



UNIVERSITAS INDONESIA

**HUBUNGAN POLIMORFISME CYP2C19 *2 dan CYP2C19 *3
DENGAN INHIBISI AGREGASI TROMBOSIT PADA PASIEN
SINDROMA KORONER AKUT YANG DIBERIKAN
CLOPIDOGREL
(Aplikasi Regresi Linier Ganda dan Regresi Logistik Ganda)**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
MAGISTER KESEHATAN MASYARAKAT

**NUNUNG NURSYAROFAH
NPM 1106120121**

**FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM MAGISTER ILMU KESEHATAN MASYARAKAT
DEPOK
2013**



UNIVERSITAS INDONESIA

**HUBUNGAN POLIMORFISME CYP2C19 *2 dan CYP2C19 *3
DENGAN INHIBISI AGREGASI TROMBOSIT PADA PASIEN
SINDROMA KORONER AKUT YANG DIBERIKAN
CLOPIDOGREL**
(Aplikasi Regresi Linier Ganda dan Regresi Logistik Ganda)

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
MAGISTER KESEHATAN MASYARAKAT

**NUNUNG NURSYAROFAH
NPM 1106120121**

**FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM MAGISTER ILMU KESEHATAN MASYARAKAT
DEPOK
2013**

RIWAYAT HIDUP

Nama : Nunung Nursyarofah

Tempat/ Tanggal Lahir : Sumedang/25 Juni 1979

Agama : Islam

Pendidikan :

1. SD Negeri Pasirkaliki IV, Bandung. Lulusan tahun 1992
2. SMP Negeri Pasirkaliki IV, Bandung. Lulusan tahun 1994
3. SMA Negeri 5, Bandung. Lulusan tahun 1997
4. Diploma III, Akademi Analis Kesehatan, Departemen Kesehatan, Bandung. Lulusan tahun 2000
5. Strata I, Jurusan Epidemiologi, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Indonesia. Lulusan tahun 2004.
6. Program Pasca Sarjana, Ilmu Kesehatan Masyarakat, Peminatan Biostatistik dan Kependudukan, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Indonesia. Lulusan tahun 2013.

Pekerjaan :

1. **Teknisi Laboratorium di Laboratorium klinik Prodia**, Bandung.
2. **Medical Research Technician** di Emerging Disease Program, U.S. NAMRU-2, Jakarta
3. **Outbreak Response Investigator** di Emerging Disease Program, U.S. NAMRU-2, Jakarta
4. **Staf Core lab** di Divisi Litbang RS Jantung dan Pembuluh Darah Harapan Kita Jakarta



All glory comes from daring to begin.....

I dedicated this book to my beloved hon, Heri Sugiarto and my lovely sons, Ergi & Ersyafa Thank you for all your love, prayers and unlimited patience

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Nunung Nursyarofah
NPM : 1106020121
Program Studi : Biostatistik dan Kependudukan
Judul Tesis : Hubungan Polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 Terhadap Inhibisi Agregasi Trombosit Pada Pasien Sindroma Koroner Akut Yang Telah Diberikan Clopidogrel

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Kesehatan Masyarakat pada Program Studi Biostatistik dan Kependudukan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Pandu Riono, MPH, PhD

(*Pandu Riono*)

Pembimbing : DR. Besral, SKM, MSc

(*Besral*)

Penguji : DR. Dr. Anwar Santoso, SpJP (K), FIHA, FAsCC, FICA

(*Anwar Santoso*)

Penguji : DR. Dr. Bambang Budi Siswanto, SpJP (K)

(*Bambang Budi Siswanto*)

Ditetapkan di : Depok, Jawa Barat

Tanggal : 12 Juli 2013

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Nunung Nursyarofah
NPM : 1106120121
Program Studi : Ilmu Kesehatan Masyarakat
Peminatan : Biostatistik dan Kependudukan
Angkatan : 2011
Jenjang : Pasca Sarjana

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan tesis saya yang berjudul :

Hubungan Polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 Terhadap Penurunan Inhibisi Agregasi Trombosit Pada Pasien Sindroma Koroner Akut Setelah Pemberian Clopidodrel
(Aplikasi uji regresi linier dan uji regresi logistik)

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.


Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Depok, Juli 2013


(Nunung Nursyarofah)

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Nunung Nursyarofah
NPM : 1106120121
Tanda Tangan : 
Tanggal : Juli 2013



KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah s.w.t atas berkat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat selesai. Penulisan tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Kesehatan Masyarakat pada Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat, Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia.

Ucapan terima kasih tak terhingga penulis haturkan kepada dr. Pandu Riono, MPH, PhD serta DR. Besral, SKM, MSc atas kesediaan beliau memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran, bersedia meluangkan waktunya serta berbagi ilmu pengetahuan dengan memberikan input kepada penulis dalam proses penyusunan tesis ini.

Khususnya kepada dr. Renan Sukmawan, ST, SpJP, PhD, pencetus gagasan penelitian ini sekaligus sebagai Kepala Divisi Litbang, RSJPDHK, penulis menyampaikan terima kasih atas dukungan moril, sehingga memungkinkan penulis menempuh pendidikan Strata 2 di FKM UI. Tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. DR. Dr. Anwar Santoso, SpJP (K), FIHA, FasCC, FICA selaku penguji tesis sekaligus pembimbing luar yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran serta meluangkan waktu dan tenaga untuk hadir sebagai penguji pada ujian tesis penulis.
2. DR. Dr. Bambang Budi Siswanto, SpJP(K) selaku penguji tesis yang telah memberikan saran untuk penyempurnaan tesis ini.
3. Bapa dan Mamah tercinta dan kasihi, atas segala dukungan, curahan dan limpahan doa agar penulis bisa menyelesaikan tesis ini.
4. Bapa dan Mimih tercinta dan kasihi, atas segala dukungan, curahan dan limpahan doa agar penulis bisa menyelesaikan tesis ini
5. Rekan – rekan di Divisi Litbang RSJPDHK, Bu Las yang selalu memberikan dukungan moril tak terhingga, saran dan selalu menemani dalam penyelesaian tesis ini. Bu Erlin yang selalu memberikan saran, ide serta waktu luang untuk berdiskusi mengenai problematika dalam

penyelesaian tesis ini. Mba Tika untuk selalu menjadi pendengar yang baik serta teman – teman lain, Bu Indah, Bu Onit, Bu Ning, Gustaf, Pa Mul dan Elok atas segala dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

6. Mba Nurul, Ceu Ana, Koh Santo yang selalu memberikan waktu untuk *sharing*.
7. Teman seperjuangan peminatan Biostatistik FKM UI angkatan 2011, terima kasih atas dukungan, kebersamaan, kekeluargaan serta kasih diantara kita, baik selama kita dalam perkuliahan di kelas maupun sampai tugas akhir ini Doa “semoga terus berlanjut”.

Akhir kata penulis menyadari adanya keterbatasan dalam tesis ini, sehingga kritik dan saran sangat diharapkan untuk penyempurnaan tesis ini. Semoga tesis ini bermanfaat bagi pembaca.

Depok, Juli 2013

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nunung NUrSyarofah

NPM : 1106120121

Program Studi : Biostatistik dan Kependudukan

Departemen : Biostatistik

Fakultas : Fakultas Kesehatan Masyarakat

Jenis karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-Exclusive Royalty-Free Right) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

“Hubungan Polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 Dengan Inhibisi Agregasi Trombosit Pada Pasien Sindroma Koroner Akut Yang Telah Diberikan”

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada Tanggal : 2013

Yang menyatakan



**PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN MASYARAKAT
BIOSTATISTIK KEPENDUDUKAN
Tesis, Juli 2013**

Nunung Nursyarofah

Hubungan Polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 Terhadap Inhibisi Agregasi Trombosit Pada Pasien Sindroma Koroner Akut Yang Telah Diberikan Clopidogrel

ix + 52 halaman, 11 tabel, 1 gambar, 11 lampiran

ABSTRAK

Latar Belakang: Respon antar-individu yang bervariasi terhadap obat antiplatelet (clopidogrel) telah dilaporkan. Perbedaan tingkat metabolisme clopidogrel untuk metabolit aktif tiol menggambarkan variabilitas antar-individu dalam penghambatan trombosit. Sitokrom P450C19 (CYP2C19) memetabolisme zat metabolit aktif tiol. Carrier polimorfisme yang menyebabkan hilangnya fungsi CYP2C19 * 2 dan * 3 alel pada terapi antiplatelet mengakibatkan berkurangnya penghambatan agregasi trombosit. Informasi mengenai hubungan antara CYP2C19 * 2 dan * 3 dengan inhibisi agregasi trombosit pada pasien Sindroma koroner akut di Indonesia masih terbatas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara dua varian, CYP2C19 * 2 (6816>A) dan CYP2C19 * 3 (636G>A) terhadap penurunan fungsi inhibisi agregasi trombosit.

Bahan dan Metode: Desain penelitian *cross sectional*. Jumlah responden adalah 114 orang (dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi). Pemeriksaan polimorfisme CYP2C19 dilakukan dengan menggunakan teknik *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) TaqMan SNP *Genotyping Assays* dengan alat dari *applied Biosystems 7500 Fast/7900HT Fast Real Time PCR Systems (in standart or 9600 emulation mode)*. Inhibisi agregasi trombosit diperiksa dengan menggunakan metode *Light Transmisi Aggregometry* (LTA) dengan alat Helena AggGRAM Analyzer pada penambahan 5umol/L ADP sebagai agregator.

Hasil: Distribusi inhibisi agregasi trombosit menunjukkan perbedaan rerata antara

responden *non carier* polimorfisme dengan responden *carier* polimorfisme (16,9 CI95%: 12,1-21,6 vs 9,4 CI95%: 2,9 - 15,0). Analisis regresi linier menunjukkan bahwa responden *carier* polimorfisme memiliki inhibisi agregasi trombosit lebih rendah dibandingkan dengan responden *non carier* polimorfisme. Analisis regresi logistik menunjukkan bahwa responden *carier* polimorfisme mempunyai odds untuk merespon kurang baik terhadap clopidogrel sebesar 1,9 kali jika dibandingkan dengan responden yang *non carier* setelah dikontrol oleh variabel umur dan jenis kelamin, hal tersebut mengindikasikan bahwa *carier* polimorfisme mempunyai inhibisi yang rendah terhadap agregasi trombosit.

Kesimpulan: Temuan kami membuktikan adanya hubungan antara CYP2C19 * 2 dan * 3 polimorfisme dengan inhibisi agregasi trombosit.

Kata Kunci: Polimorfisme CYP2C19*2 and *3, Trombosit, Agregasi, Inhibisi, Sindroma Koroner Akut, Clopidogrel.

**POST GRADUATE STUDY
PUBLIC HEALTH STUDY PROGRAM
BIOSTATISIK
Thesis, July 2013**

Nunung Nursyarofah

The Association of CYP2C19*2 and *3 Polymorphisms with Platelet Aggregation Inhibition In Acute Coronary Syndrome (ACS) Patients Which Have Receive Clopidogrel

ix + 52 pages, 11 tables, 1 figure, 11 appendices

ABSTRACT

Background: Inter-individual variability in response to antiplatelet drugs (clopidogrel) has been reported. The difference in the extent of metabolism of clopidogrel to its active metabolite tiol is the most plausible mechanism for the observed inter-individual variability in platelet inhibition. The cytochrome P450C19 (CYP2C19) metabolizes the active metabolite tiol. The carrier polymorphisms of reduced – functions of CYP2C19*2 and *3 allele on antiplatelet therapy showed diminished platelet aggregation inhibition. There is limited information on the association between CYP2C19 *2 and *3 with platelet aggregation inhibition in ACS patients generally in Indonesia Population. The aim of this study was to determine the association between two variants, CYP2C19*2 (6816>A) and CYP2C19*3 (636G>A) reduced function with platelet aggregation inhibition.

Material & Method: a cross sectional study was done with 114 subjects (selected by inclusions and exclusions criteria). The CYP2C19 polymorphisms were genotype using the PCR method with TaqMan SNP *Genotyping Assays* from *applied Bio systems 7500 Fast/7900HT Fast Real Time PCR Systems (in standard or 9600 emulation mode)*. The platelet aggregation inhibition was tested using *Light Transmission Aggregometry (LTA)* by *Helena AggGRAM Analyzer* with 5umol/L ADP as aggregator.

Results: The distribution of platelet inhibition aggregation showed difference between respondents with non-carrier polymorphisms and carrier polymorphisms (16,9 CI95%: 12,1 -21,6 vs 9,4 CI95%: 2,9 - 15,0). The linier regression analysist indicated that the carrier polymorphisms have lowest platelet aggregation inhibition compared with non-carrier polymorphisms. The logistic regression analysis indicated that carrier polymorphisms respondents has 1,9 odds to be low response to clopidogrel if compared with non-carrier polymorphisms respondents after adjusted with age and sex and it is indicated that it has low platelet aggregation inhibition.

Conclusion: Our present findings the evidence of an association between CYP2C19 *2 and *3 polymorphisms and platelet aggregation inhibition.

Key words: CYP2C19*2 and *3 Polymorphisms, Platelet, Aggregation, Inhibition, Acute Coronary Syndrome, Clopidogrel

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	1
BAB I PENDAHULUAN.....	20
1.1. Latar Belakang	20
1.2 Rumusan Masalah	24
1.3 Pertanyaan Penelitian	6
1.4 Tujuan Penelitian	24
1.4.1 Tujuan Umum	24
1.4.2 Tujuan Khusus.....	6
1.5 Ruang Lingkup Penelitian.....	25
1.6 Manfaat Penelitian	
1.6.1 Bidang Akademis.....	25
1.6.2 Bidang Klinis	26
1.6.3 Pengambil Kebijakan Institusi RSJPDHK Jakarta.....	26
1.6.4 Bidang Penelitian	26
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	27
2.1 Sindroma Koroner Akut	27
2.2 Agregasi Trombosit.....	27
2.3 Clopidogrel.....	28
2.4 Pemeriksaan Agregasi Trombosit	28
2.5 Polimorfisme Cytochrome P450 2C19 (CYP2C19)	29
2.6 Hubungan Faktor Klinis SKA Dengan Agregasi Trombosit	32
2.7 Hubungan Faktor Lainnya Dengan Agregasi Trombosit	35
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP dan HIPOTESA	19
3.1 Kerangka Teori	19
3.2 Kerangka Konsep	38
3.3 Hipotesa	20
3.4 Definisi Operasional.....	21
BAB IV METODE PENELITIAN	39
4.1 Desain Penelitian.....	39
4.2 Populasi dan Sampel	39
4.3 Metode Pengumpulan Data dan Sampel Penelitian	41
4.3.1 Investigasi dan wawancara Oleh Divisi Litbang.....	41

4.3.2 Pengumpulan dan Proses Sampel Darah Oleh Divisi Litbang.....	41
4.4 Pengolahan Data	41
4.4.1 Proses Pengolahan data.....	42
4.4.2 Analisa Data	42
4.5 Persetujuan Etik.....	43
BAB V HASIL PENELITIAN.....	44
BAB VI PEMBAHASAN.....	50
BAB VII SARAN dan KESIMPULAN.....	61
DAFTAR PUSTAKA	

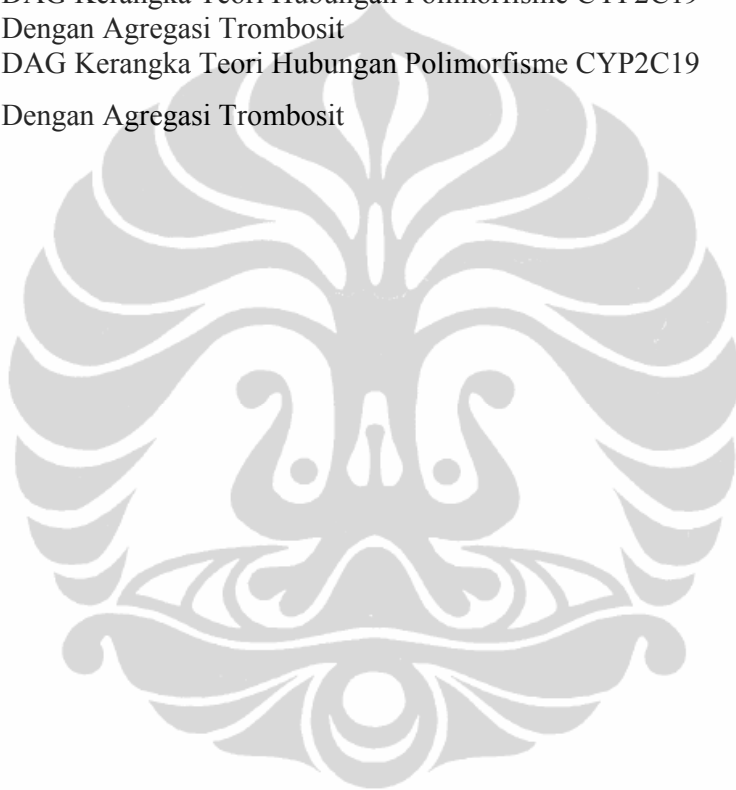


DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Hal
Tabel 3.3	Definisi Operasional	21
Tabel 5.1	Rujukan Pengelompokan Agregasi Trombosit	27
Tabel 5.2	Distribusi Nilai Agregasi Trombosit Antara Sebelum dan Sesudah Pemberian Clopidogrel	28
Tabel 5.3	Distribusi Inhibisi Agregasi Trombosit	28
Tabel 5.4	Distribusi Polimorfisme CYP2C19	29
Tabel 5.5	Distribusi Responden Berdasarkan Umur	30
Tabel 5.6	Distribusi Responden Berdasarkan Jenis Kelamin	30
Tabel 5.7	Perbedaan Rata – Rata Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Polimorfisme CYP2C19	30
Tabel 5.8	Distribusi Proporsi Agregasi Trombosit Berdasarkan Polimorfisme	31
Tabel 5.9	Distribusi Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Jenis Kelamin	31
Tabel 5.10	Distribusi Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Umur	31
Tabel 5.11	Rata – Rata Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Jenis Kelamin	32
Tabel 5.12	Rata – Rata Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Umur	32
Tabel 5.13	Perbedaan Koefisien Efek <i>Crude</i> dan Efek <i>Adjusted</i> Pada Regresi Linier Ganda	33
Tabel 5.14	Perbedaan Odds Efek <i>Crude</i> dan Efek <i>Adjusted</i> Pada Regresi Logistik Ganda	34
Tabel 6.1	Beberapa Penelitian Mengenai Hubungan Polimorfisme Dengan Agregasi Trombosit	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Hal
Gambar 2.1	Mekanisme Farmakodinamik Obat Clopidogrel Terhadap Agregasi Trombosit	20
Gambar 3.1.	DAG Kerangka Teori Hubungan Polimorfisme CYP2C19 Dengan Agregasi Trombosit	20
Gambar 3.2	DAG Kerangka Teori Hubungan Polimorfisme CYP2C19 Dengan Agregasi Trombosit	21



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Proses dan Cara kerja Pemeriksaan Agregasi Trombosit
- Lampiran 2. Cara Kerja Isolasi *Peripheral Blood Mononuclear Cell* (PBMC)
- Lampiran 3. Cara Kerja Ekstraksi *Dioksiribo Nuclae Acid* (DNA)
- Lampiran 4. Cara Kerja Pemeriksaan *Real Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)
- Lampiran 5. Alur Skrining Pasien
- Lampiran 6. Hitungan Besar Sampel
- Lampiran 7. Lembar Persetujuan Pasien (*Informed Consent*)
- Lampiran 8. Kuesioner
- Lampiran 9. Alur Pengumpulan dan Pemeriksaan Sampel
- Lampiran 10. Lembar Persetujuan Komite Etik, Persetujuan Pengambilan dan Penggunaan Data penelitian.
- Lampiran 11. Alur Tahapan Penelitian
- Lampiran 12. Hasil Analisis Statistik

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Akronim
ACC	: <i>American Cardiology Congress</i>
ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
AHA	: <i>American Heart Assosiation</i>
BP	: <i>Blood Pressure</i>
CFR	: <i>Case Fatality Rate</i>
DNA	: <i>Dioksiribo Nuclae Acid</i>
CVA	: <i>Cerebro Vascular Accident</i>
EETs	: <i>epoxyeicosatrienoic acids</i>
EKG	: <i>Elektrokardiografi</i>
HDL	: <i>High density lipoprotein</i>
LTA	: <i>Light Transmission Aggregometry</i>
NSTEMI	: <i>Non ST Elevatiao Myocardial Infact</i>
PBMC	: <i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PPP	: <i>Platelet Poor Plasma</i>
PRP	: <i>Platelet Rich Plasma</i>
Riskesdas	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
RPM	: <i>Rotation per Minute</i>
RSJPDHK	: <i>Rumah Sakit Jantung dan Pembuluh Darah Harapan Kita</i>
SKA	: <i>Sindroma Koroner Akut</i>
STEMI	: <i>ST-Elevation Myocard Infact</i>
UGD	: <i>Unit Gawat Darurat</i>
UP	: <i>Unstable Angina</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sindrom koroner akut (SKA) masih merupakan masalah kesehatan bagi masyarakat di beberapa negara industri dan mulai meningkat di negara sedang berkembang (ACC & AHA, 2004). Di Amerika Serikat 1,36 juta penyebab rawat inap adalah kasus SKA. *American Heart Association* (AHA) pada tahun 2004 memperkirakan prevalensi penyakit jantung koroner karena *unstable angina* dan *Non ST-elevation myocardial infarction* (UA/NSTEMI) di Amerika Serikat sekitar 13.200.000 orang dan sekitar 2 sampai dengan 2,5 juta di seluruh dunia (P.Cannon & Steinberg, 2001).

Penderita yang merupakan manifestasi klinis akut dari sindroma koroner akut, mempunyai risiko mendapat komplikasi yang serius bahkan kematian. Sindroma koroner akut merupakan penyebab kematian yang utama di Indonesia menurut Survei Kesehatan Rumah Tangga oleh Departemen Kesehatan. Sindroma koroner akut juga menyebabkan angka perawatan Rumah Sakit yang sangat besar di Pusat Jantung Nasional (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, Depkes RI, 2006).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2011, kematian di Indonesia mencapai 243.048 atau 17,05% dari total kematian dan termasuk peringkat kematian ke-51 di dunia. Sedangkan berdasarkan laporan Riskesdas tahun 2007, menyatakan bahwa SKA menempati peringkat ke-3 penyebab kematian setelah stroke dan hipertensi dengan persentase sebanyak 7,2% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2008).

Penyebab utama terjadinya SKA adalah karena terjadinya trombosis arteri koroner yang berakibat pada iskemi dan infark miokard. Adanya pengendapan *atheroma* didalam dinding arteri yang menyuplai darah dan oksigen di miokardium menyebabkan terbentuknya sumbatan (Sulianti, 2000; Antman EM, Braunwald E, 2008). SKA dibagi menjadi tiga jenis yaitu *Unstable Angina Pectoris* (UAP), *Non ST-Elevation Myocard Infact* (NSTEMI) dan *ST-Elevation Myocard Infact* (STEMI). Pembagian ini didasarkan pada derajat/keparahan dan ukuran infark yang dilihat dari derajat dan lokasi trombosis (Sulianti,2000;

Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskuler FKUI, 2008; Antman EM, Braunwald E, 2008; Myrtha, 2011).

Trombosit memainkan peran penting dalam patofisiologi trombosis setelah pecahnya plak yang terjadi secara spontan pada pasien dengan SKA (Fuster V *et al*, 1990). Di antara beberapa mediator aktivasi trombosit, adenosin difosfat (ADP) memainkan peran penting. ADP mengikat untuk beberapa reseptor pada membran trombosit (Storey RF, Newby LJ, Heptinstall S, 2001).

Untuk mencegah terjadinya sumbatan/trombosis yang berlanjut diatasi dengan pemberian terapi obat antitrombotik. Terapi obat antitrombotik yang umum dipakai dan di rekomendasikan oleh *American Cardiology Congress* (ACC) dan *American Heart Association* (AHA) tahun 2002 untuk pasien SKA dengan UAP dan NSTEMI adalah clopidogrel (sejenis obat terapi antiplatelet/ pengencer darah) (Braunwald E *et al*, 2002).

Clopidogrel merupakan obat *anti-platelet* yang berfungsi menghambat reseptor ADP (adenosin difosfat) P2Y₁₂ pada trombosit. Clopidogrel ini merupakan sebuah *pro-drug* yang harus mengalami proses transformasi biologis terlebih dahulu menjadi metabolit aktif tiol untuk dapat diserap oleh tubuh. Salah satu enzim isomer yang berperan penting dalam metabolisme pembentukan metabolit aktif tiol adalah isoenzim sitokrom P450 (CYP). Salah satu *sub family* CYP450 yang berperan penting dalam metabolisme dan penyerapan clopidogrel dalam tubuh adalah CYP2C19. CYP2C19 mengubah clopidogrel menjadi bentuk metabolit aktif tiol (Trenk D *et al*, 2008).

Terlepas dari luasnya penggunaan clopidogrel, banyak penelitian telah melaporkan variabilitas respon antar-individu dalam penyerapan clopidogrel (Jaremo P *et al*, 2002; Gurbel PA *et al*, 2003; Muller I *et al*, 2003; Mobley JE *et al*, 2004; Angiolillo DJ, 2005; Serebruany VL, 2005; Lepantalo A, 2004). Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat sebagian individu yang walaupun mendapat pengobatan clopidogrel, namun masih tetap mengalami sumbatan.

Fakta tersebut telah membuktikan bahwa beberapa pasien mengalami rendahnya efek anti trombosit yang terinduksi oleh clopidogrel. Pada kenyataannya pasien-pasien ini, walaupun mendapat pengobatan clopidogrel, persisten dengan reaktivitas trombosit yang ditingkatkan. Meskipun mekanisme

yang menyebabkan rendahnya efek clopidogrel tidak sepenuhnya dapat dijelaskan dan didefinisi dengan baik, namun terdapat bukti yang cukup untuk mendukung bahwa persistensi reaktivitas trombosit yang ditingkatkan terlepas dari penggunaan clopidogrel relevan secara klinis.

Banyak penelitian melaporkan terdapat perbedaan respon penyerapan individu terhadap clopidogrel. Variasi reaksi individu terhadap clopidogrel dapat disebabkan oleh perbedaan penyerapan clopidogrel antar individu serta tingkat metabolit aktif (Gurbel *et al*, 2003).

Beberapa studi juga telah menegaskan bahwa beberapa pasien tidak mencapai inhibisi trombosit yang optimal dan menjadi *Non Responder* setelah pemberian terapi clopidogrel standar. Sebuah penelitian kecil di India dengan pasien SKA telah menunjukkan bahwa dari 39 pasien; 2,54% pasien yang ditemukan merupakan kelompok resisten sedangkan 12,7% adalah semi-resisten terhadap clopidogrel (Fuster V *et al*, 1990).

Proses aktivasi CYP2C19 diduga menghasilkan perbedaan respon antar individu dalam penyerapan clopidogrel (Hulot *et al*, 2009; Giusti *et al*, 2010; Smith 2010; A.Tello-Montoliu *et al*, 2012). Secara khusus, pasien yang memiliki atau hilangnya fungsi isoenzim CYP2C19 setidaknya satu varian alel *CYP2C19* (*CYP2C19**2, *3) memiliki gangguan dalam bereaksi terhadap clopidogrel karena penurunan jumlah pembentukan metabolit aktif sehingga terjadi gangguan pada mekanisme penghambatan trombosit (Desta Z *et al*, 2002).

Mekanisme hilangnya fungsi isoenzim CYP2C19 banyak dikaji dalam penelitian farmakogenetik yaitu suatu penelitian dalam bidang keilmuan yang mempelajari efek dari variasi genetik terhadap respon suatu obat. Dari kajian keilmuan tersebut dapat dijelaskan bahwa hilangnya fungsi tersebut disebabkan adanya *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs). SNPs terjadi bila satu jenis nukleotida dalam posisi tertentu tersubstitusi dengan jenis nukleotida lainnya.

Meskipun hanya beberapa studi terkait membahas polimorfisme gen clopidogrel pada populasi Asia, salah satu studi menyebutkan bahwa *CYP2C19* 2 alel merupakan varian yang paling sering di populasi Kaukasia, Afrika-Amerika dan Asia. Namun, frekuensi alel berbeda pada tiap kelompok ras (Desta Z *et al*, 2002; Xie HG *et al*, 2001). Frekuensi *CYP2C19**2 pada populasi Asia ($\pm 30\%$)

secara signifikan lebih tinggi daripada yang terlihat pada populasi Kaukasia ($\pm 13\%$) dan Afrika-Amerika ($\pm 18\%$). Alel *CYP2C19**3 lebih sering terjadi pada populasi Asia ($\pm 10\%$) dibandingkan dengan kelompok-kelompok ras yang lain ($<1\%$) (Giusti B *et al*, 2007; Kim KA *et al*, 2008).

Terdapat sekitar 8 variasi alel *CYP2C19* yaitu *1,*2 sampai dengan *8 dan *17 pada *CYP2C19*. Salah satu polimorfisme pada variasi alel tersebut mengakibatkan pengaruh yang berbeda terhadap sistem metabolisme (Jun-Beom *et al*, 2011; Dong-Jik Shin, 2012).

Fokus pada penelitian ini adalah melihat variasi polimorfisme pada *CYP2C19**2 dan *CYP2C19**3 yang menghambat metabolisme obat. Alel *2 dan *3 merupakan tipe alel yang diduga dominan mempengaruhi tingkat metabolisme clopidogrel dalam tubuh. Polimorfisme pada *CYP2C19**2 terjadi karena adanya perubahan transkrip basa pada posisi 618G→A sementara *CYP2C19**3 disebabkan perubahan transkrip basa pada posisi 636G→A. Polimorfisme pada kedua posisi tersebut menyebabkan penghambatan aktifitas clopidogrel (Hullot *et al*, 2006). Jenis polimorfisme *CYP2C19* *2 dan *3 pada penelitian ini kemudian dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan penghambatan aktivasi yaitu a). *Non Carrier* metabolisme dan b). *Carrier* metabolisme. Rincian polimorfisme serta penggolongannya dibahas pada tinjauan pustaka.

Pada penelitian ini, respon individu terhadap penyerapan dan metabolisme clopidogrel dilihat dari perubahan nilai agregasi trombosit. Banyak alat dan cara untuk menentukan nilai agregasi trombosit. Salah satunya yaitu dengan menggunakan metode *Light Transmission Aggregometry* (LTA) dengan alat *Helena AggGram Analyzer* (Giusti *et al*, 2010). Metode ini menghasilkan nilai agregasi trombosit *Platelet Rich Plasma* (PRP) dengan penambahan konsentrasi *Adenosine Diphosphate* (ADP) sebagai agregator. Konsentrasi ADP yang dipakai pada penelitian ini adalah 5 $\mu\text{mol/L}$ ADP. *Platelet Poor Plasma* (PPP) digunakan hanya sebagai kontrol untuk membuat garis *baseline* (Wiryawan, 2006).

Mekanisme yang menyebabkan variasi respon individu terhadap clopidogrel adalah multifaktor. Melibatkan banyak faktor klinis, selular, dan genetik. Dalam studi ini, kami mencoba untuk menilai mekanisme dari perspektif faktor genetika.

Dengan diketahuinya pengaruh faktor genomik dan karakteristik pola polimorfisme gen CYP2C19 yang berkaitan dengan metabolisme clopidogrel pada pasien dengan SKA pada populasi Indonesia serta untuk menilai korelasi pola polimorfisme dengan agregasi trombosit diharapkan dapat menjadi sebuah masukan terhadap paradigma baru pengobatan individual dengan bertujuan selain peningkatan efikasi obat dan deteksi dini terhadap penyakit yang diakibatkan oleh predisposisi genetik, sehingga pengobatan menjadi tepat guna dan tepat sasaran.

1.2 Rumusan Masalah

Mekanisme yang menyebabkan perbedaan respon clopidogrel adalah multi faktor salah satunya adalah faktor genetik yaitu polimorfisme CYP2C19. Kurangnya penelitian yang menilai korelasi polimorfisme gen utama CYP2C19 diketahuinya pola polimorfisme gen CYP2C19 pada pasien-pasien yang menggunakan clopidogrel dan asosiasinya dengan agregasi trombosit terutama pada populasi Asia dan Indonesia merupakan hal utama yang mendorong kami untuk melakukan penelitian ini.

1.3 Pertanyaan Penelitian

1. Bagaimanakah karakteristik dasar polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 terhadap penurunan inhibisi agregasi trombosit ?
2. Bagaimanakah karakteristik dasar faktor klinis risiko kejadian SKA seperti jenis kelamin dan umur terhadap penurunan inhibisi agregasi trombosit ?
3. Apakah ada hubungan antara penurunan inhibisi agregasi trombosit dengan faktor genetik yaitu polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 setelah dikontrol oleh faktor klinis seperti jenis kelamin dan umur.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah mengetahui hubungan polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 dengan penurunan inhibisi agregasi trombosit pada pasien SKA.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui karakteristik dasar polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 terhadap penurunan inhibisi agregasi trombosit.
2. Mengetahui karakteristik dasar faktor klinis risiko kejadian SKA seperti jenis kelamin dan umur penurunan inhibisi agregasi trombosit.
3. Mengetahui hubungan antara penurunan inhibisi agregasi trombosit dengan faktor genetik yaitu polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 setelah dikontrol oleh faktor klinis seperti jenis kelamin dan umur.

1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Data penelitian ini menggunakan data sekunder yang diambil bulan Maret 2013. Sumber data adalah data penelitian yang dilakukan oleh Divisi Litbang RSJPDHK dengan judul "*Association Between CYP2C19 Polymorphism On Clopidogrel Metabolism And Future Major Cardiovascular Event In Patients With Acute Coronary Syndrome*", dengan peneliti utama dr. Renan Sukmawan, ST, PhD, SpJP periode Maret 2011 sampai dengan Maret 2013.

Pasien yang diikutsertakan pada penelitian tesis ini adalah pasien UAP dan atau NSTEMI yang menerima clopidogrel dan masuk melalui Unit Gawat Darurat (UGD) RSJPDHK Jakarta sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Data yang dilihat adalah hasil pemeriksaan polimorfisme CYP2C19, hasil pemeriksaan agregasi trombosit dan data klinis dari kuesioner yaitu umur dan jenis kelamin.

1.6 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan dan manfaat bagi program kesehatan khususnya bagi akademisi, klinisi, pengambil kebijakan di institusi RSJPDHK serta penelitian lain dalam upaya penanganan dan penanggulangan penyakit jantung dan umumnya untuk ilmu pengetahuan.

1.6.1 Bidang Akademis

Penelitian ini diharapkan dapat memastikan hubungan polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 dengan nilai agregasi trombosit sebagai suatu penilaian respon pasien SKA terhadap clopidogrel sebelum dan 24 jam sesudah pemberian clopidogrel.

1.6.2 Bidang Klinis

Penelitian ini dapat berkontribusi pada tatalaksana penanganan dan terapi klinis pasien SKA yang diberi terapi antiplatelet untuk mengurangi risiko lanjut.

1.6.3 Pengambil Kebijakan Institusi RSJPDHK Jakarta

Penelitian ini akan memberikan acuan kebijakan pengobatan SKA di RSJPDHK Jakarta dari aspek efektifitas dan efisiensi penanganan dan pengobatan dengan antiplatelet khususnya clopidogrel.

1.6.4 Bidang Penelitian

Penelitian ini dapat dijadikan dasar penelitian lanjutan dengan polimorfisme CYP2C19*2, CYP2C19*3 dan alel lain dengan nilai agregasi trombosit yang diamati pada terapi SKA.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sindroma Koroner Akut (SKA)

Sindroma koroner akut merupakan spektrum manifestasi akut dan berat pada kegawatdaruratan koroner akibat ketidakseimbangan antara kebutuhan oksigen miokardium dan aliran darah (Kumar, 2007). Salah satu penggolongan SKA adalah sesuai dengan gambaran spektrum klinis dan evolusi gambaran elektrokardiogram (EKG). Penggolongan ini membagi kategori SKA menjadi 3 kelompok yaitu STEMI (*ST elevation myocardial infarction*), NSTEMI (*non ST elevation myocardial infarction*) dan UAP (*Unstable angina pectoris*). Ketiga jenis spektrum klinis ini mempunyai dasar patofisiologi yang sama, namun mempunyai derajat keparahan berbeda (Antman EM, Braunwald E, 2008).

Penyebab yang sering ditemukan pada kejadian UAP dan NSTEMI adalah trombus intrakoroner. Agregasi trombosit berkontribusi utama terhadap disfungsi mikrosirkulasi pada pasien SKA (Yusuf *et al*, 2001).

2.2 Agregasi Trombosit

Mekanisme terjadinya agregasi trombosit pada pasien SKA, melibatkan sel trombosit. Trombosit adalah pecahan sitoplasma megakariosit di sumsum tulang yang berperan dalam proses hemostasis dan patofisiologi trombosis setelah pecahnya plak yang terjadi secara spontan pada pasien dengan SKA yaitu dengan pembentukan sumbat trombosit. Permukaan trombosit diliputi oleh glikoprotein yang penting untuk reaksi adhesi dan agregasi yang akan membentuk sumbat trombosit pada proses hemostasis. Reseptor glikoprotein ini bereaksi dengan zat agregator, inhibitor dan faktor pembekuan. Adhesi trombosit dengan kolagen difasilitasi oleh glikoprotein Ia (GPIa). Glikoprotein IIb – IIIa juga merupakan reseptor fibrinogen yang sangat penting pada proses agregasi trombosit (Wiryawan R, 2006).

Untuk menghambat aktivitas trombosit dalam proses pembentukan sumbatan atau trombus, pada pasien SKA diberikan obat antitrombolitik. Terapi ini bertujuan dalam upaya mencegah terjadinya trombosis lebih lanjut. Salah satu terapi yang berfungsi untuk mengurangi aktivasi trombosit tersebut adalah clopidogrel.

2.3 Clopidogrel

Clopidogrel adalah obat antiplatelet/pengencer darah dan merupakan prodrug yang mengalami biotransformasi menjadi zat aktif tiol untuk dapat diserap oleh tubuh. Enzim yang berperan penting dalam metabolisme tersebut adalah sitokrom P450 (CYP) (Mega *et al*, 2009).

Setelah diserap oleh tubuh, zat aktif tiol pada clopidogrel bekerja dengan melakukan penghambatan kerja siklooksigenase, sehingga sintesa prostaglandin dan tromboksan A₂ menjadi terhambat. Hambatan terjadi akibat pemakaian clopidogrel bersifat irreversibel karena berlangsung seumur hidup trombosit. Selain itu clopidogrel juga bekerja dengan cara menghambat kerja reseptor trombosit adenosine (Wiryawan R, 2006).

Respon penyerapan setiap individu terhadap clopidogrel bervariasi. Perbedaan penyerapan ini dapat disebabkan oleh banyak faktor. Penilaian mengenai penyerapan clopidogrel dapat dilihat dari pemeriksaan agregasi trombosit (Moblely *et al*, 2004).

2.4 Pemeriksaan Agregasi Trombosit

Pengaruh clopidogrel sebagai antiplatelet dinilai dengan melihat tingkat inhibisi agregasi trombosit. Penilaian ini didefinisikan sebagai penurunan nilai agregasi trombosit sebelum dan sesudah pemberian clopidogrel. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui pasien berespon dan tidak berespon terhadap pemberian clopidogrel (Storey RF, Newby LJ, Heptinstall S, 2001).

Dalam penelitian ini tes yang digunakan untuk mengukur nilai agregasi trombosit adalah dengan menggunakan metode *Light Transmission Aggregometry* (LTA) pada alat *Helena AggGRAM Analyzery* (Storey RF, Newby LJ, Heptinstall S, 2001).

Plasma yang mengandung banyak trombosit (*Platelet Rich Plasma* atau PRP) dibuat dengan proses mensentrifugasi darah vena yang mengandung antikoagulan natrium sitrat pada kecepatan 1250 *rotation per minute* (RPM) selama 10 menit. PRP ditentukan dengan menggunakan transmisi cahaya. Kemudian PRP diberi ADP sebagai agregator pada konsentrasi 1 µmol/L, 5 µmol/L, 10 µmol/L dan 20 µmol/L. Pada penelitian ini konsentrasi agregator ADP yang dipakai adalah yang 5 µmol/L. Plasma yang sedikit mengandung trombosit

(*Platelet Poor Plasma* atau PPP) dibuat dengan mensentrifugasi sisa darah PRP pada kecepatan 3000 RPM selama 10 menit. PPP dipakai hanya sebagai kontrol (Wiryawan, 2006). Cara kerja pemeriksaan agregasi trombosit dalam proposal ini terdapat pada lampiran 1.

Variasi respon pasien SKA terhadap clopidogrel diindikasikan oleh adanya polimorfisme CYP2C19. Polimorfisme ini menyebabkan kegagalan terapi dengan terhambatnya metabolisme dan penyerapan clopidogrel. Hambatan tersebut mengakibatkan variasi pada nilai agregasi trombosit karena penyerapan clopidogrel yang kurang baik (Momary *et al*, 2003).

2.5 Polimorfisme Cytochrome P450 2C19 (CYP2C19)

CYP2C19 merupakan salah satu *sub family* dari *Cytochrome* CYP450, yaitu salah satu gen yang merupakan *iso enzyme* terlibat dalam jalur metabolisme terapi obat. Terdapat sekitar 8 variasi alel CYP2C19 yaitu *1,*2 sampai dengan *8 dan *17. Polimorfisme pada variasi alel tersebut mengakibatkan pengaruh yang berbeda terhadap sistem metabolisme (Jun-Beom *et al*, 2011; Dong-Jik Shin, 2012).

Fokus pada penelitian ini adalah variasi polimorfisme pada CYP2C19*2 dan CYP2C19*3 yang menghambat metabolisme obat. Alel *2 dan *3 merupakan tipe alel yang diduga dominan mempengaruhi tingkat metabolisme clopidogrel dalam tubuh. Polimorfisme pada CYP2C19*2 terjadi karena adanya perubahan transkrip basa pada posisi 618G→A sementara CYP2C19*3 disebabkan perubahan transkrip basa pada posisi 636G→A. Polimorfisme pada kedua posisi tersebut menyebabkan penghambatan aktifitas clopidogrel (Hullot *et al*, 2006).

Polimorfisme CYP2C19*2 dan CYP2C19*3 menghasilkan variasi polimorfisme tipe alel 1/1, 1/2, 1/3, 2/3, 2/2 dan 3/3. Alel 1/1 merupakan *wildtype* yang menyebabkan metabolisme normal dan digolongkan sebagai *non carier* polimorfisme. Alel 1/2, 1/3, 2/3 merupakan alel heterozigot mutan dan alel 2/2 dan 3/3 merupakan alel homozigot mutan, keduanya digolongkan sebagai *carier* polimorfisme (Pena *et al*, 2010; Jun-Beom Lee *et al*, 2011). Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa hilangnya fungsi alel CYP2C19*2 dan CYP2C19*3, baik secara homozigot maupun heterozigot menyebabkan jumlah tiol yang lebih

sedikit. Hal ini mengakibatkan gangguan agregasi trombosit (Smith, 2010; A.Tello-Montoliu *et al*, 2012).

Pemeriksaan genetika CYP2C19 dilakukan dengan beberapa tahap yaitu:

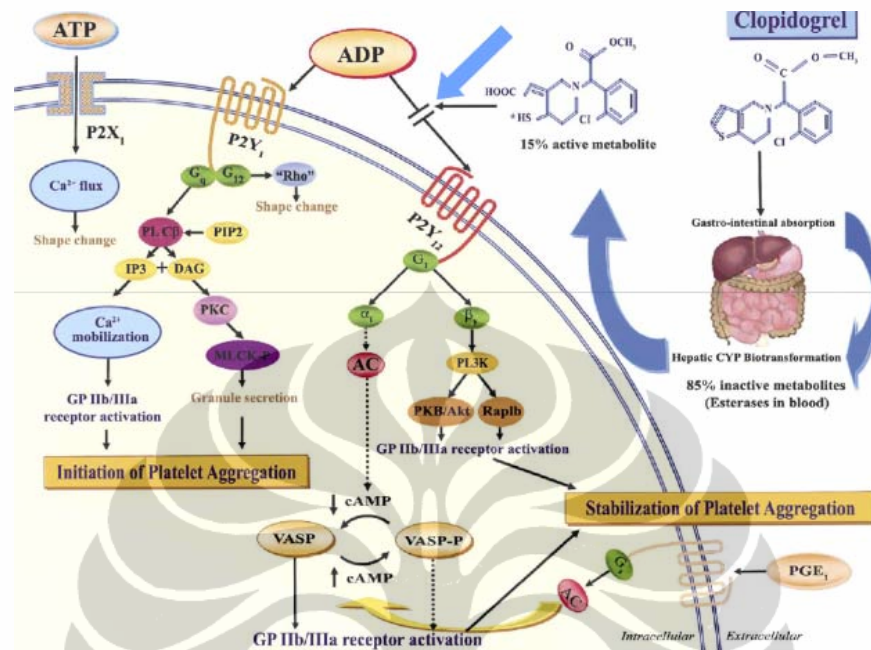
1. Isolasi *Peripheral Blood Mononuclear Cell* (PBMC) dari darah. Tahap ini dilakukan untuk memilih sel yang tepat dalam pengidentifikasian CYP2C19. PBMC dijadikan pilihan karena memiliki inti sel (*nucleus*) yang merupakan tempat *Deoksi Ribonucleat Acid* (DNA). Carakerja isolasi PBMC terdapat pada lampiran 2.
2. Ekstraksi DNA dilakukan untuk memurnikan DNA. Proses mengisolasi DNA ini bertujuan untuk memisahkan genom DNA dari molekul lain di dalam suatu sel. DNA yang dihasilkan harus bebas dari protein, kontaminan dan inhibitor lainnya. Cara kerja ekstraksi DNA terdapat pada lampiran 3.
3. Identifikasi tipe gen CYP2C19*2 dan CYP2C19*3. Pada penelitian ini menggunakan teknik *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) TaqMan SNP *Genotyping Assays* dengan alat dari *applied Biosystems 7500 Fast/7900HT Fast Real Time PCR Systems (in standart or 9600 emulation mode)*. Cara kerja pemeriksaan real time RT-PCR terdapat pada lampiran 4.

Saundberg (2004) melaporkan bahwa faktor genetik mempengaruhi 20-95% variasi respon obat pada individu, sedangkan sisanya dipengaruhi oleh usia, fungsi organ, kesesuaian terapi, interaksi antar obat dan karakteristik penyakit.

Banyak kajian kepustakaan menyatakan bahwa mekanisme ini, berkaitan dengan farmakodinamik maupun farmakogenetik obat. Secara farmakodinamik dijelaskan bahwa terapi ini menghasilkan efek baik yaitu dapat menurunkan agregasi trombosit dengan bekerja menghambat aktivitas reseptor adenosin difosfat (ADP) sehingga tidak terjadi pembekuan darah dan melakukan penghambatan pembentukan thrombus di sirkulasi arteri.

Clopidogrel yang merupakan suatu inhibitor dari agregasi trombosit secara *irreversible*, berperan dalam memodifikasi reseptor trombosit ADP dan menghambat pengikatan ADP dengan reseptor trombositnya. Pada akhirnya akan

mengaktivasi kompleks glikoprotein GP IIb/IIIa, sehingga dengan begitu clopidogrel akan dapat menghambat terjadinya agregasi trombosit.



Gambar 2.1
Mekanisme Farmakodinamik Obat Clopidogrel Terhadap Agregasi Trombosit

Dari uji *in vitro* dijelaskan bahwa pada pemberian clopidogrel 75 mg/hari akan menyebabkan penghambatan agregasi trombosit yang mulai terlihat sejak hari pertama terapi. Namun demikian ternyata efektivitas clopidogrel bervariasi pada beberapa pasien. Variasi daya serap/respon pasien terhadap clopidogrel ini salah satunya ditemukan karena adanya polimorfisme CYP2C19 (Jun-Beom *et al*, 2011; Dong-Jik Shin, 2012).

Kajian mengenai mekanisme polimorfisme banyak dipaparkan dalam teori farmakogenetik obat. Polimorfisme pada variasi alel CYP2C19 tersebut mengakibatkan pengaruh yang berbeda terhadap sistem metabolisme (Hullot *et al*, 2006). Pasien – pasien yang mengalami polimorfisme pada salah satu atau kedua alel merespon clopidogrel dengan lambat, sehingga clopidogrel tidak terserap secara efektif dan hal ini menyebabkan thrombosis pada pasien tidak teratasi.

Beberapa penelitian juga mengkaji hubungan proses metabolisme polimorfisme CYP2C19 dalam tubuh dengan beberapa faktor klinis seperti jenis kelamin, kebiasaan merokok, hipertensi dan lain – lain.

Penelitian yang dilakukan oleh Al-Azzam *et al* (2013) mengenai hubungan jenis kelamin dengan polimorfisme CYP2C19 menyatakan bahwa ada hubungan antara resistensi clopidogrel dengan jenis kelamin, sebagai *outcome* ditemukannya polimorfisme CYP2C19 khususnya pada responden wanita.

Penelitian yang dilakukan oleh Yang YN *et al* (2010) membuktikan hubungan antara polimorfisme CYP2C19*3 dan kebiasaan merokok ($p=0.009$, $OR=7.22$) dan gula darah ($p<0.01$, $OR=2.21$) pada sindroma koroner akut di populasi Uighur, China (Yang YN *et al*, 2010).

Dong Jik Shin (2012) menyatakan bahwa CYP2C19 terekspresi dalam sel otot, endothelial arteri dan sel miosit jantung. CYP2C19 ini penting dalam proses sintesis *epoxyeicosatrienoic acids* (EETs). Dampak metabolisme EETs dalam *vascular* dan garam pada ginjal dan transport air mengindikasikan bahwa CYP2C19 berperan penting dalam regulasi *Blood Pressure* (BP). Pernyataan ini dibuktikan dalam hasil penelitiannya yang menyatakan bahwa terdapat hubungan yang bermakna pada kelompok populasi yang hipertensi dan yang tidak hipertensi dengan CYP2C19*3 ($p=0,016$, $OR=0,691$) (Dong-Jik Shin, 2012).

2.6 Hubungan Faktor Klinis SKA Dengan Agregasi Trombosit

1. Jenis Kelamin

Dalam sebuah studi oleh kurrelmeyer, *et al* (2010) yang melibatkan 400 pria dan wanita melaporkan bahwa trombosit pada perempuan meningkatkan fibrinogen. Dengan peningkatan fibrinogen tersebut mengakibatkan peningkatan pada respon reseptor ADP dan aktivitas agregasi menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas trombosit pada laki-laki. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Tantry *et al* (2012) juga dilaporkan bahwa perempuan memiliki tingkat tromboksan B2 yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan laki-laki. Bukti ini menunjukkan adanya hubungan antara jenis kelamin dan agregasi trombosit.

2. Umur

Giusti, *et al* (2010) menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara usia lanjut dengan tingginya persentase agregasi trombosit pada pasien yang mendapatkan clopidogrel. Salah satu kemungkinan penyebab kejadian ini adalah

karena adanya gangguan pada proses metabolisme pembentukan metabolit aktif tiol terhadap penyerapan obat clopidogrel pada pasien - pasien usia tua.

Dalam sebuah studi prospektif yang dilakukan oleh Gremmel *et al* (2008) melakukan evaluasi terhadap 191 pasien yang menjalani PCI menyatakan bahwa terjadi peningkatan reaktivitas trombosit secara linier. Namun hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilaporkan oleh Price *et al* yang menyatakan bahwa pada pasien dengan usia lebih dari 75 tahun dengan induksi ADP efek terapi clopidogrel tidak ada. Perbedaan ini mungkin dipengaruhi oleh durasi pemakaian clopidogrel.

Umur berhubungan erat dengan penuaan. Penuaan pada manusia dikaitkan dengan kegagalan untuk mempertahankan energi homeostasis dalam menanggapi perubahan faktor fisiologis dan faktor nonfisiologis. Hal ini mengakibatkan penurunan lemak tubuh dan indeks massa tubuh pada orang tua (di atas 60 tahun) (Steen, 1988; Shimokata *et al*, 1989). Hal ini mungkin bisa menjelaskan mekanisme keterkaitan antara umur dengan agregasi trombosit.

3. Index Massa Tubuh (IMT)

Penelitian Nathalie *et al* (2009) yang menunjukkan bahwa *Body Mass Index* (BMI) ada hubungannya dengan peningkatan reaktivitas trombosit. Penderita dengan BMI yang tinggi cenderung mempunyai aktivitas trombosit yang tinggi sehingga meningkatkan agregasi trombosit. Peningkatan aktivitas trombosit ini juga mengakibatkan penurunan aktivitas CYP3A4.

4. Kebiasaan Merokok

Salah satu isoenzim hati yang terlibat dalam metabolisme terapi obat antiplatelet selain CYP2C19 adalah CYP1A2. Suatu penelitian menyatakan bahwa merokok merupakan *inducer* dari CYP1A2 (Zevin S *et al*, 1999). Saraff *et al* (2006) dalam penelitiannya menyatakan bahwa merokok mempunyai manfaat pada kardiovaskular dengan terapi jangka panjang clopidogrel dan aspirin pada PCI. Kajian dari beberapa penelitian menunjukkan hubungan positif antara merokok aktif dengan peningkatan efek antiplatelet clopidogrel yang diberikan kepada pasien menjalani *stent* koroner. Hubungan ini kuat pada pasien yang diterapi dengan clopidogrel jangka panjang dengan dosis 600 mg. Perokok aktif lebih sedikit untuk menjadi resisten terhadap clopidogrel (Bliden *et al*, 2008).

Hochholzer *et al* (2011) dalam penelitiannya menuliskan bahwa merokok aktif diketahui dapat meningkatkan aktivitas CYP1A2 (Tantcheva *et al*, 1999). Isoenzime ini secara signifikan mempengaruhi efektivitas obat antiplatelet seperti clopidogrel. Dua penelitian uji klinis yang besar menunjukkan bahwa clopidogrel mungkin lebih efektif pada perokok aktif (Beger JS *et al*, 2009; Desai *et al*, 2009).

5. Riwayat Diabetes Mellitus

Pada pasien dengan DM terjadi peningkatan reaktivitas trombosit. Hal ini menyebabkan pasien DM mempunyai risiko yang tinggi terhadap terjadinya atherothrombotik sehingga DM juga menjadi salah satu faktor pencetus SKA.

Kenyataan bahwa trombosit pada penderita DM akan lebih sering dirangsang dan kemudian akan diaktivasi lebih cepat sehingga memberikan kontribusi terjadinya sumbatan yang lebih cepat jika dibandingkan aktivitas trombosit pada penderita yang tidak DM. (Angillilo *et al*, 2006; Geisler *et al*, 2007; Guisti *et al*, 2008; Surebrunny *et al*, 2009; Angillilo *et al*, 2009). Pasien diabetes tipe 2 yang menjalani PCI elektif berpeluang empat kali lipat mengalami peningkatan aktivitas trombosit walaupun dalam terapi clopidogrel yang tinggi dan terapi insulin.

Pada keadaan pasien diabetes mellitus, akan terjadi peningkatan gambaran permukaan trombosit dari glycoprotein Ib (GP Ib). Peningkatan GPIb ini akan memediasi pengikatan dengan *factor von Willebrand* dan GP IIb/IIIa. Dengan pengikatan tersebut membuat interaksi trombosit dan fibrin dan mengaktivasi trombosit. Hal ini akan memicu terjadinya agregasi trombosit (Beckman *et al*, 2002)

Penelitian yang meninjau hubungan diabetes mellitus dengan agregasi trombosit yang oleh Angiolillo *et al* (2006) menyatakan bahwa insulin menghambat agregasi trombosit dengan menekan jalur P2Y12. Pada diabetes mellitus tipe 2 yang mengalami hilangnya respon terhadap insulin sehingga meningkatkan reaktivitas trombosit dan mengurangi respon terhadap obat antiplatelet (Angiolillo *et al*, 2006).

6. Riwayat Hipertensi

Pecahnya pembuluh darah, yang biasanya terjadi karena Tekanan Darah Tinggi. Pasien dengan hipertensi akan menyebabkan terjadinya agregasi trombosit

berukuran besar, adhesi dari endotel dan peningkatan risiko-risiko aterogenik. Nitrit Oxide (NO) yang dihasilkan oleh platelet NO synthase mengakibatkan terjadinya sintesis NO dari endotel. Terjadinya sintesis ini akan menghambat agregasi trombosit. Namun demikian peptida vasoaktif pada kondisi pasien yang hipertensi selain mengubah dapat mengubah kontraktilitas vaskuler juga akan memacu aktivitas trombosit (Listiani, 2005).

Pada suatu kondisi tertentu agregasi trombosit akan memproduksi tromboksan (TXA₂) yaitu suatu vasokonstriktor kuat. Dalam keadaan normal kadar prostasiklin lebih banyak dari pada tromboksan. Namun pada keadaan tidak normal, kadar tromboksan lebih banyak dari pada prostasiklin, sehingga menyebabkan peningkatan tekanan darah.

2.7 Hubungan Faktor Lainnya Dengan Agregasi Trombosit

Faktor lain yang berkaitan dengan mekanisme agregasi trombosit antara lain adalah kepatuhan. Kepatuhan responden terhadap terapi clopidogrel ini merupakan hal yang penting dalam pengamatan efek terapi. Penghentian terapi clopidogrel dalam waktu 30 hari pada pasien SKA dilakukan pada sekitar 15%, dan yang menghentikan terapi dalam waktu 30 bulan ada sekitar 18,4% dan lebih dari 38,4% responden menghentikan terapi setelah satu tahun pengobatan. Hal ini meningkatkan terjadinya sumbatan. Namun demikian berkenaan dengan kepatuhan, sangat penting untuk memisahkan antara penderita dengan perawatan serta penderita yang rawat jalan (Hamann *et al*, 2003; Serebruany, 2007; Giusti *et al*, 2010).

Interaksi terapi, seperti terapi *proton pump inhibitor* dengan clopidogrel juga mempengaruhi terhadap aktivitas agregasi trombosit (Cesari *et al*, 2008; Giusti *et al*, 2010). Dalam penelitian OCLA (*Omeprazole Studi Aspirin Clopidogrel*) yang dilakukan pada 140 pasien CAD yang menjalani implantasi *stent* dan diberikan dual terapi antiplatelet menunjukan adanya penurunan efek clopidogrel, sehingga meningkatkan reaktivitas trombosit (Gilard *et al*, 2008).

Peradangan juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas agregasi trombosit. Penelitian terbaru telah mendokumentasikan hubungan antara peningkatan reaktivitas trombosit dengan penanda inflamasi seperti sedimentasi eritrosit dan leukosit (Marcuci R *et al*, 2007; Guisti *et al*, 2010). Pada pasien SKA yang menerima pengobatan antiplatelet ganda, selama

fase akut tingkat sitokin pro-inflamasi tidak cukup dikompensasi sehingga mengakibatkan reaktivitas trombosit meningkat (Gori AM *et al*, 2009).

Peningkatan trombosit dan *reticulated* trombosit juga merupakan faktor yang mempengaruhi peningkatan rata-rata volume dan sejumlah padat butiran trombosit. Hal ini disinyalir meningkatkan proporsi trombosit sehingga peningkatan agregasi (Marccuci R *et al*, 2007).

Faktor yang lain adalah faktor Von Willebrand dan ADAMTS-13. Adhesi dan aktivasi trombosit pada kondisi cedera vascular dimediasi oleh faktor VWF yang disekresi oleh endotel sel sebagai VWF ultra-besar (ULVWF), dengan cepat dibelah melalui intravaskular proteolisis oleh ADAMTS-13. Bentuk ULVWF mampu mengikat glikoprotein 1b-IX kompleks dan agregat trombosit (Arya M *et al*, 2002). Ketika ADAMTS-13 berkurang, ULVWFs menumpuk dan dapat meningkatkan agregasi platelet (Dong JF, 2005). Tingkat reaktivitas trombosit pada penderita dalam terapi clopidogrel berkaitan dengan rendah ADAMTS-13 yang disertai dengan peningkatan kadar VWF tinggi (Marcucci *et al*, 2008). Interaksi ini menyebabkan peningkatan respon terhadap terapi antiplatelet pada pasien dengan ditandai aktivasi endotel.

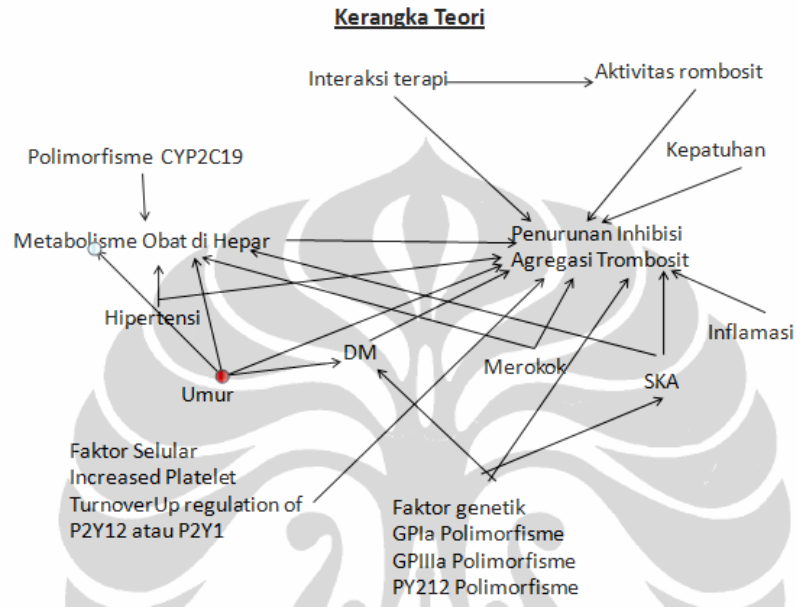
Sel darah merah dan leukosit juga merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas agregasi trombosit. Kedua sel ini secara signifikan terlibat dalam patogenesis trombosis arteri. Interaksi aktivitas trombosit dan leukosit memainkan peran penting dalam kedua adhesi dan aktivasi trombosit kemudian sel darah merah juga terlibat mekanisme trombosit dan dinding pembuluh darah. Pada pasien dengan ACS penghambatan trombosit tidak hanya dipengaruhi oleh trombosit melainkan oleh eritrosit jumlah sel dan mempengaruhi reaktivitas trombosit. Penurunan eritrosit bermakna dikaitkan dengan peningkatan agregasi trombosit.

Dapat kita rangkumkan bahwa aktivitas agregasi trombosit tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu faktor selular, genetik dan klinis. Faktor selular seperti peningkatan *turnover* trombosit, penurunan aktivitas metabolik, *up regulation* P2Y12 atau P2Y1. Faktor genetik diantaranya polimorfisme isoenzim golongan CYP. Faktor klinis antara lain umur, kepatuhan, *under dosing*, penyerapan yang jelek, interaksi obat, penyakit jantung, diabetes dan BMI

BAB III

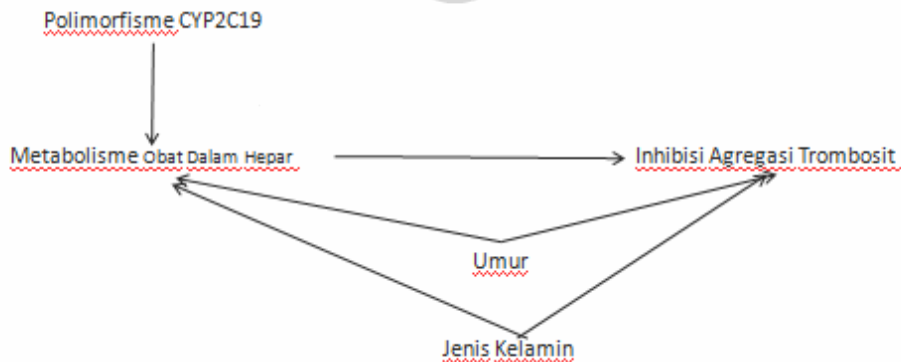
KERANGKA KONSEP, HIPOTESA dan DEFINISI OPERASIONAL

3.1 Kerangka Teori



3.2 Kerangka Konsep

Pada penelitian ini variabel dependen adalah penurunan inhibisi agregasi trombosit sebagai penilaian respon pasien SKA terhadap penyerapan clopidogrel. Variabel independen adalah polimorfisme CYP2C19*2 dan *3. Variabel lain sebagai pengontrol adalah faktor klinis seperti jenis kelamin dan umur.



Gambar 3.2
DAG Hubungan Polimorfisme CYP2C19 Dengan Agregasi Trombosit

3.3 Hipotesa Penelitian

3.2.1 Hipotesa Mayor

Berdasarkan kerangka konsep menunjukan 1). Faktor polimorfisme genetik berhubungan dengan penurunan inhibisi agregasi trombosit dan 2). Faktor klinis berhubungan dengan penurunan inhibisi agregasi trombosit.

3.2.2 Hipotesa Minor

Kelompok *non carier* polimorfisme jauh lebih bermakna daripada kelompok *carier* polimorfisme dalam menurunkan nilai agregasi trombosit.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 3.3
Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Jenis variabel
Penurunan Inhibisi Agregasi Trombosit	Nilai selisih agregasi trombosit sebelum pemberian Clopidogrel (<i>pre-loading</i>) dikurangi agregasi trombosit 24 jam setelah pemberian Clopidogrel (<i>pasca loading</i>) (Lau <i>et al</i> , 2010)	Alat : <i>Helena AggGram Analyzer</i> . Cara: metode <i>Light Transmission Aggregometry (LTA)</i> .	Inhibisi Agregasi Trombosit = (pre – post) agregasi trombosit	Numerik
Polimorfisme CYP2C19	Perubahan pembacaan basa DNA pada alel *2 dan alel*3 berdasarkan pemeriksaan biomolekuler (Adam,Smith, 2010)	Cara :Metode biomolekuler RT PCR. Alat : Applied biosystems 7500 fast/7900HT fast real time PCR systems (in stndar or 600 emulation mode)	1/1 = normal ↓ Non carier 1/2 =heterozigot 1/3 = heterozigot 2/3 = heterozigot 2/2 = homozigot 3/3 = homozigot ↓ Carier	Kategorik (nominal)
Jenis Kelamin	Perbedaan jenis kelamin secara biologis	Cara:Obervasi dan Wawancara Alat: kuesioner	0= Pria 1= Wanita	Kategorik (nominal)
Umur	Umur yang dihitung berdasarkan ulang tahun terakhir pada saat wawancara dilakukan	Cara:Wawancara Alat:kuesioner	Umur dalam tahun	Numerik

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain potong lintang dengan variabel dependen agregasi trombosit dan variabel independen adalah polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 diukur dalam waktu yang bersamaan. Data penelitian ini menggunakan data sekunder yang diambil bulan Maret 2013. Sumber data adalah data penelitian yang dilakukan oleh Divisi Litbang RSJPDHK dengan judul “*Association between CYP2C19 Polymorphism on Clopidogrel Metabolism and Future Major Cardiovascular Event in Patients with Acute Coronary Syndrome*”.

4.2 Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini merupakan sampel penelitian. Teknik pengambilan sampelnya adalah sampel populasi. Sampel adalah pasien yang dirawat dengan dugaan *Unstable Angina Pectoris* (UAP) dan atau *Non ST-Elevation Myocardial Infarct* (NSTEMI) yang masuk ke unit gawat darurat RSJPDHK Jakarta dan menerima clopidogrel setelah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dari penelitian di Divisi Litbang RSJPDHK. Alur skrining pasien untuk penelitian tersebut terdapat pada lampiran 5.

6.2.1 Seleksi Pasien Penelitian

Kriteria inklusi dan eksklusi sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi pada protokol penelitian payung yang dilakukan oleh Divisi Litbang dengan beberapa kriteria tambahan yang disesuaikan dengan kebutuhan penelitian ini. Kriteria inklusi dan eksklusi penelitian payung terlampir.

Kriteria inklusi:

1. Pasien dengan usia 18 tahun atau di atas.
2. Pasien dengan UAP/NSTEMI dengan perubahan segmen ST/T secara spesifik dengan ekokardiografi (EKG) awal atau kenaikan hasil enzim jantung.
3. Pasien yang tidak menerima clopidogrel dalam 14 hari terakhir.

Kriteria eksklusi:

1. Pasien dengan intoleransi obat antagonis *Adenosine Diphosphate* (ADP)
2. Pasien yang menolak menandatangani persetujuan keikutsertaan penelitian
3. Pasien dengan kondisi hamil
4. Pasien berhenti minum obat clopidogrel selama 24 jam *follow up*
5. Pasien tidak terambil darah pengambilan ke-2

6.2.2 Besar Sampel

Penentuan besar sampel diadaptasi dari :

1. Rumus besar sampel untuk uji hipotesa rata – rata dua populasi (one side test)
2. Ketersediaan data dari Divisi Litbang

Menurut rumus besar sampel yang dihitung berdasarkan rumus besar sampel untuk uji hipotesis rata - rata pada dua populasi (*one side test*). Dengan tingkat kepercayaan 95% dan kekuatan uji penelitian 90% dan data pendukung diadaptasi dari hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Kreutz *et al* (2012) dengan judul “*Influence of paraoxonase-I Q192R and cytochrome P450 2C19 polymorphisms on clopidogrel response*” diperoleh data sebagai berikut :

- μ_1 (mean kelompok I) = 37.9
- μ_2 (mean kelompok II) = 29.9
- σ (standard deviasi populasi) = 11.6

Dengan menggunakan rumus, diperoleh jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah sebanyak 52 responden.

$$n = \frac{2\sigma^2(z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Berdasarkan ketersediaan data penelitian payung Divisi Litbang sesuai ruang lingkup periode waktu pengumpulan data penelitian ini yaitu periode Maret 2011 sampai dengan Maret 2013, terdapat sebanyak 114 responden yang mempunyai data pemeriksaan laboratorium polimorfisme dan agregasi trombosit yang lengkap dari rencana pengumpulan besar sampel minimal penelitian Divisi Litbang sebanyak 260. Sehingga peneliti mengambil jumlah 114 responden dipakai sebagai besar sampel penelitian ini. Rincian perhitungan besar sampel terdapat dalam lampiran 6.

4.3 Metode Pengumpulan Data dan Sampel Penelitian

Data mengenai hasil wawancara pasien dan pemeriksaan sampel darah yang berhubungan dengan variabel dependen (penurunan inhibisi agregasi trombosit) dan variabel independen (polimorfisme CYP2C19) pada penelitian ini didapatkan dari Divisi Litbang RSJPDHK Jakarta. Adapun proses pengumpulan datanya adalah sebagai berikut:

4.3.1 Investigasi dan wawancara Oleh Divisi Litbang

Pasien menandatangani lembar persetujuan pasien penelitian (*Informed Consent*). Dokter peneliti memilih pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Setelah pasien dinyatakan memenuhi kriteria dilakukan wawancara sesuai dengan kelengkapan lembar kuesioner dan dilakukan pengambilan dan pengumpulan darah untuk pemeriksaan laboratorium sesuai yang disyaratkan dalam penelitian. Lembar persetujuan pasien penelitian (*Informed Consent*) terdapat pada lampiran 7 dan lembar kuesioner terdapat pada lampiran 8.

4.3.2 Pengumpulan dan Proses Sampel Darah Oleh Divisi Litbang

Sampel darah *Ethylene Diamine Tetra Acetic* (EDTA) dan darah sitrat pasien diambil dua kali yaitu pada awal sebelum pasien diberikan obat clopidogrel dan 24 jam setelah diberikan obat clopidogrel masing – masing sebanyak 3cc dan 10cc oleh petugas laboratorium. Sampel darah sitrat diambil untuk pemeriksaan agregasi trombosit dan sampel darah EDTA untuk proses pembuatan *Peripheral Blood Mononuclear Cell* (PBMC). Kedua pemeriksaan ini dilakukan di laboratorium patologi klinik RSJPDHK Jakarta.

Ekstraksi *Dioksiribo Nucleatic Acids* (DNA) dari PBMC dan amplifikasi DNA untuk identifikasi polimorfisme CYP2C19*2 dan CYP2C19*3 diproses menggunakan metode *real time* RT-PCR di laboratorium biomolekuler Divisi Litbang RSJPDHK Jakarta. Alur pengumpulan sampel penelitian terdapat dalam lampiran 9.

4.4 Pengolahan Data

Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak program STATA versi 11.0.

4.4.1 Proses Pengolahan data

- *Entry data*: Memasukan data dalam program komputer untuk proses analisis data.
- *Cleaning*: Proses membersihkan data dalam upaya validasi kebenaran hasil imputasi dengan data sebenarnya.
- *Editing*: Proses untuk meneliti kelengkapan, kesinambungan dan keseragaman data sehingga validitas terjamin.
- *Coding*: Dilakukan untuk memudahkan dalam pengolahan dan pemberian skor

4.4.2 Analisa Data

4.4.2.1 Analisis Deskriptif

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah nilai inhibisi agregasi trombosit. Nilai inhibisi agregasi trombosit adalah hasil perhitungan:

(Nilai agregasi trombosit sebelum - Nilai agregasi trombosit setelah)

Selisih nilai agregasi trombosit dinyatakan sebagai nilai persentase inhibisi agregasi trombosit (% inhibisi). Variabel dependen disajikan dalam dua bentuk data yaitu bentuk data numerik dan bentuk data kategorik. Bentuk data kategorik adalah pengelompokan penurunan inhibisi agregasi trombosit yang dikategorikan menjadi dua kategori yaitu kategorik respon baik (jika selisih agregasi trombosit $\geq 30\%$) dan kategori respon kurang baik (jika selisih agregasi trombosit $< 30\%$). Pembagian ini diadaptasi dari pembagian yang dilakukan oleh Muller *et al*, 2003; T. Cuesset *et al*, 2005; Lau *et al*, 2010; Gubrel *et al*, 2011 pada penelitiannya.

Sedangkan variabel independen adalah polimorfisme CYP2C19*2 dan *3 berjenis data kategorik dengan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok responden *non carier* dan responden *carier*.

Variabel lainnya adalah umur dan jenis. Variabel klinis lain walaupun secara substansial berpengaruh terhadap nilai inhibisi agregasi trombosit dan digolongkan sebagai variabel *confounding* seperti kebiasaan merokok, riwayat hipertensi dan riwayat DM tidak diikuti sertakan dalam analisis.

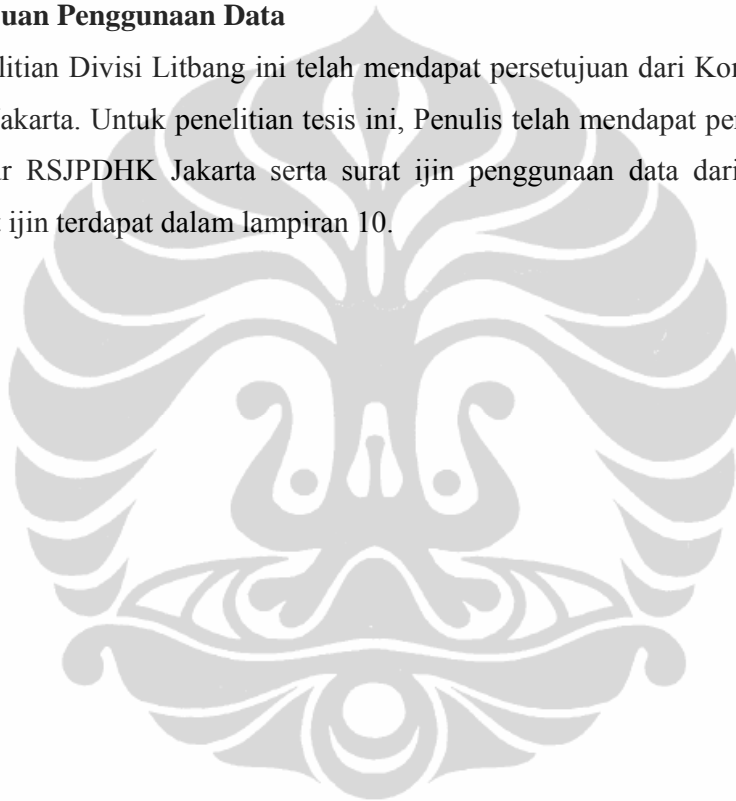
Analisis deskriptif pada semua variabel dilakukan untuk melihat karakteristik dasar variabel nilai inhibisi agregasi trombosit, polimorfisme CYP2C19, umur responden dan jenis kelamin responden. Data numerik disajikan sebagai mean \pm SD atau nilai tengah (min-maks) jika distribusi data tidak simetris.

Sementara untuk data kategorik disajikan dalam ukuran persentase atau proporsi dalam bentuk tabel.

Analisis multivariabel dilakukan dengan aplikasi dua jenis analisis. Analisis pertama adalah uji regresi linier ganda dan uji regresi logistik ganda. Pada kedua pendekatan analisis tersebut juga ditampilkan efek *crude* dan efek *adjusted* antara kategori polimorfisme CYP2C19 terhadap nilai inhibisi agregasi trombosit dengan variabel pengontrol umur dan jenis kelamin.

4.5 Persetujuan Penggunaan Data

Penelitian Divisi Litbang ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik RSJPDHK Jakarta. Untuk penelitian tesis ini, Penulis telah mendapat persetujuan dari Direktur RSJPDHK Jakarta serta surat izin penggunaan data dari peneliti utama. Surat izin terdapat dalam lampiran 10.



BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Deskriptif

5.1.1 Distribusi Nilai Agregasi Trombosit

Terdapat 114 responden yang ikut serta dalam penelitian ini. Nilai agregasi trombosit pada penelitian ini diukur 2 kali yaitu sebelum pemberian clopidogrel dan 24 jam setelah diberikan clopidogrel. Untuk keperluan analisis data, dilakukan perhitungan dalam menentukan nilai selisih kedua pengukuran tersebut (*pre* dan *post*). Perhitungan nilai selisih yang dipakai adalah sebagai berikut ini:

(Pre agregasi trombosit - Post agregasi trombosit)

Keterangan:

- Pre agregasi: hasil pengukuran kadar agregasi trombosit sebelum responden diberi clopidogrel
- Post agregasi: hasil pengukuran kadar agregasi trombosit responden 24 jam setelah diberikan clopidogrel.

Didapatkan selisih dalam bentuk jenis data numerik yang kemudian akan digunakan pada aplikasi uji regresi linier. Nilai selisih ini kemudian dibentuk menjadi jenis data kategorik dengan dua pengelompokan yaitu:

- Jika nilai selisih $\geq 30\%$, kategorik respon baik
- Jika nilai selisih $< 30\%$, kategorik respon kurang baik

Selisih nilai, dalam satuan persentase. Untuk mempermudah interpretasi hasil uji analisis, selisih nilai ini kemudian disebut sebagai “inhibisi agregasi trombosit”

Pembagian tersebut diadopsi dari rujukan beberapa penelitian yang sejalan dengan penelitian ini, yang menilikat variabilitas respon pasien terhadap clopidogrel. Penelitian sebelumnya membagi kategori variasi respon pasien terhadap clopidogrel tersebut kedalam tiga kelompok, dimana dijelaskan pada penelitian tersebut bahwa pengambilan nilai berdasarkan sebaran data secara persentile yang diambil.

Beberapa penelitian sebelumnya yang menjadi rujukan untuk penulis dalam menentukan pengkategorian inhibisi agregasi trombosit adalah sebagai berikut:

Tabel 5.1
Rujukan Pengelompokan Agregasi Trombosit

Pengarang	Judul	Rujukan
Lau <i>et al</i> , 2010	<i>Contribution of hepatic CYP2 3A4 activity to phenomenon of clopidogrel resistensi</i>	Responder: $\geq 30\%$ semi responder: 11 – 29% non responder : $< 10\%$
Cuisset <i>et al</i> , 2006	<i>High post treatment platelet reactivity identified low responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular event after stenting for acute coronary syndrome</i>	Respon clopidogrel = (pre – post) Responder $\geq 30\%$ semi responder 10 – 29% non responder $\leq 10\%$
Muller <i>et al</i> , 2003	<i>Prevalence of clopidogrel non responders among patient with stable angina pectoris scheduled for elective coronary sten placement</i>	Respon clopidogrel = (pre – post) Responder: $\geq 30\%$ Semi responder : 10 – 29% Non responder : $< 10\%$

Gambaran karakteristik nilai agregasi trombosit sebagaimana terlihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 5.2
Distribusi Nilai Agregasi Trombosit Antara Sebelum dan Sesudah Pemberian Clopidogrel

Variabel	N	Min ; Maks	Mean (SD)	CI 95%
Agregasi Trombosit (5 μ mol/L ADP)	114			
Sebelum pemberian clopidogrel		2,2 ; 89,4	33,5 ; (20.6)	29,7 ; 37,3
Setelah pemberian clopidogrel		0,4 ; 60,4	19,9 ; (14.1)	17,3 ; 22,6
Inhibisi Agregasi Trombosit	114	-42.9 ; 88,9	13,5 ; (21,2)	9,6 ; 17,5

Berdasarkan tabel 5.2 diatas dapat diketahui gambaran nilai agregasi trombosit setelah 24 jam pemberian clopidogrel lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai rata – rata agregasi trombosit sebelum pemberian clopidogrel.

Dari tabel 5.2 diatas juga dapat diketahui rata – rata nilai inhibisi agregasi trombosit yang dikumpulkan dari 114 responden pada penelitian ini adalah sebesar 13,5 %. Inhibisi agregasi trombosit terendah -42,9 % dan tertinggi 88,9%.

Sedangkan distribusi nilai inhibisi agregasi trombosit setelah dikelompokkan menjadi dua kategorik adalah sebagai berikut:

Tabel 5.3
Distribusi Inhibisi Agregasi Trombosit

Inhibisi Agregasi Trombosit	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Respon baik	21	18,4
Respon kurang baik	93	81,6

Ada 114 responden yang ikut serta dalam penelitian, lebih banyak responden yang kurang baik merespon obat clopidogrel dengan yaitu sebanyak 93 orang (81,6%). Sedangkan responden yang dapat merespon baik obat clopidogrel hanya ada sebanyak 21 orang (18,4%), lihat tabel 5.3.

5.1.2 Distribusi Polimorfisme CYP2C19

Pemeriksaan laboratorium biomolekuler juga memungkinkan mengidentifikasi polimorfisme CYP2C19 pada alel *2 dan alel *3 berdasarkan jenis *phenotipnya*. Menurut jenis Phenotip, polimorfisme CYP2C19 dibagi kedalam 3 kelompok yaitu *wildtype/normal* (1/1), *phenotip heterozigot* yaitu yang terdapat paling tidak satu jenis Phenotip yang bermutasi (1/2, 1/3 dan 2/3) serta *phenotip homozigot* yaitu terjadi mutasi pada kedua Phenotipnya (2/2, 3/3). Berikut gambaran karakteristik polimorfisme CYP2C19 berdasarkan aktivitas genetik dan jenis *phenotipnya*:

Tabel 5.4
Distribusi Polimorfisme CYP2C19

Polimorfisme CYP2C19 (n= 114)	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Berdasarkan Aktivitas Metabolisme		
<i>Non Carier</i>	63	55,3
<i>Carier</i>	51	44,8
Berdasarkan Jenis <i>Phenotip</i>		
<i>CYP2C19*2</i>		
<i>Wildtype/Normal</i>	69	60,5
<i>Heterozigot</i>	34	29,8
<i>Homozigot</i>	11	9,7
<i>CYP2C19*3</i>		
<i>Wildtype/Normal</i>	106	93,0
<i>Heterozigot</i>	7	7,0
<i>Homozigot</i>	1	0,9

Dari tabel 5.4 diketahui bahwa proporsi responden *non carier* polimorfisme lebih banyak yaitu 63 orang (55,3%) jika dibandingkan dengan proporsi responden yang *carier* polimorfisme yaitu 51 orang (41,1%) dari keseluruhan responden penelitian.

Berdasarkan *phenotip* pada alel *2 dan *3, proporsi responden dengan polimorfisme CYP2C19 pada alel*2 menunjukkan tipe Phenotip *wildtype*/normal lebih banyak dibandingkan dengan Phenotip *heterozigot* dan *homozigot* yaitu sebanyak 69 orang (60,5%), 34 orang (29,8%) dan sebanyak 11 orang (9,7%) dari keseluruhan responden penelitian.

Sedangkan distribusi responden berdasarkan *phenotip* pada polimorfisme CYP2C19*3 menunjukkan proporsi yang sangat jauh berbeda antara ketiga kelompok. Sebagian besar responden yaitu 93,0 % dari keseluruhan responden penelitian adalah responden dengan *wildtype*/normal pada CYP2C19*3.

5.1.3 Distribusi Faktor Klinis Sindroma Koroner Akut

Tabel 5.5
Distribusi Responden Berdasarkan Umur

Variabel	N	Min -Maks	Mean \pm SD	CI 95%
Umur	114	28 - 81	58,1 \pm 9,5	56,3 – 59,8

Dari tabel 5.5 diketahui bahwa rata – rata umur responden pada penelitian ini adalah 58,1 \pm 9,5 tahun dengan estimasi interval 95% diyakini bahwa rata – rata umur responden antara 56,3 – 59,8 tahun. Umur responden terendah 28 tahun dan umur tertinggi 81 tahun.

Tabel 5.6
Distribusi Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

Polimorfisme CYP2C19 (n= 114)	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Berdasarkan Jenis Kelamin		
Pria	90	79,0
Wanita	24	21,0

Dari tabel 5.6 diatas diketahui bahwa lebih banyak responden pria yaitu 79.0% jika dibanding dengan wanita yang hanya 21.0% dari keseluruhan responden penelitian.

5.1.4 Distribusi Nilai Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Polimorfisme CYP2C19

Tabel 5.7
Perbedaan Rata – Rata Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Polimorfisme CYP2C19

Tipe Polimorfisme	N	Mean	CI 95%
Non Carier	63	16,9	12,1 ; 21,6
Carier	51	9,4	2,9 ; 15,0

Berdasarkan tabel 5.7 dibawah dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan rata – rata nilai inhibisi agregasi trombosit antara responden yang *non carier* dan *carier*. Responden *non carier* mempunyai rata – rata inhibisi agregasi trombosit yang lebih tinggi yaitu 16,9 (CI 95% : 12,1 – 21,6%) jika dibandingkan dengan responden yang *carier* yaitu 9,4 (CI 95% : 2,9 – 15,0%).

Tabel 5.8
Distribusi Proporsi Agregasi Trombosit Berdasarkan Polimorfisme CYP2C19

Polimorfisme CYP2C19	N	Inhibisi Agregasi Trombosit (%)	
		Respon baik	Respon kurang baik
<i>Non Carier</i>	63	14 (22,2)	49 (77,8)
<i>Carier</i>	51	7 (13,7)	44 (86,3)

Proporsi responden yang mempunyai inhibisi agregasi trombosit kurang baik (< 30%) sama banyak pada kelompok *non carier* dan *carier*, dengan besar proporsi $\geq 75\%$ dari keseluruhan data. Ada sebanyak 7 orang (13,7%) responden *carier* polimorfisme juga merespon baik obat clopidogrel.

Tabel 5.9
Distribusi Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Jenis Kelamin

Faktor Klinis	N	Inhibisi Agregasi Trombosit (%)	
		Respon baik	Respon kurang baik
Jenis Kelamin			
Pria	90	16 (17,8)	74 (82,2)
Wanita	24	5 (20,8)	19 (79,2)

Responden pria dan wanita mempunyai proporsi yang hampir sama dalam merespon obat clopidogrel secara baik maupun kurang baik pada 114 responden yang terdapat dalam penelitian.

Tabel 5.10
Distribusi Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Umur

Faktor Klinis	N	Inhibisi Agregasi Trombosit (Mean)	
		Respon baik	Respon kurang baik
Umur	114	59,5 (95CI%: 55,6 ; 63,3)	57,8 (55,7 ; 59,8)

Tabel 5.10 menggambarkan bahwa tidak terdapat perbedaan rata – rata umur responden pada kelompok responden yang berespon baik terhadap clopidogrel maupun pada kelompok responden yang kurang baik merespon clopidogrel.

Tabel 5.11
Rata – Rata Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Jenis Kelamin

Faktor Klinis	N	Mean	CI 95%
Jenis Kelamin			
Pria	90	12,0	7,4 – 16,6
Wanita	24	19,4	11,9 – 26,8

Dari tabel 5.11 dapat diketahui bahwa rata – rata inhibisi agregasi trombosit pada wanita lebih tinggi jika dibandingkan dengan responden pria yaitu 19.4 (CI 95%: 11.9 – 26.8) sedangkan responden pria 12.0 (CI 95%: 7.4 – 16.6).

Tabel 5.12
Rata – Rata Inhibisi Agregasi Trombosit Berdasarkan Umur

Faktor Klinis	N	Koefisien	CI 95%
Umur	114	0,1	- 0,3 ; 0,6

5.2 Analisis Multivariabel

Dalam penelitian ini semua variabel independen baik variabel independen utama maupun 2 variabel lain langsung dimasukan kedalam model. Analisis

multivariat dilakukan dengan dua pendekatan uji statistik yaitu dengan regresi linier ganda dan regresi logistik ganda. Pada kedua analisis dilihat inhibisi agregasi trombosit dengan polimorfisme dan efek *adjusted* setelah dikontrol oleh variabel umur dan jenis kelamin. Uji interaksi tidak dilakukan dalam penelitian. Berikut hasil kedua analisis tersebut:

5.2.1 Analisis Regresi Linier

1. Efek *Crude*

Efek *crude* polimorfisme CYP2C19 terhadap nilai inhibisi agregasi trombosit sebagai berikut :

Persamaan hasil uji sebagai berikut :

$$Y (\text{inhibisi agregasi trombosit}) = 16,9 - 7,4 * \text{carier polimorfisme}$$

Interpretasi : Rata – rata inhibisi agregasi trombosit lebih rendah sebesar 7,4 pada responden yang *carier* jika dibandingkan dengan responden *non carier*.

2. Efek *adjusted*

Efek *adjusted* polimorfisme CYP2C19 terhadap inhibisi agregasi trombosit setelah dikontrol variabel umur dan jenis kelamin sebagai berikut :

Persamaan sesuai hasil uji adalah sebagai berikut :

$$Y (\text{inhibisi agregasi trombosit}) = 5,1 - 7,8 * \text{polimorfisme} + 0,2 * \text{umur} + 7,4 * \text{jeniskelamin}$$

Interpretasi : Rata – rata inhibisi agregasi trombosit lebih rendah sebesar 7.8 pada responden yang *carier* jika dibandingkan dengan responden *non carier* setelah dikontrol oleh variabel umur dan jenis kelamin

Tabel 5.13
Perbedaan Koefisien Efek *Crude* dan Efek *Adjusted* Pada Regresi Linier Ganda

	Efek Crude	Efek Adjusted
Koefisien	-7,4	-7,8
CI 95%	-15,3 ; 0,4	-15,7 ; - 0,04

Rentang nilai *Confident Interval* 95% pada *efek crude* lebih lebar dari angka 0 ke -15,3 jika dibandingkan dari angka 0 ke 0,4 sementara pada *efek adjusted* CI 95% menunjukan bahwa lebih lebar antara 0 ke - 15,7 jika dibandingkan dari

angka 0 ke -0,04. Hal ini menunjukkan ada perbedaan rata – rata nilai inhibisi agregasi trombosit pada responden *non carier* dan responden *carier*.

5.2.1 Uji Regresi Logistik Ganda

1. Efek *Crude*

Efek *crude* polimorfisme CYP2C19 terhadap nilai inhibisi agregasi trombosit sebagai berikut :

Didapatkan nilai OR = 1,8 (CI 95%: 0,7 – 4,9)

Interpretasi :

Odds responden *carier* polimorfisme 1,8 kali untuk kurang respon terhadap clopidogrel (inhibisi agregasi trombosit <30,0) jika dibandingkan dengan responden *non carier* polimorfisme.

Rentang nilai *Confident Interval* 95% lebih lebar antara nilai 1 ke 4,9 jika dibandingkan dengan angka 1 ke 0,7, hal ini menunjukkan lebih mengarah pada perbedaan odds ratio antara responden *non carier* dan responden yang *carier* terhadap nilai inhibisi agregasi trombosit.

2. Efek *adjusted*

Efek *adjusted* polimorfisme CYP2C19 terhadap nilai inhibisi agregasi trombosit setelah dikontrol variabel umur dan jenis kelamin sebagai berikut:

Didapatkan nilai OR = 1,9 (CI 95%: 0,7 – 5,2).

Interpretasi :

Odds responden *carier* polimorfisme 1,9 kali untuk kurang respon terhadap clopidogrel (inhibisi agregasi trombosit <30,0) jika dibandingkan dengan responden *non carier* polimorfisme setelah dikontrol oleh variabel umur dan jenis kelamin.

Rentang nilai *Confident Interval* 95% lebih lebar antara nilai 1 ke 5,2 jika dibandingkan dengan angka 1 ke 0,7, hal ini menunjukkan lebih mengarah ada perbedaan odds ratio antara responden *non carier* dan responden yang *carier* terhadap nilai inhibisi agregasi trombosit setelah dikontrol oleh variabel umur dan jenis kelamin.

Baik pada *efek crude* maupun *efek adjusted*, dari nilai CI masing – masing menggambarkan cenderung ada asosiasi.

Tabel 5.12
Perbedaan Odds Efek Crude dan Efek Adjusted Pada Regresi Linier
Ganda

	Efek Crude	Efek Adjusted
Odds	1,8	1,9
CI 95%	0,7 ; 4.9	0,7 ; 5,2



BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan pendekatan studi *cross sectional*. Variabel penelitian, baik variabel dependen maupun variabel independen diamati dan diukur pada setiap individu responden secara bersamaan pada suatu waktu tertentu tanpa memberikan perlakuan kepada responden.

Populasi penelitian adalah seluruh pasien yang masuk ke unit gawat darurat RSJPDHK dengan diagnosis sindroma koroner akut (SKA) yang mendapatkan clopidogrel dan sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang dilakukan oleh penelitian divisi litbang RSJPDHK.

6.1 Nilai Agregasi Trombosit

Dalam penelitian ini nilai inhibisi agregasi trombosit merupakan nilai hasil pengurangan antara pengukuran agregasi trombosit sebelum responden diberikan clopidogrel dengan pengukuran agregasi trombosit 24 jam setelah responden diberikan clopidogrel. Gambaran nilai inhibisi agregasi trombosit disajikan dalam bentuk numerik untuk pendekatan uji regresi linier dan kategorik untuk pendekatan uji regresi logistik.

Berdasarkan tabel 5.2 pada bab hasil dapat diketahui nilai agregasi trombosit setelah 24 jam pemberian clopidogrel lebih rendah jika dibandingkan dengan agregasi trombosit sebelum pemberian clopidogrel. Hasil ini sesuai dengan teori farmakodinamik clopidogrel.

Mekanisme obat clopidogrel adalah sebagai terapi antiplatelet, sehingga dengan pemberian clopidogrel aktivitas trombosit terhambat. Dengan penghambatan aktivitas trombosit diharapkan tidak terjadi pembekuan trombosit atau agregasi trombosit (Mega *et al*, 2010).

Secara farmakodinamik dapat diuraikan bahwa clopidogrel yang merupakan suatu inhibitor dari agregasi trombosit secara *irreversible*, berperan dalam memodifikasi reseptor platelet ADP dan menghambat pengikatan ADP dengan reseptor trombositnya. Pada akhirnya akan mengaktivasi kompleks glikoprotein GP IIb/IIIa, sehingga dengan begitu clopidogrel akan dapat menghambat terjadinya agregasi trombosit (Giusti *et al*, 2010; Mega *et al*, 2010).

Dari uji *in vitro* dijelaskan bahwa pada pemberian clopidogrel 75 mg/hari akan menyebabkan penghambatan agregasi trombosit yang mulai terlihat sejak hari pertama terapi. Hal ini juga mendasari peneliti untuk mengambil data hasil pengukuran agregasi trombosit 24 jam setelah pemberian clopidogrel (T.Cuisset *et al*, 2006; Muller *et al*, 2003).

Mekanisme penghambatan terhadap agregasi trombosit, dilaporkan oleh beberapa penelitian disebabkan oleh kondisi multifaktor, seperti yang telah penulis paparkan dalam tinjauan pustaka. Namun demikian, dalam suatu penelitian yang dilakukan oleh Giusti *et al* (2010), juga dijelaskan terdapat kelompok penderita yang resisten terhadap clopidogrel. Resistensi tersebut salah satunya disinyalir akibat adanya polimorfisme pada isoenzim CYP2C19 yang berperan aktif dalam mekanisme pembentukan clopidogrel menjadi zat aktif tiol.

6.2 Polimorfisme CYP2C19

Penelitian ini, membagi polimorfisme CYP2C19 menjadi dua kelompok yaitu responden yang normal digolongkan sebagai responden yang *non carier* sedangkan responden yang mengalami polimorfisme pada salah satu atau pada kedua alel digolongkan sebagai responden yang *carier*.

Dari tabel 5,4 mengenai hasil penelitian diketahui bahwa proporsi responden tergolong *non carier* polimorfisme lebih banyak yaitu 63 orang (55,3%) jika dibandingkan dengan proporsi responden yang *carier* polimorfisme yaitu 51 orang (41,1%) dari keseluruhan responden penelitian.

Berdasarkan *phenotip* pada alel *2 dan *3, proporsi responden dengan polimorfisme CYP2C19 pada alel*2 menunjukkan tipe *phenotip wildtype*/normal lebih banyak dibandingkan dengan *phenotip heterozigot* dan *homozigot* yaitu sebanyak 69 orang (60,5%), 34 orang (29,8%) dan sebanyak 11 orang (9,7%) dari keseluruhan responden penelitian.

Sedangkan distribusi responden berdasarkan *phenotip* pada polimorfisme CYP2C19*3 menunjukkan proporsi yang sangat jauh berbeda antara ketiga kelompok. Sebagian besar responden yaitu 93,0 % dari keseluruhan responden penelitian adalah responden dengan *wildtype*/normal pada CYP2C19*3.

Gambaran proporsi responden yang *non carier* dan *carier* tersebut sesuai dengan yang pernah dilaporkan oleh Mega *et al* (2009) yang menyatakan bahwa

frekuensi orang *East Asia* yang mempunyai polimorfisme alel*2 ada sebanyak 29% sedang yang mempunyai polimorfisme alel*3 sebanyak 8,9% (A Tello *et al*, Pettersen *et al*).

Distribusi penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Trenk D *et al*, (2008) yang menyatakan bahwa prevalensi polimorfisme gen yang mengkode enzim CYP2C19 pada populasi negara-negara di Asia lebih tinggi dibandingkan gen yang mengkode enzim CYP450 yang lain (Trenk D *et al*, 2008).

Pada Bab 5 mengenai inhibisi agregasi trombosit juga diketahui bahwa terdapat perbedaan rata – rata inhibisi agregasi trombosit antara responden yang *non carier* dan *carier*. Responden *non carier* mempunyai rata – rata inhibisi agregasi trombosit yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan responden yang *carier*. Hal ini menunjukkan bahwa responden yang *non carier* lebih merespon baik clopidogrel sehingga proses aktivasi agregasi trombosit pada kelompok ini bisa dihambat. Penghambatan ini mengakibatkan nilai agregasi trombosit setelah diberikan clopidogrel menjadi turun dibandingkan agregasi trombosit sebelum diberikan clopidogrel.

Mekanisme normal penghambatan aktivitas agregasi trombosit pada kelompok *non carier* ini berbanding terbalik pada kelompok responden yang *carier*. Pada kelompok *carier* agregasi trombosit setelah pemberian clopidogrel cenderung meningkat, hal ini mengakibatkan nilai rata – rata inhibisinya lebih rendah dibandingkan dengan kelompok responden yang *non carier*.

Namun demikian, dilihat dari distribusinya, terdapat pasien yang *non carier* juga berespon kurang baik terhadap clopidogrel. Dari gambaran tersebut dapat kita ketahui bahwa variasi nilai inhibisi agregasi trombosit tersebut tidak hanya disebabkan oleh faktor polimorfisme saja, namun masih banyak faktor – faktor lainnya yang mempengaruhi.

Kondisi ini telah membuktikan bahwa memang benar ada variabilitas respon antar individu terhadap respon clopidogrel yang ditandai dengan peningkatan aktivitas agregasi trombosit.

Beberapa penelitian telah melaporkan variabilitas antar-individu dalam merespons reaksi clopidogrel terhadap aktivitas trombosit (Jaremo P *et al*, 2002;

Gurbel PA *et al*, 2003; Muller I *et al*, 2003; Mobley JE *et al*, 2004; Lepantalo A, 2004; Angiolillo DJ, 2005; Serebruany VL, 2005).

Hasil tersebut diatas sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya yang meneliti agregasi trombosit dengan polimorfisme CYP2C19. Salah satu penelitian yang memperlihatkan adanya perbedaan nilai agregasi trombosit sebelum dan sesudah diberikan terapi antiplatelet adalah penelitian yang dilakukan oleh Tsung *et al* (2009) yang menyatakan bahwa pada kelompok responden yang mengalami polimorfisme genetik mempunyai nilai agregasi trombosit yang lebih besar dibandingkan dengan yang *wildtype*/normal dengan rata – rata nilai agregasi trombosit sebesar 49,8 – 14,5% vs 42,6 – 14,1% dengan tingkat kemaknaan alpha sebesar 0,001, pada penambahan konsentrasi ADP 5 μ mol.

Penelitian Shuldiner *et al* (2009) menyatakan bahwa pada pasien dengan kehilangan fungsi paling tidak satu alel pada iso enzim P450 mengakibatkan perbedaan respon terhadap clopidogrel dengan p value < 0,01.

A.Tello *et al* (2012) menyatakan bahwa golongan responden yang *carier* memperlihatkan nilai agregasi trombosit yang tinggi dibandingkan dengan responden yang *non carier* dengan perbandingan rata – rata $72,3 \pm 11,9$ vs $56,1 \pm 18,8$ dengan p-value= 0,02.

Penelitian yang dilakukan oleh Kreuz *et al* (2012) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna (p = 0,034) rata – rata nilai agregasi trombosit antara kelompok *carier* dan *non carier*.

Beberapa penelitian lainnya memperlihatkan bahwa hilangnya fungsi alel CYP2C19*2 dan CYP2C19*3, baik secara homozigot maupun heterozigot menyebabkan jumlah tiol yang lebih sedikit. Hal ini mengakibatkan gangguan agregasi trombosit (Smith, 2010; A.Tello-Montoliu *et al*, 2012).

Hilangnya fungsi isoenzim cytochrome P450 CYP2C19 *2 dan *3 berhubungan dengan penurunan efektivitas clopidogrel pada responden yang termasuk dalam kelompok dengan aktivitas metabolisme yang jelek (*carier*) menyebabkan metabolit aktif pada clopidogrel tidak terserap sempurna. Secara *ex vivo* menyebabkan peningkatan aktivitas trombosit pada ADP (Gurbel *et al*, 2004).

Penelitian lainnya yang membuktikan adanya hubungan antara polimorfisme CYP2C19 dengan aktivitas agregasi trombosit dapat juga dilihat dari tabel berikut :

Tabel 6.1
Beberapa Penelitian Mengenai Hubungan Polimorfisme Dengan Agregasi Trombosit

Study	No. of subjects	Treatment	Functional evaluation	CYP2C19*2 carriers (%)	Association
Hulot <i>et al.</i> [34]	28 Caucasian males	75mg/day for 7 days	10 μ M ADP-induced PA	28.6	Yes
Fontana <i>et al.</i> [78]	94 Caucasians	300 mg the first day, then 75 mg/day for 7 days	20 μ M ADP induced PA	27.7	Yes
Brandt <i>et al.</i> [35]	74 Caucasians (57 males/ 17 females)	300 mg	20 μ M ADP-induced PA Active metabolite by LC + MS	25.8	Yes
Kim <i>et al.</i> [79]	24 Koreans	300 mg the first day, then 75 mg/day for 7 days	5 μ M ADP-induced PA PCC by LC + MS	66.6 (selected)	Yes
Umemura <i>et al.</i> [80]	47 Japanese	300 mg	20 μ M ADP-induced PA VASPph Active metabolite by LC + MS	61.7	Yes
Mega <i>et al.</i> [39]	162 (130 males/ 32 females)	300 – 600 mg \pm 75 mg/day for 7 days	20 μ M ADP-induced PA Active metabolite by LC + MS	34.0	Yes

LC + MS: Liquid chromatography with tandem mass spectrometry; PA: Platelet aggregation; PCC: Plasma concentrations of clopidogrel; VASPph: Vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation state of whole blood for which we performed a dual colour flow cytometric assay.

Sumber : Giusti *et al* (2010)

Kajian mengenai mekanisme perbedaan penyerapan clopidogrel pada responden yang normal atau *non carier* dengan responden yang *carier* juga telah banyak dipaparkan dalam teori farmakogenetik obat.

Dijelaskan didalamny mengenai peran aktif CYP2C19 pada proses metabolisme clopidogrel bahwa CYP2C19 merupakan salah satu *sub family* dari *Cytochrome* CYP450, yaitu salah satu gen yang merupakan *iso enzyme* terlibat dalam jalur metabolisme terapi obat (Jun-Beom *et al*, 2011; Dong-Jik Shin, 2012). Polimorfisme pada variasi alel tersebut mengakibatkan pengaruh yang berbeda terhadap sistem metabolisme. Polimorfisme pada CYP2C19*2 terjadi karena adanya perubahan transkrip basa pada posisi 618G→A sementara CYP2C19*3 disebabkan perubahan transkrip basa pada posisi 636G→A. Polimorfisme pada

kedua posisi tersebut menyebabkan penghambatan aktifitas clopidogrel (Hullot *et al*, 2006). Enzim CYP2C19 terlibat dalam metabolisme 20% obat.

Adanya polimorfisme tersebut mengakibatkan terhambatnya pembentukan zat aktif tiol yang sangat berperan dalam mekanisme penghambatan atau inhibisi terjadinya agregasi trombosit (pembekuan).

Untuk mengetahui dengan jelas hubungan polimorfisme terhadap inhibisi agregasi trombosit ini kemudian penulis melakukan identifikasi dengan pendekatan dua uji statistik yaitu uji regresi linier ganda dan regresi logistik. Pada penelitian ini penulis hanya memasukan variabel umur dan jenis kelamin sebagai variabel konfounding. Variabel lain seperti kebiasaan merokok, riwayat DM, riwayat hipertensi, IMT dan interaksi obat tidak dimasukan dalam analisa. Hal ini dikarenakan untuk lebih meminimalisir adanya bias pada hasil penelitian.

Analisis regresi linier ganda setelah dikontrol oleh variabel konfounding yaitu umur dan jenis kelamin menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai rata – rata inhibisi agregasi trombosit antara kelompok responden yang *non carier* dan *carier*. Menurut hasil uji regresi linier ganda pada efek *crude* menunjukkan bahwa responden yang *carier* mempunyai efek lebih rendah terhadap inhibisi agregasi trombosit sebesar 7,4% dibandingkan dengan responden yang *non carier*. Efek *adjusted* menyatakan bahwa responden yang *carier* mempunyai inhibisi agregasi trombosit lebih rendah sebesar 7,8% dibandingkan dengan responden yang *non carier* setelah dikontrol oleh variabel umur dan jenis kelamin.

Sementara hasil uji regresi logistik ganda pada efek *crude* dinyatakan bahwa responden yang *carier* polimorfisme mempunyai odds untuk merespon kurang baik terhadap clopidogrel sebesar 1,8 kali jika dibandingkan dengan kelompok responden yang *non carier* polimorfisme. Nilai odds ini berbeda pada efek *adjusted* yang menyatakan bahwa responden carier polimorfisme mempunyai odds untuk merespon kurang baik terhadap clopidogrel sebesar 1,9 kali jika dibandingkan dengan responden yang *non carier* setelah dikontrol oleh variabel umur dan jenis kelamin.

Kedua pendekatan uji statistik diatas membuktikan hasil yang sejalan dengan teori yang telah dipaparkan mengenai hubungan antara polimorfisme

CYP2C19 dengan aktivitas agregasi trombosit yang dinyatakan dalam inhibisi agregasi trombosit.

Baik analisis regresi linier ganda maupun analisis regresi logistik dapat diaplikasikan dalam menjawab tujuan dari penelitian ini. Dimana direkomendasikan bahwa pada tujuan yang ingin mengukur dan menilai peningkatan dan penurunan secara linier dapat dilakukan uji regresi linier ganda, sementara jika tujuan penelitiannya adalah ingin mengetahui seberapa besar perbedaan odds ratio pada kelompok polimorfisme *carier* dan *non carier* untuk berrespon baik atau berrespon kurang baik terhadap clopidogrel dapat dipakai aplikasi analisis regresi logistik ganda.

Namun demikian, kedua uji analisis ini tidak cukup menerangkan variasi nilai inhibisi agregasi trombosit baik dengan pendekatan regresi linier maupun dengan regresi logistik. Hal ini membuktikan pula bahwa variasi respon individu terhadap clopidogrel yang dilihat dari gambaran nilai inhibisi agregasi trombosit disebabkan oleh multifaktor. Tidak hanya faktor polimorfisme CYP2C19 pada alel *2 dan *3, umur dan jenis kelamin saja yang berhubungan.

Seperti faktor genetika yang dalam penelitian ini diwakili dengan ada atau tidak adanya polimorfisme CYP2C19 pada *2 dan *3, secara teoritis dijelaskan dalam tinjauan pustaka bahwa polimorfisme CYP2C19 itu terjadi pada alel *2 s/d *8 dan alel *17. Alel *17 mempunyai mekanisme kerja aktivator metabolisme obat. Selain polimorfisme pada CYP2C19, polimorfisme pada jalur – jalur intrinsik maupun ekstrinsik juga dilaporkan mempengaruhi adanya variasi nilai agregasi trombosit, seperti polimorfisme pada GP IIIa, GP Iia dan polimorfisme pada reseptor ADP yaitu PY2P12. Setiap individu dimungkinkan mengalami polimorfisme yang berbeda dan bersamaan, hal ini semakin memberikan kemungkinan adanya variasi nilai agregasi trombosit.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini meskipun menggunakan *cross sectional*, tidak bisa mengukur pengaruh. Pada kerangka konsep penelitian ini variabel independen (variabel pengaruh) yaitu polimorfisme CYP2C19 dan faktor klinis mendahului variabel dependen (variabel terpengaruh) yaitu inhibisi agregasi trombosit.

Terdapat beberapa keterbatasan pada penelitian ini, antara lain keterbatasan kontrol kualitas data dan pengukuran variabel. Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data sekunder dari penelitian yang dilakukan di Divisi Litbang RSJPDHK. Periode pengumpulan data dari bulan Maret 2011 sampai dengan Maret 2013. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terbatas pada instrumen kuesioner yang dipakai pada penelitian Divisi Litbang tersebut.

Peneliti tidak dapat mengontrol kualitas dan validitas data. Pembentukan kerangka konsep penelitian ini dibuat berdasarkan ketersediaan data dan variabel dalam instrumen penelitian.

Dalam penelitian ini, kelemahan pada desain diatasi dengan upaya pengontrolan variabel pada analisis data. Seperti diungkapkan oleh Kleinbaum (1998) bahwa pada teknis analisis multivariabel telah dilakukan *adjustment*, yaitu pengontrolan terhadap variabel independen lainnya yang ada dalam model. Dengan adanya upaya tersebut diatas maka kelemahan pada penerapan model analisis menggunakan regresi logistik ganda pada penelitian ini diharapkan dapat diminimalisasi dengan asumsi tidak ada bias lain.

Berikut keterbatasan variabel dalam penelitian ini :

1. Keterbatasan Variabel Dependen

- Penentuan kriteria khusus pengelompokan nilai agregasi trombosit untuk keperluan analisis regresi logistik belum terstandarisasi. Namun demikian, untuk mengatasi kelemahan tersebut penulis melakukan tinjauan kepustakaan dan menyesuaikan pengkategorian tersebut sesuai dengan referensi dari penelitian sebelumnya. Pendekatan analisis regresi linier ganda juga dapat dijadikan sebagai solusi untuk menghindari adanya kesalahan dalam pengkategorian nilai inhibisi agregasi trombosit atau pengukuran aktivitas agregasi trombosit ini.
- Pengukuran agregasi trombosit yang dicatat oleh Divisi Litbang diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium patologi klinik yang dikerjakan oleh beberapa orang, sehingga adanya bias pengukuran sangat memungkinkan.
- Pengukuran agregasi trombosit diukur dua kali yaitu sebelum responden diberikan clopidogrel dan 24 jam setelah pemberian clopidogrel. Penulis tidak dapat mengontrol secara pasti apakah memang jarak waktu pemeriksaan agregasi

pertama dan pemeriksaan agregasi trombosit kedua betul – betul dalam waktu yang sama yaitu 24 jam. Hal ini mungkin akan menjadi bias pengukuran.

2. Keterbatasan variabel independen

- Penelitian ini hanya mengukur hubungan polimorfisme CYP2C19 pada alel *2 dan *3, padahal ada beberapa jenis polimorfisme yang juga telah dilaporkan oleh beberapa penelitian sebelumnya tentang keterkaitan polimorfisme lain terhadap aktivitas agregasi trombosit. Seperti contohnya polimorfisme CYP2C19 pada alel *17 yang mempunyai pengaruh berbalik dari polimorfisme CYP2C19*2 dan *3. Polimorfisme pada alel *17 bersifat sebagai aktivator bukan penghambat kerja obat. Setiap individu dimungkinkan mempunyai kondisi polimorfisme tersebut dalam waktu bersamaan. Kedepan akan lebih baik apabila dikontrol juga dengan kemungkinan polimorfisme lainnya.

- Faktor – faktor lain selain polimorfisme yang berhubungan dengan nilai agregasi trombosit juga banyak dilaporkan oleh penelitian sebelumnya. Diantara faktor – faktor tersebut adalah faktor klinis dan faktor selular. Faktor klinis yang terdapat dalam data namun tidak diikutsertakan dalam analisis adalah seperti faktor IMT, kebiasaan merokok, riwayat hipertensi dan riwayat DM. Keputusan ini diambil penulis untuk dapat memberikan hasil yang lebih akurat dengan cara meminimalisasikan bias yang ditimbulkan dari faktor – faktor tersebut.

- Penelitian ini menilai respon pasien terhadap clopidogrel yang dilihat dari gambaran nilai agregasi trombosit saja. Penilaian ini rasanya terlalu naif. Dimana kita ketahui bahwa kondisi selularitas suatu individu itu sangat beragam. Akan lebih baik jika pengajian dan penilaian mengenai efektifitas clopidogrel ini tidak hanya dilakukan pada sebatas laporan laboratorium namun mungkin kedepan bisa diusahakan untuk melakukan follow up terhadap responden tersebut baik dalam jangka 3 bulan, 6 bulan maupun 12 bulan.

- Faktor lainnya yang perlu dipertimbangkan dalam variasi respon individu terhadap clopidogrel adalah ada atau tidak adanya interaksi obat. Pada penelitian ini faktor tersebut tidak diikutsertakan padahal seperti kita ketahui bahwa pasien dengan SKA mendapatkan beragam obat. Kadang kala kita mendapatkan pasien SKA diberikan dual antiplatelet seperti aspirin dan lain – lain. Hal ini tentu sangat mempengaruhi aktivitas dan metabolisme clopidogrel dalam tubuh.

BAB VII

SARAN dan KESIMPULAN

7.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan rata – rata inhibisi agregasi trombosit antara responden yang *non carier* dan *carier*. Dimana responden *non carier* mempunyai rata – rata inhibisi agregasi trombosit lebih tinggi dibanding dengan responden yang *carier* polimorfisme
2. Tidak ada perbedaan rata – rata inhibisi agregasi trombosit menurut umur dan jenis kelamin pada penelitian ini.
3. Polimorfisme CYP2C19 berhubungan dengan nilai inhibisi agregasi trombosit dalam penelitian ini baik dengan pendekatan aplikasi regresi linier maupun regresi logistik.

7.2 Saran

Untuk Pengembangan Penelitian dan Ilmu Pengetahuan:

- Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai farmakogenetik obat, antara lain dengan menilai hubungan polimorfisme alel lain dengan nilai agregasi trombosit yang diamati pada terapi SKA seperti polimorfisme CYP2C19*17, polimorfisme GPIA, P2YR12, GPIIIa.
- Penelitian lanjutan sebagai penilaian respon clopidogrel tersebut dapat dilakukan dengan menelaah kemungkinan adanya kejadian MACE yang diukur dalam suatu kohort kurun waktu tertentu.

DAFTAR PUSTAKA

- A.Tello-Montoliu., E, Jover., J, Rivera., Valdes, M., Angiolillo, DJ., Marin, F.
New Perspectives in Antiplatelet Therapy. Current Medicinal Chemistry
Volume 19 Issue 3 ISSN: 0929-8673
- Angiolillo, DJ., Fernandez-Ortiz, A., Bernardo E., Ramirez, C., Barrera-Ramirez, C., Sabate, M., Jimenez-Quevedo, P., Hernandez, R., Moreno, R., Escaned, J., Alfonso, F., Banuelos, C., Costa, MA., Bass, TA., Pignatti, PF., Macaya, C. (2005). Identification of low responders to a 300-mg clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stenting. *Thromb Res*, 115: 101–8.
- Angiolillo, DJ., Bernardo, E., Ramirez C., et al. (2006). Insulin therapy is associated with platelet dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus on dual oral antiplatelet treatment. *J Am Coll Cardiol*, 48:298–304.
- Antman, EM., Braunwald, E. (2008). *ST-Elevation Myocardial Infarction: Pathology, Pathophysiology, and Clinical Features*. Dalam: Braunwald E. ed. Braunwald's Heart Disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. Pp: 1207-31.
- Al-Azzam., Alzoubi., Khabour., Nusair., Al-Hadidi., Awidi., Saleh, A. (2013). Factors that contribute to clopidogrel resistance in cardiovascular disease patients: environmental and genetic approach. *Nt J Clin Pharmacol Ther*.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. (2008). *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Nasional 2007*. www.litbang.depkes.go.id.
- Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis : Epidemiology, pathophysiology, and managementft. *JAMA* 2002; 287:2570-81.
- Dawber, TR., Kannel, WB and Lyell, L.P. (1963). *An Approach to Longitudinal Studies in a Community: The Framingham Study*, Annals New York of Sciences, 107, pp.539-556.

Braunwald, E., Antman, EM., Beasley, JW., et al. (2002). *ACC/AHA Guideline update for the management of patients with unstable angina and non-STsegment elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina)*.<http://www.acc.org/clinical/guidelines/unstable/unstable.pdf>.

Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:913–58.

Departemen Kardiologi dan Kedokteran Vaskular FKUI. (2008). *Pedoman Praktis Tatalaksana Sindroma Koroner Akut*. Jakarta: FKUI. <http://www.kardiologi-ui.com/newsread.php?id=354>

Dharma, Surya. (2010). *Jakarta Acute Coronary Syndrome Registry*. Papers presented at the meeting of ASMIHA Jakarta

Dong-Jik Shin., Jisun Kwon., Ah-Ram Park., Yousun Bae., Eun-Soon Shin., Sungha Park and Yangsoo Jang. (2012). Association of CYP2C19*2 and *3 Genetic Variants with Essential Hypertension in Koreans. *Yonsei Med J*, 53(61):1113-1119.

Fuster V, Stein B, Ambrose JA, et al. Atherosclerotic plaque rupture and thrombosis. Evolving concepts. *Circulation* 1990;82 Suppl 3:II47–59

Giusti, B., Gori, AM., Marcucci, R., et al. (2007). Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism, but not CYP3A4 IVS10 + 12G/A and P2Y12 T744C polymorphisms, is associated with response variability to dual antiplatelet treatment in high-risk vascular patients. *Pharmacogenet Genomics*, 17:1057–64.

Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003; 107: 2908–13

Hulot, J Sabastian., Bura, Alessabdra., Villard, Eric., Azizi, Michael., Remonez, Veronique., Goyenvall, Catherine., Aiach, Martine., Lechat, Philippe and Gusem, Pascale. (1 October 2006). Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphisme is a major determinat of Clopidogrelresponiveness ih healthy subject. *Blood*, Volume 108, number 7.

Hochholzer et al. (2011). Impact of smoking on antiplatelet effect of clopidogrel and prasugrel after loading dose and on maintenance therapy. *American Heart Journal*, Vol. 162, Issue 3, Pages 518-526.

Indonesia Coronary Heart Disease: Life Expectancy

<http://www.worldlifeexpectancy.com/indonesia-coronary-heart-disease>

Jun-Beom Lee., Kyung-A Lee and Kyung-Yul Lee. (2011). Cytochrome P450 2C19 polymorphism is associated with reduced clopidogrelresponse in cerebrovascular disease. *Yonsei Med J*, 52(5):734-738.

Jaremo P, Lindahl TL, Fransson SG, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med* 2002; 252: 233–8.

Kim KA, Park PW, Hong SJ, Park JY. The effect of *CYP2C19* polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel: a possible mechanism for clopidogrel resistance. *Clin Pharmacol Ther* 2008;84:236–42.

Kleinbaum DG, Klein M. (2010). Logistic Regression A Self Learning Text Third Edition. Springer New York Dordrecht Heidelberg London

- Kreutz, RP., Nystrom, P., Kreutz, Y., Miao, J., Desta, Z., Breall, JA., Li L., Chiang, C., Kovacs, R., Flockhart, DA., Jin, Y. (2012). Influence of paraoxonase-1 Q192R and cytochrome P450 2C19 polymorphisms on clopidogrel response. *Clin Pharmacol Ther.*
- Lau WC, Waskell LA, Watkins PB, Neer CJ, Horowitz K, Hopp AS, Tait AR, Carville GM, Guyer KE, Bates ER. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug-drug interaction. *Circulation.* 2003;107:32–37.
- Lepantalo A, Virtanen KS, Heikkila J, Wartiovaara U, Lassila R. Limited early antiplatelet effect of 300 mg clopidogrel in patients with aspirin therapy undergoing percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J* 2004; 25: 476–83.
- Lisyani BS. Tes agregasi trombosit untuk pemantauan terapi anti trombosit. Dalam : Purwanto AP, Vincencia L, Megawati T. Kumpulan naskah simposium penyakit jantung koroner. Semarang : CV Agung ; 2005,p 23 – 34
- Marzuki Suryaatmadja, Prof.(2009). *Faktor – faktor risiko penyakit jantung dan pembuluh darah.* <http://www.abclab.co.id/?cat=19&paged=4>
- Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003; 89: 783–7.
- Mobley JE, Bresee SJ, Wortham DC, Craft RM, Snider CC, Carroll RC. Frequency of nonresponse antiplatelet activity of clopidogrel during pretreatment for cardiac catheterization. *Am J Cardiol* 2004; 93: 456–8.
- Momary, M Kathryn., Dorsch., P, Michael., Bates., Eric, R. (2003). *Genetic Causes Of Clopidogrel Nonresponsiveness: Which Ones Really Count?*.

- Myrtha, Risalina. (2012). *Patofisiologi Sindroma Koroner Akut*. CDK-192_vol39_no4_th2012 ok.indd 261.
- Notoatmojo, S. (2002). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi Revisi Cetakan Kedua. Jakarta: Rineka Cipta.
- Pettersen et al. (2011). The influence of CYP 2C19*2 polymorphism on platelet function testing during single antiplatelet treatment with clopidogrel. *Thrombosis Journal*, 9:4
- Smith,Adam. (2010). *CYP2C19 polymorphism and clopidogrel: Testing, testing, *1 *2 *3 Pharmacogenet Genomics*, 20:463-465
- Storey, RF., Newby, LJ., Heptinstall, S. (2001). Effects of P2Y (1) and P2Y (12) receptor antagonists on platelet aggregation induced by different agonists in human whole blood. *Platelets*, 12:443–7.
- Sulianti, Adi K Aman. (2000). *Platelet aggregation in acute coronary syndrome*. Departemen of Clinical Pathology, North Sumatera Medical College/ Adam Malik Hospital.
- Trenk, D., Hochholzer, W., Fromm, MF., et al. (2008). Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol* 51:1925–34.
- Wiryawan, Riadi. (2006). *Uji ketelitian dan nilai rujukan agonist ADP pada orang Indonesia dewasa di Jakarta menggunakan agregometer chrono-log model 490*. Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas IndonesiaJakarta.

Xie HG, Kim RB, Wood AJ, Stein CM. Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:815–50.

Yang, YN., Wang, XL., Ma, YT., Xie, X., Fu, ZY., et al. (2010). Association of Interaction between Smoking and CYP2C19*3 polymorfism with Coronary Artery Disesaes In Uighur Population. *Clin Appl Thromb Hemost*.

