

**KADAR KATALASE PLASMA BERKORELASI NEGATIF  
DENGAN DERAJAT KEPARAHAN VITILIGO**



**DR. DR. AAGP. WIRAGUNA, SPKK(K), FINSDV, FAADV**

## ABSTRACT

### NEGATIVE CORRELATION BETWEEN PLASMA CATALASE LEVEL AND VITILIGO SEVERITY

Vitiligo is common skin disorders manifesting as depigmentation macule. Newer theory suggest an involvement of oxidative stress in the pathogenesis of vitiligo. Oxidative stress has been suggested to be the initial pathogenic event in melanocyte death, exhibited by an overaccumulation of  $H_2O_2$ . Catalase plays an important role in conversion of  $H_2O_2$  into water and oxygen. Vitiligo severity is measured by vitiligo area and severity index (VASI), a relatively subjective tool. The aim of this study is to know the correlation between plasma catalase levels with VASI score in vitiligo patients.

This study is an analytic observational cross-sectional study. The number of vitiligo subject that qualify inclusion and exclusion criteria were 32 people, while non vitiligo subjects were 20 people. Blood sample taken from the vitiligo and non vitiligo subject to know the level of plasma catalase, while examination of vitiligo severity was done on vitiligo subject only.

This study suggest that there were significant difference between catalase level average between vitiligo and non vitiligo subject with  $p$  value  $<0,001$ . There were significant difference of catalase levels average between mild-moderate severity group and moderate-severe severity group with  $p$  value  $<0,05$ . This study also shows that there is a negative correlation between the plasma catalase level and vitiligo severity ( $r=-0,868$ ,  $p<0,001$ ).

**Keywords:** vitiligo, VASI, catalase

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Munculnya bercak berwarna putih pada kulit seseorang sering menimbulkan gangguan baik fisik maupun psikis. Salah satu bercak putih pada kulit adalah vitiligo, yang sampai saat ini belum diketahui penyebabnya sehingga pengobatannya pun sering tidak memberikan respon yang sesuai dengan yang diharapkan.

Vitiligo merupakan kelainan depigmentasi kulit yang sering dijumpai (Felsten dkk, 2011). Kelainan ini ditandai oleh kehilangan melanosit epidermal secara progresif yang menyebabkan timbulnya bercak berwarna putih. (Birleadkk., 2012). Vitiligo ditemukan pada 0,1-2,9% populasi penduduk dunia, tersering pada usia 10-40 tahun, dengan dominasi pada perempuan. Di Amerika, sekitar 2 juta orang menderita vitiligo. Di Eropa, sekitar 0,5% populasi menderita vitiligo. Di India, angkanya mencapai 4%. Prevalensi vitiligo di China sekitar 0,19%. Sebagian besar kasus terjadi sporadik, sekitar 10-38% penderita memiliki riwayat keluarga dan pola pewarisannya konsisten dengan *trait* poligenik (Schallreuter dan Salem, 2010).

Vitiligo secara klinis diklasifikasikan menjadi vitiligo lokalisata, generalisata, dan universalis. Vitiligo lokalisata dibagi lagi menjadi vitiligo fokal (satu makula atau lebih dengan distribusi sederhana), unilateral (satu makula atau lebih di salah satu bagian tubuh, dengan distribusi dermatomal disertai ciri khasterhentinya pertumbuhan lesi secara mendadak di garis tengah tubuh), mukosal (keterlibatan

membran mukosa). Vitiligo generalisata, terbagi menjadi vulgaris (bercak putih tersebar atau berdistribusi acak), akrofasialis (bercak putih atau *patches* terlokalisir atau terbatas pada ekstremitas bagian akral dan wajah), *mixed* atau campuran (bentuk vulgaris dan akrofasialis). Vitiligo universalis (lesi sangat luas atau hampir di seluruh permukaan kulit). Perubahan warna kulit pertama kali dijumpai di daerah terbuka, seperti di wajah atau punggung tangan.

Vitiligo juga banyak dijumpai di bagian yang sering terkena gesekan, seperti: punggung tangan, kaki, siku, lutut, tumit. Pada kasus tertentu, warna rambut di kulit kepala, alis mata atau janggut memudar menjadi agak putih atau keabu-abuan; warna retina dapat berubah atau hilang. Vitiligo juga dapat mengenai bagian tubuh dengan penonjolan tulang dan terpajan sinar matahari, misalnya: di atas jari, di sekitar mata-mulut-hidung, tulang kering dan pergelangan tangan. Lokasi yang lebih jarang adalah sekitar alat kelamin, puting susu, bibir dan gusi (Sehgal dan Salim, 2007)

Hingga saat ini penyebab vitiligo masih belum dapat dipahami sepenuhnya. Walaupun patogenesis vitiligo adalah multifaktorial, namun telah diidentifikasi tiga hipotesis yang berkontribusi sebagai etiologi vitiligo. Ketiga hipotesis tersebut adalah hipotesis genetika, autoimun dan biokimia. Dalam satu dekade terakhir telah banyak dilakukan penelitian untuk membuktikan hipotesis biokimia, khususnya peranan stres oksidatif pada vitiligo.

Dalam rangka perlindungan terhadap serangan radikal bebas, tubuh manusia memiliki suatu sistem antioksidan yang terorganisir, baik antioksidan enzimatik

maupun antioksidan non-enzimatik, yang bekerja secara sinergis. Antioksidan melindungi sel tubuh dari kerusakan oksidatif dan dapat mencegah meningkatnya produk-produk oksidatif. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yaitu pada saat produksi *Reactive Oxygen Species*(ROS) melebihi kapasitas antioksidan, berpotensi menimbulkan kerusakan yang disebut dengan stres oksidatif (Winarsi, 2007; Bickers dan Athar, 2006).

Sistem pertahanan antioksidan yang menurun menyebabkan kerentanan melanosit terhadap efek sitotoksik yang ditimbulkan oleh sistem imun maupun ROS (Birlea, 2012). Secara tidak langsung salah satu akibat stres oksidatif adalah kematian melanosit yang menyebabkan munculnya lesi vitiligo, dan salah satu biomarker dari stres oksidatif pada vitiligo adalah penurunan kadar antioksidan enzimatis katalase (Casp, 2003).

Peranan stres oksidatif dalam patogenesis vitiligo memfokuskan pada penemuan defek beberapa enzim utama jalur biosintesis melanin. Pertama-tama pada pasien vitiligo terjadi peningkatan sistesis dan *recycling* 6R-L-erythro-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin (6BH<sub>4</sub>). Akumulasi pterin yang teroksidasi ini (6-dan 7-biopterin) akan menyebabkan fluoresensi dari kulit vitiligo di bawah lampu UV, yang merupakan diagnosis definitif pada vitiligo. Pada pasien vitiligo ditemukan aktivitas level 4 $\alpha$ -OH-tetrahydrobiopterin dehydratase (DH) yang rendah yang terlibat pada jalur penggunaan kembali 6BH<sub>4</sub>. Penurunan aktivitas DH menyebabkan peningkatan bentuk 7-isomer 6BH<sub>4</sub> (7BH<sub>4</sub>), yang merupakan kompetitor 6BH<sub>4</sub>. Peningkatan 7BH<sub>4</sub> akan mempengaruhi aktivitas. *phenylalanine hydroxylase* (PAH). Aktivitas PAH

cenderung mengalami penurunan pada pasien vitiligo, yang menyebabkan peningkatan kadar *L-phenylalanine* epidermal. Semua peristiwa biokemikal abnormal pada epidermis pasien vitiligo akan menyebabkan peningkatan kadar hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ).

Konsentrasi  $H_2O_2$  yang tinggi dapat menonaktifkan fungsi katalase (suatu enzim yang secara normal berperan dalam pemecahan  $H_2O_2$  dan radikal oksigen bebas lainnya). Pada epidermis pasien vitiligo, dilaporkan adanya kadar aktivitas katalase yang rendah, tapi penyebabnya belum diketahui dengan pasti, karena defek ini bisa disebabkan baik oleh peningkatan  $H_2O_2$  pada jalur  $6BH_4$  maupun oleh penyebab terpisah dari enzim katalase. Pada terapi menggunakan pseudokatalase, suatu katalase sintetik yang mengandung *bis manganese III-EDTA-(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>*, terbukti meningkatkan repigmentasi pasien vitiligo, sejalan dengan optimalisasi aktivitas enzim DH hingga tercapai kadar  $7BH_4$  normal (Schallreuter dkk., 2001).

Pada jalur sintesis melanin selanjutnya,  $H_2O_2$  terakumulasi terutama pada proses metabolisme *dihydroxyindole* (5,6-DHI) menjadi *5,6 indolequinone*. Akumulasi yang berlebihan tersebut akan menonaktifkan enzim katalase, sehingga tidak terjadi polimerisasi dari *quinone* reaktif ini, yang selanjutnya akan menghambat pembentukan eumelanin (pigmen coklat/hitam) (Denat dkk., 2014).

Skor *Vitiligo Area Severity Index* (VASI) merupakan metode terstandarisasi dan sensitif untuk mengukur keparahan vitiligo mencakup derajat dan persentase dari depigmentasi dan repigmentasi. Skor VASI yang disertai penggunaan lampu Wood dan *rule of nine* merupakan metode yang paling baik untuk menilai lesi pigmentasi

dan mengukur luas serta derajat vitiligo, baik secara klinis maupun dalam penelitian dan uji klinis (Alghamdi dkk., 2012). Pada setiap bagian tubuh, skor VASI ditentukan dengan menjumlahkan area vitiligo dalam *hand units* dan derajat depigmentasi dalam setiap *hand unit* yang diperiksa dengan skor minimal 0 sampai dengan skor maksimal 100 (Hamzavi dkk., 2004; Kawakami dan Hashimoto, 2011).

Laddha dkk. (2013) menyatakan berdasarkan hasil penelitiannya bahwa kulit merupakan organ yang terus menerus terpapar ROS baik endogen maupun eksogen. Terdapat bukti penelitian lain yang mendasari teori stres oksidatif ini dengan didapatkannya perubahan kadar protein teroksidasi plasma atau kadar katalase serum pada pasien vitiligo dibandingkan dengan pasien bukan vitiligo (Deo dkk., 2013).

Bukti lain menyatakan bahwa terdapat keterkaitan yang erat antara stres oksidatif dengan komponen imunologi yang ditemukan pada vitiligo sehubungan dengan terjadinya perubahan keseimbangan reaksi *reduction-oxidation (redox)*. Selain memiliki efek toksik langsung pada melanosit, ROS juga menginduksi reaksi autoimun melawan melanosit. Keadaan ini terjadi secara spesifik pada fase awal aktivasi sel T dan antioksidan berperan untuk menurunkan proliferasi sel T, ekspresi IL-2R dan produksi IL-2 (Gianfaldoni dkk., 2014). Level ROS (khususnya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) yang tinggi juga menyebabkan perubahan aktivitas tirosinase sebagai enzim yang diekspresikan oleh melanosit dan mengkatalisis sintesis melanin (Westerhof dan d'Ischia, 2007).

Zhang dkk. (2014) menyatakan bahwa pada akhirnya ROS secara fungsional mempengaruhi melanosit dan keratinosit. Melanogenesis diregulasi oleh berbagai

proses kimiawi komponen seluler pada dermis. Secara khusus, keratinosit dan melanosit membentuk suatu unit fungsional dalam pengaturan pigmentasi kulit. Pada vitiligo, terjadi kerusakan sel keratinosit yang menyebabkan hilangnya penyangga fungsional trofik, serta kematian sel melanosit. Dugaan bahwa modulasi aktivitas keratinosit memiliki peran penting terhadap kematian melanosit dibuktikan dengan ditemukannya tempat dimulainya kematian melanosit pada kulit sekitar lesi, yang dikenal sebagai *critical zone*. Studi pada populasi Italia, membuktikan kejadian stres oksidatif pada kulit sekitar lesi (Becatti dkk., 2010).

Stres oksidatif yang berkelanjutan diduga berhubungan dengan progresivitas vitiligo. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka disusunlah permasalahan sebagai berikut :

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah terdapat perbedaan rerata kadar katalase plasma antara subyek dengan vitiligo dan bukan vitiligo?
2. Apakah terdapat perbedaan rerata kadar katalase plasma pada masing-masing derajat keparahan vitiligo?
3. Apakah terdapat korelasi negatif antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan pada subyek dengan vitiligo?



### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan umum**

Mengetahui adanya korelasi negatif antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan pada subyek dengan vitiligo.

#### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Mengetahui adanya perbedaan rerata kadar katalase plasma pada subyek dengan vitiligo dan bukan vitiligo
2. Mengetahui adanya perbedaan rerata kadar katalase plasma pada masing-masing derajat keparahan vitiligo
3. Mengetahui adanya korelasi negatif antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan pada subyek dengan vitiligo.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat teoritis**

Memberi sumbangan ilmu pengetahuan bahwa terdapat korelasi negatif antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan pada penderita vitiligo.

#### **1.4.2 Manfaat praktis**

Sebagai salah satu bahan pertimbangan dalam pemberian terapi pseudokatalase pada penderita vitiligo.

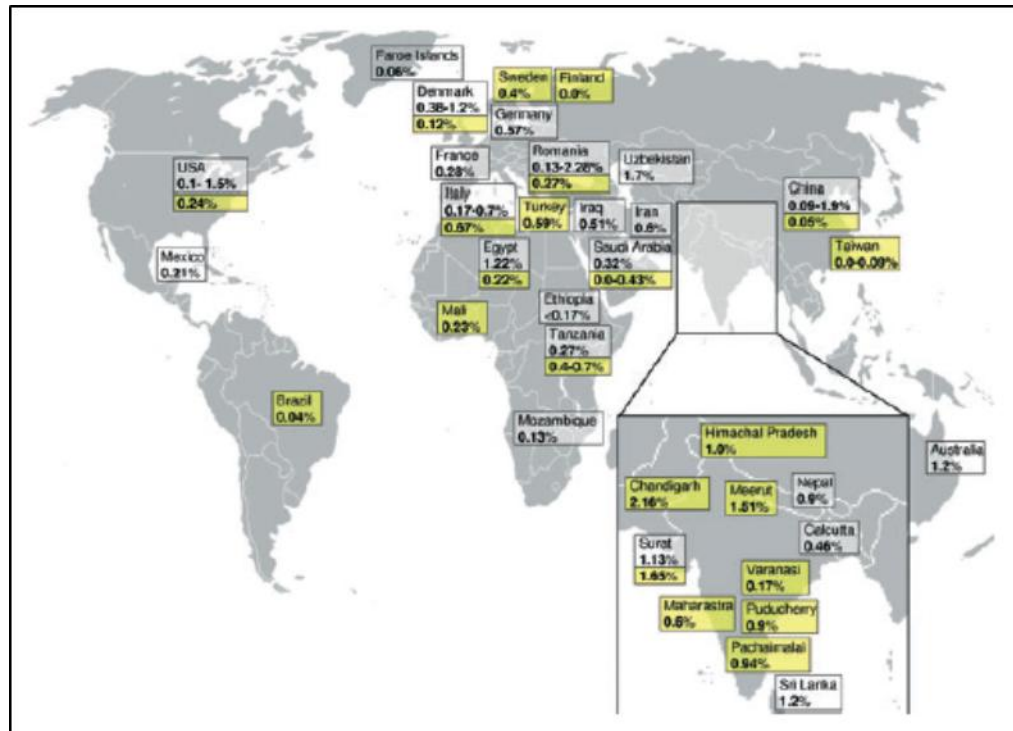
## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA**

## 2.1 Vitiligo

Vitiligo merupakan kelainan pigmentasi yang sering dijumpai dan ditandai oleh makula depigmentasi berbatas tegas yang dapat terjadi pada setiap area tubuh. Kelainan ini juga dapat mengenai area rambut dan mukosa seperti bibir dan genitalia (Gawkrodger dkk., 2010). Vitiligo biasanya terjadi setelah lahir dan dikatakan sekitar 50 % onset vitiligo muncul sebelum usia 20 tahun dan 25% pada usia kurang dari 14 tahun (Kakourau, 2009). Vitiligo dapat menyerang semua ras. Vitiligo memiliki sejarah yang panjang, pertama kali dideskripsikan sekitar 3000 tahun yang lalu dan telah tercatat pada kitab Hindu dan catatan kuno bangsa Egypt (Mahmoud dkk., 2008).

Angka insiden vitiligo berkisar antara 0,1-2% pada populasi dunia. Prevalensi dilaporkan mencapai 4% pada populasi Asia selatan, Meksiko dan Amerika (Parsad dkk., 2003). Tidak ada perbedaan rasio jenis kelamin, namun pada beberapa studi dilaporkan dominasi penderita wanita, dikarenakan penderita wanita lebih banyak mencari pengobatan khususnya untuk alasan kosmetik (Halder dan Taliaferro, 2008). Kruger dan Schallreuter (2012) melaporkan suatu hasil meta-analisis dari 50 penelitian di berbagai belahan dunia yang mendapatkan prevalensi vitiligo berkisar antara 0,06% hingga 8%, dengan prevalensi pada anak-anak dan dewasa muda mencapai 2,16%. Distribusi prevalensi tersebut disajikan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1  
Prevalensi Vitiligo di Dunia. Kotak Putih: Populasi General; Kotak Kuning:  
Populasi Anak dan Dewasa Muda (Kruger dkk., 2012)

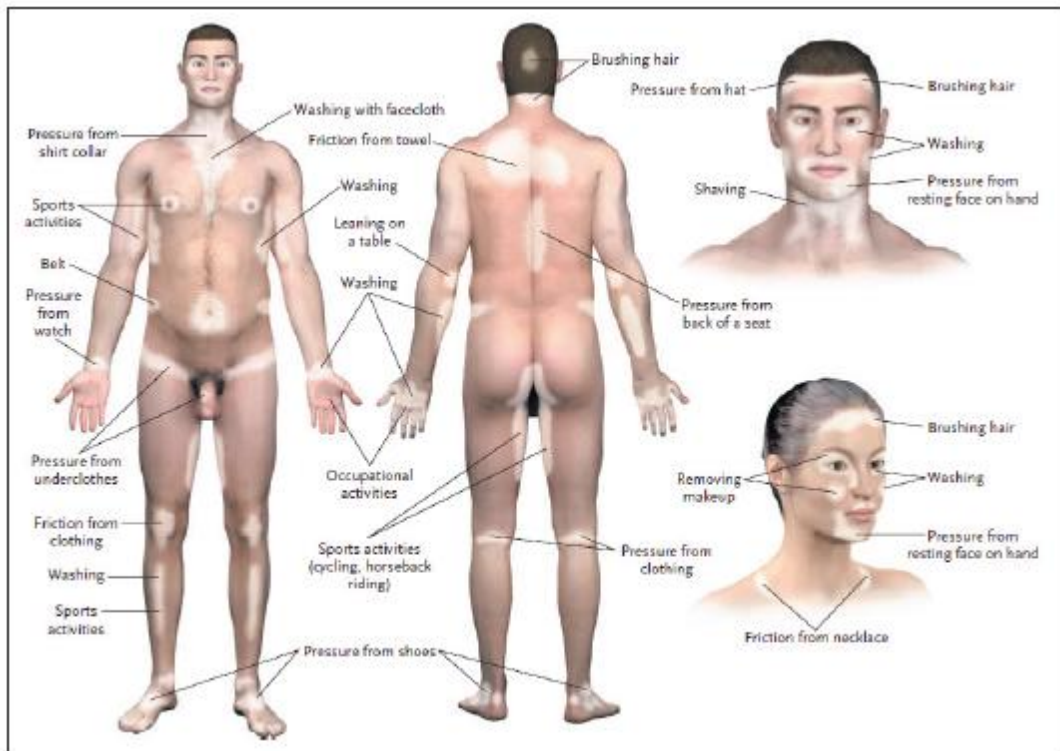
Banyak penelitian mendapatkan 20% dari penderita vitiligo memiliki anggota keluarga yang menderita vitiligo, dengan risiko relatif kejadiannya mencapai 7-10 kali lipat pada keluarga generasi pertama (Halder dan Taliaferro, 2008; Yaghoobi dkk., 2011). Terdapat bukti kuat keterkaitan suseptibilitas genetik melalui HLA, PTPN22, NALP1 dan kemungkinan CTLA4, disertai keterkaitan masing-masing gen tersebut dengan suseptibilitas autoimun (Spritz, 2008).

Depigmentasi yang terjadi diperkirakan dapat menyebabkan stres psikologis berat, penurunan kualitas hidup dan peningkatan risiko morbiditas psikiatri (Alikhan dkk, 2011).

### 2.1.1 Manifestasi klinis

Vitiligo dikategorikan sebagai suatu kelainan pigmentasi akibat hilangnya melanosit yang aktif sehingga menyebabkan gambaran bercak putih pada kulit. Bercak putih yang timbul bervariasi dalam hal bentuk dan ukuran, serta seringkali simetris. Lesi vitiligo muncul sebagai satu atau lebih makula atau *patch* amelanotik, berwarna putih seperti kapur atau susu, dikelilingi oleh tepi normal atau hiperpigmentasi. Adakalanya didapatkan tepi kemerahan akibat mengalami inflamasi (Yaghoobi dkk., 2011).

Lesi vitiligo melebar secara sentrifugal dengan pola yang tidak dapat diprediksi dan mengenai setiap area tubuh. Lesi awal banyak dijumpai pada tangan, lengan, kaki dan wajah (Halder dan Taliaferro, 2008). Lokasi vitiligo tersering adalah wajah, dada atas, dorsal tangan, aksila dan lipatan paha. Terdapat kecenderungan keterlibatan kulit sekitar orifisium. Lesi juga dapat muncul pada area trauma (Yaghoobi dkk., 2011). Pada fenomena Koebner, lesi vitiligo berkembang di tempat terjadinya mikrotrauma sebagai suatu respon isomorfik terhadap gesekan atau tekanan yang dapat terjadi pada berbagai aktivitas (Anurogo dan Ikrar, 2014). Lesi vitiligo sejak awal dikatakan sensitif terhadap paparan sinar matahari (Lotti dkk., 2008).



Gambar 2.2  
*Koebner's Phenomenon* (Anurogo dan Ikrar, 2014)

Vitiligo secara umum diklasifikasikan menjadi dua pola, yaitu pola segmental dan non-segmental. Pola segmental lebih jarang dijumpai dan ditandai oleh lesi fokal yang terlokalisir pada area tertentu. Pola ini memiliki onset yang cepat dan perjalanan penyakit yang stabil. Pola non-segmental lebih banyak dijumpai dan berpotensi mengalami evolusi sepanjang kehidupan. Fenomena Koebner dan penyakit autoimun lebih sering dihubungkan dengan pola ini (Lotti dkk., 2008; Yaghoobi dkk., 2011).

Klasifikasi lain dari vitiligo didasarkan pada distribusi dan luas keterlibatan lesi ditunjukkan oleh Tabel 2.1.

Tabel 2.1  
Klasifikasi Klinis Vitiligo dari Nordlund (Kakourou, 2009)

<b>Lokalisata</b>	
Fokal	Satu atau lebih makula dengan distribusi lokal yang tidak spesifik
Unilateral	Satu atau lebih makula terlokalisir pada area unilateral tubuh dengan distribusi sesuai dermatom
Mukosal	Keterlibatan membran mukosa
<b>Generalisata</b>	
Vulgaris	Makula depigmentasi tersebar secara luas
Akrofasialis	Makula terlokalisir pada ekstremitas bagian distal dan wajah
Campuran	Dijumpai pola akrofasial dan vulgaris secara bersamaan
Universalis	Lesi depigmentasi hampir pada seluruh tubuh (>80% permukaan tubuh)

### 2.1.2 Diagnosis dan diagnosis banding

Diagnosis vitiligo didasarkan pada manifestasi klinis (Lotti dkk., 2008; Yaghoobi dkk., 2011). Diagnosis vitiligo dapat dikonfirmasi dengan pemeriksaan lampu Wood 365 nm, dengan penampakan lesi yang semakin jelas (Halder dan Taliaferro, 2008). Diagnosis banding vitiligo cukup luas mencakup banyak kelainan kulit dengan kemiripan gambaran klinis. Leukoderma akibat bahan kimia dan vitiligo okupasional awalnya berupa depigmentasi akibat kontak pada area tertentu, namun selanjutnya dapat mengalami perluasan. Nevus depigmentosus berupa hipopigmentasi segmental dan piebaldisme yang merupakan kelainan autosomal dominan, sering dipertimbangkan sebagai diagnosis banding vitiligo (Alikhan dkk, 2011). Diagnosis banding vitiligo disajikan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2  
Diagnosis Banding Vitiligo (Kakourou, 2009)

---

Kelainan yang didapat
Hipopigmentasi <i>post</i> inflamasi
Leukoderma akibat paparan bahan kimia
Tinea versikolor
Pitiriasis alba
Liken sklerosus <i>et</i> atropikus
Morfea
Sarkoidosis
Lepra
Pinta stadium III
Kelainan dan sindrom kongenital
Nevus depigmentosus
Makula hipomelanotik tuberus sklerosis
Piebaldisme
Albinisme
Sindrom Vogt-Kianagi
Sindrom Waardenburg
Sindrom Ziprkowski-Margolis

---

### 2.1.3 Etiologi dan patogenesis

Vitiligo merupakan kelainan multifaktorial yang dihubungkan dengan faktor genetik dan non-genetik. Berdasarkan pengamatan pada variasi klinis pasien, diperkirakan patogenesis yang terjadi dapat berbeda pada setiap pasien (Bagherani dkk., 2011). Berbagai teori tersebut mencakup antara lain gangguan pada adhesi melanosit, kerusakan neurogenik, kerusakan biokimia, dan autotoksisitas (Birleadkk., 2012)

Peranan faktor genetik cukup penting pada vitiligo, yang dihubungkan secara luas sebagai bagian dari diatesis tentang pewarisan genetik, autoimun dan autoinflamasi (Bagherani dkk., 2011; Spritz, 2008). Tipe *Human leukocyte*

*antigen*(HLA) terkait vitiligo meliputi A2, DR4, DR7 dan CW6 pada kelompok keluarga Kaukasia dengan vitiligo generalisata dan penyakit autoimun, disamping itu ditemukan pula *linkage signals* pada kromosom 1,7 dan 17 (Bagherani dkk., 2011; Jin dkk., 2010). Spritz (2008) pada penelitiannya menunjukkan bahwa HLA, PTPN22, NALP1 dan CTLA4 dihubungkan dengan suseptibilitas autoimun pada penderita vitiligo.

Peranan autoimun dibuktikan dengan adanya keterlibatan sistem imunitas humoral dengan ditemukannya antibodi antimelanosit dengan target berbagai antigen melanosit seperti tirosinase, *tyrosinase-related protein-1* dan *dopachrome tautomerase*, yang dapat menyebabkan kerusakan melanosit secara *in vitro* dan *in vivo*. Antibodi yang terbentuk diduga sebagai suatu respon humoral sekunder. Penemuan infiltrat inflamasi pada tepi lesi terutama terdiri atas limfosit T sitotoksik. Sel T tersebut menghasilkan profil sitokin tipe 1 dan terdapat secara bersamaan dengan melanosit epidermal, sehingga terdapat hipotesis bahwa sel ini bersifat sitolitik aktif terhadap melanosit yang ada melalui *granzyme/perforin pathway* (Birlea, 2012).

Peranan proses biokimia pada vitiligo merupakan hal yang banyak diteliti saat ini. Vitiligo adalah penyakit yang terjadi di seluruh epidermis, dengan kemungkinan keterlibatan baik melanosit dan keratinosit. Kelainan morfologi dan fungsional yang terjadi pada melanosit dan keratinosit kemungkinan memiliki peranan faktor genetik. Abnormalitas ultrastruktural dari keratinosit pada bagian perilesional diduga berhubungan dengan gangguan aktivitas mitokondria yang diduga mempengaruhi



produksi faktor pertumbuhan dan sitokin spesifik dari melanosit yang mengatur *survival* melanosit. Temuan biokimia yang penting adalah terjadinya peningkatan hidrogen peroksida pada lesi yang kemungkinan disebabkan oleh menurunnya aktivitas antioksidan dari keratinosit dan melanosit. Gangguan sistem antioksidan menyebabkan melanosit lebih rentan baik terhadap sitotoksitas imunologis maupun toksitas yang diinduksi oleh ROS (Birlea, 2012).

#### **2.1.4 Histopatologi**

Secara umum, hasil histopatologi menunjukkan adanya kekosongan melanosit pada lapisan epidermis area lesi, dan ditemukan dominasi infiltrasi limfosit pada daerah perifolikuler, perivaskuler dan dermal dari tepi lesi vitiligo dini dan lesi aktif vitiligo. Hal tersebut sesuai dengan proses imun yang diperantarai sel dengan terjadinya penghancuran melanosit *in situ* (Birlea, 2012).

#### **2.1.5 Hubungan vitiligo dengan beberapa penyakit komorbid**

Vitiligo generalisata berhubungan dengan peningkatan risiko penyakit tiroid autoimun, terutama tiroiditis Hashimoto, sehingga kadar tirotropin sebaiknya diukur setiap tahun, terutama pada penderita dengan antibodi terhadap *thyroid peroxidase* pada skrining awal. Tes fungsi tiroid, uji serum *antithyroglobulin* dan *antithyroid peroxidase antibodies* dapat dipertimbangkan (Hann dan Nordlund, 2000; Halder dan Chappell, 2009). *Antithyroid peroxidase antibodies* adalah marker yang sensitif dan spesifik pada gangguan tiroid autoimun (Halder dan Chappell, 2009).

Penyakit komorbid yang dihubungkan dengan vitiligo disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2.3  
Penyakit Komorbid yang Berhubungan dengan Vitiligo (Alkhateeb dkk.,2003)

---

Penyakit autoimun
Penyakit tiroid autoimun (khususnya Tiroiditis Hashimoto dan Penyakit Graves)
Anemia pernisiiosa
Lupus Eritematosus Sistemik
Liken skerosus
Morfea
Skleroderma
Diabetes mellitus
Insufisiensi adrenal (Penyakit Addison)
Alopesia areata
Hipoparatiroid
Miastenia gravis
<i>Gonadal insufficiency</i>
<i>Inflammatory bowel disease</i>
Artritis rematoid
Psoriasis
Urtikaria kronik
<i>Autoimmune polyglandular syndrome</i>
Nevus halo dari Sutton
Penyakit lain
Melanoma maligna
Asma

---

### 2.1.6 Terapi

Prinsip terapi vitiligo adalah untuk mengurangi penghancuran melanosit dan mendorong repopulasi melanosit di epidermal, baik dengan cara merangsang perbaikan dari melanosit in situ yang rusak maupun dengan mereaktivasi melanosit residual atau merangsang migrasi melanosit dari folikel rambut atau daerah kulit yang berdekatan (Birleadkk., 2012). Manajemen vitiligo secara umum dijabarkan pada Tabel 2.4

Tabel 2.4  
Manajemen Vitiligo pada Dewasa (Taieb dan Picardo, 2009)

Tipe vitiligo	Penanganan
Segmental dan non-segmental terbatas (melibatkan <2-3% permukaan tubuh)	<p>Lini pertama: hindari faktor pemicu atau pencetus, terapi lokal (inhibitor kalsineurin)</p> <p>Lini kedua: terapi NB-UVB, terutama lampu monokromatis <i>excimer</i> atau laser</p> <p>Lini ketiga: pertimbangkan teknik pembedahan jika repigmentasi secara kosmetik di daerah yang terlihat kurang memuaskan</p>
Non-segmental (melibatkan >3% permukaan tubuh)	<p>Lini pertama: stabilkan dengan terapi NB-UVB minimal 3 bulan, durasi optimal setidaknya 9 bulan jika ada respon, kombinasikan dengan terapi topikal, termasuk pengoptimalan (<i>reinforcement</i>) dengan terapi UVB pada target</p> <p>Lini kedua: pertimbangkan kortikosteroid sistemik atau agen immunosupresif bila masih terdapat perluasan dengan terapi NB-UVB, namun data pendukung pendekatan ini terbatas</p> <p>Lini ketiga: pertimbangkan pembedahan di daerah yang tidak menunjukkan respon dalam jangka waktu minimal 1 tahun, terutama di daerah bernilai kosmetik tinggi (misalnya: wajah); bagaimanapun fenomena <i>Koebner's</i> dapat merusak kelangsungan hidup cangkok kulit (<i>graft survival</i>); kontraindikasi relatif di daerah seperti punggung tangan</p> <p>Lini keempat: pertimbangkan depigmentasi (<i>monobenzyl ether of hydroquinone</i> atau hanya <i>mequinol</i>, atau berhubungan dengan <i>Q-switched ruby</i> laser) jika lebih dari 50% area yang dirawat atau diterapi tidak berespon, atau jika area terlihat amat jelas, seperti di wajah atau tangan</p>

Obat golongan kortikosteroid, seperti: *triamcinolone*, *hydrocortisone*, atau *prednisone*, dipakai untuk menghentikan penyebaran vitiligo dan menyempurnakan

pembentukan kembali pigmen kulit. Jika merupakan reaksi autoimun, maka dapat diberi kortikosteroid fluorinasi kuat (Tonsi, 2004; Halder dan Chapell, 2009; Grawkodger dkk., 2008).

Kehadiran sel T CD25+ tampak di lesi vitiligo yang aktif. Pimekrolimus menghambat aktivasi sel T, sehingga secara teoritis lebih efektif pada lesi yang aktif daripada di lesi yang stabil. Efek terapeutik pimekrolimus mirip dengan glukokortikoid topikal potensi sedang dan kuat. Repigmentasi awal dengan kortikosteroid topikal terlihat dari 2 minggu hingga 4 bulan setelah terapi dimulai. Untuk kasus vitiligo di wajah yang diterapi dengan takrolimus, diperlukan waktu 6 minggu untuk repigmentasi. Namun dari segi efektivitas, pimekrolimus topikal 1% lebih aman dibandingkan dengan klobetasol propionat 0,05% (Boone dkk., 2007; Goweini dkk, 2006)

Terapi lain yakni dengan NB-UVB, yaitu: *narrowband ultraviolet B* (NB-UVB) *light* (311+/-2nm), biasa digunakan untuk vitiligo lokalisata. Ada tiga pilihan NB-UVB *light*, yaitu: *nonfocused* NB-UVB, *microphototherapy*, NB *excimer light*. Beberapa keuntungannya adalah dapat mencegah efek samping psoralen dan mengurangi dosis kumulatif radiasi. Terapi ini juga dapat digunakan untuk wanita hamil dan anak-anak tanpa efek fototoksik atau atrofi epidermis, dengan sedikit eritema dibandingkan dengan fototerapi lain. Masalah yang mungkin timbul adalah timbulnya kemerahan sementara (*transient erythema*), namun deskuamasi lebih jarang terjadi. Fototerapi NB-UVB direkomendasikan untuk vitiligo generalisata (Anurogo dan Ikrar, 2014).

Pada kasus tertentu, dipertimbangkan transplantasi pada area vitiligo yang terbatas. Terapi pembedahan pada vitiligo merupakan suatu pilihan menarik, namun dilakukan jika penyakit telah inaktif selama 6-12 bulan. Tekniknya dapat secara *punch-graft*, *minigraft*, *suction blister*, *autologous cultures* dan *autologous-melanocytes-grafts*, *micropigmentation*, *split thickness graft*, *minigraft* menggunakan *punch biopsies*, *epidermal suction blisters* sebagai preparasi, donor dan transplantasi *non-cultured cell suspension* atau *cultured melanocytes*. Kini *minigraft* tidak lagi direkomendasikan karena banyaknya efek samping dan hasil kosmetik yang jelek, termasuk *cobblestone appearance* dan *polka dot appearance*. Teknik yang memiliki nilai rata-rata keberhasilan tertinggi adalah *split skin grafting* dan *epidermal blister grafting* (Gawkrodger dkk., 2010).

Pembedahan boleh dilakukan pada area yang penting secara kosmetik jika tidak ada lesi baru, tidak ada fenomena Koebner, tidak ada perluasan lesi dalam 12 bulan sebelumnya. Berbagai metode pembedahan seperti: *transplantasi autologous epidermal cell suspensions*, aplikasi *ultrathin epidermal grafts*, dan kombinasi berbagai pendekatan ini, digunakan pada beberapa kasus vitiligo segmental atau fokal, jika pendekatan terapi lainnya gagal. *Split-skin grafting* masih merupakan pilihan yang terbaik (Taieb dan Picardo, 2007; Grawkrodger dkk., 2010; Fallabella dan Barona, 2008).

Bila lesi vitiligo luas, direkomendasikan *bleaching* atau depigmentasi dengan krim hidrokuinon. Namun, terapi ini membuat kulit menjadi sensitif terhadap sinar matahari. Selama terapi, dianjurkan memakai tabir surya dengan *sun protection factor*

(SPF) 30 atau lebih. Rekomendasi FDA untuk penderita vitiligo dengan luas lebih dari 50% area permukaan tubuh adalah terapi depigmentasi topikal menggunakan krim 20% *monobenzyl ether of hydroquinone* (MBEH). Hasilnya terlihat setelah 4-12 bulan terapi (Halder dan Chapell, 2009; Grawkrodger dkk.,2010).

Pseudokatalase PC-KUS topikal yang diaktivasi oleh fototerapi NB-UVB dosis rendah telah digunakan sebagai terapi vitiligo pada anak. Lebih dari 75% repigmentasi terjadi di wajah, leher, tubuh dan anggota gerak setelah terapi harian NB-UVB *activated pseudocatalase* selama 8-12 bulan. Dosis total NB-UVB per tahun (*per annum*) untuk setiap anak sekitar 42-60 mJ/cm<sup>2</sup>, yang ekuivalen dengan sekitar 5,6 jam paparan sinar matahari per tahun. Tidak ada efek samping yang dilaporkan (Schallreuter dkk., 2008).

### **2.1.7 Penilaian derajat keparahan**

Penilaian klinis vitiligo dapat menggunakan metode subjektif dan objektif. Metode subjektif merupakan penilaian langsung dengan cahaya tampak dan fotografi digital, sedangkan penilaian yang objektif dilakukan dengan menggunakan alat seperti *colorimetry* dan *reflectance confocal microscopy*.

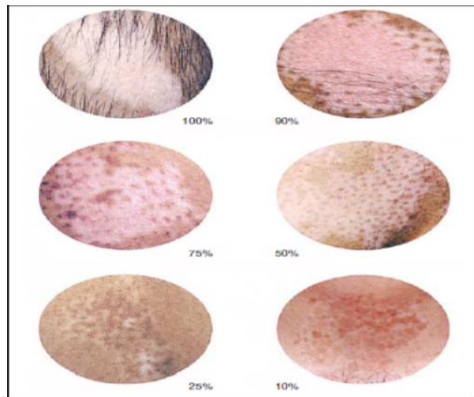
Sistem penilaian secara semi-kualitatif dapat digunakan dalam praktek klinis untuk membantu dalam menilai derajat keparahan serta aktivitas penyakit dan respon terhadap terapi pada vitiligo. Beberapa sistem penilaian tersebut antara lain *Vitiligo Area Severity Index* (VASI), *Vitiligo Disease Activity* (VIDA), *Vitiligo European Task Force Assessment* (VETFa), *Potential Repigmentation Index* (PRI) dan *Vitiligo Extent Tensity Index* (VETI). Namun hingga saat ini belum terdapat konsensus yang

disepakati dalam penggunaan sistem penilaian klinis vitiligo tersebut (Alghamdi dkk., 2012; Kawakami dan Hashimoto, 2011).

Skor VASI yang diperkenalkan oleh Hamzavi dkk.(2004) merupakan metode terstandarisasi dan sensitif untuk mengukur derajat dan persentase dari depigmentasi dan repigmentasi.Skor VASI ini secara konseptual analog dengan skor *psoriasis area severity index* (PASI) pada psoriasis.Skor VASI disertai penggunaan lampu Wood dan *rule of nine* merupakan metode paling baik yang tersedia untuk menilai lesi pigmentasi dan mengukur luas serta derajat vitiligo baik secara klinis maupun dalam penelitian dan uji klinis (Alghamdi dkk., 2012). Dalam penghitungan skor VASI tubuh penderita dibagi menjadi 5 bagian yaitu tangan, ekstremitas atas (tidak termasuk tangan), badan, ekstremitas bawah (tidak termasuk kaki), dan kaki.Regio aksila dimasukkan dalam ekstremitas atas sedangkan regio inguinal dan bokong dimasukan dalam ekstremitas bawah.Satu *hand unit*, yang mencakup telapak tangan dan permukaan volar dari jari tangan diperkirakan sebanyak 1% dan digunakan untuk menilai jumlah area yang terlibat di setiap regio. Derajat depigmentasi ditentukan berdasarkan gambaran lesi yang dinilai dengan skor 0%, 10%, 25%, 50%, 75%, 90%, 100%. Derajat 100% depigmentasi berarti tidak ada pigmen yang tampak, pada 90% terdapat bercak pigmen yang tampak, pada 75% area depigmentasi melebihi area pigmentasi, pada 50% area yang mengalami depigmentasi dan yang mengalami pigmentasi adalah sama banyak, pada 25% area pigmentasi melebihi area depigmentasi, pada 10% hanya terdapat bercak depigmentasi, dan 0% tidak terdapat bercak depigmentasi.

Panduan penilaian gambaran depigmentasi/repigmentasi ditampilkan pada Gambar 2.3. Untuk setiap bagian tubuh, skor VASI ditentukan dengan menjumlahkan area vitiligo dalam *hand units* dan derajat depigmentasi dalam setiap *hand unit* yang diperiksa dengan skor minimal 0 sampai dengan skor maksimal 100, menggunakan rumus berikut (Hamzavi dkk., 2004; Kawakami dan Hashimoto, 2011):

$$\text{VASI} = \sum_{(\text{semua bagian tubuh})} \text{Hands Unit} \times \text{Depigmentasi}$$



Gambar 2.3

Gambar Panduan yang Telah Distandarisasi untuk Memperkirakan Derajat Pigmentasi pada Vitiligo (Hamzavi dkk, 2004)

Skor VETF terdiri dari luas lesi, stadium penyakit (*staging*) dan progresivitas penyakit (*spreading*). Luas lesi dinilai menggunakan metode *rule of nine*, *staging* dinilai berdasarkan pigmentasi pada kulit dan rambut dan dibagi menjadi stadium 0-3, sedangkan *spreading* digunakan untuk menilai progresivitas penyakit dan dibagi menjadi +1 (progresif), 0 (stabil), -1 (regresif) (Taieb dan Picardo, 2007; Kawakami dan Hashimoto, 2011).

Skor VIDA menilai stabilitas dan progresivitas penyakit seiring berjalannya waktu melalui perhitungan skala 6 poin, dengan batasan antara aktif dan stabil adalah



satu tahun. Sistem skoring ini membantu menilai efektivitas pengobatan sehubungan dengan penghentian dan pengembalian area depigmentasi. Penilaian tentang perjalanan penyakit ditentukan oleh pasien sendiri melalui teknik wawancara. Skor VIDA yang semakin rendah berbanding lurus dengan derajat aktivitas penyakit yang semakin ringan (Alghamdi dkk., 2012; Bhor dan Pande, 2006).

### **2.1.8 Perjalanan penyakit dan prognosis**

Perjalanan klinis kasus vitiligo, terutama vitiligo generalisata tidak dapat diprediksi, tapi umumnya bersifat progresif secara perlahan dan sulit untuk dikontrol dengan terapi. Terkadang lesi semakin meluas seiring waktu, namun pada kasus lain, perkembangan lesi dapat terhenti dan stabil dalam jangka waktu yang cukup lama. Beberapa parameter klinis seperti durasi yang panjang dari penyakit, timbulnya fenomena Koebner, leukotriksia dan keterlibatan mukosa merupakan indikator prognosis yang lebih buruk (Birlea, 2012).

## **2.2 Stres Oksidatif**

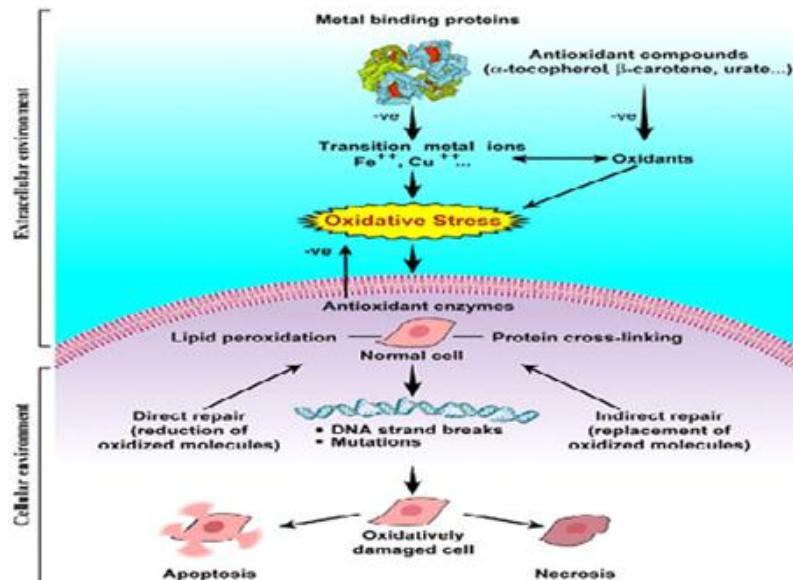
### **2.2.1 Definisi**

Stres oksidatif adalah suatu keadaan ketidakseimbangan antara prooksidan dengan antioksidan. Hal ini disebabkan oleh pembentukan ROS yang melebihi kemampuan sistem pertahanan antioksidan, atau menurun atau menetapnya kemampuan antioksidan. Pada kondisi fisiologis, antioksidan sebagai sistem pertahanan dalam tubuh dapat melindungi sel dan jaringan melawan ROS. Pada

keadaan stres oksidatif terjadi kerusakan oksidatif terhadap penyusun sel seperti DNA, protein, lemak, dan gula (Winarsi, 2007; Hiromichi dkk., 2008).

### 2.2.2 Radikal bebas dan ROS

Radikal bebas adalah salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif dengan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit luarnya. Keadaan ini menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya sehingga mengakibatkan kaskade rantai reaksi dan memicu kerusakan sel dan penyakit, seperti tampak pada Gambar 2.4.



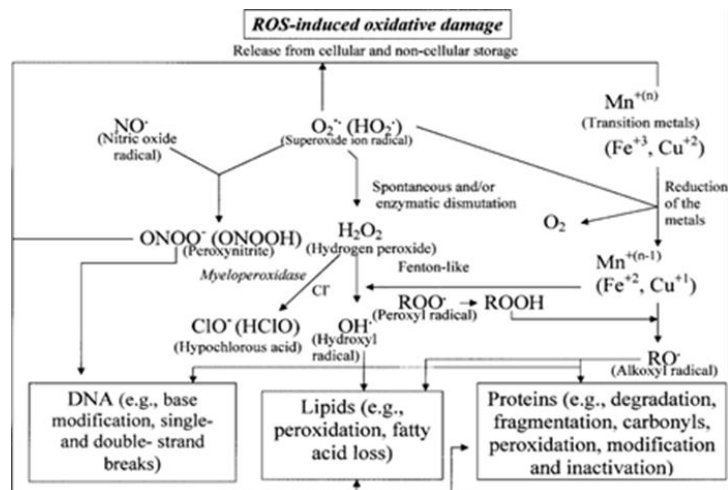
Gambar 2.4

Kaskade Rantai Reaksi Kerusakan Sel (Close dan Hagerman, 2006)

Bila elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas bersifat ionik maka tidak membahayakan, tetapi bila terikat oleh senyawa dengan ikatan kovalen maka

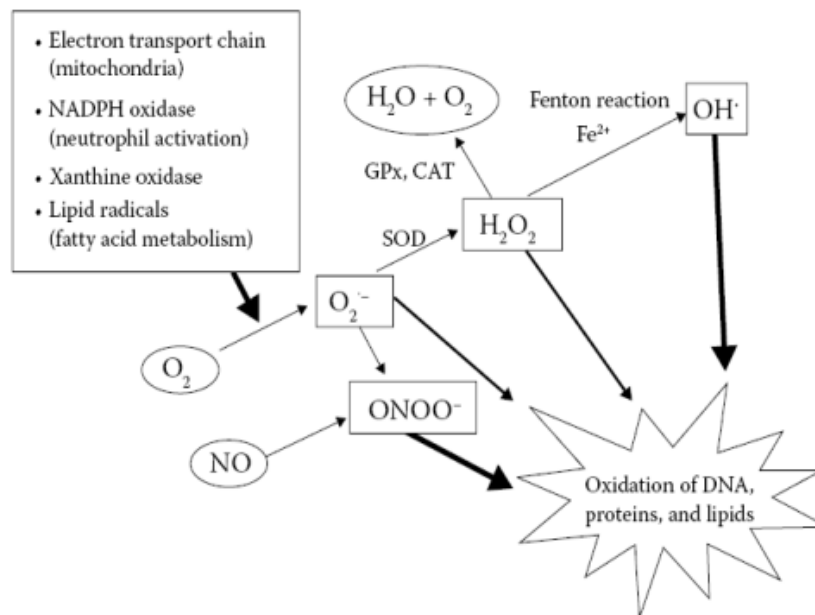
sangat berbahaya, karena digunakan secara bersama-sama pada orbit luarnya. Senyawa yang memiliki ikatan kovalen adalah molekul besar seperti lipid, protein dan DNA. Molekul yang paling rentan sebagai target utama radikal bebas adalah lipid terutama asam lemak tak jenuh (Morris dan Trenam, 1995; Winarsi, 2007).

*Reactive oxygen species* adalah radikal bebas yang mengandung oksigen. Mitokondria dan enzim sitokrom merupakan sumber utama ROS akibat injuri bahan toksik. Sumber lain dari ROS adalah sel Kupffer dan sel peradangan terutama neutrofil. Oksigen mengandung radikal bebas seperti radikal *hydroxyl*, radikal *superoxide* anion, radikal *hydrogen peroxide*, *oxygen* tunggal, radikal *nitric oxide* dan *peroxynitrite* merupakan spesies yang bersifat sangat reaktif pada nukleus dan membran sel, kerusakan biologis terjadi pada DNA, protein, karbohidrat dan lemak (Close dan Hagerman, 2006).



Gambar 2.5  
Kerusakan Akibat ROS (Kohen dan Nyska, 2012)

Pada dasarnya dikenal tiga tipe utama ROS, yaitu superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), hidroksil ( $OH^{\bullet}$ ). Radikal superoksida terbentuk bila terjadi kehilangan elektron saat proses rantai transpor elektron. Dismutasi superoksida menghasilkan pembentukan hidrogen peroksida. Ion hidroksil bersifat sangat reaktif bereaksi dengan purin dan pirimidin menyebabkan penghancuran *strand* dan berakhir dengan kerusakan DNA. ROS dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yang berbeda, seperti: reperfusi-iskemia, aktivasi neutrofil dan makrofag, kimia Fenton, *endothelial cell xanthine oxidase*, metabolisme asam lemak bebas dan prostaglandin, dan hipoksia seperti ditunjukkan dalam Gambar 2.6 (Halliwell, 2002; Winarsi, 2007; Hiromichidkk., 2008).



Gambar 2.6  
Mekanisme Terjadinya ROS (Halliwell, 2002)

*Reactive oxygen species* yang sangat reaktif dengan waktu paruh yang pendek, misalnya  $\text{OH}\cdot$ , menyebabkan kerusakan langsung di tempat produksinya. Jika tidak ada target biologis penting di sekitar tempat produksinya, radikal tidak akan menyebabkan kerusakan oksidatif. Untuk mencegah interaksi antara radikal dan target biologisnya, antioksidan harus ada di lokasi produksi untuk bersaing dengan radikal dan berikatan dengan bahan biologis. Pada pH fisiologis, superoksida ditemukan dalam bentuk ion superoksida ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), sedangkan pada pH rendah ditemukan sebagai hidropersil ( $\text{HO}_2$ ), yang lebih mudah berpenetrasi ke dalam membran biologis. Dalam keadaan hidrofilik, kedua substrat tersebut dapat berperan sebagai bahan pereduksi, namun kemampuan reduksi  $\text{HO}_2$  lebih tinggi. Reaksi terpenting dari radikal superoksida adalah dismutasi, yaitu 2 radikal superoksida akan membentuk hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan  $\text{O}_2$  dengan bantuan enzim superoksida dismutase maupun secara spontan (Kohen dan Nyska, 2002).

Hidrogen peroksida dapat menyebabkan kerusakan sel pada konsentrasi yang rendah ( $10\mu\text{M}$ ), karena mudah larut dalam air dan mudah melakukan penetrasi ke dalam membran biologis. Efek buruk kimiawinya dapat dibedakan menjadi 2, yaitu efek langsung dari kemampuan oksidasinya dan efek tidak langsung, akibat bahan lain yang dihasilkan dari  $\text{H}_2\text{O}_2$ , seperti  $\text{OH}\cdot$  dan  $\text{HClO}$ . Efek langsung  $\text{H}_2\text{O}_2$  seperti degradasi protein haem, pelepasan besi, inaktivasi enzim, oksidasi DNA, lipid, kelompok -SH dan asam keto (Kohen dan Nyska, 2002).

### 2.3. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donor*). Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang mampu meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting dalam menjaga integritas dan fungsi membran lipid, protein sel dan asam nukleat serta mengontrol transduksi sinyal dan ekspresi gen dalam sel imun. Pada kondisi normal, molekul *scavenger* atau antioksidan berperan mengkonversi ROS menjadi H<sub>2</sub>O untuk mencegah produksi ROS yang berlebihan. Antioksidan mentransformasikan radikal bebas menjadi spesies yang kurang reaktif sehingga dapat membatasi efek toksiknya. Sistem antioksidan dibagi menjadi kelompok enzimatik dan non-enzimatik, seperti disajikan pada Tabel 2.5 (Bickers dan Athar, 2006; Winarsi, 2007).

Tabel 2.5  
Antioksidan Enzimatik dan Non-Enzimatik (Winarsi, 2007)

Antioksidan Enzimatik	Antioksidan Non-Enzimatik
<i>Superoxide dismutase</i> (SOD)	Vitamin E
Katalase	Vitamin C
<i>Glutathione peroxidase</i> (GPx)	Vitamin A
<i>Glutathione reductase</i> (GR)	<i>Alpha-Lipoic Acid</i>
<i>Glutathione-s-transferase</i> (GST)	Flavonoid
	Uric acid
	Bilirubin
	Albumin
	<i>Glutathione</i>
	<i>Ubiquinone</i>
	Selenium
	Haptoglobin
	Seruloplasmin
	Transferin
	Laktoferin

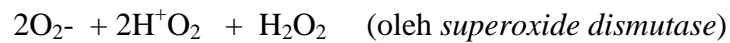
Antioksidan enzimatis maupun non-enzimatis berperan melawan efek toksik lipid peroksidasi dan radikal oksigen serta mengurangi jumlah lipid peroksida yang terbentuk. Adanya antioksidan non-enzimatis ini berperan dalam melawan efek toksik radikal bebas, antara lain vitamin A pada lingkungan yang lipofilik berperan sebagai antioksidan penghalang pemutus rantai, vitamin C berperan sebagai *scavenging* superoksida, radikal bebas dan bermacam lipid hidroperoksida. Vitamin E berperan sebagai pelindung dalam melawan lipid peroksidasi, dan dapat menstabilkan lapisan lemak (Thiele dkk., 2001; Bickers dan Athar, 2006).

Mekanisme antioksidan enzimatis sebagai mekanisme proteksi endogen terhadap radikal bebas dijabarkan sebagai berikut (Wibowo, 2001):

- a. Sitokrom oksidase pada mitokondria, mengkonsumsi hampir seluruh oksigen yang terdapat dalam sel, sehingga mencegah 95% hingga 99% molekul oksigen dari pembentukan metabolik toksik.
- b. *Superoxide dismutase* (SOD), mengkatalisa dismutasi radikal bebas  $O_2^-$  menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen, sehingga tidak tersedia  $O_2^-$  yang dapat bereaksi dengan hidrogen peroksida untuk membentuk radikal hidroksil.
- c. *Catalase* (Cat), mengkatalisa perubahan hidrogen peroksida yang toksik menjadi molekul air ( $H_2O$ ) bersama dengan peroksidase, sehingga mencegah pembentukan sekunder zat antara yang toksik seperti radikal hidroksil. Peroksidase yang penting dalam tubuh yang dapat meredam dampak negatif  $H_2O_2$  adalah *glutathion peroxidase*.

- d. *Glutathione peroxidase* (Gpx), bekerja mengoksidasi glutathion menjadi glutathion disulfida dan pada saat yang bersamaan karena adanya reaksi *redox*, terjadi perubahan hidropersida menjadi H<sub>2</sub>O dan alkohol.

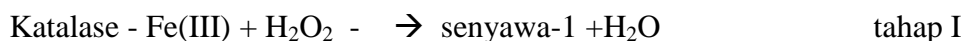
Proses kimiawi yang terjadi dirangkum sebagai berikut:



### 2.3.1 Katalase

Katalase atau *catalase* (Cat) adalah salah satu antioksidan endogen merupakan senyawa hemotetramer dengan Fe sebagai kofaktor yang disandi oleh gen kromosom 11; mutasi pada gen ini dapat menyebabkan akatalasemia. Katalase termasuk dalam golongan enzim hidropersidase karena dapat mengkatalisis substrat hidrogen persida atau persida organik. Enzim ini dihasilkan di peroksisom dan dapat ditemui dalam darah, sumsum tulang, membran mukosa, ginjal dan hati (Kumar dkk., 2008; Kodydkovadkk., 2014).

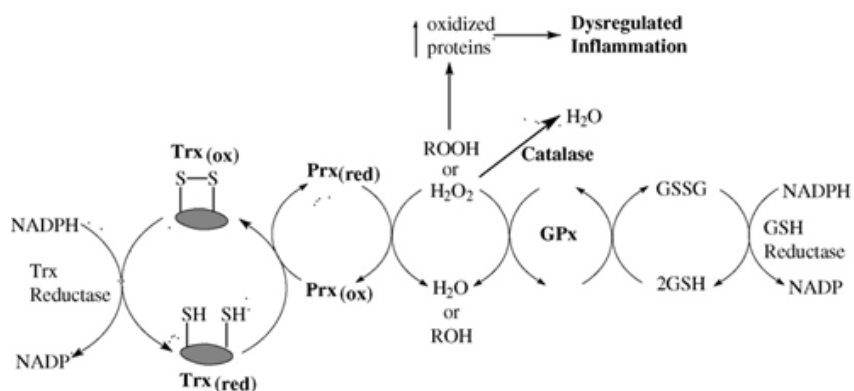
Katalase merupakan hemoprotein yang mengandung empat gugus heme. Di dalam sel, katalase ditemukan di dalam peroksisom. Mekanisme aktivitas katalase sebagai antioksidan dengan cara mengkatalisis pemecahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub> adalah sebagai berikut (Kumar dkk., 2008):





Senyawa-1 merupakan senyawa antara, serta merupakan kunci dari oksidasi dalam reaksi enzimatik katalase. Hal ini disebabkan oleh keberadaan senyawa-1 heme dengan suatu atom oksigen dari molekul  $H_2O_2$  pada tahap I ini. Hasil reaksi ini membentuk molekul aktif berupa air pada enzim yang dekat heme Fe.

Kapasitas reduksi katalase tinggi pada suasana  $H_2O_2$  konsentrasi tinggi, sedangkan pada konsentrasi rendah kapasitasnya menurun (Cemeli dkk., 2009; Miwa dkk., 2008). Hal ini disebabkan karena katalase memerlukan reaksi dua molekul  $H_2O_2$  dalam proses reduksinya, sehingga hal ini lebih jarang ditemukan pada konsentrasi substrat rendah (Cemeli dkk., 2009). Pada konsentrasi  $H_2O_2$  rendah seperti yang dihasilkan dari proses metabolisme normal, *peroxiredoxin* (PRX) yang berfungsi untuk mengikat  $H_2O_2$  dan mengubahnya menjadi oksigen dan air (Miwa dkk., 2008). Reaksi pemecahan hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik secara enzimatik ditampilkan pada Gambar 2.7 (Day, 2009).



Gambar 2.7  
Penangkapan Endogen Peroksida Seluler (Day, 2009)

Senyawa  $H_2O_2$  merupakan salah satu senyawa oksigen reaktif yang dihasilkan pada proses metabolisme di dalam sel.  $H_2O_2$  merupakan sumber toksik berbagai macam penyakit karena dapat bereaksi menimbulkan kerusakan jaringan. Selain itu,  $H_2O_2$  dianggap sebagai metabolit kunci karena stabilitasnya relatif tinggi, cepat menyebar dan terlibat dalam sirkulasi sel.

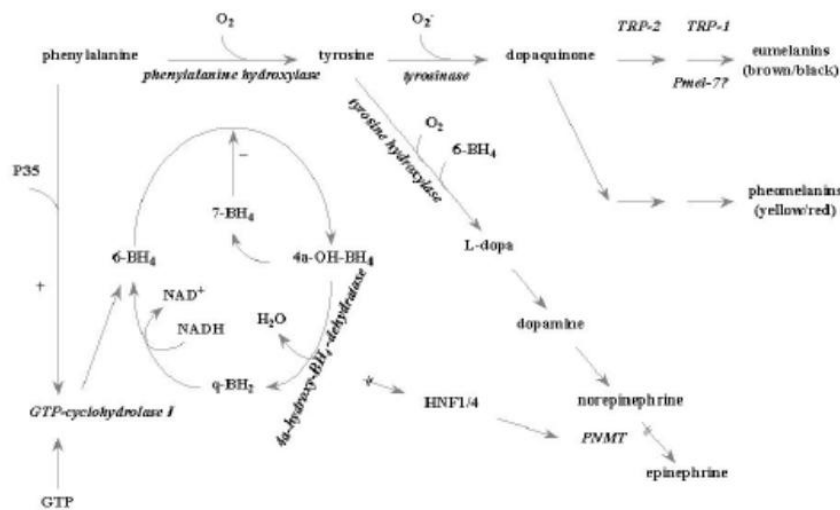
Katalase disamping mendukung aktivitas enzim SOD juga dapat mengkatalisa perubahan berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan air. Enzim-enzim ini mampu menekan atau menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil. Reaksi ini disebut sebagai *chain-breaking-antioxidant*. Katalase dan *glutathion peroksidase* (Gpx) mempunyai sifat yang sama dalam mengkatalisis  $H_2O_2$ . Namun, glutathion peroksidase mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap  $H_2O_2$  daripada katalase. Hal ini disebabkan adanya perbedaan kinetik dari kedua enzim tersebut. Katalase mengkatalisis  $H_2O_2$  secara linier sesuai dengan konsentrasi  $H_2O_2$ , sedangkan *glutathion peroksidase* menjadi jenuh pada konsentrasi  $H_2O_2$  di bawah  $10^{-5}$  mol/L. Ketika konsentrasi  $H_2O_2$  sangat rendah atau pada kondisi normal maka glutathion peroksidase mempunyai peran yang lebih dominan untuk mengkatalisis  $H_2O_2$  daripada katalase (Day, 2009).

### **2.3.2 Peranan katalase pada vitiligo**

Hipotesis biokimiawi menyatakan terjadi peningkatan sintesis *hydrobiopterin*, suatu kofaktor hidrosilase tirosin yang menghasilkan peningkatan katekolamin dan ROS yang toksik untuk melanosit. Penurunan kadar katalase dan peningkatan konsentrasi

$H_2O_2$  pada kulit penderita vitiligo memperkuat hipotesis biokimiawi. Riset dasar biokimiawi menemukan bahwa pada penderita vitiligo terjadi akumulasi  $H_2O_2$ , kadar katalase di seluruh epidermis menurun, namun ekspresi mRNA katalase tetap tidak berubah. Uniknya, limfosit darah tepi pada penderita vitiligo juga memiliki kadar katalase yang rendah dan sel-sel ini rentan terhadap tekanan (stres).  $H_2O_2$  dapat memodulasi respons sel-sel Langerhans epidermis pada vitiligo. Didapatkan hubungan langsung antara tekanan  $H_2O_2$  dan kerusakan sel, serta onset respon imun seluler adaptif (Schallreuter dkk., 1999)

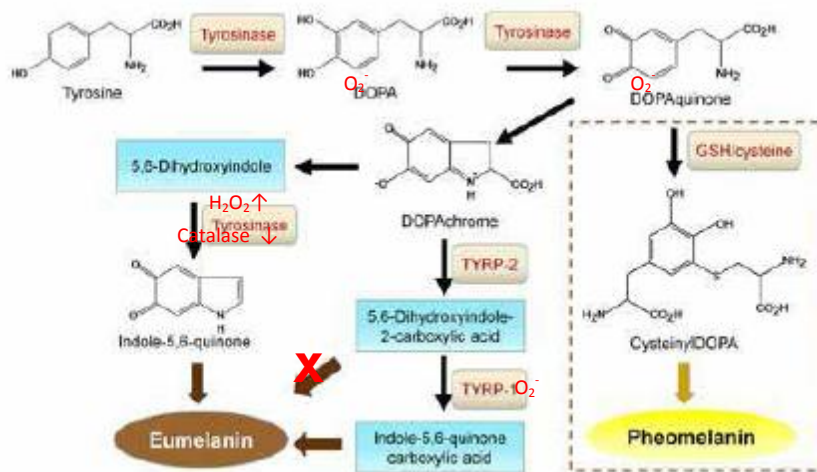
Komponen *fluorescent* pada epidermis penderita vitiligo adalah *oxidized pterins*. Defek sintesis  $6BH_4$  (*tetrahydrobiopterin*) memicu produksi  $H_2O_2$  dan  $7BH_4$  pada vitiligo. Defek sintesis pterin berpasangan dengan stres oksidatif dapat langsung mempengaruhi integritas dan populasi melanosit pada vitiligo terutama karena sitotoksitas *6-biopterin* dan *oxidized pterins* lainnya. Selain itu, kadar noradrenalin di kulit dan plasma pada penderita vitiligo aktif meningkat, kadar *catecholamine metabolites* di urin juga tinggi; peningkatan sintesis ini menyebabkan induksi *monoamine oxidase A* (MAO-A) dan *catecholamine-degrading enzymes monoamine oxidase A* (COMT) (Lotti dan Hercogova, 2004; Schallreuter dan Salem, 2010). *Biopterin pathway* pada melanogenesis disajikan pada Gambar 2.8 (Casp, 2003).



Gambar 2.8  
Melanogenesis Pathway (Casp, 2003)

Sintesis melanin melibatkan reaksi oksidasi dan pembentukan anion superoksida dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang menyebabkan melanosit terpapar oleh stres oksidatif. Terbatasnya sintesis melanin dalam melanosom melindungi organel sel lainnya dari kerusakan oksidatif. Reaksi katalitik tirosinase yang mengoksidasi tirosin menjadi dopa, dan selanjutnya *dopaquinone*, akan menyebabkan pelepasan  $O_2^-$ . *Dopaquinone* kemudian diubah menjadi *dopachrome* melalui suatu reaksi pertukaran *redox*. Setelah mengalami dekarboksilasi spontan, *dopachrome* dapat menghasilkan *dihydroxyindole* (5,6-DHI) yang kemudian mengalami oksidasi menjadi *indolequinone* atau menghasilkan *dihydroxyindole carboxylic acid* (5,6-DHICA) yang kemudian diubah menjadi *quinone* setelah mengalami tautomerisasi dengan *tyrosine related protein 2* (TRP2). Siklus *redox* dari *indole* menjadi *quinone* ini menghasilkan ROS. Polimerisasi dari *quinone* reaktif ini akan membentuk

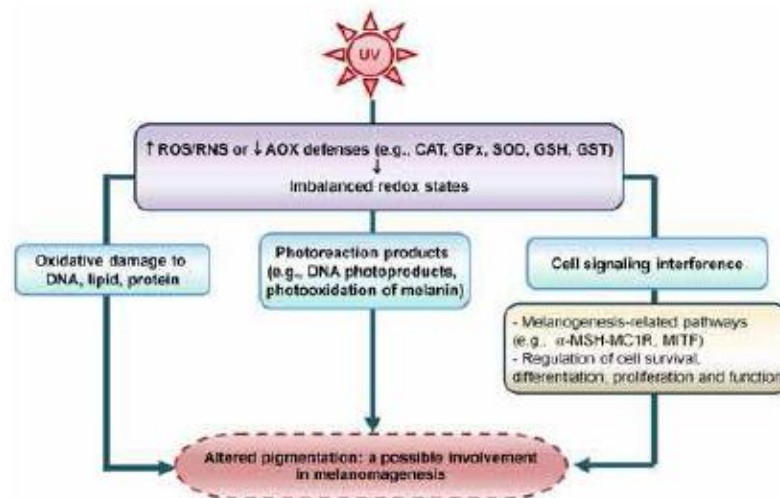
eumelanin berwarna coklat/hitam. Sedangkan feomelanin yang berwarna kuning-merah berbeda dengan eumelanin, dalam hal sintesisnya yang menghasilkan *cysteinyl-dopa* yang diubah menjadi derivat *benzothiazine*, sehingga pro-oksidan yang diinduksi paparan sinar yang lebih tinggi pada feomelanin dibandingkan eumelanin. Keseluruhan proses tersebut disajikan pada Gambar 2.9 (Denat, 2014).



Gambar 2.9  
Pembentukan ROS pada Sintesis Melanin(Panich, 2011)

Pasien vitiligo diketahui memiliki kadar  $H_2O_2$  yang tinggi pada epidermisnya. Peningkatan kadar hidrogen peroksida selanjutnya akan menurunkan aktivitas katalase sebagai sistem antioksidan sehingga semakin memperberat stres oksidatif yang terjadi (Denat, 2014). Kadar  $H_2O_2$  yang tinggi dapat menonaktifkan dan mengurangi kadar *methionine sulfoxide reductase* A dan B serta *thioredoxin/thioredoxin reductase* yang memperberat stres oksidatif yang terjadi dan menyebabkan kematian melanosit pada vitiligo (Schallreuter dkk., 2008; Zhou dkk., 2009). Lebih jauh lagi kadar  $H_2O_2$  yang tinggi pada epidermis diketahui dapat

menyebabkan reaksi oksidasi dari peptida bioaktif ACTH dan  $\alpha$ -MSH yang berasal dari proopiomelanokortin, dimana kedua peptida ini memiliki peranan sebagai antioksidan dan dapat mempengaruhi ketahanan melanosit. (Kadekaro dkk., 2005; Spencer dkk., 2007). Perubahan pigmentasi akibat stres oksidatif yang diinduksi UV disajikan pada Gambar 2.10 (Panich, 2011).



Gambar 2.10  
Perubahan Pigmentasi Akibat Stres Oksidatif yang Diinduksi UV (Panich, 2011)

Penelitian tentang keterlibatan ROS dalam patogenesis vitiligo dilakukan dengan pengukuran kadar biomarker stres oksidatif, diantaranya adalah katalase. Arican dan Kurutas(2008) melakukan pemeriksaan kadar katalase serum pada 16 subyek dengan vitiligo lokalisata dibandingkan dengan 16 kontrol sehat, didapatkan aktivitas katalase secara signifikan lebih rendah ( $p < 0.06$ ) pada subyek dengan vitiligo. Pada penelitian lain dilakukan pemeriksaan kadar katalase jaringan pada 10 subyek vitiligo aktif, 10 subyek vitiligo stabil dan 20 kontrol sehat, didapatkan kadar

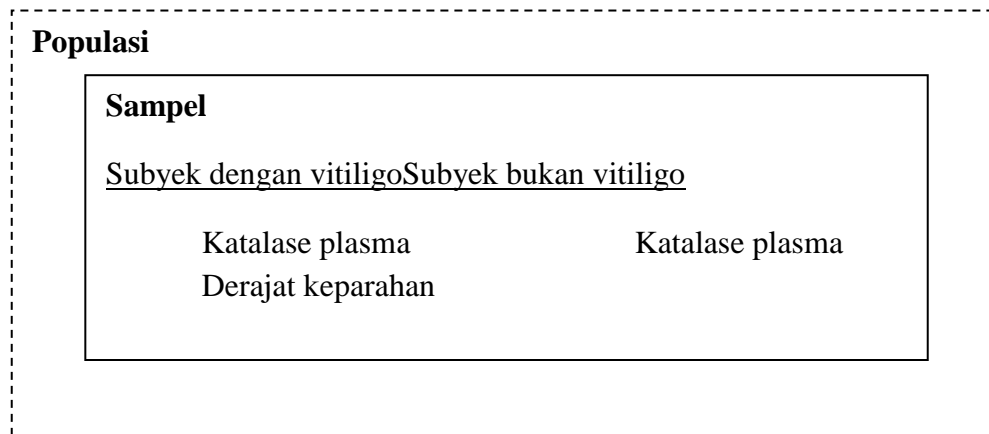
katalase jaringan menurun secara signifikan pada penderita vitiligo aktif dibandingkan dengan vitiligo stabil dan kontrol sehat (Damak dkk., 2009). Savrani dkk.(2009) juga membandingkan kadar katalase pada lesi vitiligo dan non-vitiligo penderita, didapatkan kadar katalase yang rendah pada kulit penderita vitiligo. Penelitian molekuler yang berhubungan dengan penurunan aktivitas katalase menemukan adanya keterlibatan mutasi genotif heterozigot untuk T/C SNP pada CAT exon 9 dalam menentukan suseptibilitas seorang individu menderita vitiligo (Casp, 2003).

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan *cross-sectional* analitik yang bertujuan untuk mengetahui korelasi antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan vitiligo. Secara skematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.1 di bawah ini:



Gambar 4.1 Rancangan *Cross-Sectional*

#### 4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Poliklinik Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Sanglah Denpasar yang dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Juni 2015. Anamnesis, pemeriksaan fisik, dan penghitungan derajat keparahan dilakukan di Poliklinik Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP)



Sanglah Denpasar sedangkan pemeriksaan kadar katalase plasma dilakukan di Unit Pelayanan Teknis Laboratorium Analitik Universitas Udayana Denpasar.

### **4.3 Penentuan Sumber Data**

#### **4.3.1 Populasi**

1. Populasi target adalah semua penderita vitiligo.
2. Populasi terjangkau adalah semua penderita vitiligo yang berkunjung ke Poliklinik Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Sanglah Denpasar pada bulan April sampai dengan Juni 2015.

#### **4.3.2 Sampel penelitian**

Sampel penelitian ini adalah penderita vitiligo yang berobat ke Poliklinik Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Sanglah Denpasar pada bulan April sampai dengan Juni 2015. Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik *consecutive sampling* yaitu mengambil setiap penderita yang didiagnosis sebagai vitiligo dan memenuhi kriteria penerimaan sampel penelitian.

#### **4.3.3 Kriteria inklusi dan eksklusi penelitian**

##### 4.3.3.1 Kriteria inklusi

- a. Semua penderita vitiligo yang berkunjung ke Poliklinik Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Sanglah Denpasar.
- b. Bangsa Indonesia.
- c. Keadaan umum baik.
- d. Bersedia mengikuti penelitian dan menandatangani lembar *informed consent*.

#### 4.3.3.2 Kriteria eksklusi

- a. Subjek yang telah mendapat pengobatan vitiligo baik sistemik, topikal, maupun fototerapi minimal 2 minggu sebelumnya.
- b. Subjek adalah seorang wanita hamil.
- c. Subjek adalah seorang perokok.
- d. Subjek yang memiliki riwayat diabetes melitus, penyakit jantung dan kardiovaskuler, artritis reumatoid, infeksi tuberkulosis, asma dan atopi, serta penyakit keganasan.
- e. Subjek yang mengkonsumsi obat-obatan anti inflamasi non steroid dalam 1 bulan terakhir.
- f. Subjek sedang mengkonsumsi antioksidan dalam 1 bulan terakhir.

#### 4.3.4 Besar sampel

Untuk menentukan besar sampel penelitian analitik korelatif, maka digunakan rumus *Ronald Fisher's Classic Z transformation* sebagai berikut (Dahlan, 2008; Madiyono dkk., 2010):

$$n = \left( \frac{Z_{\alpha} + Z_{\beta}}{0,5 \ln[(1+r)/(1-r)]} \right)^2 + 3$$

Untuk kepentingan itu, pada penelitian ini menggunakan koefisien korelasi ( $r=0,5$ ), interval kepercayaan yang dikehendaki sebesar 95% ( $\alpha=0,05$ ;  $Z_{\alpha}=1,96$ ), dan *power* penelitian sebesar 80% ( $\beta=0,20$ ;  $Z_{\beta}=0,842$ ). Berdasarkan perhitungan dengan

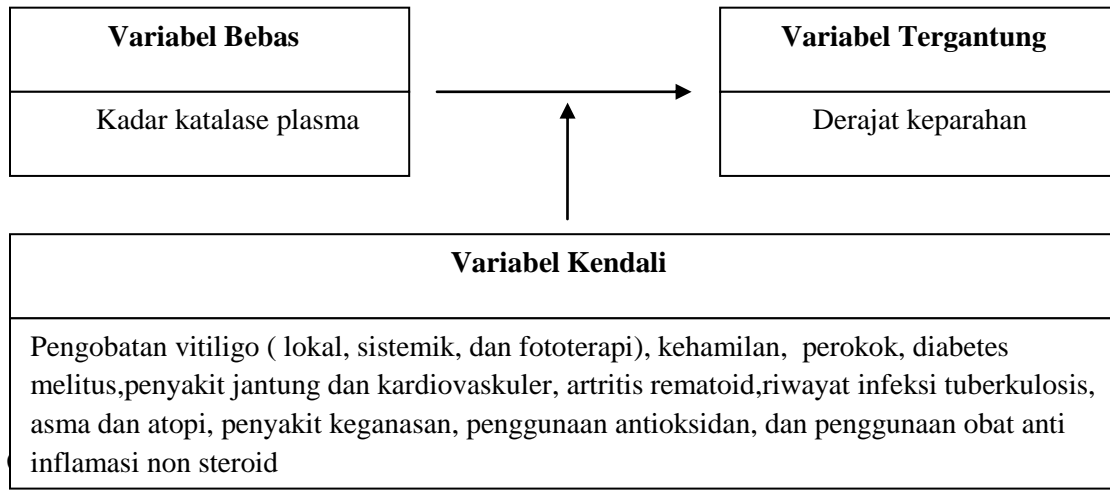
menggunakan rumus di atas maka jumlah sampel minimal (n) yang diperlukan untuk rancangan ini adalah 30 orang.

#### **4.4 Variabel Penelitian**

##### **4.4.1 Klasifikasi dan identifikasi variabel**

Variabel penelitian adalah karakteristik sampel penelitian yang diukur secara numerik maupun kategorikal. Adapun variabel pada penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas adalah kadar katalase plasma yang digolongkan sebagai variabel numerik.
2. Variabel tergantung adalah derajat keparahan yang digolongkan sebagai variabel numerik.
3. Variabel kendali adalah pengobatan vitiligo ( lokal, sistemik, dan fototerapi ), kehamilan, perokok, diabetes melitus, penyakit jantung dan kardiovaskuler, artritis rematoid, riwayat infeksi tuberkulosis, asma dan atopi, penyakit keganasan, penggunaan antioksidan, dan penggunaan obat anti inflamasi non steroid.



Gambar 4.2 Bagan Hubungan antar Variabel

#### 4.4.2 Definisi operasional variabel

1. Vitiligo adalah suatu penyakit yang ditandai oleh makula depigmentasi dengan batas tegas dan ukuran bervariasi, dan dapat dijumpai pada kulit, mukosa maupun folikel rambut. Diagnosis vitiligo ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik, maupun penunjang berupa lampu Wood dengan gambaran lesi yang lebih teraksentuasi atau lebih jelas dibandingkan kulit sekitar.
2. Derajat keparahan vitiligo adalah derajat dan persentase depigmentasi dan repigmentasi lesi, yang diukur berdasarkan perhitungan skor VASI. Skor VASI diperoleh dari penjumlahan area vitiligo dan derajat pigmentasinya, dengan rentang skor minimal 0 dan skor maksimal 100. Derajat keparahan vitiligo diklasifikasikan menjadi derajat keparahan ringan (skor VASI <5), sedang (skor VASI 5-10) dan berat (skor VASI >10).

3. Bukan vitiligo adalah individu yang tidak memiliki gambaran klinis vitiligo.
4. Kadar katalase plasma adalah kadar katalase dalam plasma yang diambil dari darah vena sebanyak 3 ml dan diukur menggunakan metode spektrofotometri dengan satuan Unit/mL.
5. Umur penderita adalah umur yang dihitung dari tanggal lahir yang tertera pada KTP atau identitas lainnya hingga saat pemeriksaan, diperoleh melalui teknik wawancara.
6. Jenis kelamin penderita adalah laki-laki atau perempuan, ditetapkan berdasarkan jenis kelamin yang tercantum pada kartu tanda penduduk (KTP), diperoleh melalui teknik wawancara.
7. Pengobatan vitiligo adalah pengobatan yang diterima subyek yang bertujuan untuk mengurangi atau menghilangkan bercak depigmentasi yang terjadi baik secara topikal, sistemik, maupun dengan fototerapi yang diperoleh melalui teknik wawancara.
8. Perokok adalah subyek dengan riwayat sedang atau pernah mengonsumsi rokok dalam kurun waktu kurang atau sama dengan 2 minggu sebelumnya, yang diperoleh melalui teknik wawancara.
9. Kehamilan adalah wanita yang menunjukkan tanda-tanda kehamilan yang didukung oleh data tentang hari pertama haid terakhir (HPHT), diperoleh melalui teknik wawancara.

10. Diabetes melitus adalah riwayat memiliki penyakit kencing manis atau adanya tanda-tanda kencing manis seperti sering haus, sering kencing, sering merasa lapar dan penurunan berat badan yang diperoleh melalui teknik wawancara.
11. Penyakit kardiovaskular dan aterosklerosis adalah riwayat penyakit jantung yang pernah atau sedang dialami penderita yang diperoleh melalui teknik wawancara.
12. Penyakit artritis rematoid adalah riwayat menderita penyakit artritis reumatoid atau ditemukannya tanda-tanda deformitas pada sendi kecil pada jari-jari tangan dan kaki, tulang leher bagian belakang atau juga pada sendi yang lebih besar seperti sendi bahu dan lutut serta terdapatnya kekakuan sendi terutama pada pagi hari sehingga membatasi pergerakan yang diperoleh melalui teknik wawancara.
13. Infeksi tuberkulosis adalah riwayat infeksi tuberkulosis atau tanda-tanda infeksi tuberkulosis seperti batuk kronis, batuk darah, keringat malam dan penurunan berat badan yang diperoleh melalui teknik wawancara.
14. Asma dan riwayat atopi adalah riwayat adanya sesak nafas yang disertai mengi atau adanya riwayat atopi seperti bersin pagi hari, mudah alergi dingin dan debu, riwayat gatal pada lipatan tangan dan kaki yang simetris dalam penderita dan keluarga yang diperoleh melalui teknik wawancara.
15. Penyakit keganasan adalah adanya riwayat atau sedang menderita penyakit keganasan/kanker yang diperoleh melalui teknik wawancara.

16. Penggunaan obat anti inflamasi non steroid adalah subyek dengan riwayat sedang atau pernah mengkonsumsi obat anti inflamasi non steroid dalam kurun waktu kurang atau sama dengan 1 bulan sebelumnya yang diperoleh melalui teknik wawancara.
17. Penggunaan antioksidan adalah subyek dengan riwayat sedang atau pernah mengkonsumsi antioksidan dalam kurun waktu kurang atau sama dengan 1 bulan sebelumnya sebelumnya yang diperoleh melalui teknik wawancara.

#### **4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian**

##### **4.5.1 Bahan sampel**

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah vena dari subyek penelitian.

##### **4.5.2 Reagen**

Reagen untuk pemeriksaan kadar katalase plasma adalah:

1. *Chromogen* : 4-aminophenazone, 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid in phosphate buffer, 2 x 110 mL.
2. *Substrate* : 30% hydrogen peroxide, 300  $\mu$ L.
3. *HRP* : Horseradish peroxidase in phosphate buffer, 400  $\mu$ L.
4. *Buffer* : Phosphate buffer, 60 mL.
5. *Sample Diluent* : Surfactant in phosphate buffer, 250 mL.
6. *Substrate Diluent*: Phosphate buffer , 2 x 30 mL.
7. *Stop Reagent* : Sodium azide, 2 x 30 mL.

8. *Standard* : *Catalase, approximately 160 U/vial, lyophilized, 2 vials*  
*Chromogen: 4-aminophenazone*  
*Reagen R1a: xantin dan 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.)*

#### **4.5.3 Instrumen penelitian**

Pengumpulan data dilakukan dengan wawancara, pemeriksaan fisik dan pengambilan sampel darah. Untuk menegakkan diagnosis vitiligo digunakan lembaran pemeriksaan status dermatologi, seperti tampak pada lampiran dan lampu Wood. Untuk pengukuran kadar katalase dilakukan dengan metode *Cayman* dan memerlukan peralatan berupa sarung tangan, tourniket, spuit, tabung dengan antikoagulan *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), *plate reader* dengan filter 540 nm (*high-binding solid plate* dan *cover sheet*), *adjustable pipettor* dan *repeating pipettor*, air terdestilasi, dan metanol.

#### **4.6 Prosedur Penelitian**

1. Pemilihan sampel penelitian berdasarkan kriteria penerimaan sampel dengan melakukan anamnesis dan pemeriksaan fisik.
2. Diagnosis vitiligo ditegakkan berdasarkan pemeriksaan fisik adanya makula depigmentasi pada kulit dan dengan bantuan lampu Wood.
3. Penderita yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diminta untuk menandatangani *informed consent* sebagai persetujuan keikutsertaan dalam penelitian. Penderita yang tidak memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dikeluarkan dari subyek penelitian.



4. Dilakukan penghitungan skor VASI, tubuh penderita dibagi menjadi 5 bagian yaitu tangan, ekstremitas atas (tidak termasuk tangan), badan, ekstremitas bawah (tidak termasuk kaki) dan kaki. Satu *hand unit*, yang mencakup telapak tangan dan permukaan volar dari jari tangan diperkirakan sebanyak 1% dan digunakan untuk menilai jumlah area yang terlibat di setiap regio. Derajat depigmentasi ditentukan berdasarkan gambaran lesi yang dinilai dengan skor 0%, 10%, 25%, 50%, 75%, 90%, 100%. Derajat 100% depigmentasi berarti tidak ada pigmen yang tampak, pada 90% terdapat bercak pigmen yang tampak, pada 75% area depigmentasi melebihi area pigmentasi, pada 50% area yang mengalami depigmentasi dan yang mengalami pigmentasi adalah sama banyak, pada 25% area pigmentasi melebihi area depigmentasi, pada 10% hanya terdapat bercak depigmentasi, dan 0% tidak terdapat bercak depigmentasi.

Untuk setiap bagian tubuh skor VASI ditentukan dengan menjumlahkan area vitiligo dalam *hand units* dan derajat depigmentasi dalam setiap *hand unit* yang diperiksa dengan rentang skor antara 0 hingga 100.

5. Pengambilan darah vena pada sampel penelitian sebanyak 3 cc dan ditampung dalam tabung yang berisi EDTA.
6. Pemeriksaan kadar katalase plasma dilakukan di Unit Pelayanan Teknis Laboratorium Analitik Universitas Udayana Denpasar.

a. Persiapan sampel

Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung dengan EDTA, diamkan hingga terbentuk *clotting* pada suhu kamar kurang lebih selama 30 menit. Pada sampel darah dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 700 – 1000 x g selama 10 menit pada suhu 4°C, ambil lapisan plasma kekuningan pada bagian atas tanpa mengenai lapisan bening (leukosit) yang ada. Simpan plasma menggunakan es atau bekukan pada suhu -80°C. Sampel plasma dapat tetap stabil paling tidak selama 1 bulan.

b. Prosedur analisis katalase

Semua langkah pemeriksaan dilakukan secara bertahap meliputi persiapan *plate*, persiapan *standard* dan pemeriksaan katalase plasma. Pertama-tama tambahkan 100 µl *diluted assay buffer*, 30 µl *methanol* dan 20 µl *formaldehyde standard* masing-masing pada sumur yang telah dipersiapkan pada *plate*, dilanjutkan dengan pembuatan sumur kontrol positif menggunakan 100 µl *diluted assay buffer*, 30 µl *methanol* dan 20 µl *diluted catalase*.

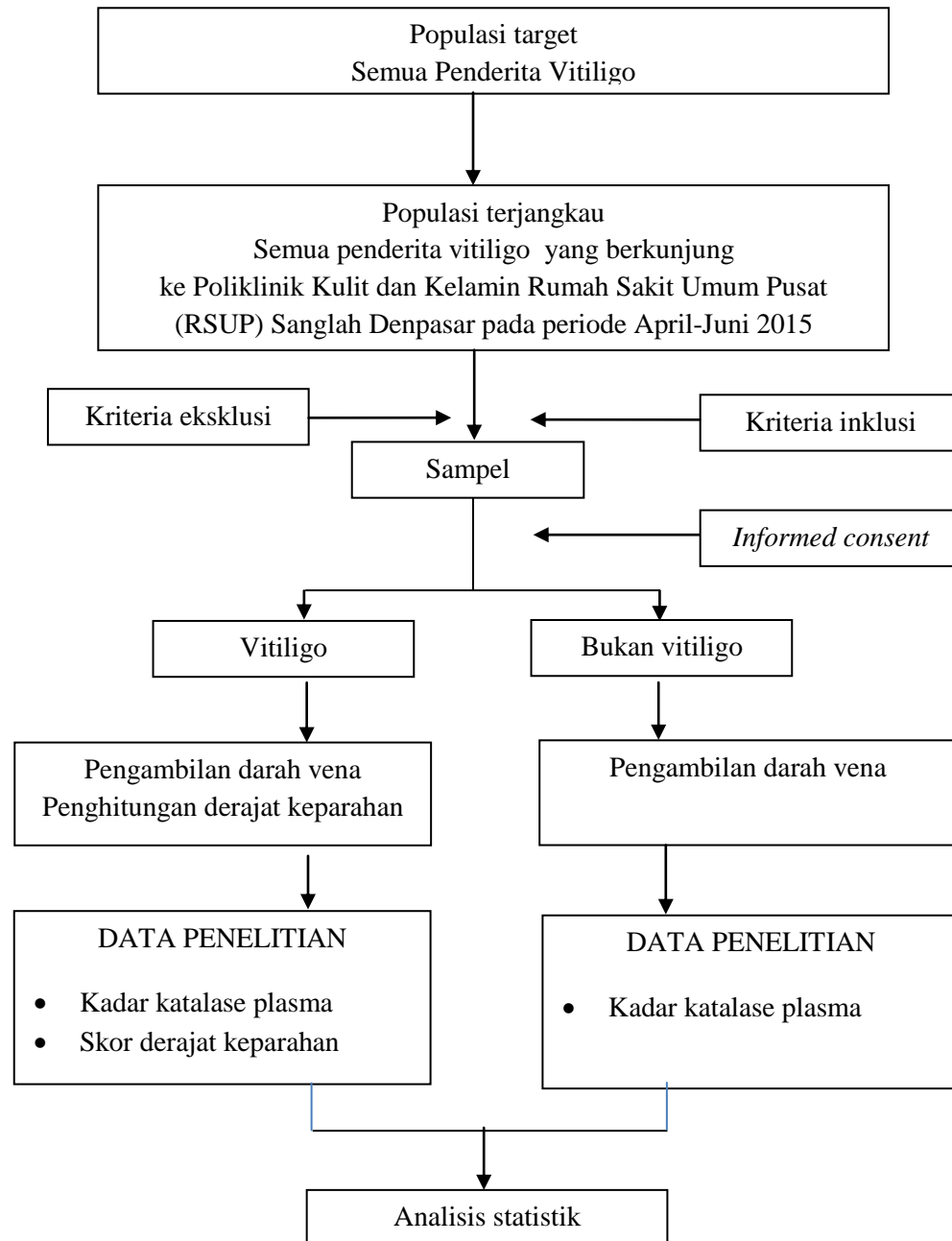
Pemeriksaan sampel dilakukan dengan menambahkan 100 µl *diluted assay buffer*, 30 µl *methanol* dan 20 µl sampel pada dua sumur. Untuk mendapatkan hasil yang baik, jumlah CAT yang ditambahkan pada sumur harus dapat menghasilkan aktivitas antara 2-35 nmol/min/ml. Jika diperlukan, sampel dapat didilusi dengan *diluted sample buffer* atau diatur konsentrasinya menggunakan *sentrifuge Amicon concentrator* hingga *cut off* berat molekul

yang diperoleh adalah 100.000 dan mencapai aktivitas enzimatis pada kadar tertentu.

Pemeriksaan dilanjutkan dengan menambahkan 20  $\mu\text{l}$  *diluted hydrogen peroxide* pada masing-masing sumur pada *plate* untuk menginisiasi reaksi, kemudian tutup *plate* dengan *plate cover* dan inkubasi pada *shaker* selama 20 menit pada suhu ruang. Tambahkan 30  $\mu\text{l}$  *potassium hydroxide* pada masing-masing sumur untuk menghentikan reaksi kemudian tambahkan 30  $\mu\text{l}$  *catalase purpald (chromogen)*, lalu tutup *plate* dengan *plate cover* dan inkubasi pada *shaker* selama 10 menit pada suhu ruang. Selanjutnya tambahkan 10  $\mu\text{l}$  *catalase potassium periodate* pada masing-masing sumur lalu tutup *plate* dengan *plate cover* dan inkubasi pada *shaker* selama 5 menit pada suhu ruang. Baca penyerapan dengan spektrofotometer *plate reader* 540 nm.

#### 4.7 Alur Penelitian

Untuk lebih mempermudah dalam pelaksanaan penelitian, maka dibuat alur penelitian yang ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Bagan Alur Penelitian

#### 4.8 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah analisis data untuk penelitian observasional analitik:

1. Data disajikan secara deskriptif untuk menggambarkan karakteristik umum subyek dengan vitiligo dan bukan vitiligo, meliputi: umur, jenis kelamin, pola dan aktivitas vitiligo serta riwayat vitiligo di keluarga.
2. Dilakukan uji normalitas pada data penelitian yang berupa variabel numerik yaitu kadar katalase plasma dan derajat keparahan, menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel  $\leq 50$ . Data berdistribusi normal bila  $p > 0,05$ .
3. Dilakukan uji homogenitas distribusi kadar katalase plasma antara subyek vitiligo dengan bukan vitiligo menggunakan uji varian Levene's *test*.
4. Analisis komparasi dilakukan untuk menguji perbandingan rerata kadar katalase plasma antara subyek vitiligo dengan bukan vitiligo, menggunakan metode uji T tidak berpasangan (*independent sample T test*). Selain itu perbandingan rerata kadar katalase plasma pada masing-masing derajat keparahan dianalisis menggunakan uji *one way anova* karena data berdistribusi normal dan varians data homogen, yang selanjutnya dilakukan uji *post-hoc*.
5. Analisis korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan vitiligo dengan menggunakan uji Spearman's *rho*.

**BAB V**  
**HASIL PENELITIAN**

**5.1 Karakteristik Subyek Penelitian**

Data karakteristik subyek penelitian meliputi jenis kelamin, umur, pola dan aktivitas vitiligo, riwayat keluarga, derajat keparahan (skor VASI), dan katalase disajikan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian

No	Karakteristik	Vitiligo (n = 32)		Bukan Vitiligo (n = 20)	
		n	%	n	%
1	<b>Jenis Kelamin</b>				
	<b>Laki-laki</b>	17	53,1	13	65,0
	<b>Perempuan</b>	15	46,9	7	35,0
2	<b>Umur (tahun)</b>				
	<b>15-24</b>	2	6,2	1	5,0
	<b>25-34</b>	5	15,6	8	40,0
	<b>35-44</b>	7	21,9	7	35,0
	<b>45-54</b>	8	25,0	3	15,0
	<b>55-66</b>	10	31,2	1	5,0
3	<b>Pola Vitiligo</b>				
	<b>Segmental</b>	4	12,5	-	-
	<b>Non-Segmental</b>	28	87,5	-	-
4	<b>Aktivitas Vitiligo</b>				
	<b>Aktif</b>	20	62,5	-	-
	<b>Stabil</b>	12	37,5	-	-
5	<b>Riwayat Keluarga</b>				
	<b>Ya</b>	3	9,4	-	-
	<b>Tidak</b>	29	90,6	-	-
5	<b>VASI</b>				
	<b>(Rerata ± SD)</b>	7.41 ± 3.74		-	
6	<b>Katalase (U/ml)</b>				
	<b>(Rerata ± SD)</b>	65.29 ± 3.16		84.74 ± 3.82	

n = jumlah, SD = standar deviasi

Padapenelitianinidigunakan 32 subyekvtiligodan 20 subyekbukanvtiligo. Rerataumursubyekvtiligoadalah  $45,08 \pm 13,029$  tahun dengan median 45,50 tahun, umur minimum adalah 15 tahun dan umur maksimum adalah 66 tahun. Rerataumursubyekbukanvtiligoadalah  $36,60 \pm 9,907$  tahun dengan median 36 tahun, umur minimum adalah 24 tahun dan umur maksimum adalah 55 tahun.

Padasubyekvtiligoberdasarkanjeniskelamindidapatkanbahwalaki-laki (53,1%) lebihbanyakdibandingkanperempuan (46,9%), demikian pula padasubyekbukanvtiligodidapatkanlaki-laki (65%) lebihbanyakdibandingkanperempuan (35%). Kelompokumrsubyekvtiligo yang paling banyakadalah 55-66 tahunsebesar 31,2%, sedangkanpadakelompokumrsubyekbukanvtiligo yang paling banyakadalah 25-34 tahunsebesar 40%

Padasubyekvtiligodidapatkanbahwapola non-segmental (87,5%) lebihbanyakdibandingkanpola segmental (12,5%). Kategoriaktivitasvtiligo yang paling banyakditemukanadalahkategoriaktif (62,5%) dibandingkankategoristabil (37,5%). Didapatkanriwayatvtiligo di keluarga (3%) padasubyekvtiligo.

## 5.2 UjiNormalitas Data

Pada data penelitiankadarkatalaseplasma danskor VASI padasubyekdenganvtiligodilakukanujinormalitassepertidisajikanpadaTabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Data

No.	Variabel	<i>p</i>
1	Katalase	0.312
2	VASI	0.044

*p* = nilai signifikansi ( $p > 0,05$ )

Berdasarkan Tabel 5.2 didapatkan bahwa data kadar katalase plasma menggunakan uji Saphiro-Wilk berdistribusi normal karena nilai  $p = 0,312$  ( $p > 0,05$ ), sedangkan data skor VASI berdistribusi tidak normal karena nilai  $p = 0,044$  ( $p < 0,05$ ).

### 5.3 Kadar Katalase Plasma pada Subyek Vitiligo dan bukan Vitiligo

Rerata kadar katalase plasma pada subyek dengan vitiligo (65,29 U/mL) ditemukan lebih rendah dibandingkan dengan subyek bukan vitiligo (84,74 U/mL), dengan bedanya rerata kadar katalase plasma antara subyek dengan vitiligo dan bukan vitiligo pada penelitian ini adalah 19,45 U/mL. Setelah dilakukan uji T tidak berpasangan (*independent T-test*) didapatkan bahwa kadar katalase plasma pada subyek vitiligo berbeda secara signifikan dengan subyek bukan vitiligo dengan nilai  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Data tersebut disajikan pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3  
Beda Rerata Katalase Subyek Vitiligo dan bukan vitiligo

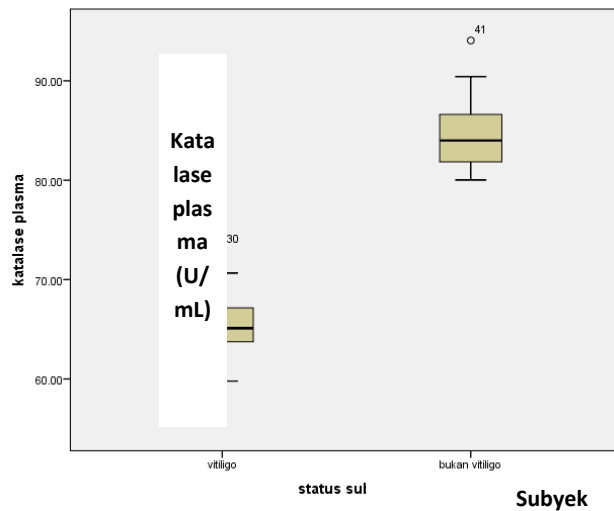
Variabel	Vitiligo (n=32)	Bukan Vitiligo (n=20)	Beda rerata	<i>p</i>	IK 95%
Katalase ( U/ml)	65.29 ± 3.16	84.74 ± 3.82	19.45	<0.001	-21.41-(-17.49)



### Rerata $\pm$ SD

$p$  = nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ), IK = interval kepercayaan

Gambar *box plot* menunjukkan nilai kadar katalase plasma berdasarkan kelompok vitiligo dan bukan vitiligo. Rerata kadar katalase plasma pada kelompok vitiligo lebih rendah dibandingkan kelompok bukan vitiligo dan didapatkan perbedaan yang bermakna karena batas atas kelompok vitiligo tidak berhimpitan dengan batas bawah kelompok bukan vitiligo, seperti disajikan pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1  
Grafik *Box Plot* Perbandingan Kadar Katalase Plasma pada Subyek Vitiligo dan bukan Vitiligo

#### 5.4 Kadar Katalase Plasma Berdasarkan Derajat Keparahan Vitiligo

Pada data kadar katalase plasma diketahui distribusi data normal dan varian data homogen, sehingga memenuhi syarat uji *one way anova*. Nilai  $p$  yang didapatkan adalah

=0,026 ( $p < 0,05$ ), yang artinya paling tidak terdapat perbedaan rerata kadar katalase plasma pada dua kelompok derajat keparahan seperti yang disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Kadar Katalase Plasma Berdasarkan Derajat Keparahannya

No	Derajat keparahan	Jumlah (n = 32)	Katalase (U/mL) Rerata $\pm$ SD	<i>p</i>
1	Ringan (<5)	10	65,82 $\pm$ 2,84	0,026
2	Sedang (5-10)	14	65,34 $\pm$ 3,35	
3	Berat (>10)	8	62,77 $\pm$ 1,79	

n = jumlah, SD = standar deviasi,  $p$  = nilai signifikansi (berbeda bermakna bila  $p < 0,05$ )

Untuk menentukan kelompok mana yang berbed secara bermakna maka analisis dilanjutkan dengan analisis *post-hoc*. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa rerata kadar katalase plasma pada kelompok derajat keparahan ringan-berat dan kelompok derajat keparahan sedang-berat didapatkan berbed secara bermakna dengan nilai  $p < 0,05$  seperti yang disajikan pada Tabel 5.5.

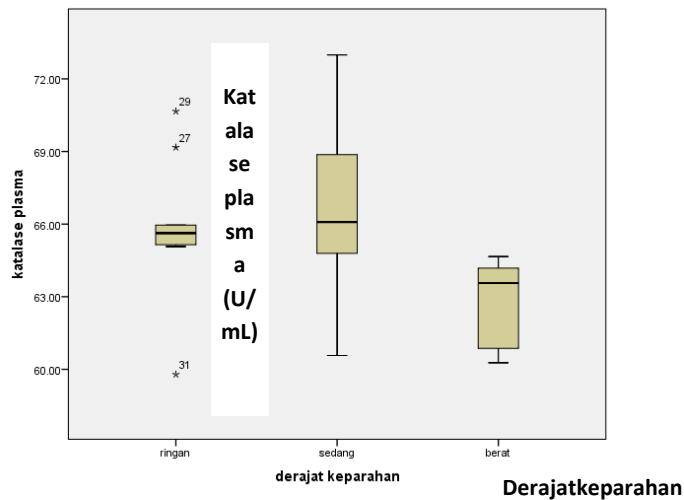
Tabel 5.5  
Perbandingan Beda Rerata Kadar Katalase Plasma pada tiap Kelompok Derajat Keparahannya

Kelompok derajat keparahan yang dibandingkan	Beda rerata	Nilai <i>p</i> antar kelompok
Ringan dan sedang	0,52	0,666
Ringan dan berat	3,05	0,033*
Sedang dan berat	3,57	0,009*

$p$  = nilai signifikansi (\*berbeda bermakna bila  $p < 0,05$ )

Gambar *box plot* hasil perbandingan rerata kadar katalase plasma antar derajat keparahan disajikan pada Gambar 5.2.

Padagrafiktersebutdapatdilihatbahwapembedaanbermaksnadidapatkanpadakelompokderajatkeparahanringan-beratdansedang-berat.



Gambar 5.2  
Grafik *Box Plot* Perbandingan Kadar Katalase Plasma Berdasarkan Derajat Keparahan

### 5.5 Korelasi antara Kadar Katalase Plasma dengan Derajat Keparahan

Untuk mengetahui korelasi antara kadar katalase dengan derajat keparahan yang dihitung dengan skor VASI pada penelitian ini dilakukan uji korelasi Spearman's rho karena salah satu data tidak berdistribusi normal yaitu data skor VASI. Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif yang sangat kuat ( $r = -0,866$ ;  $p < 0,001$ ) antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan, artinya semakin rendah kadar katalase plasma diikuti dengan derajat keparahan yang semakin berat. Pada uji regresi linear ditentukan koefisien determinasi untuk mengetahui sejauh mana kadar katalase plasma mempengaruhi derajat keparahan vitiligo ( $R^2 = 65\%$ ), artinya 65%

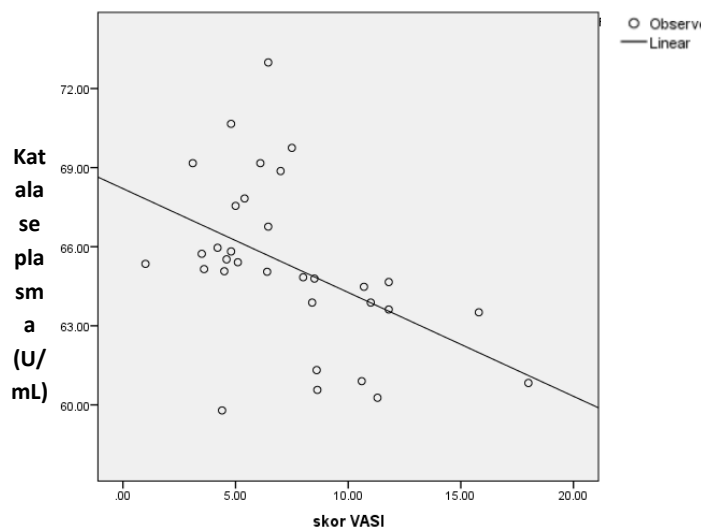
derajatkeparahan vitiligo dipengaruhi oleh kadar katalase plasma. Adapun nilai  $\beta$  kadar katalase plasma terhadap derajat keparahan adalah 0,37, yang berarti setiap penurunan kadar katalase plasma sebesar 1 U/mL akan meningkatkan derajat keparahan (skor VASI) sebesar 0,37 atau dapat diartikan penurunan kadar katalase plasma sebesar 3 U/mL akan meningkatkan derajat keparahan (skor VASI) sebesar 1, seperti disajikan pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6 Korelasi antara Kadar Katalase Plasma dengan Derajat Keparahan

Katalase	Derajat keparahan
<b>r</b>	-0.866
<b>p</b>	<0.001
<b>R<sup>2</sup></b>	65%
<b><math>\beta</math></b>	0,371
<b>n</b>	32

$r$  = koefisien korelasi,  $p$  = nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ),  $R^2$  = koefisien determinasi,  $\beta$  = konstanta pengaruh korelasi variable bebas terhadap variable tergantung,  $n$  = jumlah

Gambar scatter plot hasil korelasi antara kadar katalase plasma dan derajat keparahan disajikan pada Gambar 5.3. Pada grafik tersebut dapat dilihat bahwa semakin rendah kadar katalase plasma maka derajat keparahan semakin berat.



**Derajatkeparahan (Skor VASI)****Gambar 5.3**

Grafik *Scatter Plot* Korelasiantara Kadar KatalasePlasma denganDerajatKeparahan (skor VASI)

**BAB VI****PEMBAHASAN****6.1 Karakteristik Subyek Penelitian**

Penelitian ini melibatkan 32 subyek vitiligo yang masuk dalam kriteria inklusi dan 20 subyek bukan vitiligo, tidak ada subyek yang hilang dalam penelitian. Pada subyek vitiligo dan bukan vitiligo dilakukan pengambilan darah vena sebanyak 3 cc untuk pengukuran kadar katalase plasma serta perhitungan skor VASI untuk mengetahui derajat keparahan pada subyek vitiligo.

Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan frekuensi vitiligo antara jenis kelamin laki-laki yaitu sebesar 17 (53,1%) dibandingkan perempuan sebesar 15 (46,9%) dengan perbandingan antara laki-laki dan perempuan adalah 1,1 : 1. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Lily dkk. (2012) yang mendapatkan jenis kelamin laki-laki (46,7%) dibandingkan perempuan (53,3%) dengan rasio 0,87 : 1. Penelitian ini juga sesuai dengan penelitian oleh Nicolaidou dkk. (2007) yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan antara jenis kelamin laki-laki (50%) dan perempuan (50%).

Hal ini berbeda dengan penelitian Taieb dkk. (2007), didapatkan jenis kelamin perempuan lebih banyak (67,3%) dibandingkan dengan laki-laki (32,7%) dengan perbandingan 2 : 1. Demikian pula dengan hasil penelitian oleh Szcsurko dkk. (2011) yang mendapatkan perbandingan rasio antara perempuan dan laki-laki adalah 2 : 1.

Berdasarkan kategori umur, pada penelitian ini didapatkan kejadian vitiligo lebih banyak pada kelompok rentang umur 55-66 tahun sebanyak 10 orang (31,2%) seperti terlihat pada Tabel 5.1. Rerata umur subyek vitiligo adalah  $45,08 \pm 13,029$  tahun dengan median 45,50 tahun, umur minimum adalah 15 tahun dan umur maksimum adalah 66 tahun. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Lily dkk.(2012) yang mendapatkan rerata umur subyek dengan vitiligo adalah  $47 \pm 16,1$  tahun. Demikian pula dengan hasil penelitian Hamzavi dkk. (2004) yang mendapatkan rerata umur subyek vitiligo adalah  $47 \pm 12,7$  tahun dengan umur minimum 23 tahun dan umur maksimum 77 tahun. Pada penelitian oleh Nicolaidou dkk.(2007) didapatkan rerata umur  $39,5 \pm 14,7$  tahun dengan nilai minimum 8 dan nilai maksimal 68.

Vitiligo dapat menyerang baik pria maupun wanita dengan perbandingan rasio yang sama, namun dikatakan jumlah perempuan lebih banyak tercatat, sehubungan dengan keinginan untuk mencari pengobatan (Birlea dkk., 2012). Onset dapat dimulai sejak lahir dan berkembang pada masa anak-anak. Onset usia rata-rata adalah 20 tahun, namun separuh kasus muncul sebelum berusia 20 tahun, tersering pada usia 10-40 tahun. Kejadian pada usia reproduktif ini seringkali menyebabkan masalah

psikis hingga beban ekonomi sehubungan dengan prognosis vitiligo yang sulit diprediksi dan hasil pengobatan yang tidak optimal (Anurogo dan Ikrar, 2014). Rerata usia yang didapatkan pada penelitian ini diperkirakan karena sebagian besar penderita vitiligo mencari pengobatan pada usia yang lebih dewasa.

Berdasarkan Tabel 5.1 didapatkan pola vitiligo terbanyak pada penelitian ini adalah pola non-segmental sebesar 87,5%, sedangkan 12,5 % lainnya adalah pola segmental. Berdasarkan aktivitas vitiligo, pada subyek vitiligo didapatkan 62,5% dikategorikan sebagai vitiligo yang aktif, sedangkan 37,5% lainnya dikategorikan sebagai vitiligo yang stabil. Tipe segmental lebih jarang dijumpai dan ditandai oleh lesi fokal yang terlokalisir pada area tertentu. Tipe ini memiliki onset yang cepat dan perjalanan penyakit yang stabil. Tipe non-segmental lebih banyak dijumpai dan berpotensi mengalami evolusi sepanjang kehidupan, serta lebih sering dihubungkan dengan fenomena Koebner dan penyakit autoimun (Lotti dkk., 2008; Yaghoobi dkk., 2011).

Didapatkan riwayat vitiligo di keluarga (3%) pada subyek vitiligo. Hal ini sesuai dengan penelitian yang mendapatkan 20% dari penderita vitiligo memiliki anggota keluarga yang menderita vitiligo, dengan risiko relatif kejadiannya mencapai 7-10 kali lipat pada keluarga generasi pertama (Wolff dkk., 2007; Yaghoobi dkk., 2011). Terdapat bukti kuat keterkaitan suseptibilitas genetik (HLA, PTPN22, NALP1, CTLA4) yang dihubungkan dengan suseptibilitas autoimun (Spritz, 2008).

## **6.2 Kadar Katalase Plasma pada Subyek Vitiligo dan bukan Vitiligo**

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar katalase plasma pada subyek dengan vitiligo berbeda secara bermakna dibandingkan subyek bukan vitiligo dengan nilai  $p < 0,001$ . Kadar katalase plasma pada subyek dengan vitiligo didapatkan lebih rendah ( $65,29 \pm 3,16$  U/mL) dibandingkan subyek bukan vitiligo ( $84,74 \pm 3,82$  U/mL) seperti yang disajikan pada Tabel 5.3. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian El-Refaei dkk (2014) yang mendapatkan rerata kadar katalase plasma subyek dengan vitiligo lebih rendah secara signifikan ( $84,15 \pm 9,34$  U/mL) dibandingkan dengan subyek non-vitiligo ( $103,80 \pm 10,73$  U/mL) dengan nilai  $p < 0,001$ .

Selain pada plasma, beberapa hasil penelitian lain membuktikan bahwa penurunan kadar katalase dapat terjadi pada eritrosit dan sel mononuklear darah perifer, melanosit serta pada jaringan kulit (khususnya epidermis) pasien vitiligo. Penemuan tersebut mendukung konsep kemungkinan terjadinya stres oksidatif yang bersifat sistemik pada vitiligo (Sravani dkk., 2008).

Pada penelitian Arican dkk. (2008) didapatkan rerata kadar katalase eritrosit pada subyek vitiligo didapatkan lebih rendah secara signifikan ( $14,8 \pm 2,0$  U/gHb) dibandingkan subyek bukan vitiligo ( $16,67 \pm 1,5$  U/gHb) dengan nilai  $p < 0,05$ . Pada penelitian Agrawal dkk. (2014) juga didapatkan rerata kadar katalase eritrosit pada subyek vitiligo didapatkan lebih rendah ( $53,93 \pm 24,77$  IU/gmHb) dibandingkan dengan subyek non-vitiligo ( $65,83 \pm 18,32$  IU/gmHb) dengan nilai  $p = 0,001$ .

Berbeda halnya dengan penelitian Hazneci dkk. (2004) tidak didapatkan perbedaan signifikan rerata kadar kadar katalase eritrosit pada subyek vitiligo (



7232,71 ± 6871,77 K/g Hb) dibandingkan subyek bukan vitiligo ( 18109 ± 5002,9 K/gHb) dengan nilai  $p > 0,001$ . Perbedaan-perbedaan hasil tersebut mungkin disebabkan oleh metode laboratorium yang digunakan dan karakteristik populasi penelitian.

Pembentukan  $H_2O_2$  pada kulit sesungguhnya merupakan suatu proses biologi alamiah yang dialami setiap individu. Stres oksidatif terjadi akibat akumulasi berlebihan  $H_2O_2$  pada kulit. Katalase berperan dalam pemecahan  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen. Ketiadaan katalase menyebabkan akumulasi  $H_2O_2$ . Hal tersebut sesuai dengan hipotesis sitotoksik yang menyatakan bahwa stres oksidatif merupakan mekanisme patogenik awal yang menyebabkan degenerasi melanosit, terutama ditandai oleh akumulasi  $H_2O_2$  pada epidermis pasien dengan penyakit vitiligo aktif (Deo dkk., 2013).

Proses biokimia abnormal pada epidermis pasien vitiligo berperan dalam peningkatan kadar  $H_2O_2$ . Adanya aktivitas katalase yang normal dapat membantu menurunkan kadar  $H_2O_2$ , namun peningkatan kadar  $H_2O_2$  yang tidak terkompensasi juga dapat menonaktifkan aktivitas katalase. Aktivitas katalase yang rendah pada epidermis telah dilaporkan pada epidermis pasien vitiligo, walaupun masih banyak diteliti lebih lanjut apakah peningkatan kadar  $H_2O_2$  tersebut disebabkan oleh defek jalur  $6BH_4$  atau karena penyebab terpisah dari katalase enzim itu sendiri. Hal tersebut dibuktikan pada dengan pemberian pseudokatalase (suatu katalase sintetik yang mengandung *bis manganese* III-EDTA  $(HCO_3)_2$ ), menyebabkan repigmentasi pada pasien vitiligo, disertai dengan peningkatan aktivitas enzim DH dan tercapainya

kembali kadar  $7BH_4$  normal di epidermis (Schallreuter dkk., 2011). Penelitian Hazneci dkk.(2004) membuktikan hipotesis yang menyatakan bahwa stres oksidatif yang lebih berat atau kadar antioksidan yang tidak adekuat pada pasien vitiligo terjadi tidak terbatas pada kulit, namun juga dijumpai pada darah.

### **6.3 Kadar Katalase Plasma Berdasarkan Derajat Keparahan Vitiligo**

Pada data kadar katalase plasma diketahui distribusi data normal dan varian data homogen, sehingga memenuhi syarat uji *one way anova*. Nilai  $p$  yang didapatkan adalah  $p = 0,026$  ( $p < 0,05$ ), yang artinya paling tidak terdapat perbedaan rerata kadar katalase plasma pada dua kelompok derajat keparahan seperti yang disajikan pada Tabel 5.4.

Untuk menentukan kelompok mana yang berbeda secara bermakna maka analisis dilanjutkan dengan analisis *post-hoc*. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa rerata kadar katalase plasma pada kelompok derajat keparahan ringan-berat dan sedang-berat didapatkan berbeda secara bermakna dengan nilai  $p < 0,05$  seperti yang disajikan pada Tabel 5.5. Belum ada penelitian yang secara spesifik menjabarkan kadar katalase plasma pada derajat keparahan vitiligo yang berbeda, namun penurunan kadar katalase plasma yang terjadi berkelanjutan didapatkan pada derajat keparahan yang lebih berat (Schallreuter dkk., 2001).

### **6.4 Korelasi Kadar Katalase Plasma dengan Derajat Keparahan Vitiligo**

Pada penelitian ini didapatkan korelasi negatif sangat kuat antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan seperti disajikan pada Tabel 5.6 dengan

hasil  $r = -0,866$  dengan nilai  $p < 0,001$ . Hal ini berarti ada hubungan bermakna yang sangat kuat antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan, yaitu semakin rendah kadar katalase plasma maka derajat keparahan menjadi semakin berat. Tingkat korelasi pada hasil penelitian ini lebih kuat ( $r = -0,866$ ) dibandingkan dengan hipotesisnya ( $r = 0,5$ ).

Seiring dengan semakin berkembangnya hipotesis peranan stres oksidatif dalam patogenesis vitiligo, belum banyak penelitian yang menghubungkan kadar antioksidan enzimatik katalase dengan derajat keparahan vitiligo yang dihitung dengan skor VASI. Penemuan defek beberapa enzim utama jalur biosintesis melanin mendasari peranan stres oksidatif pada vitiligo. Pada penderita vitiligo didapatkan peningkatan sistesis, *recycling* dan akumulasi 6R-L-erythro-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin ( $6BH_4$ ), serta penurunan aktivitas kadar 4-a-OH-tetrahydrobiopterin dehydratase (DH). Penurunan aktivitas DH menyebabkan peningkatan bentuk 7-isomer  $6BH_4$  ( $7BH_4$ ), yang merupakan kompetitor  $6BH_4$  lainnya. Semua peristiwa biokemikal abnormal tersebut akan menyebabkan peningkatan kadar hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Konsentrasi  $H_2O_2$  yang terlalu tinggi juga dapat menonaktifkan fungsi katalase dalam pemecahan  $H_2O_2$  dan radikal bebas oksigen lainnya, yang selanjutnya menyebabkan degenerasi atau apoptosis melanosit yang menyebabkan hilangnya pigmentasi kulit (Schallreuter dkk., 2001).

Pada jalur sintesis melanin selanjutnya,  $H_2O_2$  terakumulasi terutama pada proses metabolisme dihidroxyindole (5,6-DHI) menjadi 5,6 indolequinone. Akumulasi yang berlebihan tersebut akan menonaktifkan enzim katalase, sehingga tidak terjadi

polimerisasi dari *quinone* reaktif ini, yang selanjutnya akan menghambat pembentukan eumelanin (pigmen coklat/hitam) (Denat, 2014).

Penelitian molekuler yang berhubungan dengan penurunan aktivitas katalase menemukan adanya keterlibatan mutasi genotif heterozigot untuk T/C SNP pada CAT exon 9 dalam menentukan suseptibilitas seorang individu menderita vitiligo (Casp, 2003).

Kadar  $H_2O_2$  yang tinggi dapat menginaktivasi dan mengurangi kadar *methionine sulfoxide reductase A* dan *B* serta *thioredoxin/thioredoxin reductase* yang memperberat stres oksidatif dan menyebabkan kematian melanosit (Schallreuter dkk., 2008; Zhou dkk., 2009). Lebih jauh lagi kadar  $H_2O_2$  yang tinggi pada epidermis diketahui dapat menyebabkan reaksi oksidasi dari peptida bioaktif ACTH dan  $\alpha$ -MSH, sehingga dapat terjadi penurunan kapasitas antioksidan yang mempengaruhi ketahanan melanosit (Kadekaro dkk., 2005; Spencer dkk., 2007).

Beberapa penelitian mencoba mengetahui korelasi kadar antioksidan dengan derajat keparahan yang dihitung dengan skor VASI. Pada penelitian Schallreuter dkk.(2001) terbukti terjadi repigmentasi pasien vitiligo dengan pemberian pseudokatalase (suatu katalase sintetik yang mengandung *bis manganese III-EDTA-(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>*). Penelitian lanjutan Schallreuter dkk. (2008) pada 71 anak-anak dengan vitiligo yang diterapi dengan kombinasi PC-Kus topical dan NB UV B selama 12 bulan, didapatkan perbaikan signifikan pada 70 dari 71 anak, 66% diantaranya mengalami repigmentasi lebih dari 75% pada area wajah dan leher dan 39% mengalami repigmentasi total. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Gustav dkk.

(2015) yang tidak mendapatkan korelasi yang signifikan antara kapasitas antioksidan total (termasuk diantaranya katalase) dengan derajat keparahan (skor VASI), namun penelitian tersebut mendapatkan korelasi positif antara skor VASI dengan durasi penyakit ( $r=0,531, p< 0,001$ ).

Penelitian lain yang mencoba menghubungkan kadar antioksidan tertentu dengan VASI antara lain adalah Ghorbanibirgani dkk. (2014) melakukan penelitian uji klinis dengan pemberian bahan-bahan yang mengandung efek antioksidan, yaitu *Nigella sativa (thymoquinon)* topikal dan *fish oil* (vitamin E) topikal pada pasien vitiligo selama 6 bulan dan didapatkan korelasi positif antara pemberian antioksidan dengan perbaikan lesi vitiligo (penurunan skor VASI), yaitu  $r=0,864$  dan  $r=-0,489, p<0,05$  secara berturut-turut. Szcsurko dkk (2011), pada penelitiannya mendapatkan penurunan skor VASI secara signifikan ( $r= -0,51, p<0,05$ ) pada pasien vitiligo yang mendapat *ginko biloba* selama 12 bulan. El-dawela dkk. (2012) mendapatkan korelasi positif yang signifikan antara kadar *homocystiene* (hcy) dengan skor VASI dengan  $r=0,853, p=0,001$ .

Berdasarkan hal-hal yang didapatkan dari penelitian ini, maka penelitian ini dapat dijadikan dasar bagi penelitian selanjutnya untuk mengetahui efektivitas pemberian antioksidan katalase pada pasien vitiligo. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan rancangan kohort untuk mengetahui hubungan sebab akibat antara penurunan kadar katalase plasma dengan peningkatan derajat keparahan, yang selanjutnya dapat pula dilakukan penelitian uji klinis untuk mengetahui efektivitas katalase pada vitiligo.

## **BAB VII**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1 Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tersebut, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Rerata kadar katalase plasma pada subyek dengan vitiligo lebih rendah dibandingkan subyek bukan vitiligo dengan nilai  $p < 0,001$ .
2. Terdapat perbedaan rerata kadar katalase plasma pada masing-masing derajat keparahan dan didapatkan perbedaan bermakna antar kelompok derajat keparahan ringan-berat dan sedang-berat dengan nilai  $p < 0,05$ .
3. Terdapat korelasi negatif sangat kuat antara kadar katalase plasma dengan derajat keparahan pada subyek dengan vitiligo ( $r = -0,868$ ;  $p < 0,001$ ), artinya semakin rendah kadar katalase plasma maka derajat keparahan vitiligo menjadi semakin berat.

#### **7.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka disarankan sebagai berikut:

1. Pemeriksaan lanjutan untuk memastikan bahwa penurunan katalase pada penderita vitiligo disebabkan oleh stres oksidatif dan bukan oleh penyebab lainnya.

2. Dilakukan penelitian uji klinis pemberian katalase pada penderita vitiligo, untuk mengetahui efektivitas katalase dalam menurunkan derajat keparahan penderita vitiligo.