



# Prevalensi defisiensi *Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase* (G6PD) pada anak Sekolah Dasar yang tinggal di daerah endemis malaria di Sulawesi utara

## *Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency among primary school students in malaria endemic areas in North Sulawesi*

Josef S. B. Tuda<sup>1</sup>, Billy J. Kepel<sup>2</sup>, Masami Nakatsu<sup>1,3</sup>, Hiroyuki Matsuoka<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Parasitology, Sam Ratulangi University Faculty of Medicine, Manado

<sup>2</sup>Public Health Study Program & Department of Chemistry, Sam Ratulangi University Faculty of Medicine, Manado

<sup>1,3</sup>Japan International Cooperation Agency

<sup>4</sup>Department of Medical Zoology, Jinchi Medical School, Tochigi, Japan

**KEYWORDS** G6PD deficiency; malaria endemic; assay kit

**ABSTRACT** Deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) is the most common enzyme disorder in the world with a very high incidence in the tropics and sub-tropics as a result of malaria selection. North Sulawesi is a part of Indonesian archipelago where malaria has been endemic. This study was aimed to examine the prevalence of G6PD deficiency in the region. An observational cross sectional study was conducted on primary school students belong to different ethnic groups. The purposive sampling method was used to select 442 study subjects, age 5-9 years. The G6PD-deficiency screening test was carried out using G6PD-assay kit. The prevalences of G6PD-deficiency male students were 0% in the Minahasans, 7,4%-12,0% in the Sangihene, and 4,0%-10,3% in the Bolaang-Mongondownese. The results suggest that the highest prevalence of G6PD deficiency was in the Sangihe ethnic group. Further molecular analysis would be beneficial to study the genetic relationship of those populations with other neighboring population.

Keadaan endemis malaria yang telah berlangsung lama di suatu daerah dapat memicu respons perlawanan dalam tubuh manusia secara perlahan (evolusi) untuk menangkal serangan parasit malaria tersebut. Respons perlawanan ini berupa evolusi selektif genom manusia, misalnya terjadinya defisiensi *Glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD) (Carten dan Mendis, 2002). Terjadinya seleksi evolusi malaria terhadap genom manusia dapat terjadi secara independen pada tingkat lokal, artinya respons perlawanan terhadap malaria ini dapat terjadi pada etnik yang berbeda walaupun pada wilayah yang sama. Misalnya ditunjukkan dengan adanya kelainan haemoglobin pada suku Dogon di Mali, Afrika, yang berbeda dengan suku-suku lain di wilayah yang sama (Kiatkowski, 2005).

Defisiensi G6PD adalah salah satu kelainan yang diturunkan terpaut pada kromosom X (Luzzatto dan Mehta, 1995). Diperkirakan defisiensi G6PD ditemukan pada sekitar 400 juta penduduk di seantero dunia terutama pada daerah tropis (Ganczakowski *et al.*, 1995; Ruwende *et al.*, 1995),

serta banyak ditemukan pada kelompok laki-laki dibandingkan perempuan.

Berdasarkan kriteria WHO 1989, defisiensi G6PD diklasifikasikan dalam lima kelompok yaitu: klas I adalah varian yang dapat menyebabkan terjadinya *chronic non-spherocytic hemolytic anemia*, klas II dan III adalah varian yang ditandai dengan menurunnya aktivitas enzim, klas IV varian dengan aktivitas enzim normal, serta klas V varian dengan aktivitas enzim yang berlebihan. Manifestasi klinis yang dapat ditemukan pada keadaan defisiensi adalah *icterus neonatorum* pada bayi baru lahir, dan anemia hemolitik akut terutama pada laki-laki (Ishii *et al.*, 1994; Tantular dan Kawamoto, 2003). Walaupun klas II sampai klas V tidak menyebabkan keadaan anemia hemolitik kronis, tapi dapat terjadi anemia hemolitik

*Correspondence:*

Dr. Josef S.B. Tuda, M.Kes, Sp.Par.K., Department of Parasitology Sam Ratulangi University Faculty of Medicine, Jalan Raya Tanawangko Malalayang II Manado, Telephone/Facsimile: 0431-834741, email: joseftuda@yahoo.com.

akut bila terdapat faktor pencetus akibat adanya gangguan oksidasi pada infeksi dan penggunaan obat (Iwai *et al.*, 2001).

Preparat obat yang menjadi kontra indikasi adalah gametosida yaitu primakuin. Aktivitas *G6PD* diperlukan oleh eritrosit dalam mempertahankan keutuhannya terhadap pengrusakan yang disebabkan oleh peroksida yang terbentuk karena pemakaian primakuin. Berdasarkan hal tersebut, maka sangat dianjurkan untuk melakukan pemeriksaan keadaan enzim sebelum memutuskan memberikan obat primakuin pada penderita malaria. Sekarang telah dikembangkan teknik berupa *G6PD Assay Kit* untuk mendeteksi defisiensi *G6PD* yang dapat dilakukan cepat dan mudah, karena menggunakan peralatan praktis serta dapat dilaksanakan di lapangan. Pembacaan hasil hanya membutuhkan waktu lima belas menit, yang ditandai dengan adanya perubahan warna (Tantular dan Kawamoto, 2003).

Sulawesi Utara termasuk salah satu daerah endemis malaria, terdapat *plasmodium falciparum* dan *plasmodium vivax* yang banyak ditemukan sebagai penyebab penyakit malaria. Penggunaan primakuin

untuk pengobatan radikal membasmi stadium gamet, biasanya diberikan pada penderita malaria baik yang berkunjung di Puskesmas maupun di rumah sakit dan dokter praktek swasta.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dimaksudkan untuk menentukan prevalensi defisiensi *G6PD* di Provinsi Sulawesi Utara. Sebagai pendahuluan, penelitian dikhususkan pada anak-anak Sekolah Dasar yang tinggal di daerah endemis malaria.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan potong lintang (*cross sectional*) secara observasional. Populasi penelitian adalah anak Sekolah Dasar (SD). Sampel penelitian diambil secara *purposive* pada anak SD yang berumur 5-9 tahun, laki-laki dan perempuan di lima SD yang tersebar di tiga Kabupaten/Kota di Sulawesi Utara (Gambar 1) yang berbeda asal suku ibu anak sekolah. Sebelum dilakukan pengambilan darah terlebih dahulu dimintakan *informed consent* kepada orang tua.



Gambar 1. Peta Sulawesi Utara. Tanda panah menunjukkan lokasi penelitian

Deteksi defisiensi *G6PD* dilakukan dengan menggunakan *G6PD Assay Kit* (Dojindo Laboratories). Prinsip kerja dari *assay kit* adalah hidrogen dari *NADPH* yang dihasilkan oleh kerja enzim *G6PD*, akan berperan pada konversi 2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H tetrazolium monosodium salt (*WST-8*) menjadi *WST-8 formazan* melalui kerja 1-methoxyphenazine methosulfate (1-methoxy *PMS*).

Cara pemeriksaan: Pada tabung yang ber-volume 1.5 ml, dimasukkan 760  $\mu$ l air (akuades atau air minum), dicampur dengan 20  $\mu$ l *substrate mixture* dan 20  $\mu$ l *dye mixture*. Kemudian ditambahkan 5  $\mu$ l darah lalu dikocok hingga rata selama 5 menit, selanjutnya diinkubasi pada suhu 25-37  $^{\circ}$ C selama 15 menit. Reaksi yang terjadi melalui perubahan warna dihentikan dengan menambahkan 10  $\mu$ l 1 mol/l HCl. Perubahan warna yang terlihat di bandingkan

dengan kontrol negatif yang hanya terdiri dari air dicampur dengan 5 µl darah. Bila warna tidak berubah dan tetap seperti pada tabung negatif kontrol, maka dinyatakan sebagai defisiensi *G6PD* dan gradasinya dapat ditentukan berdasarkan patokan warna yang telah tersedia dalam *G6PD Assay Kit*.

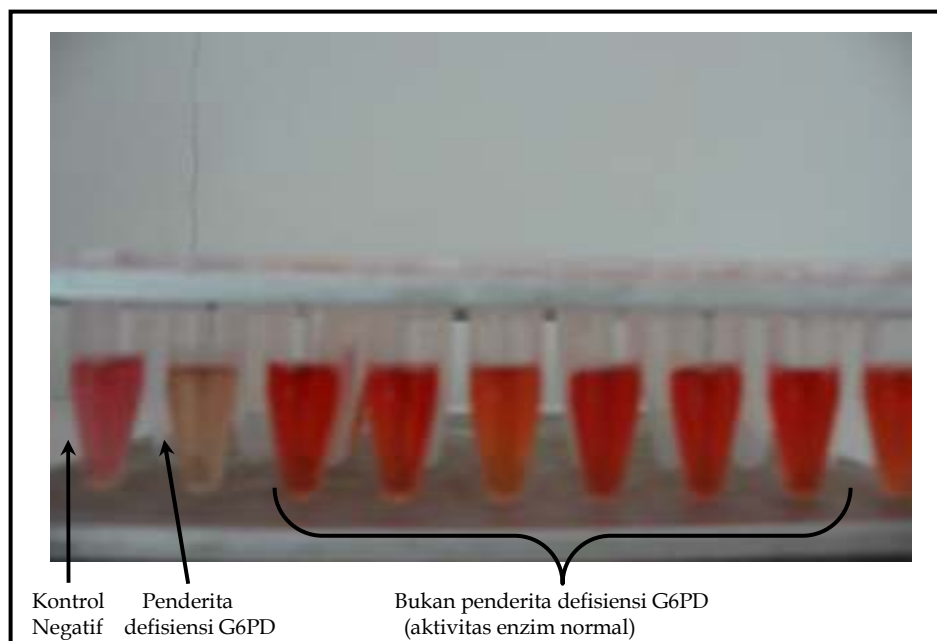
### HASIL

Subjek penelitian yang diperiksa berjumlah 442 anak Sekolah Dasar yang terdiri dari: 79 orang dari SD Apella (Kota Bitung), 195 orang dari SD Kima Bajo dan SD Minaesa (Kabupaten Minahasa Utara), 168 orang dari SD Motabang dan SD Lolak (Kabupaten Bolaang-Mongondow), dengan jumlah 243 anak laki-laki dan 199 anak perempuan. Orang

tua (Ibu) dari anak SD Apella adalah suku Minahasa, anak SD Kima Bajo dan Minaesa adalah suku Sangihe, serta anak SD Motabang dan Lolak adalah suku Bolaang-Mongondow. Hasil pemeriksaan aktivitas *G6PD* dapat dilihat pada Gambar 2. Dengan teknik pemeriksaan aktivitas *G6PD* tersebut, prevalensi defisiensi *G6PD* tertinggi dijumpai pada anak-anak SD Kima Bajo Kabupaten Minahasa Utara (12.0%), diikuti berturut-turut SD Lolak Kabupaten Bolaang-Mongondow (10.3%). SD Minaesa Kabupaten Minahasa Utara (7.4%) dan SD Motabang Kabupaten Bolaang-Mongondow (4,0%). Defisiensi *G6PD* tidak dijumpai sama sekali pada anak-anak di SD Apella Kota Bitung (Tabel 1).

Tabel 1. Defisiensi *G6PD* pada Anak Laki-laki Sekolah Dasar di daerah endemis malaria Sulawesi Utara

Lokasi	Jumlah Sampel	Kelamin Laki-laki	Jumlah Defisiensi <i>G6PD</i>	Prevalensi %
Kota Bitung : SD Apella	79	50	0	0
Kabupaten Minahasa Utara: SD Kima Bajo	95	50	6	12,0 %
SD Minaesa	100	54	4	7,4 %
Kabupaten Bolaang-Mongondow: SD Motabang	100	50	2	4,0%
SD Lolak	68	39	4	10,3%



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Aktivitas *G6PD* pada Sampel Darah Subjek Penelitian

## PEMBAHASAN

Sulawesi Utara adalah salah satu Provinsi yang termasuk dalam daerah endemis malaria, dengan tingkat endemisitas malaria bervariasi dari hipoendemis hingga mesoendemis (Tuda *et al.*, 2005). Berdasarkan pengamatan walaupun tidak dilaporkan, ada yang memberikan pengobatan penyakit malaria tanpa melakukan pemeriksaan laboratorium, langsung memberikan obat skizontosida dan gametosida yaitu primakuin. Bila tindakan tersebut diberikan kepada penderita dengan defisiensi *G6PD*, maka dapat menginduksi terjadinya anemia hemolitik akut.

Hasil pemeriksaan menunjukkan prevalensi defisiensi *G6PD* di daerah penelitian bervariasi dari 0% sampai 12,0%, sedikit lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan di Maluku Selatan, dengan defisiensi *G6PD* berkisar dari 3.1% sampai 6,7% (Soewono *et al.*, 2000), di Provinsi Aceh 1,2% sampai 4,0% pada laki-laki (Azhar dan Husin, 2001), serta di Flores sebesar 6,2% pada 177 anak sekolah dasar laki-laki (Matsuoka *et al.*, 2003).

Pada penelitian ini defisiensi *G6PD* ditemukan lebih tinggi pada anak sekolah dasar di Kabupaten Minahasa Utara, kemudian Kabupaten Bolaang-Mongondow. Berdasarkan wawancara saat pengambilan sampel untuk mendapatkan data riwayat keluarga, subjek dengan defisiensi *G6PD* di Kima Bajo dan Minaesa ternyata adalah anak yang mempunyai orang tua (Ibu) suku Sangihe, yang tinggal di sepanjang pantai Utara Minahasa. Hal tersebut sesuai dengan hasil survey malaria dan pemeriksaan *G6PD* yang dilakukan di desa-desa kepulauan wilayah Kecamatan Likupang Kabupaten Minahasa Utara tahun 2004-2005, ditemukan kasus defisiensi *G6PD* pada penduduk suku Sangihe (Tuda *et al.*, komunikasi pribadi tidak dipublikasi). Anak sekolah dari Kabupaten Bolaang-Mongondow, semuanya mempunyai orang tua (Ibu) dari suku Bolaang-Mongondow. Keadaan tersebut bila dilihat dari aspek genetik berhubungan dengan kromosom X, diturunkan dari pihak Ibu kepada anak laki-laki yang bersifat *hemyzygous deficient*.

Hal yang menarik adalah untuk anak SD yang mempunyai Ibu dari suku Minahasa, tidak ditemukan adanya defisiensi *G6PD*. Dalam kaitan ini, penelusuran asal-usul suku-suku penduduk di kawasan Sulawesi Utara dengan pendekatan genetik perlu dilakukan. Analisis molekular terhadap defisiensi *G6PD* pada populasi di kawasan ini akan

bermanfaat untuk membantu pengungkapan fenomena tersebut (Iwai *et al.*, 2001).

## KESIMPULAN

Prevalensi defisiensi *G6PD* pada anak sekolah yang tinggal di daerah endemis malaria di Provinsi Sulawesi Utara, ditemukan paling tinggi pada anak sekolah di Kabupaten Minahasa Utara yang mempunyai Ibu dari suku Sangihe, kemudian anak sekolah yang mempunyai Ibu suku Bolaang-Mongondow. Anak yang mempunyai Ibu suku Minahasa, tidak ditemukan defisiensi. Analisis molekular defisiensi *G6PD* di kawasan ini berguna dalam ikut menjelaskan fenomena menarik tersebut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada Crisye, Karol, Aditya dan Ligius atas bantuan tenaga sehingga penelitian dapat terlaksana. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Guru-guru yang telah membantu anak sekolah dalam penelitian.

## KEPUSTAKAAN

- Azhar Al, Husin A 2001. Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase (*G6PD*) deficiency in two populations of Aceh Province. *Jurnal Kedokteran YARSI* 9 (1): 93-95.
- Carten R, Mendis KN 2002. Evolutionary and historical aspects of the burden of malaria. *Clinical Microbiology Review* 15(4): 564-594.
- Ganczakowski M, Town M, Bowden DK, Vulliamy TJ, Kaneko A, Clegg JB, Weatherall DJ, Luzzatto L 1995. Multiple glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient variants correlate with malaria endemicity in the Vanuatu archipelago (South-western Pasific). *American Journal of Human Genetics* 56: 294-301.
- Ishii A, Asahi H, Kawabata S 1994. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Salomons Islands. *Japanese Journal of Parasitology* 43: 312-314.
- Iwai K, Hirono A, Matsuoka H, Kawamoto F, Horie T, Lin K, Tantular IS, Dahlan YP, Notopuro H, Hidayah NI, Salim AMA, Fujii H, Miwa S, Ishii A 2001. Distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase mutation in Southeast Asia. *J Hum Genet* 108: 445-449.
- Kiatkowski DP 2005. How malaria has affected the human genome and what humangenetics can teach us about malaria. *American Journal of Human Genetic* 77: 171-190.
- Luzzatto L, Mehta A 1995. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. (Ed). *The metabolic and molecular*

- bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill. p. 3367-3398.
- Matsuoka H, Arai M, Yoshida S, Tantular IS, Pularawati S, Kerong H, Kawamoto F 2003. Five different glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants found among 11 G6PD-deficient persons in Flores, Indonesia. *J Hum Genet* 48: 541-544
- Ruwende C, Khoo SC, Snow RW, Yates SNR, Kwiatkowski D, Gupta S, Warn P, Allsopp CEM, Gilbert SC, Pasehu N, Newbold CI, Greenwood BM, Marsh K, Hill AVS 1995. Natural selection of hemi-and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria. *Nature* 376: 246-249.
- Soewono S, Martini T, Shirakawa T, Nishiyama K 2000. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency variants in small isolated islands in eastern Indonesia. *Jurnal Kedokteran YARSI* 8 (3): 87-92
- Tantular IS, Kawamoto F 2003. An improved, simple screening method for detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Trop Med Int Health* 8: 569-574.
- Tuda J, Wagey MT, Kapojos FX, Runtuwene J, Wahongan G 2005. Situasi malaria di wilayah PUSKESMAS Tombatu, Kabupaten Minahasa Selatan, Sulawesi Utara. *Media Kesehatan* 1 (1): 24-27.