



Deteksi Penyebab Retardasi Mental pada Keluarga Penyandang Retardasi Mental di Desa Padangan Kediri

EVA DIAH SETIJOWATI, DORTA SIMAMORA, RETNO DWI WULANDARI*

Bagian Biomedik dan Penelitian Biomolekuler. Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Abstract

Background: Many family member were found with mental retardation in Padangan village, Kediri. Previous research showed students with trisomy 21, triple X syndrome dan suspect Fragile X syndrome in SLB Pelita Hati, Padangan Village, Kediri.

Aims: To determine chromosomal abnormality and mutation in CGG repeat FMR1 gene in family with history mental retardation

Methods: Cytogenetics analysis and PCR analysis to see mutation in CGG repeat FMR1 gene

Results: From 12 samples, were found 2 pericentric inversion in Chromosome 9 and 1 Trisomy 21.

Conclusion: Chromosomal abnormality was encountered in one student. Structural abnormality were seen in one student and his father. No mutation was found in FMR1 gene caused Fragile X syndrome in students and families.

Keywords: Mental retardation, Cytogenetics, Molecular Analysis

Abstrak

Latar Belakang Masalah: Di desa Padangan kecamatan Kayen Kidul Kabupaten Kediri, banyak dijumpai keluarga dengan beberapa anggota keluarga merupakan penyandang retardasi mental. Penelitian awal pada 15 siswa SLB Pelita Hati tempat anak-anak desa Padangan menempuh pendidikan ditemukan adanya siswa dengan trisomi 21, sindroma Triple X dan siswa dengan kecurigaan sindroma FragileX

Tujuan: Untuk mengetahui gambaran kromosom dan adanya pemanjangan pengulangan CGG gen *FMR1* pada keluarga dengan lebih dari satu anggota keluarga yang merupakan penyandang retardasi mental.

Metode: Analisis sitogenetik dan analisis PCR untuk melihat pemanjangan pengulangan CGG pada gen *FMR1*.

Hasil: Dari 12 orang (siswa dan orang tuanya), terdapat dua orang dengan inversi perisentris kromosom 9 dan satu siswa dengan sindroma Down.

Kesimpulan: Terdapat satu siswa dengan kelainan jumlah kromosom, serta satu siswa dan orang tuanya (ayah) yang disertai dengan kelainan struktur kromosom;
Tidak ditemukan kelainan pada gen *FMR1* penyebab *fragile X syndrome* pada siswa maupun keluarganya.

Kata kunci: Mental retardasi, sitogenetika, analisa molekuler

Latar Belakang Masalah

Retardasi mental didefinisikan sebagai kegagalan untuk mengembangkan kemampuan kognitif dan adaptif yang memadai (Winnepenninckx, 2003). Fungsi intelektual dan keparahannya pada umumnya didasarkan pada evaluasi *Full Scale Intelligence quotient* (FSIQ), sedangkan individu dengan *intelligence quotient* (IQ) kurang dari 70 dianggap menderita retardasi mental (Chelly *et al*, 2006 ; Tzschach & Ropers 2007). Diperkirakan 1-3% dari seluruh populasi manusia, memiliki IQ kurang dari 70 (Winnepenninckx, 2003).

Penyebab retardasi mental sangat heterogen, dimana penyebabnya hanya diketahui pada separuh kasus saja. Dari yang diketahui penyebabnya, diperkirakan separuh kasus disebabkan faktor genetik dan sisanya disebabkan faktor lingkungan (Winnepenninckx, 2003). Dari kasus retardasi mental parah, separuhnya disebabkan faktor genetik, dimana 15% nya menunjukkan kelainan kromosom yang dapat dilihat di bawah mikroskop. Dari kelainan kromosom yang ada, kebanyakan adalah trisomi 21, dengan gambaran klinis sindroma Down. Banyak kelainan kromosom yang mendasari retardasi mental, sehingga semua penderita retardasi

mental dengan penyebab yang tidak diketahui harus menjalani analisa kromosom (Tzschach & Ropers, 2007).

Penyebab terbanyak retardasi mental setelah sindroma Down terutama pada pria adalah fragile X syndrome (FXS) (MIM 309550). Pada sebagian besar kasus (95%), FSX disebabkan mutasi yang menyebabkan pemanjangan pengulangan nukleotida CGG pada gen *FMR1* (*Fragile X Mental Retardation-1*) yang terletak pada kromosom Xq27.3. Pola pewarisan FSX adalah secara autosomal resesif, dimana seorang wanita dapat mewariskan gen mutan ke anak laki-laki maupun perempuan, sedangkan pria hanya mewariskan gen mutan kepada anak perempuannya saja (Sherman, 2002).

Di desa Padangan kecamatan Kayenkidul Kabupaten Kediri, banyak dijumpai keluarga dengan beberapa anggota keluarga merupakan penyandang retardasi mental. Perkawinan antar kerabat juga dijumpai diantara keluarga penyandang retardasi mental ini. Penelitian awal pada 15 siswa SLB Pelita Hati tempat anak-anak desa Padangan menempuh pendidikan ditemukan adanya siswa dengan trisomi 21, sindroma Triple X, dan satu siswi dengan kecurigaan sindroma Fragile X (Wulandari, dkk, 2016).

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan di desa Padangan, Kediri untuk mengetahui gambaran kromosom dan adanya pemanjangan pengulangan CGG gen *FMR1* pada keluarga dengan lebih dari satu anggota keluarga yang merupakan penyandang retardasi mental.

Bahan dan Metode Penelitian

Sebanyak 11 orang yang terdiri dari 5 siswa dan sisanya adalah orang tua dan kerabat dekat dari siswa menjalani pengambilan darah untuk dianalisis kromosom dan gen *FMR1* untuk deteksi sindroma Fragile X.

Metode sitogenetik

Darah diinkubasi selama 72 jam pada media yang mengandung antara lain phytohemagglutinin untuk menstimulasi limfosit. Pada hari ke tiga diberikan colcemid untuk menghentikan mitosis pada metaphase, kemudian ditambahkan larutan hipotonik untuk membengkakkan sel. Cairan fiksatif ditambahkan untuk menghilangkan sisa- sisa protein, sebelum pelet ditetaskan di atas slide untuk kemudian diwarnai dengan pewarna Giemsa. Kromosom metaphase di lihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 1500 X. Untuk tiap sampel dianalisis sebanyak 30-50 kelompok metafase.

Analisis gen *FMR1*

DNA diisolasi dengan menggunakan reagen dari Roche. PCR mix terdiri dari buffer, primer F dan R, *taq polymerase*, MgSO₄, dNTP dan DNA sampel kemudian ditambahkan H₂O hingga mencapai volume 25uL.

Mesin PCR diset dengan denaturasi awal pada suhu 95⁰C selama 3 menit, diikuti oleh 31 siklus PCR, terdiri dari: denaturasi 95⁰C selama 3 detik, annealing 64⁰C selama 2 menit, elongasi pada 75⁰C selama 2 menit dan ekstensi akhir pada suhu 75⁰C selama 10 menit. Produk hasil PCR

dilarikan pada gel elektroforesis untuk melihat pita-pitanya (*bands*).

Hasil

Seluruh sampel yang merupakan siswa SLB selain menjalani anamnesis juga dilakukan pemeriksaan fisik. Dari 12 orang yang menjadi sampel, 11 orang dilakukan analisis kromosom; 10 orang menjalani analisis gen FMR1. Terdapat dua siswa yang menjalani analisis kromosom saja, dan satu siswa yang hanya menjalani analisis gen *FMR1* saja.

Analisis Kromosom

Dari 11 orang yang menjalani analisis sitogenetik atau kromosom, didapatkan seorang dengan kelainan jumlah dan 2 orang dengan kelainan struktur kromosom (tabel 1 dan 2).

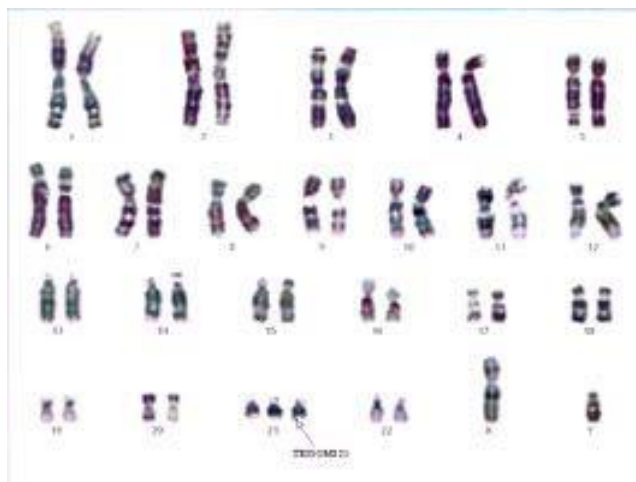
Tabel 1. Hasil Analisis Kromosom pada Siswa SLB dan Orang tuanya

No	Kode	Karyotipe	Keterangan
1	K21	46,XY	Siswa
2	K22	46,XX	
3	K23	46,XY,inv(9)(p11q13)	Siswa
4	K24	46,XY,inv(9)(p11q13)	
5	K25	46,XX	
6	K26	46,XX	
7	K27	46,XX	
8	K28	46,XY	Siswa
9	K29	46,XY	Siswa
1	K210	47,XY,+21	Siswa
0	K211	46,XX	
1			
1			

Tabel 2. **Persentase kelainan kromosom pada sampel**

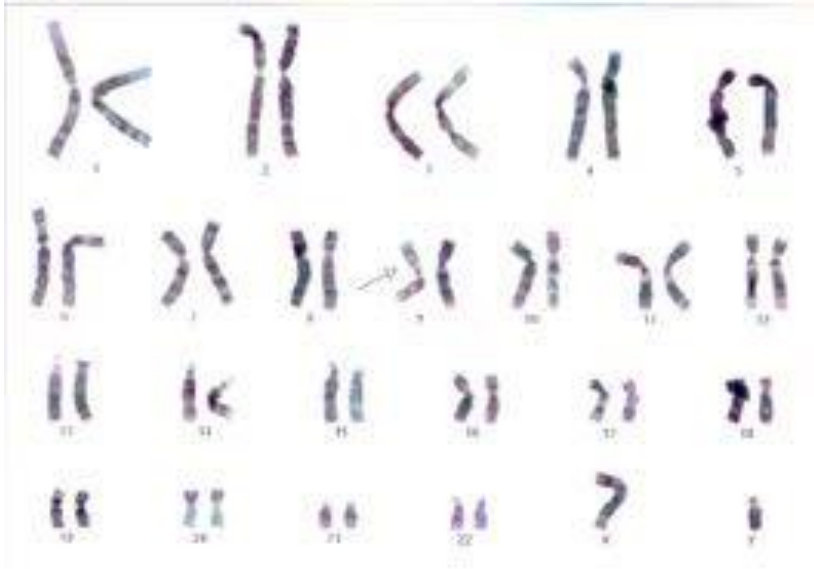
No	Karyotip	Jumlah (%)	Keterangan
1	46,XX atau 46,XY	8 (72.7)	Normal
2	47,XY,+21	1 (9.1)	Trisomi 21
3	46,XY, inv(9)(p11q13)	2 (18.2)	Inversi perisentris

Dari pemeriksaan fisik sampel K210 didapatkan gambaran: *flat occiput, microcephaly, upslanting palpebral fissure, depressed nasal bridge, short 3rd finger* dan *short stature*. Dari anamnesa didapatkan adanya kelambatan perkembangan. Usia ibu ketika hamil 31 tahun.

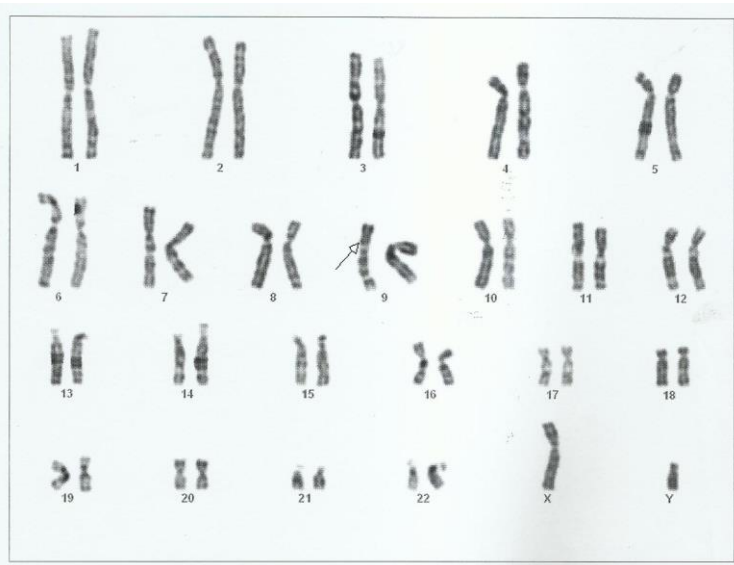


Gbr.1. **Gambaran kromosom sampel K210.** Tampak kromosom nomer 21 berjumlah 3 (trisomi 21)

Seorang siswa yang menjalani pemeriksaan (K23) menunjukkan karyotip 46,XY,inv(9)(p11q13). Pemeriksaan pada ayah (K24) siswa tersebut juga menunjukkan adanya inversi pada kromosom 9p. Inversi pada ayah ini kemudian diwariskan ke anak laki-lakinya. Sampel (K23) mengalami retardasi mental, sementara ayahnya (K24) memiliki fenotip normal.



Gbr.2. **Gambaran kromosom sampel K23.** Tampak kromosom 9 mengalami inversi perisentris (inversi yang melibatkan sentromer), seperti ditunjukkan tanda panah.



Gbr.3. **Gambaran kromosom sampel K24.** Tampak kromosom 9 mengalami inversi perisentris (inversi yang melibatkan sentromer), seperti ditunjukkan tanda panah.

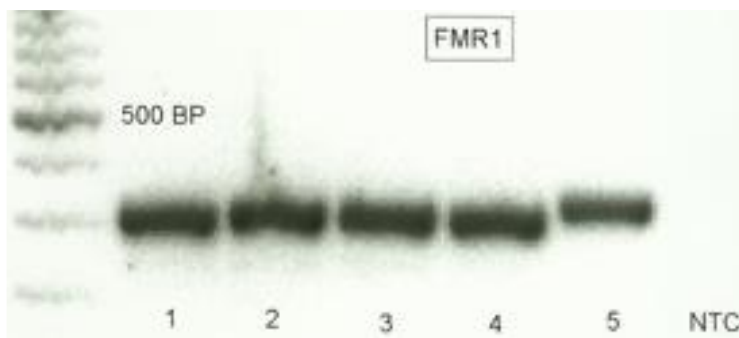
Hasil Analisis Gen *FMR1*

Pada 10 orang sampel yang terdiri dari 5 laki-laki dan 5 perempuan, selain analisis kromosom juga dilanjutkan dengan analisis

gen *FMR1* untuk melihat adanya mutasi pemanjangan CGG repeat. Hasil pemeriksaan gen *FMR1* terlihat pada gambar di bawah ini.



Gbr. 4. **Analisis gen *FMR1***. Hasil gel elektroforesis gen *FMR1* pada sampel K21-K25, K212 dan K26 (*band* 1-7) (lihat tabel 3). *Band* paling kiri menunjukkan *marker* DNA 100 bp. *Band* 1 adalah anak laki-laki band 2; band 3 adalah anak laki-laki band 4.



Gbr. 5. **Analisis gen *FMR1***. Hasil gel elektroforesis gen *FMR1*. *Band* nomer 1-3 adalah sampel K29, K211, K27 (lihat tabel 3), sedangkan nomer 4-5 adalah kontrol negatif laki-laki dan perempuan. *Band* nomer 1 adalah anak laki-laki *band* nomer 2. *Band* nomer 2 adalah kakak perempuan *band* nomer 3. *Band* paling kiri menunjukkan *marker* DNA 100 bp. NTC adalah *non template control*.

Tabel 3. Hasil analisis gen *FMR1*

No	Nama	Jenis kelamin	Panjang band (bp)	Ket
1	K21	Laki-laki	~ 300	Normal
2	K22	Perempuan	~ 300	Normal
3	K23	Laki-laki	~ 300	Normal
4	K24	Laki-laki	~ 300	Normal
5	K25	Perempuan	~ 300	Normal
6	K212	Laki-laki	~ 300	Normal
7	K26	Perempuan	~ 300	Normal
8	K27	Perempuan	~ 300	Normal
9	K29	Laki-laki	~ 300	Normal
10	K211	Perempuan	~ 300	Normal

Hasil Analisis Kromosom

Pemilihan siswa yang menjalani pengambilan darah untuk dilakukan analisis kromosom dan DNA berdasarkan kecurigaan retardasi mental yang diwariskan (seperti *Fragile X syndrome*). Dari 10 siswa dan orang tuanya yang menjalani analisis kromosom, terdapat tiga orang yang menunjukkan hasil karyotip abnormal, yaitu K23, K24 dan K210. Hasil analisis kromosom pada sampel K23 dan K24 keduanya menunjukkan adanya kelainan struktur kromosom, yaitu inversi.

Inversi adalah kelainan struktur kromosom, dimana segmen kromosom mengalami patah pada dua tempat berbeda, segmen yang patah tersebut membalik 180 derajat kemudian melekat lagi pada tempat semula. Disebut inversi perisentris apabila regio yang mengalami

pembalikan melingkupi sentromer (Jorde, 2006). Sampel K24 adalah ayah dari K23. Sampel K24 dalam hal ini merupakan pembawa inversi perisentris, dengan fenotip normal. Kromosom inversi ini diwariskan kepada anaknya (sampel K23), hanya saja K23 mengalami retardasi mental. Retardasi mental pada keturunan dari pembawa inversi disebabkan pada saat proses pematangan sel spermatozoa pada individu pembawa (K24) terjadi *unequal crossing over* sehingga kromosom 9 pada anaknya (K23) menjadi *unbalance* (ada materi genetik yang hilang) yang menyebabkan retardasi mental.

Dari hasil pemeriksaan fisik pada sampel K210 ditemukan fenotip Sindroma Down, seperti *flat occiput*, *microcephaly*, *upslanting palpebral fissure*, *depressed nasal bridge*, *short 3rd finger* dan *short stature*. Hasil analisis kromosom menunjukkan adanya kelebihan satu kromosom 21 (trisomi 21 murni) atau sindroma Down. Trisomi pada sampel K210 disebabkan adanya *non disjunction* pada saat gametogenesis, dengan kemungkinan resiko berulang sebesar 1% (Tobias, *et al.*, 2011).

Siswa dengan retardasi mental yang tidak menunjukkan kelainan kromosom (jumlah maupun struktur), dapat disebabkan oleh kelainan yang lebih kecil dari 4 Mb (*mega basepair*), sehingga tidak terlihat melalui mikroskop atau disebabkan kelainan gen. Salah satu kelainan pada gen yang dicurigai adalah kelainan pada gen *FMR1* yang menyebabkan *Fragile X syndrome* yang ditandai dengan retardasi mental yang diwariskan dari generasi ke generasi.

Hasil Analisis Gen *FMR1*

Beberapa siswa memiliki kerabat yang juga menderita retardasi mental, sehingga muncul dugaan kelainan *Fragile X syndrome*. *Fragile X syndrome* merupakan penyebab terbanyak retardasi mental yang diwariskan. Gen penyebab adalah *FMR1* yang terletak di kromosom X, sehingga pola pewarisannya adalah *X-linked* (Turnpenny & Ellard, 2012).

Sampel K23 adalah anak laki-laki sampel K24. Hasil analisis kromosom, keduanya disertai dengan kelainan struktur kromosom (inversi perisentris) pada kromosom nomer 9 (tabel 1). Pada analisis gen *FMR1* (tabel 3) tidak ditemukan adanya mutasi pemanjangan trinukleotida CGG.

Sampel K21 adalah anak laki-laki dari K22. Pada analisis kromosom (tabel 1) maupun gen *FMR1*(tabel 3), ke duanya tidak menunjukkan kelainan. Diperlukan pemeriksaan molekuler yang lain untuk mengetahui kelainan pada K21 ini.

Sampel K29 adalah anak laki-laki dari sampel K211 dan merupakan kemenakan laki-laki dari sampel K27. Pada ke tiganya tidak ditemukan kelainan kromosom maupun gen *FMR1*.

Sampel K26 merupakan bibi (saudara ibu) dari K212. Sample K26 dilakukan analisis kromosom maupun gen *FMR1* karena menunjukkan retardasi mental ringan. Baik K26 dan K212, ke duanya tidak menunjukkan kelainan kromosom. Analisis kromosom tidak dilakukan pada sampel K212 oleh karena darah yang tersedia tidak mencukupi untuk dilakukan kultur sel.

Analisis gen *FMR1* pada 10 siswa dan orang tuanya (terutama ibu) menunjukkan hasil pada tabel 3, yang artinya CGG *repeat* pada gen *FMR1* masih berada pada kisaran normal yaitu 30 *repeat* yang ditunjukkan dengan adanya pita (*band*) pada 300 bp, atau tidak menunjukkan adanya mutasi *trinucleotide repeat expansion* penyebab *Fragile X syndrome*. Dengan demikian diperlukan metode pemeriksaan molekuler yang lain yang lebih sensitif, seperti MLPA (*Multiple Ligation Probe Amplification*) dan sequencing untuk mengetahui penyebab genetik dari retardasi mentalnya.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Terdapat satu siswa dengan kelainan jumlah kromosom, serta satu siswa dan orang tuanya (ayah) yang disertai dengan kelainan struktur kromosom
2. Tidak ditemukan kelainan pada gen *FMR1* penyebab *fragile X syndrome* pada siswa maupun keluarganya.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode berbeda untuk mengetahui penyebab retardasi mental siswa SLB maupun anggota keluarganya.
2. Perlu peran aktif para guru untuk mengenali kelainan genetik yang mendasari retardasi mental pada siswa/siswinya.

Daftar Pustaka

- Chelly J, Khelifaoui M, Francis F, Cherif B, Bienvenu T. Genetics and pathophysiology of mental retardation. *European Journal of Human Genetics*. 2006;14:701-13. doi:10.1038/sj.ejhg.5201595
- Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL. *Medical Genetics*. MosbyUSA. 2016.
- Sherman S. Epidemiology. In: Hagerman R..J., P.J. H, editors. *Fragile X Syndrome* University Press; 2002. p. 136-68.
- Tobias ES, Connor M, Ferguson-Smith M. *Essential Medical Genetics*. 6th ed. Wiley Blackwell UK. 2011.
- Turnpenny PD, Ellard S. *Emery's Elements of Medical Genetics*. 14th ed. Elsevier Philadelphia. 2012.
- Tzschach A, Ropers H-H. *Genetics of Mental Retardation*. *Dtsch Arztebl*. 2007;104(20):1400-5.
- Winnepenninckx B. Mental Retardation: A Review of The Genetic Causes. *The British Journal of Developmental Disabilities*. 2003;49(96):29-44.
- Wulandari RD, Setijowati ED, Tania POA. Identifikasi Kelainan Genetik Penyebab Retardasi Mental. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2016;29(1):79-82.