

## ARTIKEL PENELITIAN

**Hubungan Polimorfisme SNP8NRG433E1006 Gen *Neuregulin 1* (*NRG1*) dengan Skizofrenia pada Etnik Jawa****Cinta Cynthia Rudianto,<sup>1</sup> Gara Samara Brajadenta,<sup>2,3</sup> Alifiati Fitrikasari,<sup>4</sup> Tri Indah Winarni<sup>5</sup>**<sup>1</sup>Magister Ilmu Biomedik Konsentrasi Konseling Genetika, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia, <sup>2</sup>Divisi Human Genetik, Departemen Biomedis, Fakultas Kedokteran, Universitas Swadaya Gunung Jati, Cirebon, Indonesia, <sup>3</sup>Neurovascular Unit and Cognitive Impairments, University of Poitiers, Poitiers, France, <sup>4</sup>Departemen Ilmu Kedokteran Jiwa, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi, Semarang, Indonesia, <sup>5</sup>Pusat Riset Biomedik/CEBIOR, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia**Abstrak**

Gen *neuregulin 1* (*NRG1*) berfungsi penting pada perkembangan sistem saraf dan merupakan kandidat gen penyebab skizofrenia. Polimorfisme SNP8NRG433E1006 pada *NRG1* merupakan salah satu faktor risiko yang sering ditemukan pada skizofrenia. Penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dengan skizofrenia pada etnik Jawa. Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2016 hingga April 2017. Sebanyak 30 pasien skizofrenia dan 30 kontrol etnik Jawa dari Rumah Sakit Jiwa Daerah (RSJD) Dr. Amino Gondohutomo Semarang memenuhi kriteria inklusi. *Informed consent* didapatkan dari keluarga pasien. Sampel darah EDTA dilakukan ekstraksi DNA, amplifikasi *nested polymerase chain reaction* (PCR), dan sekuensing. Hubungan polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dengan skizofrenia dianalisis menggunakan *Fisher's exact test*. Dari hasil sekuensing pada kelompok kontrol tidak ditemukan polimorfisme, sedangkan pada kelompok pasien skizofrenia ditemukan dua pasien memiliki polimorfisme SNP8NRG433E1006 dengan mutasi homozigot c.172G>A. Hasil *Fisher's exact test* menunjukkan tidak ada hubungan antara polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dan skizofrenia pada etnik Jawa ( $p=0,246$ ;  $p>0,05$ ). Simpulan, peran polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* terhadap kejadian skizofrenia pada etnik Jawa tidak terbukti.

**Kata kunci:** *NRG1*, polimorfisme, skizofrenia**Correlation of SNP8NRG433E1006 Polymorphism *Neuregulin 1* (*NRG1*) Gene with Schizophrenia in Java Ethnic****Abstract**

*Neuregulin 1* (*NRG1*) gene has some important roles in nervous system development and functioning. This gene leading as one of schizophrenia susceptibility gene. SNP8NRG433E1006 of *NRG1* is one risk factors of schizophrenia. The objective of this study was to analyse correlation between SNP8NRG433E1006 of *NRG1* and schizophrenia in Java ethnic. The study was conducted in January 2016 until April 2017. Thirty patients with schizophrenia and 30 control in which from Java ethnic at Dr. Amino Gondohutomo Semarang Mental Hospital were recruited. Informed consent was obtained from patient's family. The blood sample went through DNA extraction, nested PCR and sequencing. Correlation between SNP8NRG433E1006 of *NRG1* and schizophrenia was analysed using Fisher's exact test. All blood sampling were successfully sequenced. We found two SNP8NRG433E1006 of *NRG1* with homozygote mutation c.172G>A in thirty Java ethnic with schizophrenia. There was no significant correlation between SNP8NRG433E1006 of *NRG1* and schizophrenia in Java ethnic ( $p=0.246$ ,  $p>0.05$ ). In conclusion, the role of SNP8NRG433E1006 of *NRG1* polymorphism in schizophrenia is not proven.

**Key words:** *NRG1*, polymorphism, schizophrenia

Received: 20 June 2017; Revised: 14 February 2018; Accepted: 4 April 2018; Published: 30 April 2018

**Korespondensi:** Gara Samara Brajadenta, dr., M.Sc., M.Si.Med. Fakultas Kedokteran, Universitas Swadaya Gunung Jati. Jln. Terusan Pemuda No. 1 A, Cirebon 45132, Jawa Barat, Indonesia. Telepon: (0231) 483928. Faksimile: (0231) 488923. Surel: [garabradenta@gmail.com](mailto:garabradenta@gmail.com)

## Pendahuluan

Skizofrenia merupakan salah satu dari gangguan kejiwaan yang berat disertai dengan disorganisasi atau kemunduran fungsi kepribadian sehingga menyebabkan *disability* (ketidakmampuan) dan mengakibatkan penderita menjadi beban keluarga dan masyarakat.<sup>1,2</sup> Berbagai studi mengemukakan peran genetik dan menyimpulkan heritabilitas mencapai 70–85% dan keluarga inti memiliki peningkatan risiko 5–10 kali lebih tinggi untuk menderita skizofrenia dibanding dengan populasi umum.<sup>3,4</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Thomson dkk.<sup>5</sup> berhasil mengidentifikasi *neuregulin 1 (NRG1)* sebagai salah satu gen yang bertanggung jawab untuk kelainan skizofrenia pada populasi Skotlandia. Hubungan studi dengan keterpautan pada populasi etnik yang berbeda dinyatakan bahwa *NRG1* itu yang terletak pada kromosom 8p12 sebagai kandidat gen yang berpengaruh pada skizofrenia.<sup>5–8</sup> Inti haplotipe yang berisiko atau HAPice pada 5' *upstream* gen yang terdiri atas 5 *single nucleotide polymorphisme* (SNP) (SNP8NRG221132, SNP8NRG221533, SNP8NRG241930, SNP8NRG243177, SNP8NRG433E1006), dan dua mikrosatelit (478B14848, 420M91395) ditemukan yang berperan pada kejadian skizofrenia populasi Skotlandia dan Swedia.<sup>5,8</sup> Penelitian yang dilakukan pada suku Batak di Indonesia, polimorfisme SNP8NRG433E1006 ditemukan pada 4/45 (8,9%) pasien skizofrenia dan menunjukkan hubungan yang signifikan ( $p=0,001$ ).<sup>9</sup> Mekanisme peranan atau kontribusi *NRG1* terhadap kelainan skizofrenia masih belum diketahui.<sup>6</sup> *Neuregulin 1* adalah salah satu dari empat protein dalam keluarga *neuregulin* yang bekerja pada keluarga *epidermal growth factor receptor* (EGFR) yang dikode oleh gen *NRG1* pada manusia.

Prevalensi gangguan jiwa berat di Indonesia sebanyak 1,7 per 1.000 penduduk.<sup>11</sup> Indonesia merupakan negara yang mempunyai jumlah suku bangsa terbanyak di dunia, salah satunya adalah suku Jawa.<sup>12</sup> Suku Jawa dipilih dalam penelitian ini karena merupakan suku bangsa terbesar di Indonesia yang masih sangat kental dengan kebudayaannya dan memiliki paradigma perkawinan sesama suku. Peneliti memilih untuk memeriksa polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* karena gen ini merupakan salah satu SNP yang berperan secara signifikan untuk skizofrenia.<sup>3–9,13</sup> Berdasarkan atas hal tersebut, penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui

hubungan polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dengan skizofrenia pada etnik Jawa dan untuk mengetahui faktor risiko polimorfisme tersebut terhadap kejadian skizofrenia.

## Metode

Penelitian ini adalah penelitian *case control* yang mencakup bidang ilmu genetika dan kedokteran jiwa. Penelitian dilakukan selama kurun waktu Januari 2016 hingga April 2017 di Rumah Sakit Jiwa Daerah (RSJD) Dr. Amino Gondohutomo Semarang dan *Center for Biomedical Research* (CEBIOR), Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro Semarang. Sebanyak 30 pasien yang telah didiagnosis skizofrenia dalam kelompok kasus dan 30 pasien etnik Jawa di RSJD Dr. Amino Gondohutomo Semarang ditentukan secara acak sebagai kelompok kontrol. Diagnosis skizofrenia ditegakkan oleh dokter spesialis kedokteran jiwa mengacu pada PPDGJ III dengan keseluruhan tipe skizofrenia dimasukkan ke dalam kriteria inklusi. Keseluruhan sampel tersebut, baik sampel pasien skizofrenia maupun sampel dari populasi yang normal berasal dari etnik yang sama, yakni etnik Jawa. Orang tua atau wali pasien skizofrenia dan orang normal sebagai kontrol yang setuju untuk terlibat dalam penelitian menandatangani persetujuannya (*informed consent*). Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) dari Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang melalui surat Nomor: 041/EC/FK-RSDK/2016. Sampel darah vena dari subjek penelitian kemudian diisolasi DNA menggunakan metode *salting out*, lalu dikuantifikasi konsentrasi DNA-nya menggunakan nanodrop *NanoVue™ Plus GE Healthcare Bio-Sciences AB* (UK).

Dari DNA yang telah diisolasi itu kemudian dilakukan amplifikasi *polymerase chain reaction* (PCR) dasar (tahap 1) dan dilanjutkan dengan *nested* PCR (tahap 2). *Nested* PCR dilakukan agar mendapatkan regio spesifik secara akurat guna mendeteksi polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1*. Primer PCR dasar yang digunakan tersebut adalah sebagai berikut.

*Primer forward 1:*

5'-CCTACCCCTGCACCCCAATAAATAAA-3'

*Primer reverse 1:*

3'-AGCAGGGGGCACTCGACAGGA-5'

Kedua primer PCR tersebut mengapit regio spesifik polimorfisme SNP8NRG433E1006 pada gen *NRG1* pada posisi 79–528 (450 bp). Reaksi amplifikasi PCR dilakukan pada volume total 25

$\mu\text{L}$  yang terdiri atas *buffer* (10 $\times$ ), DNTPS (2,5 mM) 0,2 mM,  $\text{MgCl}_2$  (25 mM) 2,5 mM, primer *forward* dan *reverse* (10  $\mu\text{M}$ ) 3,5  $\mu\text{M}$ , DMSO (100%) 10%, templat DNA 100 ng/ $\mu\text{L}$ , dan *gotac green* 1 unit. Kondisi siklus PCR yang digunakan adalah sebagai berikut. Denaturasi pada 95°C selama 10 menit, *annealing* pada suhu 94°C selama 15 detik, dan 68°C selama 30 detik sebanyak 40 siklus, elongasi pada 72°C selama 1 menit dan 72°C dilanjutkan selama 7 menit. Produk PCR tersebut kemudian dianalisis pada agarose gel 2% menggunakan *marker* 100 basepair (bp) DNA *ladder* dan proses elektroforesis dijalankan pada tegangan 80 volt selama 70 menit, kemudian divisualisasikan menggunakan mesin *Gel Doc*. Selanjutnya, dilakukan *nested* PCR menggunakan kedua primer sebagai berikut.

*Nested forward 2:*

5'-TGCCACTACTGCTGCTGCT-3'

*Nested reverse 2:*

3'-GTGGTGATCGAGGGAAAGGT-5'

Kedua primer PCR tersebut mengapit regio spesifik polimorfisme SNP8NRG433E1006 pada gen *NRG1* pada posisi 328-490 (163 bp). Reaksi amplifikasi PCR dilakukan pada volume total 25  $\mu\text{L}$  yang terdiri atas *buffer* (10 $\times$ ), DNTPS (2,5 mM) 0,2 mM,  $\text{MgCl}_2$  (25 mM) 2,5 mM, primer *forward* dan *reverse* (10  $\mu\text{M}$ ) 3,5  $\mu\text{M}$ , DMSO (100%) 10%, templat DNA 100 ng/ $\mu\text{L}$ , dan *gotac green* 1 unit. Kondisi siklus PCR yang digunakan adalah sebagai berikut. Denaturasi pada 95°C selama 10 menit, *annealing* pada suhu 94°C selama 15 detik, dan 60°C selama 30 detik sebanyak 35 siklus, elongasi pada 72°C selama 1 menit dan 72°C dilanjutkan selama 7 menit. Produk PCR tersebut kemudian dianalisis pada agarose gel 0,8% menggunakan *marker* 100 bp DNA *ladder* dan proses elektroforesis dijalankan pada tegangan 80 volt selama 70 menit, kemudian divisualisasikan menggunakan mesin *Gel Doc*.

Tahap selanjutnya adalah sekuensing DNA. Sekuensing dilaksanakan dengan menggunakan *Big Dye Terminator Cycle Sequencing Reactions*. Templat DNA hasil *nested* PCR sebanyak 200 ng dicampurkan ke dalam tiap-tiap 1  $\mu\text{L}$  primer 3,2  $\mu\text{M}$  dan 2  $\mu\text{L}$  *Big Dye Terminator Mix* (*Applied Biosystem*) dalam volume total 5  $\mu\text{L}$ . Pasangan primer sekuensing yang dipergunakan adalah sebagai berikut.

*Forward primer:*

5'-TGCCACTACTGCTGCTGCT-3'

*Reverse primer:*

5'-GTGGTGATCGAGGGAAAGGT-3'

Proses amplifikasi dilakukan pada *thermocycle*

yang terdiri atas 25 siklus pada kondisi berikut. Denaturasi pada 95°C selama 10 detik, hibridisasi pada suhu 50°C selama 5 detik, dan elongasi selama 4 menit pada suhu 60°C. Setelah 25 siklus elongasi, hasil amplifikasi tersebut dipurifikasi dengan kolom *DyeEx* (*Quiagen*) dan sekuens DNA dianalisis menggunakan mesin 3130 *Genetic Analyser* (*Applied Biosystem*). Sekuens dan antisens dianalisis dengan memakai *software Chromas 2.4.4* dan dibandingkan dengan sekuens gen *NRG1* (*wild-type*) (ENSG00000157168). Posisi substitusi basa nukleotida polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* itu ditunjukkan pada huruf R yang dicetak tebal pada urutan basa nukleotida sebagai berikut.<sup>15</sup>

SNP8NRG433E1006 GGGCGGCGGCCGGCAA  
CGAGGCGGCTCCCGCG  
RGGGCCTCGGTGTGCT  
ACTCGTCCCCGCCCA

Polimorfisme SNP8NRG433E1006 terjadi karena perubahan substitusi satu basa nukleotida pada gen *NRG1* di *exon* 1 terjadi substitusi c.172 G>A yang menyebabkan perubahan asam amino urutan 58 p.Gly58Arg. Selanjutnya, hubungan polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dengan skizofrenia dianalisis memakai *Fisher's exact test*.

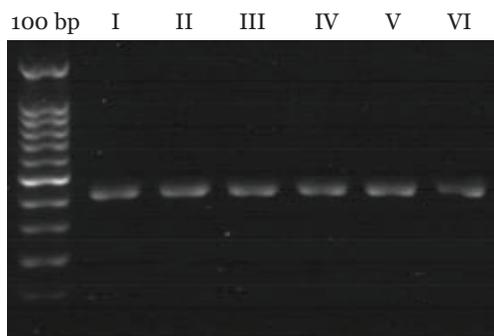
## Hasil

Tiga puluh sampel pasien skizofrenia etnik Jawa telah diperiksa, 21 dari 30 sampel adalah laki-laki dan 9 dari 30 sampel adalah perempuan. Tiga puluh sampel yang mewakili populasi normal etnik Jawa sebanyak 27 dari 30 sampel adalah laki-laki dan sisanya 3 dari 30 sampel adalah perempuan.

Pada Tabel 1 terlihat proporsi jumlah pasien skizofrenia dengan jenis kelamin laki-laki jauh

**Tabel 1 Karakteristik Subjek Kelompok Skizofrenia**

Karakteristik	n=30
Jenis kelamin	21
Laki-laki	9
Perempuan	
Usia (tahun)	5
Remaja (12–25)	23
Dewasa (26–45)	2
Usila awal (46–55)	
Riwayat gangguan jiwa di keluarga	11



**Gambar 1 Ukuran Produk PCR dengan Elektroforesis Gel Agarose**

Analisis produk PCR dilakukan dengan teknik elektroforesis menggunakan gel agarose 2%. Sumuran pertama berisi *marker ladder* 100 bp, sumuran I, II, dan III adalah produk PCR 1 (kontrol no. 1–3) serta sumuran IV, V, dan VI adalah produk PCR 1 pasien skizofrenia (pasien no. 1–3). Keseluruhan pita DNA berukuran 450 bp

lebih besar dibanding dengan pasien skizofrenia perempuan. Rentang usia pasien skizofrenia paling banyak ditemukan pada usia dewasa 26–45 tahun sebanyak 23 dari 30 subjek. Terdapat 11 dari 30 pasien skizofrenia dengan riwayat gangguan jiwa dalam keluarga.

Sekuensing DNA dilakukan untuk melihat ada tidaknya polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1*. Hasil ekstraksi DNA pasien skizofrenia maupun kontrol yang sudah diisolasi memakai metode *salting out*. Selanjutnya, amplifikasi PCR mempergunakan sepasang primer *forward* dan *reverse* untuk mendapatkan regio spesifik guna mendeteksi polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1*. Hasil visualisasi produk PCR dasar dan *nested* PCR dapat dilihat pada Gambar 1.

Pita DNA dari hasil amplifikasi PCR pertama berukuran 450 bp. Hasil itu kemudian digunakan sebagai templat pada *nested* PCR (PCR 2). Primer *nested forward* 2 dan *nested reverse* 2 akan mengamplifikasi regio spesifik polimorfisme

SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* pada posisi 328–490 dan menghasilkan pita DNA berukuran 163 bp (Gambar 2). Pada Gambar 2 dapat diamati pita hasil amplifikasi gen pengode *NRG1 exon 1* pada 60 sampel. Ukuran pita *band* yang muncul pada DNA pasien maupun kontrol telah sesuai dengan ukuran yang diharapkan, yakni 163 bp.

Sekuensing dilaksanakan terhadap 30 sampel pasien dan 30 sampel kontrol dari hasil *nested* PCR. Sekuens tersebut kemudian dibandingkan dengan sekuens acuan *whole genome NRG1 exon 1 (wild type)* (ENSG00000157168). Sekuens DNA tersebut kemudian dibaca mempergunakan bantuan *software Chromas versi 2.4.4*. Tabel 2 menjelaskan hasil temuan mutasi substitusi pada pembacaan *electropherogram* sekuens DNA itu. Prediksi kerusakan protein juga dianalisis menggunakan *PolyPhen-2* dan SIFT.

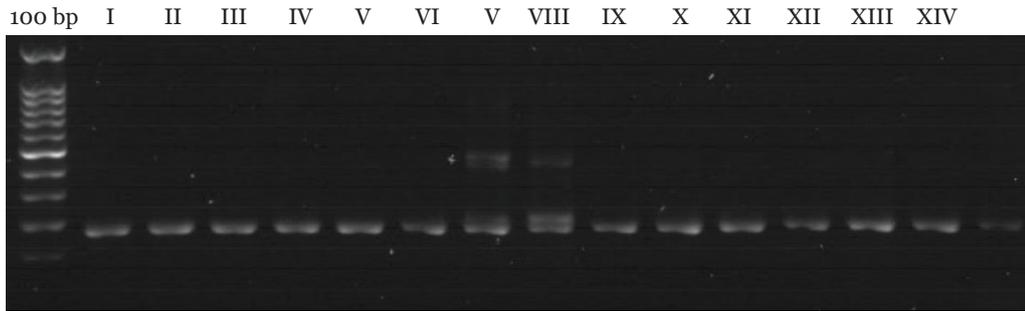
Analisis lebih lanjut pada 30 sekuens pasien skizofrenia ditemukan satu titik mutasi *non-synonymous*, yakni c.172G>A pada kedua alel atau homozigot yang menyebabkan perubahan asam amino p.Gly58Arg atau dalam penelitian sebelumnya telah diketahui sebagai salah satu bentuk polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1*. Perubahan basa nukleotida G menjadi A pada urutan 172 diperlihatkan pada hasil *electropherogram* (Gambar 3).

Untuk melihat prediksi kerusakan protein yang ditimbulkan oleh mutasi c.172G>A tersebut, kemudian dilakukan analisis prediksi kerusakan protein menggunakan *PolyPhen-2* dan SIFT. Analisis prediksi tersebut menunjukkan hasil *benign* (skor=0,000) menggunakan *PolyPhen-2* dan *tolerated* (skor=1,0) menggunakan SIFT. Hal tersebut menunjukkan bahwa perubahan basa nukleotida tersebut merupakan polimorfisme.

Hasil analisis *Fisher's exact test* hubungan polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dengan skizofrenia disajikan pada Tabel 3. Dapat dilihat bahwa polimorfisme SNP8NRG433E1006 tersebut terjadi pada 2 dari 30 pasien skizofrenia. Pada hasil penelitian ada 60 data yang semuanya

**Tabel 2 Temuan Polimorfisme SNP8NRG433E1006 Gen *NRG1* pada Pasien Skizofrenia**

No.	Ref.	Mutasi Substitusi		Tipe Mutasi	Prediksi Kerusakan Protein		Keterangan
		Perubahan Basa Nukleotida	Perubahan Asam Amino		<i>PolyPhen-2</i> (Skor)	SIFT (Skor)	
1	8	c.172G>A	p.Gly58Arg	<i>Missense</i>	<i>Benign</i> (0,000)	<i>Tolerated</i> (1,0)	Homozigot
2	10	c.172G>A	p.Gly58Arg	<i>Missense</i>	<i>Benign</i> (0,000)	<i>Tolerated</i> (1,0)	Homozigot



**Gambar 2 Ukuran Produk Nested PCR dengan Elektroforesis Gel Agarose**

Analisis produk amplifikasi *nested* PCR dilakukan dengan teknik elektroforesis menggunakan gel agarose 0,8%. Sumuran pertama berisi *marker ladder* 100 bp, sumuran I–VIII adalah produk amplifikasi *nested* PCR (kontrol no. 1–8) dan sumuran IX–XIV adalah produk amplifikasi *nested* PCR pasien skizofrenia (pasien no. 1–6). Semua pita DNA menghasilkan produk dengan ukuran 163 bp

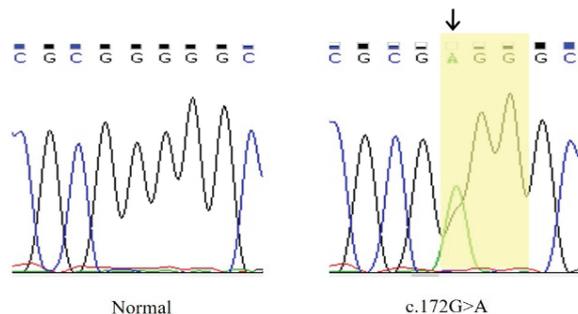
diproses (tidak ada data yang *missing* atau hilang) sehingga tingkat kevalidannya 100%. Berdasar atas hasil *Fisher’s exact test* didapatkan nilai  $p=0,246$  ( $p>0,05$ ). Hasil pengujian tersebut membuktikan bahwa tidak terdapat hubungan antara polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dan skizofrenia pada etnik Jawa.

**Pembahasan**

Berdasar atas hasil penelitian diketahui bahwa dari 30 subjek pasien skizofrenia etnik Jawa tersebut, sebanyak 21 laki-laki dan 9 perempuan. Penelitian sebelumnya pada tahun 2014 yang juga dilaksanakan di RSJD Dr. Amino Gondohutomo Semarang menunjukkan hasil yang sama, yaitu 60,9% pasien skizofrenia laki-laki. Rentang usia pasien skizofrenia paling banyak ditemukan pada usia remaja hingga dewasa (12–45 tahun) sebanyak 28 subjek. Hal ini sesuai dengan studi

epidemiologi yang menyatakan bahwa 75% penderita skizofrenia mulai mengidapnya pada usia remaja hingga dewasa muda. Pada remaja dan dewasa muda memang berisiko tinggi karena pada tahap kehidupan ini penuh dengan stresor.<sup>14</sup> Berdasar atas studi epidemiologi tersebut dapat diartikan bahwa usia muda khususnya pada usia 16–25 tahun sebagian besar mulai mengidap dan terdiagnosis skizofrenia. Semakin cukup usianya, tingkat kematangan dan kekuatan seseorang akan lebih matang dalam berpikir rasional, logis, dan makin konstruktif dalam mengatasi masalah serta mampu mengendalikan emosi dan makin toleran terhadap orang lain.<sup>1,2,15</sup>

Hasil sekuensing pada pasien normal tidak ditemukan suatu mutasi, baik substitusi, delesi, maupun insersi. Analisis pada 30 sekuens pasien skizofrenia berhasil ditemukan polimorfisme SNP8NRG433E1006 berupa mutasi homozigot c.172G>A pada 2 dari 30 pasien skizofrenia. Penelitian lainnya di Indonesia yang dilakukan oleh Effendy dkk.<sup>9</sup> juga mencoba mengidentifikasi polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* pada pasien skizofrenia etnik Batak. Hasilnya adalah ditemukan polimorfisme tersebut pada 4



**Gambar 3 Partial Electropherogram Polimorfisme SNP8NRG433E1006 Mutasi c.172G>A (Homozigot) Pasien Skizofrenia**

**Tabel 3 Polimorfisme SNP8NRG433E1006 terhadap Skizofrenia**

		Skizofrenia		Total
		Tidak	Ya	
SNP8NRG433E1006	Tidak	30	28	58
	Ya	0	2	2
Total		30	30	60

dari 45 pasien skizofrenia (8,9%). Beberapa studi yang telah dilakukan di Islandia, Skotlandia, dan Swedia menemukan bahwa *NRG1* merupakan kandidat gen yang bertanggung jawab untuk skizofrenia. Bukti yang kuat untuk hubungan dengan haplotipe yang sama dikenal dengan HAPICE ditemukan pada sampel yang besar dari Skotlandia dan didukung lebih jauh lagi dengan sampel dari Swedia.<sup>5,8,16</sup> SNP8NRG433E1006 merupakan salah satu dari kelima SNP dari HAPICE.<sup>9</sup>

Polimorfisme SNP8NRG433E1006 pada gen *NRG1* menimbulkan suatu mutasi c.172G>A yang menyebabkan perubahan asam amino glisin menjadi arginin pada posisi 58. Selanjutnya, untuk membuktikan bahwa mutasi tersebut merupakan polimorfisme, peneliti menganalisis prediksi kerusakan protein diakibatkan mutasi tersebut dengan menggunakan *PolyPhen-2* dan SIFT. Hasil kedua prediksi kerusakan protein tersebut memperlihatkan berturut-turut *benign* (skor=0,000) dan *tolerated* (skor=1,0). Keadaan tersebut membuktikan bahwa perubahan basa nukleotida tersebut merupakan polimorfisme. Frekuensi polimorfisme itu yang kerap muncul pada pasien skizofrenia kemudian diduga menjadi faktor suseptibilitas terjadinya skizofrenia.

Apabila dianalisis perubahan asam amino yang terjadi pada polimorfisme SNP8NRG433E1006 (mutasi c.172G>A) diketahui asam amino glisin atau asam aminoetanoat adalah asam amino yang paling sederhana. Rumus kimianya  $C_2H_5NO_2$  dan asam amino glisin merupakan asam amino yang mudah menyesuaikan diri dengan berbagai situasi karena strukturnya yang sederhana.<sup>17</sup> Asam amino arginin memiliki kecenderungan basa yang cukup tinggi akibat ekresi dua gugus amina pada gugus residunya. Apabila dilihat dari rantai sampingnya, asam amino glisin termasuk salah satu asam amino nonpolar dengan rantai samping alifatik, sedangkan asam amino arginin mempunyai rantai samping yang mengandung gugus basa (gugus R bermuatan positif).<sup>18</sup> Mutasi tersebut menyebabkan perubahan asam amino glisin menjadi arginin dengan struktur serta profilnya cukup berbeda sehingga kemungkinan besar dapat menghasilkan modifikasi struktur 3 dimensi (3D) dari protein *NRG1* yang terbentuk.

Hasil analisis bivariat dengan menggunakan *Fisher's exact test* untuk mengetahui hubungan polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* dengan skizofrenia didapatkan nilai  $p=0,246$  ( $p>0,05$ ) yang artinya tidak terdapat hubungan antara polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen

*NRG1* dan skizofrenia pada etnik Jawa. Faktor-faktor yang menyebabkan individu mengalami gangguan jiwa skizofrenia dapat berasal dari faktor internal dan eksternal. Menurut Stuart,<sup>15</sup> faktor predisposisi pada gangguan jiwa mencakup tiga, yaitu faktor biologi, psikologis, dan kultur sosial. Faktor biologi mencakup faktor genetik dan neurobiologi. Faktor genetik diidentifikasi kecacatan pada kromosom 6 serta beberapa kromosom lainnya, seperti kromosom 4, 8, 15, dan 22. Berdasar atas penelitian neurobiologi terjadi penurunan volume otak dan ketidaknormalan fungsi otak pada individu skizofrenia. Faktor biologi, genetik, dan neurobiologi termasuk faktor internal yang dapat menyebabkan skizofrenia.<sup>19,20</sup> Gangguan jiwa berat tidak hanya disebabkan oleh faktor biologis dan psikologis, tetapi juga oleh faktor kultur sosial.<sup>21</sup> Faktor kultur sosial pada skizofrenia disebabkan oleh isolasi atau pengasingan dalam kehidupan.<sup>19</sup>

Selain faktor predisposisi itu, terdapat faktor presipitasi yang merupakan pencetus gangguan skizofrenia. Faktor pencetusnya adalah hal-hal yang dapat menyebabkan stres. Penyebab stres mencakup faktor biologi dan *symptom tiggers* mencakup kesehatan, lingkungan, serta sikap.<sup>19</sup> Faktor biologi terjadi disebabkan oleh penurunan fungsi saraf di otak dalam penyampaian informasi ke talamus serta proses pengolahan informasi pada lobus frontalis.<sup>22</sup>

Berdasar atas penjelasan di atas, diketahui bahwa gangguan jiwa skizofrenia tidak hanya dipengaruhi oleh faktor genetik, tetapi juga oleh faktor biologis dan lingkungan/psikososial. Pada penelitian ini kemungkinan besar pasien skizofrenia yang tidak ditemukan polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* memiliki faktor predisposisi selain genetika. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menganalisis faktor-faktor apa saja yang berperan terhadap gangguan jiwa skizofrenia secara lebih komprehensif dan menyeluruh. Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk menganalisis dan juga mengonfirmasi peranan polimorfisme SNP8NRG433E1006 pada skizofrenia dengan memakai jumlah sampel yang lebih besar pada beragam ras atau suku di Indonesia.

Selain itu, pada studi meta-analisis yang dilakukan oleh Gong dkk.<sup>22</sup> pada etnik Tiongkok dan Korea serta studi yang dilaksanakan oleh Ikeda dkk.<sup>23</sup> pada populasi Jepang menemukan sebuah SNP yang kerap muncul pada etnik-etnik tersebut, yakni SNP8NRG221533. Oleh karena itu, perlu dilaksanakan penelitian lebih

lanjut untuk mendeteksi polimorfisme lainnya yang kerap muncul pada populasi Asia selain SNP8NRG433E1006.

### Simpulan

Peran polimorfisme SNP8NRG433E1006 gen *NRG1* terhadap kejadian skizofrenia itu tidak terbukti.

### Ucapan Terima Kasih

Peneliti dalam kesempatan ini menyampaikan banyak terima kasih serta penghargaan kepada pasien dan keluarga pasien yang berkenan terlibat dalam penelitian ini, direktur, dan seluruh staf CEBIOR dari Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang membantu dalam proses pemeriksaan laboratorium.

### Daftar Pustaka

- Maramis WF, Maramis AA. Catatan ilmu kedokteran jiwa. Edisi ke-2. Surabaya: Airlangga University Press; 2009.
- Kaplan HI, Sadock BJ, Grebb JA, Kusuma W, Wiguna SIM. Kaplan dan Sadock sinopsis psikiatri: ilmu pengetahuan perilaku psikiatri klinis. Edisi ke-7. Jakarta: Binarupa Aksara; 2010.
- McGrath JA, Avramopoulos D, Lasseter VK, Wolyniec PS, Fallin MD, Liang KY, dkk. Familiality of novel factorial dimensions of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2009;66(6):591–600.
- Ruderfer DM, Kirov G, Chambert K, Moran JL, Owen MJ, O'Donovan MC. A family-based study of common polygenic variation and risk of schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2011;16(9):887–8.
- Thomson PA, Christoforou A, Morris SW, Adie E, Pickard BS, Porteus DJ, dkk. Association of neuregulin 1 with schizophrenia in a second cohort from the Scottish population. *Mol Psychiatry*. 2007;12(1):94–104.
- Sei Y, Ren-Patterson R, Li Z, Tunbridge EM, Egan MF, Kolachana BS, dkk. Neuregulin 1 induced cell migration is impaired in schizophrenia: association with neuregulin 1 and catechol-o-methyltransferase gene polymorphisms. *Mol Psychiatry*. 2007;12(10):946–57.
- Buxbaum JD, Georgieva L, Young JL, Plescia C, Kajiwaru Y, Jiang Y, dkk. Molecular dissection of NRG1-ERBB4 signaling implicates PTPRZ1 as a potential schizophrenia susceptibility gene. *Mol Psychiatry*. 2008;13(2):162–72.
- Alaerts M, Ceulemans S, Forero D, Moens LN, De Zutter S, Heyrman L, dkk. Support for NRG1 as a susceptibility factor for schizophrenia in a northern Swedish isolated population. *Arch Gen Psychiatry*. 2009;66(8):828–37.
- Effendy E, Loebis B, Amir N, Siregar Y. SNP8NRG4331006 neuregulin-1 genetic variation in Batak ethnic with schizophrenia paranoid and healthy control. *Bali Med J*. 2014;3(2):58–64.
- Mei L, Xiong WC. Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(6):437–52.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Lighting the hope for schizophrenia warnai peringatan Hari Kesehatan Jiwa tahun 2014 [diunduh 21 Mei 2017]. Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id/article/view/201410270010/lighting-the-hope-for-schizophrenia-warnai-peringatan-hari-kesehatan-jiwa-tahun-2014.html>.
- Na'im A, Syaputra H, Sumarwanto, Iriantono T. Kewarganegaraan, suku bangsa, agama, dan bahasa sehari-hari penduduk Indonesia. Hasil sensus penduduk 2010. Jakarta: Badan Pusat Statistik; 2011.
- Weickert CS, Tiwari Y, Schofield PR, Mowry BJ, Fullerton JM. Schizophrenia-associated HapICE haplotype is associated with increased NRG1 type III expression and high nucleotide diversity. *Transl Psychiatry*. 2012;2:e104.
- Anderson P. Teen marijuana use linked to earlier psychosis onset [diunduh 21 Mei 2017]. Tersedia dari: <https://www.medscape.com/viewarticle/825131>.
- Stuart GW. Principles and practice of psychiatric nursing. Edisi ke-10. St Louis, Missouri: Elsevier Mosby; 2013.
- Kato T, Abe Y, Sotoyama H, Kakita A, Kominami R, Hirokawa S, dkk. Transient exposure of neonatal mice to neuregulin-1 results in hyperdopaminergic states in adulthood: implication in neurodevelopmental hypothesis for schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2011;16(3):307–20.
- Kumar A, Bisht M, Venkatesu P. Exploring the structure and stability of amino acids

- and glycine peptides in biocompatible ionic liquids. *RSC Adv.* 2016;6(23):18763–77.
18. Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. *Adv Nutr.* 2010;1(1):31–7.
  19. Mahone IH, Maphis CF, Snow DE. Effective strategies for nurses empowering clients with schizophrenia: medication use as a tool in recovery. *Issues Ment Health Nurs.* 2016;37(5):372–9.
  20. Kurtz MM, Richardson CL. Social cognitive training for schizophrenia: a meta-analytic investigation of controlled research. *Schizophr Bull.* 2012;38(5):1092–104.
  21. Wulandari A, Purnomowati A, Wahmurti Tuti. Deteksi disfungsi endotel pada gangguan depresi mayor dengan pengukuran endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation. *GMHC.* 2017;(5)1:27–32.
  22. Gong YG, Wu CN, Xing QH, Zhao XZ, Zhu J, He L. A two-method meta-analysis of neuregulin 1 (NRG1) association and heterogeneity in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2009;111(1–3):109–14.
  23. Ikeda M, Takahashi N, Saito S, Aleksic B, Watanabe Y, Nunokawa A, dkk. Failure to replicate the association between NRG1 and schizophrenia using Japanese large sample. *Schizophr Res.* 2008;101(1–3):1–8.