

History Artikel

Identifikasi Variasi Gen dan Ekspresi Gen Yang Berhubungan Dengan Anemia Aplastik Menggunakan Pendekatan Genomik dan Bioinformatik

Editorial process yang dilakukan penulis pada jurnal menggunakan sistem dari jurnal tersebut yang dapat di akses di alamat <https://journal.ummat.ac.id/index.php/farmasi/index> dengan Informasi metadata artikel pada jurnal, sebagai berikut:

Metadata Pengiriman

Penulis

Nama Ayu Lifa Nur Kartikasari
Afiliasi Universitas Ahmad Dahlan
Negara Indonesia
Pernyataan Bio —
Nama Anisa Devi Kharisma Wibowo
Afiliasi Universitas Ahmad Dahlan
Negara —
Pernyataan Bio —
Nama Henry Budiawan Prasetya
Afiliasi Universitas Ahmad Dahlan
Negara —
Pernyataan Bio —
Nama La Malih
Afiliasi Universitas Ahmad Dahlan
Negara —
Pernyataan Bio —
Nama Nanik Sulistyani
Afiliasi Universitas Ahmad Dahlan
Negara —
Pernyataan Bio —
Nama Lalu Muhammad Irahm
Afiliasi Universitas Ahmad Dahlan
Negara —
Pernyataan Bio —

Kontak utama untuk korespondensi editorial.

Nama Wirawan Adikusuma
Afiliasi Universitas Muhammadiyah Mataram
Negara —
Pernyataan Bio —

Nama Abdi Wira Septama
Afiliasi Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, BRIN, Cibinong Science Center (CSC), Cibinong, Jawa Barat, Indonesia
Negara —
Pernyataan Bio —

Nama Riat El Khair
Afiliasi Universitas Gadjah Mada
Negara —
Pernyataan Bio —

Nama Rahmat Dani Satria
Afiliasi Universitas Gadjah Mada
Negara —
Pernyataan Bio —

Judul dan Abstrak

Judul Produksi Variasi Gen dan Ekspresi Gen Yang Berhubungan Dengan Anemia Aplastik Menggunakan Pendekatan Genomik dan Bioinformatik

Abstrak Anemia aplastik merupakan anemia yang disertai oleh pansiopenia pada tepi darah yang disebabkan oleh kelainan primer pada sumsum tulang dalam bentuk aplasia atau hipoplasia tanpa adanya infiltrasi, supresi atau pendesakan sumsum tulang. Pada anemia aplastik terjadi penurunan produksi sel darah dari sumsum tulang sehingga menyebabkan retikulositopenia, anemia, granulositopenia, monositopenia dan trombositopenia. Anemia aplastik termasuk dalam penyakit yang rentan disebabkan oleh faktor genetik. Salah satu faktor genetik yang banyak diidentifikasi adalah variasi gen atau *polimorfisme nukleotida tunggal* (SNP). Hingga hari ini metodologi untuk bantuan variasi gen tersebut sudah tersedia dengan bentuk berbagai macam database dan bioinformatika. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi variasi gen yang berhubungan dengan Anemia aplastik dan memprioritaskan variasi gen tersebut berdasarkan tingkat kerentanannya melalui pemanfaatan katalog GWAS dan integrasi beberapa database bioinformatika. Hasil penelitian ini kami menemukan ada dua SNP rs1042151 dan rs28367832 yang rentan terhadap anemia aplastik berdasarkan ekspresi gen di jaringan darah. Variasi gen tersebut juga mengkode gen *HLA-DPB1* dan *HLA-B* dan menunjukkan ekspresi yang tinggi pada jaringan darah (*whole blood*). Penelitian ini menunjukkan bahwa integrasi variasi gen dan bioinformatika potensial untuk memberikan informasi kepada si terkait kerentanan suatu variasi gen pada suatu penyakit termasuk pada anemia aplastik.

Pengindeksan

Kata kunci Anemia aplastik; genomik; Bioinformatika; HLA-DPB1; HLA-B
Bahasa en

Instansi Pendukung

Agensi —

Referensi

Referensi Burek Kamenaric, M., Maskalan, M., Grubic, Z., Mikulic, M., Serventi Seiwerth, R., Durakovic, N., Vrhovac, R., Stinkl Jankovic, K., & Zuncic, R. (2017). Pencocokan HLA-DPB1 dalam program transplantasi sel induk hematopoietik yang tidak berhubungan berkontribusi terhadap insiden kekambuhan penyakit yang lebih tinggi. *Imunologi Manusia*, 78(11-12), 665-671. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.08.008>
Chen, Z., Boehnke, M., Wen, X., & Mukherjee, B. (2021). Meninjau kembali ambang signifikansi genom untuk varian umum GWAS. *G3: Gen, Genom, Genetika*, 11(2). <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkaa056>
Furqan, M., Kurniawan, R., & HP, KI (2020). Evaluasi Performa Support Vector Machine Classifier Terhadap Penyakit Mental. *JURNAL SISTEM INFORMASI BISNIS*, 10(2), 203-210. <https://doi.org/10.21456/vol10iss2pp203-210>
Dalam, JW, Lee, N., Roh, EY, Shin, S., Park, KU, & Lagu, EY (2017). Asosiasi anemia aplastik dan polimorfisme gen FoxP3 di Korea. *Hematologi*, 22(3), 149-154. <https://doi.org/10.1080/10245332.2016.1238645>
Irahm, LM, Adikusuma, W., Lolita, L., Puspitaningrum, AN, Afief, AR, Sarasmita, MA, Dania, H., Khairi, S., Djallah, GN, Purwanto, BD, & Cheung, R. (2022). Investigasi gen kerentanan penyakit cacar air di berbagai benua. *Laporan Biokimia dan Biofisika*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101419>
Irahm, LM, Chou, WH, Callons, MJ, Adikusuma, W., Hsieh, SL, & Chang, WC (2020). Variasi genetik yang memengaruhi ekspresi TMPRSS2 reseptor SARS-CoV-2 di antara kelompok populasi dari berbagai benua. *Komunikasi Penelitian Biokimia dan*

DOI: 10.30605/j.farmasi

PENGGUNA

Anda login sebagai...

kartikasari

- ▶ Jurnal Saya
- ▶ Profil saya
- ▶ Keluar

TEMLPAT



TEMPLATE JIKA

ISSN & BARCODE

CETAK BARCODE



9 772715 994008

BARCODE ONLINE



9 772715 527004

KATA KUNCI

Antibakteri
Antibiotik
Antikolesterol
Sikap Kolesteron
Kepatuhan Covid-19 DPPH
Efektivitas Fraksi etil asetat Gel
Hipertensi
Pengetahuan Tingkat pengetahuan Kelangkaan Staphylococcus aureus Staphylococcus aureus. Staphylococcus epidermidis Tuberkulosis Tuberkulosis. Vitamin C.

PEMBERITAHUAN

- ▶ Lihat (11 baru)
- ▶ Mengelola

PENGARANG

- Kiriman
- ▶ Aktif (0)
 - ▶ Arsip (1)
 - ▶ Penyerahan Baru

BAHASA

Pilih bahasa
English

Kirim

KONTEN JURNAL

Mencari

Lingkup Pencarian

All

Mencari

Jelajahi

- ▶ Berdasarkan Masalah
- ▶ Oleh Penulis
- ▶ Dengan Judul
- ▶ Jurnal Lainnya

Artikel di submit pada tanggal 23 Januari 2023. Selanjutnya, pada tanggal 29 Juli 2023 mendapatkan hasil review dari 4 orang reviewer. Pasca melakukan revisi berdasarkan saran dan masukan dari reviewer, pada tanggal 29 Juli 2023, artikel diterima oleh Editor. Terakhir, proses pengajuan dilakukan pada tanggal 10 Agustus 2023, artikel diterbitkan secara online. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar berikut.

Penyerahan

Penulis	Ayu Lafia Nur Kartikasari, Anisa Devi Kharisma Wibowo, Henry Budiawan Prasetya, La Malihi, Nanik Sulistyani, Lalu Muhammad Irham, Wirawan Adikusuma, Abdi Wira Septama, Riat El Khair, Rahmat Dani Satria
Judul	Produksi Variasi Gen dan Ekspresi Gen Yang Berhubungan Dengan Anemia Aplastik Menggunakan Pendekatan Genomik dan Bioinformatika
Bagian	Artikel
Editor	Baiq Nurbaety

Penyalinan

PETUNJUK PENYALINAN

TINJAU METADATA	MEMINTA	SEDANG BERLANGSUNG	MENYELESAIKAN
1. Salinan Awal Berkas: 13335-52786-1-CE.DOCX 30-06-2023	29-07-2023	—	29-07-2023
2. Penulis Salinedit Berkas: 13335-54938-2-CE.DOCX 29-07-2023 <input type="button" value="Choose File"/> No file chosen <input type="button" value="Mengunggah"/>	29-07-2023	29-07-2023	29-07-2023
3. Salinan Akhir Berkas: Tidak ada	29-07-2023	—	29-07-2023

Salinedit Komentar

Tata Letak

Format Dapur	MENGAJUKAN
1. BUKTI LIHAT PDF	13335-54943-2-PB.PDF 10-08-2023 25
File Tambahan	MENGAJUKAN <i>Tidak ada</i>

Komentar Tata Letak

Mengoreksi

TINJAU METADATA	MEMINTA	SEDANG BERLANGSUNG	MENYELESAIKAN
1. Pengarang	29-07-2023	29-07-2023	29-07-2023
2. Korektor	29-07-2023	—	29-07-2023
3. Editor Tata Letak	29-07-2023	—	29-07-2023

Koreksi Proofreading [INSTRUKSI PROOFREADING](#)

Sejarah Jurnal

Fokus dan Ruang Lingkup

Pedoman Penulis

Etika Publikasi

Kebijakan Akses Terbuka

Proses Tinjauan Sejawat

Pengiriman Daring

Biaya Publikasi

[SISTEM JURNAL TERBUKA](#)

[Bantuan Jurnal](#)

PENGUNA

Anda login sebagai...
kartikasari

- [▶ Jurnal Saya](#)
- [▶ Profil saya](#)
- [▶ Keluar](#)

TEMPLAT



TEMPLATE JIKA

ISSN & BARCODE

CETAK BARCODE



Sejumlah dokumen perubahan dari artikel yang diterbitkan sejak proses submit, hasil review dari reviewer, artikel revisi, dan artikel terbit, terlampir.

Artikel versi pertama saat Submit 23
Januari 2023

Identifikasi variasi gen dan ekspresi gen yang berhubungan dengan anemia aplastik menggunakan pendekatan genomik dan bioinformatika

Ayu Lifia Nur Kartikasari^{a,1}, Anisa Devi Kharisma Wibowo^{a,2}, Henry Budiawan Prasetya^{a,b,3}, La Malihi^a, Nanik Sulistyani^a, Lalu Muhammad Irham^{a,d,4*}, Wirawan Adikusuma^c, Abdi Wira Septama^e, Riat El Khair^{f,g}, Rahmat Dani Satria^{f,g}

^a Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

^b RSI PKU Muhammadiyah, Pekajangan, Pekalongan, Jawa Tengah, Indonesia

^c Department of Pharmacy, University of Muhammadiyah Mataram, Mataram, Indonesia

^d Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Tangerang Selatan, Indonesia

^e Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, BRIN, Cibinong Science Center (CSC), Cibinong, Jawa Barat, Indonesia

^f Departemen Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281, Indonesia

^g Instalasi Laboratorium Terpadu, Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito, Yogyakarta 55281, Indonesia

¹ ayulifia17@gmail.com; ²anisadevikh@gmail.com; ³prasetyahenry@gmail.com; ⁴lalu.irham@pharm.uad.ac.id*

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
Sejarah artikel: Diterima Revisi Dipublikasikan	<p>Anemia aplastik merupakan anemia yang disertai oleh pansitopenia pada darah tepi yang disebabkan oleh kelainan primer pada sumsum tulang dalam bentuk aplasia atau hipoplasia tanpa adanya infiltrasi, supresi atau pendesakan sumsum tulang. Pada anemia aplastik terjadi penurunan produksi sel darah dari sumsum tulang sehingga menyebabkan retikulositopenia, anemia, granulositopenia, monositopenia dan trombositopenia. Anemia aplastika termasuk dalam penyakit yang rentan disebabkan oleh faktor genetik. Salah satu faktor genetik yang banyak diidentifikasi adalah variasi gen atau <i>single nucleotide polymorphism</i> (SNP). Hingga hari ini metodologi untuk identifikasi variasi gen tersebut sudah tersedia dengan bentuk berbagai macam database dan bioinformatika. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi variasi gen yang berhubungan dengan Anemia aplastik dan memprioritaskan variasi gen tersebut berdasarkan tingkat kerentanannya melalui pemanfaatan GWAS katalog dan integrasi beberapa database bioinformatika. Hasil penelitian ini kami temukan ada dua SNP rs1042151 dan rs28367832 yang rentan terhadap anemia aplastik berdasarkan ekspresi gen di jaringan darah. Variasi gen tersebut juga mengkode gen <i>HLA-DPBI</i> dan <i>HLA-B</i> dan menunjukkan ekspresi yang tinggi pada jaringan darah (<i>whole blood</i>). Penelitian ini menunjukkan bahwa integrasi variasi gen dan bioinformatika potensial untuk memberikan informasi terkait kerentanan suatu variasi gen pada suatu penyakit termasuk pada anemia aplastik.</p>
Kata kunci: Anemia aplastik Genomik Bioinformatika <i>HLA-DPBI</i> <i>HLA-B</i>	
Key word: Aplastic Anemia Genomic Bioinformatics <i>HLA-DPBI</i> <i>HLA-B</i>	ABSTRACT <p>Aplastic anemia is anemia accompanied by pancytopenia in the peripheral blood caused by primary disorders of the bone marrow in the form of aplasia or hypoplasia without bone marrow infiltration, suppression, or displacement. In aplastic anemia, there is a decrease in blood cell production from the bone marrow, causing reticulocytopenia, anemia, granulocytopenia, monocytopenia, and thrombocytopenia. Aplastic anemia is a susceptible disease caused by genetic factors. One of the many genetic factors identified is gene variation, or single nucleotide polymorphism (SNP). To this day, methodologies for identifying these gene variations are available in the form of various databases and bioinformatics. The aim of this study was to identify gene variations associated with aplastic anemia and to prioritize these gene variations based on their level of susceptibility through the use of GWAS catalogs and the integration of several bioinformatics databases. The results of this study found that there were two SNPs, rs1042151 and rs28367832, that were susceptible to aplastic anemia. These gene variations also encode the <i>HLA-DPBI</i> and <i>HLA-B</i> genes and show high expression in whole blood. This study shows that the integration of gene variation and bioinformatics</p>

has the potential to provide information regarding the susceptibility of a gene variation in a disease including in Aplastic anemia.

This is an open access article under the [CC-BY-SA](#) license.



Pendahuluan

Anemia aplastik merupakan kelainan *hematopoietic* yang dipengaruhi oleh imunitas dan paparan lingkungan, yang ditandai dengan sumsum tulang hipoplastik dan pansitopenia progresif (Zaimoku et al., 2021). Insiden penyakit anemia aplastik di dunia tergolong jarang, berkisar 2-6 kasus per 1 juta penduduk pada negara-negara Eropa. Namun di Asia dikatakan bahwa insiden penyakit ini lebih besar yaitu berkisar 6-14 kasus per 1 juta penduduk (Peslak et al., 2017).

Penyakit ini bisa muncul pada sekitar usia 15 – 30 tahun dan > 60 tahun, serta menyerang kedua jenis kelamin. Di beberapa bagian dunia lebih sering terjadi pada laki-laki muda (In et al., 2017). Anemia aplastik juga terjadi pada individu dengan sindrom kegagalan sumsum tulang bawaan yang jarang disebabkan terutama oleh varian germline patogen pada gen perbaikan DNA, ribosom, atau telomerebiologi (Zaimoku et al., 2021). Patofisiologi imun anemia aplastik sendiri terjadi dari hilangnya alel *HLA* kelas I secara somatik dapat diakibatkan oleh hilangnya heterozigositas dalam kromosom 6 (chr6-CNLOH) (Zaimoku et al., 2021). Sel punca hematopoietik dengan chr6-CNLOH diperkirakan dapat lolos dari serangan imun sel T sitotoksik dengan menghapus *HLA* alel yang terlibat dalam presentasi autoantigen (Zaimoku et al., 2021).

Gejala anemia aplastik sangat terkait dengan penyakit autoimun dan sering terjadi pada pasien *rheumatoid arthritis*, lupus eritematosus sistemik, dan multipel sklerosis; dua penyakit terakhir sangat terkait dengan *HLA-B*. Oleh karena itu, untuk mendeteksi gejala anemia aplastik secara spesifik dapat dilakukan pemeriksaan DNA. Variasi gen sering dihubungkan dengan kerentanan seseorang pada suatu penyakit termasuk termasuk anemia aplastik. Perkembangan teknologi untuk identifikasi kerentanan suatu genomik hari ini tersedia dengan berbagai macam kemudahan termasuk untuk identifikasi variasi gen

yang merupakan faktor penting dalam salah satu pada susunan basa DNA yang terdiri dari huruf A-T-G dan C. Salah satu website yang membahas variasi gen adalah *Genome-Wide Association Studies* (GWAS) (Furqan et al., 2020). GWAS katalog merupakan database yang mengumpulkan hasil dari studi GWAS dari seluruh dunia. Metode GWAS ini sangat praktis karena dapat mengidentifikasi SNP dalam jumlah sangat banyak (Chen et al., 2021). Termasuk database GWAS katalog ini sangat berguna untuk mengidentifikasi tipe SNP yang bertanggung jawab atas kejadian anemia aplastik.

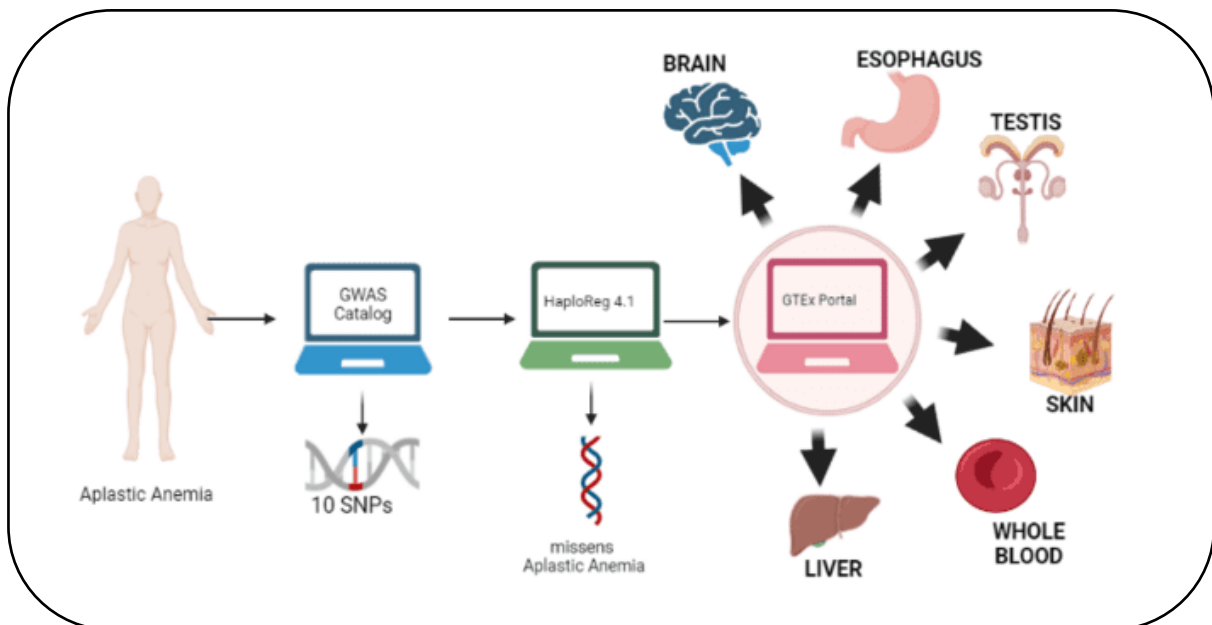
Identifikasi genetik manusia bertujuan untuk mengidentifikasi faktor risiko genetik yang diwariskan untuk penyakit seperti anemia aplastik. Meskipun etiologi tentang penyebab anemia aplastik sudah banyak dibahas, namun belum banyak diidentifikasi terkait jenis gen yang spesifik berperan terhadap patogenesisnya. Oleh karena itu, penelitian ini mencoba memetakan jenis variasi gen pada beberapa populasi yang berperan penting dalam patogenesis anemia aplastik dengan memanfaatkan database GWAS dan integrasi beberapa database bioinformatika. Pada akhir penelitian ini akan diprioritaskan variasi gen yang paling berpengaruh berdasarkan fungsinya dalam perubahan protein (*genomic variant coding protein*).

Metode

Identifikasi SNP yang berhubungan dengan anemia aplastik diilustrasikan pada (Gambar 1) [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>] (diakses pada 17 Desember 2022). Pada penelitian ini kami memfokuskan SNP yang bersifat *missense* dengan pertimbangan sifat yang dapat merubah protein. Untuk identifikasi jenis SNP yang bersifat mutan (*missense*) kami memanfaatkan database HaploReg v4.1. (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>). Database HaploReg v 4.1 merupakan database bioinformatika yang mudah

digunakan dan diintegrasikan untuk tujuan identifikasi SNP. Identifikasi SNP yang berhubungan dengan anemia aplastik menggunakan kriteria $p\text{-value} < 10^{-8}$ dari database GWAS katalog. Nilai $p\text{-value} < 10^{-8}$ merupakan *threshold* statistika yang digunakan untuk jenis studi GWAS. Selain ini *threshold* yang sangat *strict* tersebut juga bertujuan untuk menghindari nilai positif palsu terkait dengan hubungan antara SNP dengan fenotip (Chen et al., 2021). Langkah selanjutnya adalah melakukan evaluasi SNP dengan menggunakan GTEx Portal untuk mengidentifikasi profil ekspresi genetik pada *tissue*/jaringan yang berhubungan dengan penyakit yang dalam hal ini terkait dengan penyakit anemia aplastik [<https://gtexportal.org/>] (diakses pada 17 Desember 2022). Untuk melihat

distribusi kerentanan suatu gen pada suatu populasi kami memanfaatkan jenis alel dari tiap SNP. Frekuensi alel pada populasi Afrika, Amerika, Asia, dan Eropa diekstraksi melalui database genetik HaploReg v4.1 [<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haplog/haplogreg.php>] (diakses 21 Desember 2022) dan browser Ensembl Genome (diakses 28 Desember 2022). Metode yang sama telah digunakan untuk mengidentifikasi variasi gen *TMPRSS2* pada Covid-19 (Irham et al., 2020), gen *TNPI1*, *TNFAIP3*, *IRF5* pada sindrom sjogren's (Puspitaningrum et al., 2022) dan gen *HLA-S*, *HCG4P5*, dan *ABHD16A* pada *chickenpox* (Irham et al., 2023).



Gambar I. Model skematik ini menunjukkan pemanfaatan database GWAS dan bioinformatika untuk identifikasi variasi gen yang berperan dalam patogenesis anemia aplastik. Skema ini dibuat menggunakan biorender.com berdasarkan nomor lisensi CQ24TYCZ5Q.

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Varian Genom Anemia Aplastik

SNP yang terkait anemia aplastik diperoleh dari database GWAS katalog, dari 10 SNP (Tabel 1) dan didapatkan 4 SNP yang memenuhi kriteria $p\text{-value} < 10^{-8}$. Diantara 4 jenis SNP tersebut, hanya 2 SNP yang dapat divalidasi menggunakan database bioinformatik GTEx portal (Tabel 2), penggunaan database GTEx tersebut bertujuan untuk melihat ekspresi dari suatu SNP dan suatu gen pada jaringan. Dalam penelitian ini kami fokus melihat ekspresi gen pada jaringan darah (*whole blood*). Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi gen *FOXP3* pada

94 kasus anemia aplastik dan 195 kontrol di Korea, penelitian ini menunjukkan adanya hubungan gen tersebut dengan respon terhadap terapi immunosupresif (IST) (In et al., 2017). Anemia aplastik juga terjadi pada individu yang mengalami sindrom kegagalan sumsum tulang bawaan yang jarang disebabkan terutama oleh varian germline patogen pada gen perbaikan DNA, ribosom, atau telomerebiologi (West & Churpek, 2017).

Pada penelitian yang kami lakukan, kami menemukan gen *HLA-DPBI* dan *HLA-B* yang berhubungan dengan anemia aplastik ditunjukkan dengan nilai signifikansi $p\text{-value} < 10^{-8}$ Penting untuk dicatat

bahwa *DPBI* terdiri dari untaian beta dari heterodimer protein *HLA-DP* yang terletak pada bagian permukaan sel-sel penyaji antigen (Burek Kamenaric et al., 2017). Menarik untuk dibahas juga bahwa ternyata variasi gen *HLA-DPBI* telah

dikaitkan dengan beberapa penyakit autoimun, diantaranya *rheumatoid arthritis*, *multiple sclerosis*, dan penyakit Grave (Orozco et al., 2011). Sedangkan *HLA-B* kelas I berkaitan dengan anemia aplastik.

Tabel 1. Hasil katalog GWAS katalog diperoleh 10 SNP yang berkaitan dengan anemia aplastic.

SNP	p-value	Chr 38
rs1042151	$2,00 \times 10^{-13}$	Chr6 33080884
rs28367832	$7,00 \times 10^{-09}$	Chr6 31337954
rs9276370	$5,00 \times 10^{-07}$	Chr6 32739518
rs7845664	$3,00 \times 10^{-07}$	Chr8 40712078
rs12753487	$3,00 \times 10^{-06}$	Chr1 97267878
rs1731229	$5,00 \times 10^{-06}$	Chr2 26664557
rs4345355	$5,00 \times 10^{-06}$	Chr5 128579850
rs9533317	$8,00 \times 10^{-06}$	Chr13 42947091
rs181550178	$7,00 \times 10^{-09}$	Chr17 58440938
rs77271627	$1,00 \times 10^{-08}$	Chr15 92378867

Data SNP tersebut diperoleh melalui database GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas>).

Tabel 2. Anemia aplastik dengan p value < 10^{-8} dan tervalidasi dalam database GTEx portal.

Varian Alel Yang Berisiko	P-value	Kode Gen	Letak Alel
rs1042151	$2,00 \times 10^{-13}$	<i>HLA-DPBI</i>	missense_variant
rs28367832	$7,00 \times 10^{-09}$	<i>HLA-B</i>	intron_variant

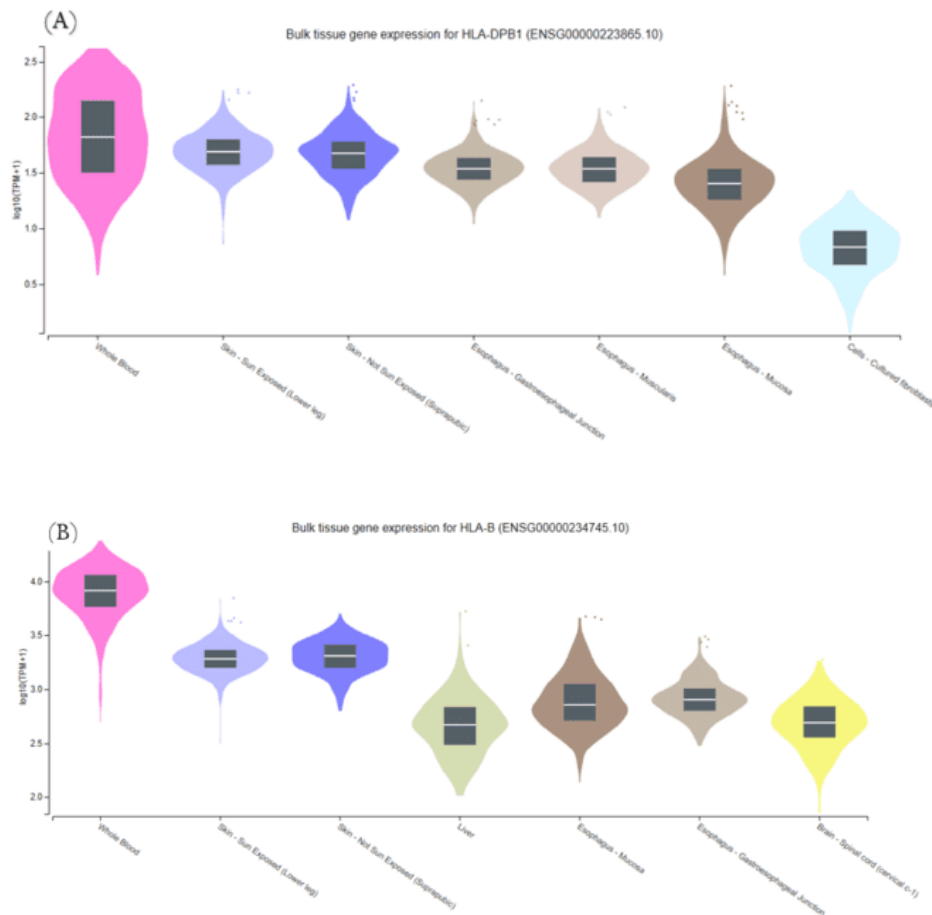
Ekspresi Gen Anemia Aplastik di Berbagai Jaringan

Variasi genetik anemia aplastik dalam berbagai jaringan kami evaluasi menggunakan e-QTL melalui database GTEx portal (<http://www.gtexportal.org/home/>) yang menunjukkan tingkat ekspresi gen (Tabel 3) di berbagai jaringan. Penggunaan data ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis ekspresi gen pada berbagai jaringan (Irham et al., 2023). Database menunjukkan gen yang mempengaruhi anemia aplastik yaitu *HLA-DPBI* dan *HLA-B* (Gambar 2) dengan

ekspresi gen terbanyak pada *whole blood*, esofagus, dan otak. Ketiga ekspresi gen didominasi oleh *whole blood*. *HLA-DPBI* yang ditemukan pada varian alel rs1042151 terletak di *missense variant*. *Missense variant* merupakan jenis variasi gen yang dapat melakukan perubahan sampai ke level protein. Perubahan yang terjadi berhubungan dengan *DPBI* yang merupakan untaian beta dari hetero protein *HLA-DP* sehingga beresiko menimbulkan beberapa penyakit yang berhubungan dengan autoimun (Burek Kamenaric et al., 2017).

Tabel 3. Ekspresi gen yang dominan pada jaringan manusia penyebab anemia aplastik.

SNP ID	Gencode ID (ENSG000000)	Gene symbol	p-value	NES	Tissue	Actions
rs1042151	223865.10	<i>HLA-DPBI</i>	1.0×10^{-09}	- 0,43	Cells - Cultured fibroblasts	AA > AG > GG
rs28367832	234745.10	<i>HLA-B</i>	2.6×10^{-11}	0,16	Whole Blood	AA > AG > GG

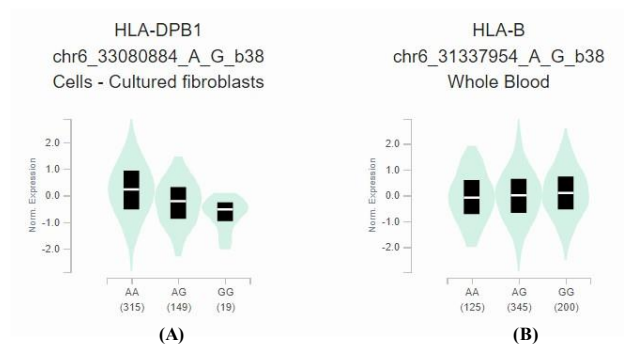


Gambar 2. Ekspresi gen rentan anemia aplastik pada jaringan manusia. Kedua jenis gen tersebut menunjukkan bahwa terkekspresi pada jaringan darah (A) HLA-DPB-I (B) HLA-B.

Korelasi antara ekspresi gen dan eQTL

Ekspresi gen terkait anemia aplastik diidentifikasi menggunakan eQTL pada database portal GTEx. kami mengidentifikasi alel minor (Gambar 3) rs1042151 pada gen *HLA-DPBI*, rs28367832 pada gen *HLA-B* terkait anemia aplastik. Hasil menunjukkan bahwa genotipe AA memiliki

ekspresi gen *HLA-DBPI* paling tinggi dibandingkan jenis genotype AG dan GG (kultur fibroblas, esofagus, otak, kulit). Hal yang sama juga terlihat pada jenis SNP rs28367832 dengan jenis genotype AA terlihat memiliki ekspresi paling tinggi *HLA-B* (seluruh darah, kulit, dan testis) dibandingkan genotip AG dan GG.



Gambar 3. Kerentanan alel anemia aplastik pada setiap gen.

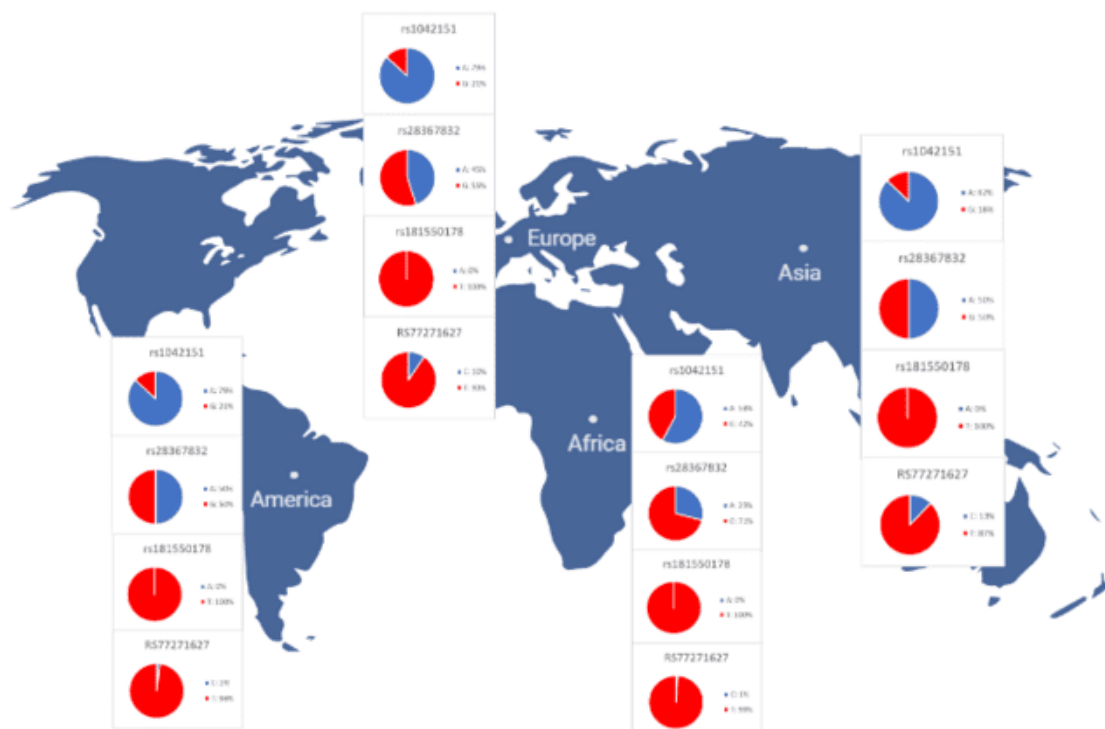
Frekuensi Alel dari varian kandidat dalam populasi yang berbeda

Pada tabel 4, kami mengidentifikasi frekuensi alel terkait penyakit anemia aplastik diberbagai populasi didunia, yaitu Afrika, Amerika, Asia, dan Eropa yang diekstraksi dari 1000 genom menggunakan website (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>). Tujuan pemetaan ini untuk melihat distribusi kerentanannya pada berbagai populasi dunia. Frekuensi Alel pada setiap SNP diperoleh berbeda disetiap populasi. SNP rsI042151 memiliki frekuensi alel terkait dengan gen HLA-DBPI pada anemia aplastik menunjukkan bahwa di Afrika 0,44% jauh lebih tinggi daripada Amerika 0,18%, Asia

0,13%, dan Eropa 0,20%. Selain itu jenis SNP rs28367832 menunjukkan bahwa Afrika 0,69% yang jauh lebih tinggi juga daripada Amerika 0,52%, Asia 0,48% dan Eropa ,55%, sedangkan SNP rs181550178 belum ditemukan populasi sama sekali diberbagai benua dan SNP rs77271627 menunjukkan pada 3 benua yaitu Eropa 0,11% jauh lebih tinggi dari pada Amerika 0,02%, dan Asia 0,05%, hal ini berhubungan dengan faktor lingkungan, faktor genetika, dan imunitas (Shallis et al., 2018). Frekuensi alel pada pendekatan genomik dapat digunakan untuk mengidentifikasi kerentanan suatu penyakit.

Tabel 4. Frekuensi alel pada setiap varian SNP.

SNP	Gene	Location	Allele		Allele Frequency				
			Ref	Eff	AFR	AMR	ASN	EUR	
rs1042151	<i>HLA-DPBI</i>	missense	A	G	0,44	0,18	0,13	0,2	
rs28367832	<i>HLA-B</i>	none	A	G	0,69	0,52	0,48	0,55	
rs9276370	<i>HLA-DQA2</i>	none	G	T	0,33	0,63	0,83	0,57	
rs7845664	<i>ZMAT4</i>	intronic	A	G	0,68	0,56	0,56	0,48	
rs12753487	<i>DPYD</i>	intronic	G	A	0,04	0,1	0,06	0,08	
rs1731229	<i>AC015977.6</i>	none	T	C	0,49	0,64	0,09	0,62	
rs4345355	<i>FBN2</i>	None	C	A	0,29	0,11	0,01	0,12	
rs9533317	<i>EPSTII</i>	intronic	C	T	0,36	0,37	0,55	0,28	
rs181550178	<i>HSF5</i>	intronic	T	A	0	0	0	0	
rs77271627	<i>ST8SIA2</i>	none	T	C	0	0,02	0,05	0,11	



Gambar 4. Penyebaran frekuensi alel HLA-DPBI, HLA_B, HSF5, ST8SIA2 pada 4 benua AFR, AMR, ASN, EUR pada varian rs1042151, rs28367832, rs181550178, rs77271627. Gambar persebaran alel ini dibuat menggunakan biorender.com berdasarkan nomor lisensi BX24VTK0WJ.

Simpulan dan Saran

Identifikasi Variasi gen dan ekspresi gen yang berhubungan dengan anemia aplastik menggunakan pendekatan genomik dan bioinformatika menunjukkan bahwa gen *HLA-DPBI* dan *HLA-B* memperlihatkan ekspresi yang tinggi pada jaringan darah (*whole blood*), esofagus, dan otak. Variasi Alel pada SNP (rs1042151 dan rs28367832) menunjukkan bahwa benua Afrika memiliki frekuensi tertinggi dibandingkan dengan populasi lain rs1042151 0,44% dan rs28367832 0,69% hal ini dapat menjadi pertimbangan terkait penyebaran kerentanan kejadian anemia aplastik.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada prodi S2 Farmasi UAD yang telah memberikan kesempatan untuk belajar Bioinformatika.

Daftar Pustaka

- Burek Kamenaric, M., Maskalan, M., Grubic, Z., Mikulic, M., Serventi Seiwerth, R., Durakovic, N., Vrhovac, R., Stingl Jankovic, K., & Zunec, R. (2017). HLA-DPBI matching in unrelated hematopoietic stem cell transplantation program contributes to a higher incidence of disease relapse. *Human Immunology*, 78(11–12), 665–671. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.08.008>
- Chen, Z., Boehnke, M., Wen, X., & Mukherjee, B. (2021). Revisiting the genome-wide significance threshold for common variant GWAS. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 11(2). <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkaa056>
- Furqan, M., Kurniawan, R., & HP, K. I. (2020). Evaluasi Performa Support Vector Machine Classifier Terhadap Penyakit Mental. *JURNAL SISTEM INFORMASI BISNIS*, 10(2), 203–210. <https://doi.org/10.21456/vol10iss2pp203-210>
- In, J. W., Lee, N., Roh, E. Y., Shin, S., Park, K. U., & Song, E. Y. (2017). Association of aplastic anemia and FoxP3 gene polymorphisms in Koreans. *Hematology*, 22(3), 149–154. <https://doi.org/10.1080/10245332.2016.1238645>
- Irham, L. M., Adikusuma, W., Lolita, L., Puspitaningrum, A. N., Afief, A. R., Sarasmita, M. A., Dania, H., Khairi, S., Djalilah, G. N., Purwanto, B. D., & Cheung, R. (2023). Investigation of susceptibility genes for chickenpox disease across multiple continents. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101419>
- Irham, L. M., Chou, W. H., Calkins, M. J., Adikusuma, W., Hsieh, S. L., & Chang, W. C. (2020). Genetic variants that influence SARS-CoV-2 receptor TMPRSS2 expression among population cohorts from multiple continents. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 529(2), 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.179>
- Orozco, G., Barton, A., Eyre, S., Ding, B., Worthington, J., Ke, X., & Thomson, W. (2011). HLA-DPBI-COL11A2 and three additional xMHC loci are independently associated with RA in a UK cohort. *Genes and Immunity*, 12(3), 169–175. <https://doi.org/10.1038/gene.2010.57>
- Peslak, S. A., Olson, T., & Babushok, D. v. (2017). Diagnosis and Treatment of Aplastic Anemia. In *Current Treatment Options in Oncology* (Vol. 18, Issue 12). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11864-017-0511-z>
- Puspitaningrum, A. N., Perwitasari, D. A., Adikusuma, W., Djalilah, G. N., Dania, H., Maliza, R., Faridah, I. N., Sarasmita, M. A., Rezadhini, M., Cheung, R., & Irham, L. M. (2022). Integration of genomic databases and bioinformatic approach to identify genomic variants for sjogren's syndrome on multiple continents. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 19(2), 71. <https://doi.org/10.12928/mf.v19i2.23706>
- Shallis, R. M., Ahmad, R., & Zeidan, A. M. (2018). Aplastic anemia: Etiology, molecular pathogenesis, and emerging concepts. In *European Journal of Haematology* (Vol. 101, Issue 6, pp. 711–720). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ejh.13153>
- West, A. H., & Churpek, J. E. (2017). *Old and new tools in the clinical diagnosis of inherited bone marrow failure syndromes*. <http://ashpublications.org/hematology/article-pdf/2017/1/79/1249643/hem00011.pdf>
- Zaimoku, Y., Patel, B. A., Adams, S. D., Shalhoub, R., Groarke, E. M., Lee, A. A. C., Kajigaya, S., Feng, X., Rios, O. J., Eager, H., Alemu, L., Raffo, D. Q., Wu, C. O., Flegel, W. A., & Young, N. S. (2021). *HLA associations, somatic loss of HLA expression, and clinical outcomes in immune aplastic anemia*. <http://www.medscape.org/journal/blood>;

Bukti Accept Submission



[LF] Editor Decision Kotak Masuk x



Baiq Nurbaety

ayu ayu lifia nur kartikasari: We have reached a decision regarding your submission to Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian, "Identifikasi variasi gen dan e



AYU LIFIA NUR KARTIKASARI <ayulifia17@gmail.com>

kepada LALU ▾



----- Forwarded message -----

Dari: **Baiq Nurbaety** <aum.ummat@gmail.com>

Date: Jun, 30 Jun 2023 12.32

Subject: [LF] Editor Decision

To: ayu ayu lifia nur kartikasari <ayulifia17@gmail.com>

ayu ayu lifia nur kartikasari:

We have reached a decision regarding your submission to Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian, "Identifikasi variasi gen dan ekspresi gen yang berhubungan dengan anemia aplastik menggunakan pendekatan genomik dan bioinformatika".

Our decision is to: Accept Submission

Baiq Nurbaety

universitas muhammadiyah mataram

bq.tyee@gmail.com

Lumbung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian

<http://journal.ummat.ac.id/index.php/Pharmacy> Journal UMMAT

← Balas

→ Teruskan



Hasil Review Artikel 29 Juli 2023

Identifikasi variasi gen dan ekspresi gen yang berhubungan dengan anemia aplastik menggunakan pendekatan genomik dan bioinformatika

Ayu Lifia Nur Kartikasari^{a,1}, Anisa Devi Kharisma Wibowo^{a,2}, Henry Budiawan Prasetya^{a,b,3}, La Malihi^a, Nanik Sulistyani^a, Lalu Muhammad Irham^{a,d4*}, Wirawan Adikusuma^c, Abdi Wira Septama^e, Riat El Khair^{f,g}, Rahmat Dani Satria^{f,g}

^a Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

^b RSI PKU Muhammadiyah, Pekajangan, Pekalongan, Jawa Tengah, Indonesia

^c Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Mataram, Mataram, Indonesia

^d Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Tangerang Selatan, Indonesia

^e Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, BRIN, Cibinong Science Center (CSC), Cibinong, Jawa Barat, Indonesia

^f Departemen Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas

Gadjah Mada, Yogyakarta 55281, Indonesia

^g Instalasi Laboratorium Terpadu, Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito, Yogyakarta 55281, Indonesia

¹ ayulifia17@gmail.com; ²anisadevikh@gmail.com; ³prasetyahenry@gmail.com; ⁴lalu.irham@pharm.uad.ac.id*

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
Sejarah artikel: Diterima Revisi Dipublikasikan	Anemia aplastik merupakan anemia yang disertai oleh pansitopenia pada darah tepi yang disebabkan oleh kelainan primer pada sumsum tulang dalam bentuk aplasia atau hipoplasia tanpa adanya infiltrasi, supresi atau pendesakan sumsum tulang. Pada anemia aplastik terjadi penurunan produksi sel darah dari sumsum tulang sehingga menyebabkan retikulositopenia, anemia, granulositopenia, monositopenia dan trombositopenia.
Kata kunci: Anemia aplastik Genomik Bioinformatika <i>HLA-DPB1</i> <i>HLA-B</i>	Anemia aplastik termasuk dalam penyakit yang rentan disebabkan oleh faktor genetik. Salah satu faktor genetik yang banyak diidentifikasi adalah variasi gen atau <i>single nucleotide polymorphism</i> (SNP). Hingga hari ini metodologi untuk identifikasi variasi gen tersebut sudah tersedia dengan bentuk berbagai macam database dan bioinformatika. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi variasi gen yang berhubungan dengan Anemia aplastik dan memprioritaskan variasi gen tersebut berdasarkan tingkat kerentanannya melalui pemanfaatan GWAS katalog dan integrasi beberapa basis data bioinformatika. Hasil penelitian ini kami temukan ada dua SNP rs1042151 dan rs28367832 yang rentan terhadap anemia aplastik berdasarkan ekspresi gen di jaringan darah. Variasi gen tersebut juga mengkode gen <i>HLA-DPB1</i> dan <i>HLA-B</i> dan menunjukkan ekspresi yang tinggi pada jaringan darah (<i>whole blood</i>). Penelitian ini menunjukkan bahwa integrasi variasi gen dan bioinformatika potensial untuk memberikan informasi terkait kerentanan suatu variasi gen pada suatu penyakit termasuk pada anemia aplastik.
Key word: Aplastik anemia Genomic Bioinformatics <i>HLA-DPB1</i> <i>HLA-B</i>	ABSTRACT Aplastic anemia is anemia accompanied by pancytopenia in the peripheral blood caused by primary disorders of the bone marrow in the form of aplasia or hypoplasia without bone marrow infiltration, suppression, or displacement. In aplastic anemia, there is a decrease in blood cell production from the bone marrow, causing reticulocytopenia, anemia, granulocytopenia, monocytopenia, and thrombocytopenia. Aplastic anemia is a susceptible disease caused by genetic factors. One of the many genetic factors identified is gene variation, or single nucleotide polymorphism (SNP). Today, methodologies for identifying these gene variations are available through various databases and bioinformatics. This study aimed to identify gene variations associated with aplastic anemia and prioritize these gene variations based on their level of susceptibility through the use of GWAS catalogs and the integration of several bioinformatics databases. The results of this study found that there were two SNPs, rs1042151 and rs28367832, that were susceptible to aplastic anemia. These gene variations also encode the <i>HLA-DPB1</i> and <i>HLA-B</i> genes and show high expression in whole blood. This study shows that

integrating gene variation and bioinformatics can provide information regarding the susceptibility of a gene variation in disease, including in Aplastic anemia.

This is an open access article under the [CC-BY-SA](#) license.



Pendahuluan

Anemia aplastik merupakan kelainan *hematopoietic* yang dipengaruhi oleh imunitas dan paparan lingkungan, yang ditandai dengan sumsum tulang hipoplastik dan pansitopenia progresif (Zaimoku et al., 2021). Insiden penyakit anemia aplastik di dunia tergolong jarang, berkisar 2-6 kasus per satu juta penduduk pada negara-negara Eropa. Namun di Asia dikatakan bahwa insiden penyakit ini lebih besar yaitu berkisar 6-14 kasus per satu juta penduduk (Peslak et al., 2017).

Penyakit ini bisa muncul pada sekitar usia 15 – 30 tahun dan > 60 tahun, serta menyerang kedua jenis kelamin. Di beberapa bagian dunia lebih sering terjadi pada laki-laki muda (In et al., 2017). Anemia aplastik juga terjadi pada individu dengan sindrom kegagalan sumsum tulang bawaan yang jarang disebabkan terutama oleh varian germline patogen pada gen perbaikan DNA, ribosom, atau telomerebiologi (Zaimoku et al., 2021). Patofisiologi imun anemia aplastik sendiri terjadi dari hilangnya alel *HLA* kelas I secara somatik dapat diakibatkan oleh hilangnya heterozigositas dalam kromosom 6 (chr6-CNLOH) (Zaimoku et al., 2021). Sel punca hematopoietik dengan chr6-CNLOH diperkirakan dapat lolos dari serangan imun sel T sitotoksik dengan menghapus *HLA* alel yang terlibat dalam presentasi autoantigen (Zaimoku et al., 2021).

Gejala anemia aplastik sangat terkait dengan penyakit autoimun dan sering terjadi pada pasien *rheumatoid arthritis*, lupus eritematosus sistemik, dan multipel sklerosis;

dua penyakit terakhir sangat terkait dengan *HLA-B*. Oleh karena itu, untuk mendeteksi gejala anemia aplastik secara spesifik dapat dilakukan pemeriksaan DNA. Variasi gen sering dihubungkan dengan kerentanan seseorang pada suatu penyakit termasuk anemia aplastik. Perkembangan teknologi untuk identifikasi kerentanan suatu genomik hari ini tersedia dengan berbagai macam kemudahan termasuk untuk identifikasi variasi gen yang merupakan faktor penting dalam salah satu susunan basa DNA yang terdiri dari huruf A-T-G dan C. Salah satu website yang membahas variasi gen adalah *Genome-Wide Association Studies* (GWAS) (Furqan et al., 2020). GWAS katalog merupakan database yang mengumpulkan hasil dari studi GWAS dari seluruh dunia. Metode GWAS ini sangat praktis karena dapat mengidentifikasi SNP dalam jumlah sangat banyak (Chen et al., 2021). Termasuk database GWAS katalog ini sangat berguna untuk mengidentifikasi tipe SNP yang bertanggung jawab atas kejadian anemia aplastik.

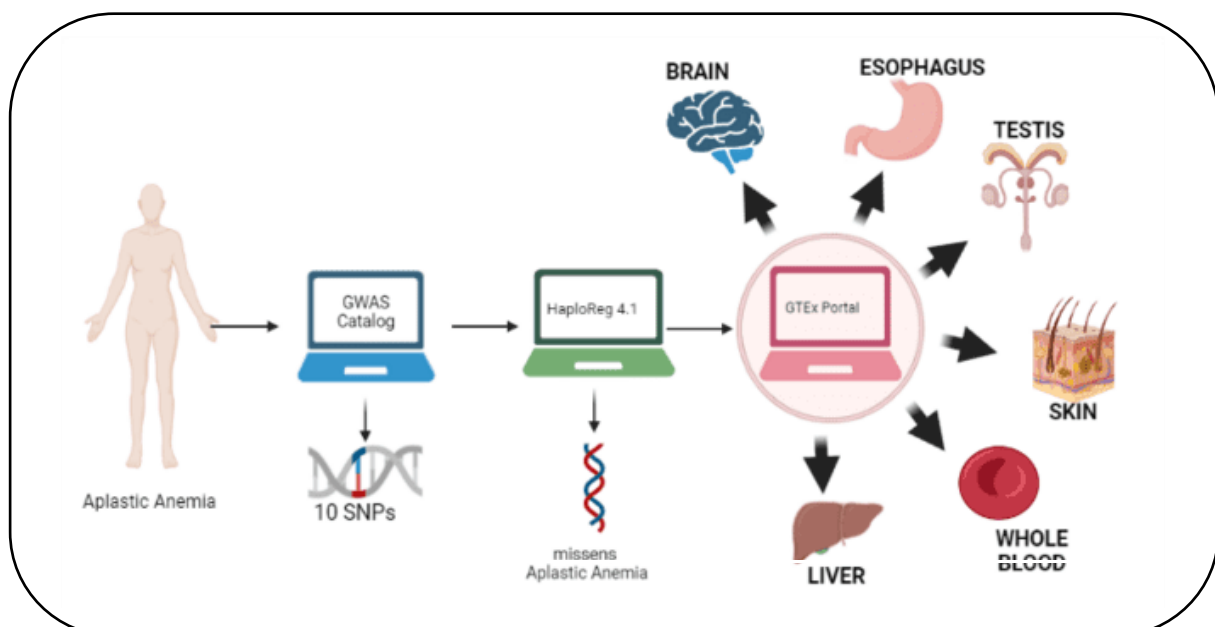
Identifikasi genetik manusia bertujuan untuk mengidentifikasi faktor risiko genetik yang diwariskan untuk penyakit seperti anemia aplastik. Meskipun etiologi tentang penyebab anemia aplastik sudah banyak dibahas, namun belum banyak diidentifikasi terkait jenis gen yang spesifik berperan terhadap patogenesisnya. Oleh karena itu, penelitian ini mencoba memetakan jenis variasi gen pada beberapa populasi yang berperan penting dalam patogenesis anemia aplastik dengan memanfaatkan database GWAS dan integrasi

beberapa database bioinformatika Pada akhir penelitian ini akan diprioritaskan variasi gen yang paling berpengaruh berdasarkan fungsinya dalam perubahan protein (*genomic variant coding protein*).

Metode

Identifikasi SNP yang berhubungan dengan anemia aplastik diilustrasikan pada (Gambar 1) [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>] (diakses pada 17 Desember 2022). Pada penelitian ini kami memfokuskan SNP yang bersifat *missense* dengan pertimbangan sifat yang dapat merubah protein. Untuk identifikasi jenis SNP yang bersifat mutan (*missense*) kami memanfaatkan database HaploReg v4.1. (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>). Database HaploReg v 4.1 merupakan database bioinformatika yang mudah digunakan dan diintegrasikan untuk tujuan identifikasi SNP. Identifikasi SNP yang berhubungan dengan anemia aplastik menggunakan kriteria $p\text{-value} < 10^{-8}$ dari database GWAS katalog. Nilai $p\text{-value} < 10^{-8}$ merupakan *threshold* statistika yang digunakan untuk jenis studi GWAS. Selain ini *threshold*

yang sangat *strict* tersebut juga bertujuan untuk menghindari nilai positif palsu terkait dengan hubungan antara SNP dengan fenotip (Chen et al., 2021). Langkah selanjutnya adalah melakukan evaluasi SNP dengan menggunakan GTEx Portal untuk mengidentifikasi profil ekspresi genetik pada *tissue*/jaringan yang berhubungan dengan penyakit yang dalam hal ini terkait dengan penyakit anemia aplastik [<https://gtexportal.org/>] (diakses pada 17 Desember 2022). Untuk melihat distribusi kerentanan suatu gen pada suatu populasi kami memanfaatkan jenis alel dari tiap SNP. Frekuensi alel pada populasi Afrika, Amerika, Asia, dan Eropa diekstraksi melalui database genetik HaploReg v4.1 [<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>] (diakses 21 Desember 2022) dan browser Ensembl Genome (diakses 28 Desember 2022). Metode yang sama telah digunakan untuk mengidentifikasi variasi gen *TMPRSS2* pada Covid-19 (Irham et al., 2020), gen *TNIP1*, *TNFAIP3*, *IRF5* pada sindrom sjogren's (Puspitaningrum et al., 2022) dan gen *HLA-S*, *HCG4P5*, dan *ABHD16A* pada *chickenpox* (Irham et al., 2023).



Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Varian Genom Anemia Aplastik

SNP yang terkait anemia aplastik diperoleh dari database GWAS katalog, dari 10 SNP (Tabel 1) dan didapatkan 4 SNP yang

memenuhi kriteria $p\text{-value} < 10^{-8}$. Diantara 4 jenis SNP tersebut, hanya 2 SNP yang dapat divalidasi menggunakan database bioinformatik GTEx portal (Tabel 2), penggunaan database GTEx tersebut bertujuan untuk melihat ekspresi

dari suatu SNP dan suatu gen pada jaringan. Dalam penelitian ini kami fokus melihat ekspresi gen pada jaringan darah (*whole blood*). Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi gen *FOXP3* pada 94 kasus anemia aplastik dan 195 kontrol di Korea, penelitian ini menunjukkan adanya hubungan gen tersebut dengan respon terhadap terapi immunosupresif (IST) (In et al., 2017). Anemia aplastik juga terjadi pada individu yang mengalami sindrom kegagalan sumsum tulang bawaan yang jarang disebabkan terutama oleh varian germline patogen pada gen perbaikan DNA, ribosom, atau telomerebiologi (West & Churpek, 2017).

Pada penelitian yang kami lakukan, kami menemukan gen *HLA-DPB1* dan *HLA-B* yang berhubungan dengan anemia aplastik ditunjukkan dengan nilai signifikansi *p-value* < 10^{-8} Penting untuk dicatat bahwa *DPB1* terdiri dari untaian beta dari heterodimer protein *HLA-DP* yang terletak pada bagian permukaan sel-sel penyaji antigen (Burek Kamenaric et al., 2017). Menarik untuk dibahas juga bahwa ternyata variasi gen *HLA-DPB1* telah dikaitkan dengan beberapa penyakit autoimun, diantaranya *rheumatoid arthritis*, *multiple sclerosis*, dan penyakit Grave (Orozco et al., 2011). Sedangkan *HLA-B* kelas I berkaitan dengan anemia aplastik.

Tabel 1. Hasil katalog GWAS katalog diperoleh 10 SNP yang berkaitan dengan anemia aplastik.

SNP	p-value	Chr 38
rs1042151	$2,00 \times 10^{-13}$	Chr6 33080884
rs28367832	$7,00 \times 10^{-09}$	Chr6 31337954
rs9276370	$5,00 \times 10^{-07}$	Chr6 32739518
rs7845664	$3,00 \times 10^{-07}$	Chr8 40712078
rs12753487	$3,00 \times 10^{-06}$	Chr1 97267878
rs1731229	$5,00 \times 10^{-06}$	Chr2 26664557
rs4345355	$5,00 \times 10^{-06}$	Chr5 128579850
rs9533317	$8,00 \times 10^{-06}$	Chr13 42947091
rs181550178	$7,00 \times 10^{-09}$	Chr17 58440938
rs77271627	$1,00 \times 10^{-08}$	Chr15 92378867

Data SNP tersebut diperoleh melalui database GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas>).

Tabel 2. Anemia aplastik dengan p value < 10^{-8} dan tervalidasi dalam database GTEx portal.

Varian Alel Yang Berisiko	P-value	Kode Gen	Letak Alel
rs1042151	$2,00 \times 10^{-13}$	<i>HLA-DPB1</i>	missense_variant
rs28367832	$7,00 \times 10^{-09}$	<i>HLA-B</i>	intron_variant

Ekspresi Gen Anemia Aplastik di Berbagai Jaringan

Variasi genetik anemia aplastik dalam berbagai jaringan kami evaluasi menggunakan e-QTL melalui database GTEx portal (<http://www.gtexportal.org/home/>) yang menunjukkan tingkat ekspresi gen (Tabel 3) di berbagai jaringan. Penggunaan data ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis ekspresi

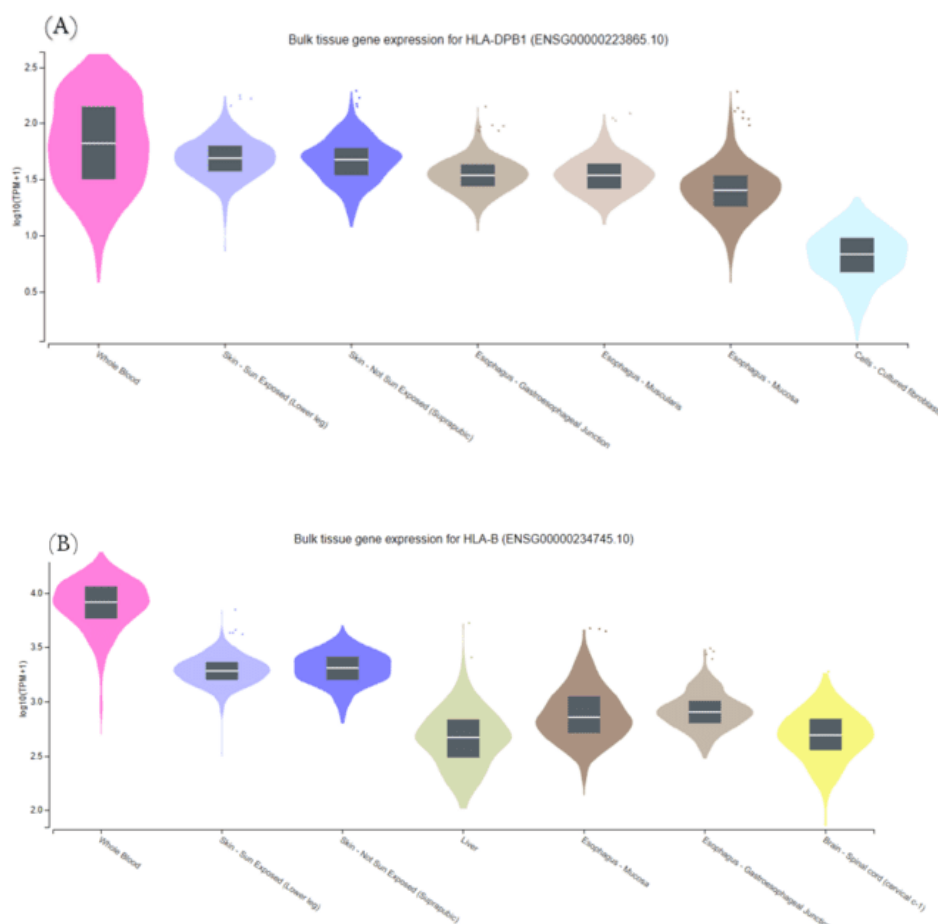
gen pada berbagai jaringan (Irham et al., 2023). Database menunjukkan gen yang mempengaruhi anemia aplastik yaitu *HLA-DPB1* dan *HLA-B* (Gambar 2) dengan ekspresi gen terbanyak pada *whole blood*, esofagus, dan otak. Ketiga ekspresi gen didominasi oleh *whole blood*. *HLA-DPB1* yang ditemukan pada varian alel rs1042151 terletak di *missense variant*. *Missense variant* merupakan jenis variasi gen

yang dapat melakukan perubahan sampai ke level protein. Perubahan yang terjadi berhubungan dengan *DPBI* yang merupakan untai beta dari hetero protein *HLA-DP* sehingga

beresiko menimbulkan beberapa penyakit yang berhubungan dengan autoimun (Burek Kamenaric et al., 2017).

Tabel 3. Ekspresi gen yang dominan pada jaringan manusia penyebab anemia aplastik.

SNP ID	Gencode ID (ENSG000000)	Gene symbol	p-value	NES	Tissue	Actions
rs1042151	223865.10	<i>HLA-DPB1</i>	1.0×10^{-09}	-0,43	Cells - Cultured fibroblasts	AA > AG > GG
rs28367832	234745.10	<i>HLA-B</i>	2.6×10^{-11}	0,16	Whole Blood	AA > AG > GG



Gambar 2. Ekspresi gen rentan anemia aplastik pada jaringan manusia. Kedua jenis gen tersebut menunjukkan bahwa terekspresi pada jaringan darah (A) *HLA-DPB-1* (B) *HLA-B*.

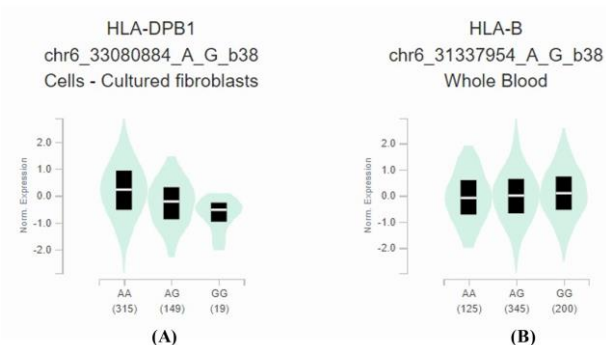
Korelasi antara ekspresi gen dan eQTL

Ekspresi gen terkait anemia aplastik diidentifikasi menggunakan eQTL pada basis

data portal GTEx. kami mengidentifikasi alel minor (Gambar 3) rs1042151 pada gen *HLA-DPB1*, rs28367832 pada gen *HLA-B* terkait

anemia aplastik. Hasil menunjukkan bahwa genotipe AA memiliki ekspresi gen *HLA-DBP1* paling tinggi dibandingkan jenis genotype AG dan GG (kultur fibroblas, esofagus, otak, kulit). Hal yang sama juga terlihat pada jenis SNP

rs28367832 dengan jenis genotip AA terlihat memiliki ekspresi paling tinggi *HLA-B* (seluruh darah, kulit, dan testis) dibandingkan genotip AG dan GG.



Gambar 3. Kerentanan alel anemia aplastik pada setiap gen.

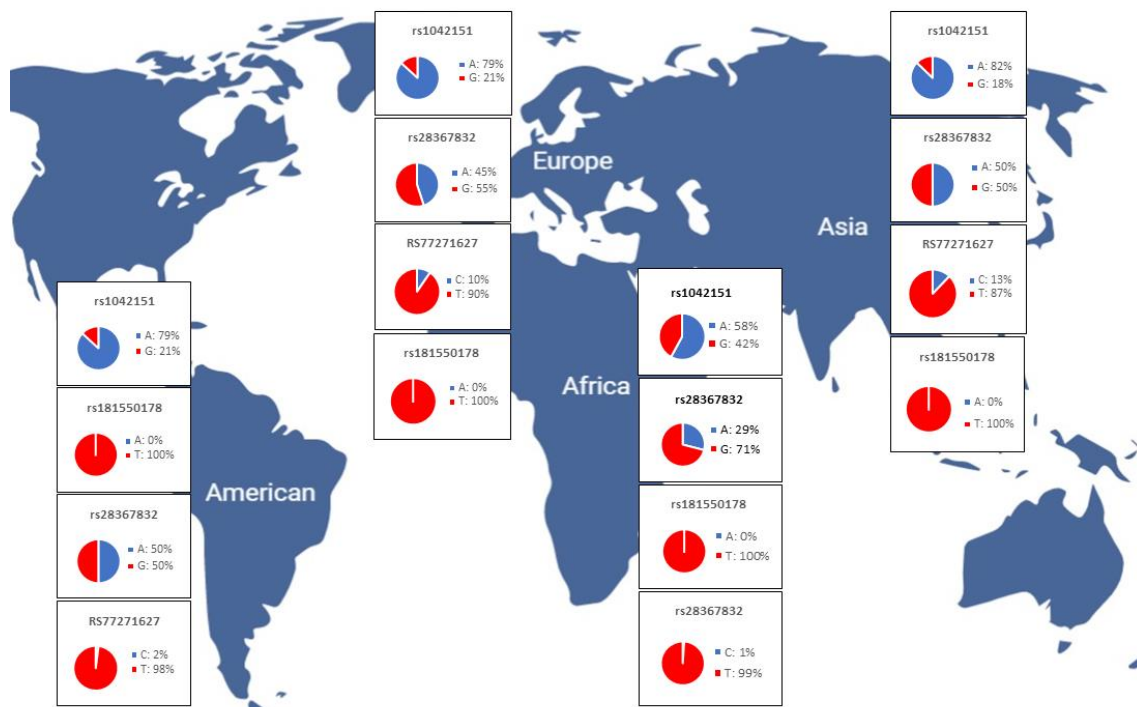
Frekuensi Alel dari varian kandidat dalam populasi yang berbeda

Pada tabel 4, kami mengidentifikasi frekuensi alel terkait penyakit anemia aplastik diberbagai populasi di dunia, yaitu Afrika, Amerika, Asia, dan Eropa yang diekstraksi dari 1000 genom menggunakan website (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>). Tujuan pemetaan ini untuk melihat distribusi kerentanannya pada berbagai populasi dunia. Frekuensi Alel pada setiap SNP diperoleh berbeda di setiap populasi. SNP rs1042151 memiliki frekuensi alel terkait dengan gen *HLA-DBP1* pada anemia aplastik menunjukkan bahwa di Afrika 0,44% jauh lebih

tinggi daripada Amerika 0,18%, Asia 0,13%, dan Eropa 0,20%. Selain itu jenis SNP rs28367832 menunjukkan bahwa Afrika 0,69% yang jauh lebih tinggi juga daripada Amerika 0,52%, Asia 0,48% dan Eropa ,55%, sedangkan SNP rs181550178 belum ditemukan populasi sama sekali diberbagai benua dan SNP rs77271627 menunjukkan pada 3 benua yaitu Eropa 0,11% jauh lebih tinggi dari pada Amerika 0,02%, dan Asia 0,05%, hal ini berhubungan dengan faktor lingkungan, faktor genetika, dan imunitas (Shallis et al., 2018). Frekuensi alel pada pendekatan genomik dapat digunakan untuk mengidentifikasi kerentanan suatu penyakit.

Tabel 4. Frekuensi alel pada setiap varian SNP.

SNP	Gene	Location	Allele		Allele Frequency			
			Ref	Eff	AFR	AMR	ASN	EUR
rs1042151	<i>HLA-DBP1</i>	missense	A	G	0,44	0,18	0,13	0,2
rs28367832	<i>HLA-B</i>	none	A	G	0,69	0,52	0,48	0,55
rs9276370	<i>HLA-DQA2</i>	none	G	T	0,33	0,63	0,83	0,57
rs7845664	<i>ZMAT4</i>	intronic	A	G	0,68	0,56	0,56	0,48
rs12753487	<i>DPYD</i>	intronic	G	A	0,04	0,1	0,06	0,08
rs1731229	<i>AC015977.6</i>	none	T	C	0,49	0,64	0,09	0,62
rs4345355	<i>FBN2</i>	None	C	A	0,29	0,11	0,01	0,12
rs9533317	<i>EPST11</i>	intronic	C	T	0,36	0,37	0,55	0,28
rs181550178	<i>HSF5</i>	intronic	T	A	0	0	0	0
rs77271627	<i>ST8SIA2</i>	none	T	C	0	0,02	0,05	0,11



Gambar 4. Penyebaran frekuensi alel HLA-DPB1, HLA_B, HSF5, ST8SIA2 pada 4 benua AFR, AMR, ASN, EUR pada varian rs1042151, rs28367832, rs181550178, rs77271627. Gambar persebaran alel ini dibuat menggunakan biorender.com berdasarkan nomor lisensi BX24VTKOWJ.

Simpulan dan Saran

Identifikasi Variasi gen dan ekspresi gen yang berhubungan dengan anemia aplastik menggunakan pendekatan genomik dan bioinformatika menunjukkan bahwa gen *HLA-DPB1* dan *HLA-B* memperlihatkan ekspresi yang tinggi pada jaringan darah (*whole blood*), esofagus, dan otak. Variasi Alel pada SNP (rs1042151 dan rs28367832) menunjukkan bahwa benua Afrika memiliki frekuensi tertinggi dibandingkan dengan populasi lain rs1042151 0,44% dan rs28367832 0,69% hal ini dapat menjadi pertimbangan terkait penyebaran kerentanan kejadian anemia aplastik.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada prodi S2 Farmasi UAD yang telah memberikan kesempatan untuk belajar Bioinformatika.

Daftar Pustaka

- Burek Kamenaric, M., Maskalan, M., Grubic, Z., Mikulic, M., Serventi Seiwert, R., Durakovic, N., Vrhovac, R., Stingl Jankovic, K., & Zunec, R. (2017). HLA-DPB1 matching in unrelated hematopoietic stem cell transplantation program contributes to a higher incidence of disease relapse. *Human Immunology*, 78(11–12), 665–671. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.08.008>
- Chen, Z., Boehnke, M., Wen, X., & Mukherjee, B. (2021). Revisiting the genome-wide significance threshold for common variant GWAS. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 11(2). <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkaa056>
- Furqan, M., Kurniawan, R., & HP, K. I. (2020). Evaluasi Performa Support Vector Machine Classifier Terhadap Penyakit Mental. *JURNAL SISTEM INFORMASI BISNIS*, 10(2), 203–210. <https://doi.org/10.21456/vol10iss2pp203-210>
- In, J. W., Lee, N., Roh, E. Y., Shin, S., Park, K. U., & Song, E. Y. (2017). Association of aplastic anemia and FoxP3 gene polymorphisms in Koreans. *Hematology*, 22(3), 149–154.

- <https://doi.org/10.1080/10245332.2016.1238645>
- Irham, L. M., Adikusuma, W., Lolita, L., Puspitaningrum, A. N., Afief, A. R., Sarasmita, M. A., Dania, H., Khairi, S., Djalilah, G. N., Purwanto, B. D., & Cheung, R. (2023). Investigation of susceptibility genes for chickenpox disease across multiple continents. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2022.101419>
- Irham, L. M., Chou, W. H., Calkins, M. J., Adikusuma, W., Hsieh, S. L., & Chang, W. C. (2020). Genetic variants that influence SARS-CoV-2 receptor TMPRSS2 expression among population cohorts from multiple continents. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 529(2), 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.179>
- Orozco, G., Barton, A., Eyre, S., Ding, B., Worthington, J., Ke, X., & Thomson, W. (2011). HLA-DPB1-COL11A2 and three additional xMHC loci are independently associated with RA in a UK cohort. *Genes and Immunity*, 12(3), 169–175. <https://doi.org/10.1038/gene.2010.57>
- Peslak, S. A., Olson, T., & Babushok, D. v. (2017). Diagnosis and Treatment of Aplastic Anemia. In *Current Treatment Options in Oncology* (Vol. 18, Issue 12). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11864-017-0511-z>
- Puspitaningrum, A. N., Perwitasari, D. A., Adikusuma, W., Djalilah, G. N., Dania, H., Maliza, R., Faridah, I. N., Sarasmita, M. A., Rezadhini, M., Cheung, R., & Irham, L. M. (2022). Integration of genomic databases and bioinformatic approach to identify genomic variants for sjogren’s syndrome on multiple continents. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 19(2), 71. <https://doi.org/10.12928/mf.v19i2.23706>
- Shallis, R. M., Ahmad, R., & Zeidan, A. M. (2018). Aplastic anemia: Etiology, molecular pathogenesis, and emerging concepts. In *European Journal of Haematology* (Vol. 101, Issue 6, pp. 711–720). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ejh.13153>
- West, A. H., & Churpek, J. E. (2017). *Old and new tools in the clinical diagnosis of inherited bone marrow failure syndromes*. <http://ashpublications.org/hematology/article-pdf/2017/1/79/1249643/hem00011.pdf>
- Zaimoku, Y., Patel, B. A., Adams, S. D., Shalhoub, R., Groarke, E. M., Lee, A. A. C., Kajigaya, S., Feng, X., Rios, O. J., Eager, H., Alemu, L., Raffo, D. Q., Wu, C. O., Flegel, W. A., & Young, N. S. (2021). *HLA associations, somatic loss of HLA expression, and clinical outcomes in immune aplastic anemia*. <http://www.medscape.org/journal/blood>;

Artikel diterima pada tanggal 10 Agustus

2023

LUMBUNG FARMASI ; Jurnal Ilmu Kefarmasian ,Vol 4 No 2, Juli 2023
P-ISSN : 2715-5943
E-ISSN : 2715-5277

Identifikasi Variasi Gen dan Ekspresi Gen Yang Berhubungan Dengan Anemia Aplastik Menggunakan Pendekatan Genomik Dan Bioinformatika

Ayu Lifa Nur Kartikasari^{a,1}, Anisa Devi Kharisma Wibowo^{a,2}, Henry Budiawan Prasetya^{a,b,3}, La Malihi^a, Nanik Sulistyani^a, Lalu Muhammad Irham^{a,d,4*}, Wirawan Adikusuma^c, Abdi Wira Septama^e, Riat El Khair^{f,g}, Rahmat Dani Satria^{f,g}

^a Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

^b RSI PKU Muhammadiyah, Pekajangan, Pekalongan, Jawa Tengah, Indonesia

^c Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Mataram, Mataram, Indonesia

^d Pusat Riset Vaksin dan Obat, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Tangerang Selatan, Indonesia

^e Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, BRIN, Cibinong Science Center (CSC), Cibinong, Jawa Barat, Indonesia

^f Departemen Patologi Klinik dan Kedokteran Laboratorium, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281, Indonesia

^g Instalasi Laboratorium Terpadu, Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Sardjito, Yogyakarta 55281, Indonesia

* lalu.irham@pharm.uad.ac.id*

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL

Sejarah artikel:
Diterima :
23-01-2023
Revisi :
15-06-2023
Disetujui :
30-06-2023

Kata kunci:

Anemia aplastik
Genomik
Bioinformatika
HLA-DPBI
HLA-B

Key word:

Aplastic anemia
Genomic
Bioinformatics
HLA-DPBI
HLA-B

ABSTRAK

Anemia aplastik merupakan anemia yang disertai oleh pansitopenia pada darah tepi yang disebabkan oleh kelainan primer pada sumsum tulang dalam bentuk aplasia atau hipoplasia tanpa adanya infiltrasi, supresi atau pendesakan sumsum tulang. Pada anemia aplastik terjadi penurunan produksi sel darah dari sumsum tulang sehingga menyebabkan retikulositopenia, anemia, granulositopenia, monositopenia dan trombositopenia. Anemia aplastik termasuk dalam penyakit yang rentan disebabkan oleh faktor genetik. Salah satu faktor genetik yang banyak diidentifikasi adalah variasi gen atau *single nucleotide polymorphism* (SNP). Hingga hari ini metodologi untuk identifikasi variasi gen tersebut sudah tersedia dengan bentuk berbagai macam database dan bioinformatika. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi variasi gen yang berhubungan dengan Anemia aplastik dan memprioritaskan variasi gen tersebut berdasarkan tingkat kerentanannya melalui pemanfaatan GWAS katalog dan integrasi beberapa basis data bioinformatika. Hasil penelitian ini kami temukan ada dua SNP rs1042151 dan rs28367832 yang rentan terhadap anemia aplastik berdasarkan ekspresi gen di jaringan darah. Variasi gen tersebut juga mengkode gen *HLA-DPBI* dan *HLA-B* dan menunjukkan ekspresi yang tinggi pada jaringan darah (*whole blood*). Penelitian ini menunjukkan bahwa integrasi variasi gen dan bioinformatika potensial untuk memberikan informasi terkait kerentanan suatu variasi gen pada suatu penyakit termasuk pada anemia aplastik.

ABSTRACT

Aplastic anemia is anemia accompanied by pancytopenia in the peripheral blood caused by primary disorders of the bone marrow in the form of aplasia or hypoplasia without bone marrow infiltration, suppression, or displacement. In aplastic anemia, there is a decrease in blood cell production from the bone marrow, causing reticulocytopenia, anemia, granulocytopenia, monocytopenia, and thrombocytopenia. Aplastic anemia is a susceptible disease caused by genetic factors. One of the many genetic factors identified is gene variation, or single nucleotide polymorphism (SNP). Today, methodologies for identifying these gene variations are available through various databases and bioinformatics. This study aimed to identify gene variations associated with aplastic anemia and prioritize these gene variations based on their level of susceptibility through the use of GWAS catalogs and the integration of several bioinformatics databases. The results of this study found that there were two SNPs, rs1042151 and rs28367832, that were susceptible to aplastic anemia. These gene variations also encode the *HLA-DPBI* and *HLA-B* genes and show high expression in whole blood. This study shows that integrating gene variation and bioinformatics can provide information regarding the susceptibility of a gene variation in disease, including in Aplastic anemia.



This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.