl 6M sebanyak 1/3 volume dan kocok kuat. Sentrifuge tabung selama 10 menit pada 4000 rpm. Memindahkan supernatan (yang berisi DNA) kedalam tabung 15 cc, menambahkan pelan-pelan adan lewat dinding tabung etanol absolut sebanyak 2 kali volume supernatan. Tabung dibolak-balikkan pelan-pelan. DNA akan tampak terpisah dari larutan berupa jaringan putih yang mengambang. Mengambil DNA dengan jarum spuit. Mencuci DNA dengan etanol 70% tetes demi tetes untuk membersihkan sisa-sisa garam yang melekat. Memasukkan dalam tube eppendorf 1,5 cc. Mengeringkan sisa etanol 70% dalam suhu ruangan dengan cara membiarkan tube terbuka □ 30 menit.setelah kering menambahkan normal TE buffer 300-500 □l. Tube ditutup dan membiarkan selama semalam disuhu ruang sampai DNA larut betul. DNA disimpan dalam freezer.

3.b Amplifikasi Gen FMR-1 (PCR)

Dalam tabung PCR 0,5 ml dimasukkan H₂O 6,4 µl, Gibco BRL Buffer pfx 2 µl, MgSO₄ 0,6 µl, dNTPs @ 100mMx4 0,5 µl, PCR Enhancer 8,0 µl, Primer c 0,6 µl, Primer f 0,6 µl, Taq pfx 500U/ µl 0,3 µl dan DNA 1 µl. Tabung dimasukan ke dalam mesin PCR dengan pengaturan terdiri dari: initial denaturasi selama 3 menit pada suhu 95°C. Dilakukan 31 siklus: denaturasi selama 15 detik pada suhu 95°C, annealing selama 2 menit pada suhu 64°C, dan ekstensi (elongasi) selama 2 menit pada suhu 75°C. Dan diatur 10 menit pada suhu 75°C untuk elongasi akhir.

Selanjutnya dilakukan elektroforesis dengan menuangkan (meload) hasil PCR pada sumur gel polyacrylamid 8% dengan Voltage 100 selama 1 jam dalam buffer TBE 0,5x. Pada sumur gel juga dituangkan molecular weight marker 100bp ladder.

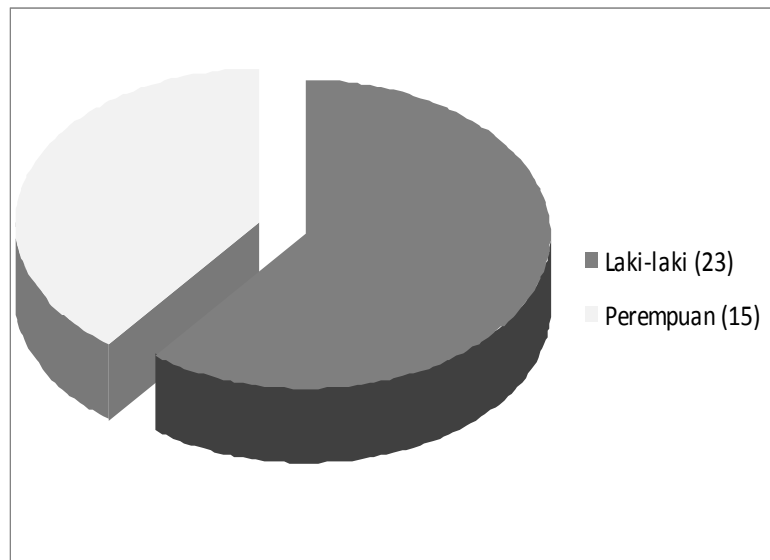
Gel dicat silver dengan metode: Mencuci gel dengan aquadest 2 kali. selanjutnya gel dicuci dengan 250 ml etanol 10% selama 5 menit. Setelah etanol dibuang, ditambahkan 1% nitric acid dan digoyang selama 3 menit. Gel dicuci lagi dengan aquadest 2-3 kali. Setelah itu menambahkan 150 ml AgNO₃ dan digoyang selama 20 menit. Setelah silver dibuang, gel segera dicuci dengan 200 mls MQ + 6 tetes formaldehyde. Menambahkan 0,1 N NaOH dan 10 tetes formaldehid. Gel dicuci dengan milli-Q, lalu dengan 3% acetic acid sambil digoyang selama 5 menit. Setelah acetic acid dibuang, gel dicuci dengan 10% etanol. Untuk penyimpanan tinggalkan gel pada 10% etanol dan 7% glycerol dan keringkan dalam 2 lapis plastik cellophan.

Besarnya produk hasil PCR adalah 300 bp pada sampel normal. Sedangkan bila terjadi mutasi penuh (full mutation) maka tidak ada produk pada 300 bp.

HASIL PENELITIAN

Dari 46 siswa yang terdapat pada SLB Hj.Soemiyati Himawan Semarang, hanya 38 siswa yang memenuhi kriteria inklusi sebagai sampel. Pada seluruh sampel dilakukan pemeriksaan sitogenetika menggunakan media TC 199 dan media MEM yang ditambah thymidine. Dari 38 sampel didapatkan 23 sampel laki-laki dan 15 sampel perempuan. Distribusi IQ sampel bervariasi antara retardasi mental ringan hingga retardasi mental sedang.

Grafik 1. Distribusi sampel berdasarkan jenis kelamin.



Hasil dari pemeriksaan sitogenetika didapatkan curiga *fragile site* (ditemukan *fragile site* pada kromosom grup C) pada 12 sampel, yaitu sebanyak 1 metafase pada 8 sampel (SM-5, SM-6, SM-8, SM-10, SM-12, SM-14, SM-15, SM-26), pada sampel SM-11 ditemukan *fragile site* pada 2 metafase dan pada sampel SM-9 ditemukan *fragile site* pada 3 metafase, namun setelah dilakukan pengecatan *G-banding*, *fragile site* tidak tampil pada kromosom X, maka itu curiga terhadap sindrom *Fragile-X* dapat diabaikan. Sedangkan pada sampel SM-30-C dan SM-34-C setelah dilakukan pengecatan *G-banding* dan dilakukan analisis 100 metafase didapatkan *fragile site* pada kromosom X dengan persentase sebesar 40% (SM-30-C) dan 17% (SM-34-C). Didapatkan juga curiga Sindrom Down pada sampel KDS-2 berupa trisomi kromosom 21. Persentase dari *fragile site* yang terhitung tidak dapat menunjukkan arti klinis karena sangat dipengaruhi oleh proses teknis dari cara pemeriksaan yang dilakukan.

Tabel 4. Hasil skrining sitogenetik dengan media MEM dan TC199 dengan pengecatan solid

	laki-laki	perempuan
Positif <i>Fragile site</i>	2	
Positif Sindrom Down		1
Negatif	21	14
Total	23	15

Tabel 5. Persentase hasil pemeriksaan sitogenetika yang abnormal

Sampel	Karyotip	%
Positif fragile site:		
SM-30-C	46, XY	40%
SM-34-C	46, XY	17%
Positif Sindrom Down trisomi		
21:		
KDS-2	46, XX+21	100%

Pemeriksaan PCR untuk gen *FMRI* dilakukan pada 37 sampel dari 38 sampel yang ada. Pemeriksaan PCR tidak dilakukan pada sampel KDS-2 karena dari pemeriksaan sitogenetik didapatkan hasil trisomi kromosom 21 sehingga tidak diperlukan konfirmasi terhadap Sindrom Fragile X. Hasil dari analisis DNA menggunakan teknik PCR didapatkan satu sampel (SM-30-C) mengalami fullmutasi dan satu sampel (SM-34-C) dengan pola mosaik premutasi-fullmutasi pada gen *FMRI* nya. Pada sampel SM-30-C tidak didapatkan produk PCR yang dikarenakan terjadi perluasan *CGG repeat* mencapai lebih dari 200 sehingga tidak dapat di amplifikasi. Pada sampel SM-34-C, ditemukan perbedaan jumlah *CGG repeat* pada tiga kali pengulangan PCR. Pemeriksaan PCR pertama menunjukkan jumlah 86, jumlah pada pekedua adalah 166, dan pengulangan ketiga tidak menunjukkan adanya produk PCR. Produk PCR yang tidak tampil menunjukkan hasil fullmutasi seperti pada sampel SM-30-C. Menurut observasi yang dilakukan Rousseau dkk (1994), tidak terdapat perbedaan status mental yang signifikan antara seseorang

dengan pola mutasi mosaik dan seseorang dengan fullmutasi.⁸ Berdasarkan pernyataan tersebut, sampel SM-34-C dikatakan positif, sehingga frekuensi Sindrom *Fragile X* adalah sebesar 3,17% (2/37).

Tabel 6. Hasil pemeriksaan gen FMR-1 dengan PCR

	jumlah sampel
Full mutasi	1
Mutasi mosaik	1
Negatif	35
Total	37

Tabel 7. Gejala fisik yang ditemukan pada pasien sindrom *Fragile X*

Sampel	umur	jenis kelamin	gejala fisik
SM-30-C	17 tahun	laki-laki	<i>Macroordchidism</i> <i>long and narrow face</i> <i>high arched palate</i> Pemalu
SM-34-C	13 tahun	laki-laki	<i>big and prominent ears</i> <i>long and narrow face</i> Pemalu

PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan pada 38 siswa yang bersekolah di SLB Hj. Soemiyati Himawan Semarang. Dari 38 siswa, terdapat 23 sampel yang berjenis kelamin laki-laki dan 15 sampel berjenis kelamin perempuan. Distribusi IQ sampel bervariasi antara retardasi mental ringan hingga retardasi mental sedang.

Diagnosis sindrom *Fragile X* ditegakkan berdasarkan gejala klinis yang tampak, hasil pemeriksaan sitogenetika positif *fragile site* serta dari pemeriksaan PCR dengan hasil ekspansi alel atau tanpa hasil (*blank product*).

Pemeriksaan sitogenetika dilakukan pada seluruh sampel. Media yang digunakan adalah media MEM yang ditambahkan thymidine dan media TC199. Kedua media tersebut digunakan untuk mendeteksi adanya *fragile site* karena memenuhi syarat untuk menampilkan *fragile-X site* yaitu kondisi rendah asam folat. Untuk menganalisis diperiksa sidikan 20 sel, bila didapatkan positif *fragile site*, penghitungan diteruskan sampai 100 sel.

Dari pemeriksaan sitogenetik dengan pengecatan giemsa (*silver staining*), didapatkan curiga *fragile site* (ditemukan *fragile site* pada kromosom grup C) pada 12 sampel, namun setelah dilakukan konfirmasi dengan pengecatan *G-banding* tidak tampak *fragile site* pada lengan panjang kromosom X. Hal tersebut dapat disebabkan oleh *fragile site* yang berasal dari kromosom lain pada grup C selain kromosom X. Oleh karena itu sindrom *Fragile X* dapat diabaikan pada 12 sampel tersebut.

Gambar 2. Hasil positif *fragile site* pada sampel SM-34-C

Pada sampel SM-30-C dan SM-34-C didapatkan hasil positif *fragile site* yang dikonfirmasi dengan pengecatan *G-banding*. Setelah dilakukan analisis 100 metafase didapatkan *fragile site* pada kromosom X dengan persentase sebesar 40% (SM-30-C) dan 17% (SM-34-C) dari seluruh metafase yang dihitung. Dengan demikian didapatkan frekuensi *fragile-X site* sebesar 5,26% (2/38). Frekuensi *fragile-X site* yang didapat berbeda dengan hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Faradz dkk pada tahun 1998 dimana pada penelitian tersebut diperoleh frekuensi sebesar 1,32%.⁴ Frekuensi *fragile site* yang lebih rendah dapat disebabkan karena jumlah sampel yang digunakan pada penelitian tersebut jauh lebih besar.

Kelainan kromosom lain yang ditemukan pada sampel dari hasil penelitian adalah sindrom Down. Siswa dengan kelainan sindrom Down ini masuk sebagai sampel karena siswa tersebut tidak memiliki gambaran fisik khas penderita sindrom Down. Sindrom Down adalah kelainan genetik yang menjadi penyebab utama retardasi mental.^{4,7} Didapatkan 1 sampel (2,63%) positif sindrom Down berupa trisomi kromosom 21. Sindrom Down dapat disebabkan karena 2 jenis kelainan genetik, yaitu trisomi atau translokasi yang terjadi pada kromosom 21.⁷

Konfirmasi terhadap curiga Sindrom *Fragile X* diperoleh dari pemeriksaan PCR untuk analisis gen *FMRI*.⁸ Pemeriksaan PCR dibutuhkan untuk memastikan adanya Sindrom Fragile X karena pada pemeriksaan sitogenetik dapat terjadi hasil negatif palsu sebesar 20%.⁹ Pemeriksaan PCR untuk gen *FMRI* tidak dilakukan pada seluruh sampel. Sampel KDS-2 tidak menjalani pemeriksaan PCR karena dari pemeriksaan sitogenetik didapatkan hasil trisomi kromosom 21 sehingga tidak diperlukan konfirmasi terhadap Sindrom *Fragile X*.

Gambar 3. Hasil pemeriksaan PCR dari sampel SM-30-C dan SM-34-C

Keterangan gambar:

Lajur 1 (SM-30-C) tidak didapatkan produk PCR

Lajur 3 (SM-34-C) CGG repeat dalam jumlah tinggi / alel premutasi

Lajur 2, 4, 5 sampel pria dengan normal alel

Lajur 6 kontrol wanita premutasi

Lajur 7 kontrol wanita normal

Lajur 8 marker

Lajur B blangko

Dari pemeriksaan PCR yang dilakukan pada 37 sampel, didapatkan satu sampel (SM-30-C) mengalami fullmutasi dan satu sampel (SM-34-C) dengan pola mosaik premutasi-fullmutasi pada gen *FMRI* nya. Hasil full mutasi pada sampel SM-30-C diketahui melalui tidak adanya produk PCR yang dikarenakan terjadi

perluasan *CGG repeat* mencapai lebih dari 200 sehingga tidak dapat di amplifikasi. Pemeriksaan PCR masih sangat terbatas jika ingin mendeteksi fullmutasi karena PCR memiliki resolusi tinggi, sedangkan resolusi tinggi terbukti hanya dapat menampilkan *CGG repeat* dari alel yang normal dan premutasi seperti pada percobaan yang sudah dilakukan Kremer dkk dan juga Fu dkk pada tahun 1991.¹⁰

Hasil pemeriksaan PCR pada sampel SM-34-C menunjukkan perbedaan jumlah *CGG repeat* pada tiga kali pengulangan pemeriksaan PCR yaitu 86/166/-. Pola tersebut disebut pola mutasi mosaik premutasi-full mutasi. Seseorang dengan pola mutasi mosaik memiliki jumlah *CGG repeat* yang bervariasi antara premutasi hingga fullmutasi pada sel yang berbeda-beda.¹¹ Menurut observasi yang dilakukan Rousseau dkk (1994), tidak terdapat perbedaan status mental yang signifikan antara seseorang dengan pola mutasi mosaic dan seseorang dengan fullmutasi.¹²

Hasil pemeriksaan PCR yang tidak terdapat produk (*blank product*) dapat menunjukkan terjadinya full mutasi pada gen *FMRI*, dapat pula disebabkan oleh berbagai kesalahan teknis yang mungkin terjadi. Oleh karena itu, pada kedua sampel tersebut seharusnya dikonfirmasi kembali dengan pemeriksaan Southern Blot, namun karena ketidaktersediaan fasilitas untuk melakukan pemeriksaan Southern Blot maka pemeriksaan tersebut tidak dilakukan.

Melalui pemeriksaan secara molekuler dengan PCR ini, dari 37 sampel didapatkan 2 sampel (5,40%) yang positif *Fragile-X*. Hasil yang didapat berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Faradz dkk pada tahun 1994-

1995 pada anak-anak retardasi mental dari 4 SLB di Kota Semarang dan 50 anak dari beberapa di Jawa Tengah. Pada penelitian tersebut didapatkan frekuensi penderita Sindrom Fragile X sebesar 2% (5/255).⁶

Pada kedua sampel positif Sindrom Fragile X dijumpai gambaran fenotip klasik dari penderita Sindrom Fragile X yaitu wajah yang memanjang dan menyempit. Pada sampel dengan fullmutasi, juga dijumpai kelainan fenotip berupa macroorchidism, arcus palatum yang tinggi (*high-arched palate*) dan jari-jari tangan yang panjang (*long finger*). Pada sampel dengan pola mosaik tidak dijumpai fenotip khas macroorchidism. Macroorchidism dijumpai pada lebih dari 80% pria dewasa penderita Sindrom Fragile X, namun hanya sedikit penderita pria prepubertal yang mengalami macroorchidism.¹⁰ Telinga besar dan prominen yang merupakan gambaran fenotip klasik penderita sindrom Fragile X dijumpai pada sampel dengan pola mosaik premutasi-fullmutasi. Perilaku khas berupa *shyness behavior* dijumpai pada kedua sampel. Bagi penderita laki-laki, kelainan yang dimiliki oleh seseorang dengan pola mosaik lebih ringan dibandingkan dengan seseorang dengan fullmutasi.¹¹

KESIMPULAN & SARAN

Jumlah sampel curiga sindrom *Fragile X* berdasarkan pemeriksaan sitogenetik adalah 2 dari 38 sampel (5,26%). Sampel yang terkonfirmasi sebagai penderita sindrom *Fragile X* berdasarkan pemeriksaan PCR adalah 2 sampel yaitu 1 sampel dengan full mutasi pada gen *FMRI* dan 1 sampel dengan pola mosaik premutasi-full

mutasi. Didapat kelainan kromosom lain yaitu Sindrom Down trisomi 21 sebanyak 1 sampel.

Penderita sindrom *Fragile X* yang telah melalui pemeriksaan PCR masih harus di konfirmasi melalui pemeriksaan Southern Blot sebagai diagnosis pasti adanya sindrom *Fragile X*. Pemeriksaan Southern Blot juga diperlukan untuk mengkonfirmasi ekspansi alel dalam jumlah besar yang tidak terdeteksi melalui pemeriksaan PCR. Penelusuran terhadap keluarga penderita juga perlu dilakukan untuk tindak lanjut agar dapat diketahui anggota keluarga lain yang memiliki kelainan genetik serupa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ropers HH, Hamel BCJ. X-Linked Mental Retardation. 2005;6.
2. AAMR. The AAMR Definition of Mental Retardation. American Association on Mental Retardation. www.aamr.org. 2002.
3. Raymond FL. X-linked Mental Retardation: a clinical guide. 2005 23 Aug 2005.
4. Faradz SMH. Fragile X Mental Retardation and Fragile X Chromosomes in The Indonesian Population. [PhD Thesis] Sydney: University of New South Wales; 1998.
5. Willemsen R, Oostra BA, Bassell GJ, Dichtenberg J. The Fragile X Syndrome: From Molecular Genetics to Neurobiology. 2004.
6. Faradz SM. Fragile-X Mental Retardation, Autism and Related Disorders 4ed. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2002.
7. Kingston HM. ABC of clinical genetics. 3rd ed. [e-book]. London: BMJ Books; 2002.
8. Heitz D, Devys D, Imbert G, Kretz C, Mandel J. Inheritance of the Fragile X Syndrome: Size of the Fragile X Premutation is a Major Determinant of the Transsition to Full Mutation. J Med Genet [serial online]. 1992 [cited 2010 february 20]. Available from: Pubmed Central
9. Jewell JA. Fragile X Syndrome. Genetics. [serial online]. 2009 [cited 2010 february 22]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/>
10. Hagerman RJ, Hagerman PJ. Fragile X Syndrome: Diagnosis, Treatment, and Research. 3 ed. Maryland: The John Hopkins University Press; 2002.

11. Visootsak J, Warren ST, Anido A, Graham JM. Fragile X Syndrome: An Update and Riview for the Primary Pediatrician. 2005.
12. Mundhofir FEP. Cytogenetics, molecular, and clinical studies among mentally retarded individuals in Semarang. [Magister Thesis]. Semarang: Universitas Diponegoro. 2008.